

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047958**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.10.03

(21) Номер заявки
202290358

(22) Дата подачи заявки
2020.07.17

(51) Int. Cl. **A61K 31/4184** (2006.01)
A61K 31/4427 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)

(54) **ИНГИБИТОРЫ ФЕРРОПОРТИНА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ С ЦЕЛЬЮ
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПОЧЕК**

(31) **19187247.2; 20174154.3**

(32) **2019.07.19; 2020.05.12**

(33) **EP**

(43) **2022.05.27**

(86) **PCT/EP2020/070392**

(87) **WO 2021/013772 2021.01.28**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ВИФОР (ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ) АГ
(CH)**

(56) **WO-A2-2017068089
WO-A1-2018192973**

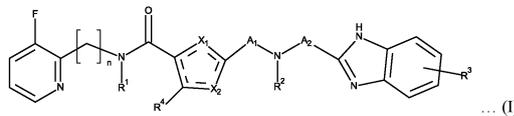
**NORISHI UEDA ET AL. "Role of
Hepcidin-25 in Chronic Kidney Disease: Anemia and
Beyond", CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY,
vol. 24, no. 14, 30 June 2017 (2017-06-30),
XP055657452, NL ISSN: 0929-8673, DOI:
10.2174/0929867324666170316120538, the whole
document**

WO-A1-2018067857

(72) Изобретатель:
**Манолова Ваниа, Дюрренбергер
Франц (CH)**

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) Изобретение относится к применению ингибиторов ферропортина соединений общей формулы (I) для предупреждения и лечения повреждений почек, таких как, в частности, острые повреждения почек, и симптомов и патологических состояний, связанных с ними.



... (I)

B1

047958

047958

B1

Введение

Изобретение относится к применению соединений общей формулы (I), которые действуют как ингибиторы ферропортина, для предупреждения и лечения повреждений почек, таких как, в частности, острые повреждения почек, а также симптомов и патологических состояний, связанных с ними.

Предпосылки и уровень техники

Железо является необходимым микроэлементом почти для всех организмов и имеет важное значение, в частности, в отношении роста и образования крови. Баланс обмена железа в этом случае в первую очередь регулируется уровнем извлечения железа из гемоглобина стареющих эритроцитов, из запасов железа в печени и всасывания железа в двенадцатиперстной кишке из пищи. Высвобожденное железо поглощается через кишечник, в частности, с помощью специфических транспортных систем (DMT-1, ферропортин), переносится в кровотоки и таким образом доставляется в соответствующие ткани и органы (трансферрин, рецепторы трансферрина). В организме человека элемент железо имеет большое значение, *inter alia*, для переноса кислорода, поглощения кислорода, клеточных функций, таких как митохондриальный перенос электронов, когнитивные функции и т.д., и в конечном счете для всего энергетического метаболизма. Организмы млекопитающих не способны активно выделять железо. Метаболизм железа по существу контролируется гепсидином через клеточное высвобождение железа из макрофагов, гепатоцитов и энтероцитов. Гепсидин действует на всасывание железа через кишечник и через плаценту и на высвобождение железа из ретикулоэндотелиальной системы. Образование гепсидина регулируется в прямой взаимосвязи с уровнем железа в организмах, т.е. если организм снабжается железом и кислородом в достаточной степени, гепсидина образуется больше, если уровни железа и кислорода низкие, или в случае усиленного эритропоэза, гепсидина образуется меньше. В клетках слизистой оболочки тонкого кишечника и в макрофагах гепсидин связывается с транспортным белком ферропортином, который обычно транспортирует железо из внутренней части клетки в кровь. Транспортный белок ферропортин представляет собой трансмембранный белок, состоящий из 571 аминокислоты, который экспрессируется в печени, селезенке, почках, сердце, кишечнике и плаценте. В частности, ферропортин локализуется в базолатеральной мембране клеток кишечного эпителия. Ферропортин локализуется таким образом, что действует на экспорт железа из пищи в кровь. Если гепсидин связывается с ферропортином, ферропортин транспортируется во внутреннюю часть клетки, где происходит его разрушение, так что затем высвобождение железа из клеток почти полностью блокируется. Если ферропортин инактивируется или ингибируется гепсидином, так что он неспособен к экспорту железа, которое хранится в клетках слизистой оболочки, всасывание железа в кишечнике блокируется. Уменьшение гепсидина приводит к увеличению активного ферропортина, допуская таким образом усиленное высвобождение накопленного железа и усиленное всасывание железа из пищи, увеличивая таким образом уровень железа в сыворотке крови. В патологических случаях увеличенный уровень железа ведет к хронической перегрузке железом.

Кроме хронической перегрузки железом нарушение обмена железа также вызывает другие тяжелые патологические состояния. Основная часть железа связана с гемоглобином и белками, такими как трансферрин, ферритин, липокаин, связанный с желатиназой нейтрофилов (NGAL), или существует в состоянии трехвалентного железа (Fe^{3+}). При патологических состояниях может образовываться высокореактивный и токсичный ион (Fe^{2+}). Фракции железа, не связанные с трансферрином (или с другими обычно связывающими железо молекулами, подобными ферритину, гему, апоферритину, гемосидерину и т.д.), все вместе относят к свободному железу или не связанному с трансферрином железу (NTBI). Кроме того, широко известно "каталитическое железо" или "лабильное железо" как переходный пул внеклеточного и внутриклеточного железа, которое часто слабо связано с сывороточным альбумином или эндогенными хелаторами, такими как цитрат, ацетат, малат, фосфат и адениновые нуклеозиды. Лабильное железо существует в основном в форме двухвалентного железа (Fe^{2+}). Описан определенный вредный аспект такого избытка свободного железа и каталитического или лабильного железа, приводящий к нежелательному образованию радикалов. В частности, ионы железа (II) катализируют образование (в частности, через реакцию Фентона) реактивных форм кислорода (ROS). Эти ROS вызывают повреждение ДНК, липидов, белков и углеводов, включая перокисление липидов, повреждение эндотелия, окисление белков, повреждение митохондрий и повреждение эритроцитов, что имеет далеко идущие последствия для клеток, тканей и органов. Образование ROS хорошо известно и описано в литературе как вызывающее так называемый окислительный стресс. Широко описано, что NTBI и каталитическое железо проявляют высокую склонность индуцировать такие ROS, обладающие токсическим потенциалом для повреждения клеток, причем токсичность железа влияет на большинство органов, включая сердце, поджелудочную железу, почки и органы, вовлеченные в кроветворение. Кроме того, считается, что накопление NTBI в плазме ведет к внутрисосудистому повреждению стареющих красных клеток крови и, таким образом, к опосредованному железом внутрисосудистому гемолизу. Считается, что внутрисосудистый гемолиз, опосредованный железом, вызывает повреждение почек.

Соответственно, известно, что перегрузка железом вызывает повреждение ткани и органа, такое как, например, повреждение сердца, печени и эндокринное повреждение (Patel M. et al., "Non Transferrin Bound Iron: Nature, Manifestations and Analytical Approaches for Estimation", *Ind. J. Clin. Biochem.*, 2012; 27(4): 322-332, и Brissot P. et al., Review "Non-transferrin bound iron: A key role in iron overload and iron

toxicity", *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012; 1820, 403-410).

В частности, описано, что каталитическое или лабильное железо участвует в патогенезе повреждений почек, например, через образование ROS и его повреждающий потенциал в отношении ткани почек. Также описано, что каталитическое или лабильное железо, а также NTBI действуют как медиаторы гибели клеток и последующей воспалительной реакции во время ишемически-реперфузионного повреждения (TRI) или ишемического повреждения, которое ведет к острому повреждению почек (AKI). Образование ROS каталитическим свободным железом вызывает большее повреждение тканей, ведущее к высвобождению бесклеточного гема и других содержащих железо продуктов и таким образом к самоподдерживающему высвобождению каталитического свободного железа, приводя таким образом к критическому повреждению при многих острых заболеваниях, таких как инфаркт миокарда, сепсис, инсульт, реперфузионное повреждение и острое повреждение почек и т.д. Ишемическое повреждение является основной причиной AKI, и AKI ассоциируется с повышенной заболеваемостью, смертностью и длительной госпитализацией по сравнению с пациентами без такого состояния. Острая ишемия ведет к истощению АТФ, повреждению эпителия канальцев и гипоксической гибели клеток. Дополнительные острые хирургические ситуации, такие как операции, могут индуцировать каталитическое свободное железо через хирургический стресс. Например, во время операций, требующих сердечно-легочного шунтирования, экстракорпоральное кровообращение, подверженное воздействию нефизиологических поверхностей и/или сдвиговых усилий, может повредить красные клетки крови, высвобождая свободный гемоглобин и свободное железо. Соответственно, срочная операция может привести к увеличенному каталитическому свободному железу, которое в свою очередь вносит вклад в развитие AKI. До настоящего времени гепсидин описывался как потенциальная терапевтическая возможность для смягчения ишемического повреждения и, таким образом, AKI путем модуляции системного гомеостаза железа (S. Swaminathan, "Iron Homeostasis Pathways as Therapeutic Targets in Acute Kidney Injury", *Nephron Clinical Practice*, 2018; Scindia et al, "Iron Homeostasis in Healthy Kidney and its Role in Acute Kidney Injury", *Seminars in Nephrology*, Vol. 39, No. 1, pp 76-84, 2019; Scindia et al., "Hepcidin Mitigates Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Modulating Systemic Iron Homeostasis", *J. Am. Soc. Nephrol.*, 26, 2008-2814, 2015; Chawla et al., "Therapeutic Opportunities for Hepcidin in Acute Care Medicine", *Crit. Care Clin.*, 35, 357-374, 2019).

В обзорной статье Ueda и Takasawa "Role of Hepcidin-25 in Chronic Kidney Disease: Anemia and Beyond", *Current Medicinal Chemistry*, 2017, 24, 1417-1452, описывается роль гепсидина-25 в патогенезе и развитии повреждения почек через модуляцию опосредованного железом окислительного повреждения.

Также описывается, что NTBI и свободный гемоглобин накапливаются при трансфузиях красных клеток крови (RBC), в частности, при трансфузиях сохраненных RBC. Обсуждается, что трансфузии RBC могут быть связаны с внесосудистым гемолизом, ведущим к накоплению NTBI. На основании этого, трансфузии RBC можно рассматривать как потенциальный фактор AKI за счет повышения уровней NTBI и каталитического железа у пациентов, подвергшихся трансфузии [Baek J.H., et al, "Iron accelerates hemoglobin oxidation increasing mortality in vascular diseased guinea pigs following transfusion of stored blood", *JCI Insights*, 2 (9), 2017].

В WO2015/042515 описывается применение гепсидина и производных гепсидина для защиты почек от IRI.

Также обсуждается хелатирование железа как терапевтический подход при лечении AKI (Leaf et al., "Catalytic iron and acute kidney injury", *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 311(5), F871-F876, 2016).

В WO2018/067857 описывается применение специфических соединений, действующих как модуляторы дельта-рецептора, активируемого пролифератором пироксисом (PPAR δ), для лечения острого повреждения почек путем регулирования биосинтеза митохондрий.

J.H. Baek et al., "Ferroportin inhibition attenuates plasma iron, oxidant stress, and renal injury following red blood cell transfusion in guinea pigs"; *Transfusion*, 2020 Mar; 60(3) :513-523, сообщают результаты по ослаблению клеточного повреждения путем внутривенного введения низкомолекулярного ингибитора ферропортина VIT-2653, предоставленного Vifor (International) Ltd., сразу после срочной трансфузии красных клеток крови на модели морских свинок.

Кроме того, низкомолекулярные соединения, обладающие действием как ингибиторы ферропортина, и их применение для лечения хронической перегрузки железом путем перорального введения описаны в международных заявках WO2017/068089 и WO2017/068090. Кроме того, международная заявка WO2018/192973 относится к конкретным солям избранных ингибиторов ферропортина, описанных в WO2017/068089 и WO2017/068090. Ингибиторы ферропортина, описанные в указанных трех международных заявках, совпадают с соединениями формулы (I), используемыми в новом медицинском применении по настоящему изобретению. В этих документах, в целом, описана пригодность новых соединений ингибиторов ферропортина для применения в профилактике и/или лечении образования радикалов, реактивных форм кислорода (ROS) и окислительного стресса, вызванных избытком железа или перегрузкой железа, а также в профилактике и/или лечении повреждений сердца, печени и эндокринного повреждения, вызванного избытком железа или перегрузкой железа. Однако в них не описывается профилактика и лечение острых ишемических ситуаций и, в частности, ишемического повреждения почек и/или AKI.

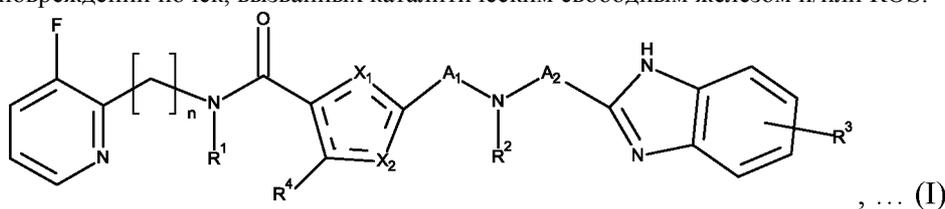
Задача, решаемая изобретением

Задачей, решаемой к настоящему изобретению, является создание нового способа и новых лекарственных средств для предупреждения и лечения повреждений почек, таких как, в частности, ишемически-реперфузионное повреждение (в настоящем документе также сокращенно "IRI") и острые повреждения почек, включая, в частности, острое повреждение почек (в настоящем документе также сокращенно "AKI"), ишемически-реперфузионное повреждение почек и AKI, вызванное ишемическим повреждением, AKI после операции или хирургического вмешательства, таких как, в частности, после операции на сердце, наиболее часто с процедурами, включающими сердечно-легочное шунтирование, других серьезных операций на грудной клетке или брюшной полости, и повреждение почек, вызванное трансфузией RBC. В другом аспекте задачей изобретения может считать получение соединений для предупреждения и лечения повреждений почек, описанных в настоящем документе, новых лекарств, которые легче и дешевле получать, чем лекарства на основе рекомбинантных инженерных белков или генетически модифицированных лекарственных соединений.

Описание изобретения

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединения общей формулы (I), определенные в настоящем документе, которые действуют как ингибиторы ферропортина (FpnI), можно использовать для предупреждения и лечения повреждений почек, описанных в настоящем документе.

Соответственно, первый аспект настоящего изобретения относится к соединениям формулы (I), приведенной ниже, предназначенным для применения при лечении повреждений почек, предпочтительно лечению повреждений почек, вызванных каталитическим свободным железом и/или ROS:



причем

X¹ представляет собой N или O; и

X² представляет собой N, S или O;

при условии, что X¹ и X² являются различными;

R¹ выбирают из группы, состоящей из

водорода и

необязательно замещенного алкила;

n равен целому числу от 1 до 3;

A¹ и A² выбирают независимо из группы алкандиила;

R² представляет собой

водород или

необязательно замещенный алкил; или

A¹ и R² вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют необязательно замещенный 4-6-членный цикл;

R³ обозначает 1, 2 или 3 необязательных заместителя, которые можно выбрать независимо из группы, состоящей из

галогена,

циано,

необязательно замещенного алкила,

необязательно замещенного алкокси и

карбоксильной группы;

R⁴ выбирают из группы, состоящей из

водорода,

галогена,

C₁-C₃-алкила и

замещенного галогеном алкила;

включая также их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы.

Определения

Настоящее изобретение относится к новому медицинскому применению соединений формулы (I) и их солей, сольватов, гидратов и полиморфов, описанных в настоящем документе, для предупреждения и лечения повреждений почек, выбранных из повреждений почек, вызванных каталитическим свободным железом.

В предпочтительном аспекте изобретения повреждения почек выбраны из ишемически-реперфузионного повреждения почек (IRI), ишемического повреждения и острых повреждений почек.

В другом предпочтительном аспекте изобретения повреждения почек выбраны из острого повреж-

дения почек (AKI), ишемически-реперфузионного повреждения почек (IRI), ишемического повреждения и AKI, вызванного ишемическим повреждением, AKI после операции или хирургического вмешательства, таких как, в частности, после операции на сердце, наиболее часто с процедурами, включающими сердечно-легочное шунтирование, других серьезных операций на грудной клетке или брюшной полости, и повреждения почек, связанного с трансфузией RBC.

Таким образом, настоящее изобретение также относится к новому способу предупреждения и лечения повреждений почек, описанных в настоящем документе, путем введения пациенту, нуждающемуся в этом, одного или нескольких соединений формулы (I), определенных в настоящем документе, включая их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы.

Новые применение и способ лечения согласно настоящему изобретению включают введение соединений формулы (I), определенных в настоящем документе, включая их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы.

Термины "лечить", "лечение" или "лечат" в контексте нового применения по настоящему изобретению включают уменьшение интенсивности по меньшей мере одного симптома или патологического состояния, связанного с повреждениями почек, описанными в настоящем документе.

Термины "профилактика", "предупреждать", "предупреждение" или "предупреждающий" в контексте настоящего изобретения включают защиту от ишемического повреждения почек, избегание появления AKI или по меньшей мере уменьшение тяжести AKI после ишемического повреждения, трансфузии RBC или хирургического вмешательства, например, путем введения соединений по настоящему изобретению до или как сопровождение или сразу после ишемического события, трансфузии RBC или хирургического вмешательства для предупреждения или по меньшей мере уменьшения появления повреждений почек, вызываемых каталитическим свободным железом.

Как описано выше, свободное каталитическое железо или лабильное железо или NTBI рассматривается как основная причина повреждения почек, такого как, в частности, AKI, запускаемое ишемией. Введение ингибиторов ферропортина (соединений формулы (I) согласно настоящему изобретению) способствует защите от повреждающих действий каталитического свободного железа. Предполагается, что ингибиторы ферропортина по настоящему изобретению предотвращают образование каталитического свободного железа или NTBI путем связывания железа в макрофагах печени и селезенки, как подробнее поясняется ниже, при этом снижая его уровни в плазме и снижая риск образования ROS. Соединения формулы (I) по настоящему изобретению, которые действуют как ингибиторы ферропортина, при этом обладают потенциалом для предотвращения вредных эффектов путем связывания железа в макрофагах и, следовательно, прерывания порочного круга самоподдерживающегося высвобождения каталитического свободного железа.

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что соединения формулы (I) по настоящему изобретению особенно хорошо подходят для предупреждения и лечения повреждений почек, описанных в настоящем документе, путем ограничения доступности железа для образования NTBI. Также обнаружено, что соединения формулы (I) по настоящему изобретению особенно хорошо подходят для предупреждения и лечения повреждений почек, описанных в настоящем документе, путем ограничения реактивных форм кислорода (ROS) для того, чтобы избежать повреждения почечной ткани.

Кроме каталитического свободного железа в качестве факторов повреждения почек следует рассматривать NTBI и LPI. NTBI включает все формы сывороточного железа, которые не ассоциированы тесно с трансферрином и химически и функционально являются гетерогенными. LPI (лабильное плазменное железо) представляет собой компонент NTBI, который является как редокс-активным, так и хелатируемым, способным проникать в органы и индуцировать перегрузку тканей железом.

Следующие параметры можно определить для оценки эффективности соединений по настоящему изобретению в новом медицинском применении: кератинин плазмы, скорость клубочковой фильтрации (включая расчетную скорость клубочковой фильтрации eGFR), экскреция альбумина с мочой, липокалин, связанный с желатиназой нейтрофилов мочи (NGAL), NTBI, LPI, гемолиз RBC, азот мочевины крови (BUN), гемоглобин плазмы (Hb), общее железо плазмы, гепсидин плазмы, инфильтрация нейтрофилов в почках, сывороточный IL-6, содержание железа в селезенке, почках и/или печени, ферропортин в почках, KIM-1 (молекула повреждения почек 1) в качестве маркера острого повреждения почек в крови и моче и H-ферритин.

В дополнение или в качестве альтернативы эффективность соединений по настоящему изобретению можно определить через оценку повреждения почечных канальцев, такую как, например, оценка CSA-NGAL (оценка NGAL, связанная с кардиохирургией) для детекции острого повреждения канальцев, как подробнее описано ниже, оценка KDIGO, описанная подробнее ниже, или оценка EGTI, включающая эндотелиальный, гломерулярный и интерстициальный (EGTI) компоненты для оценки гистологии [описанная, например, в Khalid et al., "Kidney ischaemia reperfusion injury in the rat: the EGTI scoring system as a valid and reliable tool for histological assessment", *Journal of Histology & Histopathology*, Vol. 3, 2016].

Вышеуказанные параметры можно определить с использованием обычных методов, известных в данной области техники, в частности, с помощью методов, описанных подробнее ниже. Соединения (I) по настоящему изобретению подходят для исправления или улучшения по меньшей мере одного из ука-

занных параметров.

При предупреждении или лечении АКІ, в частности, путем ведения соединений формулы (I) улучшаются указанные далее параметры.

Новое лечение может привести к снижению сывороточного креатинина (sCr) у пациента по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, и/или ускоренному уменьшению и/или увеличению продолжительности уменьшения величины sCr, определенной в любое время в пределах периода времени до одной недели, до 6 дней, до 5 дней, до 4 дней, до 84 часов, до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями sCr у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель до начала лечения по изобретению. Концентрацию sCr можно определить обычными методами, такими как согласно анализу, описанному ниже в примерах.

В другом аспекте новое лечение может привести к исправленной (сниженной) экскреции альбумина с мочой у пациента по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенной в любое время в пределах периода времени до одной недели, до 6 дней, до 5 дней, до 4 дней, до 84 часов, до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с экскрецией альбумина с мочой у пациента, определенной в любой момент времени в пределах 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель до начала лечения по изобретению. Экскрецию альбумина с мочой можно определить обычными методами.

Новое лечение может привести к снижению азота мочевины в крови (BUN) у пациента по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенному в любое время в пределах периода времени до одной недели, до 6 дней, до 5 дней, до 4 дней, до 84 часов, до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями BUN у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель до начала лечения по изобретению. Концентрацию BUN можно определить обычными методами, такими как согласно анализу, описанному ниже в примерах.

Новое лечение может привести к снижению общего железа в плазме у пациента по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенному в любое время в пределах периода времени до одной недели, до 6 дней, до 5 дней, до 4 дней, до 84 часов, до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями общего железа в плазме у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель до начала лечения по изобретению. Концентрацию общего железа в плазме можно определить обычными методами, такими как согласно анализу, описанному ниже в примерах.

Новое лечение может привести к снижению уровней интерлейкина-6 (IL-6) у пациента по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенных в любое время в пределах периода времени до одной недели, до 6 дней, до 5 дней, до 4 дней, до 84 часов, до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями общего IL-6 у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель до начала лечения по изобретению. Концентрацию IL-6 можно определить обычными методами, такими как согласно анализу, описанному ниже в примерах.

Новое лечение может привести к снижению уровней КИМ-1 у пациента по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенных в любое время в пределах периода времени до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12, 8, 6, 5, 4, 3, 2, 1 и 0,5 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями общего КИМ-1 у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24, 36 или 48 часов или до <1 недели до начала лечения по изобретению. Концентрацию КИМ-1 можно определить обычными методами, такими как согласно анализу, описанному ниже в примерах.

Новое лечение может привести к увеличению концентрации железа в селезенке и/или печени у пациента по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенной в любое время в пределах периода времени до одной недели, до 6 дней, до 5 дней, до 4 дней, до 84 часов, до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12 часов после первого введения и/или после ише-

мического события, и по сравнению с уровнями концентрации железа в селезенке и печени у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель до начала лечения по изобретению. Концентрацию железа в селезенке и печени можно определить обычными методами, такими как описанные ниже в примерах.

Новое лечение может привести к снижению концентрации железа в почках у пациента по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенной в любое время в пределах периода времени до одной недели, до 6 дней, до 5 дней, до 4 дней, до 84 часов, до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями концентрации железа в почках у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель до начала лечения по изобретению. Концентрацию железа в почках можно определить обычными методами, такими как описанные ниже в примерах.

Как поясняют Patel et al. (2012; цитировано выше), в нормальных физиологических условиях уровень трансферрина является достаточным для полного удаления свободного железа, обеспечивая отсутствие NTBI и, соответственно, уровни NTBI у нормальных здоровых людей не превышают 1 мкмоль/л и в основном не обнаруживаются большинством обычных методов. В отсутствие трансферрина сообщается об уровнях NTBI до 20 мкмоль/л, а в присутствии недостаточных уровней трансферрина обнаружены уровни NTBI до 10 мкмоль/л. Однако, как описано в Patel et al. (2012), и Brissot et al. (2012), определение сильно зависит от применяемого метода и используемых анализов, и необходимо учитывать технические трудности, возникающие при определении гетерогенных химических форм циркулирующего NTBI. Например, измерения флуоресценции с воспроизводимой точностью до 0,1 мкМ/л описаны Hider et al. (2010), цитировано по Brissot et al. (2012). Согласно Patel et al. (2012; таблица 1), повышенные уровни NTBI в клинических условиях перегрузки железом колеблются от 0,25 до 4,0 мкмоль/л (с различной точностью и различными методами определения). Учитывая это, в отношении настоящего изобретения уровни NTBI считаются повышенными, если обнаруживаются известными методами (например, методами, описанными в Patel et al. (2012), или в Brissot et al. (2012), предпочтительно при превышении 0,1 мкмоль/л.

В одном конкретном аспекте новое лечение по настоящему изобретению приводит к уровням NTBI у пациента, сниженным по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенным в любое время в пределах периода времени до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12, 8, 6, 5, 4, 3, 2, 1 и 0,5 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями общего NTBI у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24, 36 или 48 часов или до <1 недели до начала лечения по изобретению. NTBI можно определить обычными методами, такими как согласно анализу, описанному ниже.

В отдельном аспекте новое лечение по настоящему изобретению приводит к уровням LPI у пациента, сниженным по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенным в любое время в пределах периода времени до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12, 8, 6, 5, 4, 3, 2, 1 и 0,5 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями общего LPI у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24, 36 или 48 часов или до <1 недели до начала лечения по изобретению. LPI можно определить обычными методами, такими как согласно анализу, описанному ниже в примерах.

Новое лечение может привести к ингибированию повреждения канальцев, такого как некроз.

Новое лечение может привести к ингибированию апоптоза.

Новое лечение может привести к сниженной инфильтрации нейтрофилов в почках, вызванной IRI.

В другом аспекте новое лечение по настоящему изобретению приводит к уровням ROS в тканях почек у пациента, сниженным по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенным в любое время в пределах периода времени до 5 дней, до 6 дней, до 7 дней, до 8 дней, до 9 дней, до 10 дней, до 11 дней, до 12 дней, до 13 дней, до 14 дней, до 15 дней, до 16 дней, до 17 дней, до 18 дней, до 19 дней, до 20 дней, до 21 дня, и до 1 месяца после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями ROS в ткани почек у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель до начала лечения по изобретению. Уровни ROS можно определить обычными методами, такими как согласно анализу, описанному ниже в примерах, таким, как, в частности, описан в Scindia et al., 2015 (цитировано выше).

В другом аспекте новое лечение может привести к уровням Н-ферритина в почках у пациента, исправленным (повышенным) по меньшей мере на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или по меньшей мере на 100%, определенным в любое время в пределах периода времени до одной недели, до 6 дней, до 5 дней, до 4 дней, до

84 часов, до 72 часов, до 60 часов, до 48 часов, до 36 часов, до 24 часов или до 12 часов после первого введения и/или после ишемического события, и по сравнению с уровнями Н-ферритина в почках у пациента, определенными в любой момент времени в пределах 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель до начала лечения по изобретению. Уровни Н-ферритина в почках можно определить обычными методами, такими как согласно анализу, описанному ниже в примерах.

С помощью нового способа лечения согласно настоящему изобретению можно достигнуть одного или нескольких указанных выше улучшений.

В частности, с помощью нового способа лечения можно уменьшить появление АКІ, ишемически-реперфузионного повреждения и АКІ, вызванного ишемическим повреждением, АКІ после операции или хирургического вмешательства, такого как, в частности, после операции на сердце, наиболее часто с процедурами, включающими сердечно-легочное шунтирование, других серьезных операций на грудной клетке или брюшной полости, и повреждения почек, связанного с трансфузией RBC.

В отдельном аспекте новое лечение согласно настоящему изобретению ингибирует аномальное изменение одного или нескольких описанных выше параметров или показателей ишемического повреждения и (острых) повреждений почек путем введения соединений формулы (I).

Таким образом, другой аспект изобретения относится к соединениям формулы (I) или его солям, сольватам, гидратам и полиморфам для применения для предупреждения или лечения повреждений почек, описанных в настоящем документе, причем профилактика и/или лечение включают

- a) снижение, ускоренное снижение или предупреждение повышения сывороточного креатинина и/или
- b) повышение или предупреждение снижения расчетной скорости клубочковой фильтрации (eGFR) и/или
- c) снижение или предупреждение повышения ферропортина в почках и/или
- d) повышение или предупреждение снижения уровней Н-ферритина и/или
- e) снижение или предупреждение повышения инфильтрации нейтрофилов в почках и/или
- f) снижение или предупреждение повышения уровней сывороточного IL-6.

Группа пациентов

Субъекты, подлежащие лечению с новым применением согласно изобретению, могут представлять собой любых млекопитающих, таких как грызуны и приматы, и в предпочтительном аспекте новое медицинское применение относится к лечению людей. Субъекты, подлежащие лечению новым способом согласно изобретению, также называются "пациентами".

Субъекты, подлежащие лечению, могут быть любого возраста. Один аспект изобретения относится к лечению детей и подростков. Соответственно в одном предпочтительном аспекте изобретения субъекты, подлежащие лечению новыми способами, описанными в настоящем документе, моложе 18 лет. Конкретнее, субъекты, подлежащие лечению новыми способами, описанными в настоящем документе, могут быть моложе 16 лет, моложе 15 лет, моложе 14 лет, моложе 13 лет, моложе 12 лет, моложе 11 лет, моложе 10 лет, моложе 9 лет, моложе 8 лет, моложе 7 лет, моложе 6 лет или моложе 5 лет. В другом аспекте изобретения субъекты, подлежащие лечению новыми способами, описанными в настоящем документе, могут иметь возраст 1-3 года, 3-5 лет, 5-7 лет, 7-9 лет, 9-11 лет, 11-13 лет, 13-15 лет, 15-20 лет, 20-25 лет, 25-30 лет или больше 30 лет. В случае лечения взрослых субъекты, подлежащие лечению новыми способами, описанными в настоящем документе, имеют возраст 18-25 лет, 20-25 лет, 25-30 лет, 30-35 лет, 35-40 лет, 40-45 лет, 45-50 лет, 50-55 лет, 55-60 лет или больше 60 лет. В случае лечения пожилых пациентов субъекты, подлежащие лечению новыми способами, описанными в настоящем документе, имеют возраст 60-65 лет, 65-70 лет, 70-75 лет, 75-80 лет или больше 80 лет.

В другом аспекте изобретения субъекты, подлежащие лечению, характеризуются наличием повышенных уровней креатинина в плазме и/или пониженной скоростью расчетной клубочковой фильтрации (eGFR) по сравнению с нормальными физиологическими уровнями. Нормальный диапазон креатинина в крови составляет 0,84-1,21 мг/дл (74,3-107 мкм/л).

Кроме того, для характеристики субъектов, подлежащих лечению, можно использовать следующие параметры:

- a) экскреция альбумина с мочой и/или
- b) липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL), и/или
- c) детектируемые уровни NTBI и/или
- d) уровни гемолиза RBC и/или
- e) уровни азота мочевины крови (BUN) и/или
- f) уровни гемоглобина плазмы (Hb) и/или
- g) уровни общего железа в плазме и/или h) уровни гепсидина в плазме и/или
- i) уровни инфильтрации нейтрофилами почек и/или
- j) уровни IL-6 в сыворотке и/или
- k) уровни железа в селезенке, почках и/или печени.

У субъектов, подлежащих лечению согласно изобретению, один или несколько указанных параметров отклоняются от нормальных физиологических уровней при определении обычными диагностиче-

скими методами.

Указанные параметры можно использовать для определения группы пациентов, страдающих от АКІ или в опасности развития АКІ.

В другом аспекте изобретения группу или популяцию пациентов, страдающих от ишемического повреждения или АКІ или в опасности развития АКІ и подлежащих лечению новым способом согласно изобретению, выбирают из субъектов (пациентов), имеющих повышенные уровни NTBI. Уровни NTBI считаются повышенными, если определяются известными методами, как обсуждалось выше. Предпочтительно уровни NTBI $\geq 0,1$ мкМ/л у пациентов считаются повышенными. Возможные методы определения описаны, например, в de Swart et al., "Second international round robin for the quantification of serum non-transferrin-bound iron and labile plasma iron in patients with iron-overload disorders", Haematologica, 2016; 101(1): 38-45.

Аналогичным образом, уровни LPI считаются повышенными, если обнаруживаются известными методами, как обсуждалось выше, и для определения можно использовать методы определения, описанные в de Swart et al., "Second international round robin for the quantification of serum non-transferrin-bound iron and labile plasma iron in patients with iron-overload disorders", Haematologica, 2016; 101(1): 38-45.

Обычно уровень креатинина в сыворотке (sCr) используют для классификации тяжести и образования АКІ.

Согласно классификации KDIGO (2012), установлены следующие конкретные критерии для диагностики АКІ, по которым АКІ может быть диагностировано при наличии любого из следующих признаков:

увеличение sCr на $\geq 0,3$ мг/дл ($\geq 26,5$ мкмоль/л) в пределах 48 часов; или

увеличение SCr до $\geq 1,5$ раз от исходного уровня, которое происходит в пределах предыдущих 7 дней; или

объем мочи $< 0,5$ мл/кг/час в течение 6 часов.

Кроме того, оценить тяжесть острого повреждения почек у человека помогает система классификации в соответствии с критериями RIFLE/AKIN, предложенная группой Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI). Акроним RIFLE используется для определения спектра прогрессирующего повреждения почек, наблюдаемого при АКІ.

Стадия RIFLE	Стадия AKIN	Сывороточный креатинин / GFR	Выделение мочи
Риск	1	1,5-кратное увеличение креатинина в сыворотке или снижение скорости клубочковой фильтрации (GFR) на 25 процентов	$< 0,5$ мл/кг в час в течение шести часов
Повреждение	2	Двукратное увеличение креатинина в сыворотке или снижение GFR на 50 процентов	$< 0,5$ мл/кг в час в течение 12 часов
Недостаточность	3	Трехкратное увеличение креатинина в сыворотке или снижение GFR на 75 процентов	$< 0,3$ мл/кг в час в течение 24 часов или отсутствие выделения мочи (анурия) в течение 12 часов
Потеря		Полная потеря функции почек (напр., необходимость в заместительной почечной терапии) в течение более четырех недель	
Конечная стадия болезни почек		Полная потеря функции почек (напр., необходимость в заместительной почечной терапии) в течение более трех месяцев	

Другим важным маркером острого повреждения почек является расчетная скорость клубочковой фильтрации (eGFR), которая является критерием для измерения уровня функции почек. Вычисляют eGFR из величин креатинина в крови, учитывая возраст, размер тела и пол пациента. Сниженная GFR по сравнению с нормальными уровнями показывает, что почки работают не так хорошо, как должны. У взрослых нормальная eGFR составляет > 90 . С возрастом eGFR снижается даже у людей без болезни почек.

Среднюю расчетную eGFR, основанную на возрасте, можно рассматривать как показано далее.

Возраст (лет)	Средняя расчетная eGFR
20–29	116
30–39	107
40–49	99
50–59	93
60–69	85
70+	75

Кроме того, в качестве раннего диагностического маркера АКІ можно использовать острое повреждение канальцев, используя оценку CSA-NGAL. Эта оценка основана на NGAL как биомаркере для определения острого повреждения канальцев, первоначально разработанного в связи с острым повреждением почек, связанным с кардиохирургией (CSA-AKI), однако оценку можно принять для определения повреждения канальцев при АКІ в целом.

Концентрация образца [нг/мл]	или дельта (Δ) NGAL при следующем измерении	Оценка CSA-NGAL
uNGAL <50		0: повреждение канальцев маловероятно
pNGAL <100		
uNGAL 50 - <150		1: повреждение канальцев возможно
pNGAL 100 - <200		
uNGAL 150 - <1000	$\Delta >100$ + вторая величина ≥ 125	2: повреждение канальцев
pNGAL 200 - <1000	$\Delta >100$ + вторая величина ≥ 150	
uNGAL >1000		3: тяжелое повреждение канальцев
pNGAL >1000		

В качестве альтернативного варианта, редко, однако, используемого в клинической практике, можно выполнить биопсию, в частности, если есть необходимость в диагностике причины повреждения. Затем вышеуказанную оценку EGTI, основанную на эндотелиальных, клубочковых, канальцевых и интерстициальных компонентах, можно использовать для оценки гистологии согласно табл. 1 из Khalid et al., 2016 (цитировано выше).

Таблица I
Система EGTI оценки гистологии

Тип ткани	Повреждение	Оценка
Канальцевая	Без повреждений	0
	Потеря щеточной каймы (BB) менее, чем в 25% канальцевых клеток. Целостность базальной мембраны.	1
	Потеря (BB) более, чем в 25% канальцевых клеток. Утолщенная базальная мембрана.	2
	(Плюс) воспаление. Образование цилиндров. Некроз до 60% канальцевых клеток.	3
Эндотелиальная	(Плюс) некроз в более, чем 60% канальцевых клеток.	4
	Без повреждений	0
	Эндотелиальный отек	1
Клубочковая	Распад эндотелия	2
	Потеря эндотелия	3
	Без повреждений	0
	Утолщение боуменовской капсулы	1
	Втягивание клубочкового пучка	2
	Клубочковый фиброз	3
Тубуло/интерстициальная	Без повреждений	0
	Воспаление, кровоизлияние менее, чем в 25% ткани	1
	(Плюс) некроз менее, чем в 25% ткани	2
	Некроз до 60%	3
	Некроз более, чем 60%	

С учетом этого, в другом аспекте изобретения группа или популяция пациентов, подлежащих лечению новым способом по настоящему изобретению, страдает от АКІ или подвержена риску развития АКІ на любой из стадий, определенных классификацией KDIGO или RIFLE/AKIN, или сниженными уровнями eGFR, или имеющими оценку CSA-NGAL > 0, или имеющими оценку EGTI гистологии > 0.

В отдельном аспекте изобретения пациенты, подлежащие лечению, характеризуются

- i) наличием повышенных уровней креатинина в плазме и/или
- ii) повышенной экскрецией альбумина с мочой и/или
- iii) пониженной скоростью расчетной клубочковой фильтрации (eGFR), в каждом случае по сравнению с нормальными физиологическими уровнями, и/или

iv) пациенты классифицируются как страдающие от АКІ или подверженные риску развития АКІ по любой из стадий, определенных классификацией KDIGO или RIFLE/AKIN или оценкой CSA-NGAL > 0, или оценкой EGТI гистологии > 0.

Формы применения

В другом аспекте изобретения предупреждение или лечение заболеваний почек, определенных в настоящем документе, таких как определенное IRI или ишемическое повреждение и АКІ, может включать пероральное и/или внутривенное введение пациенту, нуждающемуся в этом, одного или нескольких соединений формулы (I), их солей, сольватов, гидратов или полиморфов, таких, как описанные где-либо в настоящем документе.

Пероральное введение может быть предпочтительно выбрано в случаях профилактики, например, перед планируемым хирургическим вмешательством. Внутривенное введение может быть предпочтительно выбрано в случае острого возникновения ишемических событий или в больнице.

В случае перорального введения соединения формулы (I) согласно изобретению предпочтительно находятся в лекарствах или фармацевтических композициях в виде форм для перорального введения, включая, например, пилюли, таблетки, такие как таблетки с энтеросолюбильным покрытием, таблетки с пленкой и слоистые таблетки, препараты с пролонгированным высвобождением для перорального введения, препараты депо, драже, гранулы, эмульсии, дисперсии, микрокапсулы, микропрепараты, нанопрепараты, липосомные препараты, капсулы, такие как энтеросолюбильные капсулы, порошки, микрокристаллические препараты, эппастишки, капли, ампулы, растворы и суспензии для перорального введения.

В одном предпочтительном воплощении соединения формулы (I) согласно изобретению вводят в форме таблетки или капсулы, определенной выше. Они могут быть представлены, например, в виде кислотостойких форм или с рН-зависимым покрытием.

Соответственно, другой аспект настоящего изобретения относится к соединениям формулы (I) согласно изобретению, включая их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы, а также лекарствам, композициям и комбинированным препаратам, включающим их, для применения при профилактике и лечении повреждений почек, определенных в настоящем документе, в виде форм для перорального введения.

Парентеральное введение включает, например, подкожное или внутривенное введение, причем предпочтительно внутривенное введение, и соответственно, соединения формулы (I) согласно изобретению предпочтительно находятся в лекарственных средствах или фармацевтических композициях в виде форм для инъекций, включая, например, ампулы, растворы, суспензии, растворы для инфузии или растворы для инъекции, и т.д.

Соответственно, другой аспект настоящего изобретения относится к соединениям формулы (I) согласно изобретению, включая их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы, а также лекарственным средствам, композициям и комбинированным препаратам, включающим их, для применения при профилактике и лечении повреждений почек, определенных в настоящем документе, в виде инъекционных форм, предпочтительно форм для внутривенного введения.

Режим дозирования

Другой аспект изобретения относится к соединениям формулы (I) согласно изобретению для применения согласно настоящему изобретению, причем лечение характеризуется одной или несколькими следующими далее схемами дозирования.

В одном аспекте соединения формулы (I) согласно изобретению можно вводить пациенту, нуждающемуся в этом, в дозе 0,001-500 мг, например, 1-4 раза в день. Однако дозу можно увеличить или уменьшить, в зависимости от возраста, массы, состояния пациента, тяжести заболевания или пути введения. В другом аспекте изобретения соединения формулы (I) можно вводить в дозе 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг, 0,5 мг, 0,6 мг, 0,7 мг, 0,8 мг, 0,9 мг, 1 мг, 1,5 мг, 2 мг, 2,5 мг, 3 мг, 3,5 мг, 4 мг, 4,5 мг, 5 мг, 6 мг, 7 мг, 8 мг, 9 мг, 10 мг, 11 мг, 12 мг, 13 мг, 14 мг, 15 мг, 16 мг, 17 мг, 18 мг, 19 мг, 20 мг, 25 мг, 30 мг, 35 мг, 40 мг, 45 мг, 50 мг, 55 мг, 60 мг, 65 мг, 70 мг, 75 мг, 80 мг, 85 мг, 90 мг, 95 мг, 100 мг, 105 мг, 110 мг, 115 мг, 120 мг, 125 мг, 130 мг, 135 мг, 140 мг, 145 мг, 150 мг, 155 мг, 160 мг, 165 мг, 170 мг, 175 мг, 180 мг, 185 мг, 190 мг, 195 мг, 200 мг, 205 мг, 210 мг, 215 мг, 220 мг, 225 мг, 230 мг, 235 мг, 240 мг, 245 мг, 250 мг, 255 мг, 260 мг, 265 мг, 270 мг, 275 мг, 280 мг, 285 мг, 290 мг, 295 мг, 300 мг, 325 мг, 350 мг, 375 мг, 400 мг, 425 мг, 450 мг, 475 мг, 500 мг.

Предпочтительной является доза от 0,5 до 500 мг, предпочтительнее от 1 до 300 мг, предпочтительнее от 1 до 250 мг. Наиболее предпочтительной является доза 5 мг, 15 мг, 60 мг, 120 мг или 240 мг.

Также предпочтительной является доза от 0,001 до 35 мг/кг массы тела, от 0,01 до 35 мг/кг массы тела, от 0,1 до 25 мг/кг массы тела или от 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 и до 20 мг/кг массы тела.

Вышеуказанные дозы возможно вводить в общей дневной дозе или в виде однократной дозы ежедневно или разделенной на субдозы для введения два или больше раз за день.

Еще более предпочтительной является доза 120 мг для пациентов с массой тела >50 кг и 60 мг для пациентов с массой тела <50 кг, в каждом случае один раз или дважды в день.

В другом аспекте можно выбрать одну из указанных выше дозировок как начальную дозу и затем вводить 1 или больше раз одинаковые или изменяющиеся дозы, определенные выше, с повторяющимися

интервалами от 1 до 7 дней, 1-5 дней, предпочтительно 1-3 дня, или каждый второй день.

Начальную дозу и последующие дозы можно выбрать из указанных выше дозировок и регулировать/изменять в соответствии с потребностью пациента в пределах предоставленных диапазонов.

В частности, количество последующих доз можно соответствующим образом выбрать в зависимости от конкретного пациента, течения заболевания и реакции на лечение. Можно вводить 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и больше последующих доз.

Допустимо, чтобы начальная доза была равна или отличалась от одной или нескольких последующих доз. Также допустимо, чтобы последующие дозы были одинаковыми или различными.

Повторяющиеся интервалы могут быть одинаковой длительности или могут меняться в зависимости от конкретного пациента, течения заболевания и реакции на лечение.

Предпочтительно, чтобы последующие дозы были меньше по количеству с увеличением числа последующих доз.

В случае перорального введения подходящую дозу от 3 мг до 300 мг, предпочтительнее от 5 мг до 250 мг, наиболее предпочтительно 5 мг, 15 мг, 60 мг, 120 мг или 240 мг вводят один раз в день в течение периода лечения по меньшей мере 3 дня, по меньшей мере 5 дней, по меньшей мере 7 дней. В другом предпочтительном аспекте дозу в 60 мг или 120 мг вводят перорально один раз в день. В другом предпочтительном аспекте общую дневную дозу в 120 мг вводят перорально путем введения дважды в день дозы в 60 мг.

В другом предпочтительном аспекте общую дневную дозу в 240 мг вводят перорально путем введения дважды в день дозы в 120 мг. Указанные дозы оказались безопасными и хорошо переносимыми.

В случае внутривенного введения вводят подходящие дозы от 5 до 300 мг, например, 5 - 50 мг, 5 - 40 мг, 5 - 30 мг, 5 - 20 мг, 5 - 10 мг или 50 - 300 мг, 50 - 250 мг, 50 - 200 мг, 50 - 150 мг, 50 - 100 мг или 100 - 300 мг. Указанные внутривенные дозы можно вводить, например, один раз, дважды или более раз ежедневно, и может быть выбран период лечения в по меньшей мере 1 день, по меньшей мере 2 дня, по меньшей мере 3 дня, по меньшей мере 5 дней, по меньшей мере 7 дней в зависимости от тяжести общего состояния пациентов и успеха лечения.

В другом аспекте соединений формулы (I) для применения в новом, описанном в настоящем документе способе, профилактика и/или лечение включает введение одного или нескольких соединений формулы (I), их солей, сольватов, гидратов или полиморфов пациенту, нуждающемуся в этом, один или несколько раз в течение периода времени >0 - 48 часов, >0 - 36 часов, >0 - 24 часа, >0 - 20 часов, >0 - 18 часов, >0 - 16 часов, >0 - 12 часов, >0 - 10 часов, >0 - 8 часов, >0 - 6 часов, >0 - 5 часов, >0 - 4 часов, >0 - 3 часа, >0 - 2 часа, >0 - 1 час, >0 - 0,5 часа до IRI или ишемического повреждения, до трансфузии RBC, до операции или хирургического вмешательства, такого как, например, кардиохирургическое, включающего процедуры, включая сердечно-легочное шунтирование, другие серьезные операции на грудной клетке или брюшной полости.

В другом аспекте соединений формулы (I) для применения в новом, описанном в настоящем документе способе, профилактика и/или лечение включает введение одного или нескольких соединений формулы (I), их солей, сольватов, гидратов или полиморфов пациенту, нуждающемуся в этом, один или несколько раз в течение периода времени между сразу после и до 48 часов после ишемически-реперфузионного события, трансфузии RBC или хирургического вмешательства, предпочтительно между сразу после и до 12 часов после ишемически-реперфузионного события, трансфузии RBC или хирургического вмешательства.

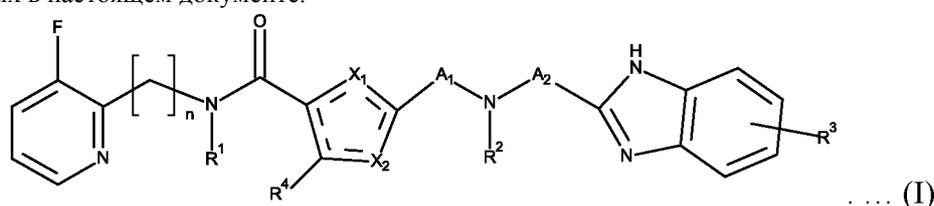
При пероральном приеме наблюдается быстрая пероральная абсорбция с определяемыми уровнями уже через 15-30 минут после приема дозы. Уровень абсорбции может поддерживаться стабильным даже при повторном приеме, и критического накопления не наблюдается.

Также оказалось, предпочтительная схема приема эффективно снижает средние уровни железа в сыворотке и среднюю рассчитанную насыщенность трансферрином и сдвигает средний пик гепсидина в сыворотке, что указывает на ее эффективность для лечения АКГ.

В другом аспекте изобретения начальная и одна или более последующих дозировок регулируются в зависимости от концентрации sCr у пациента, которого лечат. Концентрацию sCr определяют обычными методами.

Соединения ингибиторы ферропортина (Fpn)

Настоящее изобретение относится к новому медицинскому применению соединений формулы (I), определенных в настоящем документе.



в настоящем документе и во всем изобретении группы заместители имеют значения, указанные по-

дробно в любом месте настоящего документа.

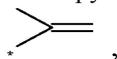
Необязательно замещенный алкил предпочтительно включает линейный или разветвленный алкил, предпочтительно содержащий 1-8, предпочтительнее 1-6, особенно предпочтительно 1-4, даже предпочтительнее 1, 2 или 3 атома углерода, и также указывается как C₁-C₄-алкил или C₁-C₃-алкил.

Необязательно замещенный алкил также включает циклоалкил, содержащий предпочтительно 3-8, предпочтительнее 5 или 6 атомов углерода.

Примеры алкильных остатков, содержащих 1-8 атомов углерода, включают метильную группу, этильную группу, н-пропильную группу, изопропильную группу, н-бутильную группу, изобутильную группу, втор-бутильную группу, трет-бутильную группу, н-пентильную группу, изопентильную группу, втор-пентильную группу, трет-пентильную группу, 2-метилбутильную группу, н-гексильную группу, 1-метилпентильную группу, 2-метилпентильную группу, 3-метилпентильную группу, 4-метилпентильную группу, 1-этилбутильную группу, 2-этилбутильную группу, 3-этилбутильную группу, 1,1-диметилбутильную группу, 2,2-диметилбутильную группу, 3,3-диметилбутильную группу, 1-этил-1-метилпропильную группу, н-гептильную группу, 1-метилгексильную группу, 2-метилгексильную группу, 3-метилгексильную группу, 4-метилгексильную группу, 5-метилгексильную группу, 1-этилпентильную группу, 2-этилпентильную группу, 3-этилпентильную группу, 4-этилпентильную группу, 1,1-диметилпентильную группу, 2,2-диметилпентильную группу, 3,3-диметилпентильную группу, 4,4-диметилпентильную группу, 1-пропилбутильную группу, н-октильную группу, 1-метилгептильную группу, 2-метилгептильную группу, 3-метилгептильную группу, 4-метилгептильную группу, 5-метилгептильную группу, 6-метилгептильную группу, 1-этилгексильную группу, 2-этилгексильную группу, 3-этилгексильную группу, 4-этилгексильную группу, 5-этилгексильную группу, 1,1-диметилгексильную группу, 2,2-диметилгексильную группу, 3,3-диметилгексильную группу, 4,4-диметилгексильную группу, 5,5-диметилгексильную группу, 1-пропилпентильную группу, 2-пропилпентильную группу, и т.д. Группы, содержащие 1-4 атома углерода (C₁-C₄-алкил), такие как, в частности, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил, являются предпочтительными. Более предпочтителен C₁-C₃-алкил, в частности, метил, этил, пропил и изопропил. Наиболее предпочтительными являются C₁- и C₂-алкил, такие как метил и этил.

Циклоалкильные остатки, содержащие 3-8 атомов углерода, предпочтительно включают циклопропильную группу, циклобутильную группу, циклопентильную группу, циклогексильную группу, циклогептильную группу и циклооктильную группу. Циклопропильная группа, циклобутильная группа, циклопентильная группа и циклогексильная группа являются предпочтительными. Циклопропильная группа является особенно предпочтительной.

Заместители определенного выше необязательно замещенного алкила предпочтительно включают 1, 2 или 3 одинаковых или различных заместителя, выбранных, например, из группы, включающей галоген, определенный ниже, такой как, предпочтительно, F, циклоалкил, определенный выше, такой как, предпочтительно, циклопропил, необязательно замещенный гетероарил, определенный ниже, такой как, предпочтительно, бензимидазолильная группа, необязательно замещенный аминок, определенный ниже, такой как, предпочтительно, аминогруппа или бензилоксикарбониламино, карбоксильную группу, аминокарбонильную группу, определенную ниже, а также алкиленовую группу, такую как, в частности, метиленовая группа, образующая, например, метилензамещенную этильную группу (CH₂-(C=CH₂)- или



причем * показывает место связывания).

В настоящем изобретении галоген включает фтор, хлор, бром и иод, предпочтительно фтор или хлор, наиболее предпочтительно представляет собой фтор.

Примеры линейного или разветвленного алкильного остатка, замещенного галогеном и содержащего 1-8 атомов углерода, включают:

фторметильную группу, дифторметильную группу, трифторметильную группу, хлорметильную группу, дихлорметильную группу, трихлорметильную группу, бромметильную группу, дибромметильную группу, трибромметильную группу, 1-фторэтильную группу, 1-хлорэтильную группу, 1-бромэтильную группу, 2-фторэтильную группу, 2-хлорэтильную группу, 2-бромэтильную группу, дифторэтильную группу, такую как 1,2-дифторэтильная группа, 1,2-дихлорэтильную группу, 1,2-дибромэтильную группу, 2,2-дифторэтильную группу, 2,2-дихлорэтильную группу, 2,2-дибромэтильную группу, 2,2,2-трифторэтильную группу, гептафторэтильную группу, 1-фторпропильную группу, 1-хлорпропильную группу, 1-бромпропильную группу, 2-фторпропильную группу, 2-хлорпропильную группу, 2-бромпропильную группу, 3-фторпропильную группу, 3-хлорпропильную группу, 3-бромпропильную группу, 1,2-дифторпропильную группу, 1,2-дихлорпропильную группу, 1,2-дибромпропильную группу, 2,3-дифторпропильную группу, 2,3-дихлорпропильную группу, 2,3-дибромпропильную группу, 3,3,3-трифторпропильную группу, 2,2,3,3,3-пентафторпропильную группу, 2-фторбутильную группу, 2-хлорбутильную группу, 2-бромбутильную группу, 4-фторбутильную группу, 4-хлорбутильную группу, 4-бромбутильную группу, 4,4,4-трифторбутильную группу, 2,2,3,3,4,4,4-гептафторбутильную группу, перфторбутильную группу, 2-фторпентильную группу, 2-хлорпентильную

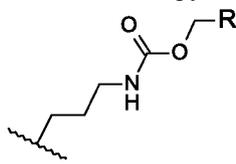
группу, 2-бромпентильную группу, 5-фторпентильную группу, 5-хлорпентильную группу, 5-бромпентильную группу, перфторпентильную группу, 2-фторгексильную группу, 2-хлоргексильную группу, 2-бромгексильную группу, 6-фторгексильную группу, 6-хлоргексильную группу, 6-бромгексильную группу, перфторгексильную группу, 2-фторгептильную группу, 2-хлоргептильную группу, 2-бромгептильную группу, 7-фторгептильную группу, 7-хлоргептильную группу, 7-бромгептильную группу, перфторгептильную группу и т.д. В частности, упоминаются фторалкил, дифторалкил и трифторалкил, и трифторметил, и моно- и дифторэтил являются предпочтительными. Особенно предпочтителен трифторметил.

Примеры циклоалкилзамещенной алкильной группы включают указанные выше алкильные остатки, содержащие 1-3, предпочтительно 1 циклоалкильную группу, такие как, например, циклопропилметил, циклобутилметил, циклопентилметил, циклогексилметил, 2-циклопропилэтил, 2-циклобутилэтил, 2-циклопентилэтил, 2-циклогексилэтил, 2- или 3-циклопропилпропил, 2- или 3-циклобутилпропил, 2- или 3-циклопентилпропил, 2- или 3-циклогексилпропил, и т.д. Предпочтительным является циклопропилметил.

Примеры гетероарилзамещенной алкильной группы включают указанные выше алкильные остатки, содержащие 1-3, предпочтительно 1 (необязательно замещенную) гетероарильную группу, такую как, например, пиридинил, пиридазинил, пиримидинил, пиазинил, пиразолил, имидазолил, бензимидазолил, тиофенил или оксазолильная группа, такие как пиридин-2-илметил, пиридин-3-илметил, пиридин-4-илметил, 2-пиридин-2-илэтил, 2-пиридин-1-илэтил, 2-пиридин-3-илэтил, пиридазин-3-илметил, пиримидин-2-илметил, пиримидин-4-илметил, пиазин-2-илметил, пиразол-3-илметил, пиразол-4-илметил, пиразол-5-илметил, имидазол-2-илметил, имидазол-5-илметил, бензимидазол-2-илметил, тиофен-2-илметил, тиофен-3-илметил, 1,3-оксазол-2-илметил.

Предпочтительной является алкильная группа, которая замещена бензимидазолильной группой, такая как бензимидазол-2-илметил и бензимидазол-2-илэтил.

Примеры аминозамещенного алкильного остатка включают вышеуказанные алкильные остатки, содержащие 1-3, предпочтительно 1 (необязательно замещенную) аминогруппу, определенную ниже, такую как, например, аминоалкил (NH_2 -алкил) или моно- или диалкиламиноалкил, такие как аминметил, 2-аминоэтил, 2- или 3-аминопропил, метиламинометил, метиламиноэтил, метиламинопропил, 2-этиламинометил, 3-этиламинометил, 2-этиламиноэтил, 3-этиламиноэтил и т.д., причем предпочтительным является 3-аминопропил, или алкильную группу, которая может быть замещена необязательно замещенной алкилоксикарбониламиногруппой, такой как группа формулы



в которой R обозначает фенильную группу, образующую бензилоксикарбониламинопропильную группу.

Необязательно замещенный амино согласно изобретению предпочтительно включает амино ($-\text{NH}_2$), необязательно замещенный моно- или диалкиламино (алкил-NH-, (алкил) $_2$ N-), причем относительно "алкила" можно обратиться к определению необязательно замещенного алкила, приведенному выше. Предпочтительным является моно или диметиламино, моно- или диэтиламино и монопропиламино. Наиболее предпочтительными являются аминогруппа ($-\text{NH}_2$) и монопропиламино.

Кроме того, в настоящем изобретении карбоксильная группа отображает группу $[-(\text{C}=\text{O})-\text{OH}]$, и аминокарбонильная группа отображает группу $[\text{NH}_2-(\text{C}=\text{O})-]$.

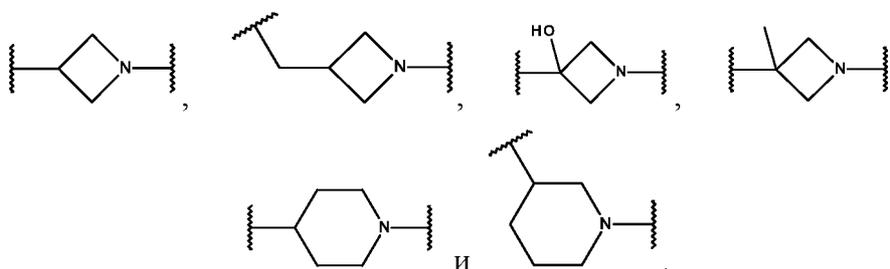
Необязательно замещенный алкокси включает необязательно замещенную алкил-О-группу, причем можно сделать ссылку на приведенное выше определение алкильной группы. Предпочтительные алкоксигруппы представляют собой линейные или разветвленные алкоксигруппы, содержащие до 6 атомов углерода, такие как метоксигруппа, этоксигруппа, н-пропилоксигруппа, изопропилоксигруппа, н-бутилоксигруппа, изобутилоксигруппа, втор-бутилоксигруппа, трет-бутилоксигруппа, н-пентилоксигруппа, изопентилоксигруппа, втор-пентилоксигруппа, трет-пентилоксигруппа, 2-метилбутоксигруппа, н-гексилксигруппа, изогексилксигруппа, трет-гексилксигруппа, втор-гексилксигруппа, 2-метилпентилоксигруппа, 3-метилпентилоксигруппа, 1-этилбутилоксигруппа, 2-этилбутилоксигруппа, 1,1-диметилбутилоксигруппа, 2,2-диметилбутилоксигруппа, 3,3-диметилбутилоксигруппа, 1-этил-1-метилпропилокси группа, а также циклоалкилоксигруппы, такие как циклопентилоксигруппа или циклогексилоксигруппа. Предпочтительными являются метоксигруппа, этоксигруппа, н-пропилоксигруппа и изопропилоксигруппа. Метокси- и этоксигруппа являются более предпочтительными. Особенно предпочтительной является метоксигруппа.

Во всем изобретении необязательно замещенный алкандиил предпочтительно представляет собой двухвалентный линейный или разветвленный алкандиильный радикал, имеющий от 1 до 6, предпочтительно от 1 до 4, предпочтительнее 1, 2 или 3 атома углерода, которые могут необязательно содержать от

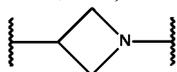
1 до 3, предпочтительно 1 или 2 заместителя, выбранных из группы, включающей галоген, гидроксил (-ОН), оксогруппу (C=O; с образованием карбонильной или ацильной группы [-C(=O)-]) и алкильную группу, определенную выше, такую как предпочтительно метил. В качестве предпочтительных примеров можно упомянуть следующие группы: метилен, этан-1,2-диил, этан-1,1-диил, пропан-1,3-диил, пропан-1,1-диил, пропан-1,2-диил, пропан-2,2-диил, бутан-1,4-диил, бутан-1,2-диил, бутан-1,3-диил, бутан-2,3-диил, бутан-1,1-диил, бутан-2,2-диил, бутан-3,3-диил, пентан-1,5-диил и т.д. Особенно предпочтительными являются метилен, этан-1,2-диил, этан-1,1-диил, пропан-1,3-диил, пропан-2,2-диил и бутан-2,2-диил. Наиболее предпочтительными являются метилен, этан-1,2-диил и пропан-1,3-диил.

Предпочтительным замещенным алкандиильным радикалом является гидроксизамещенный алкандиил, такой как гидроксизамещенный этандиил, оксозамещенный алкандиил, такой как оксозамещенный метилен, или этандиильный радикал, образующий карбонильную или ацильную (ацетильную) группу, галогензамещенная алкандиильная группа, такая как алкандиильная группа, замещенная одним или двумя атомами галогена, выбранными из F и Cl, предпочтительно 2,2-дифторэтандиил, или алкандиильная группа, которая замещена метильной группой.

Согласно настоящему изобретению также возможно, что A^1 , означающий линейную или разветвленную алкандиильную группу, определенную выше, и R^2 , означающий необязательно замещенную алкильную группу, определенную выше, вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют необязательно замещенный 4-6-членный цикл, который может быть замещен 1-3 заместителями, определенными выше. Соответственно, A^1 и R^2 вместе могут образовать группу в соответствии с одной из следующих формул:



В этом случае предпочтительным является образование (замещенного или незамещенного) 4-членного цикла, такого как, в частности, группа



В этом случае место связывания слева указывает место прямого связывания с гетероциклическим 5-членным циклом между положениями X^1 и X^2 в формуле (I) настоящего изобретения. Место связывания справа указывает место связывания с группой A^2 , обозначающей алкандиильную группу, имеющую значения, указанные в настоящем документе.

В формуле (I), в любом месте в настоящем документе, n равен целому числу от 1 до 3, включая 1, 2 или 3, указывая таким образом на метиленовую группу, этан-1,2-диильную группу или пропан-1,3-диильную группу. Предпочтительнее n равен 1 или 2, и еще предпочтительнее n равен 1, указывая на метиленовую группу.

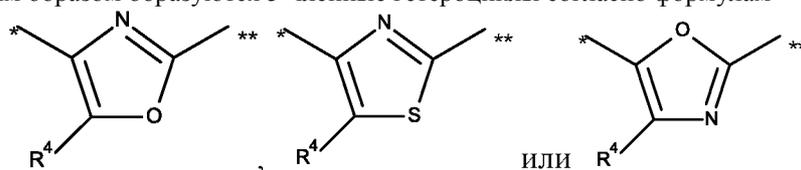
В настоящем изобретении отдельные заместители в формуле (I), приведенной выше, могут иметь значения, указанные далее.

A) X^1 представляет собой N или O; и

X^2 представляет собой N, S или O;

при условии, что X^1 и X^2 являются различными;

причем таким образом образуются 5-членные гетероциклы согласно формулам



причем * показывает место связи с аминокарбонильной группой, и ** показывает место связи с группой A^1 .

B) n равен целому числу 1, 2 или 3; предпочтительно n равен 1 или 2, предпочтительнее n равен 1.

C) R^1 выбирают из группы, включающей водород и необязательно замещенный алкил (определенный выше);

предпочтительно R^1 представляет собой водород или метил, предпочтительнее R^1 представляет собой водород.

D) R^2 выбирают из группы, включающей

водород и
необязательно замещенный алкил (определенный выше); предпочтительно R^2 представляет собой водород или C_1 - C_4 -алкил,
предпочтительнее R^2 представляет собой водород или метил, еще предпочтительнее R^2 представляет собой водород.

Е) R^3 показывает 1, 2 или 3 необязательных заместителя, которые можно выбрать независимо из группы, включающей

галоген (определенный выше),

циано,

необязательно замещенный алкил (определенный выше),

необязательно замещенный алкокси (определенный выше), и

карбоксыльную группу (определенную выше);

предпочтительно R^3 обозначает 1 или 2 необязательных заместителя, которые можно выбрать независимо из группы, включающей

галоген,

циано,

алкил (определенный выше), который может быть замещен 1, 2 или 3 атомами галогена (определенными выше),

необязательно замещенный алкокси (определенный выше), и карбоксыльную группу (определенную выше);

предпочтительнее R^3 обозначает 1 или 2 необязательных заместителя, которые можно выбрать независимо из группы, включающей

F и Cl,

циано,

трифторметил,

метокси и

карбоксыльную группу;

еще предпочтительнее R^3 представляет собой водород, указывая на незамещенный концевой бензимидазолильный цикл в формуле (I).

F) R^4 выбирают из группы, включающей

водород,

галоген (определенный выше),

C_1 - C_3 -алкил и

галогензамещенный алкил (определенный выше); предпочтительно R^4 выбирают из группы, включающей

водород,

Cl,

метил, этил, изопропил и

трифторметил;

предпочтительнее R^4 выбирают из группы, включающей

водород,

Cl,

метил и

трифторметил;

предпочтительнее R^4 выбирают из группы, включающей

водород, Cl и

метил;

еще предпочтительнее R^4 представляет собой водород.

G) A^1 представляет собой алкандиил;

предпочтительно A^1 представляет собой метилен или этан-1,2-диил, предпочтительнее A^1 представляет собой этан-1,2-диил.

H) A^2 представляет собой алкандиил;

предпочтительно A^2 представляет собой метилен, этан-1,2-диил или пропан-1,3-диил;

предпочтительнее A^2 представляет собой метилен или этан-1,2-диил;

еще предпочтительнее A^2 представляет собой этан-1,2-диил.

I) Или A^1 и R^2 , вместе с атомом азота, с которым они связаны образуют, необязательно замещенный 4- или 6-членный цикл, определенный выше;

причем A^1 и R^2 , вместе с атомом азота, с которым они связаны, предпочтительно образуют необязательно замещенный 4-членный цикл, определенный выше;

причем A^1 и R^2 , вместе с атомом азота, с которым они связаны, предпочтительнее образуют незамещенный 4-членный цикл (азетидинильный цикл).

Заместители соединений формулы (I) могут иметь, в частности, указанные далее значения.

n имеет любые значения согласно указанным выше в B), и остальные заместители могут иметь любые значения, указанные в A) и C) - I).

R¹ имеет любые значения согласно указанным выше в C), и остальные заместители могут иметь любые значения, указанные в A) и B) и D) - I).

R² имеет любые значения согласно указанным выше в D), и остальные заместители могут иметь любые значения, указанные в A) - C) и E) - H) или I).

R³ имеет любые значения согласно указанным выше в E), и остальные заместители могут иметь любые значения, указанные в A) - D) и F) - I).

R⁴ имеет любые значения согласно указанным выше в F), и остальные заместители могут иметь любые значения, указанные в A) - E) и G) - I).

A¹ имеет любые значения согласно указанным выше в G), и остальные заместители могут иметь любые значения, указанные в A) - F) и H) или I).

A² имеет любые значения согласно указанным выше в H), и остальные заместители могут иметь любые значения, указанные в A) - G) и I).

R² и A¹ имеют любые значения, указанные в I), и остальные заместители могут иметь любые значения, указанные в A) - C), E), F) и H).

В предпочтительном воплощении настоящего изобретения соединения общей формулы (I) определяются тем, что

X¹ представляет собой N или O; и

X² представляет собой N, S или O;

при условии, что X¹ и X² являются различными;

R¹ представляет собой водород;

n равен 1, 2 или 3;

A¹ представляет собой метилен или этан-1,2-диил;

A² представляет собой метилен, этан-1,2-диил или пропан-1,3-диил;

R² представляет собой водород или C₁-C₄-алкил;

или

A¹ и R², вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют необязательно замещенный 4-членный цикл;

R³ обозначает 1 или 2 необязательных заместителя, которые можно выбрать независимо из группы, включающей

галоген,

циано,

алкил, который может быть замещен 1, 2 или 3 атомами галогена,

необязательно замещенный алкокси и

карбоксильную группу;

R⁴ выбирают из группы, включающей

водород,

Cl,

метил, этил, изопропил и

трифторметил.

В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения соединения общей формулы (I) определяются тем, что

X¹ представляет собой N или O; и

X² представляет собой N, S или O;

при условии, что X¹ и X² являются различными;

R¹ представляет собой водород;

n равен 1 или 2;

A¹ представляет собой метилен или этан-1,2-диил;

A² представляет собой метилен, этан-1,2-диил или пропан-1,3-диил;

R² представляет собой водород или метил;

или

A¹ и R², вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют незамещенный 4-членный цикл;

R³ обозначает 1 или 2 необязательных заместителя, которые можно выбрать независимо из группы, включающей

F и Cl,

циано,

трифторметил,

метокси и

карбоксильную группу;

R⁴ выбирают из группы, включающей

водород,

Cl,
метил и
трифторметил.

В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения соединения общей формулы (I) определяются тем, что

X^1 представляет собой N или O; и
 X^2 представляет собой N, S или O;
при условии, что X^1 и X^2 являются различными;
 R^1 представляет собой водород;

n равен 1;

A^1 представляет собой метилен или этан-1,2-диил;

A^2 представляет собой метилен, этан-1,2-диил или пропан-1,3-диил;

R^2 представляет собой водород;

или

A^1 и R^2 , вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют незамещенный 4-членный цикл;

R^3 обозначает водород, причем таким образом образуется незамещенный концевой бензимидазолный цикл;

R^4 выбирают из группы, включающей

водород, Cl,

метил.

В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения соединения общей формулы (I) определяются тем, что

X^1 представляет собой N или O; и

X^2 представляет собой N, S или O;

при условии, что X^1 и X^2 являются различными;

R^1 представляет собой водород;

n равен 1;

A^1 представляет собой метилен или этан-1,2-диил;

A^2 представляет собой метилен, этан-1,2-диил или пропан-1,3-диил;

R^2 представляет собой водород;

или

A^1 и R^2 , вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют незамещенный 4-членный цикл;

R^3 обозначает водород, причем таким образом образуется незамещенный концевой бензимидазолный цикл; и

R^4 представляет собой водород.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к новому применению и способу лечения, определенным в настоящем документе, причем соединения формулы (I) или их соли, сольваты, гидраты и полиморфы выбирают из соединений формулы (I), приведенной выше, в которой

$n=1$;

R^3 = водород;

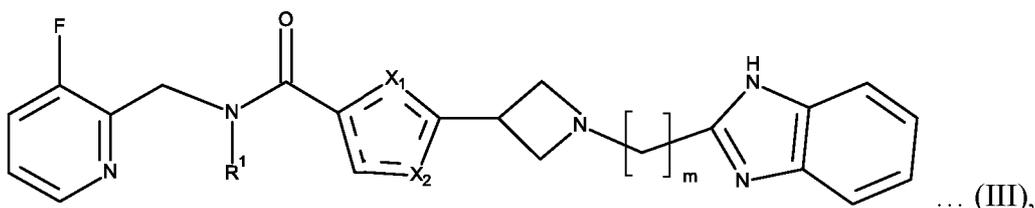
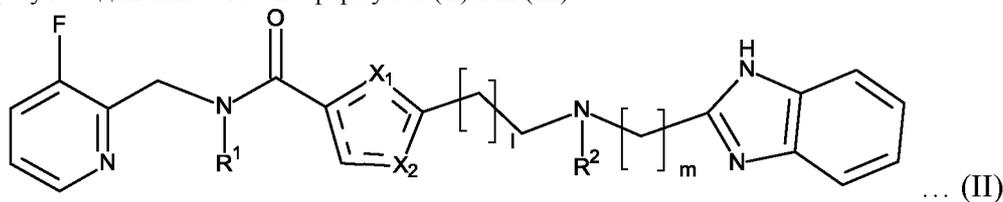
R^4 = водород;

A^1 = метилен или этан-1,2-диил;

A^2 = метилен, этан-1,2-диил или пропан-1,3-диил;

или A^1 и R^2 , вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют необязательно замещенный 4-членный цикл;

образуя соединения согласно формулам (II) или (III)



причем в формуле (II) и/или (III)

l равен 0 или 1;

m равен целому числу 1, 2 или 3, и

X¹, X², R¹ и R² имеют значения, установленные для соединений формулы (I) в любом месте настоящего документа.

Предпочтительно в формулах (II) и (III) X¹ и X² имеют значения, установленные выше в А).

В формуле (II) R¹ и R² представляют собой предпочтительно водород.

В формуле (III) R¹ представляет собой предпочтительно водород, и m предпочтительно равен 2.

В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения соединения общей формулы (II) определяются тем, что

X¹ и X² выбирают из N и O, и они являются различными;

R¹ = водород;

R² = водород;

l = 1; и

m = 2.

Дополнительными соединениями, действующими как ингибиторы ферропортина и подходящими для лечения тяжелых форм β-талассемии, как определено в настоящем документе, являются соединения, описанные в WO2020/123850 A1, полностью включенной в настоящее описание в качестве ссылки. Конкретные соединения из числа описанных в WO2020/123850 A1, пригодные для лечения тяжелых форм β-талассемии, как определено в настоящем документе, можно быть выбраны из группы, состоящей из соединений, приведенных далее.

Структура	Наименование по ИЮПАК	Найденная масса (M+1)
	2-(2-{[2-(1H-1,3-бензодиазол-2-ил)этил]амино}этил)-N-[(3-фторпиридин-2-ил)метил]-[1,3]тиазоло[5,4-d]пиримидин-7-амин	449.2
	2-(2-{[2-(1H-1,3-бензодиазол-2-ил)этил]амино}этил)-N-[(3-фторпиридин-2-ил)метил]-[1,3]оксазоло[4,5-с]пиримидин-4-амин	432.2
	2-(2-{[2-(1H-1,3-бензодиазол-2-ил)этил]амино}этил)-7-([(3-фторпиридин-2-ил)метил]амино)-[1,3]тиазоло[5,4-d]пиримидин-5-ол	465.1
	2-[(1R)-2-([2-(1H-1,3-бензодиазол-2-ил)этил]амино)-1-фторэтил]-N-[(3-фторпиридин-2-ил)метил]-[1,3]оксазоло[4,5-с]пиримидин-4-амин	450.2
	2-[(1S)-2-([2-(1H-1,3-бензодиазол-2-ил)этил]амино)-1-фторэтил]-N-[(3-фторпиридин-2-ил)метил]-[1,3]оксазоло[4,5-с]пиримидин-4-амин	450.2
	2-[(1R)-2-([2-(1H-1,3-бензодиазол-2-ил)этил]амино)-1-фторэтил]-N-[(3-фторпиридин-2-ил)метил]-[1,3]тиазоло[5,4-d]пиримидин-7-амин	467

В другом предпочтительном аспекте настоящее изобретение относится к новому применению и способу лечения, определенным в настоящем документе, причем соединения формулы (I) или соединения

согласно WO2020/123850 A1 используют в форме их фармацевтически приемлемых солей, сольватов, гидратов и полиморфов.

В отношении подходящих фармацевтически приемлемых солей соединений формул (I), (II) и (III), определенных где-либо в настоящем документе, делается ссылка на международные заявки WO2017/068089, WO2017/068090 и, в частности, WO2018/192973. Определение фармацевтически приемлемых солей, раскрытое в них, включено в настоящее описание посредством ссылки.

В другом предпочтительном аспекте настоящее изобретение относится к новым применению и способу лечения, определенным в настоящем документе, причем фармацевтически приемлемые соли соединений формул (I), (II) и (III) выбирают из солей с кислотами из группы, включающей бензойную кислоту, лимонную кислоту, фумаровую кислоту, хлороводородную кислоту, молочную кислоту, яблочную кислоту, малеиновую кислоту, метансульфоновую кислоту, фосфорную кислоту, янтарную кислоту, серную кислоту, винную кислоту и толуолсульфоновую кислоту. Предпочтительно кислоты выбирают из группы, включающей лимонную кислоту, хлороводородную кислоту, малеиновую кислоту, фосфорную кислоту и серную кислоту.

В другом предпочтительном аспекте настоящее изобретение относится к новым применению и способу лечения, определенным в настоящем документе, в которых фармацевтически приемлемые соли соединений формул (I), (II) или (III) выбирают из моносолей (соли 1:1), тройных солей (соли 1:3) и солей, характеризующихся соотношением соединения (I), (II) или (III) к кислоте 1-2:1-3; включая их сольваты, гидраты и полиморфы.

В настоящем документе соли соединений (I), (II) или (III) могут характеризоваться выбранным соотношением основание:кислота, т.е. соединение (I), (II) или (III):кислоты из числа указанных выше, в диапазоне 1,0-2,0 (моль основания): 1,0-3,0 (моль кислоты). В отдельном воплощении выбранное соотношение основание:кислота составляет 1,0-2,0 (моль основания): 1,0-2,0 (моль кислоты).

Отдельные примеры включают следующие соотношения основание:кислота, т.е. соединение (I), (II) или (III):кислоты из числа указанных выше:

- 1,0 (моль основания): 1,0 (моль кислоты);
- 1,0 (моль основания): 1,25 (моль кислоты);
- 1,0 (моль основания): 1,35 (моль кислоты);
- 1,0 (моль основания): 1,5 (моль кислоты);
- 1,0 (моль основания): 1,75 (моль кислоты);
- 1,0 (моль основания): 2,0 (моль кислоты);
- 1,0 (моль основания): 3,0 (моль кислоты) и
- 2,0 (моль основания): 1,0 (моль кислоты).

В настоящем документе соотношение основание:кислота 1:1 также называется "моно соль(и)" или "соль(и) 1:1". Например, моно-НСI соль также обозначается как 1НСI или 1НСI-соль.

В настоящем документе соль, имеющая соотношение основание:кислота 1:2, также называется "ди-соль(и)" или "соль(и) 1:2". Например, ди-НСI соль также обозначается как 2НСI или 2НСI-соль.

В настоящем документе соль, имеющая соотношение основание:кислота 1:3, также называется "трисоль(и)" или "соль(и) 1:3". Например, три-НСI соль также обозначается как 3НСI или 3НСI-соль.

Соль, имеющая соотношение основание:кислота 1:1,25, также называется "соль(и) 1:1,25".

Соль, имеющая соотношение основание:кислота 1:1,35, также называется "соль(и) 1:1,35".

Соль, имеющая соотношение основание:кислота 1:1,5, также называется "соль(и) 1:1,5".

Соль, имеющая соотношение основание:кислота 1:1,75, также называется "соль(и) 1:1,75".

Соль, имеющая соотношение основание:кислота 2:1, также называется "гемисоль(и)" или "соль(и) 2:1".

Соли соединений формул (I), (II) или (III) согласно настоящему изобретению могут присутствовать в аморфной, полиморфной, кристаллической и/или полукристаллической (частично кристаллической) форме, а также в форме сольвата соли. Предпочтительно соли соединений формул (I), (II) или (III) согласно настоящему изобретению присутствуют в кристаллической и/или полукристаллической (частично кристаллической) форме и/или в форме их сольватов.

Предпочтительную кристалличность солей или сольватов солей можно определить с использованием обычных аналитических методов, в частности, таких как с использованием различных рентгеновских методов, которые позволяют проводить четкий и простой анализ солей соединений. В частности, степень кристалличности можно определить или подтвердить, используя методы порошковой рентгеновской дифракции (отражения) или используя методы порошковой рентгеновской дифракции (пропускания) (PXRD). Для кристаллических твердых тел, имеющих идентичный химический состав, различные образующиеся кристаллические решетки обобщаются термином полиморфизм. В отношении сольватов, гидратов и полиморфов и солей с определенной кристалличностью делается ссылка на международную заявку WO2018/192973, которая включена в настоящее описание посредством ссылки.

В другом предпочтительном аспекте настоящее изобретение относится к новым применению и способу лечения, определенным в настоящем документе, причем соединения формулы (I), (II) или (III) выбирают из группы, включающей соединения

Пр. №	Структура	Пр. №	Структура
1		126	
2		127	
4		193	
40		206	
94		208	
118		233	

и их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы. В другом предпочтительном аспекте настоящее изобретение относится к новым применению и способу лечения, определенным в настоящем документе, причем соединения формул (I), (II) или (III) выбирают из группы, включающей

Пр. №	Структура	Пр. №	Структура
1		127	
40		208	
94			

и их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы.

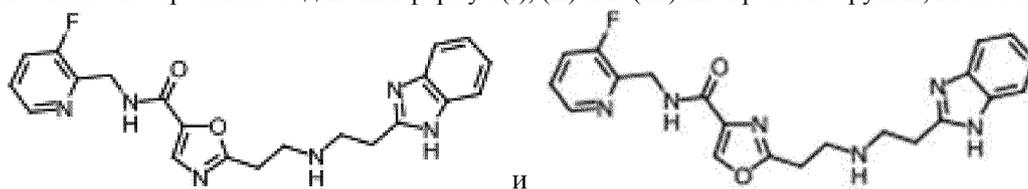
В другом предпочтительном аспекте настоящее изобретение относится к новому применению и способу лечения, определенным в настоящем документе, причем соединения формул (I), (II) или (III) выбирают из группы, включающей

Пр. №	Структура	Пр. №	Структура
1		127	
2		206	
4		208	
126		233	

В другом предпочтительном аспекте настоящее изобретение относится к новым применению и способу лечения, определенным в настоящем документе, причем соединения формул (I), (II) или (III) выбирают из группы, включающей

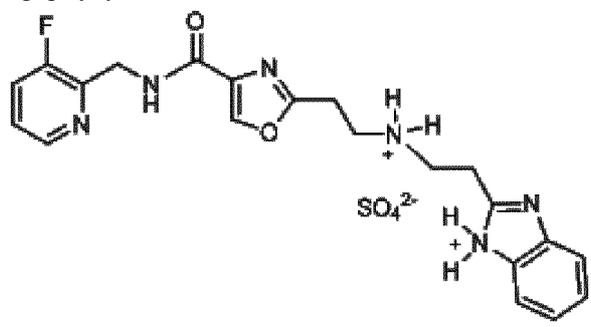
Пр. №	Структура	Пр. №	Структура
1		127	
208			

и их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы. В еще более предпочтительном аспекте изобретения соединения формул (I), (II) или (III) выбирают из группы, включающей

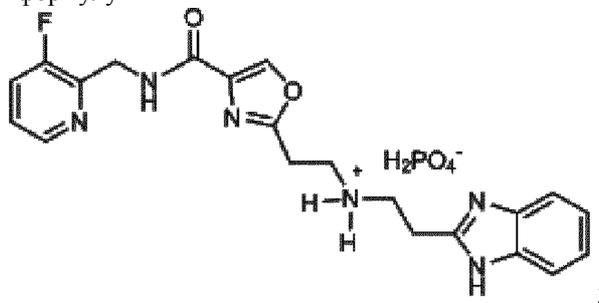


и их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы. В другом предпочтительном аспекте изобретения соединения формул (I), (II) или (III) выбирают из группы, включающей следующие соли:

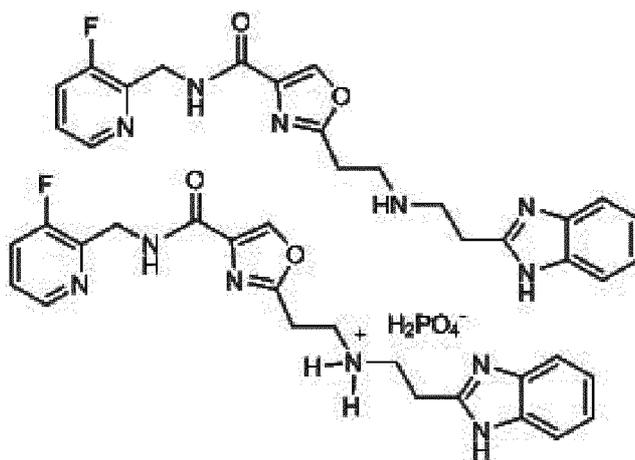
сульфат 1:1, имеющий формулу



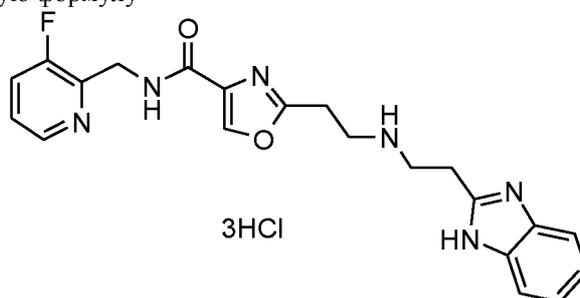
фосфат 1:1, имеющий формулу



фосфат (гемифосфат) 2:1



HCl-соль 1:3, имеющую формулу



и их полиморфы.

Как описано в WO2017/068089, WO2017/068090 и WO2018/192973, соединения формулы (I) действуют как ингибиторы ферропортина. Поэтому, относительно ингибирующей активности соединений в отношении ферропортина, делается ссылка на указанные Международные заявки.

Лекарственные средства, содержащие соединения-ингибиторы ферропортина

Другой аспект изобретения относится к лекарственному средству или фармацевтической композиции, содержащих одно или несколько соединений формул (I), (II) или (III), определенных где-либо в настоящем документе, для нового применения и способа лечения повреждений почек, таких как, в частности, IRI и АКГ, определенных где-либо в настоящем документе.

Такое лекарственное средство может также содержать один или несколько фармацевтических носителей и/или одно или несколько вспомогательных веществ и/или один или несколько растворителей.

Предпочтительно лекарственное средство находится в форме пероральной лекарственной формы, например, такой как определенная выше.

Предпочтительно фармацевтические носители и/или вспомогательные вещества и/или растворители выбирают среди соединений, подходящих для получения пероральных лекарственных форм и/или лекарственных форм для внутривенного введения.

Указанные фармацевтические композиции содержат, например, до 99 мас.%, или до 90 мас.%, или до 80 мас.%, или до 70 мас.% соединений ингибиторов ферропортина по настоящему изобретению, причем каждую остальную часть образуют фармакологически приемлемые носители и/или вспомогательные вещества и/или растворители и/или необязательно дополнительные фармацевтически активные соединения.

В них фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества или растворители являются обычными фармацевтическими носителями, вспомогательными веществами или растворителями, включая различные органические или неорганические носители и/или вспомогательные материалы, как они обычно используются в фармацевтических целях, в частности для твердых лекарственных препаратов. Примеры включают эксципиенты, такие как сахароза, крахмал, маннит, сорбит, лактоза, глюкоза, целлюлоза, тальк, фосфат кальция, карбонат кальция; связующие агенты, такие как целлюлоза, метилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, полипропилпирролидон, желатин, гуммиарабик, полиэтиленгликоль, сахароза, крахмал; разрыхлители, такие как крахмал, гидролизованный крахмал, карбоксиметилцеллюлоза, кальциевая соль карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилкрахмал, натрийгликолевый крахмал, бикарбонат натрия, фосфат кальция, цитрат кальция; лубриканты, такие как стеарат магния, тальк, лаурилсульфат натрия; корригенты, такие как лимонная кислота, ментол, глицин, апельсиновый порошок; консерванты, такие как бензоат натрия, бисульфит натрия, парабен (например, метилпарабен, этилпарабен, пропилпарабен, бутилпарабен); стабилизаторы, такие как лимонная кислота, цитрат натрия, уксусная кислота и поликарбоновые кислоты из ряда titriplex, такие как, например, диэтилентриаминпен-

тауксусная кислота (ДТРА); суспендирующие агенты, такие как метилцеллюлоза, поливинилпирролидон, стеарат алюминия; диспергирующие агенты; разбавители, такие как вода, органические растворители; воски, жиры и масла, такие как пчелиный воск, масло какао; полиэтиленгликоль; белый вазелин и т.д.

Жидкие лекарственные препараты, такие как растворы, суспензии и гели, обычно содержат жидкий носитель, такой как вода и/или фармацевтически приемлемые органические растворители. Кроме того, такие жидкие препараты могут также содержать агенты, регулирующие pH, эмульгаторы или диспергирующие агенты, буферизирующие агенты, консерванты, смачивающие агенты, желатинизирующие агенты (например, метилцеллюлозу), красители и/или корригенты, например, определенные выше. Композиции могут быть изотоническими, т.е. они могут иметь такое же осмотическое давление, что и кровь. Изотоничность композиции можно регулировать с использованием хлорида натрия и других фармацевтически приемлемых агентов, таких как, например, декстроза, мальтоза, борная кислота, тартрат натрия, пропиленгликоль и другие неорганические или органические растворимые вещества. Вязкость жидких композиций можно регулировать с помощью фармацевтически приемлемого загустителя, такого как метилцеллюлоза. Другие подходящие загустители включают, например, ксантановую камедь, карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, карбомер и т.п. Предпочтительная концентрация загустителя будет зависеть от выбранного агента.

Фармацевтически приемлемые консерванты можно использовать для увеличения срока хранения жидкой композиции. Бензиловый спирт может быть подходящим, хотя также можно использовать множество консервантов, включая, например, парабены, тимеросал, хлорбутанол и хлорид бензалкония.

Комбинированная терапия

Другая цель настоящего изобретения относится к лекарственным средствам или комбинированным препаратам, содержащим одно или несколько соединений ингибиторов ферропортина, определенных где-либо в настоящем документе, и по меньшей мере одно дополнительное фармацевтически активное соединение ("соединение для комбинированной терапии"), причем предпочтительно дополнительное активное соединение применимо при лечении повреждений почек, таких как, в частности, IRI и AKI, как определено в настоящем документе. Предпочтительными соединениями для комбинированной терапии являются, в частности, соединения, используемые для профилактики и лечения перегрузки железом и связанных с ней симптомов. Наиболее предпочтительными соединениями для комбинированной терапии являются соединения, хелатирующие железо, или соединения для профилактики и лечения любого из состояний, расстройств или заболеваний, сопровождающих или являющихся результатом перегрузки железом, IRI и AKI. Предпочтительно по меньшей мере одно дополнительное фармацевтически активное соединение для комбинированной терапии выбирают из лекарств для снижения перегрузки железом (например, Tmprss6-ASO) и хелаторов железа, в частности куркумина, SSP-004184, деферитрина, деферазирока, дефероксамина и деферипрона.

Другие предпочтительные соединения для комбинированной терапии можно выбрать из лекарственных средств для лечения воспаления, синтетического гепсидина человека (LJPC-401), пептидомиметика гепсидина PTG-300 и антисмыслового олигонуклеотида, нацеленного на Tmprss6 (IONIS-TMPRSS6-L RX).

В другом аспекте настоящее изобретение относится к новому применению и медицинскому лечению, определенным в настоящем документе, в которых соединения ингибиторов ферропортина, определенные в настоящем документе, вводят пациенту, нуждающемуся в этом, в комбинированной терапии с одним или несколькими соединениями для комбинированной терапии, определенными выше, в фиксированной дозе или комбинации свободных доз для последовательного применения. Такая комбинированная терапия включает совместное введение соединений ингибиторов ферропортина, определенных в настоящем изобретении, по меньшей мере с одним дополнительным фармацевтически активным соединением (лекарственное средство/соединение для комбинированной терапии).

Комбинированная терапия при комбинированной терапии в фиксированной дозе включает совместное введение соединений ингибиторов ферропортина, определенных в настоящем документе, с по меньшей мере одним дополнительным фармацевтически активным соединением в препарате с фиксированной дозой.

Комбинированная терапия при комбинированной терапии в свободной дозе включает совместное введение соединений ингибиторов ферропортина, определенных в настоящем документе, и по меньшей мере одного дополнительного фармацевтически активного соединения в свободных дозах соответствующих соединений либо путем одновременного введения отдельных соединений, либо путем последовательного введения отдельных соединений, распределенного по времени.

Фиг. 1. Иллюстрация схемы приема в примере II.

Фиг. 2. Уровни сывороточного железа у наивных мышей C57BL/6, обработанных Fpn127 при 120 мг/кг или 300 мг/кг, в течение 4 час или 8 час. Среда представляет собой 0,5% раствор метилцеллюлозы в воде.

Примеры

Изобретение иллюстрируется более подробно следующими далее примерами. Примеры являются только иллюстрацией, и специалист в данной области может распространить конкретные примеры на

другие соединения ингибиторы ферропортина согласно настоящему изобретению.

I. Примеры соединений ингибиторов ферропортина

Что касается получения конкретных соединений ингибиторов ферропортина из примеров №№ 1, 2, 4, 40, 94, 118, 126, 127, 193, 206, 208 и 233, описанных в настоящем документе, и получения их фармацевтически приемлемых солей, то в этом отношении делается ссылка на Международные заявки WO2017/068089, WO2017/068090 и WO2018/192973.

Что касается получения конкретных соединений ингибиторов ферропортина, описанных в WO2020/123850 A1, ссылка делается на способы получения, описанные в Международной заявке WO2020/123850 A1.

II. Фармакологические анализы

II.1. Снижение сывороточного железа у мышей C57BL/6 с помощью Fpn127

Для того, чтобы определить дозу Fpn127, которая вызывает снижение сывороточного железа в течение 4 часов или 8 часов, мышам C57BL/6 дают или 120 мг/кг, или 300 мг/кг Fpn127 перорально. Сывороточное железо существенно снижается обеими дозами через 4 часа после дозирования. Однако только доза 300 мг/кг обеспечивает гипоферремию в течение 8 часов (фиг. 2). Такие результаты для наивных мышей C57BL/6 предполагают применение дозы 300 мг/кг перорально на модели двусторонней обструкции мочеточника при АКІ.

II.2. Эффективность ингибитора ферропортина Fpn127 in vivo при двустороннем ишемическом остром повреждении почек на мышинной модели

Ишемически-реперфузионное повреждение почек (TRI) является основной причиной острого повреждения почек (AKI), и опосредованный железом окислительный стресс, вызванный железом, не связанным с трансферрином (NTBI), вовлекается в патогенез IRI (Baliga R, Ueda N., Shah SV, Biochem. J. 291: 901-905, 1993). Гепсидин, ключевой регулятор гомеостаза железа, предупреждающий экспорт железа из клеток через ферропортин, как показано, опосредует защиту при IRI почек (Scindia Y. et al., JASN, 2015).

Эффективность соединений ингибиторов ферропортина по настоящему изобретению при лечении повреждений почек, таких как IRI и АКІ, можно определить на модели двустороннего ишемического острого повреждения почек. Как пример соединения ингибитора ферропортина формулы (I) можно использовать соединение № 127 (Fpn127).

Для того, чтобы определить оптимальный уровень повреждения почек у указанной модели, проводится пилотное исследование, в котором сравнивают 25-мин и 30-мин двустороннюю ишемию почек, как описано в Wei Q. and Dong Z, "Mouse model of ischemic acute kidney injury: technical notes and tricks". Am. J. Physiol. Renal. Physiol, 303: F1487-F1494, 2012. Мыши дают наркоз 50-60 мг/кг пентобарбитала натрия путем интраперитонеальной инъекции. Раствор пентобарбитала для инъекций разбавляют стерильным физиологическим раствором до концентрации 5 мг/мл. Вскоре после инъекции пентобарбитала подкожно вводят 50 мкг/кг бупренорфина для облегчения боли и стресса. После инъекций пентобарбитала и бупренорфина шерсть с обоих боков мыши удаляют с помощью машинки для стрижки волос. Затем кожу в области операции очищают 70%-ным спиртовым тампоном. Сразу после подготовки кожи мышь помещают на гомеотермическое одеяло системы гомеотермического монитора и накрывают стерильной марлей. Температура тела контролируется с помощью ректального зонда и регулируется в диапазоне 36,5-37°C (обычный уровень составляет 36,7°C, и температура колеблется в диапазоне 0,1°C). Операцию не начинают до тех пор, пока 1) температура тела не стабилизируется на заданном уровне, и 2) мышь не находится в глубокой анестезии и, следовательно, не реагирует на боль, вызванную пощипыванием пальца лапы. Обычно для достижения глубокой анестезии после инъекции пентобарбитала требуется 30 мин. Мышь помещают на термостатическое устройство, расположенное с правой стороны. Кожу и мышцы на левом боку разрезают вдоль спины, обнажая левую почку. Разрез располагается на 1/3 части тела от спины мыши, и размер разреза составляет 1-1,5 см вдоль спины. Затем почку выталкивают из разреза стерильными ватными тампонами, чтобы обнажить почечную ножку. Рассечение ткани ножки производят ультратонким пинцетом для удаления ткани вокруг почечной ножки, чтобы обнажить кровеносные сосуды для зажима почечной ножки. После препарирования левую почку возвращают в брюшную полость. Правую почечную ножку подготавливают аналогичной хирургической процедурой, но разрез располагается ближе к ребру из-за другого положения правой почки. После препарирования ножки обе почки возвращают в их исходное положение в брюшной полости. Затем мышь накрывают стерильной марлей на термостатическом устройстве, чтобы температура ее тела снова стабилизировалась, что обычно занимает 5-10 мин. Правую почку осторожно выталкивают из полости тела ватными тампонами, чтобы обнажить ножку. Используют микроаневризму для зажима ножки, чтобы блокировать приток крови к почке и вызвать ишемию почек. Продолжительность ишемии правой почки начинается с момента зажима. На полную ишемию показывает изменение цвета почки с красного на темно-фиолетовый за несколько секунд. После проверки изменения цвета почки почку возвращают в брюшную полость. Затем мышь укладывают на правый бок для пережатия левой почечной ножки и ишемии. Время задержки между зажимом правой и левой почки составляет около 1-1,5 мин. Однако время ишемии каждой стороны регистрируют отдельно, чтобы гарантировать, что обе почки получают одинаковую продолжительность ише-

мии. После ишемии зажимы микроаневризмы снимают в нужное время для каждой почки, чтобы начать реперфузию, на которую указывает изменение цвета почек на красный. Используют шов из викрила для закрытия разреза мышечного слоя с последующим закрытием кожной раны зажимами Michel. Сразу после закрытия раны каждой мышцы внутрибрюшинно вводят 0,5 мл теплого стерильного физиологического раствора. Затем животное держат на грелке до тех пор, пока оно полностью не придет в сознание, прежде чем вернуть в клетку. Почки подвергают реперфузии в течение 24 часов. Ложно оперированным мышам делают двусторонние боковые разрезы без пережатия почечных ножек. Через 24 часа после ишемии мышам подвергают эвтаназии, и собирают почки и кровь. Измеряют уровень креатинина в сыворотке, служащий маркером тяжести травмы. В пилотном исследовании используют следующие группы мышам-самцов C57BL/6J в возрасте от 8 до 10 недель; n=4/группа:

- 1) ложно оперированные,
- 2) IRI - 25 мин,
- 3) IRI-30 мин.

Основное исследование

На основании результатов пилотного исследования для основного исследования выбирают продолжительность ишемии с уровнями креатинина в плазме 2,5-3 мг/дл. Мышей предварительно обрабатывают Fpn127 (300 мг/кг, per os, p.o.), Fpn127 (100 мг/кг, внутривенно, i.v.), гепсидином (50 мкг/мышь, интраперитонеально, i.p.) или носителем (0,5% метилцеллюлоза, p.o.) за 24 часа до IRI. Затем обе почечные ножки обнажают и поперечно зажимают или на 25 мин или на 30 мин у мышам, подвергнутых анестезии. Зажимы удаляют, и почкам дают возможность реперфузироваться в течение 24 часов. Ложно оперированным мышам делают двусторонние боковые разрезы без пережатия почечных ножек. Через 24 часа после ишемии мышам подвергают эвтаназии и собирают почки и кровь.

Включают группы мышам, указанные далее: 8-10-недельные самцы мышам C57BL/6J, n=8/группа.

4. Ложно оперированные - носитель (0,5% метилцеллюлоза, 10 мл/кг, p.o.)
5. IRI -носитель (0,5% метилцеллюлоза, 10 мл/кг, p.o.)
6. IRI - Fpn127 (300 мг/кг, 10 мл/кг, за 24 часа до IRI, p.o.)
7. IRI -Fpn127 (100 мг/кг, 5 мл/кг, за 24 часа до IRI, i.v.)
8. IRI - гепсидин (50 мкг/мышь, 5 мл/кг, за 24 часа до IRI), i.p. Интервалы между введениями доз иллюстрируются на фиг. 1.

В конце исследования измеряют следующие маркеры: креатинин плазмы, азот мочевины крови (BUN), общее железо плазмы, NTBI, гепсидин плазмы, железо селезенки, почек и печени.

Окрашивание гематоксилином/эозином (HE) срезов почек выполняют для оценки степени повреждения ткани почки с оценкой повреждения канальцев в качестве показаний. Выполняют иммуногистохимию с использованием окрашивания каспазой-3 на срезах почек для оценки уровня повреждения почек.

Опосредованный ROS окислительный стресс в почках оценивают путем обнаружения 4-HNE в срезах почек. Экспрессию гена ферропортина в печени, селезенке и почках измеряют методом qPCR.

Экспрессию Н-ферритина в органах измеряют методом вестерн-блоттинга и qPCR.

Инфильтрацию лейкоцитов в почках выявляют путем окрашивания анти-CD45 антителом с использованием проточной цитометрии.

Нейтрофилы идентифицируют с помощью анти-Ly6G и Ly6C маркировки CD11b+ клеток и анализа методом проточной цитометрии.

У пациентов начало острого повреждения почек является непредвиденным, и в идеале было бы предпочтительно дозирование препарата ближе к событию ишемии. Для оптимизации режима дозирования ингибитора ферропортина мышам обрабатывают препаратом Fpn127 за 1, 3, 6, 9, 12 и 15 часов до ИРИ. Включают указанные далее группы мышам: 8-10-недельные самцы мышам C57BL/6J, n=8/группа.

1. Ложно оперированные - носитель (0,5% метилцеллюлоза, 10 мл/кг, p.o.)
2. IRI - носитель, (0,5% метилцеллюлоза, 10 мл/кг, p.o.)
3. IRI - Fpn127 (300 мг/кг, 10 мл/кг, за 2 часа до IRI, p.o.)
4. IRI - Fpn127 (300 мг/кг, 10 мл/кг, за 4 часа до IRI, p.o.)
5. IRI - Fpn127 (300 мг/кг, 10 мл/кг, за 6 часа до IRI, p.o.)
6. IRI - Fpn127 (300 мг/кг, 10 мл/кг, за 8 часа до IRI, p.o.)
7. IRI - Fpn127 (300 мг/кг, 10 мл/кг, за 12 часа до IRI, p.o.)
8. IRI - Fpn127 (300 мг/кг, 10 мл/кг, за 16 часа до IRI, p.o.)

Параметры функции почек, измеренные в основном исследовании, используют как считанные показатели эффективности.

Для дальнейшей оптимизации схемы приема мышам вводят Fpn127 путем i.v. за 0,5 часа, 1 час и 3 часа до IRI или через 1 час после IRI. Включают указанные далее группы мышам: 8-10-недельных самцы мышам C57BL/6J, n=8/группа.

Ложно оперированные - носитель (физиологический раствор, 5 мл/кг, i.v.)

1. IRI - носитель, (физиологический раствор, 5 мл/кг, i.v.)
2. IRI - Fpn127 (100 мг/кг, 5 мл/кг, за 0,5 часа до IRI, i.v.)
3. IRI - Fpn127 (100 мг/кг, 5 мл/кг, за 1 часа до IRI, i.v.)

4. IRI - Fpn127 (100 мг/кг, 5 мл/кг, за 3 часа до IRI, i.v.)

5. IRI - Fpn127 (100 мг/кг, 5 мл/кг, через 1 час после IRI, i.v.)

Параметры функции почек, измеренные в основном исследовании, используют как считанные показатели эффективности.

II.3. Снижение доли ROS в ткани почек

Действие ингибитора ферропортина, например, Fpn127, на уровни ROS в ткани почек можно контролировать с помощью коммерчески доступного чувствительного к ROS датчика, излучающего в дальней красной области.

В частности, определение ROS можно использовать в качестве маркера эффективности, аналогично описанному в Scindia et al., 2015 (цитировано выше).

III. Действие Fpn127 на уровни NTBI и LPI у мышинной модели IRI/AKI, описанной выше

Как описано выше, полагают, что повышенные уровни NTBI в плазме в результате ферропортиноперосредованного экспорта железа из макрофагов, перерабатывающих поврежденные клетки, такие как RBC и другие типы поврежденных клеток во время AKI, вызывают повреждение тканей. Дозирование ингибиторов ферропортина по настоящему изобретению, таких как Fpn127, обладает потенциалом для снижения уровней NTBI в плазме (и LPI) и связанных побочных эффектов.

Уровни NTBI у мышинной модели IRI/AKI, описанной выше, исследуют у мышей, получавших или носитель, или ингибиторы ферропортина по настоящему изобретению, такие как Fpn127, как указано выше. Используется описанный ранее метод нитрилтриацетата-NTBI (NTA-NTBI) (Singh S, Hider RC, Porter JB. "A direct method for quantification of non-transferrin-bound iron." *Anal. Biochem.*, 1990, May 1; 186(2):320-3) с незначительными изменениями.

Вкратце, 0,02 мл 800-мМ NTA (при pH 5,7) добавляют в 0,18-мл пул мышинной сыворотки и оставляют на 30 минут при 22°C. Раствор подвергают ультрафильтрации с использованием устройств для ультрацентрифугирования Whatman Vectaspin (30 кДа) при 12320 g, и ультрафильтрат (0,02 мл) впрыскивают непосредственно в колонку для высокопроизводительной жидкостной хроматографии (ChromSpher-ODS, 5 мкм, 100×3 мм, стеклянная колонка, снабженная соответствующей защитной колонкой), уравновешенную 5% ацетонитрилом и 3 мМ деферипроном (DFP) в 5-мМ MOPS (pH 7,8). Затем комплекс NTA-железо обменивают с образованием комплекса DFP-железо, детектируемого при 460 нм фотодиодной матрицей Waters 996. Введение стандартных концентраций железа, полученных в 80-мМ NTA, используют для создания стандартной кривой. Раствор NTA 80-мМ, используемый для обработки образцов и получения стандартов, обрабатывают 2 мкМ железом для нормализации фонового железа, загрязняющего реагенты. Это означает, что нулевой стандарт дает положительный сигнал, поскольку он содержит добавленное фоновое железо в виде NTA-комплекса. Когда в сыворотке присутствует ненасыщенный трансферрин, такое дополнительное фоновое железо может быть передано в свободные участки трансферрина, что приводит к потере фонового сигнала и получению отрицательной величины NTBI.

NTBI также измеряют с использованием альтернативного метода (CP851 шарик-NTBI), как описано в Garbowski MW, Ma Y, Fucharoen S, Srichairatanakool S, Hider R, Porter JB. "Clinical and methodological factors affecting non-transferrin-bound iron values using a novel fluorescent bead assay." *Transl. Res.*, 2016). Стандарты для этого анализа готовят следующим образом: 1-мМ комплекс железо-NTA (молярное соотношение 1:2,5), полученный из 100-мМ раствора NTA и 18-мМ стандартного раствора железа для атомно-абсорбционного метода, разбавляют водой MilliQ до конечной концентрации от 0 до 100 мкМ. Для стандартной кривой 120 мкл суспензий шариков, меченных зондом, инкубируют с 20 мкл забуференных растворов NTA-железа известной концентрации в течение 20 минут при комнатной температуре с последующим добавлением 20 мкл контрольной сыворотки от мышей дикого типа (без свободного железа) и 40 мкл параформальдегида (10% в MOPS) при конечной концентрации 2%. Суспензии в герметичных 96-луночных планшетах инкубируют при 37°C в течение 16 часов при встряхивании перед измерением флуоресценции методом проточной цитометрии. Для образцов сыворотки с неизвестными концентрациями железа гранулы в количестве 140 мкл инкубируют с 20 мкл образцов сыворотки в течение 20 минут с последующим добавлением 40 мкл параформальдегида при конечной концентрации 2%. Хелатируемые флуоресцентные шарики смешивают с сывороткой мышей дикого типа в качестве контроля, чтобы установить флуоресценцию на уровне 100%, и соответственно рассчитывают относительную флуоресценцию хелатируемых флуоресцентных шариков с сывороткой мышей, протестированных в модели IRI/AKI, описанной выше. Измерения выполняют на проточном цитометре Beckman Coulter FC500, а анализ - с программным обеспечением FlowJo. Бреши основаны на точечных графиках популяций необработанных шариков. Медианную флуоресценцию 10000 событий регистрируют и корректируют для автофлуоресценции шариков. Стандартную кривую строят с помощью сигмоидальной кривой функции дозовой зависимости с переменным наклоном.

NTBI, который охватывает все формы сывороточного железа, которые не связаны тесно с трансферрином, химически и функционально неоднороден. LPI представляет собой компонент NTBI, который является как редокс-активным, так и хелатируемым, способным проникать в органы и вызывать перегрузку тканей железом. Анализ LPI (Esposito BP1, Breuer W, Sirankapracha P, Pootrakul P, Hershko C, Cabantchik ZI. "Labile plasma iron in iron overload: redox activity and susceptibility to chelation." *Blood.* 2003)

измеряет специфическую для железа способность данного образца продуцировать ROS, которое считается одним из наиболее релевантных реакционноспособных видов железа, вовлеченных в повреждения тканей, такие как АКІ.

Используют набор FeROS™ LPI (Afergix Ltd.) для измерения LPI в сыворотках мышей, обработанных или носителем или ингибиторами ферропортина по настоящему изобретению, такими как Fpn127.

Обнаружено, что уровни NTBI и LPI у мышей, испытанных в модели IRI/АКІ, служат трансляционными маркерами, позволяющими оценить эффективность терапии ингибиторами ферропортина.

Такую модель также можно использовать для оптимального плана схемы применения ингибиторов ферропортина (таких как, например, Fpn127) для лечения IRI и АКІ. Таким образом, оптимальная комбинированная терапия АКІ может быть создана с использованием ингибиторов ферропортина по настоящему изобретению.

С помощью моделей и примеров, описанных выше, можно продемонстрировать способность ингибиторов ферропортина по настоящему изобретению предупреждать и вызывать улучшение при IRI и АКІ.

IV. Сывороточный креатинин, экскреция альбумина с мочой, BUN, NGAL, гемоглобин (Hb), Н-ферритин почек, общее железо плазмы, гемолиз RBC, ферропортин почек и KIM-1

Указанные параметры можно определить с использованием обычных методов.

Например, уровни железа в плазме можно определить с помощью анализа железа MULTIGENT (Abbott Diagnostics). Общее железо в органах определяют методом оптической эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ICP-OES) у моделей грызунов или методом ядерно-магнитного резонанса у пациентов.

V. Сывороточный гепсидин, IL-6, негемовое железо, инфильтрация почечных нейтрофилов

Такие параметры можно определить так, как описано Scindia et al., 2015 (цитировано выше).

VI. Уровни железа в тканях/органах

Уровни железа, такие как, например, уровни железа в печени, селезенке или почках, можно определить с использованием обычного(ых) анализа(ов). Например, уровни железа можно определить методом ядерно-магнитного резонанса.

VII. Морфология и гистология тканей / Некроз и апоптоз канальцев Морфологию тканей и гистопатологию, такие как некроз канальцев и апоптоз,

можно выполнить так, как описано Scindia et al., 2015 (цитируется выше).

VIII. Эффективность ингибитора ферропортина VIT-2653 (соединение примера № 40) для ослабления повреждения почек после переливания красных клеток крови у морских свинок

Эффективность соединений ингибиторов ферропортина по настоящему изобретению при предупреждении и лечении острых повреждений почек в соответствии с настоящим изобретением подтверждают дополнительно результаты J.H. Baek et al., "Ferroportin inhibition attenuates plasma iron, oxidant stress, and renal injury following red blood cell transfusion in guinea pigs"; *Transfusion*, 2020, Mar; 60(3): 513-523.

Указанные эксперименты проведены путем внутривенного введения низкомолекулярного ингибитора ферропортина VIT-2653, соответствующего соединению примера № 40 настоящего изобретения, и дополнительно подтверждают выводы настоящего изобретения.

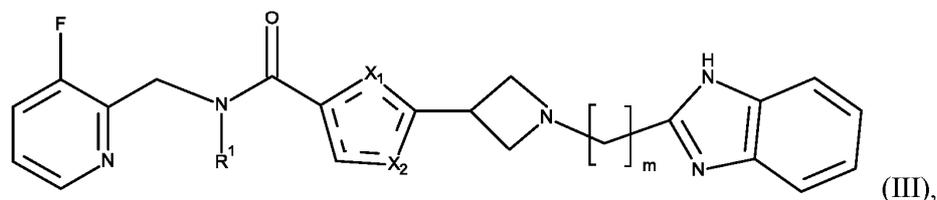
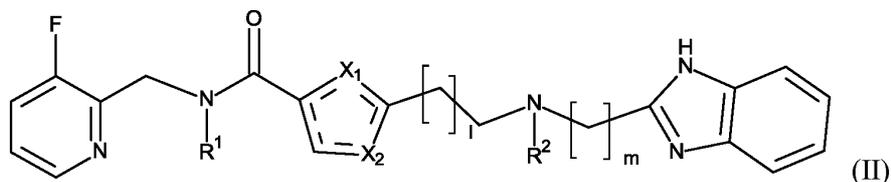
Уровни NTBI и Hb после обменного переливания значительно улучшаются при дозировании ингибитора ферропортина.

Общее содержание железа в почках после переливания можно снизить путем введения ингибитора ферропортина. Оценены вклад циркулирующего Hb в нагрузку почек железом и последующее воздействие на окислительный стресс и повреждение клеток, что показало, что введение ингибитора ферропортина мышам с перелитой кровью значительно уменьшает появление изменений креатинина плазмы > 0,3 мг/дл, показателя, который используется в качестве индикатора раннего острого повреждения почек (АКІ).

Детали эксперимента и условия исследования, а также конкретные результаты исследования можно получить из упомянутой статьи.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения формулы (II) или (III) с целью предупреждения и лечения повреждений почек

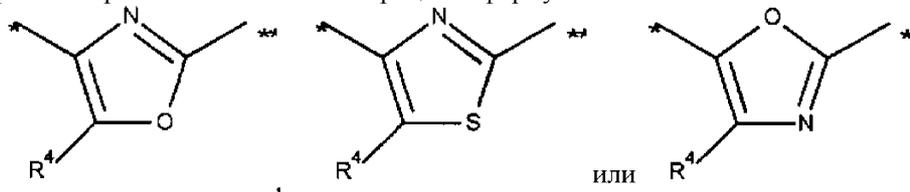


где в формуле (II) и (III)

X¹ представляет собой N или O; и

X² представляет собой N, S или O;

и которые выбирают из 5-членного гетероцикла формулы



где * указывает сайт связывания с аминокарбонильной группой, а ** указывает сайт связывания с [CH₂]₁- или азетидиновой группой;

R¹ представляет собой водород; и

R² представляет собой водород;

l равен 0 или 1;

m равен целому числу 1, 2 или 3;

R⁴ представляет собой водород;

или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата или полиморфа.

2. Применение соединения формулы (II) или (III) или его соли, сольвата, гидрата или полиморфа по п. 1, где повреждение почек выбрано из повреждений почек, вызванных каталитическим свободным железом.

3. Применение соединения формулы (II) или (III) или его соли, сольвата, гидрата или полиморфа по любому из предшествующих пунктов, где повреждение почек выбрано из ишемически-реперфузионного повреждения почек (IRI), ишемического повреждения и острых повреждений почек.

4. Применение соединения формулы (II) или (III) или его соли, сольвата, гидрата или полиморфа по любому из предшествующих пунктов, где повреждение почек выбрано из острого повреждения почек (AKI), ишемически-реперфузионного повреждения почек (IRI) и AKI, вызванного ишемическим повреждением, AKI после операции или хирургического вмешательства и повреждения почек, связанного с трансфузией красных клеток крови (ROS).

5. Применение соединения формулы (II) или (III) или его соли, сольвата, гидрата или полиморфа по любому из предшествующих пунктов, где профилактика и/или лечение включают введение одного или нескольких из соединений формулы (II) или (III), их солей, сольватов, гидратов или полиморфов пациентам, характеризующимся i) наличием повышенных уровней креатинина в плазме, и/или ii) повышенной экскрецией альбумина с мочой, и/или iii) пониженной скоростью расчетной клубочковой фильтрации (eGFR), в каждом случае по сравнению с нормальными физиологическими уровнями, и/или iv) эти пациенты классифицированы как страдающие от AKI или подверженные риску развития AKI по любой из стадий, определенных классификацией KDIGO или RIFLE/AKIN или оценкой CSA-NGAL > 0, или оценкой EGPI гистологии > 0.

6. Применение соединения формулы (II) или (III) или его соли, сольвата, гидрата или полиморфа по любому из предшествующих пунктов, где профилактика и/или лечение включают

a) снижение, ускоренное снижение или предупреждение повышения сывороточного креатинина, и/или

b) повышение или предупреждение снижения eGFR, и/или

c) снижение или предупреждение повышения ферропортина в почках, и/или

- d) повышение или предупреждение снижения уровней Н-ферритина, и/или
 e) снижение или предупреждение повышения инфильтрации нейтрофилов в почках, и/или
 f) снижение или предупреждение повышения уровней сывороточного IL-6.

7. Применение соединения формулы (II) или (III) или его соли, сольвата, гидрата и полиморфа по любому из предшествующих пунктов, где профилактика и/или лечение включают введение одного или нескольких из соединений формулы (II) или (III), их солей, сольватов, гидратов или полиморфов пациенту, подверженному риску появления IRI и/или AKI, один или несколько раз в период времени от >0 до 48 часов, от >0 до 36 часов, от >0 до 24 часов, от >0 до 20 часов, от >0 до 18 часов, от >0 до 16 часов, от >0 до 12 часов, от >0 до 10 часов, от >0 до 8 часов, от >0 до 6 часов, от >0 до 5 часов, от >0 до 4 часов, от >0 до 3 часов, от >0 до 2 часов, от >0 до 1 часа или от >0 до 0,5 часов до IRI, до трансфузии красных клеток крови, до операции или хирургического вмешательства.

8. Применение соединения формулы (II) или (III) или его соли, сольвата, гидрата или полиморфа по любому из предшествующих пунктов, где профилактика и/или лечение включают введение одного или нескольких из соединений формулы (II) или (III), их солей, сольватов, гидратов или полиморфов пациенту, нуждающемуся в этом, один или несколько раз в период времени от немедленно после и до 48 часов после хирургического вмешательства, трансфузии RBC или ишемически-реперфузионного события, предпочтительно от немедленно после и до 12 часов после хирургического вмешательства или ишемически-реперфузионного события.

9. Применение соединения формулы (II) или (III) или его соли, сольвата, гидрата и полиморфа по любому из предшествующих пунктов, где соединение формулы (II) или (III) вводится в дозе от 0,5 до 500 мг или от 1 до 300 мг или от 1 до 250 мг, предпочтительно от 0,001 до 35 мг/кг массы тела.

10. Применение соединения формулы (II) или (III) или его соли, сольвата, гидрата или полиморфа по любому из предшествующих пунктов для перорального и/или внутривенного введения, предпочтительно для внутривенного введения.

11. Применение соединения по любому из предшествующих пунктов, где соединение находится в форме фармацевтически приемлемой соли с кислотой из группы, состоящей из бензойной кислоты, лимонной кислоты, фумаровой кислоты, хлороводородной кислоты, молочной кислоты, яблочной кислоты, малеиновой кислоты, метансульфоновой кислоты, фосфорной кислоты, янтарной кислоты, серной кислоты, винной кислоты и толуолсульфоновой кислоты, предпочтительно с кислотой из группы, состоящей из лимонной кислоты, хлороводородной кислоты, малеиновой кислоты, фосфорной кислоты и серной кислоты; или ее сольвата, гидрата или полиморфа.

12. Применение соединения по любому из предшествующих пунктов, где соединение формулы (II) или (III) выбрано из группы, состоящей из:

Пр. №	Структура	Пр. №	Структура
1		126	
2		127	
4		193	

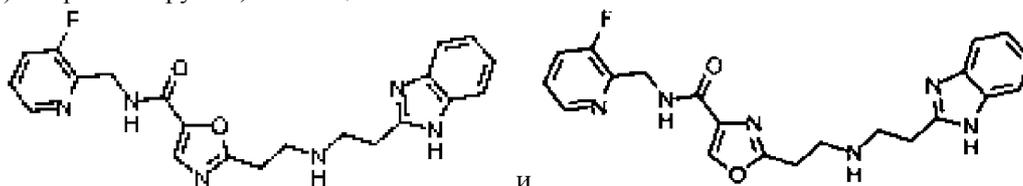
40		206	
94		208	
118		233	

предпочтительно соединение формулы (II) или (III) выбрано из группы, состоящей из:

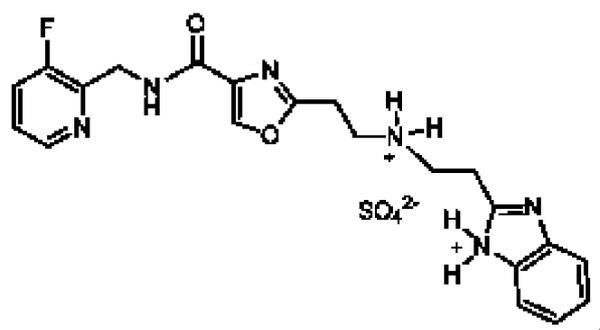
Пр. №	Структура	Пр. №	Структура
1		127	
40		208	
94			

или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата или полиморфа.

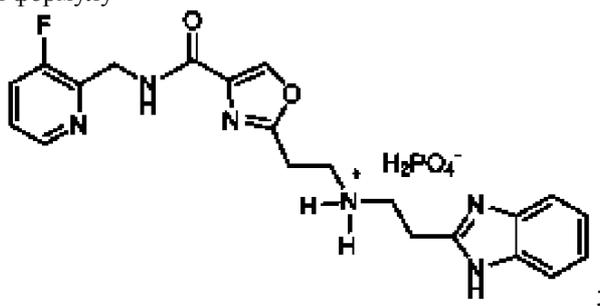
13. Применение соединения по любому из предшествующих пунктов, где соединение формулы (II) или (III) выбрано из группы, состоящей из:



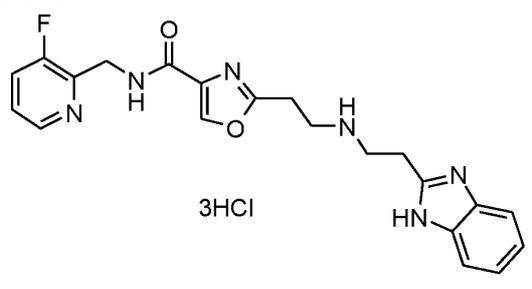
или их фармацевтически приемлемых солей, сольватов, гидратов или полиморфов; или из группы следующих солей:
сульфат 1:1, имеющий формулу



фосфат 1:1, имеющий формулу

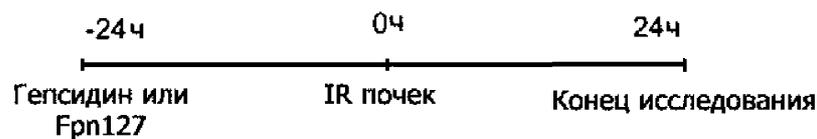


HCl-соль 1:3, имеющая формулу

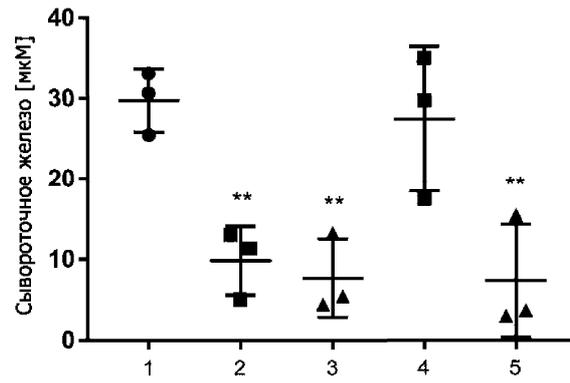


и их полиморфов.

14. Применение лекарственного средства, содержащего одно или несколько соединений, как определено по любому из пп.1 и 11-13, и дополнительно содержащего один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, и/или вспомогательных веществ, и/или растворителей, и/или одно или несколько дополнительных фармацевтически активных соединений, для предупреждения и лечения повреждений почек.



Фиг. 1



- 1: носитель ро
2: Fpn127 (120 мг/кг) ро 4ч
3: Fpn127 (300 мг/кг) ро 4ч
4: Fpn127 (120 мг/кг) ро 8ч
5: Fpn127 (300 мг/кг) ро 8ч

Фиг. 2

