

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 040395

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.05.26

(21) Номер заявки
201991304

(22) Дата подачи заявки
2017.12.01

(51) Int. Cl. A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ 5-[[4-[2-[5-(1-ГИДРОКСИЭТИЛ)ПИРИДИН-2-ИЛ]ЭТОКСИ]ФЕНИЛ]МЕТИЛ]-1,3-ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА ИЛИ ЕГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИ ПРИЕМЛЕМОЙ СОЛИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

(31) 16382584.7

(32) 2016.12.01

(33) EP

(43) 2019.12.30

(86) PCT/IB2017/057587

(87) WO 2018/100557 2018.06.07

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
МИНОРИКС ТЕРАПЬЮТИКС С.Л.
(ES)

(72) Изобретатель:
Пискуэта Лаланса Мария Пилар,
Мартинель Педемонте Марк (ES)

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

(56) KAWAGUCHI-SUZUKI MARINA ET AL: "A validated liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of pioglitazone, hydroxypioglitazone, and ketopioglitazone in human plasma and its application to a clinical study", JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY B: BIOMEDICAL SCIENCES & APPLICATIONS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 969, 21 August 2014 (2014-08-21), pages 219-223, XP029057103, ISSN: 1570-0232, DOI: 10.1016/J.JCHROMB.2014.08.019 abstract

WO-A1-2015150476

(57) Настоящее изобретение относится к применению 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона или его фармацевтически приемлемой соли для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени, включая неалкогольный стеатогепатит. Изобретение также относится к способу лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени, включая неалкогольный стеатогепатит, путем введения эффективного количества 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона или его фармацевтически приемлемой соли нуждающемуся в этом субъекту.

B1

040395

040395 B1

Перекрестная ссылка на родственную заявку

Настоящая заявка испрашивает приоритет европейской заявки No. EP16382584. 7, поданной 1 декабря 2016 года, содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к применению 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этоксифенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диола и его фармацевтически приемлемых солей для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени, включая неалкогольный стеатогепатит.

Уровень техники

Метаболический синдром представляет собой группу метаболических нарушений, которая выявляет людей с риском развития диабета и сердечно-сосудистых заболеваний. Глюкоза и триглицериды повышено продуцируются печенью у субъектов с метаболическим синдромом. Поэтому печень является основным фактором, определяющим метаболические нарушения. Частота случаев как метаболического синдрома, так и неалкогольной жировой болезни печени ("NAFLD") увеличивается с ожирением. Другие приобретенные причины обоих нарушений включают чрезмерное потребление простых Сахаров и отсутствие физической активности. Оба нарушения предполагают диабет 2 типа, сердечно-сосудистые заболевания, неалкогольный стеатогепатит ("NASH"), и гепатоцеллюлярную карциному. Поскольку метаболический синдром может быть определен многими различными способами, NAFLD может быть более прямым предиктором этих заболеваний. Половина людей с NAFLD несут по меньшей мере один вариантный (G) аллель по rs738409 в гене PNPLA3, что связано с высоким содержанием жира в печени. Стеатоз при PNPLA3-ассоциированном NAFLD, не сопровождается признаками метаболического синдрома. Все формы NAFLD увеличивают риск NASH, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы.

NAFLD охватывает спектр заболеваний, начиная от изолированного стеатоза печени и заканчивая NASH, более агрессивной формы жировой болезни печени, которая может прогрессировать до цирроза и осложнений, связанных с циррозом, включая гепатоцеллюлярную карциному ("HCC"). NAFLD и NASH характеризуются чрезмерным накоплением жира в виде триглицеридов (стеатоз) в печени у пациентов, которые не злоупотребляют алкоголем. NASH обнаружен в подгруппе пациентов с NAFLD, у которых, помимо избытка жира, имеются признаки характерного гепатоцеллюлярного повреждения и некровоспалительных изменений. NAFLD является основной формой хронического заболевания печени, которое не связано со значительным потреблением алкоголя. NAFLD представляет собой состояние, при котором избыточное количество жира накапливается в форме триглицеридов (стеатоз) в печени и гистологически характеризуется более чем 5% накоплением триглицеридов в печени, что приводит к стеатозу и воспалению печени. Распространенность NAFLD, включая NASH, также растет параллельно с ростом эпидемий ожирения и диабета. Однако причинно-следственные связи между ожирением и/или диабетом, и NASH или онкогенезом печени до сих пор четко не выяснены. Исследователи предположили, что NAFLD может быть следствием множественных параллельных ударов, таких как кишечные факторы и факторы, вызванные жировой тканью, и что НАЖБП является сложным, полигенным заболеванием. Животные модели NAFLD/NASH предоставили важную информацию не только для выяснения патогенеза NAFLD/NASH, но и для изучения терапевтических эффектов различных средств. Различные диеты были использованы для образования стеатоза печени и NASH у экспериментальных животных, такие как диета с высоким содержанием жиров или диета с дефицитом метионина и холина. Несколько исследований показали, что длительная диета с высоким содержанием жиров или дефицитом метионина и холина, которая может вызвать ожирение и инсулинорезистентность, также может вызывать NASH и онкогенез печени у мышей C57BL/6J. (см., например, Nakamura et al., Int. J. Mol. Sci. 14: 21240-21257 (2013) и Imajo et al., Int. J. Mol. Sci. 14: 21833-21857 (2013)).

NAFLD связана с кардиометаболическими факторами риска и метаболическим синдромом и является наиболее распространенным хроническим заболеванием печени среди взрослых в развитых странах. Было подсчитано, что около 30% взрослых в США и других западных странах имеют NAFLD; частота заболеваний увеличивается до более чем двух третей у лиц с ожирением. С другой стороны, NASH может присутствовать до 3% от общей численности населения. В дополнение к печеночным осложнениям, пациенты с NAFLD имеют повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний, (см., например, Nakamura et al., Int. J. Mol. Sci. 14: 21240-21257 (2013)).

NASH является формой метаболического заболевания печени, при котором жировые изменения (стеатоз) связаны с лобулярным воспалением, повреждением гепатоцитов и/или фиброзом печени. Она составляет патогенное звено в цепи NAFLD, которое простирается от легкого стеатоза до некоторых случаев "криптогенного цирроза". NAFLD и NASH обычно являются печеночными проявлениями синдрома резистентности к инсулину (или метаболизма), но факторы, которые превращают стеатоз в NASH, остаются неясными. Однако отсутствуют стандартизированные определения, особенно в отношении того, к какой патологии относится "выраженный стеатогепатит". NAFLD/NASH является наиболее распространенным типом заболеваний печени в богатых обществах. NASH обычно не вызывает никаких симптомов. Пациенты с NASH обычно имеют повышенное соотношение нейтрофилов к лимфоцитам ("NLR") по сравнению с пациентами без NASH. Таким образом, NLR является маркером для прогнозирования стеатогепатита у пациентов с NAFLD. см., например, Alkhoury et al., Liver Int. 32(2) :297-302

(2012). Клинические признаки, такие как усталость, гепатомегалия и болезненный дискомфорт в печени, при их наличии не являются специфическими. В 20-25% случаев NASH может прогрессировать до поздних стадий фиброза и цирроза печени; печеночная недостаточность становится наиболее распространенной причиной смерти, и может иногда возникать HCC. Коррекция инсулинорезистентности с помощью диеты и увеличения физической активности (вмешательство в образ жизни) является логическим подходом для профилактики или купирования раннего NASH, а умеренное снижение веса может нормализовать изменения печеночной пробы. Лекарственная терапия, направленная на реверсию инсулинорезистентности, коррекцию диабета и липидных нарушений или обеспечение "гепатоцеллюлярной защиты", показала, что она улучшает печеночные пробы в краткосрочных небольших исследованиях, но необходимы более крупные рандомизированные направленные исследования, чтобы установить, задерживает ли какой-либо из этих подходов прогрессирование фиброза печени и предотвращение осложнений печени, и на каком этапе вмешательства являются экономически эффективными. (см., например, Farrell et al., Introduction to NASH and Related Disorders: Chapter 1 Overview: an introduction to NASH and related fatty liver disorders (2007)).

Не существует определенной и эффективной стратегии лечения NAFLD и NASH. Пиоглитазон использовался для лечения NAFLD и NASH, но из-за нежелательных побочных эффектов не является подходящим кандидатом для лечения (см., например, Kus et al., PLoS ONE 6(11):e27126 (2011) and Belfort et al., The New England Journal of Medicine 355 (22):2297-2307 (2006)). В настоящее время не существует лекарства от NASH, и современные методы лечения направлены на контроль состояний, связанных с NASH: ожирение, диабет и гиперлипидемия. Для людей с инсулинорезистентностью доступно несколько лекарственных средств, и они изучаются для NASH, такие как пиоглитазон. Однако их роль еще не доказана.

Пиоглитазон представляет собой лекарственное средство, продаваемое для применения при лечении сахарного диабета 2 типа. Пиоглитазон является сильным агонистом гамма-рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом (PPAR-γ). Но пиоглитазон был связан с нежелательными побочными эффектами, включая вероятность взаимодействия с другими лекарственными средствами, реакции со стороны сердечно-сосудистой системы, задержку жидкости в организме, увеличение массы и рак мочевого пузыря (см., например, Kus et al., PLoS ONE 6(11): e27126 (2011)). Высокие дозы и/или постоянный прием пиоглитазона являются поэтому нежелательными, так как высокое системное воздействие может привести к серьезным побочным эффектам.

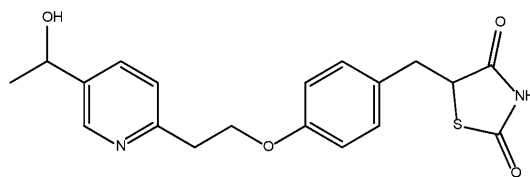
Пиоглитазон представляет собой "неочищенное" лекарственное средство, которое превращается во многие метаболиты in vivo. Метаболический путь пиоглитазона после перорального введения был изучен на нескольких видах животных и на людях, и метаболиты описаны в литературе (см., например, Sohda et al., Chem. Pharm. Bull. 43(12):2168-2172 (1995) и Maeshiba et al., Arzneim.-Forsch/Drug Res. 47(I):29-35 (1997)). Было идентифицировано по меньшей мере шесть метаболитов, названных от M-I до M-VI. Среди этих метаболитов M-II, M-III и M-IV проявляют некоторую фармакологическую активность, но менее активны, чем пиоглитазон, в диабетических доклинических моделях. 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион показал свою эффективность в лечении заболеваний центральной нервной системы (см. WO 2015/150476 A1).

Существует острая необходимость в новых методах лечения NAFLD и NASH.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение обеспечивает улучшенный способ лечения или предупреждения NAFLD, NASH Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что соединения формулы (1) и их соли проявляют улучшенный профиль безопасности по сравнению с другим 2,4-тиазолидиндионовым соединением, пиоглитазоном. В частности, было обнаружено, что соединения формулы (1) и их соли демонстрируют меньший риск взаимодействия с другими лекарственными средствами и меньший риск рака мочевого пузыря, чем пиоглитазон, и проявляют более низкую фармакокинетическую (ПК) вариабельность у людей, чем пиоглитазон.

Таким образом, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения или профилактики неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), и, в частности, неалкогольного стеатогепатита (NASH), где способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, соединения формулы (1)



(1)

или его фармацевтически приемлемой соли в количестве, эффективном для лечения или профилактики неалкогольной жировой болезни печени. В варианте осуществления соединение формулы (1) представляет собой одно или несколько из соединений:

(2) (R)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;

(3) (R)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;
 (4) (S)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;
 или (5) (S)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;

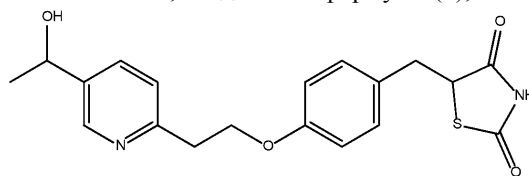
или их фармацевтически приемлемой соли.

В одном варианте осуществления, не более 1% от общего количества атомов водорода на моль соединения формулы (1) находится в форме изотопа ^2H .

В другом варианте осуществления способ лечения или предупреждения включает введение смеси двух или более соединений, выбранных из группы, состоящей из (2), (3), (4) и (5), или их фармацевтически приемлемой соли, где смесь является оптически активной. В одном варианте осуществления, вводят соединения (2) и (3). В другом варианте осуществления, вводят соединения (4) и (5). В другом варианте осуществления, вводят соединения (2) и (4). В другом варианте осуществления, вводят соединения (3) и (5).

В одном аспекте изобретения неалкогольная жировая болезнь печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит. В другом варианте осуществления, соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль вводят субъекту в пероральной лекарственной форме, такой как таблетка, капсула, пилюля, множество гранул, пероральный раствор или пероральная суспензия.

Настоящее изобретение также обеспечивает применение соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения или предупреждения алкогольной жировой болезни печени, и, в частности, неалкогольного стеатогепатита, соединение формулы (1), имеющее структуру:



(1).

В соответствии с другим аспектом настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли при производстве лекарственного средства для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени, и, в частности, неалкогольного стеатогепатита.

Дополнительные варианты осуществления и преимущества изобретения будут частично изложены в последующем описании и частично будут очевидны из описания или могут быть изучены при практическом использовании изобретения. Варианты осуществления и преимущества изобретения будут реализованы и достигнуты посредством элементов и комбинаций, конкретно указанных в прилагаемой формуле изобретения.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 представлено сравнение противовоспалительного действия MIN-102 на модели воспаления, вызванного липополисахаридом *in vitro*.

На фиг. 2 представлено сравнение уровня нейтрофилов на экспериментальной мышинной модели аутоиммунного энцефалита после лечения MIN-102.

На фиг. 3 представлено сравнение уровней адипонектина у крыс Sprague Dawley после лечения MIN-102.

На фиг. 4 представлено сравнение потери массы тела на мышинной модели NASH с диетой MCD после лечения MIN-102.

На фиг. 5A представлено сравнение уровней ALT в плазме на мышинной модели NASH с диетой MCD после лечения MIN-102.

На фиг. 5B представлено сравнение уровней AST в плазме на мышинной модели NASH с диетой MCD после лечения MIN-102.

На фиг. 6A представлено сравнение уровней общего холестерина в печени на мышинной модели NASH с диетой MCD после лечения MIN-102.

На фиг. 6B представлено сравнение уровней триглицеридов в печени на мышинной модели NASH с диетой MCD после лечения MIN-102.

На фиг. 7 представлено сравнение по шкале оценки NAFLD для стеатоза печени, воспаления, фиброза и баллонирования гепатоцитов на мышинной модели NASH с диетой MCD после лечения MIN-102.

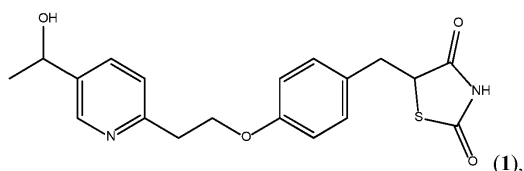
На фиг. 8 представлено сравнение средних баллов по шкале NAS на мышинной модели NASH с диетой MCD после лечения MIN-102.

Подробное описание

NASH является прогрессирующим заболеванием, относящимся к спектру NAFLD, и может прогрессировать до фиброза и цирроза печени. В настоящее время не существует четких и эффективных стратегий лечения, определенных для лечения NASH.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики неалкогольной жировой болезни печени, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли в количестве, эффективном для лечения или профилактики неалкогольной жировой болезни печени. В одном варианте осуществления, NAFLD представляет собой NASH. Также раскрыто соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении или профилактике неалкогольной жировой болезни печени. В одном варианте осуществления, NAFLD представляет собой NASH. Также раскрыто применение соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли при изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики неалкогольной жировой болезни печени. В одном варианте осуществления, NAFLD представляет собой NASH.

Неожиданно было обнаружено, что соединения формулы (1)



имеющие химическое название 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион (также называемый 5-(4-(2-(5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил)этокси)бензил)тиазолидин-2,4-дион, гидроксипиоглитазон, гидрокси пиоглитазон, или M-IV), и их фармацевтически приемлемые соли, вместе обозначаемые в настоящем документе как "соединения по изобретению" (каждое в отдельности именуется далее как "соединение по изобретению"), являются полезными в способе лечения или профилактики NAFLD и NASH, обеспечивая безопасный способ для пациентов с минимальными или уменьшенными побочными эффектами. Авторы изобретения обнаружили, что соединения по настоящему изобретению демонстрируют общий превосходный профиль безопасности по сравнению с пиоглитазоном. Это особенно полезно при лечении пациентов, нуждающихся в длительном лечении, таких как те, кто страдает NAFLD или NASH.

Пиоглитазон был исследован для лечения NASH (см., например, Belfort et al., N. Engl. J. Med. 355(22):2297-2307 (2006); Sanyal et al., N. Engl. J. Med. 362 (18):1675-1685 (2010)). Тем не менее, длительное лечение пиоглитазоном связано с нежелательными побочными эффектами, включая вероятность взаимодействия с другими лекарственными средствами, реакции со стороны сердечно-сосудистой системы, задержку жидкости в организме, увеличение массы и рак мочевого пузыря. Поэтому длительное введение и/или высокие дозы пиоглитазона являются нежелательными, так как высокое системное воздействие может привести к серьезным побочным эффектам.

Предупреждения об использовании пиоглитазона и риске развития рака мочевого пузыря привели к тому, что препарат был отменен для дальнейшего применения во Франции и Германии (см., например, "Update on ongoing European review of pioglitazone-containing medicines," European Medicines Agency (June 9, 2011)).

Кроме того, пиоглитазон имеет множество возможных межлекарственных взаимодействий:

потенциальные взаимодействия с модуляторами 2C8 с фибратами (агонисты PPAR-альфа, такие как гемфиброзил, используются для уменьшения количества липидов); антиканцерогенами (сорафениб, паклитаксел); статинами (церавастатин); антибиотиками (рифампин и триметорпим);

потенциальные взаимодействия с модуляторами 2C9 с лефлуномидом (ревматоидный артрит); терифлуномидом (рассеянный склероз) и натеглинидом (диабет); и

потенциальные взаимодействия с модуляторами 3A4 с ингибиторами COMT (энтакапон); ингибиторами MAO-B (селегилин); модафинилом; ингибиторами ацетилхолинэстеразы (галантамин); донепезилом; иммуномодуляторами (флуоксетин, такролимус, сиролимус).

Было показано, что соединения по настоящему изобретению демонстрируют меньший риск межлекарственных взаимодействий и меньший риск рака мочевого пузыря. Кроме того, было показано, что соединения по настоящему изобретению проявляют более низкую РК вариабельность у людей, чем пиоглитазон. Соединения по настоящему изобретению также потенциально дают преимущество тем индивидуумам, у которых присутствует полиморфизм в генах, который непосредственно влияет на метаболизм пиоглитазона.

Снижение риска гиперплазии эпителия (рак мочевого пузыря).

Наличие гиперплазии эпителия у крыс после длительного лечения оказалось хорошим прогностическим маркером риска рака агонистов PPAR-гамма. Механизм действия этой гиперплазии эпителия может быть независимым от PPAR гамма-агонизма.

Текущие данные свидетельствуют о том, что лечение соединением по изобретению показывает более низкую частоту возникновения гиперплазии эпителия у крыс и, следовательно, более низкий потенциал развития рака мочевого пузыря. Пример 1 показывает, что гиперплазия эпителия, которая является прогностическим маркером возможного риска рака мочевого пузыря, наблюдалась только в группе пиоглитазона.

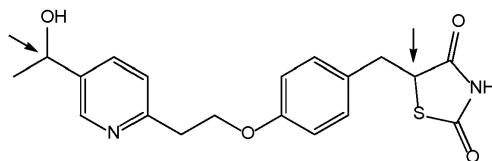
Низкий потенциал для межлекарственного взаимодействия.

Межлекарственное взаимодействие может привести к изменениям в системном воздействии, что приводит к изменениям в реакции на лекарственное средство совместно вводимых лекарственных средств. В дополнение к совместному введению других лекарственных средств, одновременный прием пищевых добавок, цитрусовых или фруктового сока может также изменить системное воздействие лекарственных средств, что приведет к нежелательным лекарственным реакциям или потере эффективности. Поэтому важно оценивать потенциальные взаимодействия лекарств до разрешения продажи на рынке, а также в течение пострегистрационного периода.

Как указано в примерах, преимущества соединений по настоящему изобретению над пиоглитазоном связаны с потенциальными межлекарственными взаимодействиями пиоглитазона с субстратами, ингибиторами или индукторами CYP2C8, CYP2C9, CYP3A4 и CYP2B6. Как показано в примерах, 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона не вызывает заметного обратимого или зависящего от времени ингибирования по отношению к основным ферментам CYP. Кроме того, 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион является более чистым, чем пиоглитазон, в качестве потенциального индуктора CYP на основе экспериментальных данных с CYP3A4 и CYP2B6.

Низкая РК вариабельность у людей: Как указано в примере 7, ответ на пиоглитазон у пациентов с NASH зависит от концентрации. См., Kawaguchi-Suzuki et al., Aliment. Pharmacol. Ther. 46(1):56-61 (2017). Из-за РК вариабельности пиоглитазон не был признан эффективным у всех пациентов с NASH, и для обеспечения его эффективности у всех пациентов с NASH, получавших лечение, потребуются более высокие дозы. Более высокие дозы пиоглитазона увеличат риск развития побочных эффектов. Соединения по изобретению имеют более низкую РК вариабельность, и поэтому лечение соединениями по изобретению является более безопасным, чем лечение пиоглитазоном.

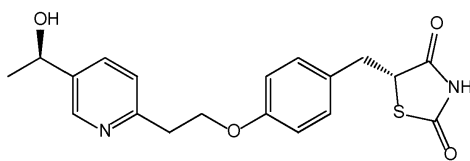
Соединение формулы (1), 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион, имеет два хиральных центра. Один из них представляет собой атом углерода в положении 5 тиазолидин-дионового кольца, а другой асимметричный атом находится в положении 1 гидроксиэтильной группы, как показано стрелками:



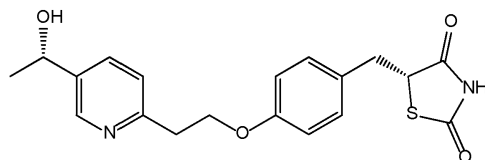
Используемый здесь термин "соединение формулы (1)" используется для обозначения всех возможных стереоизомеров, включая энантиомеры и диастереомеры, и смесей, включая их рацемические смеси.

В одном варианте осуществления, соединение формулы (1) выбрано из группы, состоящей из:

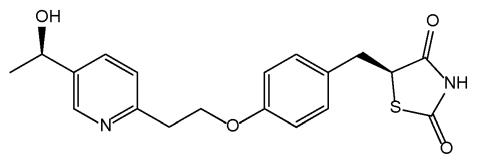
Соединения (2) (R)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона



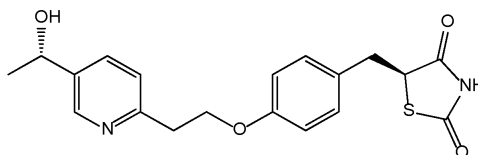
Соединения (3) (R)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона



Соединения (4) (S)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона



Соединения (5) (S)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона



или его фармацевтически приемлемая соль.

Хотя соединения (2)-(5) были получены, как описано в WO 2015/150476 A1, и выделены, их абсолютная (R/S) конфигурация еще не была определена. Время удерживания каждого энантиомера измеряли с помощью хиральной ВЭЖХ.

Ссылка на соединения (1)-(5) в настоящем изобретении предназначена для обозначения соединений (1)-(5), имеющих атомы водорода, которые преимущественно находятся в форме его изотопа ^1H , т.е. не более 1% от общего количества атомов водорода на моль соединения находятся в форме изотопа ^2H (дейтерия). В одном варианте осуществления, не более 0,015% (что является естественным содержанием дейтерия) от общего количества атомов водорода на моль соединения находятся в форме изотопа ^2H (дейтерия).

В одном варианте осуществления, пациенту может быть введена смесь, включающая неэквивалентное количество каждого соединения (2), (3), (4) и (5) или его фармацевтически приемлемой соли. В другом варианте осуществления, смесь включает каждое из соединения (2), (3), (4) и (5) или их фармацевтически приемлемой соли в количестве $20 \pm 10\%$ мас./мас. В другом варианте осуществления, смесь включает каждое из соединения (2), (3), (4) и (5) или их фармацевтически приемлемой соли в количестве $25 \pm 5\%$ мас./мас.

В другом варианте осуществления, пациенту может быть введена смесь, включающая каждое соединение (2), (3), (4) и (5) или их фармацевтически приемлемую соль, где смесь включает энантиомерный избыток одного или нескольких соединений (2), (3), (4) и (5). В другом варианте осуществления, пациенту может быть введена смесь, включающая эквивалентное количество каждого соединения (2), (3), (4) и (5), или его фармацевтически приемлемой соли, т.е. каждое соединение в количестве 25% мас./мас.

В одном варианте осуществления, пациенту может быть введена смесь двух или более соединений, выбранных из группы, состоящей из соединения (2), соединения (3), соединения (4) и соединения (5), или их фармацевтически приемлемой соли, где смесь является оптически активной. В другом варианте смесь включает два или более соединений, выбранных из группы, состоящей из:

- (a) соединения (2) и соединения (3);
- (b) соединения (4) и соединения (5);
- (c) соединения (2) и соединения (4); и
- (d) соединения (3) и соединения (5), или их фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте осуществления пациенту вводят смесь (c) или смесь (d).

В другом варианте пациенту вводят смесь, состоящую по существу из:

- (a) соединения (2) и соединения (3), или их фармацевтически приемлемой соли, в качестве активных средств;
- (b) соединения (4) и соединения (5), или их фармацевтически приемлемой соли, в качестве активных средств;
- (c) соединения (2) и соединения (4), или их фармацевтически приемлемой соли, в качестве активных средств; и
- (d) соединения (3) и соединения (5), или их фармацевтически приемлемой соли, в качестве активных средств.

В другом варианте осуществления смесей (a)-(d), упомянутых выше, два соединения, упомянутые в каждой из смесей, присутствуют в эквивалентных количествах. Указанные смеси могут также содержать незначительные количества (например, менее 10, менее 3, менее 1 и менее 0,1 мас.% другого стереоизомера формулы (1)). Указанные смеси также могут быть энантиомерно обогащены по отношению к одному или нескольким соединениям (2), (3), (4) и (5).

В другом аспекте изобретения подходящие фармацевтически приемлемые соли соединений по изобретению включают, например, фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли соединений по изобретению, которые могут быть получены из следующих кислот, включая без ограничения, муравьиную, уксусную, пропионовую, бензойную, уксусную, пропионовую, бензойную, янтарную, гликолевую, глюконовую, молочную, малеиновую, яблочную, винную, лимонную, азотную, аскорбиновую, глюкуроновую, малеиновую, фумаровую, пировиноградную, аспарагиновую, глутаминовую, бензойную, хлористоводородную, бромистоводородную, йодистоводородную, изолимонную, ксинафоевую, винную, трифторуксусную, палмовую, пропионовую, антралиловую, мезиловую, нападисилатную, щавелевую, олеиновую, стеариновую, салициловую, п-гидроксibenзойную, никотиновую, фенилуксусную, миндальную, эмбоновую (палмовую), метансульфоновую, фосфорную, фосфоновую, этансульфоновую, бензолсульфоновую, пантотеновую, толуолсульфоновую 2-гидроксиэтансульфоновую, сульфаниловую, серную, салициловую, циклогексиламиносульфоновую, альгенную, β -гидроксимасляную, галактаровую и галактуроновую кислоты. В варианте осуществления, фармацевтически приемлемые соли включают соли хлори-

стоводородной кислоты и бромистоводородной кислоты. В варианте осуществления, фармацевтически приемлемая соль включает соль хлористоводородной кислоты.

Соединения по настоящему изобретению могут быть получены любым подходящим способом, известным в данной области техники, например способами, описанными в WO 2015/150476 A1. 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион является также коммерчески доступным, например, от Santa Cruz Biotechnology and Toronto Research Chemicals (Toronto, Ontario, Canada).

Различные примеры и варианты осуществления объекта изобретения, раскрытого в настоящем описании, возможны и будут очевидны для специалиста в данной области техники, учитывая пользу этого раскрытия. В настоящем раскрытии ссылка на "некоторые варианты осуществления", "определенные варианты осуществления", "определенные иллюстративные варианты осуществления" и подобные фразы означает, что эти варианты осуществления являются неограничивающими примерами объекта изобретения, и существуют альтернативные варианты осуществления, которые не исключаются.

Форма единственного числа используется в настоящем документе для обозначения одного или более чем одного (т.е. по меньшей мере одного) грамматического объекта. Например, "элемент" означает один элемент или более одного элемента.

Слово "включающий" используется в соответствии с его неограничивающим значением, т.е. означает, что данный продукт или процесс может необязательно также иметь дополнительные характеристики или элементы помимо тех, которые описаны явным образом. Следует понимать, что везде, где варианты осуществления описаны с помощью формулировка "включающий", в остальном также рассматриваются аналогичные варианты осуществления, описанные в терминах "состоящий из" и/или "состоящий по существу из", и в пределах объема настоящего изобретения.

Термин "облегчение" в контексте настоящего изобретения понимается как означающий любое улучшение ситуации с пациентом, который получает лечение.

Термин "bid введение" или "BID" означает введение два раза в день терапевтического средства.

Термин "SAD" означает однократное введение пероральной дозы терапевтического средства.

В настоящем изобретении каждый из терминов "соединение формулы (1)", "гидроксипиоглитазон", "гидроксипиоглитазон (M-IV)", "гидроксипиоглитазон", и "5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)-2-пиридинил]этокси]бензил]-2,4-тиазолидиндион" относится к 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диону, который имеет структуру, показанную выше, и к любому его стереоизомеру. Термин "MIN-102" относится к гидрохлоридной соли рацемического 5-[[4-[2-[5-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона.

Под "эффективным" количеством или "терапевтически эффективным количеством" лекарственного средства или фармакологически активного агента подразумевается нетоксичное, но достаточное количество лекарственного средства или агента для обеспечения желаемого эффекта. Количество, которое является "эффективным", будет варьироваться от субъекта к субъекту в зависимости от возраста и общего состояния индивидуума, конкретного активного агента или агентов и тому подобного. Таким образом, не всегда возможно указать точное "эффективное количество". Однако соответствующее "эффективное" количество в любом отдельном случае может быть определено специалистом в данной области с использованием рутинных экспериментов.

Термин "лечение" или "лечить" в контексте настоящего описания означает облегчение или устранение заболевания или одного или нескольких симптомов, связанных с указанным заболеванием. "Лечение" также включает облегчение или устранение физиологических последствий заболевания.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к солям, полученным из фармацевтически приемлемых неорганических и органических кислот.

Термин "профилактика" или "предупреждение" относится к снижению риска приобретения или развития данного заболевания или расстройства, или к снижению или ингибированию рецидива или заболевания или расстройства.

Как используется в настоящем описании, фраза "РК вариабельность" или "фармакокинетическая вариабельность" относится к межиндивидуальным вариабельностям фармакокинетических параметров лекарственного средства, что приводит к различным профилям концентрации в плазме во времени после введения одной и той же дозы различным пациентам.

Как используется в настоящем описании термин "стереоизомеры" является общим термином для всех изомеров отдельных молекул, которые отличаются только ориентацией их атомов в пространстве. Он включает энантиомеры и изомеры соединений с более чем одним хиральным центром, которые не являются зеркальными отражениями друг друга (диастереомеры).

Термин "хиральный центр" или "асимметричный атом углерода" относится к атому углерода, к которому присоединены четыре различные группы.

Термины "энантиомер" и "энантиомерный" относятся к молекуле, которая не может быть наложена на ее зеркальное изображение и, следовательно, оптически активна, причем энантиомер вращает плоскость поляризованного света в одном направлении, и его зеркальное отображение соединения вращает плоскость поляризованного света в противоположное направление.

Термин "рацемический" относится к смеси равных частей энантиомеров, и которая является оптически неактивной.

Термин "абсолютная конфигурация" относится к пространственному расположению атомов хирального молекулярного объекта (или группы) и его стереохимическому описанию, например, R или S.

Используемые в описании стереохимические термины и условные обозначения должны соответствовать тем, которые описаны в Pure & Appl. Chem 68:2193 (1996), если не указано иное.

Термин "энантиомерный избыток" или "ee" относится к показателю того, сколько присутствует одного энантиомера по сравнению с другим. Для смеси R и S энантиомеров энантиомерный избыток, выраженный в процентах, определяется как $|R-S| \times 100$, где R и S представляют собой соответствующие мольные или весовые доли энантиомеров в смеси, так что $R+S=1$. Зная оптическое вращение хирального вещества, процент энантиомерного избытка определяют как $([\alpha]_{\text{obs}}/[\alpha]_{\text{max}}) \times 100$, где $[\alpha]_{\text{obs}}$ представляет собой оптическое вращение смеси энантиомеров и $[\alpha]_{\text{max}}$ представляет собой оптическое вращение чистого энантиомера. Определение энантиомерного избытка возможно с использованием различных аналитических методов, включая ЯМР-спектроскопию, хиральную колоночную хроматографию или оптическую поляризацию.

Термины "энантиомерно чистый" или "энантиоочищенный" относятся к образцу хирального вещества, все молекулы которого (в пределах обнаружения) имеют одинаковый смысл хиральности.

Термины "энантиомерно обогащенный" или "энантиообогащенный" относятся к образцу хирального вещества, энантиомерное соотношение которого превышает 50:50. Энантиомерно обогащенные соединения могут быть энантиомерно чистыми.

Способы лечения или профилактики.

Для применения при лечении NAFLD, NASH и других заболеваний и расстройств, описанных в настоящем документе, активность соединений по настоящему изобретению может быть определена путем использования соответствующих анализов *in vitro* и *in vivo*.

Полезность соединения формулы (1) в настоящем способе, включая стереоизомеры (2)-(5), смеси (a)-(d), и их фармацевтически приемлемые соли, может быть продемонстрирована в соответствующих анализах *in vitro* или *in vivo*.

Согласно одной модели NASH на мышах (см. Verdelho Machado et al., PlosOne May 27:10(5):e0127991 (2015)), самцов инбредных мышей C57BL/6, в возрасте 8 недель получали от Charles River, France. На этапе акклиматизации стандартную (контрольную пищу) диету (RM1 (E) 801492, SDS) и водопроводную воду давали неограниченно. Затем мышам кормили диетой с дефицитом метионинхолина (MCD) (ref#A02082002B от Research Diets, США), дополненной исследуемым веществом или без него, при условии неограниченного доступа. Все процедуры были выполнены в соответствии с Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (revised 1996 and 2011, 2010/63/EU) and French laws. 20 животных содержали в проветриваемых и комфортных клетках ($310 \times 125 \times 127$ мм³) на протяжении всего экспериментального периода. Подстилки для животных меняли не реже одного раза в неделю. Они были размещены в группах по 10 животных в течение всего исследования, при нормальном 12-часовом световом цикле (в 20:00 при выключенном свете), $22 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $50 \pm 10\%$.

После периода акклиматизации мышам ($n=20$) взвешивали и рандомизировали на 2 группы однородного лечения в зависимости от массы тела ($n=10$ на группу), назначали диету MCD и проводили лечение перорально BID носителем или MIN-102 в течение 7 недель. Массу тела измеряли 3 раза/неделю до конца экспериментального периода. Через 7 недель диеты/лечения мышам взвешивали и проводили лечение в ~08:00 утра, затем забирали кровь (максимальный объем/EDTA) в ~1:00 пополудни. Затем плазму немедленно выделяли и хранили при -80°C до анализа уровня ALT и AST в плазме. Оставшийся объем плазмы хранили при -80°C для возможного дополнительного анализа.

После забора крови мышам умерщвляли смещением шейных позвонков под изофлурановой анестезией и обескровливали стерильным физиологическим раствором. Печень собирали и взвешивали. Образец печени ~20 мг (зарегистрированный вес) иссекали для уровней общего холестерина и триглицеридов в печени. Образец печени $0,5 \text{ см}^3$ замораживали в изопентане для окрашивания масляным красным O. Образец печени $0,5 \text{ см}^3$ хранили в формалине в течение 24 ч, затем в 70° этаноле при 4°C для окрашивания гематоксилин/эозином, окраска Sirius Red.

Использовали шкалу оценки NAFLD (NAS), адаптированную Kleiner et al. (Hepatology. 41(6):1313-1321 (2005)). Общий балл NAS индивидуальной мыши рассчитывали для каждого животного путем суммирования балла для (1) гепатоцеллюлярного стеатоза, (2) воспаления печени, (3) лобулярного фиброза и (4) баллонирования гепатоцитов. Запасную печень хранили при -80°C для возможного дополнительного анализа.

Данные выражали как среднее $\pm$ SEM. Статистический анализ проводился с использованием теста Манна-Уитни или двухфакторного дисперсионного анализа+пост-теста Бонферрони для сравнения обеих групп. Значение $p < 0,05$ считалось значимым.

Согласно другой модели NASH на мышах (см. Hsiao et al., BMC Mol. Biol. 2008, Sep. 26; 9:92), самцов инбредных мышей C57BL/6, в возрасте 8 недель получали от BioLASCO Technology (Charles River Taiwan

Ltd). Все мыши получали стандартный уход за животными под наблюдением Комитета по содержанию и использованию лабораторных животных (Institutional Animal Care and Use Committee). Мышей содержали в клетках в помещении для содержания животных с кондиционированием при 23°C в течение 12 ч цикла свет:темнота, и они имели свободный доступ к воде и пище. Всех мышей кормили стандартной рацией питания (Basal diet™ 5755, PMI Nutrition International, St. Louis, MO, USA) в течение одной недели. Состав этого основного рациона состоит из 60,6% мас./мас. углеводов (крахмал 43,6% и сахароза 16,9%), 10% жира, 19% белка, 4,3% клетчатки, 5% минеральной смеси и 0,2% витаминной смеси. Затем мышей делили на три группы: (1) основной рацион (n=5); (2) диета с высоким содержанием жира (30%) (n=5) (catalog #7166, PMI Nutrition International, Saint Louis, MO, USA); (3) диета с высоким содержанием жира с MIN-102 (3 дозы). Диета с высоким содержанием жира, основанная на основной диете 5755 (содержит 40,6% углеводов (декстрин 23,6% и сахароза 15%), 15% кукурузное масло, 15% сало, 19% белка, 4,3% клетчатки, 5% минеральной смеси и 0,2% витаминной смеси) обеспечивает 53,1% калорий из кукурузного масла и сала.

В другой модели NASH на мышах (см. Kus et al., PLoS ONE 6(11): e27126 (2011)), самцов мышей C57BL/6N (Charles River Laboratories, Sulzfeld, Germany) содержали при 22°C с 12-часовым циклом дня и ночи (свет с 6:00 утра) со свободным доступом к воде и еде (содержание липидов, 3,4% мас./мас.; экстрадированная Ssniff R/M-H диета; Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Germany). За исключением оценки чувствительности к инсулину у страдающих ожирением от питания, трехмесячным мышам случайным образом назначали (n=8; 2 животных на клетку) диету cHF (содержание липидов 35% мас./мас., в основном кукурузное масло; или следующие "лечение": (i) cHF+MIN-102 (1 доза), cHF+MIN-102 (3 дозы) и cHF+MIN-102 (3 дозы). Во время лечения продолжительностью 8 дней ежедневно распределяли свежий рацион пищи, и потребление пищи и массу тела регистрировали один раз в неделю. Для анализа всех животных в одинаковых условиях питания, мышам не давали есть в течение дня (с 8:00 до 18:00), а затем предоставляли свободный доступ к корму в течение ночи и утром до момента умерщвления животных под пентобарбитальной анестезией (с 9:00 до 11:00). Иссекали печень и икроножную мышцу, выделяли EDTA-плазму и хранили для дальнейшего анализа. Для характеристики влияния лечения на чувствительность к инсулину у мышей с ожирением, проводили отдельный эксперимент, в котором всем животным давали корм cHF в возрасте от 3 до 7 месяцев, и затем распределенным по отдельным клеткам животным случайным образом назначали (n=8) диету cHF, или они получали лечение дозой диеты cHF+MIN-102 в течение 2 недель, т.е. времени, когда проводится тест на толерантность к инсулину. Эксперименты на животных специально одобряли Animal Care and Use Committee of the Institute of Physiology Academy of Sciences of the Czech Republic v.v.i. (номер официального утверждения: 172/2009) и проводили в соответствии с рекомендациями.

Тест на толерантность к инсулину проводили у мышей натошак в течение ночи (пищу убирали между 17:30 и 8:30, т.е. временем начала теста путем инъекции D-глюкозы (1 г/кг массы тела), при котором гликемию оценивали с использованием хвостовых кровотоков непосредственно перед инъекцией (уровень глюкозы в крови натошак на исходном уровне) и в течение 180 минут после инъекции с использованием глюкометров (LifeScan, США). Уровни инсулина также определяют в начале исследования и через 30 мин после введения глюкозы. Индекс НОМА рассчитывали по следующей формуле: инсулин в плазме натошак (мЕд/л) x глюкоза в плазме натошак (ммоль/л)/22,5. Тест на толерантность к инсулину проводили на мышах, не получавших еду в течение 4 ч (пищу удаляли между 7 и 11 ч утра).

Через 0, 15, 30 и 90 мин после в/б инъекции инсулина (0,75 Ед/кг; Actrapid, Novo Nordisk, Denmark), контролировали уровень глюкозы в крови из хвостовой вены.

Как показано в примере 3, противовоспалительный потенциал MIN-102 изучали на модели воспаления, вызванного липополисахаридом ("LPS"). Для этого исследования была выбрана линия клеток моноцитарного лейкоза человека THP-1, поскольку она представляет собой высокодифференцированную моноцитарную линию клеток с фагоцитарными свойствами. Клетки THP-1 могут продуцировать провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, IL-8 и TNF) и хемокины (MCP-1) в ответ на стимуляцию липополисахаридом ("LPS") (026:B6, Sigma).

В тесте на LPS воспаление клетки выращивали в колбах объемом 162 см² в RPMI, дополненной фетальной бычьей сывороткой с максимальной концентрацией 0,8×10⁶ клеток/мл. Клетки с экспоненциальным ростом высевали в 24-луночные планшеты для тканевых культур (0,8×10⁶ клеток/луночку) в бессывороточную среду при 37°C в 5% CO₂ и предварительно инкубировали с возрастающими дозами MIN-102 (от 1 мкМ до 100 мкМ) в течение 1 ч. После этого добавляли 50 нг/мл LPS и инкубировали в течение 4 ч. Время, снятие показаний и концентрацию LPS выбирали на основе предыдущих публикаций (Singh et al., Clinical Chemistry 51(12):2252-2256 (2005)). Супернатанты собирали через 4 ч и хранили в замороженном виде при -20°C до анализа. TNF-альфа количественно определяли во всех супернатантах с помощью ELISA (Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go, eBioscience).

Как показано на фиг. 1, LPS индуцировал секрецию TNF-альфа по сравнению с контрольной группой. MIN-102 ингибировал секрецию этого цитокина при самых высоких испытанных концентрациях (100 и 50 мкМ) и продемонстрировал незначительные эффекты при самых низких испытываемых концентрациях (10, 5 и 1 мкМ). Соответственно, MIN-102 проявляет противовоспалительные эффекты.

Как показано в примере 4, противовоспалительный потенциал MIN-102 изучали с использованием экспериментальной мышинной модели с аутоиммунным энцефалитом ("EAE"). Эта модель нейровоспаления является высоковоспроизводимой и общепринятой моделью рассеянного склероза. Модель основана на индукции аутоиммунной реакции при воздействии на животных антигенов миеллина. Через несколько дней после инокуляции, например через 9-12 дней, у мыши развивается рецидивирующее или хроническое заболевание. Через несколько дней после инокуляции, например через 9-12 дней, у мышей развивается повторно - ремиттирующее или хроническое заболевание. Как показано на фиг. 2, индукция симптомов EAE увеличила уровни нейтрофилов, но лечение MIN-102 снизило уровни нейтрофилов до значений, аналогичных в группе, не получавшей лечения. Как показано в табл. 2, отношение нейтрофилов к лимфоцитам ("NLR") увеличилось в модели EAE и уменьшилось после лечения MIN-102.

Адипонектин представляет собой цитокин, который противодействует избыточному запасу липидов в печени и защищает от воспаления и фиброза (см., например, Buechler et al., *World J. Gastroenterol.* 17(23):2801-2811 (2011)). У пациентов с NASH рецепторы адипонектина в печени уменьшены (см., например, Kaser et al., *Gut* 54(1):117-121 (2005)). Кроме того, у мышей, нокаутированных по адипонектину, развивается более обширный фиброз печени по сравнению с животными дикого типа, тогда как опосредованная аденовирусом сверхэкспрессия адипонектина ослабляет повреждение печени у мышей дикого типа (см., например, Kamada et al., *Gastroenterology* 125 (6):1796-1807 (2003)). Как показано в примере 5 и на фиг. 3, лечение MIN-102 значительно увеличивало уровни адипонектина. Соответственно, из данных можно сделать вывод, что, поскольку лечение MIN-102 значительно повышает уровни адипонектина, MIN-102 также может исправить дефицит адипонектина, наблюдаемый у пациентов с NASH.

Как показано в примере 6, профилактический эффект MIN-102 оценивали на мышинной модели NASH с диетой с дефицитом метионина и холина (MCD). Результаты этого исследования демонстрируют сильное уменьшение стеатоза и воспаления печени у мышей с MCD, получавших лечение MIN-102. Как показано на фиг. 4, мыши, получавшие лечение MIN-102, показали менее выраженное уменьшение потери массы тела.

Фиг. 5A и 5B показывают, что лечение MIN-102 существенно уменьшало уровни ALT и ALS в плазме. Фиг. 6A и 6B показывают, что MIN-102 не изменяет уровни холестерина в печени, но показывает резкое снижение уровня триглицеридов в печени. На фиг. 7 и 8 показано сильное снижение оценки NAFLD и оценки NAS, соответственно, для мышей, получавших лечение MIN-102.

Как обсуждалось в примере 7, у людей MIN-102 имеет меньшую вариабельность воздействия, чем пиоглитазон, и, следовательно, меньший риск для пациентов связан с лечением MIN-102.

Фармацевтические композиции и использование в качестве лекарственного средства.

Соединение по настоящему изобретению, можно вводить любым подходящим путем введения. Например, любой из перорального, интраорального, местного, кожного, подкожного, трансдермального, внутримышечного, парентерального, глазного, ректального, вагинального, ингаляционного, буккального, сублингвального и интраназального путей доставки может быть подходящим. Настоящее изобретение также относится к применению соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли при изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики NAFLD. В одном варианте осуществления, NAFLD представляет собой NASH. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания, выбранного из группы, состоящей из хронического гранулематозного заболевания, синдрома поликистозных яичников, рака щитовидной железы, аутоиммунного заболевания щитовидной железы, аденомы гипофиза, атеросклероза, гипертензии, кожного заболевания, воспалительного и аутоиммунного заболевания, и воспалительного заболевания органов дыхания.

В одном варианте осуществления, соединения изобретения могут быть введены перорально. Пероральные формы фармацевтических композиций могут быть твердыми или жидкими. Подходящие пероральные лекарственные формы включают таблетки, капсулы, пилюли, гранулы, суспензии, эмульсии, сиропы или растворы. Фармацевтические композиции могут быть в твердой форме, выбранной, например, из таблеток, капсул, пилюль или гранул. В варианте осуществления пероральная форма представляет собой таблетку. В другом варианте осуществления пероральная форма представляет собой пероральный раствор или суспензию. Они являются удобными, когда пациент испытывает затруднения при глотании, например, в результате заболевания, или для использования у пожилых людей и в педиатрии. Сублингвальные препараты также являются подходящими.

Количество, которое является "эффективным", будет варьироваться от субъекта к субъекту в зависимости от возраста и общего состояния индивидуума, конкретного активного агента или агентов и тому подобного. Таким образом, не всегда возможно указать точное "эффективное количество". Однако соответствующее "эффективное" количество в любом отдельном случае может быть определено специалистом в данной области с использованием рутинных процедур. Таким образом, доза активного агента будет зависеть от природы и степени состояния, возраста и состояния пациента и других факторов, известных специалистам в данной области. Типичная суточная доза составляет от 0,1 до 200 мг, например от 20 до 200 мг, например, для взрослого - 10-100 мг, вводимого в виде однократной дозы без дополнительной

дозы или в виде нескольких доз, например от одного до трех раз в день. Соединения, описанные в настоящем документе, могут также вводиться в суточных дозах от 80 до 600 мг.

Фармацевтические композиции могут содержать обычные эксципиенты, известные в данной области, и могут быть получены обычными способами. Конкретное соединение или смесь соединений могут быть выбраны для конкретного пути доставки. Некоторые соединения или смеси соединений также могут быть подходящими на основе их использования для лечения NAFLD и NASH.

Пероральные лекарственные формы могут быть получены путем объединения одного или нескольких соединений по настоящему изобретению в однородной смеси с по меньшей мере одним эксципиентом в соответствии с общепринятыми методиками получения фармацевтических препаратов. Эксципиенты могут иметь самые разнообразные формы в зависимости от формы композиции, желаемой для введения. Например, эксципиенты, подходящие для применения в пероральных жидких или аэрозольных лекарственных формах, включают, но не ограничиваются ими, воду, гликоли, масла, спирты, ароматизаторы, консерванты и красители. Примеры эксципиентов, подходящих для использования в твердых пероральных лекарственных формах (например, порошки, таблетки, капсулы и каплеты), включают, но не ограничиваются ими, крахмалы, сахара, микрокристаллическую целлюлозу, каолин, разбавители, гранулирующие агенты, смазывающие вещества, связующие вещества, стабилизаторы и разрыхлители.

Благодаря простоте их введения таблетки, каплеты и капсулы (такие как твердые желатиновые, НРМС или крахмальные капсулы) представляют собой вариант твердых пероральных единичных дозированных форм, в этом случае используются твердые фармацевтические эксципиенты. При желании таблетки или капсулы могут быть покрыты оболочкой стандартными водными или неводными способами. Эти лекарственные формы можно получить любым из методов в фармации. Обычно, фармацевтические композиции и лекарственные формы получают путем равномерного и тщательного смешивания одного или нескольких соединений по настоящему изобретению с жидкими носителями, тонкоизмельченными твердыми носителями или обоими, и затем, при необходимости, придают продукту нужную форму.

Например, таблетку можно получить прессованием или формованием. Прессованные таблетки можно получить прессованием на подходящей установке одного или нескольких соединений по изобретению в сыпучей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанных с одним или несколькими эксципиентами. Формованные таблетки можно получить путем формования на соответствующей установке смеси порошкообразного соединения, увлажненного инертным жидким разбавителем.

Примеры

Способы лечения или профилактики и использования, описанные в настоящем документе, теперь далее подробно изложены со ссылкой на следующие примеры. Эти примеры приведены только с целью иллюстрации, и варианты осуществления, описанные в настоящем документе, никоим образом не следует истолковывать как ограниченные этими примерами. Скорее, варианты осуществления должны быть истолкованы как охватывающие любые и все варианты, которые становятся очевидными в результате идеи, представленной в настоящем документе.

Пример 1. Оценка гиперплазии эпителия мочевого пузыря в ткани крысы.

Образцы ткани от обработанных крыс или пиоглиптоном (две дозы 14,5 и 145 мг/кг/день), или MIN-102 (25, 100 и 150 мг/кг/день) подвергали обычной обработке, фиксировали в 10% забуференном формалине и помещали в парафин и окрашивали гематоксилином и эозином.

Срезы ткани уротелия мочевого пузыря от крыс, получавших MIN-102, пиоглиптоном или плацебо, наблюдали в отношении гиперплазии, цитотоксичности и некроза с помощью световой микроскопии экспертом-патологом и классифицировали как без гиперплазии, легкую, среднюю и тяжелую гиперплазию.

Гиперплазия эпителия, которая является прогностическим маркером возможного риска рака мочевого пузыря, наблюдали только в группе пиоглиптона (см. Suzuki et al., Toxicological Sciences 113(2):349-357 (2010)).

Пример 2. Ингибирование CYP и индукция MIN-102.

Как показано в табл. 1, обратимое и зависящее от времени ингибирование (TDI) MIN-102 в отношении основных ферментов цитохрома P450 (CYP), метаболизирующих лекарственные средства, было исследовано для оценки потенциальных межлекарственных взаимодействий MIN-102.

Ингибирование осуществляли с использованием инкубационной смеси со CYP специфическими субстратами для восьми основных ферментов CYP, метаболизирующих лекарственные средства (CYP 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 и 3A4) при инкубациях с пулом микросом печени человека. При обратимом ингибировании MIN-102 инкубировали с буферной смесью, микросомами, кофактором NADPH и CYP-специфической субстратной коктейльной смесью в течение 15 мин. В исследовании TDI буфер и микросомы предварительно инкубировали с MIN-102 в присутствии и в отсутствие кофактора NADPH в течение 0 или 30 мин, чтобы выяснить возможную зависимость ингибирования от времени. Вторичную инкубацию проводили с CYP-специфической субстратной коктейльной смесью в течение 30 мин. MIN-102 использовали в конечных концентрациях 0,01, 0,1, 1, 10 и 100 мкМ в обоих анализах.

Таблица 1. Ингибирование CYP

фермент	Реакция	IC ₅₀ (мкМ)	предварительный K _i (мкМ)
CYP1A2	ACET	>>100	–
CYP2A6	7OH-COU	>>100	–
CYP2B6	OH-BUP	>>100	–
CYP2C8	OH-REPA	102*	84
CYP2C9	OH-DICL	103*	52
CYP2C19	5-OH-OME	>>100	–
	dem-OME	>>100	–
CYP2D6	O-dem-DEX	>>100	–
CYP3A4	1-OH-MDZ	>>100	–
	6β-OH-TES	>>100	–
	3-OH-OME	>>100	–
	SO-OME	>>100	–

MIN-102 не вызывал заметного обратимого или зависящего от времени ингибирования по отношению к основным ферментам CYP при концентрациях *in vitro* 100 мкМ или ниже.

Эти данные отличались от данных по пиоглинтану. Пиоглинтан (см. таблицы из Sahi et al., Drug Metabolism and Disposition 31(4):439-446 (2003)) демонстрирует IC₅₀ для 2C8 9,38 мкМ с K_i 1,69 мкМ; и для 3A4 12,3 мкМ и с K_i 11,8.

Пиоглинтан, по-видимому, является ингибитором этих CYP, а также интенсивно метаболизируется CYP2C8 до MIN-102. Однако MIN-102 не проявляет сильного ингибирования CYP2C8 или CYP3A4.

Полученные данные не показали, что MIN-102 является сильным индуктором CYP1A2, CYP2B6, или CYP3A4 при испытанных концентрациях. Однако незначительный сигнал индукции при самой высокой протестированной концентрации MIN-102 (50 мкМ) позволяет предположить, что нельзя исключать индукцию при более высоких концентрациях. MIN-102 чище пиоглинтана в качестве потенциального индуктора CYP.

Активность индукции MIN-102 при пяти концентрациях в диапазоне от 0,1 до 50 мкМ по отношению к ферментам CYP человека 1A2, 2B6 и 3A4 при уровне мРНК и активности фермента изучали в криоконсервированных гепатоцитах от 3 доноров человека. Стабильность MIN-102 в инкубационной среде анализировали параллельно при самой высокой тестируемой концентрации (50 мкМ) и количественно определяли в инкубационной среде.

Незначительная, менее 20% соответствующей индукции положительного контроля, увеличение в CYP3A4 мРНК и активности CYP1A2, CYP2B6 и CYP3A4 зондовых реакций наблюдали при самой высокой концентрации MIN-102 (50 мкМ). Таким образом, полученные данные не указывают на то, что MIN-102 является сильным индуктором CYP1A2, CYP2B6 или CYP3A4 при протестированных концентрациях.

Основываясь на экспериментах по стабильности, MIN-102 в концентрации 50 мкМ оставался стабильным в течение 24-часовой инкубации, что не дает оснований предполагать, что распад MIN-102 во время инкубации повлиял бы на оценку индукционного потенциала MIN 102.

Напротив, пиоглинтан в аналогичном анализе индуцировал больше в 4,79 раза при 10 мкМ в CYP3A4 и 2,35 при 50 мкМ в CYPB6, что составляет >20% индукции положительных контролей.

Пример 3. MIN-102 показывает противовоспалительные эффекты в модели воспаления, вызванного липополисахаридом *in vitro*.

Клетки THP-1 моноцитарного лейкоза человека были получены из Американской коллекции типовых культур. Клетки поддерживали в среде RPMI-1640 с 11,1 ммоль/л глюкозы, 0,05 ммоль/л меркаптоэтанол, 100 мл/л или 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 2 ммоль/л глутамина.

Для этого исследования была выбрана линия клеток моноцитарного лейкоза человека THP-1, поскольку она представляет собой высокодифференцированную линию моноцитарных клеток с фагоцитарными свойствами. Клеточная линия THP-1 была использована в этой модели *in vitro*, а не человеческих моноцитов, для минимизирования изменчивости.

Клетки выращивали в колбах объемом 162 см² в RPMI, дополненной фетальной бычьей сыворотки с максимальной концентрацией 0,8×10⁶ клеток/мл. Клетки с экспоненциальным ростом высевали в 24-луночные планшеты для тканевых культур (0,8×10⁶ клеток/луночку) в бессывороточной среде при 37°C в 5% CO₂ и предварительно инкубировали с увеличивающимися дозами MIN-102 (от 1 мкМ до 100 мкМ) в течение 1 ч. После этого добавляли 50 нг/мл LPS и инкубировали в течение 4 ч. Время, снятие показаний и концентрацию LPS выбирали на основе предыдущих публикаций (Singh et al., Clinical Chemistry 51(12):2252-2256 (2005)). Супернатанты собирали через 4 ч и хранили замороженными при -20°C до анализа. TNF-альфа количественно определяли во всех супернатантах с помощью ELISA (Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go, eBioscience). Диапазон калибраторов TNF-альфа составлял 0-500 нг/л. Данные

представлены как среднее значение+стандартная ошибка среднего значения трех повторяющихся лунок на обработку. Данные были статистически проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим апостериорным критерием Бонферрони в сравнении с контроль+LPS обработка (*, $p<0,05$; ***, $p<0,001$).

Как показано на фиг. 1, LPS индуцировал секрецию TNF-альфа по сравнению с контрольной группой. MIN-102 ингибировал секрецию этого цитокина при самых высоких испытанных концентрациях (100 и 50 мкМ) и демонстрировал незначительные эффекты при самых низких испытанных концентрациях (10, 5 и 1 мкМ). Соответственно, MIN-102 проявляет противовоспалительные эффекты.

Пример 4. MIN-102 проявляет противовоспалительные свойства в экспериментальной мышинной модели с аутоиммунным энцефалитом ("EAE").

Противовоспалительный потенциал MIN-102 изучали на мышинной модели EAE, например как описано в Linker and Lee, *Experimental & Translational Stroke Medicine* 1:5 (2009). Эта модель нейровоспаления является высоковоспроизводимой и общепринятой моделью рассеянного склероза. Модель основана на индукции аутоиммунной реакции при воздействии на животных антигенов миеллина. Через несколько дней после инокуляции, например через 9-12 дней, у мышей развивается возвратно-ремиттирующее или хроническое заболевание.

В этом исследовании самки мышей C57B1/6 были сенсibilизированы путем подкожной инъекции пептидного фрагмента миелинового олигодендроцитарного гликопротеина 35-55 (MOG35-55) в полном адьюванте Фрейнда (CFA) в основание хвоста. Начиная с пятого дня после индукции заболевания, животных лечили тремя различными пероральными дозами MIN-102, 17, 50 и 125 мг/кг/день с использованием введения bid. С пятого дня животных взвешивали и оценивали на предмет появления симптомов заболевания. Уровни нейтрофилов измеряли у мышей не получавших лечения, получавших носитель и самую высокую дозу MIN-102. Данные анализировали с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим апостериорным критерием Бонферрони по сравнению с группой носителя (*, $p<0,05$). Результаты представлены в виде среднего значения+стандартная ошибка среднего значения $n=10$, за исключением $n=9$ для самой высокой дозы MIN-102 и $n=4$ группы, не получавшей лечение.

Таблица 2

Отношение нейтрофилов к лимфоцитам («NRL») в EAE				
		Количество	Количество	Отношение
		нейтрофилов	лимфоцитов	N/L
		$\times 10^3$	$\times 10^3$	
		клеток/мкл	клеток/мкл	
не	получавшие	1,1 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 1,1	0,24
лечение				
Мыши с EAE		5,7 $\pm$ 3	4,7 $\pm$ 1,2	1,21
Мыши с EAE+ самая		1,9 $\pm$ 0,6	3,6 $\pm$ 2,3	0,52
высокая	доза			
MIN-102				

Как показано на фиг. 2, после индукции симптомов EAE уровни нейтрофилов увеличились, но лечение MIN-102 уменьшило числа до значений, аналогичных в группе, не получавшей лечения. Как показано в табл. 2, отношение нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) увеличилось в модели EAE и уменьшилось после лечения MIN-102.

Поскольку NLR увеличивается как в модели EAE, так и у пациентов с NASH (см., например, Alkhoury et al., *Liver Int.* 32(2):297-302 (2012)), на основании данных можно сделать вывод, что NLR у пациентов с NASH также может быть снижено после лечения MIN-102. Соответственно, ожидается, что MIN-102 может эффективно лечить NASH путем уменьшения NRL.

Пример 5. MIN-102 значительно повышает уровни адипонектина в плазме.

Рецепторы адипонектина в печени снижаются у пациентов с NASH и у мышей с нокаутированным геном адипонектина развивается более выраженный фиброз печени по сравнению с животными дикого типа, тогда как аденовирус-опосредованная сверхэкспрессия адипонектина ослабляет повреждение печени у мышей дикого типа, (см., например, Kamada et al., *Gastroenterology* 125:1796-1807 (2003)).

Участие PPAR в центральной нервной системе проводили у крыс Sprague Dawley дикого типа. Крыс лечили в течение 7 дней возрастающими дозами MIN-102 при 54 мг/кг/день. Плазму получали через 1 ч после последнего введения MIN-102. Уровни адипонектина измеряли методом ELISA. Результаты были представлены как среднее значение+стандартная ошибка среднего значения $n=8$. Данные анализировали с помощью критерия Краскела-Уоллиса с последующим апостериорным тестом Данна по сравнению с группой носителя (****, $p<0,0001$).

Как показано на фиг. 3, лечение MIN-102 значительно увеличило уровни адипонектина. Соответственно, на основании этих данных можно сделать вывод, что, поскольку лечение MIN-102 значительно повышает уровни адипонектина, MIN-102 также может исправить дефицит адипонектина, наблюдаемый у пациентов с NASH.

Пример 6. Эффекты MIN-102 у мышей на диете с дефицитом метионина и холина.

Профилактические эффекты MIN-102 оценивали при 7-недельной диете с дефицитом метионина и холина (MCD) на мышинной модели NASH (Verdelho Machado et al.). После периода акклиматизации самцов мышей C57BL6/J (n=20) взвешивали и рандомизировали в 2 группы однородного лечения в зависимости от массы тела (n=10 на группу), сажали на диету MCD и вводили перорально BID носитель или MIN-102 в течение 7 недель.

MIN-102 дозировали 62,5 мг/кг BID перорально через желудочный зонд.

Когда мыши C57BL6/J получали диету MCD, у них быстро развивался стеатоз печени, воспаление и фиброз с сопутствующим увеличением уровней аланин-трансаминазы (ALT)/аспартат-аминотрансферазы (AST) в плазме.

Материал и способы.

После периода акклиматизации самцов мышей C57BL6/J (n=20) взвешивали и рандомизировали на 2 группы однородного лечения в зависимости от массы тела (n=10 на группу), назначали диету MCD и проводили лечение перорально BID носителем или MIN-102 (125 мг/кг/день) в течение 7 недель. Массу тела измеряли 3 раза/неделю до конца экспериментального периода.

Через 7 недель диеты/лечения мышей взвешивали и проводили лечение в ~08:00 утра, затем забирали кровь (максимальный объем/EDTA) в ~1:00 пополудни. Затем плазму немедленно выделяли и хранили при -80°C до анализа уровня ALT и AST в плазме. Оставшийся объем плазмы хранили при -80°C для возможного дополнительного анализа.

После забора крови мышей умерщвляли смещением шейных позвонков под изофлурановой анестезией и обескровливали стерильным физиологическим раствором.

Шкала оценки NAFLD (NAS), адаптированная из Kleiner et al. (Hepatology. 41 (6):1313-1321 (2005)), использующая критерии, описанные в табл. 3 ниже.

Таблица 3. Шкала оценки NAFLD ("NAS")

Балл	Стеатоз	Воспаление	Фиброз	Баллонирование гепатоцитов
0	<5% паренхимы печени	Нет очага	отсутствует	отсутствует
1	5-33% паренхимы печени	<2 очагов при 20х поле зрения	Фиброз в 3 зоне и/или перисинусоидальный фиброз	среднее до легкой степени поражения, включающий менее 3 гепатоцитов в очаге
2	34-66% паренхимы печени	2-4 очага при 20х поле зрения	Как стадия 1 и портальный фиброз	умеренное мультифокальное, включающее более 3 гепатоцитов на очаг
3	>66% паренхимы печени	>4 очагов при 20х поле зрения	Как стадия 2 и мостовидный фиброз	Выраженное мультифокальное, включающее большое количество гепатоцитов в очагах
4	не подлежит	не подлежит	цирроз печени	не подлежит

Несколько других гистопатологических наблюдений, описанных в клинических случаях на людях и первоначально приведенных в шкале оценки NAS, опубликованной Kleiner et al. не были обнаружены в этом исследовании на животных, такие как липогранулема, ацидофильные тела, мегамитохондрии и пигментированные макрофаги. Поэтому было решено не включать их в описанную выше систему подсчета баллов. Общий балл NAS индивидуальной мыши рассчитывали для каждого животного путем суммирования балла для (1) гепатоцеллюлярного стеатоза, (2) воспаления печени, (3) лобулярного фиброза и (4) баллонирования гепатоцитов.

Результаты.

Как и ожидалось, мыши на диете MCD показали существенную потерю массы тела. Однако, как показано на фиг. 4, у мышей, получавших MIN-102, наблюдалось менее выраженное снижение потери массы тела с 14 по 50 день, что приводило к значительным различиям между 30 и 50 днем.

Как и ожидалось, диета MCD приводила к очень высоким уровням ALT и AST в плазме (средние

значения 480 и 455 Ед/л соответственно) в конце лечения. На фиг. 5А и 5В показано, что лечение MIN-102 существенно снижало уровни ALT и AST в плазме на 78 и 55%, соответственно (оба значения $p < 0,01$ по сравнению с носителем).

Как показано на фиг. 6А и 6В, мыши, получавшие лечение MIN-102, не показали изменения в уровнях холестерина в печени, но показывает резкое снижение уровней триглицеридов в печени на 92% ($p < 0,001$ по сравнению с носителем).

Гистологический анализ проводили (окрашивание масляный красный О, H&E и Sirius Red) для шкалы оценки NAFLD (NAS) для стеатоза печени, воспаления, фиброза и баллонирования гепатоцитов, показанной на фиг. 7.

Средний балл по группам NAS составлял $3,40 \pm 0,3$ и $0,44 \pm 0,1$ с носителем и MIN-102, соответственно ($p < 0,001$ vs. носителем) (фиг. 8). Сильное снижение показателя NAS было связано со сниженным показателем стеатоза ($p < 0,001$ vs. носителем), что было подтверждено чрезвычайно низким процентом окрашивания масляным красным О по сравнению с носителем ($p < 0,001$) и полным исчезновением воспаления.

В заключение, настоящее исследование демонстрирует сильное уменьшение стеатоза и воспаления печени у мышей с MCD, получавших лечение MIN-102.

Пример 7. Сравнение вариабельности (CV %) в фармакокинетических параметрах AUC (площадь под кривой, экспозиция) в нг.ч/мл между лечением пиоглитазоном и MIN-102 у здоровых добровольцев.

Согласно недавней публикации, пиоглитазон является безопасным и эффективным способом лечения пациентов с диабетом 2 типа и неалкогольным стеатогепатитом (NASH) (Kawaguchi-Suzuki et al., Aliment. Pharmacol. Ther. 46(1);56-61 (2017)). Однако, как указано в этой публикации, наблюдается заметная вариабельность ответа на лечение. Kawaguchi-Suzuki et al. описывают, что ответ на пиоглитазон у пациентов с NASH является концентрация-зависимым, о чем свидетельствует значительная взаимосвязь между концентрацией пиоглитазона и индексом экспозиции пиоглитазона с изменениями NAS ($r = .48$, $P = .0002$ и $r = .51$, $P < .0001$, соответственно), стеатоза ($r = .41$, $P = .002$ и $r = .46$, $P = .0005$) и воспаления ($r = .44$, $P = .0009$ и $r = .40$, $P = .0003$).

Индекс экспозиции пиоглитазона также был связан с изменением баллонирования ($P = .04$). Индекс экспозиции пиоглитазона был выше у пациентов с NASH регрессией (2.85 ± 1.38 vs 1.78 ± 1.48 , $P = .018$). Авторы разработали прогностическую модель для первичного исхода, которая включала базовый NAS и индекс экспозиции пиоглитазона (AUC (площадь под кривой) = 0,77). Из-за PK вариабельности пиоглитазон оказался неэффективным у всех пациентов с NASH, и более высокие дозы потребуются для обеспечения его эффективности у всех пациентов с NASH, получавших лечение. Более высокие дозы пиоглитазона увеличат риск развития побочных эффектов.

Eckland et al. and Christensen et al. сообщают, что вариабельность (CV%; коэффициент вариации) в клиренсе пиоглитазона обычно составляет около 40-50% (табл. 4), что дает диапазон экспозиции (AUC), который составляет до 10 раз (Eckland et al., Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes 108 (Suppl. 2):S234-S242 (2000); Christensen et al., J. Clin. Pharmacol. 45:1137-1144 (2005)).

Таблица 4. Данные пиоглитазона из 3 исследований
(a, b, c) на здоровых субъектах и оценка однократной пероральной дозы 45 мг, представленная как среднее $\pm$ SD

исследование	AUC $0-\infty$ (нг.ч/мл)		
	среднее	SD (стандартное отклонение)	CV %
a	13854	4996	35
b	14458	7434	51
c	14071	5727	40

Напротив, вариабельность после введения MIN-102 в сопоставимых условиях у здоровых добровольцев демонстрирует гораздо меньшую вариабельность с CV% между 10-20% (табл. 5). Таким образом, лечение MIN-102 могло бы быть более предсказуемым в достижении эффективных доз, требующих меньших корректировок, чем лечение пиоглитазоном, и, следовательно, включало бы меньший риск в вопросах потенциальной безопасности из-за высоких доз.

Таблица 5. CV% MIN-102 из исследования (SAD)
у здоровых субъектов и оцененная в однократных пероральных дозах 30, 90 и 270 мг

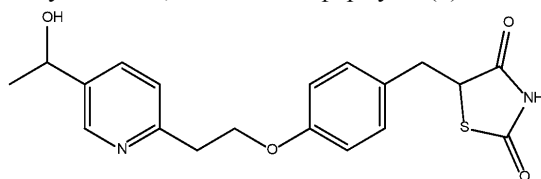
Доза MIN-102 мг	CV %
30	9,00
90	9,00
270	18,00

После введения MIN-102 значение $AUC_{0-\infty}$ при различных испытанных дозах MIN-102 значительно

выше, чем при введении сопоставимой дозы пиоглитазона. Некоторые дозы могут обеспечить $AUC_{0-\infty}$ в диапазоне примерно 20000-400000 нг.ч/мл.

Изобретение также относится к:

1) способу лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, соединения формулы (1)



(1)

или его фармацевтически приемлемой соли в количестве, эффективном для лечения или профилактики неалкогольной жировой болезни печени;

2) способу по п.1, где неалкогольная жировая болезнь печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит;

3) способу по любому из пп.1-2, где соединение формулы (1) выбрано из группы, состоящей из:

(2) (R)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона,

(3) (R)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона,

(4) (S)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона,

или

(5) (S)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона,

или его фармацевтически приемлемой соли;

4) способу по п.3, включающему введение смеси двух или более соединений, выбранных из группы, состоящей из соединения (2), соединения (3), соединения (4) и соединения (5), или их фармацевтически приемлемой соли, где смесь является оптически активной;

5) способу по п.4, где смесь включает:

(a) соединение (2) и соединение (3),

(b) соединение (4) и соединение (5),

(c) соединение (2) и соединение (4), и

(d) соединение (3) и соединение (5), или их фармацевтически приемлемые соли;

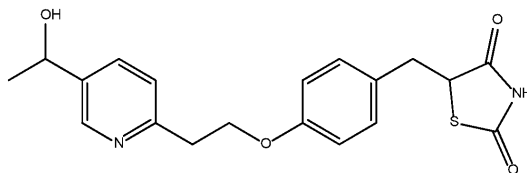
6) способу по любому из пп.1-5, где не более 1% от общего количества атомов водорода на моль соединения формулы (1) находятся в форме изотопа ^2H ;

7) способу по любому из пп.1-6, где соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль вводят субъекту в виде пероральной, интраоральной, местной, надкожной, подкожной, трансдермальной, внутримышечной, парентеральной, глазной, ректальной, вагинальной, ингаляционной, буккальной, сублингвальной или интраназальной лекарственной формы;

8) способу по п.7, где лекарственная форма представляет собой пероральную лекарственную форму;

9) способу по п.8, где пероральная лекарственная форма представляет собой пероральный раствор или пероральную суспензию;

10) применению соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени



(1).

11) применению по п.10, где неалкогольная жировая болезнь печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит;

12) применению по любому из пп.10-11, где соединение формулы (1) представляет собой:

(2) (R)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион,

(3) (R)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион,

(4) (S)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион, и

(5) (S)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион,

или его фармацевтически приемлемая соль;

13) применению по любому из пп.10-12, где не более 1% от общего количества атомов водорода на моль соединения формулы (1) находятся в форме изотопа ^2H ;

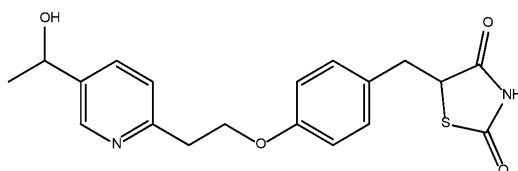
14) применению смеси двух или более соединений, выбранных из группы, состоящей из соединения

(2), соединения (3), соединения (4) и соединения (5), как определено в п.10, или их фармацевтически приемлемой соли, для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени, где смесь является оптически активной;

15) применению по п.14, где указанная смесь включает:

- (a) соединение (2) и соединение (3),
- (b) соединение (4) и соединение (5),
- (c) соединение (2) и соединение (4), и
- (d) соединение (3) и соединение (5), или их фармацевтически приемлемую соль;

16) применению соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли при изготовлении лекарственного средства для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени



(1).

17) применению по п.16, где неалкогольная жировая болезнь печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит;

18) Применению по любому из пп.16-17, где соединение формулы (1) представляет собой:

- (2) (R)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион,
- (3) (R)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион,
- (4) (S)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион,

или

- (5) (S)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион,
- или его фармацевтически приемлемую соль;

19) применению по п.18, где указанное лекарственное средство включает смесь двух или более соединений, выбранных из группы, состоящей из соединения (2), соединения (3), соединения (4) и соединения (5), где смесь является оптически активной;

20) применению по п.19, где смесь включает:

- (a) соединение (2) и соединение (3),
- (b) соединение (4) и соединение (5),
- (c) соединение (2) и соединение (4), и
- (d) соединение (3) и соединение (5), или их фармацевтически приемлемую соль.

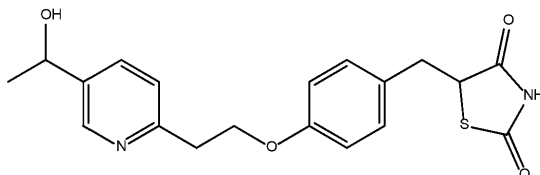
Теперь, после полного описания этого изобретения, специалистам в данной области техники будет понятно, что то же самое можно выполнить в широком и эквивалентном диапазоне условий, составов и других параметров, не влияя на объем изобретения или любой его вариант осуществления.

Другие варианты осуществления изобретения будут очевидны для специалистов в данной области техники из рассмотрения описания и практики изобретения, раскрытого в настоящем документе. Предполагается, что описание и примеры будут рассматриваться только в качестве примера, с истинным объемом и сущностью изобретения, указанными в прилагаемой формуле изобретения.

Все патенты, патентные заявки и публикации, процитированные в настоящем документе, полностью включены в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени



(1).

2. Применение по п.1, где неалкогольная жировая болезнь печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит.

3. Применение по любому из пп.1-2, где соединение формулы (1) представляет собой:

- (2) (R)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;
- (3) (R)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;

(4) (S)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;
или

(5) (S)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;
или его фармацевтически приемлемой соли.

4. Применение по любому из пп.1-3, где не более 1% от общего количества атомов водорода на моль соединения формулы (1) находится в форме изотопа ^2H .

5. Применение смеси двух или более соединений, выбранных из группы, состоящей из соединения (2), соединения (3), соединения (4) и соединения (5), как определено в п.3, или его фармацевтически приемлемой соли, для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени, где смесь является оптически активной.

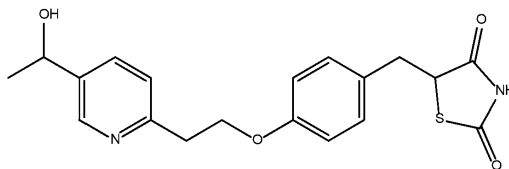
6. Применение по п.5, где указанная смесь включает:

- (a) соединение (2) и соединение (3);
- (b) соединение (4) и соединение (5);
- (c) соединение (2) и соединение (4); или
- (d) соединение (3) и соединение (5),

или фармацевтически приемлемую соль такого соединения.

7. Применение смеси соединения (2), соединения (3), соединения (4) и соединения (5), как определено в п.3, или его фармацевтически приемлемой соли, для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени, где смесь включает каждое соединение в количестве $25 \pm 5\%$ мас./мас.

8. Способ лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, соединения формулы (1),



(1).

или его фармацевтически приемлемой соли, в количестве, эффективном для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени.

9. Способ по п.8, где неалкогольная жировая болезнь печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит.

10. Способ по п.8 или 9, где соединение формулы (1) выбрано из группы, состоящей из:

- (2) (R)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона;
- (3) (R)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона;
- (4) (S)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона;

и

(5) (S)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-диона;
или его фармацевтически приемлемой соли.

11. Способ по п.10, включающий введение смеси двух или более соединений, выбранных из группы, состоящей из соединения (2), соединения (3), соединения (4) и соединения (5), или его фармацевтически приемлемой соли, где смесь является оптически активной.

12. Способ по п.11, где смесь включает:

- (a) соединение (2) и соединение (3);
- (b) соединение (4) и соединение (5);
- (c) соединение (2) и соединение (4); или
- (d) соединение (3) и соединение (5),

или фармацевтически приемлемую соль такого соединения.

13. Способ по п.10, включающий введение смеси, включающей каждое соединение (2), соединение (3), соединение (4) и соединение (5) в количестве $25 \pm 5\%$ мас./мас.

14. Способ по любому из пп.8-13, где не более 1% от общего количества атомов водорода на моль соединения формулы (1) находятся в форме изотопа ^2H .

15. Способ по любому из пп.8-14, где соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль вводят субъекту в виде пероральной, интраоральной, местной, кожной, подкожной, трансдермальной, внутримышечной, парентеральной, глазной, ректальной, вагинальной, ингаляционной, буккальной, сублингвальной или интраназальной лекарственной формы.

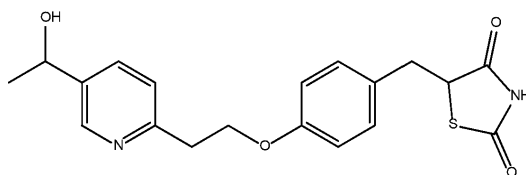
16. Способ по п.15, где лекарственная форма представляет собой пероральную лекарственную форму.

17. Способ по п.16, где пероральная лекарственная форма является твердой.

18. Способ по п.17, где пероральная твердая лекарственная форма представляет собой таблетку, капсулу, пилюлю или множество гранул.

19. Способ по п.16, где пероральная лекарственная форма представляет собой пероральный раствор или пероральную суспензию.

20. Применение соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли для изготовления лекарственного средства для лечения или предупреждения неалкогольной жировой болезни печени



(1).

21. Применение по п.20, где неалкогольная жировая болезнь печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит.

22. Применение по п.20 или 21, где соединение формулы (1) представляет собой:

(2) (R)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;

(3) (R)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;

(4) (S)-5-[[4-[2-[5-(R)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;

или

(5) (S)-5-[[4-[2-[5-(S)-(1-гидроксиэтил)пиридин-2-ил]этокси]фенил]метил]-1,3-тиазолидин-2,4-дион;

или его фармацевтически приемлемой соли.

23. Применение по любому из пп.20-22, где не более 1% от общего количества атомов водорода на моль соединения формулы (1) находятся в форме изотопа ^2H .

24. Применение по п.22 или 23, где указанное лекарственное средство включает смесь двух или более соединений, выбранных из группы, состоящей из соединения (2), соединения (3), соединения (4) и соединения (5), или его фармацевтически приемлемой соли, где смесь является оптически активной.

25. Применение по п.24, где указанная смесь включает:

(a) соединение (2) и соединение (3);

(b) соединение (4) и соединение (5);

(c) соединение (2) и соединение (4); или

(d) соединение (3) и соединение (5),

или фармацевтически приемлемую соль такого соединения.

26. Применение по п.22 или 23, где указанное лекарственное средство включает смесь каждого соединения (2), соединения (3), соединения (4) и соединения (5), или его фармацевтически приемлемой соли, в количестве $25 \pm 5\%$ мас./мас.

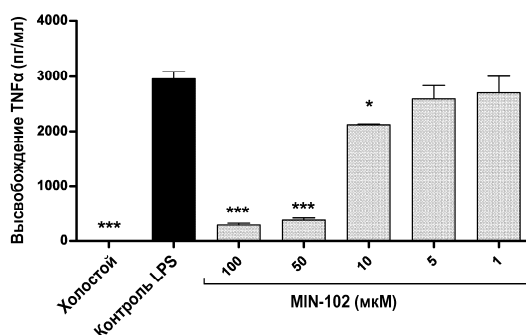
27. Применение по любому из пп.20-26, где указанное лекарственное средство составлено в виде пероральной, интраоральной, местной, подкожной, трансдермальной, внутримышечной, парентеральной, глазной, ректальной, вагинальной, ингаляционной, буккальной, сублингвальной или интраназальной лекарственной формы.

28. Применение по п.27, где лекарственная форма представляет собой пероральную лекарственную форму.

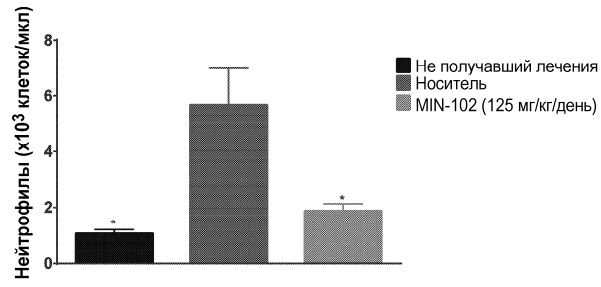
29. Применение по п.28, где пероральная лекарственная форма является твердой.

30. Применение по п.29, где пероральная твердая лекарственная форма представляет собой таблетку, капсулу, пилюлю или множество гранул.

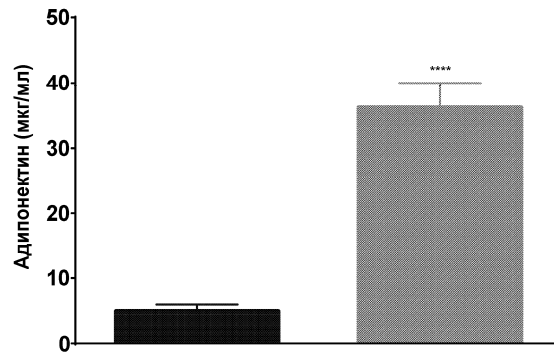
31. Применение по п.28, где пероральная лекарственная форма представляет собой пероральный раствор или пероральную суспензию.



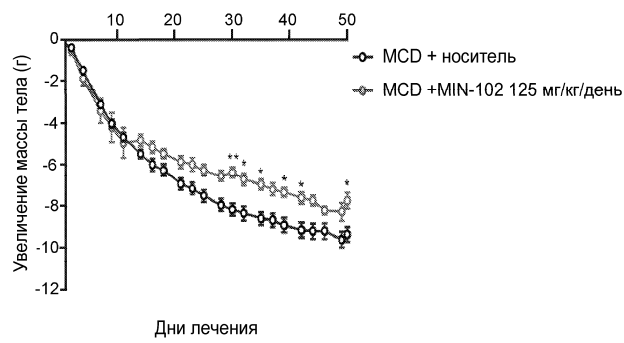
Фиг. 1



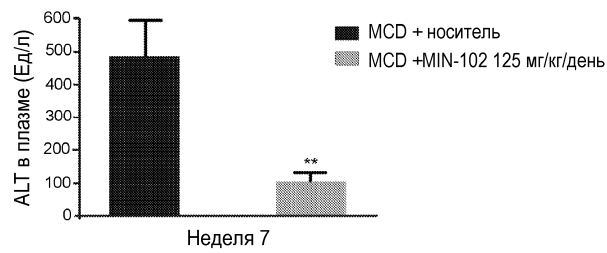
Фиг. 2



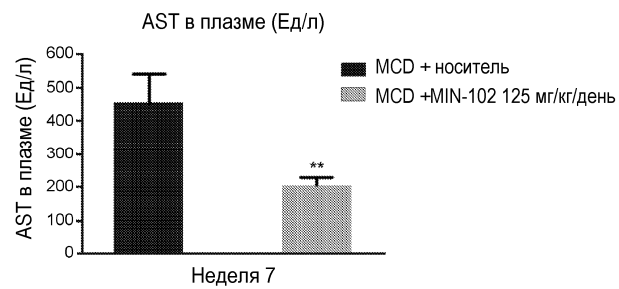
Фиг. 3



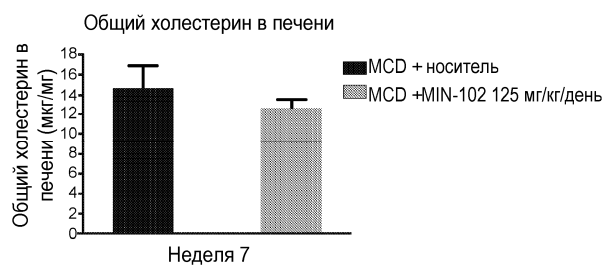
Фиг. 4



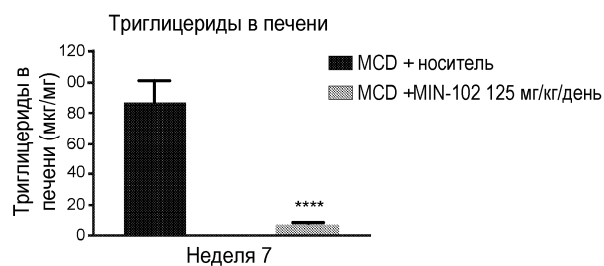
Фиг. 5А



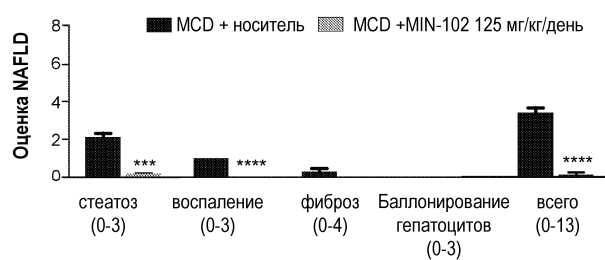
Фиг. 5В



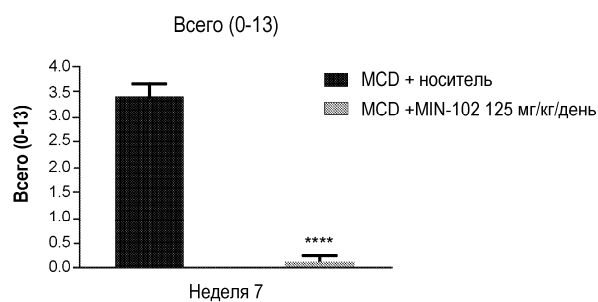
Фиг. 6А



Фиг. 6В



Фиг. 7



Фиг. 8

