

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 045321

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.11.15

(51) Int. Cl. C07D 239/46 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01)

(21) Номер заявки
202293127

(22) Дата подачи заявки
2021.04.30

(54) (ТРИФТОРМЕТИЛ)ПИРИМИДИН-2-АМИНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

(31) 63/021,806

(56) WO-A2-2008052072
WO-A1-0218374

(32) 2020.05.08

(33) US

(43) 2022.12.16

(86) PCT/US2021/030100

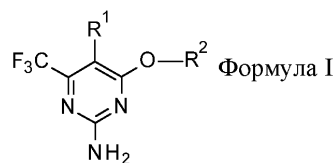
(87) WO 2021/225878 2021.11.11

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

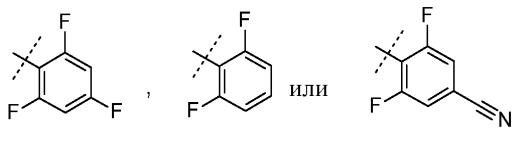
(72) Изобретатель:
Смит Дарил Линн, Виннероски
Леонард Ларри Джр. (US)

(74) Представитель:
Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина
Е.М., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В., Христофоров А.А.,
Костюшенкова М.Ю. (RU)

(57) В изобретении предложено соединение формулы I:



где R¹ представляет собой водород или метил; и R² представляет собой:



или его фармацевтически приемлемая соль, подходящие для лечения боли, включая хроническую боль, хроническую боль в пояснице, диабетическую периферическую нейропатическую боль и остеоартритическую боль.

B1

045321

045321

B1

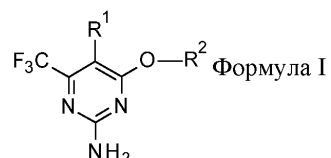
Настоящее изобретение относится к соединениям, которые являются потенциаторами рецептора hMrgX1, к фармацевтическим композициям, содержащим указанные соединения, к способам применения указанных соединений для лечения боли и к промежуточным соединениям и способам, подходящим для синтеза указанных соединений.

Подсчитано, что примерно 20% взрослых только в Соединенных Штатах страдают от хронической боли. Хроническая боль является одной из наиболее распространенных причин обращения взрослых за медицинской помощью и связана с ограничениями в подвижности и повседневной активности. К сожалению, хроническая боль часто не поддается современным методам лечения, и многие анальгетики связаны с дозозависимыми побочными эффектами или серьезным риском зависимости и злоупотребления, что может быть существенным препятствием для их применения для лечения хронической боли. Таким образом, существует неудовлетворенная потребность в новых способах лечения хронической боли, особенно в способах лечения, которые снижают или эффективно устраняют такие побочные эффекты.

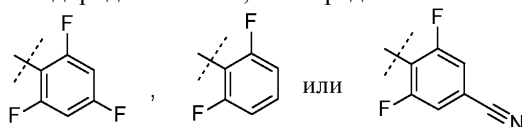
В патенте США № 6326368 В1 описаны некоторые 2-арилокси- и 2-арилтиозамещенные пиримидины и триазины и их производные в качестве антагонистов рецептора кортикотропин-рилизинг фактора (CRF), подходящие для лечения различных расстройств, таких как депрессия, тревожное расстройство, зависимость от лекарственного средства и воспалительные расстройства. В патенте США № 5100459 описаны некоторые замещенные сульфонилмочевины и их промежуточные соединения. В. Вандун (W. Wangdong) et. al., ChemMedChem, vol 10(1), 57-61 (2015) описывают 2-(циклопропансульфонамидо)-N-(2-этоксифенил)бензамид, ML382, в качестве мощного и селективного положительного аллостерического модулятора MrgX1.

Существует потребность в альтернативных способах лечения боли, включая хроническую боль. Кроме того, существует потребность в соединениях, которые являются потенциаторами рецептора hMrgX1.

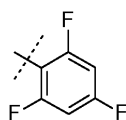
Соответственно, в одном варианте реализации настоящего изобретения предложено соединение формулы I:



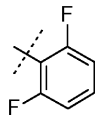
где R¹ представляет собой водород или метил, и R² представляет собой:



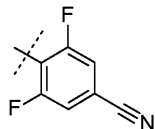
или его фармацевтически приемлемая соль. В одном варианте реализации R¹ представляет собой водород. В одном варианте реализации R¹ представляет собой метил. В одном варианте реализации R² представляет собой:



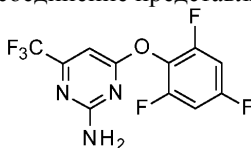
В одном варианте реализации R² представляет собой:



В одном варианте реализации R² представляет собой:

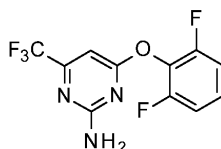


В конкретном варианте реализации соединение представляет собой:



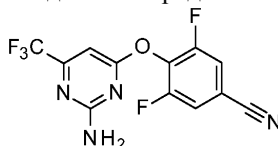
или его фармацевтически приемлемую соль.

В конкретном варианте реализации соединение представляет собой:



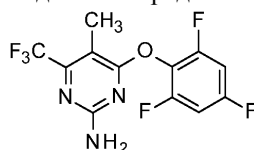
или его фармацевтически приемлемую соль.

В конкретном варианте реализации соединение представляет собой:



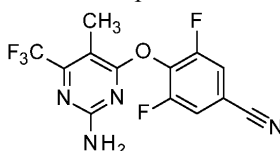
или его фармацевтически приемлемую соль.

В конкретном варианте реализации соединение представляет собой:



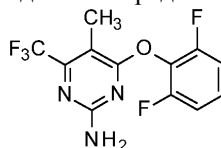
или его фармацевтически приемлемую соль.

В конкретном варианте реализации соединение представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

В конкретном варианте реализации соединение представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте реализации в настоящем изобретении также предложен способ лечения боли у пациента, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте реализации в настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения хронической боли у пациента, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте реализации в настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения хронической боли в пояснице у i пациента, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте реализации в настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения диабетической периферической нейропатической боли у пациента, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте реализации в настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения остеоартритической боли у пациента, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли.

В одном варианте реализации в настоящем изобретении дополнительно предложено соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль для применения в терапии. В одном варианте реализации в настоящем изобретении предложено соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения боли. В одном варианте реализации в настоящем изобретении предложено соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения хронической боли.

В одном варианте реализации в настоящем изобретении также предложено применение соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для лечения боли. В одном варианте реализации в настоящем изобретении предложено применение соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для лечения хронической боли.

В одном варианте реализации в настоящем изобретении дополнительно предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и один

или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или вспомогательных веществ. В одном варианте реализации в настоящем изобретении дополнительно предложен способ получения фармацевтической композиции, включающий смешивание соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, разбавителями или вспомогательными веществами. В одном варианте реализации настоящее изобретение также охватывает новые промежуточные соединения и способы синтеза соединений формулы I.

Применяемые в настоящем описании термины "излечение", "лечение" или "лечить" включает сдерживание, замедление, остановку или обращение вспять прогрессирующего или тяжести существующего симптома или расстройства.

Применяемый в настоящем описании термин "пациент" относится к млекопитающему, в частности человеку.

Применяемый в настоящем описании термин "эффективное количество" относится к количеству или дозе соединения согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, которое при однократном или многократном введении пациенту обеспечивает требуемый эффект у пациента, проходящего диагностику или лечение.

Эффективное количество может быть определено специалистом в данной области техники путем применения известных способов и исследования результатов, полученных при аналогичных обстоятельствах. При определении эффективного для пациента количества лечащий врач-диагност учитывает ряд факторов, включая, но не ограничиваясь ими: биологический вид пациента; его размер, возраст и общее состояние здоровья; конкретное наблюдаемое заболевание или расстройство; степень, или поражение, или тяжесть заболевания или расстройства; ответная реакция у конкретного пациента; конкретное вводимое соединение; способ введения; характеристики биодоступности вводимого лекарственного средства; выбранный режим дозирования; применение сопутствующих лекарственных средств; и другие релевантные обстоятельства.

Соединения согласно настоящему изобретению готовят в виде фармацевтических композиций, вводимых любым способом, обеспечивающим биодоступность соединения. Наиболее предпочтительно такие композиции предназначены для перорального введения. Такие фармацевтические композиции и способы их получения хорошо известны в данной области техники (см., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, L. V. Allen, Editor, 22nd Edition, Pharmaceutical Press, 2012).

Некоторые промежуточные соединения, описанные в следующих примерах получения, могут содержать одну или более азотзащитных групп. Следует понимать, что защитные группы могут варьироваться, как понятно специалисту в данной области техники, в зависимости от конкретных условий реакции и конкретных проводимых превращений. Условия введения защиты и снятия защиты хорошо известны специалистам в данной области техники и описаны в литературе (см., например, "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Fourth Edition, by Peter G.M. Wuts and Theodora W. Greene, John Wiley and Sons, Inc. 2007).

Фармацевтически приемлемую соль соединения согласно настоящему изобретению можно получать, например, путем реакции соответствующего свободного основания соединения согласно настоящему изобретению с соответствующей фармацевтически приемлемой кислотой в подходящем растворителе, таком как диэтиловый эфир, в стандартных условиях, хорошо известных в данной области техники. Кроме того, получение таких фармацевтически приемлемых солей можно проводить одновременно со снятием азотзащитной группы. См., например, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs", International Journal of Pharmaceutics, 33: 201-217 (1986); Bastin, R.J., et al. "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities", Organic Process Research and Development, 4: 427-435 (2000); и Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19, (1977).

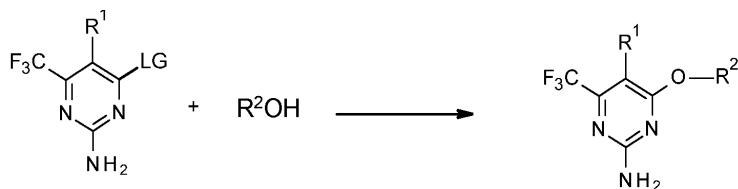
Определенные сокращения определяются следующим образом: "АЦН" относится к ацетонитрилу; "ВAM8-22" относится к пептиду бычьего мозгового вещества надпочечников 8-22; "кат. №" относится к каталожному номеру; "CRC" относится к кривой зависимости ответа от концентрации; "DMEM" относится к среде Игла, модифицированной по способу Дульбекко; "DMCO" относится к диметилсульфоксиду; "DPBS" относится к фосфатно-солевому буферу Дульбекко; "EC₅₀" относится к эффективной концентрации агента, которая обеспечивает полумаксимальный ответ между исходным уровнем и максимумом после определенного времени воздействия; "ЭДТК" относится к этилендиаминтетрауксусной кислоте; "ИЭР-МС" относится к масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением; "ФБС" относится к фетальной бычьей сыворотке; "г" относится к грамму или граммам; "ч" относится к часу или часам; "ГЭЦ" относится к гидроксипропилцеллюлозе; "НЕК293" относится к эмбриональной клетке или клеткам почки человека НЕК293; "HEPES" относится к (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоте); "hMrgX1" относится к рецептору MrgX1 человека; "HTRF" относится к гомогенной флуоресценции с временным разрешением; "IP1" относится к инозитолмонофосфату; "K_{p, min}" относится к коэффициенту распределения несвязанного вещества между головным мозгом и плазмой; "ЖХ/ИЭР-МС" относится к жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией с ионизацией электрораспылением; "мин" относится к минуте или минутам; "мл" относится к миллилитру или миллилитрам; "Me" относится к метилу; "моль" относится к молу или молям; "ммоль" относится к миллимолу или миллимолям; "нм" относится к нано-

метру или нанометрам; "нмоль" относится к наномолям; "m/z" относится к отношению массы к заряду для масс-спектрологии; "n" в контексте биологических данных относится к количеству проходов или количеству испытаний; "ФСБ" относится к фосфатно-солевому буферу; "об/мин" относится к оборотам в минуту или минутам; "SD" относится к стандартному отклонению; "SEM" относится к стандартной ошибке среднего; "ед/мл" относится к единицам на миллилитр.

Общая химия.

Соединения согласно настоящему изобретению или их соли можно получать при помощи различных способов, известных специалистам в данной области техники, некоторые из которых представлены ниже на схемах, в способах получения и примерах. Специалисту в данной области техники понятно, что конкретные стадии синтеза для каждого из описанных способов можно комбинировать различным образом или осуществлять в сочетании со стадиями из других схем с получением соединений согласно настоящему изобретению или их солей. Продукты каждой стадии на приведенных ниже схемах выделяют при помощи традиционных способов, хорошо известных в данной области техники, включая экстракцию, выпаривание, осаждение, хроматографию, фильтрование, растирание в порошок и кристаллизацию. На приведенных ниже схемах все заместители, если не указано иное, являются такими, как определено ранее. Реагенты и исходные вещества легко доступны специалисту в данной области техники. Следующие схемы, способы получения, примеры и анализы дополнительно иллюстрируют настоящее изобретение, но их не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего изобретения каким-либо образом.

Схема 1



LG = например, Cl, Br, I, трифлат, мезилат, тозилат

Формула I

На схеме 1 показан общий способ получения соединений формулы I ($R^1 = \text{H}$ или CH_3 ; $R^2 = 2,6$ -дифторфенил, 2,4,6-трифторфенил или 4-циано-2,6-дифторфенил) путем реакции нуклеофильного ароматического замещения, как хорошо известно специалисту в данной области техники. Кроме того, соединения формулы I можно получать путем реакции кросс-сочетания с переходными металлами (например, с применением меди, никеля или палладия) или реакций Ульмана, как хорошо описано в данной области техники.

Исходный 2-амино-6-трифторметил-5-замещенный пиримидин с соответствующей уходящей группой (LG) в положении 4 (например, LG = Cl, Br, I, трифлат, мезилат, тозилат) является коммерчески доступным. Альтернативно, специалисту в данной области техники понятно, что соответствующий исходный материал можно получать при помощи различных способов, хорошо описанных в данной области, таких как дегидратационная циклизация гуанидина с соответствующим 5-замещенным сложным эфиром 4,4,4-трифтор-2-метил-3-оксобутановой кислоты ($R^1 = \text{H}$, CH_3) в щелочных условиях. Превращение последующего циклизованного 2-амино-6-трифторметил-4-гидрокси-5-замещенного пиримидина в соединение с соответствующей LG в положении 4 хорошо известно специалистам в данной области техники.

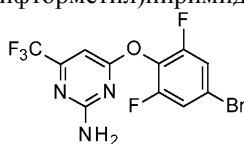
Способы получения и примеры.

Следующие способы получения и примеры дополнительно иллюстрируют настоящее изобретение и демонстрируют типичные способы синтеза соединения согласно настоящему изобретению. Реагенты и исходные вещества легко доступны или могут быть легко синтезированы специалистом в данной области техники. Следует понимать, что приведенные ниже способы получения и примеры представлены для иллюстрации, а не ограничения, и что специалистами в данной области техники могут быть осуществлены различные модификации.

ЖХ/ИЭР-МС проводили на системе для жидкостной хроматографии AGILENT® HP1100. Измерения масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением проводили на квадрупольном масс-спектрометре с масс-селективным детектором, соединенном с ВЭЖХ HP1100. Условия для ЖХ-МС (низкий pH): колонка: PHENOMENEX® GEMINI® NX C18 2,1×50 мм, 3,0 мкм; градиент: 5-100% В в течение 3 мин, а затем 100% В в течение 0,75 мин, температура колонки: 50°C ± 10°C; скорость потока: 1,2 мл/мин; растворитель А: деионизированная вода с 0,1% HCOOH, растворитель В: АЦН с 0,1% муравьиной кислоты; длина волны 214 нм. Альтернативные условия для ЖХ-МС (высокий pH): колонка: колонки XTERRA® MS C18 2,1×50 мм, 3,5 мкм; градиент: 5% растворителя А в течение 0,25 мин, градиент от 5 до 100% растворителя В в течение 3 мин и 100% растворителя В в течение 0,5 мин или от 10% до 100% растворителя В в течение 3 мин и при 100% растворителя В в течение 0,75 мин; температура колонки: 50°C±10°C; скорость потока: 1,2 мл/мин; растворитель А: 10 mM NH₄HCO₃ pH 9; растворитель В: АЦН; длина волны: 214 нм.

Способ получения 1.

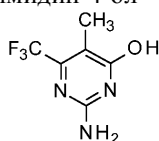
4-(4-Бром-2,6-дифторфенокси)-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин



2-Амино-4-хлор-6-(трифторметил)пиримидин (500 мг, 2,4 ммоль) и 4-бром-2,6-дифторфенол (616 мг, 2,9 ммоль) вносили в пробирку для микроволновой печи и добавляли АЦН (10 мл). Добавляли карбонат калия (665 мг, 4,8 ммоль), пробирку герметизировали и грели при 160°C в течение 1 ч в микроволновом реакторе. Реакционную смесь охлаждали, разбавляли водой и три раза экстрагировали этилацетатом. Органические экстракты объединяли и сушили над сульфатом натрия. Смесь фильтровали и полученный фильтрат выпаривали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента 5-100% этилацетата в гексане с получением указанного в заголовке соединения (789 мг, выход 89%), после выпаривания растворителя из желаемых хроматографических фракций. ИЭР-МС (m/z , $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$): 370/372 [M+H].

Способ получения 2.

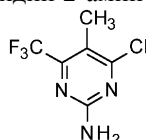
2-Амино-5-метил-6-(трифторметил)пиримидин-4-ол



25% раствор метоксида натрия в метаноле (5,5 мл, 24 ммоль) добавляли к раствору этил-4,4,4-трифтор-2-метил-3-оксобутаноата (4 г, 20 ммоль) и гуанидина (1,2 г, 20 ммоль) в метаноле (100 мл). Перемешивали в течение 23 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь выпаривали при пониженном давлении. Полученное белое твердое вещество растворяли в воде (20 мл) и подкисляли уксусной кислотой (2 мл). Полученный продукт собирали путем вакуумного фильтрования, два раза промывали водой и полученный осадок на фильтре сушили под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения (2,3 г, выход 60%) в виде белого твердого вещества. ИЭР-МС (m/z): 194 [M+H].

Способ получения 3.

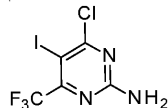
4-Хлор-5-метил-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин



В пробирке для микроволновой печи фосфорилхлорид (5,5 мл, 59 ммоль) добавляли к 2-амино-5-метил-6-(трифторметил)пиримидин-4-олу (2,3 г, 11,9 ммоль). Реакционную смесь грели при 110°C в течение 30 мин в микроволновом реакторе. Реакционную смесь погружали в лед, подщелачивали 5 М водным раствором NaOH (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (100 мл). Объединенные экстракты сушили над сульфатом натрия и фильтровали и полученный фильтрат выпаривали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в дихлорметане и очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя с градиентом 10-25% этилацетата в гексане, с получением указанного в заголовке соединения (813 мг, выход 32%) в виде белого твердого вещества, после выпаривания желаемых хроматографических фракций. ИЭР-МС (m/z , $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$): 212/214 [M+H].

Способ получения 4.

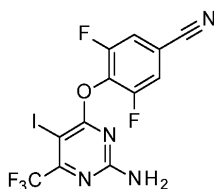
4-Хлор-5-йод-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин



Объединяли 4-хлор-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин (5 г, 25,2 ммоль) в уксусной кислоте (300 мл) с N-йодсукцинимидом (32,0 г, 138 ммоль) при 0°C. Полученную смесь нагревали и перемешивали при 70°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали и реакцию гасили водой (120 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (100 мл×2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл×2), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали путем флэш-хроматографии с получением 4,8 г (выход 53%) указанного в заголовке продукта в виде желтого твердого вещества. ИЭР/МС m/z 324 [M+H]⁺.

Способ получения 5.

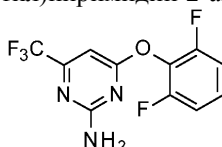
4-((2-Амино-5-йод-6-(трифторметил)пиримидин-4-ил)окси)-3,5-дифторбензонитрил



Объединяли 4-хлор-5-йод-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин (2,5 г, 7,0 ммоль, 90 мас.%) и 3,5-дифтор-4-гидроксibenзонитрил (1,33 г, 8,49 ммоль) в ДМФА (35 мл) и добавляли карбонат калия (2,88 г, 20,8 ммоль). Реакционную смесь грели при 90°C в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали и реакцию гасили водой (100 мл). Экстрагировали этилацетатом (60 мл×2) и объединенные органические слои промывали соевым раствором (50 мл×2), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали путем флэш-хроматографии с получением 2,6 г (выход 76%) указанного в заголовке продукта в виде белого твердого вещества. ИЭР/МС m/z 443 [M+H]⁺.

Пример 1.

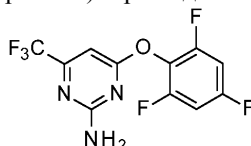
4-(2,6-Дифторфенокси)-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин



В пробирке для микроволновой печи трет-бутоксид калия (270 мг, 2,4 ммоль) добавляли к раствору 2-амино-4-хлор-6-(трифторметил)пиримидина (395 мг, 2,0 ммоль) и 2,6-дифторфенола (289 мг, 2,2 ммоль) в АЦН (8,0 мл). Реакционную смесь грели при 120°C в течение 30 мин в микроволновом реакторе. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и фильтрат выпаривали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в дихлорметане, содержащем небольшое количество метанола, и смесь очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя с градиентом 5-20% этилацетата в гексане, с получением указанного в заголовке соединения (512 мг, выход 88%) в виде белого кристаллического твердого вещества, после выпаривания растворителя из желаемых хроматографических фракций. ИЭР-МС (m/z): 292 [M+H].

Пример 2.

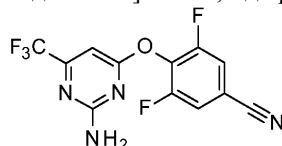
4-(2,4,6-Трифторфенокси)-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин



В 500 мл круглодонной колбе карбонат калия (26,9 г, 194,7 ммоль) добавляли к раствору 2-амино-4-хлор-6-(трифторметил)пиримидина (19,55 г, 97 ммоль) и 2,4,6-трифторфенола (15,2 г, 97,5 ммоль) в N,N-диметилформамиде (200 мл). Реакционную смесь грели при 80°C в течение 16 ч. Реакцию гасили водой (500 мл) и реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (2×500 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщенным водным раствором NaCl (2×800 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и полученный фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя с градиентом 0-37% этилацетата в петролейном эфире, с получением указанного в заголовке соединения (15,9 г, выход 53%) в виде желтого твердого вещества, после выпаривания желаемых хроматографических фракций. ИЭР-МС (m/z): 310 [M+H].

Пример 3.

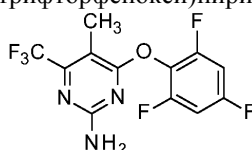
4-[2-Амино-6-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси-3,5-дифторбензонитрил



Объединяли 4-(4-бром-2,6-дифторфенокси)-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин (300 мг, 0,8 ммоль), цианид цинка (291 мг, 2,4 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий (0) (188 мг, 162 нмоль) в пробирке для микроволновой печи и добавляли N,N-диметилформамид (6 мл). Пробирку герметизировали и грели при 100°C в течение ночи в термостате. Реакционную смесь охлаждали, разбавляли водой и три раза экстрагировали этилацетатом. Органические экстракты объединяли и сушили над сульфатом натрия. Смесь фильтровали и полученный фильтрат выпаривали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента 5-100% этилацетата в гексане с получением указанного в заголовке соединения (200 мг, выход 78%), после выпаривания растворителя из желаемых хроматографических фракций. ИЭР-МС (m/z): 317 [M+H].

Пример 4.

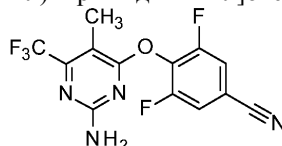
5-Метил-4-(трифторметил)-6-(2,4,6-трифторфенокси)пиримидин-2-амин



В пробирке для микроволновой печи трет-бутоксид калия (69 мг, 0,6 ммоль) добавляли к раствору 4-хлор-5-метил-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин (106 мг, 0,5 ммоль) и 2,4,6-трифторфенола (84 мг, 0,6 ммоль) в АЦН (2,0 мл). Реакционную смесь грели при 120°C в течение 30 мин в микроволновом реакторе. Реакционную смесь фильтровали и полученный фильтрат выпаривали под током воздуха. Полученный остаток растворяли в смеси 1:1 дихлорметана и метанола и очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя с градиентом 5-10% этилацетата в гексане, с получением указанного в заголовке соединения (154 мг, выход 95%) в виде беловатого твердого вещества, после выпаривания растворителя из желаемых хроматографических фракций. ИЭР-МС (m/z): 324 [M+H].

Пример 5.

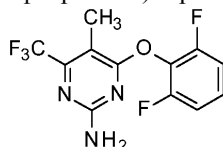
4-[2-Амино-5-метил-6-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси-3,5-дифторбензонитрил



Объединяли 4-((2-амино-5-метил-6-(трифторметил)пиримидин-4-ил)окси)-3,5-дифторбензонитрил (1,2 г, 2,4 ммоль, чистота 90%) и триметилбороксин (2,5 г, 10 ммоль, 50 мас.%) в 1,4-диоксане (25 мл), а затем добавляли карбонат цезия (2,4 г, 7,4 ммоль) и тетраakis(трифенилфосфин)палладий (0) (580 мг, 0,486855 ммоль) и грели реакционную смесь при 120°C в течение 2 ч в атмосфере азота. Реакционную смесь охлаждали, реакцию гасили водой (50 мл) и реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (50 мл×2). Органические слои объединяли и промывали соевым раствором (30 мл×2). Органический слой сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт сначала очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле, а затем дополнительно очищали путем преп. ВЭЖХ (прибор: DD, способ: с применением колонки Ximate C18 150×40 мм×10 мкм, условия: вода (10 мМ NH₄NO₃) - АЦН, В в начале: 50%, В в конце: 80%, с градиентом в течение 10 мин (мин), 100% В, время удерживания: 2 (мин), скорость потока: 60 мл/мин). Полученные потоки объединяли, концентрировали для удаления большей части CH₃CN, а затем лиофилизировали с получением 481 мг (выход 60%) указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. ИЭР/МС (m/z): 331 (M+H).

Пример 6.

4-(2,6-Дифторфенокси)-5-метил-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин



В пробирке для микроволновой печи трет-бутоксид калия (69 мг, 0,6 ммоль) добавляли к раствору 4-хлор-5-метил-6-(трифторметил)пиримидин-2-амин (106 мг, 0,5 ммоль) и 2,6-дифторфенола (72 мг, 0,6 ммоль) в ацетонитриле (2,0 мл). Реакционную смесь грели при 120°C в течение 30 мин в микроволновом реакторе. Реакционную смесь фильтровали и полученный фильтрат выпаривали под током воздуха. Неочищенный продукт очищали путем обращенно-фазовой хроматографии с получением указанного в заголовке соединения (124 мг, выход 81%) в виде белого твердого вещества. ИЭР-МС (m/z): 306 [M+H].

Клеточный анализ IP1 для определения EC₅₀ в отношении hMrgX1 путем HTRF.

Посев клеток: клетки НЕК293, стабильно экспрессирующие рекомбинантный рецептор MrgX1 человека, выращивали в колбах для культивирования (Corning, T150), используя питательную среду, содержащую DMEM с глутамином (GIBCO™ кат. № 11960-044), с добавлением 10% инактивированной нагреванием ФБС (HyClone™, кат. № CH30073), 1% пенициллин/стрептомицин (HyClone™, кат. № CB30010; 10000 ед/мл пенициллина; 10000 мкг/мл стрептомицина в 0,85% NaCl), 20 мМ HEPES (GIBCO™, кат. № 15630122) и 0,3 мг/мл G418 (GIBCO™, кат. № 11811031). Когда клеточные монослои достигали уровня конfluenceности 80-90%, монослои один раз промывали 10 мл DPBS (HyClone™, кат. № 14190-144), диссоциировали с применением среды для ферментативной диссоциации клеток TрупLE™ Express (GIBCO™, кат. № 12605-010) и разбавляли путем добавления 10 мл DPBS. Диссоциированные клетки переносили в стерильную 50 мл коническую пробирку, осаждали путем центрифугирования при 300×g для удаления питательной среды и среды для диссоциации и разбавляли до 1 М клеток/мл в DMEM для посева.

Определение активности и эффективности IP1. Испытываемые соединения растворяли в ДМСО до концентрации 10 мМ и последовательно разбавляли в ДМСО в планшете для разбавленного маточного раствора для получения кривой зависимости ответа от концентрации из 10 точек. Питательную среду удаляли из планшета с клетками, разбавляли содержимое планшета с маточным разбавленным раствором в 10 концентрациях в среде и вносили в планшет с клетками в концентрации, в 2 раза превышающей конечную максимальную испытываемую концентрацию 30 мкМ. Эндogenous агонист ВAM8-22 (Tocris-BioScience®, кат. № 1763) разбавляли до EC₁₅, определенной независимо при минимуме n=3, в планшете с клетками и инкубировали при комнатной температуре в течение 120 мин. Затем в планшет с клетками добавляли половину объема каждого из анти-IP1 криптата и d2-меченого IP1 в буфере для лизиса, поставляемого вместе с набором IP-One Gq (CisBio, кат. № 62IPAPES), для инициирования лизиса клеток и инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре в темноте. В этот момент определяли флуоресценцию при 620 и 665 нм (~100 мкс после лазерного возбуждения).

Анализ данных: отношение флуоресценции определяли как отношение эмиссии флуоресценции при 620 нм к 665 нм и преобразовывали в концентрацию IP1 при помощи стандартной кривой IP1, полученной в отдельном планшете, в соответствии с инструкциями производителя. Затем строили график зависимости концентрации IP1 от концентрации соединения. Эффективность потенциатора (EC₅₀) определяли как концентрацию соединения, которая в присутствии EC₁₅ эндогенного агониста ВAM8-22, приводит к 50% увеличению концентрации IP1, достигаемому за счет насыщающей концентрации ВAM8-22, и определяли при помощи программного обеспечения Genedata (GeneData AG, Базель, Швейцария), подставляя данные из 10-точечной CRC в следующее уравнение, где Y представляет собой концентрацию IP1, определенную для данной концентрации соединения, [L] представляет собой концентрацию испытываемого соединения, и Max представляет собой максимальное увеличение, достигаемое за счет насыщающей концентрации ВAM8-22:

$$Y = \text{Max} \times [L] / (EC_{50} + [L]).$$

Значения EC₅₀ представляли как среднее геометрическое в нМ (SEM, n).

Таблица 1

Относительная EC₅₀ по отношению к hMrgX1 IP-1 для соединений согласно примерам 1-6

Пример	Относительная EC ₅₀ (SEM, n) (нМ)	Макс. (среднее ± SEM) (нМ)
1	72 (30, 4)	98 ± 5,3, n = 4
2	61 (26, 4)	109 ± 9,2, n = 4
3	104 (26, 13)	109 ± 2,5, n = 13
4	40 (8, 5)	125 ± 7,9, n = 2
5	82 (n = 1)	120
6	38 (3, 3)	103 ± 1,9, n = 3

В табл. 1 представлены относительная EC₅₀ и максимальная стимуляция, достигнутые в анализе для соединений согласно примерам 1-6, что указывает на то, что указанные соединения являются потенциаторами hMrgX1.

Определение K_{p, шц, гол.мозг} in vivo у мышей.

Коэффициент распределения несвязанного вещества между головным мозгом и плазмой (K_{p, шц, гол.мозг}) является одним из ключевых фармакокинетических параметров для оценки способности соединения преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Обычно его измеряют в доклинических исследованиях с применением следующей методики. Значения K_{p, шц, гол.мозг} показывают долю свободного лекарственного средства в плазме, которая распределяется через ГЭБ.

Субъекты: субъектами указанных исследований являлись 12 самцов мышей C57B1/6 (Envigo, Индианаполис, Индиана, США) в возрасте 8-10 недель на момент проведения испытания. Мышей содержали группами по 4 особи в домашних клетках из пластика высокой плотности. Доступ к еде и воде предоставляли без ограничений. В помещениях поддерживали температуру 73°F (23°C), относительную влажность 30-70% и цикл дня и ночи с 06:00 до 18:00.

Агент: соединение согласно примеру 2 готовили в концентрации 0,3, 1 и 3 мг/мл в растворе 1% ГЭЦ, 0,25% TWEEN®80, 0,05% DOWSIL™ в воде. Приготовленное соединение обрабатывали ультразвуком на водяной бане в течение 30 мин до образования суспензии. Мышам вводили дозу 10 мл/кг с получением соответствующей дозы 3, 10 или 30 мг/кг.

Дозирование и сбор тканей: в указанном эксперименте четыре мыши на группу дозирования получали перорально дозу: 3, 10 или 30 мг/кг соединения согласно примеру 2. Через 2 ч после введения мышам подвергали эвтаназии путем асфикции при помощи CO₂, собирали образцы плазмы путем пункции кардии и головной мозг мышей извлекали, взвешивали и замораживали в сухом льде. Образцы крови хранили в пробирках с ЭДТК в жидком льде и центрифугировали при 15 тысячах об/мин в течение 10

мин. Плазму собирали, помещали в 96-луночный планшет и замораживали при -80°C .

Фармакокинетические пробы: полученные образцы плазмы и головного мозга анализировали для примера 2 с применением метода ЖХ-МС/МС (Q2 Solutions, Индианаполис, Индиана, США). Образцы плазмы экстрагировали при помощи осаждения белка. Нижний предел количественного определения составлял 25 нг/мл, а верхний предел количественного определения составлял 5000 нг/мл. Образцы головного мозга гомогенизировали и аналит экстрагировали при помощи осаждения белка. Нижний предел количественного определения составлял 4 нг/г, а верхний предел количественного определения составлял 200000 нг/г.

Определение связывания белков плазмы и головного мозга: связывание белка плазмы и гомогената головного мозга мышей определяли *in vitro* при помощи равновесного диализа, как описано в другом описании [Zamek-Gliszczyński et al., J Pharm Sci, 101:1932-1940, 2012]. Результаты представляли в виде фракции несвязанного вещества в плазме ($f_{u, \text{плазма}}$) и головном мозге ($f_{u, \text{гол.мозг}}$), а затем использовали для вычисления $K_{p, \text{ш, гол.мозг}}$, как описано ниже. Значения $f_{u, \text{плазма}}$ и $f_{u, \text{гол.мозг}}$ у мышей согласно примеру 2 составляли 0,0421 и 0,0181, соответственно.

Анализ и результаты: $K_{p, \text{ш, гол.мозг}}$ рассчитывали для каждого момента времени из приведенного ниже выражения, где отдельные компоненты получали из комбинации измерений *in vitro* и *in vivo*, выполненных, как описано выше:

$$K_{p, \text{ш, гол.мозг}} = \frac{C_{u, \text{гол.мозг}}}{C_{u, \text{плазма}}} = \frac{C_{\text{общ., гол.мозг}}}{C_{\text{общ., плазма}}} \cdot \frac{f_{u, \text{гол.мозг}}}{f_{u, \text{плазма}}}$$

где $C_{\text{общ., гол.мозг}}$, $C_{u, \text{гол.мозг}}$, $C_{\text{общ., плазма}}$ и $C_{u, \text{плазма}}$ представляют собой общую концентрацию и концентрацию несвязанного вещества в головном мозге и плазме, и $f_{u, \text{гол.мозг}}$ и $f_{u, \text{плазма}}$ представляют собой фракции несвязанного вещества в головном мозге и плазме, соответственно.

Таблица 2
Концентрации в плазме и головном мозге согласно примеру 2 после пероральной дозы 3, 10 и 30 мг/кг у мышей

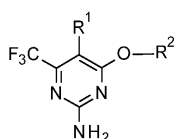
Момент времени (часы)	Группа дозирования (мг/кг)	Общ. конц. в гол. мозге ($C_{\text{общ., гол.мозг}}$) (нМ) \pm SD	Общ. конц. в плазме ($C_{\text{общ., плазма}}$) (нМ) \pm SD	Конц. несвязанного вещества в гол. мозге ($C_{u, \text{гол.мозг}}$) (нМ)* \pm SD	Конц. несвязанного вещества в плазме ($C_{u, \text{плазма}}$) (нМ)^ \pm SD	$K_{p, \text{ш, гол.мозг}}$
2	3	972 \pm 353	809 \pm 140	17,6 \pm 6,39	34,1 \pm 5,94	0,506 \pm 0,107
2	10	3900 \pm 1800	2770 \pm 651	55,4 \pm 32,5	117 \pm 27,4	0,586 \pm 0,116
2	30	13700 \pm 4200	9700 \pm 2410	248 \pm 75,9	409 \pm 101	0,601 \pm 0,0553

* С применением значения $f_{u, \text{гол.мозг}}$ у мыши, равняющегося 0,0181, и ^ с применением значения $f_{u, \text{плазма}}$ у мыши, равняющегося 0,0421, как описано выше.

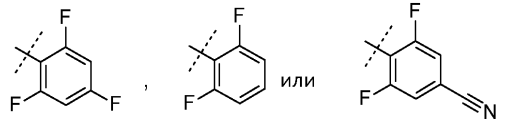
Концентрация несвязанного вещества в плазме и концентрация несвязанного вещества в головном мозге демонстрируют дозозависимые увеличения как в плазме, так и в головном мозге, указывая на то, что соединение согласно примеру 2 преодолевает гематоэнцефалический барьер и проникает в ЦНС через 2 ч после перорального введения мышам. По-видимому, экспозиция в плазме и головном мозге пропорциональна дозе в разных группах дозирования. Среднее отношение несвязанного вещества в головном мозге к несвязанному веществу в плазме ($K_{p, \text{ш, гол.мозг}}$) для соединения согласно примеру 2 варьируется от 0,506 \pm 0,1 до 0,601 \pm 0,0553 (среднее значение \pm SD, n = 4 на группу); позволяя предположить, что активный транспортный механизм не функционирует в ткани головного мозга мыши.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы:



где R^1 представляет собой водород или метил; и R^2 представляет собой:

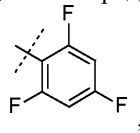


или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R^1 представляет собой водород, или его фармацевтически приемлемая соль.

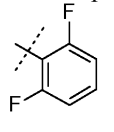
3. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R^1 представляет собой метил, или его фармацевтически приемлемая соль.

4. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R^2 представляет собой:



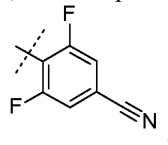
или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R^2 представляет собой:



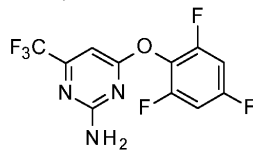
или его фармацевтически приемлемая соль.

6. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R^2 представляет собой:



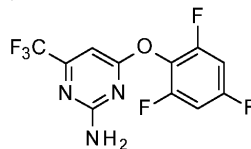
или его фармацевтически приемлемая соль.

7. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение представляет собой:

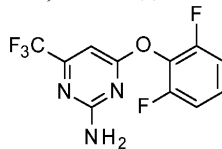


или его фармацевтически приемлемая соль.

8. Соединение по п.7, представляющее собой:

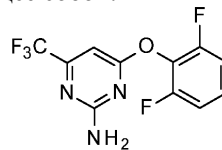


9. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение представляет собой:

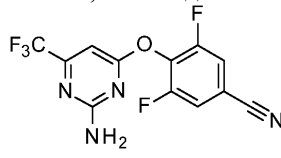


или его фармацевтически приемлемая соль.

10. Соединение по п.9, представляющее собой:

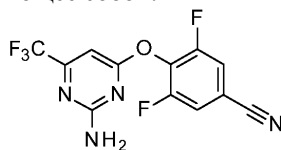


11. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение представляет собой:

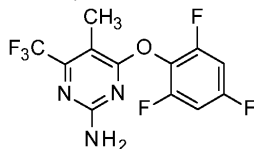


или его фармацевтически приемлемая соль.

12. Соединение по п.11, представляющее собой:

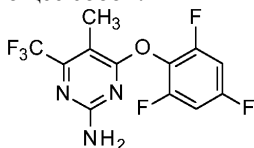


13. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение представляет собой:

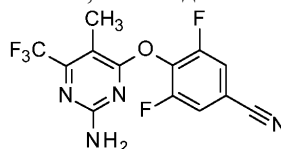


или его фармацевтически приемлемая соль.

14. Соединение по п.13, представляющее собой:

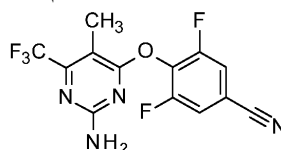


15. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение представляет собой:

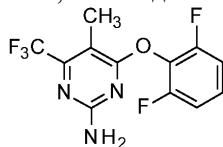


или его фармацевтически приемлемая соль.

16. Соединение по п.15, представляющее собой:

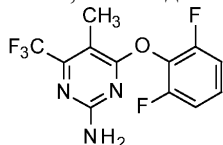


17. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение представляет собой:



или его фармацевтически приемлемая соль.

18. Соединение по п.17, отличающееся тем, что соединение представляет собой:



19. Способ лечения боли у пациента, включающий введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения по любому из пп.1-18 или его фармацевтически приемлемой соли.

20. Способ лечения хронической боли у пациента, включающий введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения по любому из пп.1-18 или его фармацевтически приемлемой соли.

21. Способ лечения хронической боли в пояснице у пациента, включающий введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения по любому из пп.1-18 или его фармацевтически приемлемой соли.

22. Способ лечения диабетической периферической нейропатической боли у пациента, включающий введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения по любому из пп.1-18 или его фармацевтически приемлемой соли.

23. Способ лечения остеоартритической боли у пациента, включающий введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения по любому из пп.1-18 или его фарма-

цветически приемлемой соли.

24. Применение соединения или его фармацевтически приемлемая соли по любому из пп.1-18 для лечения боли.

25. Применение по п.24, где боль представляет собой хроническую боль.

26. Применение по п.24, где боль представляет собой хроническую боль в пояснице.

27. Применение по п.24, где боль представляет собой диабетическую периферическую нейропатическую боль.

28. Применение по п.24, где боль представляет собой остеоартритическую боль.

29. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-18 для получения лекарственного средства для лечения боли.

30. Применение по п.29, где лекарственное средство предназначено для лечения хронической боли.

31. Применение по п.29, где лекарственное средство предназначено для лечения хронической боли в пояснице.

32. Применение по п.29, где лекарственное средство предназначено для лечения диабетической периферической нейропатической боли.

33. Применение по п.29, где лекарственное средство предназначено для лечения остеоартритической боли.

34. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение или его фармацевтически приемлемую соль по любому из пп.1-18 и один или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или вспомогательных веществ.

35. Способ получения фармацевтической композиции, включающий смешивание соединения или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-18 с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, разбавителями или вспомогательными веществами.

