

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038059**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.06.30

(21) Номер заявки
201891377

(22) Дата подачи заявки
2016.12.09

(51) Int. Cl. *A61K 31/4196* (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
C07D 307/77 (2006.01)

(54) **ПРИМЕНЕНИЕ МОДУЛЯТОРОВ КАНАЛОВ Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛИ**

(31) **1521751.6**

(32) **2015.12.10**

(33) **GB**

(43) **2019.01.31**

(86) **PCT/GB2016/053879**

(87) **WO 2017/098254 2017.06.15**

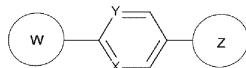
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОТИФОНИ ТЕРАПЬЮТИКС
ЛИМИТЕД (GB)**

(72) Изобретатель:
**Лардж Чарльз, Альваро Джузеппе
(GB)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A1-2012076877
WO-A1-2013175215
WO-A1-2013083994

(57) Изобретение относится к применению модуляторов каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 для получения лекарственного средства для профилактики или лечения боли, где профилактика или лечение боли не включает профилактику или лечение расстройства сна вследствие нейропатической боли. Модуляторы для профилактики или лечения боли включают соединения формулы (I) или их фармацевтически приемлемые соли и/или их производные, где значения групп W, X, Y и Z определены в формуле изобретения



(I) .

B1**038059****038059****B1**

Область техники

Настоящее изобретение относится к применению соединений и фармацевтических композиций, содержащих такие соединения, для получения лекарственного средства для профилактики или лечения боли, где профилактика или лечение боли не включает профилактику или лечение расстройства сна вследствие нейропатической боли.

Уровень техники, предшествующий изобретению

Семейство потенциалозависимых калиевых каналов Kv3 включает четыре представителя, Kv3.1, Kv3.2, Kv3.3 и Kv3.4. Гены каждого из этих подтипов могут формировать несколько изоформ посредством альтернативного сплайсинга, обеспечивая продукцию версий с различными С-концевыми доменами. В настоящее время у млекопитающих идентифицировано 13 изоформ, но токи, обеспечиваемые этими вариантами, являются сходными (Rudy et al., 2001). Каналы Kv3 активируются при деполяризации плазматической мембраны до напряжений, более положительных, чем -20 мВ; кроме того, эти каналы быстро деактивируются при реполяризации мембраны. Эти биофизические свойства обеспечивают, что эти каналы открываются на пике фазы деполяризации потенциала действия нейрона, инициируя реполяризацию. Быстрое завершение потенциала действия, опосредуемого каналами Kv3, обеспечивая более быстрое восстановление нейрона с достижением подпороговых мембранных потенциалов, с которых могут начинаться новые потенциалы действия. В результате присутствие каналов Kv3 в определенных нейронах вносит вклад в их способность к высокой частоте возбуждения (Rudy et al., 2001). Подтипы Kv3.1-Kv3.3 преобладают в ЦНС, тогда как каналы Kv3.4 преимущественно находятся в нейронах скелетных мышц и симпатических нейронах (Weiser et al., 1994). Подтипы каналов Kv3.1-Kv3.3 дифференциально экспрессированы подклассами вставочных нейронов в кортикальных и гиппокампальных областях головного мозга (например, Chow et al., 1999; Martina et al., 1998; McDonald et al., 2006; Chang et al., 2007), в таламусе (например, Kasten et al., 2007), мозжечке (Sacco et al., 2006; Puente et al., 2010) и слуховых ядрах ствола головного мозга (Li et al., 2001).

Каналы Kv3 представляют собой важные детерминанты функционирования мозжечка, отдела головного мозга, важного для регуляции моторики (Joho et al., 2009). Характеристики мышей, у которых удалены один или несколько подтипов Kv3, демонстрируют, что отсутствие Kv3.1 приводит к повышенной двигательной активности, измененной электроэнцефалографической активности и профилю фрагментированного сна (Joho et al., 1999). Делеция Kv3.2 приводит к снижению судорожного порога и измененной кортикальной электроэнцефалографической активности (Lau et al., 2000). Делеция Kv3.3 ассоциирована с умеренной атаксией и двигательным дефицитом (McMahon et al., 2004). Двойная делеция Kv3.1 и Kv3.3 приводит к тяжелому фенотипу, характеризующему спонтанными судорогами, атаксией и повышенной чувствительностью к действию этанола (Espinosa et al., 2001; Espinosa et al., 2008).

Известные фармакологические средства для каналов Kv3 являются ограниченными. Показано, что эти каналы при низких миллимолярных концентрациях ингибирует тетраэтиламмоний (TEA) (Rudy et al., 2001), и показано, что токсины, снижающие кровяное давление вещества (BDS), морской анемоны, *Anemonia sulcata* (Diochot et al., 1998), с высокой аффинностью селективно ингибируют каналы Kv3 (Yeung et al., 2005). В дополнение к соединениям, действующим непосредственно на каналы Kv3, показано, что агонисты рецепторов, которые активируют протеинкиназу А (РКА) и протеинкиназу С (РКС), модулируют опосредованные Kv3 токи в определенных отделах головного мозга, что приводит к снижению способности нейронов к высокой частоте возбуждения (Atzori et al., 2000; Song et al., 2005); эти исследования позволяют предполагать, что РКА и РКС могут специфически фосфорилировать каналы Kv3 специфичным для нейронов способом, вызывая снижение опосредуемых Kv3 токов.

В патентных заявках WO 2011/069951, WO 2012/076877, WO 2012/168710, WO 2013/175215, WO 2013/083994 и WO 2013/182850 описаны соединения, которые являются модуляторами каналов Kv3, конкретно Kv3.1, Kv3.2 и Kv3.3. Использование таких соединений при определенных заболеваниях и нарушениях, требующих модуляции каналов Kv3, описано в патентных заявках WO 2013/182851 и WO 2013/175211.

В самом широком смысле боль можно разделить на острую боль и хроническую боль. Острая боль определена как боль, которая является самоограниченной и, как правило, требует лечения в течение периода не более нескольких недель, например послеоперационная или острая костно-мышечная боль, такая как при переломах (US Food and Drug Administration, 2014). Хроническую боль можно определить или как боль, продолжающуюся в течение периода, более продолжительного чем 1 месяц после устранения исходной травмы, или боль, продолжающуюся более трех месяцев. Часто очевидной причины хронической боли не выявляют, и хроническую боль часто сопровождает множество частых расстройств здоровья, таких как усталость, депрессия, бессонница, перепады настроения и снижение подвижности.

Хроническую боль можно подразделить на следующие группы: нейропатическая боль, хроническая костно-мышечная боль и смешанная хроническая боль. Нейропатическая боль, как правило, сопровождается повреждением ткани и ее начинается или вызывает повреждение нервной системы (периферической нервной системы и/или центральной нервной системы), такое как ампутация, инсульт, диабет или рассеянный склероз. Хроническая костно-мышечная боль может представлять собой симптом таких заболеваний, как остеоартрит и хроническая боль в нижних отделах позвоночника, и она может происходить по-

сле повреждения мышечной ткани, а также травмы области, например, переломов, растяжений и смещений. Смешанная хроническая боль включает все другие типы длительной боли и включает состояния, не характеризующиеся нейропатической болью, такие как боль при злокачественной опухоли и фибромиалгия, а также головные боли и тендиниты.

Хроническая боль является высокогетерогенным состоянием, которое остается одним из самых проблематичных и трудных для лечения клинических состояний (McCarberg et al., 2008; Woolf 2010; Finerup et al., 2015). Несмотря на годы исследований и разработки лекарственных средств, не существует большого прогресса в определении лечебных средств, которые могли бы сравниться с опиоидами по эффективности без значительного побочного действия и риска зависимости. Потенциалозависимые ионные каналы являлись важными мишенями для лечения конкретных показаний с болью, в частности состояний с нейропатической болью. Кроме того, с определенными показаниями с хронической болью сцеплены генетические мутации в конкретных ионных каналах (Bennett et al., 2014). Примеры потенциалозависимых ионных каналов, которые исследовали в качестве фармацевтических мишеней, включают

натриевые каналы (конкретно NaV1.7) - Sun et al., 2014; Dib-Hajj et al., 2013;

кальциевые каналы N типа - Zamponi et al., 2015;

калиевые каналы Kv7 - Devulder 2010; Wickenden et al., 2009;

SLACK - Lu et al., 2015.

Основной гипотезой, лежащей в основе этих подходов, является то, что состояния с хронической болью ассоциированы с повышенной чувствительности и/или нарушенной возбудимостью периферических сенсорных нейронов, в частности нейронов, вовлеченных в передачу болевых сенсорных стимулов, таких как С-волокна спинномозговых узлов и конкретные дуги в спинном мозге (Baranauskas et al., 1998; Cervero 2009; Woolf et al., 2011; Baron et al., 2013). Основную поддержку этой гипотезы обеспечивают модели на животных нейропатической и связанной с воспалением хронической боли, хотя демонстрация причинно-следственной связи все еще отсутствует (Cervero 2009).

Лекарственные средства, направленное воздействующие на повышенную возбудимость, такие как блокаторы натриевых каналов (например, CNV1014802, ламотригин, карбамазепин и местные анестетики), положительные модуляторы Kv7 (например, флупиртин и ретигабин) и модуляторы кальциевых каналов N-типа (например, габапентин, который взаимодействует с субъединицей $\alpha 2\delta$ кальциевого канала N-типа, и зиконотид, получаемые из токсина улитки конуса) демонстрируют эффективность в моделях связанной с воспалением и/или нейропатической боли. Однако у этих лекарственных средств существуют противоречивые сведения о клинической эффективности, например балансирующая эффективность и увеличенная нагрузка побочных эффектов на центральную нервную систему. Несоответствие между эффективностью в моделях на животных и эффективностью у людей вероятно является следствием целого ряда факторов, но, по существу, основной причиной вероятнее всего являются концентрация лекарственного средства, достигаемая у людей (вследствие плохой переносимости), и гетерогенность характеризующихся болью состояний у человека.

Дополнительной представляющей интерес мишенью является SLACK. Существуют доклинические обоснования получения хорошей потенциальной эффективности (Lu et al., 2015), хотя в настоящее время селективные соединения отсутствуют, что делает трудным определение того, какие болевые состояния могут являться наиболее восприимчивыми.

Улучшение фармакологического контроля боли сфокусировано на механизмах, которые могут обеспечивать хорошую эффективность со сниженной тяжестью побочных эффектов, сниженными толерантностью или тахифилаксией и сниженными аддиктогенным потенциалом и/или риском зависимости.

Недавно представляющей интерес мишенью при лечении хронической боли стали каналы Kv3.4. Каналы Kv3.4 экспрессированы на нейронах спинномозговых узлов (Ritter et al., 2012; Chien et al., 2007), где они преимущественно экспрессированы на чувствительных С-волокнах (Chien et al., 2007).

Каналы Kv3 также экспрессируют определенные подклассы нейронов спинного мозга. Конкретно, в спинном мозге грызунов идентифицированы субъединицы Kv3.1b (Deuchars et al., 2001; Brooke et al., 2002), Kv3.3 (Brooke et al., 2006) и Kv3.4 (Brooke et al., 2004), хотя не всегда в ассоциации с дугами, связанными с обработкой сенсорной информации.

Последние данные по моделям на животных свидетельствуют о снижении поверхностной экспрессии каналов Kv3.4 в нейронах DRG после повреждения спинного мозга, ассоциированного с гиперчувствительностью к болевым стимулам (Ritter et al., 2015). Подобным образом, выявлено, что существует снижение экспрессии Kv3.4 в DRG грызунов после сшивания спинного мозга (Chien et al., 2007). Это последнее исследование также продемонстрировало, что интратекальное введение крысам антисмыслового олигонуклеотида для подавления экспрессии Kv3.4 приводит к гиперчувствительности к механическим стимулам. Показано, что на инактивацию каналов Kv3.4 может влиять зависимое от протеинкиназы С фосфорилирование каналов, и что этот физиологический механизм может позволять нейронам DRG изменять свои характеристики возбудимости в ответ на болевые стимулы (Ritter et al., 2012). Эти исследования свидетельствуют о причинно-следственной зависимости между возникновением механической аллодинии и сниженной экспрессией или функцией каналов Kv3.4. Ни в одном из этих исследований не проводили исследования экспрессии Kv3.1, Kv3.2 или Kv3.3 в нейронах SC или DRG, и экспрессия этих

трех подтипов на нейронах DRG явно не продемонстрирована (хотя, как указано выше, они распространены в специфических областях спинного мозга).

В исследованиях *in vivo*, описанных выше, предоставлено обоснование для модуляции Kv3.4 в качестве нового подхода к лечению определенных состояний с нейропатической болью. В настоящее время данных о конкретной связи подтипов каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 с лечением боли нет.

Остается необходимость в идентификации альтернативных модуляторов для профилактики или лечения боли, которые могут демонстрировать одно или несколько из следующих требуемых свойств:

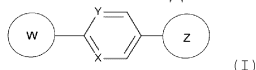
- улучшенная эффективность;
- улучшенная активность;
- более удобные схемы введения;
- сниженная тяжесть побочных эффектов;
- сниженные токсичность или тахифилаксия и
- сниженный аддиктивный потенциал и/или риск зависимости.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что модуляция каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 связана с лечением боли и обезболиванием. Таким образом, модуляция Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой новый подход для профилактики или лечения боли.

Сущность изобретения

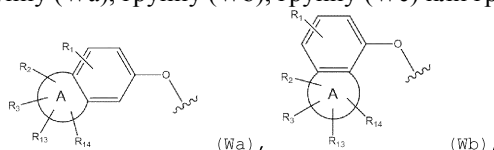
Настоящее изобретение относится к применению модулятора каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 (обозначаемых в настоящем документе как "Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3" или "Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3") для получения лекарственного средства для профилактики или лечения боли, где профилактика или лечение боли не включает профилактику или лечение расстройства сна вследствие нейропатической боли.

Соответственно модулятор представляет собой соединение формулы (I)



где

W представляет собой группу (Wa), группу (Wb), группу (Wc) или группу (Wd)



где

R₁ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген, галоген-C₁₋₄алкил, CN, C₁₋₄алкокси или галоген-C₁₋₄алкокси;

R₂ представляет собой H, C₁₋₄алкил, C₃₋₅спирокарбоцикл, галоген-C₁₋₄алкил или галоген;

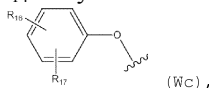
R₃ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген-C₁₋₄алкил, галоген или R₃ отсутствует;

R₁₃ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген-C₁₋₄алкил, галоген или R₁₃ отсутствует;

R₁₄ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген-C₁₋₄алкил, галоген или R₁₄ отсутствует;

A представляет собой 5- или 6-членный насыщенный или ненасыщенный гетероцикл по меньшей мере с одним атомом O; где этот гетероцикл необязательно конденсирован с циклопропильной группой, или циклобутильной группой, или цикlopентильной группой с образованием трициклического соединения, когда их рассматривают вместе с фенилом;

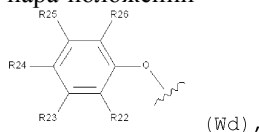
где R₂ и R₃ могут быть связаны с одним или с разными атомами цикла; R₂ может быть связан с атомом конденсированного цикла; и где R₁₃ и R₁₄ могут быть связаны с одним или с разными атомами цикла



где

R₁₆ представляет собой галоген, C₁₋₄алкил, C₁₋₄алкокси, галоген-C₁₋₄алкил, галоген-C₁₋₄алкокси или CN;

R₁₇ представляет собой H, галоген, циано, C₁₋₄алкил или C₁₋₄алкокси; при условии, что когда R₁₇ представляет собой H, R₁₆ не находится в пара-положении



где

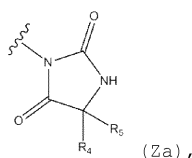
R₂₂ представляет собой H, Cl, F, C₁₋₄алкил;

R₂₃ представляет собой H, C₁₋₄алкил, Cl, CF₃, O-C₁₋₄алкил, OCF₃ или N(CH₃)₂;

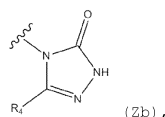
R₂₄ представляет собой H, Cl, F, C₁₋₄алкил, O-C₁₋₄алкил, CN, OCF₃ или CF₃;

R₂₅ представляет собой H, Cl, F, O-C₁₋₄алкил или C₁₋₄алкил; и

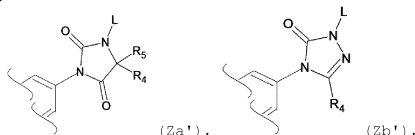
R_{26} представляет собой H или C_{1-4} алкил;
 где для R_{22} - R_{26} C_{1-4} алкил может быть замещен O-метилом;
 при условиях, что
 не все из R_{22} - R_{26} могут представлять собой H;
 когда R_4 представляет собой H, тогда R_{23} представляет собой метил или CF_3 , и все R_{22} , R_{24} , R_{25} и R_{26} представляют собой H;
 когда один из R_{22} , R_{24} , R_{25} или R_{26} представляет собой F, тогда по меньшей мере один из R_{22} - R_{26} не может представлять собой H или F; и
 когда R_{24} не представляет собой H, по меньшей мере один из R_{22} или R_{23} не представляет собой H;
 X представляет собой CH или N;
 Y представляет собой CR_{15} или N;
 R_{15} представляет собой H или C_{1-4} алкил;
 когда W представляет собой группу (Wa), группу (Wb) или группу (Wc), Z представляет собой группу (Za)



где
 R_4 представляет собой C_{1-4} алкил;
 R_5 представляет собой H или C_{1-4} алкил;
 или R_4 и R_5 могут быть конденсированы с образованием C_{3-4} спирокарбоцикла;
 когда W представляет собой группу (Wa), группу (Wb) или группу (Wd), Z представляет собой группу (Zb)



где
 R_4 представляет собой H или C_{1-4} алкил;
 или его фармацевтически приемлемую соль и/или его производное, где производное представляет собой фармацевтически приемлемое пролекарство, образованное посредством присоединения функциональной группы к вторичному азоту гидантоина или триазолонa с использованием группы "L", как проиллюстрировано для каждой из групп Z ниже



- где группа L выбрана из:
- $-PO(OH)O^-M^+$, где M^+ представляет собой фармацевтически приемлемый одновалентный противоион,
 - $-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$,
 - $-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$, где D^{2+} представляет собой фармацевтически приемлемый двухвалентный противоион,
 - $-CH(R^X)-PO(OH)O^-M^+$, где R^X представляет собой водород или C_{1-3} алкил,
 - $-CH(R^X)-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$,
 - $-CH(R^X)-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$,
 - $-SO_3^- \cdot M^+$,
 - $-CH(R^X)-SO_3^- \cdot M^+$ и
 - $-CO-CH_2CH_2-CO_2 \cdot M^+$.

Соединения формулы (I) можно использовать в качестве лекарственных средств, в частности для профилактики или лечения боли, такой как нейропатическая или связанная с воспалением боль.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлено действие соединения 1 на порог отдергивания лапы при механическом давлении в модели нейропатической боли (исследование 1): ипсилатеральная лапа (фиг. 1a); контрлатеральная лапа (фиг. 1b) и процент снижения (фиг. 1c).

На фиг. 2 представлено действие соединения 1 на порог отдергивания лапы при холодном стимуле ($10^\circ C$) в модели нейропатической боли (исследование 1): ипсилатеральная лапа (фиг. 2a); контрлатеральная лапа (фиг. 2b) и процент снижения (фиг. 2c).

На фиг. 3 представлено действие соединения 1 на порог отдергивания лапы при механическом да-

лении в модели нейропатической боли (исследование 2): ипсилатеральная лапа (фиг. 3a); контрлатеральная лапа (фиг. 3b) и процент снижения (фиг. 3c).

На фиг. 4 представлено действие соединения 1 на порог отдергивания лапы при холодовом стимуле (10°C) в модели нейропатической боли (исследование 2): ипсилатеральная лапа (фиг. 4a); контрлатеральная лапа (фиг. 4b) и процент снижения (фиг. 4c).

На фиг. 5 представлено действие соединения 1 на порог отдергивания лапы при механическом давлении в модели связанной с воспалением боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 5a); контрлатеральная лапа (фиг. 5b) и процент снижения (фиг. 5c).

На фиг. 6 представлено действие соединения 1 на порог отдергивания лапы при холодовом стимуле (10°C) в модели связанной с воспалением боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 6a); контрлатеральная лапа (фиг. 6b) и процент снижения (фиг. 6c).

На фиг. 7 представлено действие соединения 2 на порог отдергивания лапы при механическом давлении в модели нейропатической боли (исследование 1): ипсилатеральная лапа (фиг. 7a); контрлатеральная лапа (фиг. 7b) и процент снижения (фиг. 7c).

На фиг. 8 представлено действие соединения 2 на порог отдергивания лапы при холодовом стимуле (10°C) в модели нейропатической боли (исследование 1): ипсилатеральная лапа (фиг. 8a); контрлатеральная лапа (фиг. 8b) и процент снижения (фиг. 8c).

На фиг. 9 представлено действие соединения 2 на порог отдергивания лапы при механическом давлении в модели нейропатической боли (исследование 2): ипсилатеральная лапа (фиг. 9a); контрлатеральная лапа (фиг. 9b) и процент снижения (фиг. 9c).

На фиг. 10 представлено действие соединения 2 на порог отдергивания лапы при холодовом стимуле (10°C) в модели нейропатической боли (исследование 2): ипсилатеральная лапа (фиг. 10a); контрлатеральная лапа (фиг. 10b) и процент снижения (фиг. 10c).

На фиг. 11 представлено действие соединения 2 на порог отдергивания лапы при механическом давлении в модели связанной с воспалением боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 11a); контрлатеральная лапа (фиг. 11b) и процент снижения (фиг. 11c).

На фиг. 12 представлено действие соединения 2 на порог отдергивания лапы при холодовом стимуле (10°C) в модели связанной с воспалением боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 12a); контрлатеральная лапа (фиг. 12b) и процент снижения (фиг. 12c).

На фиг. 13 представлено действие соединения 3 на порог отдергивания лапы при механическом давлении в модели нейропатической боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 13a); контрлатеральная лапа (фиг. 13b) и процент снижения (фиг. 13c).

На фиг. 14 представлено действие соединения 3 на порог отдергивания лапы при холодовом стимуле (10°C) в модели нейропатической боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 14a); контрлатеральная лапа (фиг. 14b) и процент снижения (фиг. 14c).

На фиг. 15 представлено действие соединения 3 на порог отдергивания лапы при механическом давлении в модели связанной с воспалением боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 15a); контрлатеральная лапа (фиг. 15b) и процент снижения (фиг. 15c).

На фиг. 16 представлено действие соединения 3 на порог отдергивания лапы при холодовом стимуле (10°C) в модели связанной с воспалением боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 16a); контрлатеральная лапа (фиг. 16b) и процент снижения (фиг. 16c).

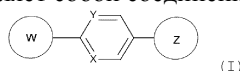
На фиг. 17 представлено действие соединения 4 на порог отдергивания лапы при механическом давлении в модели связанной с воспалением боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 17a); контрлатеральная лапа (фиг. 17b) и процент снижения (фиг. 17c).

На фиг. 18 представлено действие соединения 4 на порог отдергивания лапы при холодовом стимуле (10°C) в модели связанной с воспалением боли: ипсилатеральная лапа (фиг. 18a); контрлатеральная лапа (фиг. 18b) и процент снижения (фиг. 18c).

Подробное описание изобретения

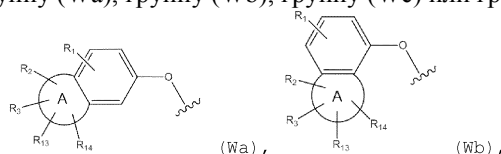
Настоящее изобретение относится к применению модулятора каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 для получения лекарственного средства для профилактики или лечения боли, где профилактика или лечение боли не включает профилактику или лечение расстройства сна вследствие нейропатической боли.

Соответственно модулятор представляет собой соединение формулы (I)



где:

W представляет собой группу (Wa), группу (Wb), группу (Wc) или группу (Wd)



где

R_1 представляет собой H, C_{1-4} алкил, галоген, галоген- C_{1-4} алкил, CN, C_{1-4} алкокси или галоген- C_{1-4} алкокси;

R_2 представляет собой H, C_{1-4} алкил, C_{3-5} спирокарбоцикл, галоген- C_{1-4} алкил или галоген;

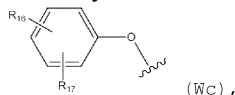
R_3 представляет собой H, C_{1-4} алкил, галоген- C_{1-4} алкил, галоген или R_3 отсутствует;

R_{13} представляет собой H, C_{1-4} алкил, галоген- C_{1-4} алкил, галоген или R_{13} отсутствует;

R_{14} представляет собой H, C_{1-4} алкил, галоген- C_{1-4} алкил, галоген или R_{14} отсутствует;

A представляет собой 5- или 6-членный насыщенный или ненасыщенный гетероцикл по меньшей мере с одним атомом O; где этот гетероцикл необязательно конденсирован с циклопропильной группой, или циклобутильной группой, или цикlopентильной группой с образованием трициклического соединения, когда их рассматривают вместе с фенилом;

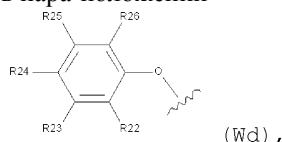
где R_2 и R_3 могут быть связаны с одним или с разными атомами цикла; R_2 может быть связан с атомом конденсированного цикла; и где R_{13} и R_{14} могут быть связаны с одним или с разными атомами цикла



где

R_{16} представляет собой галоген, C_{1-4} алкил, C_{1-4} алкокси, галоген- C_{1-4} алкил, галоген- C_{1-4} алкокси или CN;

R_{17} представляет собой H, галоген, циано, C_{1-4} алкил или C_{1-4} алкокси; при условии, что когда R_{17} представляет собой H, R_{16} не находится в пара-положении



где

R_{22} представляет собой H, Cl, F, C_{1-4} алкил;

R_{23} представляет собой H, C_{1-4} алкил, Cl, CF_3 , O- C_{1-4} алкил, OCF_3 или $N(CH_3)_2$;

R_{24} представляет собой H, Cl, F, C_{1-4} алкил, O- C_{1-4} алкил, CN, OCF_3 или CF_3 ;

R_{25} представляет собой H, Cl, F, O- C_{1-4} алкил или C_{1-4} алкил; и

R_{26} представляет собой H или C_{1-4} алкил;

где для R_{22} - R_{26} C_{1-4} алкил может быть замещен O-метилом;

при условиях, что

не все из R_{22} - R_{26} могут представлять собой H;

когда R_4 представляет собой H, тогда R_{23} представляет собой метил или CF_3 , и все R_{22} , R_{24} , R_{25} и R_{26} представляют собой H;

когда один из R_{22} , R_{24} , R_{25} или R_{26} представляет собой F, тогда по меньшей мере один из R_{22} - R_{26} не может представлять собой H или F; и

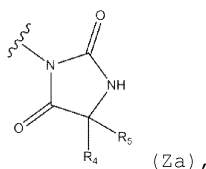
когда R_{24} не представляет собой H, по меньшей мере один из R_{22} или R_{23} не представляет собой H;

X представляет собой CH или N;

Y представляет собой CR_{15} или N;

R_{15} представляет собой H или C_{1-4} алкил;

когда W представляет собой группу (Wa), группу (Wb) или группу (Wc), Z представляет собой группу (Za)



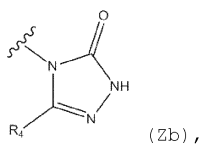
где

R_4 представляет собой C_{1-4} алкил;

R_5 представляет собой H или C_{1-4} алкил;

или R_4 и R_5 могут быть конденсированы с образованием C_{3-4} спирокарбоцикла;

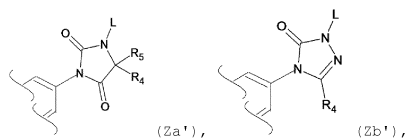
когда W представляет собой группу (Wa), группу (Wb) или группу (Wd), Z представляет собой группу (Zb)



где

R_4 представляет собой H или C_{1-4} алкил;

или его фармацевтически приемлемую соль и/или его производное, где производное представляет собой фармацевтически приемлемое пролекарство, образованное посредством присоединения функциональной группы к вторичному азоту гидантоина или триазолонa с использованием группы "L", как проиллюстрировано для каждой из групп Z ниже

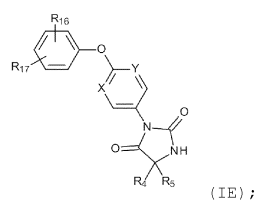
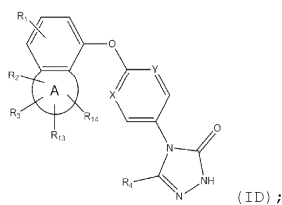
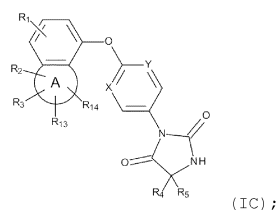
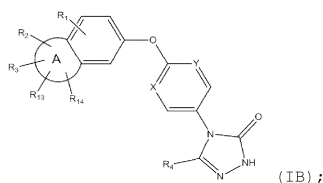
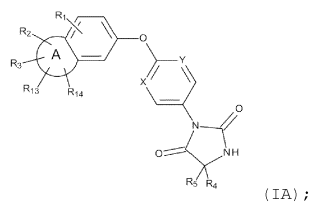


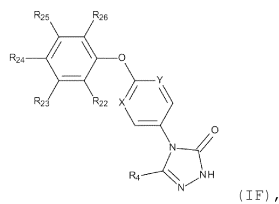
где группа L выбрана из:

- a) $-PO(OH)O^- \cdot M^+$, где M^+ представляет собой фармацевтически приемлемый одновалентный противоион,
- b) $-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$,
- c) $-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$, где D^{2+} представляет собой фармацевтически приемлемый двухвалентный противоион,
- d) $-CH(R^X)-PO(OH)O^- \cdot M^+$, где R^X представляет собой водород или C_{1-3} алкил,
- e) $-CH(R^X)-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$,
- f) $-CH(R^X)-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$
- g) $-SO_3^- \cdot M^+$,
- h) $-CH(R^X)-SO_3^- \cdot M^+$ и
- i) $-CO-CH_2CH_2-CO_2 \cdot M^+$.

Соединения формулы (I) можно использовать в качестве лекарственных средств, в частности для профилактики или лечения боли, такой как нейропатическая или связанная с воспалением боль.

В одном из вариантов осуществления изобретения модулятор выбран из соединений формул (IA), (IB), (IC), (ID), (IE) и (IF)





где

R_1 представляет собой H, C_{1-4} алкил, галоген, галоген- C_{1-4} алкил;

R_2 представляет собой H, C_{1-4} алкил, C_{3-5} спирокарбоцикл или галоген- C_{1-4} алкил;

R_3 представляет собой H, C_{1-4} алкил, галоген- C_{1-4} алкил или галоген или R_3 отсутствует;

R_{13} представляет собой H или отсутствует;

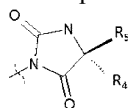
R_{14} представляет собой H или отсутствует;

A представляет собой 5- или 6-членный насыщенный или ненасыщенный гетероцикл по меньшей мере с одним атомом O;

R_4 представляет собой C_{1-4} алкил;

R_5 представляет собой H или C_{1-4} алкил;

где, когда R_5 присутствует, R_4 и R_5 обладают стереохимической конфигурацией



R_{16} представляет собой C_{1-4} алкил, C_{1-4} алкокси, галоген- C_{1-4} алкил, галоген- C_{1-4} алкокси;

R_{17} представляет собой H, циано или C_{1-4} алкил; при условии, что когда R_{17} представляет собой H, R_{16} не находится в пара-положении;

R_{23} представляет собой C_{1-4} алкил, Cl, CF_3 , O- C_{1-4} алкил, OCF_3 или $N(CH_3)_2$;

R_{24} представляет собой H, Cl, F, C_{1-4} алкил, O- C_{1-4} алкил, CN, OCF_3 ;

R_{22} , R_{25} и R_{26} представляют собой H;

X представляет собой CH или N, и

Y представляет собой CH или N.

Конкретные варианты соединения формулы (I) выбраны из группы, состоящей из

5, 5-диметил-3- [2- [[3-метил-3- (трифторметил) -1H-
изобензофуран-5-ил] окси] пиримидин-5-ил] имидазолидин-2, 4-диола
(энантиомер 1 и энантиомер 2) ;
(5R) -3- [6- [(3, 3-диметил-1H-изобензофуран-5-ил) окси] -3-
пиридил] -5-этил-5-метилимидазолидин-2, 4-диола ;
3- [6- [(3-трет-бутил-1, 3-дигидроизобензофуран-5-ил) окси] -3-
пиридил] -5, 5-диметилимидазолидин-2, 4-диола (энантиомер 1 и
энантиомер 2) ;
5, 5-диметил-3- [6- [[3-метил-3- (трифторметил) -1H-
изобензофуран-5-ил] окси] -3-пиридил] имидазолидин-2, 4-диола
(энантиомер 1 и энантиомер 2) ;
5, 5-диметил-3- (6-спиро [1H-изобензофуран-3, 1'-циклобутан] -5-
илокси-3-пиридил) имидазолидин-2, 4-диола ;
(5R) -3- [6- [(3, 3-диметил-1H-изобензофуран-5-ил) окси] -3-
пиридил] -5-этилимидазолидин-2, 4-диола ;
(5R) -5-этил-3- [6- [[3-метил-3- (трифторметил) -1H-
изобензофуран-5-ил] окси] -3-пиридил] имидазолидин-2, 4-диола
(диастереоизомер 1 и диастереоизомер 2) ;
(5R) -5-этил-3- (6-спиро [1H-изобензофуран-3, 1'-циклобутан] -5-
илокси-3-пиридил) имидазолидин-2, 4-диола ;
(5R) -5-этил-3- [2- [[3-метил-3- (трифторметил) -1H-
изобензофуран-5-ил] окси] пиримидин-5-ил] имидазолидин-2, 4-диола
(диастереоизомер 1 и диастереоизомер 2) ;
(5R) -5-этил-3- (2-спиро [1H-изобензофуран-3, 1'-циклобутан] -5-
илокспипиримидин-5-ил) имидазолидин-2, 4-диола ;
(5R) -3- {4- [(3, 3-диметил-1, 3-дигидро-2-бензофуран-5-
ил) окси] фенил} -5-этил-5-метил-2, 4-имидазолидиндиола ;
(5R) -5-этил-5-метил-3- [2- (7-метилспиро [2H-бензофуран-3, 1'-
циклопропан] -4-ил) оксипиримидин-5-ил] имидазолидин-2, 4-диола ;
(5R) -5-этил-5-метил-3- {2- [(3, 3, 7-триметил-2, 3-дигидро-1-
бензофуран-4-ил) окси] -5-пиримидинил} -2, 4-имидазолидиндиола ;

(5R)-3-{2-[(2,2-дифтор-7-метил-1,3-бензодиоксол-4-ил) окси]-5-пиримидинил}-5-этил-5-метил-2,4-имидазолидиндиона;
 5,5-диметил-3-[2-(7-метилспиро[2Н-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил) оксипиримидин-5-ил] имидазолидин-2,4-диона;
 (5R)-5-этил-3-[2-(7-метилспиро[2Н-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил) оксипиримидин-5-ил] имидазолидин-2,4-диона;
 (5R)-5-этил-3-[6-(7-метилспиро[2Н-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил) окси-3-пиридил] имидазолидин-2,4-диона;
 (5R)-5-этил-3-{6-[(3,3,7-триметил-2,3-дигидро-1-бензофуран-4-ил) окси]-3-пиридинил}-2,4-имидазолидиндиона;
 (5R)-5-этил-3-{2-[(3,3,7-триметил-2,3-дигидро-1-бензофуран-4-ил) окси]-5-пиримидинил}-2,4-имидазолидиндиона;
 (5R)-5-этил-5-метил-3-[6-(7-метилспиро[2Н-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил) окси-3-пиридил] имидазолидин-2,4-диона;
 5,5-диметил-3-[6-(7-метилспиро[2Н-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил) окси-3-пиридил] имидазолидин-2,4-диона;
 (5R)-5-этил-5-метил-3-[2-({4-метил-3-[(трифторметил) окси] фенил) окси}-5-пиримидинил]-2,4-имидазолидиндиона;
 (5R)-5-этил-3-[2-({4-метил-3-[(трифторметил) окси] фенил) окси}-5-пиримидинил]-2,4-имидазолидиндиона;
 5,5-диметил-3-[2-({4-метил-3-[(трифторметил) окси] фенил) окси}-5-пиримидинил]-2,4-имидазолидиндиона;
 (5R)-5-этил-3-[6-({4-метил-3-[(трифторметил) окси] фенил) окси}-3-пиридинил]-2,4-имидазолидиндиона;
 5,5-диметил-3-[6-({4-метил-3-[(трифторметил) окси] фенил) окси}-3-пиридинил]-2,4-имидазолидиндиона;
 (5R)-5-этил-3-(6-{4-метил-3-(метилокси) фенил} окси)-3-пиридинил]-2,4-имидазолидиндиона;
 5-метил-4-{6-[(7-метилспиро[1-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил) окси] пиридин-3-ил}-2,4-дигидро-3Н-1,2,4-триазол-3-она; и
 5-метил-4-[6-(спиро[1-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-илокси) пиридин-3-ил]-2,4-дигидро-3Н-1,2,4-триазол-3-она;

или их фармацевтически приемлемых солей и/или их производных.

Соответственно соединение формулы (I) не является фармацевтически приемлемой солью (или какой-либо солью).

Соответственно соединение формулы (I) не является сольватом.

Соответственно соединение формулы (I) не является производным.

В отношении конкретно указанных соединений, перечисленных выше, термины энантиомер 1, энантиомер 2, диастереомер 1 и диастереомер 2 относятся к конкретному энантиомерам или диастереомерам, названным соответственно и описанным в исходных изобретениях этих соединений (см. WO 2011/069951, WO 2012/076877, WO 2012/168710, WO 2013/175215, WO 2013/083994 и WO 2013/182850, которые включены в настоящий документ в качестве ссылки для целей предоставления соединений для применения по настоящему изобретению).

Во избежание неопределенности варианты осуществления любого из свойства соединений по изобретению можно комбинировать с любым вариантом осуществления другого свойства соединений по изобретению с получением дополнительного варианта осуществления.

Как используют в настоящем документе, термин "галоген" относится к атому фтора, хлора, брома или йода. Конкретные примеры галогена представляют собой фтор и хлор, особенно фтор.

Когда соединение содержит C₁₋₄алкильную группу, отдельно или формирующую часть более крупной группы, например C₁₋₄алкокси, алкильная группа может представлять собой неразветвленную цепь, может являться разветвленной, циклической или их сочетанием. Примеры C₁₋₄алкила представляют собой метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, циклопропил и циклобутил. Конкретной группой из иллюстративных C₁₋₄алкильных групп являются метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил. Примером C₁₋₄алкокси является метокси.

Как используют в настоящем документе, термин "галоген-C₁₋₄алкил", включает алкильные группы с неразветвленной цепью, разветвленной цепью или циклические алкильные группы, содержащие от 1 до 4 атомов углерода, замещенные одним или несколькими атомами галогенов, например фторметил, дифторметил и трифторметил. Конкретная группа иллюстративного галоген-C₁₋₄алкила включает метиль-

ную и этильную группы, замещенные одним-тремя атомами галогена, конкретно одним-тремя атомами фтора, например трифторметил или 2,2,2-трифторэтил.

Как используют в настоящем документе, термин "галоген- C_{1-4} алкокси" включает алкоксигруппы с неразветвленной цепью, разветвленной цепью или циклические алкоксигруппы, содержащие от 1 до 4 атомов углерода, замещенные одним или несколькими атомами галогенов, например фторметокси, дифторметокси и трифторметокси. Конкретная группа иллюстративного галоген- C_{1-4} алкокси включает группы метокси и этокси, замещенные одним-тремя атомами галогена, конкретно одним-тремя атомами фтора.

Термин "5- или 6-членный насыщенный или ненасыщенный гетероцикл по меньшей мере с одним атомом O" включает, например, дигидрофуран, дигидропиран, фуран, пиран, оксазол, изоксазол, оксазин, диоксин, морфолин или 1,3-диоксалан.

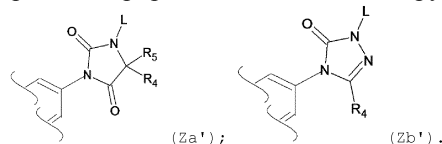
Следует понимать, что для применения в медицине соли соединений формулы (I) должны являться фармацевтически приемлемыми. Подходящие фармацевтически приемлемые соли очевидны специалистам в данной области. Фармацевтически приемлемые соли включают соли, описанные в Berge et al., 1977. Такие фармацевтически приемлемые соли включают соли присоединения кислот, формируемые с неорганическими кислотами, например соляной, бромистоводородной, серной, азотной или фосфорной кислотами, и с органическими кислотами, например янтарной, малеиновой, уксусной, фумаровой, лимонной, винной, бензойной, п-толуолсульфоновой, метансульфоновой или нафталинсульфоновой кислотами. Другие соли, например оксалаты или формиаты, можно использовать, например, при выделении соединений формулы (I) и они включены в объем настоящего изобретения.

Определенные соединения формулы (I) могут формировать соли присоединения кислот с одним или несколькими эквивалентами кислоты. Настоящее изобретение включает в свой объем все возможные стехиометрические и нестехиометрические формы.

Следует понимать, что изобретение включает фармацевтически приемлемые производные соединений формулы (I) для применения при профилактике или лечении боли, способе профилактики или лечения боли посредством введения производного соединения формулы (I) и применения производного соединения формулы (I) в производстве лекарственного средства для профилактики или лечения боли.

Как используют в настоящем документе "фармацевтически приемлемое производное" включает любое фармацевтически приемлемое пролекарственное средство, такое как сложный эфир или соль такого сложного эфира соединения формулы (I), которые после введения реципиенту способны обеспечивать (непосредственно или опосредовано) соединение формулы (I) или его активного метаболита или остатка.

Соответственно фармацевтически приемлемое пролекарственное средство формируют посредством присоединения функциональной группы к вторичному азоту гидантоина или триазолона, например, с использованием группы "L", как проиллюстрировано для каждой из групп Z ниже



Функциональную группу к соединению формулы (I) можно добавлять посредством вторичного азота гидантоина или триазолона с использованием группы L, где L выбрана из:

- $-PO(OH)O^- \cdot M^+$, где M^+ представляет собой фармацевтически приемлемый одновалентный противоион,
- $-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$,
- $-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$, где D^{2+} представляет собой фармацевтически приемлемый двухвалентный противоион,
- $-CH(R^X)-PO(OH)O^- \cdot M^+$, где R^X представляет собой водород или C_{1-3} алкил,
- $-CH(R^X)-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$,
- $-CH(R^X)-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$
- $-SO_3^- \cdot M^+$,
- $-CH(R^X)-SO_3^- \cdot M^+$ и
- $-CO-CH_2CH_2-CO_2^- \cdot M^+$.

Для применений по изобретению предусмотрены все изомеры формулы (I) и их фармацевтически приемлемые производные, включая все геометрические, таутомерные и оптические формы и их смеси (например, рацемические смеси). Когда в соединениях формулы (I) присутствуют дополнительные хиральные центры, настоящее изобретение включает в свой объем все возможные диастереоизомеры, включая их смеси. Различные изомерные формы можно разделять или разрешать одну от другой общепринятыми способами или любой данный изомер можно получать общепринятыми способами синтеза или посредством стереоспецифичного или асимметричного синтезов.

Также для применений и способов по изобретению предусмотрены меченные изотопами соединения, которые идентичны соединениям, перечисляемым в формуле (I), за исключением того, что один или

несколько атомов заменены атомами с атомной массой или массовым числом, отличающимися от атомной массы или массового числа, наиболее часто встречаемого в природе, или у которых доля атомов с атомной массой или массовым числом, менее часто встречаемым в природе, увеличена (последний подход обозначают как "изотопное обогащение"). Примеры изотопов, которые можно вводить в соединения по изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фтора, йода и хлора, такие как ^2H (дейтерий), ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{18}F , ^{123}I или ^{125}I , которые могут представлять собой природные или неприродные изотопы. Соответственно, за исключением случаев, когда необходимо изотопное обогащение, содержание изотопов соединений формулы (I) не отличается от содержания изотопов, как правило, встречаемого в природе.

Соединения формулы (I) и фармацевтически приемлемые соли указанных соединений, которые содержат указанные выше изотопы и/или другие изотопы других атомов, предусмотрены для применений и способов по настоящему изобретению. Меченные изотопами соединения по настоящему изобретению, например соединения, в которые введены радиоактивные изотопы, такие как ^3H или ^{14}C , пригодны в анализе распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях. Особенно предпочтительные содержащие тритий, т.е. ^3H , и углерод 14, т.е. ^{14}C , изотопы вследствие простоты их получения и детектируемости. Изотопы ^{11}C и ^{18}F особенно пригодны в PET (позитронно-эмиссионной томографии).

Так как соединения формулы (I) предназначены для применения в фармацевтических композициях, легко понять, что каждое из них предпочтительно предоставлять, по существу, в чистой форме, например чистой по меньшей мере на 60%, более предпочтительно по меньшей мере на 75% и предпочтительно по меньшей мере на 85%, особенно по меньшей мере на 98% (% представляет собой массовый процент). Неочищенные препараты соединений можно использовать для получения более чистых форм, используемых в фармацевтических композициях.

Как правило, соединения формулы (I) можно получать способами органического синтеза, известными специалистам в данной области, а также типичными способами, приведенными ниже, способами в примерах и их модификациями.

Соединения формулы (I) и их соли, где W представляет собой группу (Wa), можно получать общими способами, описанными в WO 2012/168710.

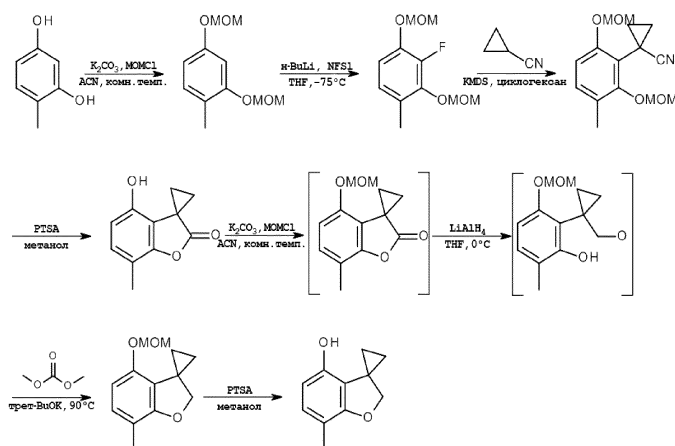
Соединения формулы (I) и их соли, где W представляет собой группу (Wb), можно получать общими способами, описанными в WO 2012/076877.

Соединения формулы (I) и их соли, где W представляет собой группу (Wc), можно получать общими способами, описанными в WO 2011/069951.

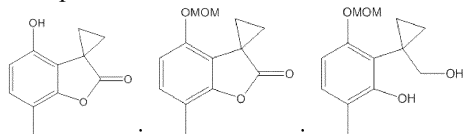
Соединения формулы (I) и их соли, где W представляет собой группу (Wd), можно получать общими способами, описанными в WO 2013/175215.

Определенные соединения формулы (I), где W представляет собой группу (Wb), также можно получать следующим способом или аналогичными способами:

Схема 1



Таким образом, настоящее изобретение относится к новым соединениям



Настоящее изобретение относится к применению модулятора каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 в производстве лекарственного средства для профилактики или лечения боли, где модулятор каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и/или его производное, как определено выше, где профилактика или лечение боли не включает профилактику или лечение расстройства сна вследствие нейропатической боли.

Модуляторы каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3.

Как используют в настоящем документе, "модулятор" относится к соединению, которое способно к обеспечению по меньшей мере 20% усиления клеточных токов, опосредуемых каналами Kv3.1 человека, и/или Kv3.2 человека, и/или Kv3.3 человека, рекомбинантно экспрессируемыми в клетках млекопитающих. Соединения по изобретению можно тестировать в таком анализе, как приведен в примере 1 с определением их модулирующих свойств.

В одном из вариантов осуществления модулятор способен к обеспечению по меньшей мере 20% усиления клеточных токов, опосредуемых каналами Kv3.1 человека, рекомбинантно экспрессируемыми в клетках млекопитающих. Соответственно rEC_{50} модулятора находится в диапазоне 4-7 (например, 5-6,5).

В одном из вариантов осуществления модулятор способен к обеспечению по меньшей мере 20% усиления клеточных токов, опосредуемых каналами Kv3.2 человека, рекомбинантно экспрессируемыми в клетках млекопитающих. Соответственно rEC_{50} модулятора находится в диапазоне 4-7 (например, 5-6,5).

В одном из вариантов осуществления модулятор способен к обеспечению по меньшей мере 20% усиления клеточных токов, опосредуемых каналами Kv3.3 человека, рекомбинантно экспрессируемыми в клетках млекопитающих. Соответственно rEC_{50} модулятора находится в диапазоне 4-7 (например, 5-6,5).

В другом варианте осуществления модулятор способен к обеспечению по меньшей мере 20% усиления клеточных токов, опосредуемых каналами Kv3.1 и Kv3.2 человека, рекомбинантно экспрессируемыми в клетках млекопитающих.

В другом варианте осуществления модулятор способен к обеспечению по меньшей мере 20% усиления клеточных токов, опосредуемых каналами Kv3.1 и Kv3.3 человека, рекомбинантно экспрессируемыми в клетках млекопитающих.

В другом варианте осуществления модулятор способен к обеспечению по меньшей мере 20% усиления клеточных токов, опосредуемых каналами Kv3.2 и Kv3.3 человека, рекомбинантно экспрессируемыми в клетках млекопитающих.

В дополнительном варианте осуществления модулятор способен к обеспечению по меньшей мере 20% усиления клеточных токов, опосредуемых каналами Kv3.1, Kv3.2 и Kv3.3 человека, рекомбинантно экспрессируемыми в клетках млекопитающих.

В одном из вариантов осуществления изобретения модулятор (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное) является селективным в отношении модуляции каналов Kv3.1 по сравнению с модуляцией каналов Kv3.2. Под селективным подразумевают, что модулятор демонстрирует, например, по меньшей мере в 2 раза, 5 раз или 10 раз большую активность в отношении каналов Kv3.1, чем в отношении каналов Kv3.2. Соответственно активность модулятора количественно определяют по его эффективности, по показателям значения EC_{50} .

В другом варианте осуществления изобретения модулятор (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соли и/или производное) является селективным в отношении модуляции каналов Kv3.2 по сравнению с модуляцией каналов Kv3.1. Еще раз, под селективным подразумевают, что модулятор демонстрирует, например, по меньшей мере в 2 раза, 5 раз или 10 раз большую активность в отношении каналов Kv3.2, чем в отношении каналов Kv3.1. Соединения формулы (I) или их фармацевтически приемлемые соли, где W представляет собой W_b , и R_1 представляет собой H, могут демонстрировать большую активность в отношении каналов Kv3.2, чем в отношении каналов Kv3.1. Пример 15, описанный в WO 2013/175215, представляет собой соединение по изобретению, которое демонстрирует селективность в отношении каналов Kv3.2.

В одном из вариантов осуществления изобретения модулятор (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соли и/или производное) является селективным в отношении модуляции каналов Kv3.1 по сравнению с модуляцией каналов Kv3.3. Под селективным подразумевают, что модулятор демонстрирует, например, по меньшей мере в 2 раза, 5 раз или 10 раз большую активность в отношении каналов Kv3.1, чем в отношении каналов Kv3.3. Соответственно активность модулятора количественно определяют по его эффективности, по показателям значения EC_{50} .

В другом варианте осуществления изобретения модулятор (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соли и/или производное) является селективным в отношении модуляции каналов Kv3.3 по сравнению с модуляцией каналов Kv3.1. Еще раз, под селективным подразумевают, что модулятор демонстрирует, например, по меньшей мере в 2 раза, 5 раз или 10 раз большую активность в отношении каналов Kv3.3, чем в отношении каналов Kv3.1. Соответственно активность модулятора количественно определяют по его эффективности, по показателям значения EC_{50} .

В одном из вариантов осуществления изобретения модулятор (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соли и/или производное) является селективным в отношении модуляции каналов Kv3.2 по сравнению с модуляцией каналов Kv3.3. Под селективным подразумевают, что модулятор демонстрирует, например, по меньшей мере в 2 раза, 5 раз или 10 раз большую активность в отношении каналов Kv3.2, чем в отношении каналов Kv3.3. Соответственно активность модуля-

тора количественно определяют по его эффективности, по показателям значения EC_{50} .

В другом варианте осуществления изобретения модулятор (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соль и/или производное) является селективным в отношении модуляции каналов Kv3.3 по сравнению с модуляцией каналов Kv3.2. Еще раз, под селективным подразумевают, что модулятор демонстрирует, например, по меньшей мере в 2 раза, 5 раз или 10 раз большую активность в отношении каналов Kv3.3, чем в отношении каналов Kv3.2. Соответственно активность модулятора количественно определяют по его эффективности, по показателям значения EC_{50} .

В дополнительном варианте осуществления изобретения модулятор (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соль и/или производное) демонстрирует сравнимую активность модуляции каналов Kv3.1 и Kv3.2, например активность в отношении одного канала менее чем в 2 раза превышает активность в отношении другого канала, например менее чем в 1,5 раза или менее чем в 1,2 раза. Соединения формулы (I) или их фармацевтически приемлемые соли, где W представляет собой Wb, R₁ представляет собой C₁₋₄алкил, конкретно метил, в пара-положении, могут демонстрировать сравнимую активность модуляции каналов Kv3.1 и Kv3.2. Соединение по изобретению, которое демонстрирует сравнимую активность модуляции каналов Kv3.1 и Kv3.2, представляет собой соединение 3. Соответственно активность модулятора количественно определяют по его эффективности, по показателям значения EC_{50} .

В дополнительном варианте осуществления изобретения модулятор (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соль и/или производное) демонстрирует сравнимую активность модуляции каналов Kv3.1 и Kv3.3, например активность в отношении одного канала менее чем в 2 раза превышает активность в отношении другого канала, например менее чем в 1,5 раза или менее чем в 1,2 раза. Соответственно активность модулятора количественно определяют по его эффективности, по показателям значения EC_{50} .

В дополнительном варианте осуществления изобретения модулятор (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соль и/или производное) демонстрирует сравнимую активность модуляции каналов Kv3.2 и Kv3.3, например активность в отношении одного канала менее чем в 2 раза превышает активность в отношении другого канала, например менее чем в 1,5 раза или менее чем в 1,2 раза. Соответственно активность модулятора количественно определяют по его эффективности, по показателям значения EC_{50} .

Соответственно модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 является селективным относительно других каналов, которые ассоциированы с болью. Например, хотя модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 способен к увеличению клеточных токов в среднем по меньшей мере на 20% от увеличения, наблюдаемого с 50 микрополь N-циклогексил-N-[(7,8-диметил-2-оксо-1,2-дигидро-3-хинолинил)метил]-N'-фенилкарбаматом, модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 не оказывает значимого действия на токи, обуславливаемые Kv3.4, Kv7.2/7.3 и/или Nav 1.7. В примерах в настоящем документе предоставлены подходящие способы тестирования токов, обуславливаемых Kv3.1, Kv3.2, Kv3.3, Kv3.4, Kv7.2/7.3 и Nav 1.7.

В одном из вариантов осуществления модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 является селективным по сравнению с Kv3.4. А именно модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 может обеспечивать увеличение обуславливаемых Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 клеточных токов в среднем по меньшей мере на 20% больше, чем наблюдали для 50 мкМ N-циклогексил-N-[(7,8-диметил-2-оксо-1,2-дигидро-3-хинолинил)метил]-N'-фенилкарбамата, но обеспечивает увеличение обуславливаемого Kv3.4 тока менее чем на 10% (например, менее 5%, в частности менее 1% или соответственно отсутствие увеличения) в той же концентрации (например, 10 мкМ).

В одном из вариантов осуществления модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 является селективным по сравнению с Kv7.2/7.3. А именно модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 может опосредовать увеличение обуславливаемых Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 клеточных токов в среднем по меньшей мере на 20% больше, чем наблюдали для 50 мкМ N-циклогексил-N-[(7,8-диметил-2-оксо-1,2-дигидро-3-хинолинил)метил]-N'-фенилкарбамата, но обеспечивает увеличение обуславливаемого Kv7.2/7.3 тока менее чем на 10% (например, менее 5%, особенно менее 1% или соответственно отсутствие увеличения) в той же концентрации (например, 10 мкМ).

В одном из вариантов осуществления модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 является селективным по сравнению с Nav1.7. А именно модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 может опосредовать увеличение опосредуемых Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 клеточных токов в среднем по меньшей мере на 20% больше, чем наблюдали для 50 мкМ N-циклогексил-N-[(7,8-диметил-2-оксо-1,2-дигидро-3-хинолинил)метил]-N'-фенилкарбамата, но обеспечивает увеличение обуславливаемого Nav1.7 тока менее чем на 10% (например, менее 5%, особенно менее 1% или соответственно отсутствие увеличения) в той же концентрации (например, 10 мкМ).

Показания с болью.

Как используют в настоящем документе, термин "лечение" включает контроль, облегчение, снижение или модуляцию болезненного состояния или его симптомов.

Термин "профилактика" используют в настоящем документе для обозначения предотвращения

симптомов заболевания или нарушения у индивидуума или предотвращения рецидива симптомов заболевания или нарушения у пораженного индивидуума, и он не ограничен полным предотвращением заболевания или нарушения.

В одном из вариантов осуществления изобретения боль, которую можно опосредовать модулятором каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3, представляет собой хроническую боль. В другом варианте осуществления изобретения боль представляет собой острую боль.

В одном из вариантов осуществления изобретения показания с болью, которые можно опосредовать модулятором каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3, представляют собой ноцицептивную, нейропатическую, связанную с воспалением или смешанную боль.

Ноцицептивная боль представляет собой нормальный ответ на вредоносное поражение или повреждение таких тканей, как кожа, мышцы, внутренние органы, суставы, сухожилия или кости. Примеры ноцицептивной боли, которые составляют часть изобретения, включают соматическую боль: скелетно-мышечную (боль в суставах, миофасциальная боль) или кожную, которая часто хорошо локализована; или висцеральную боль: полые органы или гладкие мышцы.

Нейропатическая боль представляет собой боль, инициируемую или вызываемую первичным поражением или заболеванием соматосенсорной нервной системы. Сенсорные расстройства составляют диапазон от дефицита, ощущаемого как парестезия (онемение), до гиперчувствительности (гипералгезия или аллодиния) и дизестезии (покалывания и другие ощущения). Примеры нейропатической боли, которые составляют часть изобретения, в качестве неограничивающих примеров включают диабетическую нейропатию, постгерпетическую невралгию, боль при повреждении спинного мозга, фантомную боль конечности (постампутационную) и центральную боль после инсульта. Другие причины нейропатической боли включают травму, химиотерапию и воздействие тяжелых металлов.

Связанная с воспалением боль является результатом активации и сенсибилизации пути ноцицептивной боли рядом медиаторов, высвобождаемых в участке воспаления в ткани. Медиаторы, которые участвуют в связанной с воспалением боли в качестве ключевых участников, представляют собой провоспалительные цитокины, такие как IL-1-альфа, IL-1-бета, IL-6 и TNF-альфа, хемокины, активные формы кислорода, вазоактивные амины, липиды, АТФ, кислоты и другие факторы, высвобождаемые инфильтрирующимися лейкоцитами, клетками эндотелия сосудов или резидентными для тканей тучными клетками. Примеры причин, связанной с воспалением боли, которые составляют часть изобретения, включают аппендицит, ревматоидный артрит, воспалительное заболевание кишечника и опоясывающий лишай.

Смешанная боль относится к характеризующимся болью состояниям или нарушениям, которые не поддаются простой классификации. Современное понимание лежащих в их основе механизмов все еще остается рудиментарным, несмотря на то, что хорошо известны конкретные лекарственные средства против этих нарушений; они включают боль при злокачественных опухолях, мигрень и другие первичные головные боли и общие боли типа фибромиалгии.

Соответственно конкретные показания с болью, которые можно опосредовать модулятором каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3, представляют собой нейропатическую боль и/или связанную с воспалением боль.

Нейропатическая боль, которую можно облегчать модулятором каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3, может представлять собой центральную или периферическую нейропатическую боль. Центральную нейропатическую боль вызывает повреждение или дисфункция центральной нервной системы (ЦНС), которая в качестве неограничивающих примеров включает головной мозг, ствол головного мозга и спинной мозг. Периферическую нейропатическую боль вызывает повреждение или дисфункция периферической нервной системы, которая в качестве неограничивающих примеров включает чувствительные нервы, двигательные нервы и вегетативные нервы. В одном из вариантов осуществления нейропатическая боль представляет собой центральную нейропатическую боль. В другом варианте осуществления нейропатическая боль представляет собой периферическую нейропатическую боль.

Боль представляет собой субъективное состояние и в клинических условиях ее, как правило, определяют по самоощущению пациента. Таким образом, изменить и количественно определить болевой порог может являться сложным. Как правило, для хронической боли используют субъективную 11-бальную шкалу, где 0 представляет собой отсутствие боли и 10 представляет собой наиболее представимую боль. Как правило, индивидуумы регистрируют их наибольшую боль в течение данного периода, как правило, в течение суток. Также регистрируют минимальный средний исходный уровень, и ответ на лечение определяют относительно исходного уровня, например, можно наблюдать снижение по меньшей мере на 10, 20, 30, 40 или 50% боли от исходного базового уровня.

Так как реакция индивидуумов на лекарственные средства может варьировать, не у всех индивидуумов можно наблюдать снижение боли от исходного уровня. Таким образом, соответственно снижение наблюдают по меньшей мере у 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90% или всех тестируемых индивидуумов.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения при введении модулятора Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3, такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли и/или производного, нуждающемуся в этом индивидууму наблюдают снижение по меньшей мере 10, 20, 30, 40

или 50% боли от исходного уровня.

Введение модулятора Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3 можно проводить до прогнозируемого возникновения боли или после возникновения боли. Модулятор Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3, такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное, можно вводить в случаях, когда полагают, что развитие заболевания или нарушения может приводить к возрастанию боли, испытываемой индивидуумом. Модулятор Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3, такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное, можно вводить нуждающемуся в этом индивидууму в случаях, когда индивидуум уже испытывает боль.

При условии, что лечение необходимо, лечение нуждающегося в этом индивидуума можно продолжать, например, в течение 1 суток, 1 недели, 2 недель, 3 недель, 1 месяца, 6 месяцев, 1 года, более 1 года, более 2 лет, более 5 лет или более 10 лет. Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения терапевтически эффективное количество модулятора Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3, такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное, вводят нуждающемуся в этом индивидууму в течение периода от 1 суток до 1 месяца, от 1 недели до 3 месяцев, от 1 месяца до 6 месяцев, от 3 месяцев до 1 года или более 1 года.

Снижение боли у индивидуума можно определять, оценивая реакцию на внешние стимулы, такие как механические или температурные (например, холод) стимулы (так, как описано в экспериментальном разделе). Снижение можно оценивать в виде процента снижения (рассчитываемого посредством определения порогов пораженного болью участка до и после дозы с не пораженным болью участком, например, как более подробно описано для анализа данных в экспериментальном разделе) или определяя пороги отдергивания в пораженном болью участке. Предпочтительно используют расчет процента снижения.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения чувствительность к боли (например, нейропатической боли или связанной с воспалением боли) после введения терапевтически эффективного количества модулятора Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3, такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное, снижается более чем на 20%, более чем на 30%, более чем на 40%, более чем на 50%, более чем на 60%, более чем на 70%, более чем на 80% или более чем на 90%. Соответственно чувствительность к боли снижается более чем на 80% или более чем на 90%.

Индивидуумы, получающие модулятор Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3, могут испытывать вторичные положительные эффекты, такие как один или несколько из улучшенной работоспособности, настроения, сна, качества жизни, уменьшенного времени отдыха.

Соответственно профилактика или лечение боли не включает профилактику или лечение расстройства сна вследствие нейропатической боли. Соответственно профилактика или лечение боли не включает профилактику или лечение расстройства сна вследствие боли.

Введение.

Как правило, для применения в терапии модуляторы вводят в виде фармацевтической композиции. Изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное) и фармацевтически приемлемый носитель.

Модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 можно вводить любым удобным способом, например посредством перорального, парентерального, буккального, сублингвального, назального, ректального, интратекального или трансдермального введения и с помощью соответственно адаптированных фармацевтических композиций.

Модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3, активный при пероральном введении, можно формулировать в виде жидкостей или твердых материалов, например в виде сиропов, суспензий, эмульсий, таблеток, капсул или таблеток-леденцов.

Как правило, жидкие композиции состоят из суспензии или раствора активного ингредиента в подходящем жидком носителе(ях), например водном растворителе, таком как вода, этанол или глицерин, или неводном растворителе, таком как полиэтиленгликоль или масло. Состав также может содержать суспендирующее средство, консервант, ароматизатор и/или краситель.

Композицию в форме таблетки можно получать с использованием любого подходящего фармацевтического носителя(ей), как правило, используемых для получения твердых композиций, такого как стearат магния, крахмал, лактоза, сахароза и целлюлоза.

Композицию в форме капсулы можно получать с использованием стандартных способов инкапсуляции, например можно получать содержащие активный ингредиент гранулы с использованием стандартных носителей, а затем заполнять ими твердые желатиновые капсулы; альтернативно можно получать дисперсию или суспензию с использованием любого подходящего фармацевтического носителя(ей), например водных камедей, различных видов целлюлозы, силикатов или масел, и затем заполнять этой дисперсией или суспензией мягкие желатиновые капсулы.

Типичные парентеральные композиции состоят из раствора или суспензии активного ингредиента в стерильном водном носителе или парентерально приемлемом масле, например полиэтиленгликоле, поливинилпирролидоне, лецитине, арахисовом масле или кунжутном масле. Альтернативно, раствор можно лиофилизировать, а затем непосредственно перед введением восстанавливать подходящим раствори-

телем.

Композиции для назального введения в целях удобства можно формулировать в виде аэрозолей, капель, гелей и порошков. Как правило, составы аэрозолей содержат раствор или высокодисперсную суспензию активного ингредиента в фармацевтически приемлемом водном или неводном растворителе и, как правило, их предоставляют в количествах для одной дозы или нескольких доз в стерильной форме в герметичном контейнере, который может принимать форму картриджа или наполняемого резервуара для применения с использованием распыляющего устройства.

Альтернативно герметичный контейнер может представлять собой дозирующее устройство одно-разового применения, такое как назальный ингалятор с однократной дозой или аэрозольный дозатор, оснащенный дозирующим клапаном. Когда лекарственная форма включает аэрозольный дозатор, она содержит пропеллент, который может представлять собой сжатый газ, например воздух, или органический пропеллент, такой как фторхлорзамещенные углеводороды или гидрофторуглерод. Также аэрозольные лекарственные формы могут принимать форму помповых распылителей.

Композиции, подходящие для буккального или сублингвального введения, включают таблетки, таблетки-леденцы и пастилки, где активный ингредиент формулируют с носителем, таким как сахар и гуммиарабик, трагакант или желатин и глицерин.

Композиции для ректального введения в целях удобства получают в форме суппозитория, содержащих общепринятую основу для суппозитория, такую как масло какао.

Композиции, подходящие для трансдермального введения, включают мази, гели и пластыри. В одном из вариантов осуществления композиция находится в стандартной лекарственной форме, такой как таблетка, капсула или ампула.

В зависимости от способа введения композиция может содержать от 0,1 до 100 мас.%, например от 10 до 60 мас.%, активного вещества. В зависимости от способа введения композиция может содержать от 0 до 99 мас.%, например 40 до 90 мас.%, носителя. В зависимости от способа введения композиция может содержать от 0,05 до 1000 мг, например от 1,0 до 500 мг, активного вещества. В зависимости от способа введения композиция может содержать от 50 до 1000 мг, например от 100 до 400 мг, носителя. Доза соединения, используемая при лечении указанных выше нарушений, типичным образом варьирует в зависимости от тяжести нарушения, массы пациента и других подобных факторов. Однако в качестве общего руководства подходящие стандартные дозы могут составлять от 0,05 до 1000 мг, более соответственно от 1,0 до 500 мг, и такие стандартные дозы можно вводить более чем раз в сутки, например два или три раза в сутки. Такое лечение можно продолжать в течение нескольких недель или месяцев.

В одном из вариантов осуществления изобретения модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 используют в комбинации с дополнительным терапевтическим средством или средствами, где терапевтическое средство выбирают из группы, состоящей из нестероидных противовоспалительных лекарственных средств (NSAID), парацетамола, прегабалина, габапентина и опиоидов. Когда модуляторы используют в комбинации с другими терапевтическими средствами, соединения можно вводить последовательно или одновременно любым удобным маршрутом. Альтернативно соединения можно вводить раздельно.

Указанные выше комбинации в целях удобства можно предоставлять для применения в форме фармацевтического состава. Однако отдельные компоненты таких комбинаций можно вводить последовательно или одновременно в раздельных или комбинированных фармацевтических составах. Отдельные компоненты комбинаций также можно вводить раздельно, одним и тем же или разными маршрутами.

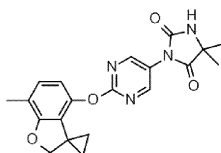
Специалисты в данной области легко определяют соответствующие дозы. Модулятор Kv3.1/Kv3.2/Kv3.3, такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное, вводят соответственно на уровне дозирования, который позволяет достигать требуемого медицинского результата без чрезмерных побочных эффектов, а именно в безопасной и эффективной дозе. Пример доз могут находиться в диапазоне от 10 мг до 3 г в сутки, например, от 200 мг до 1,5 г в сутки.

Фармацевтическая композиция по изобретению, которую можно получать посредством смешивания соответственно при температуре окружающей среды и атмосферном давлении, как правило, адаптирована для перорального, парентерального или ректального введения и, фактически, может находиться в форме таблеток, капсул, пероральных жидких препаратов, порошков, гранул, таблеток-леденцов, восстанавливаемых порошков, инъеклируемых или вливаемых растворов или суспензий или суппозитория. Как правило, предпочтительны перорально вводимые композиции.

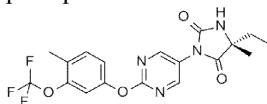
Примеры

Изобретение проиллюстрировано с использованием соединений, описанных ниже:

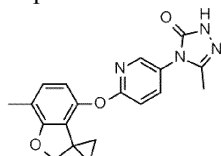
Соединение 1. 5,5-Диметил-3-[2-(7-метилспиро[2H-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил)оксипиримидин-5-ил]имидазолидин-2,4-дион - пример 58 в WO 2012/076877



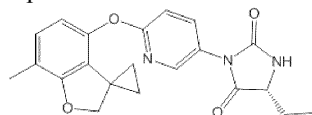
Соединение 2. (5R)-5-Этил-5-метил-3-[2-(4-метил-3-[(трифторметил)окси]фенил)окси]-5-пиримидинил]-2,4-имидазолидиндион - пример 64 в WO 2011/069951



Соединение 3. 5-Метил-4-{6-[(7-метилспиро[1-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил)окси]пиридин-3-ил}-2,4-дигидро-3Н-1,2,4-триазол-3-он пример 14 в WO 2013/175215



Соединение 4. (5R)-5-Этил-3-[6-(7-метилспиро[2Н-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил)окси]-3-пиридил]имидазолидин-2,4-дион - пример 6 в WO 2013/083994



Пример 1. Определение модуляции каналов Kv3.

Способность соединений по изобретению модулировать потенциалозависимые калиевые каналы подтипов Kv3.3/Kv3.2/Kv3.1 можно определять с использованием описываемого ниже анализа. Аналогичные способы можно использовать для исследования способности соединений по изобретению модулировать каналы других подтипов.

Клеточная биология.

Для анализа действия соединений на каналы Kv3.3 человека (hKv3.3) получали стабильную линию клеток, экспрессирующих каналы Kv3.3 человека, посредством трансфекции клеток китайского хомяка (CHO)-K1 вектором pBacMire KCNC-3. Клетки культивировали в DMEM/F12 (Gibco), дополненной 10%-ной эмбриональной телячьей сывороткой (Gibco), 1× заменимыми аминокислотами (Invitrogen) и генетицином (G418) 400 мкг/мл. Клетки выращивали и поддерживали при 37°C в увлажненной среде, содержащей 5% CO₂ в воздухе.

Для анализа действия соединений на каналы Kv3.2 человека (hKv3.2) получали стабильную линию клеток, экспрессирующих каналы Kv3.2 человека (hKv3.2), посредством трансфекции клеток китайского хомяка (CHO)-K1 вектором pCIN5-hKv3.2. Клетки культивировали в среде DMEM/F12, дополненной 10%-ной эмбриональной телячьей сывороткой (Gibco), 1× заменимыми аминокислотами (Invitrogen) и 100 мкг/мл гигромицина-В (Invitrogen). Клетки выращивали и поддерживали при 37°C в увлажненной среде, содержащей 5% CO₂ в воздухе.

Для анализа действие соединений на каналы Kv3.1 человека (hKv3.1), клетки CHO/Gam/E1A-clone22 с условным обозначением CGE22 трансдуцировали с использованием реагента hKv3.1 BacMam. Эту линию клеток конструировали как улучшенного хозяина на основе CHO-K1 с усиленной экспрессией рекомбинантного белка по сравнению с CHO-K1 дикого типа. Линию клеток получали после трансдукции клеток CHO-K1 вирусом BacMam, экспрессирующим белок аденовирусов Gam1, и отбора с генетицином G418 с получением стабильной линии клеток, CHO/Gam-A3. Клетки CHO/Gam-A3 трансфицировали pCDNA3-E1A-Нугро с последующим отбором на гигромицине В и сортировкой FACS с получением одноклеточных клонов. Затем вирусы BacMam с люциферазой и BacMam с GFP использовали в исследованиях с транзитной трансдукцией с отбором клона по наибольшей трансдукции BacMam и экспрессии рекомбинантного белка. Клетки CGE22 культивировали в той же среде, какую использовали для стабильной линии клеток CHO-K1 hKv3.2, с добавлением 300 мкг/мл гигромицина В и 300 мкг/мл G418. Все другие условия были идентичны условиям для клеток CHO-K1 hKv3.2. За сутки перед экспериментом 10 миллионов клеток CGE22 высевали во флакон T175 для культивирования и добавляли реагент hKv3.1 BacMam (pFBM/человек Kv3.1) (MOI 50). Трансдуцированные клетки использовали через 24 ч.

Получение клеток для экспериментов IonWorks Quattro™.

В сутки эксперимента клетки забирали из инкубатора и удаляли среду для культивирования. Клетки отмывали 5 мл PBS Дульбекко (DPBS) без кальция и магния и отделяли добавлением 3 мл версена (Invitrogen, Italy) с последующей кратковременной инкубацией при 37°C в течение 5 мин. По колбе постукивали для отделения клеток и добавляли 10 мл DPBS, содержащего кальций и магний, с получением кле-

точной суспензии. Затем клеточную суспензию помещали в 15-мл центрифужную пробирку и центрифугировали в течение 2 мин при 1200 об/мин. После центрифугирования удаляли супернатант и клеточный осадок ресуспендировали в 4 мл DPBS, содержащего кальций и магний, с использованием 5-мл пипетки с растворением осадка. Затем изменяли объем клеточной суспензии с получением концентрации клеток для анализа приблизительно 3 миллиона клеток на мл.

Все растворы, добавляемые в клетки, предварительно нагревали до 37°C.

Электрофизиология.

Эксперименты проводили при комнатной температуре с использованием технологии в области электрофизиологии IonWorks Quattro™ с плоской матрицей (Molecular Devices Corp.) с PPC PatchPlate™. Протоколы стимуляции и получение данных проводили с использованием микрокомпьютера (Dell Pentium 4). Сопротивление на отверстиях плоского электрода (R_p) определяли посредством приложения скачка напряжения 10 мВ в каждой лунке. Эти измерения проводили до добавления клеток. После добавления клеток и формирования слоя проводили тестирование слоя посредством приложения скачка напряжения от -80 до -70 мВ в течение 160 мс. После этого на внутриклеточную поверхность электрода добавляли раствор амфотерицина В для достижения доступа к внутриклеточному пространству. Клетки поддерживали при -70 мВ. Во всех экспериментах проводили вычитание тока утечки, подавая предварительные импульсы гиперполяризации в течение 50 мс (10 мВ), с вызовом токов утечки с последующим периодом исходного потенциала в течение 20 мс до тестовых импульсов. Для анализов hKv3.2 и hKv3.1 от исходного потенциала -70 мВ первый тестовый импульс до -15 мВ прилагали в течение 100 мс с последующими дополнительными 100 мс при -70 мВ, второй импульс прилагали при 40 мВ в течение 50 мс. Затем клетки дополнительно 100 мс поддерживали при -100 мВ, а затем проводили линейное изменение напряжения от -100 до 40 мВ в течение 200 мс. Для анализов hKv3.3 от исходного потенциала -70 мВ первый тестовый импульс до 0 мВ прилагали в течение 500 мс с последующими дополнительными 100 мс при -70 мВ, второй импульс до 40 мВ прилагали в течение 200 мс. Эти более длительные тестовые импульсы использовали для исследования инактивации каналов hKv3.3.

Протокол подачи тестовых импульсов можно проводить в отсутствие (анализ до добавления) и присутствии (анализ после добавления) тестируемого соединения. Анализы до и после добавления можно разделять добавлением соединения с последующей инкубацией в течение 3 мин.

Растворы и лекарственные средства.

Внутриклеточный раствор содержал следующее (в mM): глюконат К 100, KCl 54, MgCl₂ 3,2, HEPES 5, доведение pH до 7,3 KOH. Раствор амфотерицина В получали в виде исходного раствора 50 мг/мл в DMSO и разбавляли до конечной рабочей концентрации 0,1 мг/мл во внутриклеточном растворе. Внешний раствор представлял собой фосфатно-солевой буфер Дульбекко (DPBS) и содержал следующее (в mM): CaCl₂ 0,90, KCl 2,67, KH₂PO₄ 1,47, MgCl₂·6H₂O 0,493, NaCl 136,9, Na₂PO₄ 8,06 с pH 7,4.

Применяемые по изобретению соединения (или эталонные соединения, такие как N-циклогексил-N-[(7,8-диметил-2-оксо-1,2-дигидро-3-хинолинил)метил]-N'-фенилкарбамат, растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) в исходной концентрации 10 mM. Эти растворы дополнительно разводили DMSO с использованием Biomek FX (Beckman Coulter) в 384-луночном планшете для соединений. Каждое разведение (в объеме 1 мкл) переносили в другой планшет для соединений и добавляли внешний раствор, содержащий 0,05%-ную плюрониловую кислоту (66 мкл). Добавляли 3,5 мкл из каждого содержащего соединения по изобретению планшета и инкубировали с клетками в течение эксперимента IonWorks Quattro™. Разведение для конечного анализа составляло 200 и конечные концентрации соединений составляли в диапазоне от 50 мкМ до 50 нМ.

Анализ данных.

Для устранения несоответствующих клеток из дальнейшего анализа зарегистрированные данные анализировали и фильтровали с использованием сопротивления слоя (>20 MΩ) и амплитуды пикового тока (>500 пкА при скачке напряжения 40 мВ) в отсутствие соединения. Для анализов hKv3.2 и hKv3.1 для определения положительного влияния модуляции каждым соединением использовали парные сравнения вызванных токов до добавлений и после добавлений лекарственных средств, измеряемых при скачке напряжения -15 мВ. Опосредуемые каналами Kv3 исходящие токи определяли на основании средней амплитуды тока в течение конечных 10 мс импульса напряжения -15 мВ минус средний исходный ток при -70 мВ в течение периода 10 мс непосредственно перед скачком -15 мВ. Эти токи каналов Kv3 после добавления тестируемого соединения затем сравнивали с токами, регистрируемыми до добавления соединения. Данные нормализовали на максимальное действие эталонного соединения (50 мкМ N-циклогексил-N-[(7,8-диметил-2-оксо-1,2-дигидро-3-хинолинил)метил]-N'-фенилкарбамата) и на действие контрольного носителя (0,5% DMSO). Нормализованные данные анализировали с использованием программного обеспечения ActivityBase или Excel. Концентрацию соединения, требуемую для увеличения токов на 50% от максимального увеличения, вызываемого эталонным соединением (EC₅₀), определяли посредством аппроксимации данных концентрация-ответ с использованием четырехпараметрической логистической функции в ActivityBase. Для анализов hKv3.3 проводили парные сравнения вызванных токов до и после добавлений, измеряемые для скачка 0 мВ, соответствующему пиковому току и затуха-

нию (инактивации) тока в течение тестового импульса 0 мВ (500 мс).

N-циклогексил-N-[(7,8-диметил-2-оксо-1,2-дигидро-3-хинолинил)метил]-N'-фенилкарбамат получали в ASINEX (регистрационный номер 552311-06-5).

Все примеры соединений тестировали в указанном выше анализе hKv3.1 и hKv3.2, определяя потенцирование Kv3.1 или Kv3.2 или Kv3.1 и Kv3.2. Положительные модуляторы Kv3.1 и/или Kv3.2 в указанном выше анализе обеспечивали увеличение клеточных токов в среднем по меньшей мере на 20% больше, чем наблюдали для 50 мкМ N-циклогексил-N-[(7,8-диметил-2-оксо-1,2-дигидро-3-хинолинил)метил]-N'-фенилкарбамата.

Выявлено, что pEC_{50} соединения 1 для Kv3.3 составляет 5,17. Выявлено, что pEC_{50} соединения 2 для Kv3.3 составляет 4,93. Выявлено, что pEC_{50} соединения 3 для Kv3.3 составляет 4,76.

Соединение 2 при 12,5 мкМ продуцировало среднее увеличение пикового тока Kv3.3 человека при 0 мВ в размере 113% (n=4). Соединение 1 при 12,5 мкМ продуцировало среднее увеличение пикового тока Kv3.3 человека при 0 мВ в размере 192% (n=2).

Соединение 4 при 12,5 мкМ продуцировало среднее увеличение пикового тока Kv3.3 человека при 0 мВ в размере 365% (n=2).

Вторичный анализ данных после анализов hKv3.1, hKv3.2 и hKv3.3, описанных в пример 1, можно использовать для определения действия соединений на скорость нарастания тока от начала деполяризующих импульсов напряжения. Уровень действия соединения можно определять на основании временной постоянной ($\tau_{акт}$), получаемой на основе нелинейной аппроксимации с использованием приводимого ниже уравнения, возрастания токов в Kv3.1, Kv3.2 и Kv3.3 с начала деполяризующего импульса напряжения -15 мВ.

$$Y = (Y_0 - Y_{max}) * \exp(-K * X) + Y_{max}$$

где

Y_0 представляет собой значение тока в начале деполяризующего импульса напряжения;

Y_{max} представляет собой ток на плато;

K представляет собой константу скорости реакции, а $\tau_{акт}$ представляет собой константу времени активации, которая обратна K .

Подобным образом, также можно исследовать действие соединений на время, затрачиваемое токами Kv3.1, Kv3.2 или Kv3.3, до релаксации при закрытии каналов в конце деполяризующих импульсов напряжения -15 мВ. В этом последнем случае уровень действия соединения на закрытие канала можно определять на основе временной константы ($\tau_{деакт}$) при нелинейной аппроксимации тока релаксации ("следового тока") непосредственно после окончания деполяризующего импульса напряжения.

Каналы Kv3.1, Kv3.2 и Kv3.3 для обеспечения высокой частоты возникновения у нейронов потенциалов действия должны активироваться и деактивироваться очень быстро (Rudy et al., 2001). Вероятно, что замедление активации задерживает начало реполяризации при потенциале действия; замедление деактивации может приводить к гиперполяризующим токам, которые снижают возбудимость нейрона и увеличивают время, когда у нейрона может произойти следующий потенциал действия. Вероятно, что совместно эти два замедляющих вида действия на активацию и деактивацию каналов приводят к не увеличению, а к уменьшению способности нейронов к высоким частотам возбуждения. Таким образом, соединения, которые обладают таким замедляющим действием на каналы Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3, эффективно действуют в качестве негативных модуляторов каналов, приводя к снижению возбудимости нейронов. Последнее действие показано для определенных соединений, описанных в WO 2011/069951, где можно наблюдать заметное увеличение $\tau_{акт}$ на основе данных, полученных на основе взаимодействий "быстрой возбудимости" в коре головного мозга крысы электрофизиологическими способами, *in vitro*. Добавление соответствующих соединений снижает способность нейронов к возбуждению в ответ на серию деполяризующих импульсов при 300 Гц.

Таким образом, хотя определенные соединения в анализе рекомбинантных клеток в примере 1 можно идентифицировать как действующие в качестве положительных модуляторов, эти соединения с заметным увеличением значения $\tau_{акт}$ могут снижать способность нейронов в нативных тканях к высокой частоте возбуждения.

Пример 2. Оценка действия модуляторов каналов Kv3.1/Kv3.2 на чувствительность к механическим и холодовым стимулам в моделях нейропатической и связанной с воспалением боли у крыс.

Эффективность соединений 1, 2, 3 и 4 исследовали с использованием моделей нейропатической и/или стойкой связанной с воспалением боли на крысах.

Материалы и методы.

Индивидуумы включали самцов крыс Wistar Hanover по 6 животных на группу (225±2 г для исследований соединения 1 и исследований соединения 2; 214±1 г для исследований соединения 3; 236±1 г для исследований соединения 4).

Носитель (12% каптизол®; 0,5% мас./об. НРМС и 0,1% мас./об. Tween-80; 5 мл/кг посредством интраперитонеального маршрута) получали с использованием не более чем за неделю до использования автоклавируемой деионизированной воды.

Подробности проводимых исследований приведены в таблице.

**Режим дозирования в моделях нейропатической
и связанной с воспалением боли**

Соединение	Нейропатическая боль		Связанная с воспалением боль	
	Исследование 1	Исследование 2		
Соединение 1	30 мг/кг (и/п) ¹ 60 мг/кг (и/п)	10 мг/кг (и/п) 30 мг/кг (и/п) 60 мг/кг (и/п)	10 мг/кг (и/п) 30 мг/кг (и/п) 60 мг/кг (и/п)	30 мг/кг (и/п)
Соединение 2	30 мг/кг (и/п) 60 мг/кг (и/п)	10 мг/кг (и/п) 30 мг/кг (и/п) 60 мг/кг (и/п)	10 мг/кг (и/п) 30 мг/кг (и/п) 60 мг/кг (и/п)	30 мг/кг (и/п)
Соединение 3	30 мг/кг (и/п) 60 мг/кг (и/п)	N/A	10 мг/кг (и/п) 30 мг/кг (и/п) 60 мг/кг (и/п)	30 мг/кг (и/п)
Соединение 4	N/A	N/A	3 мг/кг (и/п) 10 мг/кг (и/п) 30 мг/кг (и/п)	10 мг/кг (и/п)

¹ - (и/п) интраперитонеальное введение.

Контроль для модели нейропатической боли представлял собой ламотригин, вводимый в концентрации 30 мг/кг посредством пероральной доставки. Контроль для модели связанной с воспалением боли представлял собой диклофенак, вводимый в концентрации 30 мг/кг посредством пероральной доставки. Статистический анализ проводили с использованием одностороннего ANOVA, а сравнения проводили с соответствующей по времени группе носителя с использованием критерия HSD Тьюки, где * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$.

Экспериментальный протокол.

Все экспериментальные процедуры одобрены после рассмотрения комитетом учреждения по этике использования животных в исследовании, и их проводили в соответствии UK Home Office Animal Procedures Act (1986).

Обрабатываемые группы рандомизировали и формировали слепым способом. Использовали группы по 6 крыс.

Нейропатическая боль.

Нейропатическую боль индуцировали посредством частичной перевязки седалищного нерва. В кратком изложении крыс анестезировали (ингаляция изофлурана/O₂), выделяли левый седалищный нерв на уровне середины бедра посредством небольшого надреза и от 1/3 до 1/2 толщины нерва прочно перевязывали посредством шелковой хирургической нити 7,0. Рану закрывали хирургическим клеем. Животным позволяли восстанавливаться и тестировали через 12-15 суток после проведения операции.

Пороги или задержки отдергивания определяли на ипсилатеральных (с перевязкой) и контрлатеральных (без перевязки) лапах перед (перед дозированием), а затем через 24 ч после введения лекарственного средства или носителя.

Измерения поведения перед дозированием проводили, измеряя отдергивания лап через 14 суток после перевязки нерва; перед началом ингаляционной обработки лекарственным средством. После обработки проводили дополнительные замеры через 1, 3, 6 и 24 ч после введения.

Боль при воспалении.

В модели стойкой связанной с воспалением боли исследовали механическую гипералгезию.

Гипералгезию индуцировали посредством внутриводоподшвенной инъекции (25 мкл) полного адьюванта Фрейнда (FCA) в левую заднюю лапу.

Для анализа действия тестируемого соединения измеряли пороги или задержки отдергивания лап на ипсилатеральных (с инъекцией FCA) и контрлатеральных (без инъекции) лапах до (до обработки) и через 24 ч после инъекции FCA (перед дозированием), а затем через 1, 3, 6 и 24 ч после введения лекарственного средства или носителя.

Поведенческие тесты.

В модели нейропатической боли механическую гипералгезию исследовали, определяя порог отдергивания лапы (PWT) при увеличивающемся механическом усилии, прилагаемом к дорзальной поверхности лапы крысы, с использованием Analgesymeter (Ugo-Basile, Milan), оборудованного клиновидным зондом (площадь 1,75 мм²). Предельное граничное значение устанавливали на 250 г и окончанием считали отдергивание задней лапы. Проводили определения отдергивания ипсилатеральной и контрлатеральной лап.

Холодовую чувствительность оценивали с использованием коммерчески доступной охлаждаемой плиты (Ugo Basile, Milan). Охлаждаемой плите до тестирования позволяли стабилизироваться в течение 5 мин при установленной температуре. Задержку отдергивания (PWL) лапы определяли с установкой охлаждаемой плиты на 10°C. Животных немного удерживали и каждую заднюю лапу по очереди помещали на поверхность охлаждаемой плиты. Конечной точкой считали отдергивание лапы и регистрировали как задержку отдергивания для ипсилатеральной и контрлатеральной лап. Для каждой лапы использовали

максимальное граничное значение 30 с.

Общее обследование.

В дополнение к поведенческой регистрации боли каждую крысу наблюдали на всем протяжении исследования на изменения общего поведения.

Анализ данных.

Нейропатическая боль.

Данные выражали в виде порога отдергивания (g) или задержки отдергивания (s) и процент снижения рассчитывали по следующей формуле:

$$\% \text{ снижения} = \frac{\text{порог после дозы ипсилатеральной конечности} - \text{порог перед дозой ипсилатеральной конечности}}{\text{порог после дозы контралатеральной конечности} - \text{порог перед дозой контралатеральной конечности}} \times 100$$

Связанная с воспалением боль.

Данные выражали в виде порога отдергивания (g) или задержки отдергивания (s) и процента снижения, рассчитываемого по следующей формуле:

$$\% \text{ снижения} = \frac{\text{PWT/L после дозы для левой лапы} - \text{PWT/L перед дозой для левой лапы}}{\text{PWT/L для левой лапы без обработки} - \text{PWT/L перед дозой для левой лапы}} \times 100$$

Статистический анализ проводили на основании регистрации порога отдергивания с использованием ANOVA с повторяющимися измерениями с последующим критерием HSD Тьюки. Уровень статистической значимости устанавливали на $p < 0,05$.

Результаты.

Соединение 1. Исследование нейропатической боли 1.

Частичная перевязка седалищного нерва приводила к значимому снижению порога отдергивания при механическом стимуле и к задержке отдергивания при холодовом стимуле пораженной лапы. Через 14 суток после перевязки нерва определяли значения порога перед дозой 66 ± 1 г для ипсилатеральных лап по сравнению со 106 ± 1 г для контралатеральных лап (фиг. 1a, 1b). Величины задержек после холодового стимула определяли как $7,0 \pm 0,2$ с для ипсилатеральных лап по сравнению с $10,9 \pm 0,2$ с для контралатеральных лап (фиг. 2a, 2b).

Соединение 1 обеспечивало снижение механической (фиг. 1a, 1c) и холодовой чувствительности (фиг. 2a, 2c) с быстрым началом действия и хорошим разделением дозы.

Пиковое снижение механической чувствительности наблюдали через 3 ч после дозирования (51% при 30 мг/кг и 68% при 60 мг/кг). Холодовая чувствительность восстанавливалась через 3 ч после дозирования на 52 и 125% при 30 и 60 мг/кг соответственно. Меньшая доза соединения при механической гипералгезии была только статистически активна. При 60 мг/кг соединение через 6 ч после дозирования было все еще эффективно. Положительный контроль, ламотригин, обеспечивал пиковые снижения механической и холодовой чувствительности на 65% (через 3 ч после дозирования) и 58% (через 1 ч после дозирования) соответственно.

При использовании соединения 1 в дозе 60 мг/кг наблюдали значимые изменения отдергиваний и задержек контралатеральных лап и крысы, обрабатываемых соединением 1, были немного вялыми в моменты времени через 1 и 3 ч после дозирования (обе дозы).

Исследование нейропатической боли 2.

Частичная перевязка седалищного нерва приводила к значимому снижению порога отдергивания при механическом стимуле и к задержке отдергивания при холодовом стимуле пораженной лапы. Через 14 суток после перевязки нерва определяли значения порога перед дозой 66 ± 1 г для ипсилатеральных лап по сравнению со 104 ± 1 г для контралатеральных лап (фиг. 3a, 3b). Величины задержек после холодового стимула определяли как $6,8 \pm 0,1$ с для ипсилатеральных лап по сравнению с $10,8 \pm 0,2$ с для контралатеральных лап (фиг. 4a, 4b).

Соединение 1 обеспечивало зависимое от дозы снижение механической (фиг. 3a, 3c) и холодовой чувствительности (фиг. 4a, 4c) с быстрым началом и длительным действием.

Пиковое снижение механической чувствительности наблюдали через 3 ч после дозирования (31% при 10 мг/кг, 73% при 30 мг/кг и 81% при 60 мг/кг). Холодовая чувствительность восстанавливалась через 3 ч после дозирования на 39, 68 и 76% при 10, 30 и 60 мг/кг соответственно. Положительный контроль, ламотригин, обеспечивал пиковые снижения механической и холодовой чувствительности через 3 ч после дозирования на 67% и 67% соответственно.

При использовании соединения 1 наблюдали незначительные изменения отдергиваний и задержек контралатеральных лап, которые достигали значимости только через 3 ч для механических порогов, и у некоторых обработанных соединением 1 крыс наблюдали небольшую вялость (1/6 при 30 мг/кг и 2/6 при 60 мг/кг).

Исследование связанной с воспалением боли.

Внутриподшвенная инъекция FCA приводила к значимому снижению порога отдергивания при механическом стимуле и к задержке отдергивания при холодовом стимуле пораженной лапы. Средние значения порога без воздействия составляли 105 ± 1 г. Через 24 ч после инъекции FCA значения порога перед дозой для ипсилатеральных лап составляли $65 \pm 1,0$ г по сравнению с $104 \pm 1,0$ г для контралатеральных лап (фиг. 5a, 5b). Средние значения холодовой задержки без воздействия составляли $11,8 \pm 0,2$ с. Че-

рез 24 ч после инъекции FCA значения порога перед дозой для ипсилатеральных лап составляли $7,3 \pm 0,1$ с по сравнению с $11,5 \pm 0,2$ с для контрлатеральных лап (фиг. 6а, 6б).

Соединение 1 обеспечивало зависимое от дозы снижение механической (фиг. 5а, 5с) и холодовой чувствительности (фиг. 6а, 6б) с быстрым началом действия и пиковым снижением через 1-3 ч после дозирования. Пиковое снижение механической чувствительности наблюдали через 1 ч после дозирования для 30 и 60 мг/кг (74 и 92% соответственно) и через 3 ч после дозирования для 10 мг/кг (64% снижение). Пиковое снижение холодовой чувствительности наблюдали через 3 ч после дозирования для 10 и 30 мг/кг (45 и 65% соответственно) и через 1 ч после дозирования для 60 мг/кг (92% снижение). Снижение являлось долго действующим со значимой активностью, все еще наблюдаемой через 6 ч после дозирования: механическая чувствительность и холодовая чувствительности при 60 мг/кг восстанавливались на 45%. Положительный контроль, диклофенак, обеспечивал пиковые снижения механической (1 ч после дозирования) и холодовой (3 ч после дозирования) чувствительности на 64% и 79% соответственно.

Указанные увеличения отдергиваний/задержек контрлатеральных лап наблюдали при использовании соединения 1 при 60 мг/кг. Однако эти изменения варьировали, как представлено величинами ошибок, где только 3/6 животных демонстрировали наличие реакции. Также наблюдали заметную вялость у 2/6 крыс при 30 мг/кг и 4/6 крысы при 60 мг/кг (1-6 ч после дозирования).

Соединение 2. Исследование нейропатической боли 1.

Частичная перевязка седалищного нерва приводила к значимому снижению порога отдергивания при механическом стимуле и к задержке отдергивания при холодном стимуле пораженной лапы. Через 14 суток после перевязки нерва определяли значения порога перед дозой 67 ± 1 г для ипсилатеральных лап по сравнению с 106 ± 1 г для контрлатеральных лап (фиг. 7а, 7б). Величины задержек после холодного стимула определяли как $7,0 \pm 0,2$ с для ипсилатеральных лап по сравнению с $11,3 \pm 0,3$ с для контрлатеральных лап (фиг. 8а, 8б).

Соединение 2 обеспечивало снижение механической (фиг. 7а, 7с) и холодовой чувствительности (фиг. 8а, 8с) с быстрым началом действия и эффективностью, сходной с ламотригином.

Между 2 дозами соединения наблюдали небольшие различия эффективности. Пиковое снижение механической чувствительности наблюдали через 1 ч после дозирования (53% при 30 мг/кг и 47% при 60 мг/кг). Холодовая чувствительность восстанавливалась через 1 ч после дозирования на 42% и 71% при 30 и 60 мг/кг, соответственно, хотя пиковое снижение наблюдали через 3 ч после дозирования для 30 мг/кг (55% снижение). Обе дозы соединения были эффективны через 3 ч, но не через 6 ч после дозирования. Положительный контроль, ламотригин, обеспечивал пиковые снижения механической и холодовой чувствительности через 3 ч после дозирования на 54% и 58% соответственно.

Видимых поведенческих изменений у крыс не наблюдали.

Исследование нейропатической боли 2.

Частичная перевязка седалищного нерва приводила к значимому снижению порога отдергивания при механическом стимуле и к задержке отдергивания при холодном стимуле пораженной лапы. Через 14 суток после перевязки нерва определяли значения порога перед дозой 66 ± 1 г для ипсилатеральных лап по сравнению с 104 ± 1 г для контрлатеральных лап (фиг. 9а, 9б). Величины задержек после холодного стимула определяли как $6,8 \pm 0,1$ с для ипсилатеральных лап по сравнению с $10,8 \pm 0,2$ с для контрлатеральных лап (фиг. 10а, 10б).

Соединение 2 обеспечивало зависимое от дозы снижение механической (фиг. 9а, 9с) и холодовой чувствительности (фиг. 10а, 10с) с быстрым началом действия.

Пиковое снижение механической чувствительности наблюдали через 3 ч после дозирования (31% при 10 мг/кг, 72% при 30 мг/кг и 81% при 60 мг/кг). Холодовая чувствительность восстанавливалась через 3 ч после дозирования на 35, 70 и 95% при 10, 30 и 60 мг/кг соответственно. Положительный контроль, ламотригин, обеспечивал пиковые снижения механической и холодовой чувствительности через 3 ч после дозирования на 67% и 67% соответственно.

При использовании соединения 2 наблюдали небольшие изменения отдергиваний и задержек контрлатеральных лап, которые достигали значимости только через 3 ч для механической чувствительности.

Видимых поведенческих изменений у крыс не наблюдали.

Исследование связанной с воспалением боли.

Внутриподшвенная инъекция FCA приводила к значимому снижению порога отдергивания при механическом стимуле и к задержке отдергивания при холодном стимуле пораженной лапы. Средние значения порога без воздействия составляли 106 ± 1 г. Через 24 ч после инъекции FCA значения порога перед дозой для ипсилатеральных лап составляло $67 \pm 1,0$ г по сравнению с $106 \pm 1,0$ г для контрлатеральных лап (фиг. 11а, 11б). Средние значения холодовой задержки без воздействия составляли $11,1 \pm 0,2$ с. Через 24 ч после инъекции FCA значения порога перед дозой для ипсилатеральных лап составляло $7,9 \pm 0,2$ с по сравнению с $10,7 \pm 0,2$ с для контрлатеральных лап (фиг. 12а, 12б).

Соединение 2 обеспечивало зависимое от дозы снижение механической (фиг. 11а, 11с) и холодовой чувствительности (фиг. 12а, 12с) с быстрым началом действия и пиковым снижением через 1-3 ч после

дозирования.

Пиковое снижение механической чувствительности наблюдали через 3 ч после дозирования (46% при 10 мг/кг и 67% при 60 мг/кг). Пиковое снижение холодовой чувствительности наблюдали через 1 ч после дозирования (96% при 60 мг/кг) и наблюдали через 3 ч после дозирования для 30 мг/кг (58% снижение). Через 3 ч после дозирования соединение все еще было эффективным при 60 мг/кг (81% снижение).

Холодовая чувствительность в настоящем исследовании была особенно хорошей. После FCA через 24 ч опухание лапы часто приводит к варьированной задержке отдергивания при холодовой стимуляции. Здесь, хотя и более вариабельно, чем для показателей механической чувствительности, наблюдали достаточно стойкие задержки отдергиваний при холодовом стимуле.

Положительный контроль, диклофенак, обеспечивал пиковые снижения механической и холодовой чувствительности через 3 ч после дозирования на 66% и 69% соответственно.

При использовании соединения 2 изменений отдергиваний или задержек у контрлатеральных лап не наблюдали.

Видимых поведенческих изменений у крыс не наблюдали.

Соединение 3. Исследование нейропатической боли.

Частичная перевязка седалищного нерва приводила к значимому снижению порога отдергивания при механическом стимуле и к задержке отдергивания при холодовом стимуле пораженной лапы. Через 14 суток после перевязки нерва определяли значения порога перед дозой 64 ± 1 г для ипсилатеральных лап по сравнению с 104 ± 1 г для контрлатеральных лап (фиг. 13a, 13b). Величины задержек после холодового стимула определяли как $7,0 \pm 0,2$ с для ипсилатеральных лап по сравнению с $11,2 \pm 0,2$ с для контрлатеральных лап (фиг. 14a, 14b).

Соединение 3 обеспечивало зависимое от дозы снижение механической (фиг. 13a, 13c) и холодовой чувствительности (фиг. 14a, 14c) с медленным началом действия.

Пиковое снижение механической чувствительности наблюдали через 3 ч после дозирования (46% при 60 мг/кг), после чего она уменьшалась и активность все еще наблюдали через 6 ч после дозирования. Холодовая чувствительность при 60 мг/кг через 3 ч после дозирования восстанавливалась на 52%. Уровень дозирования 60 мг/кг для механической и холодовой гипералгезии достигал статистической значимости. Положительный контроль, ламотригин, обеспечивал пиковые снижения механической и холодовой чувствительности через 3 ч после дозирования на 61% и 74% соответственно.

После обработки соединением 3 значимых изменений отдергивания/задержки контрлатеральных лап и поведенческих изменений не наблюдали.

Исследование связанной с воспалением боли.

Внутриподошвенная инъекция FCA приводила к значимому снижению порога отдергивания при механическом стимуле и к задержке отдергивания при холодовом стимуле пораженной лапы.

Только наибольшая доза из иллюстративного соединения 3 обеспечивала снижение механической (фиг. 15a, 15c) или холодовой чувствительности (фиг. 16a, 16c). Соединение обладало медленным началом действия с небольшим снижением, наблюдаемым через 1 ч после дозирования. Пиковое снижение для механической и холодовой чувствительности наблюдали через 3 ч после дозирования, после чего она уменьшалась, но активность все еще наблюдали через 6 ч после дозирования (значимо для механических порогов).

Через 3 ч после дозирования механическая чувствительность восстанавливалась на 67%, а холодовая чувствительность восстанавливалась на 51%, обе при 60 мг/кг. Положительный контроль, диклофенак, обеспечивал пиковые снижения механической и холодовой чувствительности через 3 ч после дозирования на 60% и 45% соответственно.

Значимых изменений отдергивания/задержки контрлатеральных лап после обработки иллюстративным соединением 3 не наблюдали (фиг. 15b и 16b). Единственным наблюдением поведенческого поведения являлось то, что 4/6 крыс в группе с 30 мг/кг и 1/6 крысы в группе с 60 мг/кг выглядели более тревожными и издающими больше звуков, чем их соседи по клетке (1-6 ч после дозирования).

Соединение 4. Исследование связанной с воспалением боли.

Внутриподошвенная инъекция FCA приводила к значимому снижению порога отдергивания при механическом стимуле и к задержке отдергивания при холодовом стимуле пораженной лапы. Средние значения порога без воздействия составляли 104 ± 1 г. Через 24 ч после инъекции FCA значения порога перед дозой для ипсилатеральных лап составляло $64 \pm 1,0$ г по сравнению с $104 \pm 1,0$ г для контрлатеральных лап (фиг. 17a, 17b). Средние значения холодовой задержки без воздействия составляли $11,1 \pm 0,1$ с. Через 24 ч после инъекции FCA значения порога перед дозой для ипсилатеральных лап составляло $6,6 \pm 0,2$ с по сравнению с $11,0 \pm 0,2$ с для контрлатеральных лап (фиг. 18a, 18b).

Соединение 4 обеспечивало снижение механической (фиг. 17a, 17c) и холодовой гипералгезии (фиг. 18a, 18c), которое очень сильно зависело от дозы. Соединение обеспечивало пиковое снижение через 1-3 ч после дозирования, после чего оно уменьшалось, но значимую активность все еще наблюдали через 6 ч после дозирования.

Механическая чувствительность при дозе 30 мг/кг восстанавливалась на 50%, а холодовая чувствительность восстанавливалась на 55%. Положительный контроль, диклофенак, обеспечивал снижение механической и холодовой чувствительности на 49% и 50% соответственно. При 30 мг/кг соединение обладало сходной эффективностью и активностью с диклофенаком.

Значимых изменений отдергивания/задержки контрлатеральных лап после обработки соединением 4 и поведенческих изменений не наблюдали.

Выводы.

В моделях нейропатической и связанной с воспалением боли на крысах все соединения 1, 2 и 3, которые являются структурно разнообразными селективными модуляторами каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3, были эффективны при поведенческих измерениях снижения боли при срочном введении без вызова значимых изменений нормального поведения. Кроме того, в модели связанной с воспалением боли на крысах соединение 4, которое представляет собой селективный модулятор каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3, было эффективным при поведенческих измерениях снижения боли при срочном введении, без вызова значимых изменений нормального поведения. Эти данные в значительной степени поддерживают утверждение, что модуляция каналов Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 имеет потенциал при лечении боли.

Пример 3. Специфичность соединений в качестве потенциаторов Kv3.1, и/или, 3.2, и/или 3.3.

Для подтверждения того, что пригодность соединений 1, 2, 3 и 4 является результатом их способности к потенцированию активности каналов Kv3.1, и/или, 3.2, и/или 3.3, исследовали способность соединений к потенцированию других ассоциированных с болью мишеней.

Способы.

Анализ Kv3.4 (1).

Действие соединений на клонированные каналы Kv3.4 человека, стабильно экспрессируемые в клеточной линии HEK293, оценивали при комнатной температуре с использованием QPatch HT® (Sophion Bioscience A/S, Denmark), автоматизированной параллельной системы фиксации потенциала. Соединения оценивали при 10 мкМ в трех клетках. Длительность воздействия каждой концентрации тестируемого препарата составляла 5 мин.

При подготовке к сеансу записи во внутренние компартменты ячеек QPlate вводили раствор для ячеек и клеточную суспензию во внутренних компартментах ячеек пипетировали. После установления конфигурации целых клеток регистрировали мембранные токи с использованием до 48 параллельных усилителей для фиксации потенциала в системе QPatch HT®. Запись токов проводили при 2000 Гц и низкочастотную фильтрацию Бесселя проводили при 400 Гц.

Допускаемая регистрация для целых клеток удовлетворяла следующим критериям:

1) сопротивление слоя ($R_{\text{слой}}$) $\geq 200 \text{ М}\Omega$;

2) ток утечки $\leq 25\%$ тока канала.

Анализ Kv3.4 (2).

Каналы Kv3.4 человека стабильно экспрессировали в линии клеток HEK293. Клетки использовали в течение 1-4 ч после получения и до анализа получали свежие внутренний и внешний физиологические растворы. Электрофизиологические показатели определяли с использованием автоматизированной платформы фиксации потенциала (QPatch, Sophion Biosciences). Внеклеточный раствор содержал 145 мМ NaCl, 4 мМ KCl, 2 мМ CaCl_2 , 1 мМ MgCl_2 , 10 мМ HEPES и 10 мМ глюкозы; pH доводили до 7,4 NaOH, и осмолярность составляла 313 мосм/л. Использовали внутриклеточный раствор с низким содержанием калия, который содержал 135,6 мМ CsCl, 5,37 мМ CaCl_2 , 1,75 мМ MgCl_2 , 10 мМ EGTA, 15,6 мМ KOH, 4 мМ Na_2ATP и 10 мМ HEPES; pH доводили до 7,2 CsOH, и осмолярность составляла 303 мосм/л.

Зависимость инактивации от напряжения гомомерных каналов hKv3.4 тестировали с использованием протокола, который состоял из ряда из двух прямоугольных импульсов напряжения. Длительность первого импульса (P1 - предварительный импульс) составляла 1000 мс и за ним сразу же следовал второй импульс (P2 - тестовый импульс) длительностью 500 мс. Первый импульс обеспечивал изменение исходного потенциала от -60 до +40 мВ, а второй импульс обеспечивал скачок исходного потенциала от -60 до +40 мВ до возвращения к исходному потенциалу -60 мВ.

Кривые установившегося напряжения активации и инактивации аппроксимировали с использованием одной функции Больцмана, в которой G/G_{max} получали на основании нормализованной амплитуды тока и V_{50} , представляющего собой половину напряжения активации или инактивации.

Временные константы фазы инактивации токов hKv3.4 получали на основании моно (τ) или двойной (τ_1 и τ_2) стандартной экспоненциальной аппроксимации до пикового следового импульса от -80 до +60 мВ.

Период действия соединений на калиевый канал hKv3.4 измеряли с использованием повторных импульсов напряжения от исходного потенциала -60 мВ с импульсами длительностью 500 мс каждые 5 с до +40 мВ.

В течение протоколов исследования активации, инактивации и пикового импульса анализировали одну концентрацию (10 мкМ) тестируемых соединений. Протокол применяли с добавлением физиологи-

ческого раствора (контрольный период) с последующими 10 мкМ тестируемого соединения и 10 мМ стандартного блокатора TEA.

Данные нормализовали с использованием контрольных значений тока на исходном уровне в качестве верхней точки кривой (максимальный ток; 1,0) и нулевого калиевого тока в качестве нижней точки кривой (минимальный ток; 0,0).

В течение экспериментов контролировали последовательное сопротивление и качество изоляции. Анализ проводили с использованием программного обеспечения Sophion QPatch Assay Software (версии 5.2).

Исходные растворы (10 мМ) стандартных блокаторов TEA получали в свежем физиологическом растворе до тестирования на автоматизированной платформе e-phys. Тестируемые соединения получали в 10 мМ исходном растворе в DMSO, а затем разбавляли 1 к 1000 в физиологическом растворе.

Анализ Kv3.4 (3).

Каналы hKv3.4 гетерологично экспрессировали в ооцитах *Xenopus* после микроинъекции *in vitro* трансприбированной иРНК (набор mMessage mMachine, Ambion, Austin, TX). Токи целых ооцитов регистрировали через 1-4 суток после микроинъекции при комнатной температуре (21-23°C) в условиях двухэлектродной фиксации потенциала (OC-725C, Warner, Hamden, CT). ND-96 и ND-96 и тестируемое соединение доставляли с использованием гравитационной перфузионной системы.

Токи целых ооцитов, опосредуемые каналами hKv3.4, устанавливали посредством скачков деполяризации от -40 до 60 мВ длительностью 400 мс с шагом 10 мВ от исходного потенциала -100 мВ в условиях отсутствия, а затем присутствия тестируемого соединения. Кривые напряжения-проводимости получали на основании пиковых токов, вызываемых каждым перепадом напряжения, и данные аппроксимировали по уравнению Больцмана.

Получение данных, вычитание токов утечки и исходные анализы проводили с использованием pClamp 9.2/10.3 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Макроскопические токи подвергали низкочастотному фильтрованию при 0,5-1 кГц и оцифровывали при 1-2 кГц. Токи утечки и емкостные токи вычитали в реальном масштабе времени с использованием стратегии вычитания $p/4$. Лягушек *Xenopus laevis* содержали по одобренным IACUC протоколам и инструкциям.

Kv7.2/7.3.

Гетеромерные каналы Kv7.2/7.3 человека стабильно экспрессировали в линии клеток HEK293. Клетки высевали на 13-мм пластиковые чашки и инкубировали в течение 1-3 суток в инкубаторе с 5% CO₂ в общепринятых экспериментах по фиксации потенциала в целых клетках. Электрофизиологические показатели получали с использованием автоматизированной платформы для фиксации потенциала (QPatch, Sophion Biosciences). Внутренний (содержащийся в пипетке) раствор содержал (в мМ): аспартат калия (130), KCl (15), MgCl₂ (5,5), Na₂ATP (5), K₂PCr (5), EGTA (20), HEPES (10), pH 7,25 с использованием KOH, его использовали для изучения токов Kv7.2/7.3. Клетки суперфузировали при комнатной температуре стандартным физиологическим раствором, содержащим (мМ): NaCl (140), KCl (4), CaCl₂ (2), MgCl₂ (1), глюкозу (10), HEPES (10), pH 7,35 с использованием NaOH.

Пипетки для фиксации потенциала вытягивали из боросиликатного стекла, и сопротивление их кончиков при заполнении указанным выше раствором составляло 2-4 MW. Емкостные помехи компенсировали в электронной форме при регистрации. Однако падение напряжения на последовательном сопротивлении и потенциал на границе раздела жидкостей не компенсировали. Как правило, последовательное сопротивление составляло менее 10 MG ($n=5$ клетки) со средней емкостью клетки 25 ± 5 пФ.

В некоторых случаях проводили ручную фиксацию потенциала с использованием амплификатора Axon 200B (Axon Instruments). Для стимуляции и регистрации электрической активности использовали программное обеспечение pClamp (версии 10) Axon Instruments. Для анализа данных использовали программное обеспечение GraphPad Prism (версии 5).

Для активации токов Kv7.2/7.3 каждые 10 с прикладывали импульсы установившегося напряжения (1 с) от исходного потенциала -80 до +60 мВ скачками по 10 мВ. После контрольного периода по меньшей мере 3 мин проводили перфузию соединений в течение по меньшей мере 3 мин. Соединения растворяли в 100% DMSO (в концентрации 10 мМ), а затем разбавляли физиологическим раствором без превышения 0,1% DMSO в конечной концентрации 10 мкМ. Концентрация 0,1% DMSO не приводила к достоверному влиянию на амплитуду полностью активированного пика канала hKv7.2/7.3, который, как правило, оставался стабильным в ходе типичной регистрации для целой клетки.

Перфузию тестируемых соединений начинали, если у клеток наблюдали менее 10% снижения в двух полных протоколах контроля I-V. Клетки с более сильным снижением исключали из дальнейшего анализа. После перфузии тестируемых соединений в тех же клетках тестировали агонист ретигабин (из Alomone Labs, Israel) и блокатор TEA (из Sigma). Ретигабин и TEA получали в виде исходных растворов 10 мМ и 100 мМ в DMSO и воде соответственно. Затем исходные растворы разбавляли в физиологических растворах с конечными концентрациями 10 мкМ и 10 мМ соответственно.

В настоящем исследовании вследствие ограниченного количества экспериментов статистический анализ проводили, только когда $N=3$, с использованием двухстороннего парного t-критерия.

Nav1.7

Каналы Nav1.7 человека стабильно экспрессировали в линии клеток HEK293. Электрофизиологические показатели регистрировали при комнатной температуре с использованием автоматизированной платформы для фиксации потенциала (QPatch, Sophion Biosciences).

Анализ QPatch проводили при комнатной температуре с использованием платформы QPatch (Sophion). На сутки эксперимента клетки культивировали в соответствии со стандартным получением клеток для QPatch. До анализа получали свежие внутренний и внешний физиологические растворы.

Стандартный внеклеточный раствор содержал 145 mM NaCl, 4 mM KCl, 2 mM CaCl₂, 2 mM MgCl₂, 10 mM HEPES и 10 mM глюкозу; pH доводили до 7,4 с использованием NaOH, и осмолярность составляла 314 мосм/л. Стандартный внутриклеточный раствор содержал 140 mM CsF, 10 mM NaCl, 5 mM CsOH, 1 mM EGTA, 10 mM HEPES; pH доводили до 7,25 с использованием CsOH, и осмолярность составляла 293 мосм/л.

Каждые 60 с для контроля (дважды), соединения (пять раз), стандартного блокатора (дважды) и отмывки (дважды) проводили серию из 40 импульсов напряжения (от -120 до 0 мВ, длительностью 2,4 мс с частотой 117Hz). Значения % ингибирования рассчитывали посредством нормализации данных относительно 1 импульса (P1) и рассчитывая отношение между 40 импульсом и 1 импульсом (P40/1). В течение экспериментов контролировали последовательное сопротивление и качество изоляции. Для анализа и построения всех графиков использовали программное обеспечение Sophion QPatch Assay Software 5.0. Вносили 10 мкМ тестируемое соединение с последующим 1 мкМ TTX (стандартным блокатором) с последующим солевым раствором (отмывкой).

Соединения разбавляли в физиологических растворах в требуемых концентрациях с максимумом 0,1% DMSO.

ВК.

Действие соединений на клонируемые калиевые каналы ВК (hKCa1.1/β1) человека (кодируемые генами KCNMA1 и KCNMB1 человека) исследовали в линии клеток CHO с использованием анализа QPatch HT® (Sophion Bioscience A/S, Denmark). Начальное и установившееся ингибирование токов hBK измеряли с использованием профиля импульсов напряжения с деполяризующим тестовым импульсом (амплитудой +100 мВ, длительностью 200 мс) с интервалами 10 с от исходного потенциала -80 мВ. Для каждого тестового импульса измеряли пиковую амплитуду задерживаемого исходящего тока. Соединения оценивали при 10 мкМ в трех клетках для каждого соединения через 3 мин после применения соединения. Рассчитывали установившееся ингибирование, получаемое при применении каждого соединения.

Результаты.

hNav1.7.

Соединения 1, 2 и 3 тестировали при концентрации 10 мкМ (N=3) в анализе Nav1.7. Достоверного действия на опосредуемые Nav1.7 токи не наблюдали.

hBK.

Соединения 1, 2 и 3 тестировали при концентрации 10 мкМ (N=3) в анализе ВК. Достоверного действия на опосредуемые каналами токи не наблюдали.

hKv7.2/7.3.

Соединения 1 и 2 тестировали при концентрации 10 мкМ (N=3) в анализе Kv7.2/7.3. Ни у одного из соединений достоверного действия на опосредуемые Kv7.2/7.3 токи не выявлено.

hKv3.4.

Соединение 2 тестировали при концентрации 10 мкМ (N=2) в анализе Kv3.4 1. Соединение не вызывало потенцирования наблюдаемого тока.

Соединения 1, 2, 3 и 4 тестировали при концентрации 10 мкМ (N≥2) в анализе Kv3.4 2. Соединения не вызывали потенцирования наблюдаемого тока и не обеспечивали заметного сдвига в зависимости активации токов Kv3.4 от напряжения. Однако в каждом случае соединения были ассоциированы со снижением пика тока Kv3.4 (соединение 1: 40±5%; соединение 2: 45,4±4%; соединение 3: 36±3%; соединение 4: 50,0±4%), хотя эти пиковые токи не восстанавливались до исходных уровней при отмывке от соединений.

Соединение 1 тестировали при концентрации 10 мкМ (N=6) в анализе Kv3.4 3 (мануальная фиксация потенциала у транзитивно трансфицированных ооцитов). Достоверного действия на опосредуемые каналами Kv3.4 токи не наблюдали, и соединение 1 не обеспечивало значимого сдвига в кривой напряжение-проводимость для hK3.4.

Все публикации, включая в качестве неограничивающих примеров патенты и патентные заявки, цитируемые в настоящем описании, включены в настоящий документ в качестве ссылки так, как если бы каждая отдельная публикация была конкретно и индивидуально указана как полностью включенная в качестве ссылки в настоящий документ.

На всем протяжении описания и приводимой ниже формулы изобретения, если из контекста не следует иначе, слово "содержать" и его варианты, такие как "содержит" и "содержащий", следует понимать как подразумевающие включение начального числа, этапа, группы чисел или группы этапов, но не включающие никаких других чисел, этапов, групп чисел или групп этапов.

Заявку, часть которой составляют эти описание и формула изобретения, можно использовать в качестве основы приоритета в отношении любых последующих заявок. Формула изобретения таких последующих заявок может обращаться к любому свойству или комбинации свойств, описываемых в настоящем документе. Они могут принимать форму пунктов продуктов, композиций, способов или применений и могут в качестве примера и без ограничения включать формулу изобретения, приводимую ниже.

Ссылки.

- Amarillo, Y., Santiago-Castillo, J. A., Dougherty, K., Maffie, J., Kwon, E., Covarrubias, M., & Rudy, B. (2008) J. Physiol 586, 2093-2106.
- Aroniadou-Anderjaska V, Qashu F, Braga MFM. Mechanisms regulating GABAergic inhibitory transmission in the basolateral amygdala: implications for epilepsy and anxiety disorders. *Amino Acids* 2007 Aug;32:305-315.
- Atzori M, Lau D, Phillips Tansey E, Chow A, Ozaita A, Rudy B, McBain CJ. H₂ histamine receptor-phosphorylation of Kv3.2 modulates interneuron fast spiking. *Nat. Neurosci.* 2000 Aug;3(8):791-798.
- Baranauskas G, Nistri A. Sensitization of pain pathways in the spinal cord: cellular mechanisms. *Prog. Neurobiol.* 1998 Feb;54(3):349-65.
- Baron R, Hans G, Dickenson AH. Peripheral input and its importance for central sensitization. *Ann. Neurol.* 2013 Nov;74(5):630-6.
- Beck, E. J., Sorensen, R. G., Slater, S. J., & Covarrubias, M. (1998) *Journal of General Physiology* 112, 71-84.
- Ben-Ari Y. Seizure Beget Seizure: The Quest for GABA as a Key Player. *Crit. Rev. Neurobiol.* 2006;18(1-2):135-144.
- Benes FM, Lim B, Matzilevich D, Subburaju S, Walsh JP. Circuitry-based gene expression profiles in GABA cells of the trisynaptic pathway in schizophrenics versus bipolars. *PNAS* 2008 Dec;105(52):20935-20940.
- Bennett DL, Woods CG. Painful and painless channelopathies. *Lancet Neurol.* 2014 Jun;13(6):587-99.
- Berge, Bighley and Monkhouse J. *Pharm. Sci.* (1977) 66, pp 1-19.
- Brambilla P, Perez J, Schettini G, Soares JC. GABAergic dysfunction in mood disorders. *Mol. Psych.* 2003 Apr;8:721-737.
- Brooke RE, Pyner S, McLeish P, Buchan S, Deuchars J, Deuchars SA. Spinal cord interneurons labelled transneuronally from the adrenal gland by a GFP-herpes virus construct contain the potassium channel subunit Kv3.1b. *Auton. Neurosci.* 2002 Jun;98(1-2):45-50.
- Brooke RE, Atkinson L, Batten TF, Deuchars SA, Deuchars J. Association of potassium channel Kv3.4 subunits with pre- and post-synaptic structures in brainstem and spinal cord. *Neuroscience* 2004;126(4):1001-10.
- Brooke RE, Atkinson L, Edwards I, Parson SH, Deuchars J. Immunohistochemical localisation of the voltage gated potassium ion channel subunit Kv3.3 in the rat medulla oblongata and thoracic spinal cord. *Brain Res.* 2006 Jan;1070(1):101-15.
- Cervero F. Spinal cord hyperexcitability and its role in pain and hyperalgesia. *Exp. Brain Res.* 2009 Jun;196(1):129-37.

- Chang SY, Zagha E, Kwon ES, Ozaita A, Bobik M, Martone ME, Ellisman MH, Heintz N, Rudy B. Distribution of Kv3.3 Potassium Channel Subunits in Distinct Neuronal Populations of Mouse Brain. *J. Comp. Neuro.* 2007 Feb;502:953-972.
- Chien LY, Cheng JK, Chu D, Cheng CF, Tsaur ML. Reduced expression of A-type potassium channels in primary sensory neurons induces mechanical hypersensitivity. *J. Neurosci.* 2007 Sep;27(37):9855-65.
- Chow A, Erisir A, Farb C, Nadal MS, Ozaita A, Lau D, Welker E, Rudy B. K⁺ Channel Expression Distinguishes Subpopulations of Parvalbumin- and Somatostatin-Containing Neocortical Interneurons. *J. Neurosci.* 1999 Nov;19(21):9332-9345.
- Deuchars SA, Brooke RE, Frater B, Deuchars J. Properties of interneurons in the intermediolateral cell column of the rat spinal cord: role of the potassium channel subunit Kv3.1. *Neuroscience* 2001;106(2):433-46.
- Devulder J. Flupirtine in pain management: pharmacological properties and clinical use. *CNS Drugs* 2010 Oct;24(10):867-81.
- Dib-Hajj SD, Yang Y, Black JA, Waxman SG. The Na(V)1.7 sodium channel: from molecule to man. *Nat. Rev. Neurosci.* 2013 Jan;14(1):49-62.
- Diochot S, Schweitz H, Béress L, Lazdunski M. Sea Anemone Peptides with a Specific Blocking Activity against the Fast Inactivating Potassium Channel Kv3.4. *J. Biol. Chem.* 1998 Mar;273(12):6744-6749.
- Dougherty, K. & Covarrubias, M. (2006) *J. Gen. Physiol* 128, 745-753.
- Engel AK, Fries P, Singer W. Dynamic Predictions: Oscillations and Synchrony in Top-Down Processing. *Nat. Rev. Neurosci.* 2001 Oct;2(10):704-716.
- Espinosa F, McMahon A, Chan E, Wang S, Ho CS, Heintz N, Joho RH. Alcohol Hypersensitivity, Increased Locomotion, and Spontaneous Myoclonus in Mice Lacking the Potassium channels Kv3.1 and Kv3.3. *J. Neurosci.* 2001 Sep;21(17):6657-6665.
- Espinosa F, Torres-Vega MA, Marks GA, Joho RH. Ablation of Kv3.1 and Kv3.3 Potassium Channels Disrupts Thalamocortical Oscillations In Vitro and In Vivo. *J. Neurosci.* 2008 May;28(21):5570-5581.
- Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, McNicol E, Baron R, Dworkin RH, Gilron I, Haanpää M, Hansson P, Jensen TS, Kamerman PR, Lund K, Moore A, Raja SN, Rice AS, Rowbotham M, Sena E, Siddall P, Smith BH, Wallace M. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2015 Feb;14(2):162-73.
- Fisahn A. Kainate receptors and rhythmic activity in neuronal networks: hippocampal gamma oscillations as a tool. *J. Physiol.* 2005 Oct;561(1):65-72.
- Joho RH, Ho CS, Marks GA. Increased γ - and Decreased δ -Oscillations in a Mouse Deficient for a Potassium Channel Expressed in Fast-Spiking Interneurons. *J. Neurophysiol.* 1999 Jun;82:1855-1864.
- Joho RH, Hurlock EC. The Role of Kv3-type Potassium Channels in Cerebellar Physiology and Behavior. *Cerebellum* 2009 Feb;8:323-333.
- Kasten MR, Rudy B, Anderson MP. Differential regulation of action potential firing in adult murine thalamocortical neurons by Kv3.2, Kv1, and SK potassium and N-type calcium channels. *J. Physiol.* 2007;584(2):565-582.
- Kaulin, Y. A., Santiago-Castillo, J. A., Rocha, C. A., & Covarrubias, M. (2008) *Biophys. J.* 94, 1241-1251.
- Lau D, Vega-Saenz de Miera E, Contreras D, Ozaita A, Harvey M, Chow A, Noebels JL, Paylor R, Morgan JI, Leonard CS, Rudy B. Impaired Fast-Spiking, Suppressed Cortical Inhibition, and Increased Susceptibility to Seizures in Mice Lacking Kv3.2 K⁺ Channel Proteins. *J. Neurosci.* 2000 Dec;20(24):9071-9085.
- Li W, Kaczmarek K, Perney TM. Localization of Two High-Threshold Potassium Channel Subunits in the Rat Central Auditory System. *J. Comp. Neuro.* 2001 May;437:196-218.
- Lu R, Bausch AE, Kallenborn-Gerhardt W, Stoetzer C, Debruin N, Ruth P, Geisslinger G, Leffler A, Lukowski R, Schmidtke A.

Slack channels expressed in sensory neurons control neuropathic pain in mice. *J. Neurosci.* 2015 Jan;35(3):1125-35.

Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg, Wu C. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat. Rev. Neurosci.* 2004 Oct;5:793-807.

Martina M, Schultz JH, Ehmke H, Monyer H, Jonas P. Functional and Molecular Differences between Voltage-Gated K⁺ Channels of Fast-Spiking Interneurons and Pyramidal Neurons of Rat Hippocampus. *J. Neurosci.* 1998 Oct;18(20):8111-8125.

McCarberg BH, Nicholson BD, Todd KH, Palmer T, Penles L. The impact of pain on quality of life and the unmet needs of pain management: results from pain sufferers and physicians participating in an Internet survey. *Am. J. Ther.* 2008 Jul-Aug;15(4):312-20.

McDonald AJ, Mascagni F. Differential expression of Kv3.1b and Kv3.2 potassium channel subunits in interneurons of the basolateral amygdala. *Neuroscience* 2006;138:537-547.

McMahon A, Fowler SC, Perney TM, Akemann W, Knöpfel, Joho RH. Allele-dependent changes of olivocerebellar circuit properties in the absence of the voltage-gated potassium channels Kv3.1 and Kv3.3. *Eur. J. Neurosci.* 2004 Mar;19:3317-3327.

Puente N, Mendizabal-Zubiaga J, Elezgarai I, Reuero L, Buceta I, Grandes P. Precise localization of the voltage-gated potassium channel subunits Kv3.1b and Kv3.3 revealed in the molecular layer of the rat cerebellar cortex by a pre-embedding immunogold method. *Histochem. Cell. Biol.* 2010 Sep;134:403-409.

Reynolds GP, Abdul-Monim Z, Neill JC, Zhang ZJ. Calcium Binding Protein Markers of GABA Deficits in Schizophrenia - Post Mortem Studies and Animal Models. *Neurotox. Res.* 2004 Feb;6(1):57-62.

Ritter DM, Ho C, O'Leary ME, Covarrubias M. Modulation of Kv3.4 channel N-type inactivation by protein kinase C shapes the action potential in dorsal root ganglion neurons. *J. Physiol.* 2012 Jan;590(Pt 1):145-61.

Ritter DM, Zemel BM, Hala TJ, O'Leary ME, Lepore AC, Covarrubias M. Dysregulation of Kv3.4 channels in dorsal root ganglia following spinal cord injury. *J. Neurosci.* 2015 Jan;35(3):1260-73.

Rudy B, McBain CJ. Kv3 channels: voltage-gated K⁺ channels designed for high-frequency repetitive firing. *TRENDS in Neurosci.* 2001 Sep;24(9):517-526.

Sacco T, de Luca A, Tempia F. Properties and expression of Kv3 channels in cerebellar Purkinje cells. *Mol. Cell. Neurosci.* 2006 Jul;33:170-179.

Schulz P, Steimer T. Neurobiology of Circadian Systems. *CNS Drugs* 2009;23(Suppl. 2):3-13.

Song P, Yang Y, Barnes-Davies M, Bhattacharjee A, Hamann M, Forsythe ID, Oliver DL, Kaczmarek LK. Acoustic environment determines phosphorylation state of the Kv3.1 potassium channel in auditory neurons *Nat. Neurosci.* 2005 Oct;8(10): 1335-1342.

Spencer KM, Nestor PG, Perlmutter R, Niznikiewicz MA, Klump MC, Frumin M, Shenton ME, McCarley RW. Neural synchrony indexes disordered perception and cognition in schizophrenia. *PNAS* 2004 Dec;101(49):17288-17293.

Sun S, Cohen CJ, Dehnhardt CM. Inhibitors of voltage-gated sodium channel Nav1.7: patent applications since 2010. *Pharm. Pat. Anal.* 2014 Sep;3(5):509-21.

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Draft Guidance for Industry Analgesic Indications: Developing Drug and Biological Products:

<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm384691.pdf> 2014 Feb.

Weiser M, Vega-Saenz de Miera E, Kentros C, Moreno H, Franzen L, Hillman D, Baker H, Rudy B. Differential Expression of Shaw-related K⁺ Channels in the Rat Central Nervous System. *J. Neurosci.* 1994 Mar;14(3):949-972.

Wickenden AD, McNaughton-Smith G. Kv7 channels as targets for the treatment of pain. *Curr. Pharm. Des.* 2009;15(15):1773-98.

Woolf CJ. What is this thing called pain? J. Clin. Invest. 2010 Nov;120(11):3742-4.

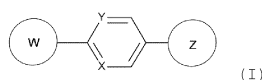
Woolf CJ. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. Pain 2011 Mar;152(3 Suppl):S2-15.

Yeung SYM, Thompson D, Wang Z, Fedida D, Robertson B. Modulation of Kv3 Subfamily Potassium Currents by the Sea Anemone Toxin BDS: Significance for CNS and Biophysical Studies. J. Neurosci. 2005 Mar;25(38):8735-8745.

Zamponi GW, Striessnig J, Koschak A, Dolphin AC. Pharmacol Rev. 2015 Oct;67(4):821-70.

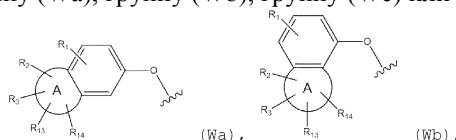
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение модулятора Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 для получения лекарственного средства для профилактики или лечения боли, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой соединение формулы (I)



где

W представляет собой группу (Wa), группу (Wb), группу (Wc) или группу (Wd)



где:

R₁ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген, галоген-C₁₋₄алкил, CN, C₁₋₄алкокси или галоген-C₁₋₄алкокси;

R₂ представляет собой H, C₁₋₄алкил, C₃₋₅спирокарбобцикл, галоген-C₁₋₄алкил или галоген;

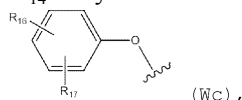
R₃ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген-C₁₋₄алкил, галоген или R₃ отсутствует;

R₁₃ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген-C₁₋₄алкил, галоген или R₁₃ отсутствует;

R₁₄ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген-C₁₋₄алкил, галоген или R₁₄ отсутствует;

A представляет собой 5- или 6-членный насыщенный или ненасыщенный гетероцикл по меньшей мере с одним атомом O; где этот гетероцикл необязательно конденсирован с циклопропильной группой, или циклобутильной группой, или цикlopентильной группой с образованием трициклического соединения, когда их рассматривают вместе с фенилом;

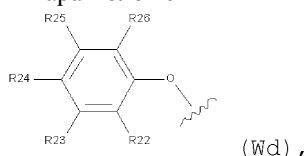
где R₂ и R₃ могут быть связаны с одним или с разными атомами цикла; R₂ может быть связан с атомом конденсированного цикла; и где R₁₃ и R₁₄ могут быть связаны с одним или с разными атомами цикла



где

R₁₆ представляет собой галоген, C₁₋₄алкил, C₁₋₄алкокси, галоген-C₁₋₄алкил, галоген-C₁₋₄алкокси или CN;

R₁₇ представляет собой H, галоген, циано, C₁₋₄алкил или C₁₋₄алкокси при условии, что когда R₁₇ представляет собой H, R₁₆ не находится в пара-положении



где

R₂₂ представляет собой H, Cl, F, C₁₋₄алкил;

R₂₃ представляет собой H, C₁₋₄алкил, Cl, CF₃, O-C₁₋₄алкил, OCF₃ или N(CH₃)₂;

R₂₄ представляет собой H, Cl, F, C₁₋₄алкил, O-C₁₋₄алкил, CN, OCF₃ или CF₃;

R₂₅ представляет собой H, Cl, F, O-C₁₋₄алкил или C₁₋₄алкил; и

R₂₆ представляет собой H или C₁₋₄алкил;

где для R₂₂-R₂₆ C₁₋₄алкил может быть замещен O-метилом; при условиях, что

не все из R₂₂-R₂₆ могут представлять собой H; когда R₄ представляет собой H, тогда R₂₃ представляет собой метил или CF₃, и все R₂₂, R₂₄, R₂₅ и R₂₆ представляют собой H;

когда один из R₂₂, R₂₄, R₂₅ или R₂₆ представляет собой F, тогда по меньшей мере один из R₂₂-R₂₆ не может представлять собой H или F; и когда R₂₄ не представляет собой H, по меньшей мере один из R₂₂

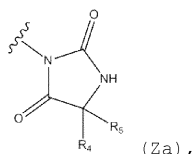
или R_{23} не представляет собой H;

X представляет собой CH или N;

Y представляет собой CR_{15} или N;

R_{15} представляет собой H или C_{1-4} алкил;

когда W представляет собой группу (Wa), группу (Wb) или группу (Wc), Z представляет собой группу (Za)



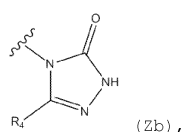
где

R_4 представляет собой C_{1-4} алкил;

R_5 представляет собой H или C_{1-4} алкил;

или R_4 и R_5 могут быть конденсированы с образованием C_{3-4} спирокарбоцикла;

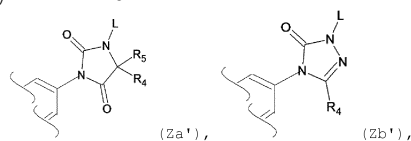
когда W представляет собой группу (Wa), группу (Wb) или группу (Wd), Z представляет собой группу (Zb)



где

R_4 представляет собой H или C_{1-4} алкил;

или его фармацевтически приемлемую соль и/или его производное, где производное представляет собой фармацевтически приемлемое пролекарство, образованное посредством присоединения функциональной группы к вторичному азоту гидантоина или триазолонa с использованием группы "L", как проиллюстрировано для каждой из групп Z ниже



где группа L выбрана из:

a) $-PO(OH)O^-M^+$, где M^+ представляет собой фармацевтически приемлемый одновалентный противоион,

b) $-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$,

c) $-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$, где D^{2+} представляет собой фармацевтически приемлемый двухвалентный противоион,

d) $-CH(R^X)-PO(OH)O^-M^+$, где R^X представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

e) $-CH(R^X)-PO(O^-)_2 \cdot 2M^+$,

f) $-CH(R^X)-PO(O^-)_2 \cdot D^{2+}$,

g) $-SO_3^- \cdot M^+$,

h) $-CH(R^X)-SO_3^- \cdot M^+$ и

i) $-CO-CH_2CH_2-CO_2^- \cdot M^+$; и

где профилактика или лечение боли не включает профилактику или лечение расстройства сна вследствие нейропатической боли.

2. Применение по п.1, где лекарственное средство дополнительно содержит одно или несколько терапевтических средств, где терапевтическое средство выбирают из группы, состоящей из нестероидных противовоспалительных лекарственных средств (NSAID), парацетамола, прегабалина, габапентина и опиоидов.

3. Применение по любому из пп.1 или 2, где лекарственное средство дополнительно содержит один или несколько фармацевтически приемлемых эксципиентов.

4. Применение по любому из пп.1-3 для профилактики боли.

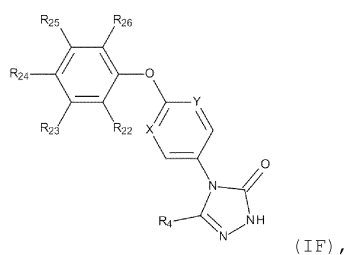
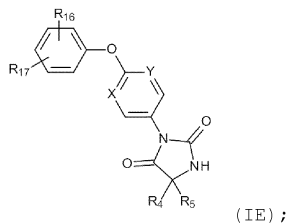
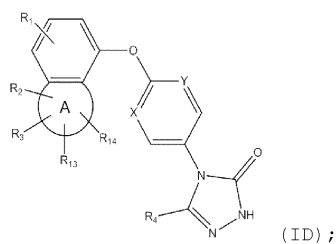
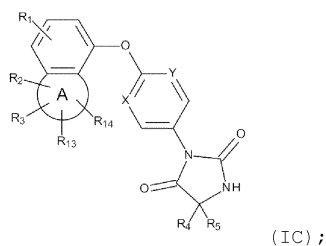
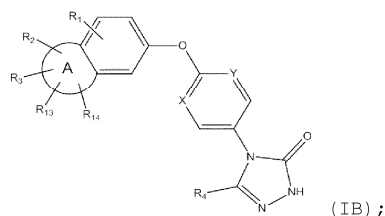
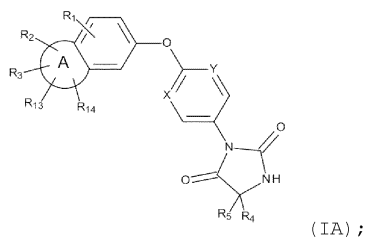
5. Применение по любому из пп.1-4 для лечения боли.

6. Применение по любому из пп.1-5, где боль представляет собой острую боль, хроническую боль, ноцицептивную боль, нейропатическую боль, связанную с воспалением боль и смешанную боль.

7. Применение по любому из пп.1-6, где достигается снижение от исходного уровня боли по меньшей мере на 10%.

8. Применение по п.7, где достигается снижение от исходного уровня боли по меньшей мере на 50%.

9. Применение по любому из пп.1-8, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 выбран из соединений формул (IA), (IB), (IC), (ID), (IE) и (IF)



где

R₁ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген, галоген-C₁₋₄алкил;

R₂ представляет собой H, C₁₋₄алкил, C₃₋₅спирокарбоцикл или галоген-C₁₋₄алкил;

R₃ представляет собой H, C₁₋₄алкил, галоген-C₁₋₄алкил или галоген или R₃ отсутствует;

R₁₃ представляет собой H или отсутствует;

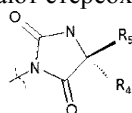
R₁₄ представляет собой H или отсутствует;

A представляет собой 5- или 6-членный насыщенный или ненасыщенный гетероцикл по меньшей мере с одним атомом O;

R₄ представляет собой C₁₋₄алкил;

R₅ представляет собой H или C₁₋₄алкил;

где, когда R₅ присутствует, R₄ и R₅ обладают стереохимической конфигурацией



R_{16} представляет собой C_{1-4} алкил, C_{1-4} алкокси, галоген- C_{1-4} алкил, галоген- C_{1-4} алкокси;
 R_{17} представляет собой H, циано или C_{1-4} алкил; при условии, что когда R_{17} представляет собой H, R_{16} не находится в пара-положении;
 R_{23} представляет собой C_{1-4} алкил, Cl, CF_3 , O- C_{1-4} алкил, OCF_3 или $N(CH_3)_2$;
 R_{24} представляет собой H, Cl, F, C_{1-4} алкил, O- C_{1-4} алкил, CN, OCF_3 ;
 R_{22} , R_{25} и R_{26} представляют собой H;
X представляет собой CH или N, и
Y представляет собой CH или N.

10. Применение по любому из пп.1-9, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из

5,5-диметил-3-[2-[[3-метил-3-(трифторметил)-1H-изобензофуран-5-ил]окси]пиримидин-5-ил]имидазолидин-2,4-диола (энантиомер 1 и энантиомер 2);

(5R)-3-[6-[(3,3-диметил-1H-изобензофуран-5-ил)окси]-3-пиридил]-5-этил-5-метилимидазолидин-2,4-диола;

3-[6-[(3-трет-бутил-1,3-дигидроизобензофуран-5-ил)окси]-3-пиридил]-5,5-диметилимидазолидин-2,4-диола (энантиомер 1 и энантиомер 2);

5,5-диметил-3-[6-[[3-метил-3-(трифторметил)-1H-изобензофуран-5-ил]окси]-3-пиридил]имидазолидин-2,4-диола (энантиомер 1 и энантиомер 2);

5,5-диметил-3-(6-спиро[1H-изобензофуран-3,1'-циклобутан]-5-илокси-3-пиридил)имидазолидин-2,4-диола;

(5R)-3-[6-[(3,3-диметил-1H-изобензофуран-5-ил)окси]-3-пиридил]-5-этилимидазолидин-2,4-диола;

(5R)-5-этил-3-[6-[[3-метил-3-(трифторметил)-1H-изобензофуран-5-ил]окси]-3-пиридил]имидазолидин-2,4-диола (диастереоизомер 1 и диастереоизомер 2);

(5R)-5-этил-3-(6-спиро[1H-изобензофуран-3,1'-циклобутан]-5-илокси-3-пиридил)имидазолидин-2,4-диола;

(5R)-5-этил-3-[2-[[3-метил-3-(трифторметил)-1H-изобензофуран-5-ил]окси]пиримидин-5-ил]имидазолидин-2,4-диола (диастереоизомер 1 и диастереоизомер 2);

(5R)-5-этил-3-(2-спиро[1H-изобензофуран-3,1'-циклобутан]-5-илокси-пиримидин-5-ил)имидазолидин-2,4-диола;

(5R)-3-{4-[(3,3-диметил-1,3-дигидро-2-бензофуран-5-ил)окси]фенил}-5-этил-5-метил-2,4-имидазолидиндиола;

(5R)-5-этил-5-метил-3-[2-(7-метилспиро[2H-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил)оксипиримидин-5-ил]имидазолидин-2,4-диола;

(5R)-5-этил-5-метил-3-{2-[(3,3,7-триметил-2,3-дигидро-1-бензофуран-4-ил)окси]-5-пиримидинил}-2,4-имидазолидиндиола;

(5R)-3-{2-[(2,2-дифтор-7-метил-1,3-бензодиоксол-4-ил)окси]-5-пиримидинил}-5-этил-5-метил-2,4-имидазолидиндиола;

5,5-диметил-3-[2-(7-метилспиро[2H-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил)оксипиримидин-5-ил]имидазолидин-2,4-диола;

(5R)-5-этил-3-[2-(7-метилспиро[2H-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил)оксипиримидин-5-ил]имидазолидин-2,4-диола;

(5R)-5-этил-3-[6-(7-метилспиро[2H-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил)окси-3-пиридил]имидазолидин-2,4-диола;

(5R)-5-этил-3-{6-[(3,3,7-триметил-2,3-дигидро-1-бензофуран-4-ил)окси]-3-пиридинил}-2,4-имидазолидиндиола;

(5R)-5-этил-3-{2-[(3,3,7-триметил-2,3-дигидро-1-бензофуран-4-ил)окси]-5-пиримидинил}-2,4-имидазолидиндиола;

(5R)-5-этил-5-метил-3-[6-(7-метилспиро[2H-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил)окси-3-пиридил]имидазолидин-2,4-диола;

(5R)-5-этил-5-метил-3-[2-({4-метил-3-[(трифторметил)окси]фенил}окси)-5-пиримидинил]-2,4-имидазолидиндиола;

(5R)-5-этил-3-[2-({4-метил-3-[(трифторметил)окси]фенил}окси)-5-пиримидинил]-2,4-имидазолидиндиола;

(5R)-5-этил-3-[6-({4-метил-3-[(трифторметил)окси]фенил}окси)-3-пиридинил]-2,4-имидазолидиндиола;

5,5-диметил-3-[6-({4-метил-3-[(трифторметил)окси]фенил}окси)-3-пиридинил]-2,4-имидазолидиндиола;

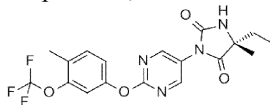
(5R)-5-этил-3-(6-{[4-метил-3-(метилокси)фенил]окси}-3-пиридинил)-2,4-имидазолидиндиола;

5-метил-4-{6-[(7-метилспиро[1-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-ил)окси]пиридин-3-ил}-2,4-дигидро-3Н-1,2,4-триазол-3-она; и

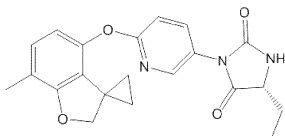
5-метил-4-[6-(спиро[1-бензофуран-3,1'-циклопропан]-4-илокси)пиридин-3-ил]-2,4-дигидро-3Н-1,2,4-триазол-3-она;

или их фармацевтически приемлемых солей и/или их производных.

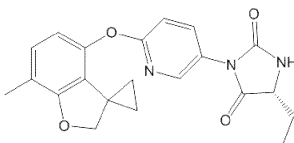
11. Применение по п.10, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой



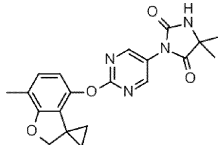
12. Применение по п.10, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой



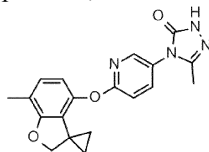
13. Применение по п.10, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой фармацевтически приемлемую соль соединения



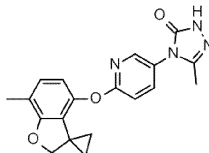
14. Применение по п.10, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой



15. Применение по п.10, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой

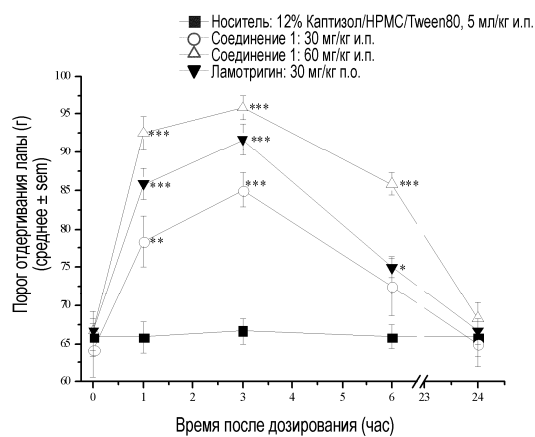


16. Применение по п.10, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 представляет собой фармацевтически приемлемую соль соединения

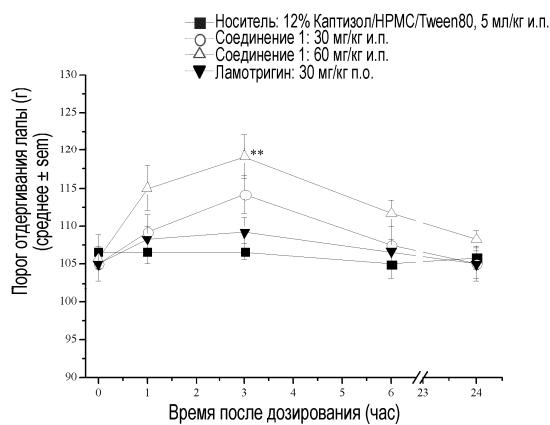


17. Применение по любому из пп.1-16, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 способен к обеспечению по меньшей мере 20% потенцирования клеточных токов, опосредуемых каналами Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 человека, рекомбинантно экспрессируемыми в клетках млекопитающих, соответственно, рEC₅₀ модулятора находится в диапазоне 4-7.

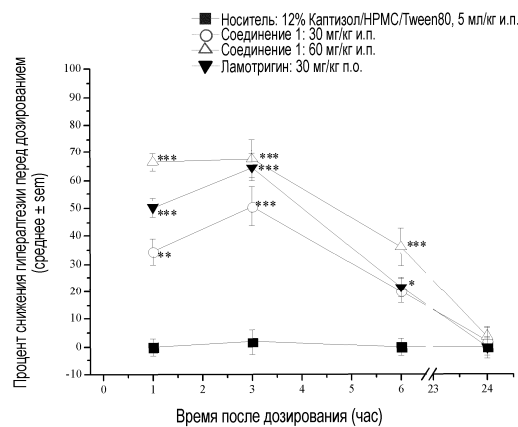
18. Применение по любому из пп.1-17, где модулятор Kv3.1, и/или Kv3.2, и/или Kv3.3 обеспечивает увеличение менее 10% обуславливаемого Kv3.4 тока в концентрации, равной 10 мкМ.



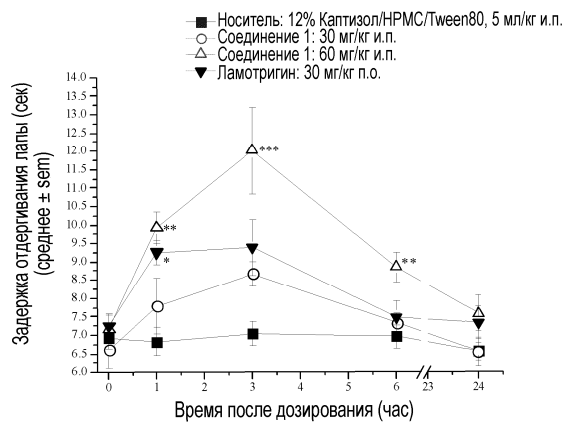
Фиг. 1а



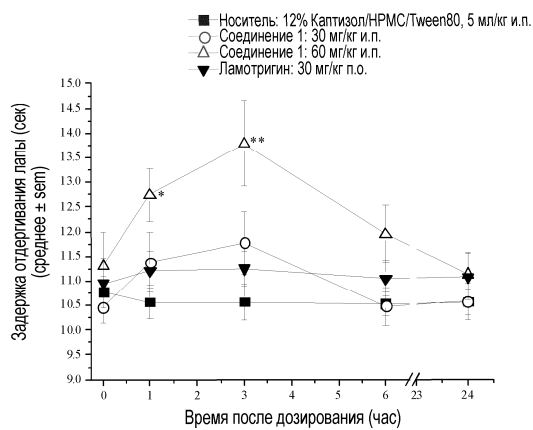
Фиг. 1b



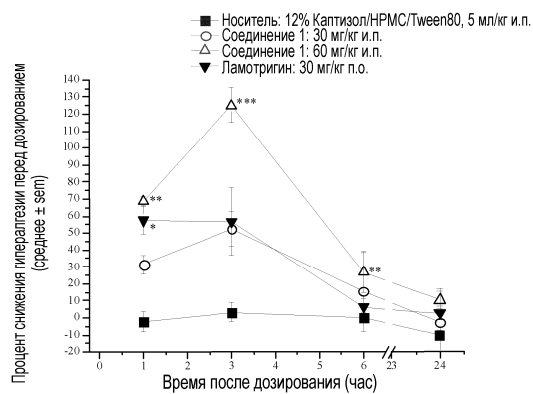
Фиг. 1с



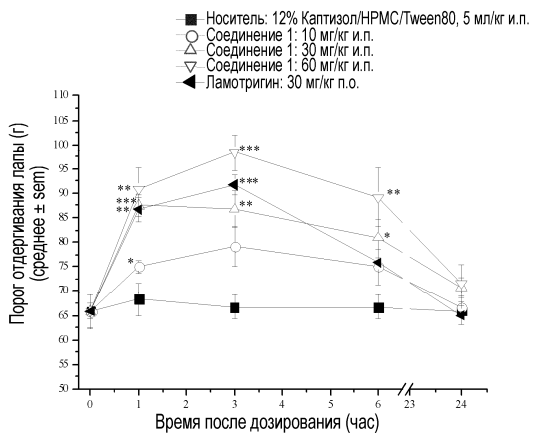
Фиг. 2а



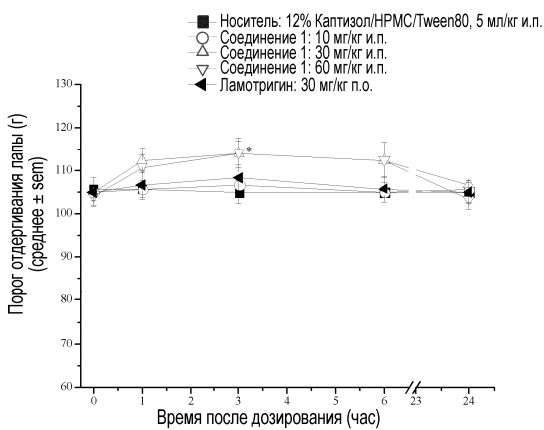
Фиг. 2b



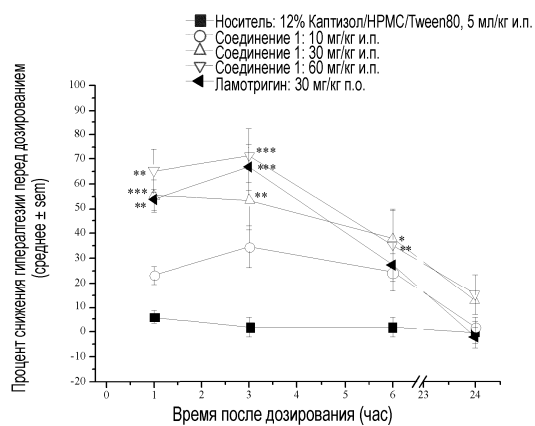
Фиг. 2с



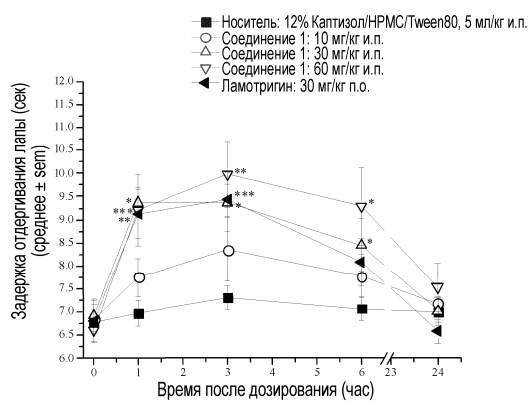
Фиг. 3а



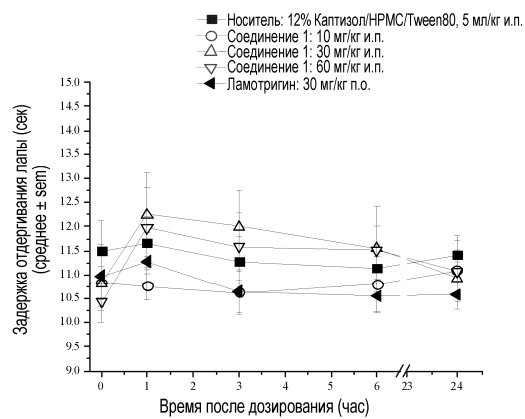
Фиг. 3b



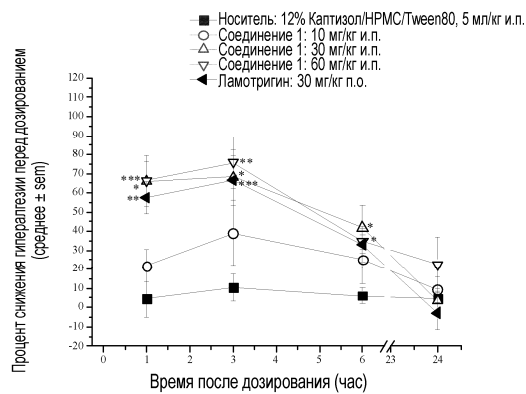
Фиг. 3с



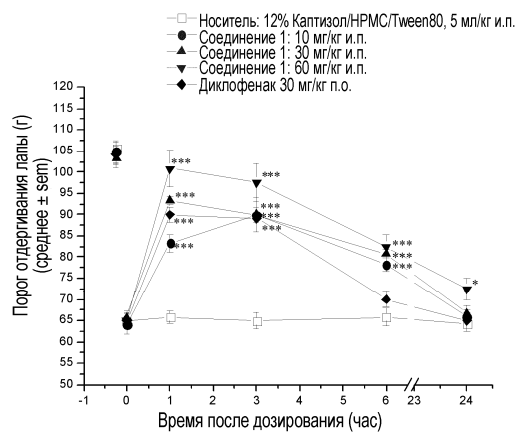
Фиг. 4а



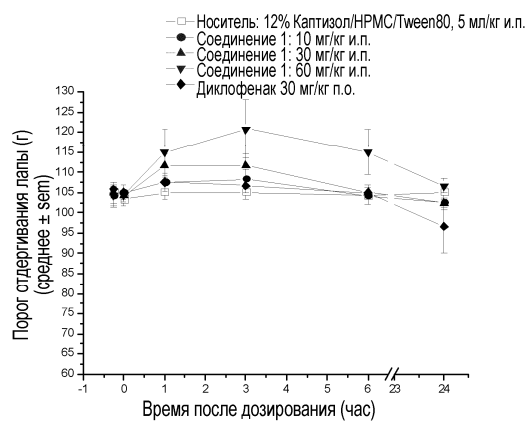
Фиг. 4b



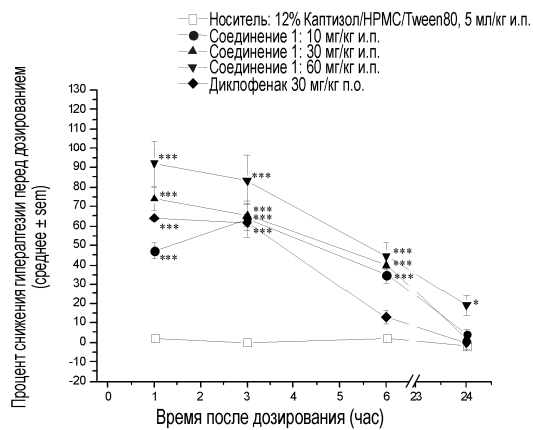
Фиг. 4с



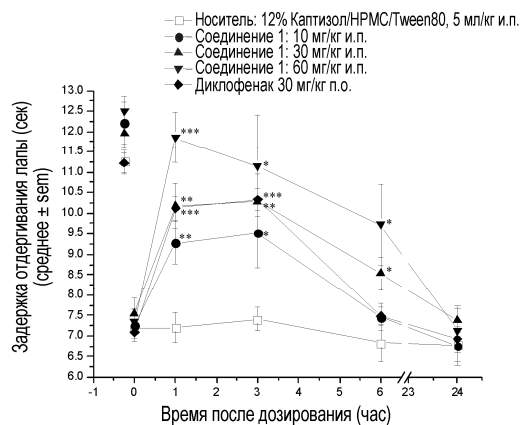
Фиг. 5а



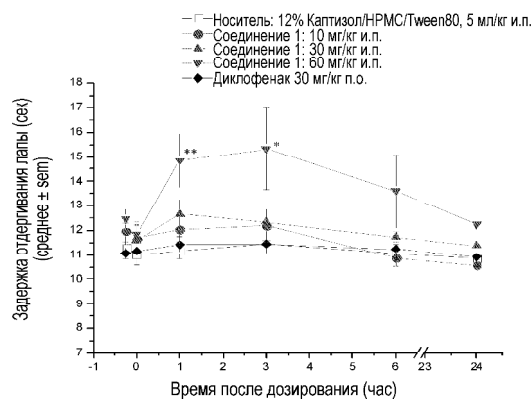
Фиг. 5b



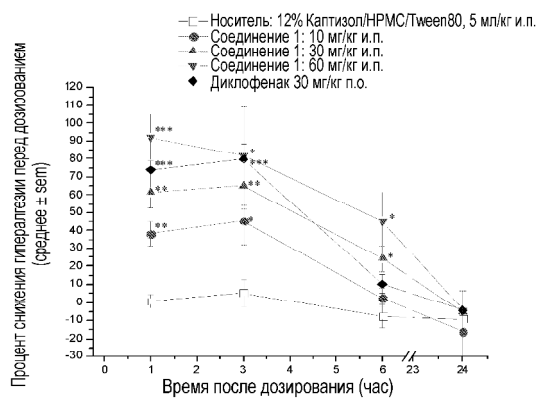
Фиг. 5с



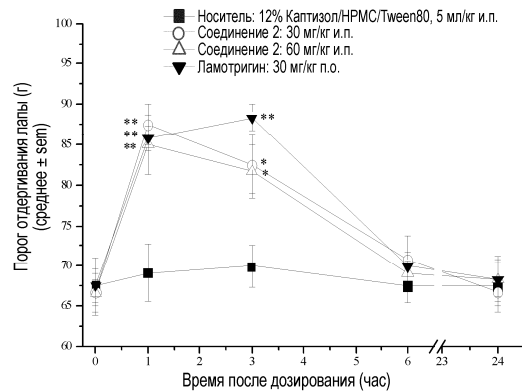
Фиг. 6а



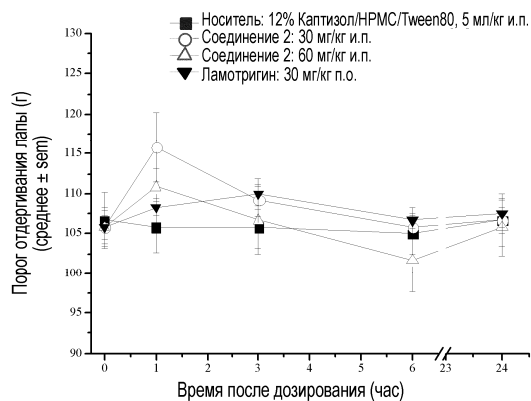
Фиг. 6b



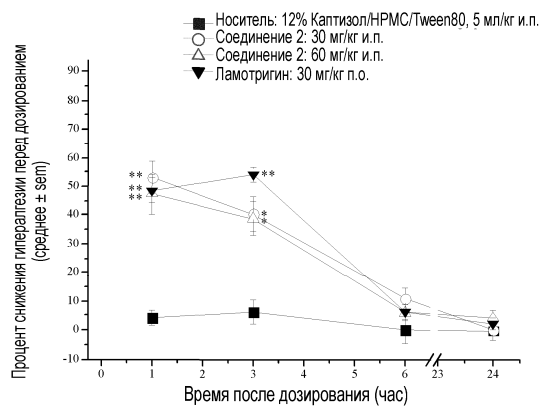
Фиг. 6с



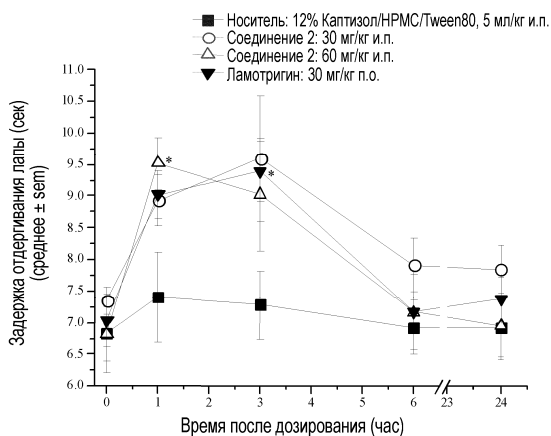
Фиг. 7a



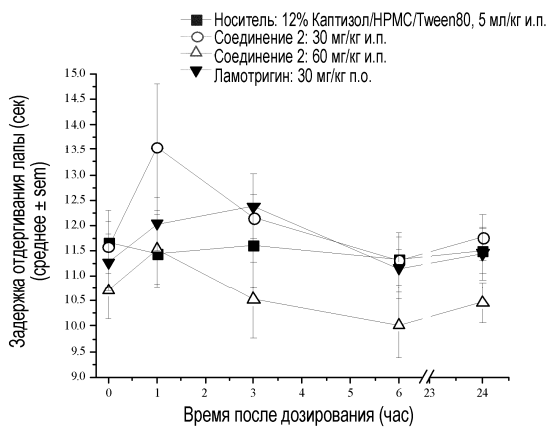
Фиг. 7b



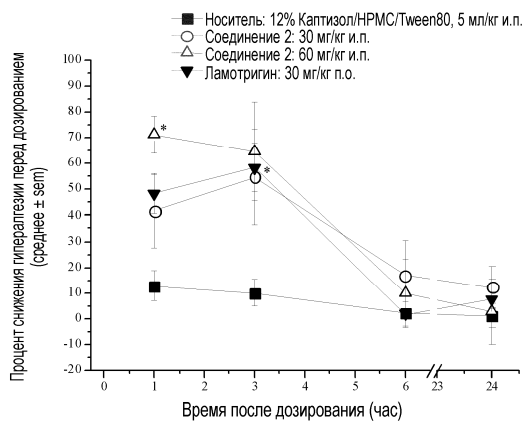
Фиг. 7с



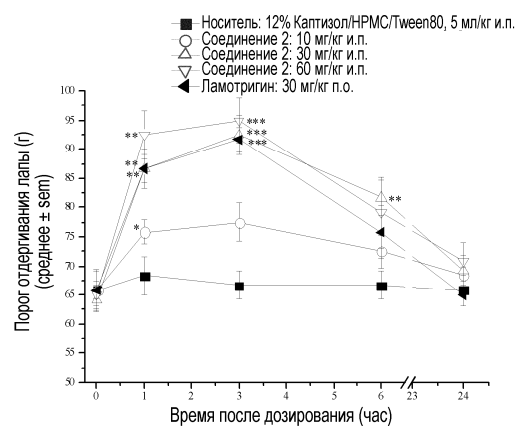
Фиг. 8а



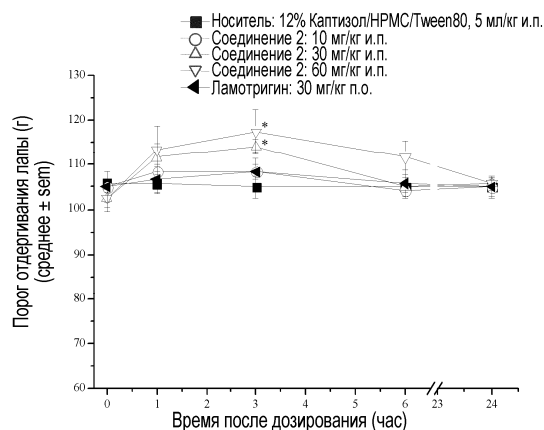
Фиг. 8b



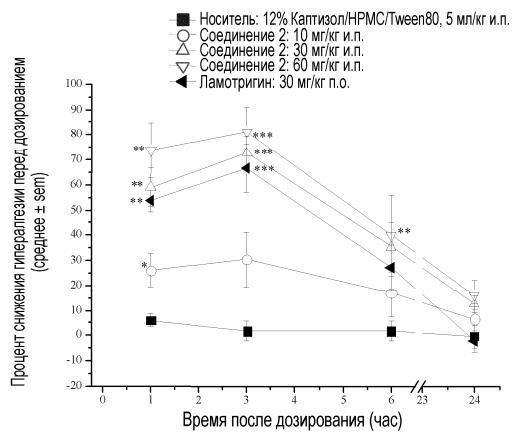
Фиг. 8с



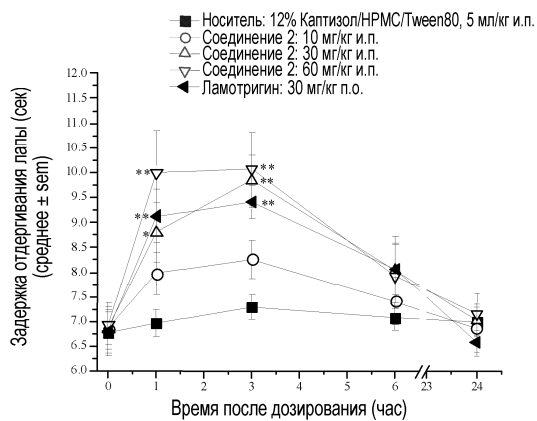
Фиг. 9а



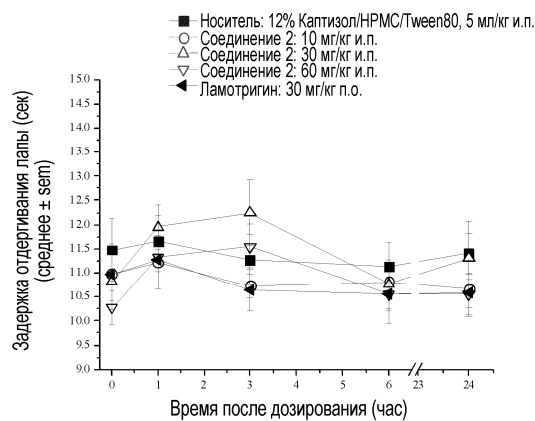
Фиг. 9b



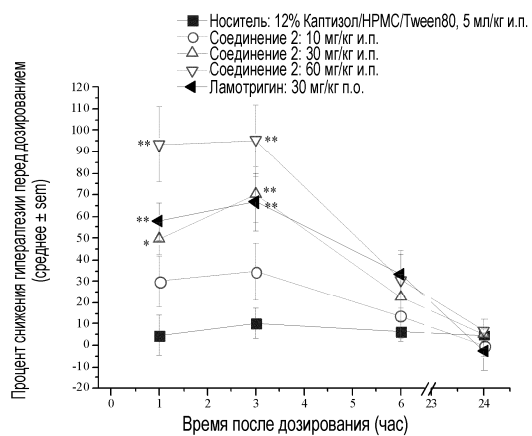
Фиг. 9с



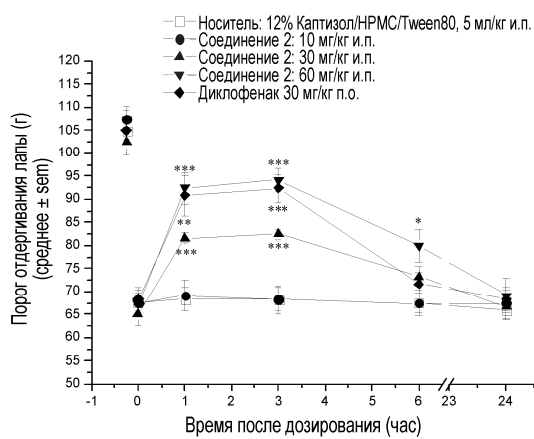
Фиг. 10а



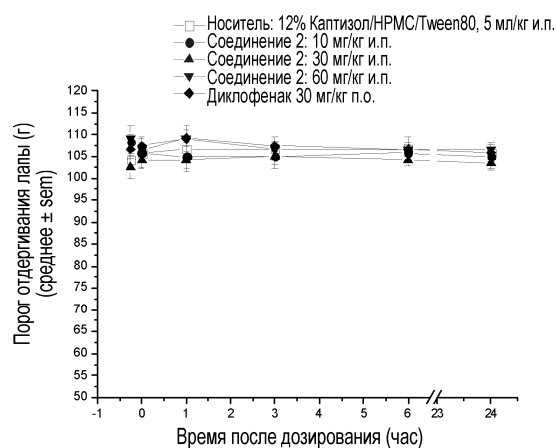
Фиг. 10b



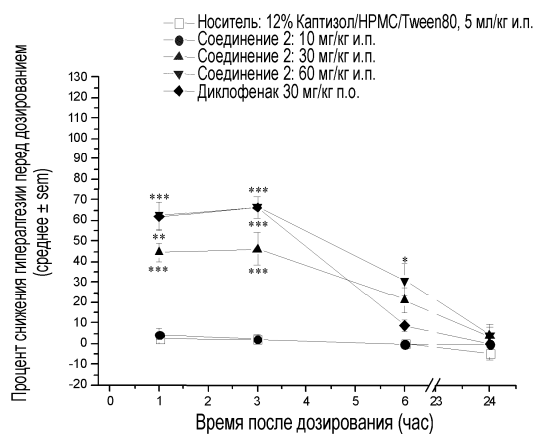
Фиг. 10с



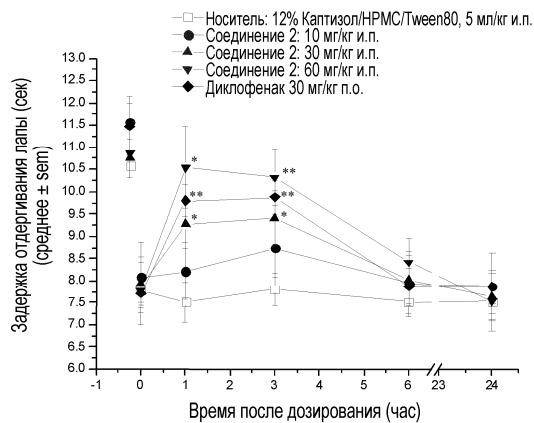
Фиг. 11а



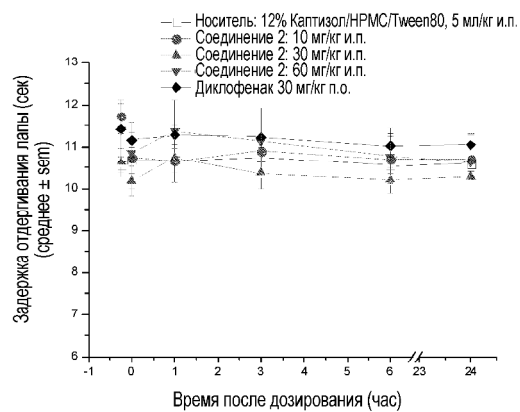
Фиг. 11b



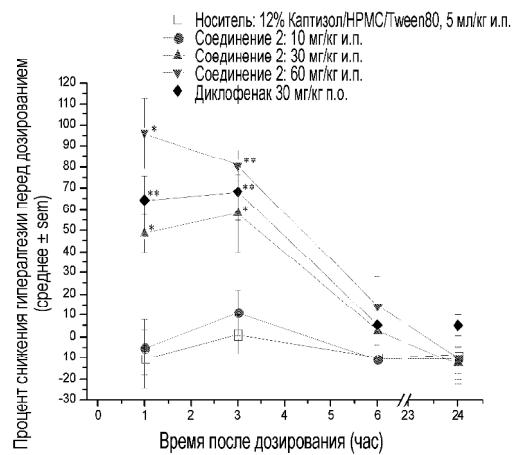
Фиг. 11с



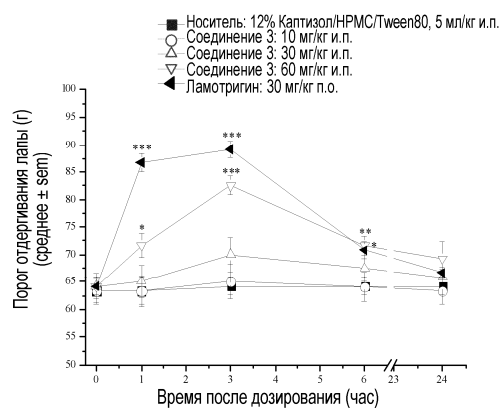
Фиг. 12а



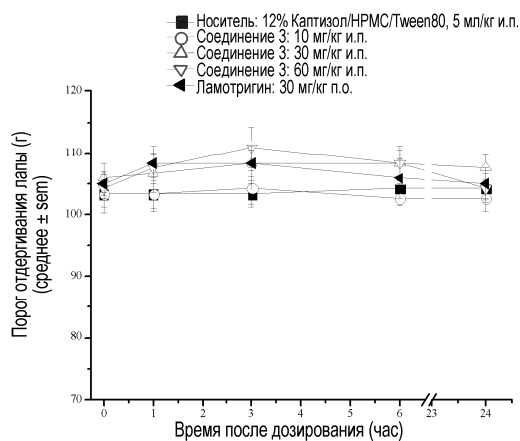
Фиг. 12b



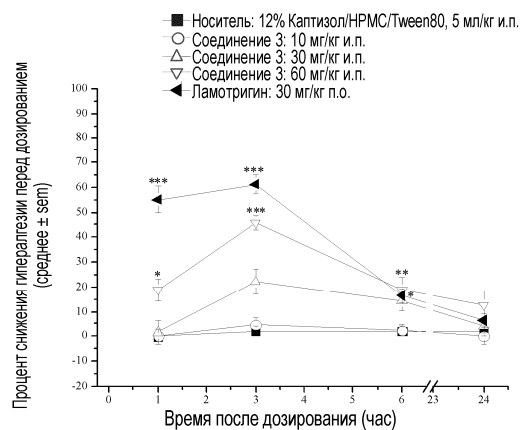
Фиг. 12с



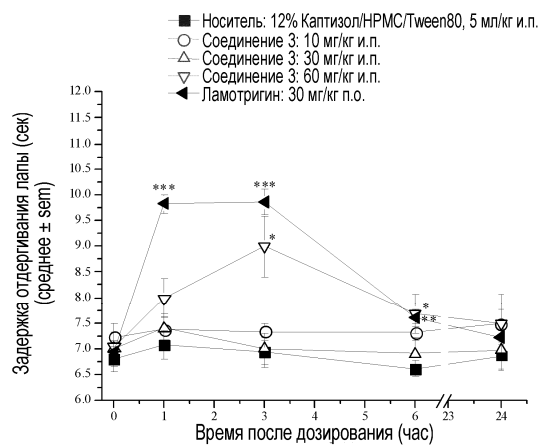
Фиг. 13а



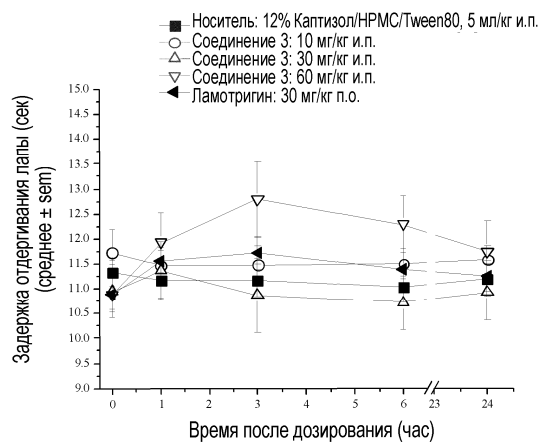
Фиг. 13б



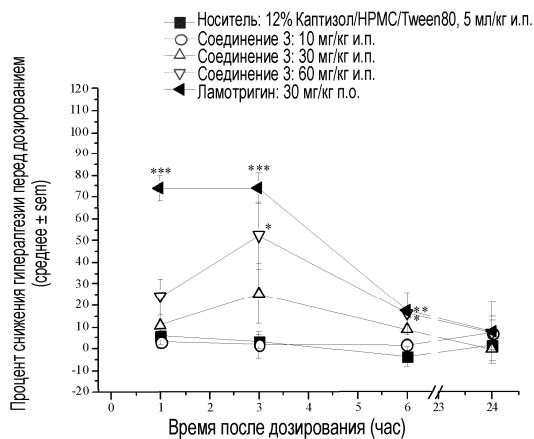
Фиг. 13с



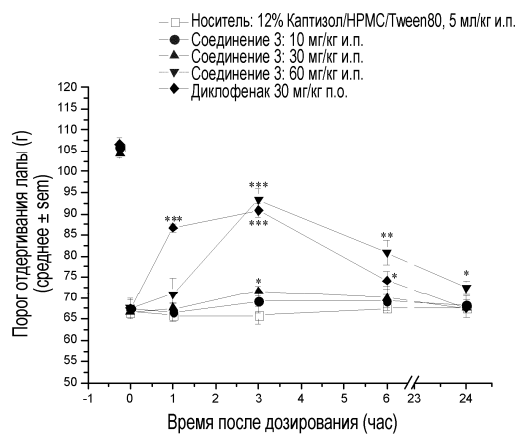
Фиг. 14а



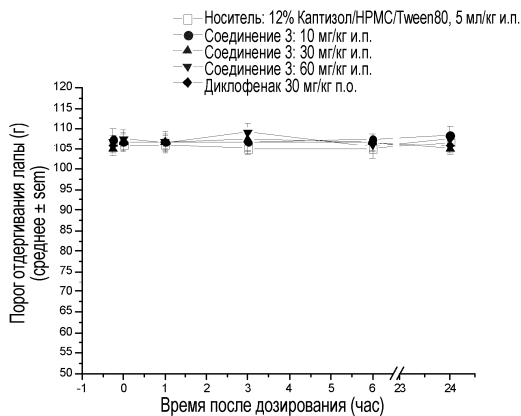
Фиг. 14б



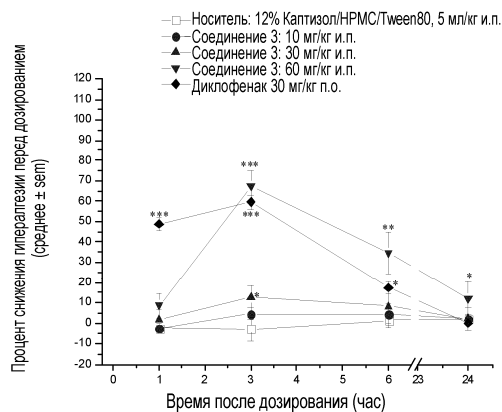
Фиг. 14с



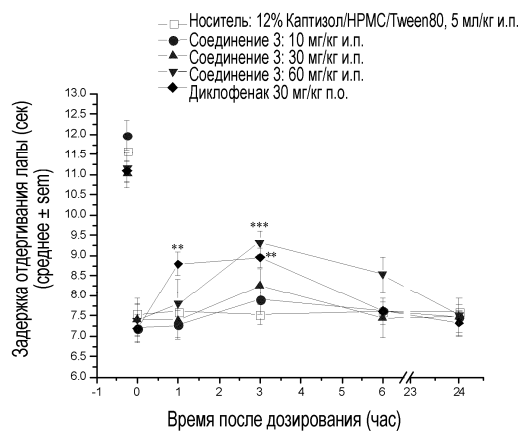
Фиг. 15а



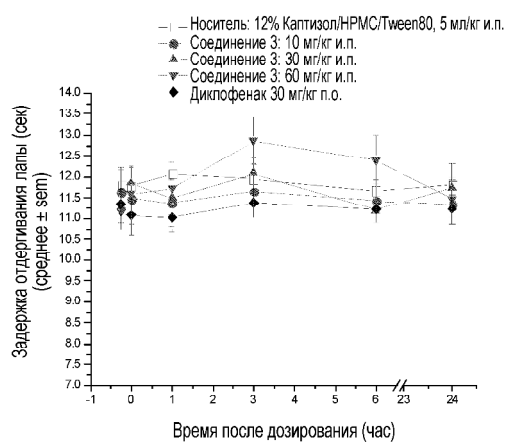
Фиг. 15b



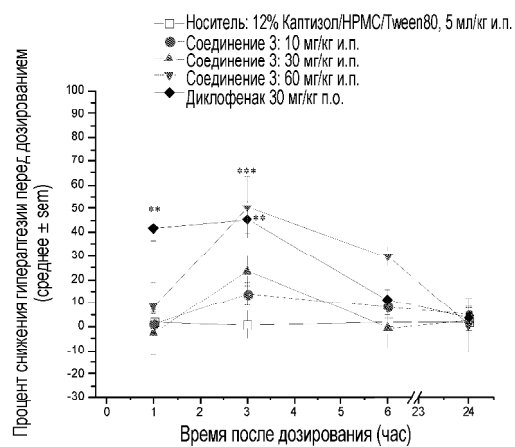
Фиг. 15с



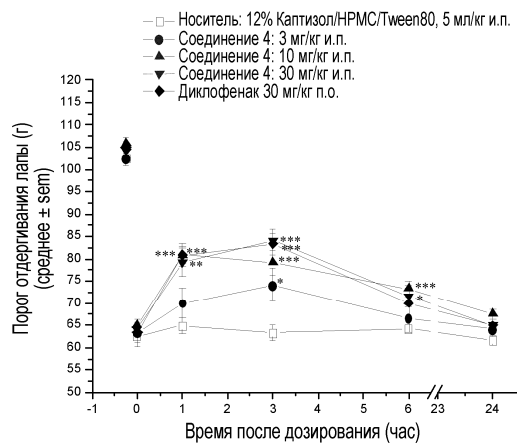
Фиг. 16а



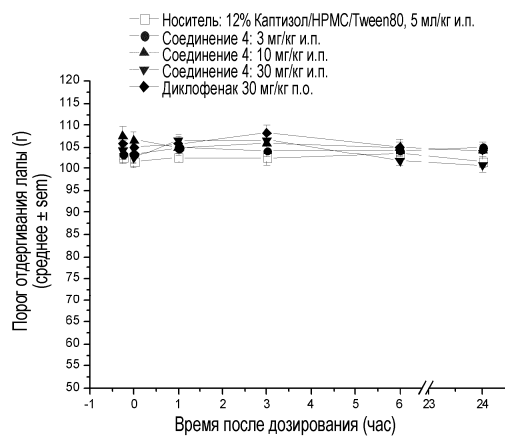
Фиг. 16b



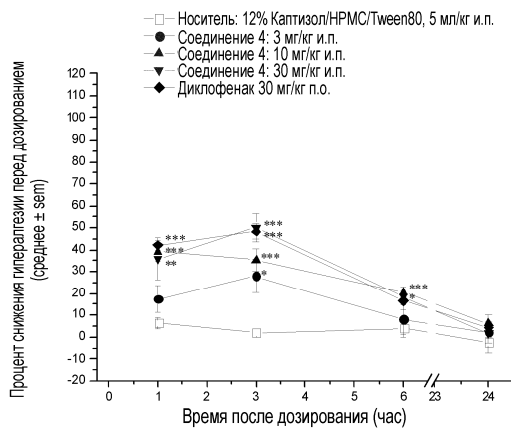
Фиг. 16с



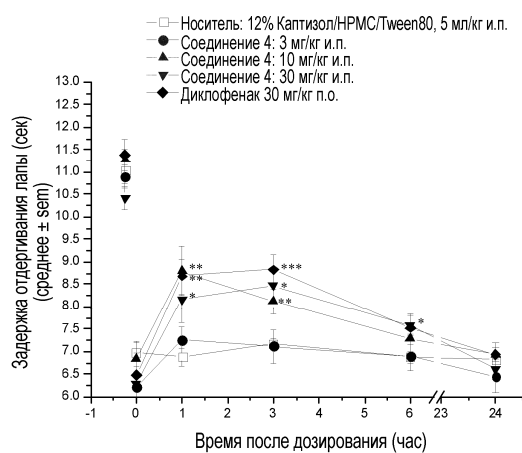
Фиг. 17а



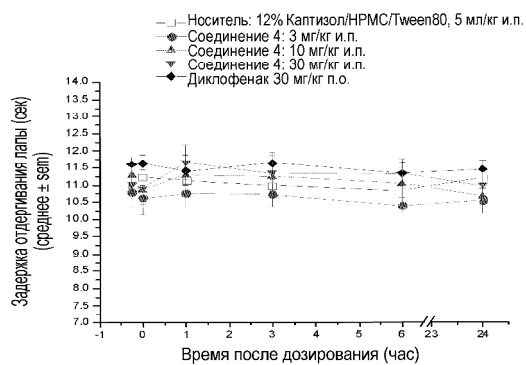
Фиг. 17b



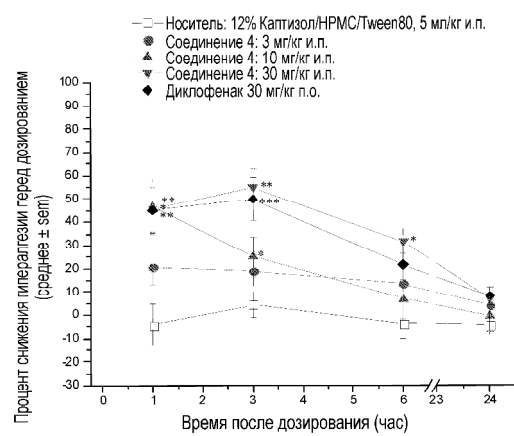
Фиг. 17с



Фиг. 18a



Фиг. 18b



Фиг. 18c

