

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290853 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.08.17

(51) Int. Cl. *A61K 31/4184* (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.10.22

(54) СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СЕРПОВИДНО-КЛЕТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ ИНГИБИТОРОМ ФЕРРОПОРТИНА (VIT-2763)

(31) 19000483.8; 62/924,556; 20163777.4;
20176336.4

(71) Заявитель:
ВИФОР (ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ) АГ
(CH)

(32) 2019.10.22; 2019.10.22; 2020.03.17;
2020.05.25

(72) Изобретатель:
Манолова Ваниа, Дюрренбергер
Франц д-р, Ниффенеггер Ная (CH)

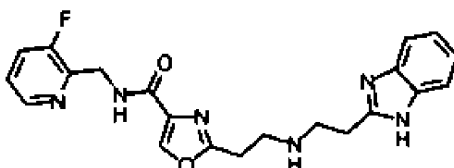
(33) EP; US; EP; EP

(86) PCT/EP2020/079802

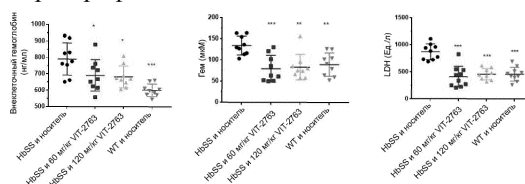
(87) WO 2021/078889 2021.04.29

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

(57) Изобретение относится к соединениям формулы



и их фармацевтически приемлемым солям для применения при лечении серповидно-клеточной болезни и для применения при профилактике и лечении воспаления сосудов и окклюзии сосудов.



A1

202290853

202290853

A1

СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СЕРПОВИДНО-КЛЕТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ ИНГИБИТОРОМ ФЕРРОПОРТИНА (VIT-2763)

Предпосылки

Серповидно-клеточная болезнь (СКБ) — наследственное нарушение синтеза гемоглобина, характеризующееся пожизненной тяжелой гемолитической анемией, рецидивирующими болевыми кризами, хроническим поражением систем органов и выраженным снижением продолжительности жизни. СКБ возникает в результате мутации в гене β гемоглобина (Hb), которая вызывает замену аминокислоты в белке β -глобине и приводит к аллелю β^S гемоглобина серповидных клеток (HbS). На мышинной модели СКБ (мыши Townes) мышинные гены Hb были удалены и заменены человеческим геном Hb серповидных эритроцитов. Мыши, гомозиготные по HbS, экспрессируют исключительно человеческий гемоглобин серповидных клеток, и у них развиваются патологии, очень напоминающие СКБ у людей с ригидными серповидными эритроцитами (sRBC), гемолитической анемией, перенасыщением железом, расширением красной пульпы селезенки, воспалением, повышенной адгезией клеток крови к эндотелию сосудов, что приводит к закупорке сосудов/окклюзии сосудов (ОС) и повреждению органов. Полимеризация дезокси-HbS сокращает продолжительность жизни серповидных эритроцитов и способствует внутрисосудистому и внесосудистому гемолизу. Внутрисосудистый гемолиз приводит к высвобождению внеклеточного гемоглобина из эритроцитов. Внеклеточный Hb легко окисляется из двухвалентного (Fe^{2+}) в трехвалентный (Fe^{3+}) Hb (metHb), из которого гем легко диссоциирует в сосудистую сеть, что приводит к окислительному стрессу, воспалению, ОС, ишемии и повреждению тканей (Umbreit J., Am. J. Hematol., 2007).

Обычными (утвержденными) препаратами для лечения симптомов, ассоциированных с СКБ, являются гидроксимочевина (Droxia, Hydrea, Siklos), пероральный порошок L-глутамин (Endari), кризанлизумаб (Adakveo) и вокселотор (Oxbryta).

Ежедневное применение гидроксимочевины снижает частоту болезненных кризов и позволяет уменьшить потребность в переливании крови и госпитализациях. Оно может увеличить риск инфекций.

Пероральный порошок L-глутамин (Endari) помогает уменьшить частоту болевых кризов.

Кризанлизумаб (Adakveo), препарат для внутривенного введения, способствует снижению частоты болевых кризов. Побочные эффекты могут включать тошноту, боль в

суставах, боль в спине и лихорадку.

Вокселотор (Oxbryta), пероральный препарат, уменьшает анемию у пациентов с серповидно-клеточной болезнью. Побочные эффекты могут включать головную боль, тошноту, диарею, утомляемость, сыпь и лихорадку.

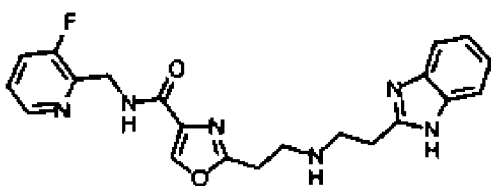
Кроме того, пациентам с СКБ регулярно назначают обезболивающие препараты, которые помогают облегчить боль во время болевых кризов серповидно-клеточной болезни, однако не устраняют причину боли.

Задача, решаемая изобретением

Задачей, решаемой в настоящем изобретении, было создание нового усовершенствованного лекарственного средства или терапии для лечения СКБ. В частности, новое лекарственное средство или терапия СКБ должны улучшать, облегчать или изменять один или несколько маркеров, состояний или явлений, имеющих отношение к СКБ, как определено далее в настоящем документе, до нормализованного уровня. Еще одна задача изобретения заключалась в обеспечении лекарства или терапии СКБ с улучшенным профилем безопасности по сравнению с обычным лечением гидроксимочевинной. Еще одна задача изобретения заключалась в обеспечении лекарства или терапии СКБ по меньшей мере с таким же или даже улучшенным профилем безопасности по сравнению с обычным лечением вокселотором. Настоящее изобретение направлено на обеспечение усовершенствованной терапии СКБ с учетом одного или нескольких аспектов, обсуждаемых в настоящем документе более подробно ниже.

Изложение сущности и описание изобретения

в настоящем документе описаны способы лечения СКБ, включающие применение соединения следующей формулы (Соединения 127)



... Соединение 127

или его фармацевтически приемлемой соли. Среди подходящих солей можно упомянуть соль бензойной кислоты, соль HCl, соль лимонной кислоты, соль фумаровой кислоты, соль молочной кислоты, соль яблочной кислоты, соль малеиновой кислоты, соль метансульфоновой кислоты, соль фосфорной кислоты, соль янтарной кислоты, соли серной кислоты, соли винной кислоты и соли толуолсульфоновой кислоты. В различных вариантах осуществления отношение соединения к соли составляет 1:1, 2:1, 1:2 или 1:3. Используемый в настоящем документе термин «соль соединения» относится к любому соотношению соединения к соли, если не указано конкретное соотношение.

Соединение 127 и способы синтеза Соединения 127 описаны в WO 2017/068089 и WO 2017068090A1, включенных в настоящий документ посредством ссылки. Конкретные соли соединения 127, а также различные полиморфы соединения 127 описаны в WO 2018/192973, включенном в настоящий документ посредством ссылки. Потенциальное применение раскрытых там конкретных солей для лечения серповидно-клеточной болезни в общем виде упоминается среди различных других показаний. В Примере 13 описаны исследования фармакокинетики однократной внутривенной и пероральной дозы с моно-солями соединения 127 и H₂SO₄ и HCl.

Vania Manolova: “First-in-class oral Ferroportin Inhibitor: Mode of Action and Efficacy in a mouse model of Beta-Thalassemia Intermedia”; EHA Abstract, 14.06.2019 описывает использование соединения 127 для лечения промежуточной талассемии, но ничего не говорит о его какой-либо конкретной солевой форме. Кроме того, потенциальная эффективность при лечении серповидно-клеточной болезни также не упоминается.

J. H. Baek et al. “Ferroportin inhibition attenuates plasma iron, oxidant stress, and renal injury following red blood cell transfusion in guinea pigs”; TRANSFUSION, 00, 1-11, 2020 сообщает о снижении уровня железа в плазме, уровней не связанного с трансферрином железа, окислительного стресса и клеточного повреждения путем внутривенного введения низкомолекулярного ингибитора ферропортина VIT-2653, предоставленного Vifor (International) Ltd., сразу после кратковременных трансфузий эритроцитов на модели с морскими свинками.

Ось ферропортин-гепцидин регулирует уровень железа в крови. Соединение 127 конкурирует с гепцидином за связывание и интернализацию ферропортина. Соединение 127 ингибирует ферропортин и тем самым блокирует транспорт железа в кровь.

Термин «лечить» или «лечение» в контексте нового применения по настоящему изобретению включает облегчение по меньшей мере одного симптома или патологического состояния, связанного с СКБ. Термин «лечить» или «лечение» в контексте настоящего изобретения также охватывает профилактику. Лечение Соединением 127 по настоящему изобретению, в частности, улучшает, облегчает или изменяет один или несколько из следующих маркеров, состояний или явлений, например, по направлению к нормализованному уровню.

Эффекты лечения в соответствии с изобретением

Один конкретный аспект изобретения относится к Соединению 127, описанному где-либо в настоящем документе, для применения в лечении, профилактике или облегчении одного или нескольких маркеров, состояний или явлений, описанных выше или ниже, или, в частности, в Примерах.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает гемолиз (например, по оценке снижения уровня внеклеточного гемоглобина (Hb), снижения уровня внеклеточного гема, снижения общего и непрямого билирубина в плазме или снижения в сыворотке LDH (лактатдегидрогеназы)).

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 улучшает одно или несколько из значений общего железа в сыворотке, ферритина в сыворотке, трансферрина в сыворотке и расчетного TSAT (насыщения трансферрина).

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает ретикулоцитоз, улучшает количество ретикулоцитов и/или % ретикулоцитов.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает один или несколько параметров из общего гемоглобина, количества эритроцитов, гематокрита, среднего объема эритроцитов (MCV), среднего содержания гемоглобина в эритроцитах (MCH) и средней концентрации гемоглобина в эритроцитах (CHCM).

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 улучшает одно или несколько из значений ширины распределения эритроцитов (RDW), числа тромбоцитов и ретикулоцитов.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 улучшает микроцитарные эритроциты (диаграмму рассеяния объема эритроцитов в зависимости от гемоглобина).

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 приводит к изменениям в аномальных эритроцитах (серповидность) и/или к улучшению показателей серповидности эритроцитов (мазок периферической крови).

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает лейкоцитоз.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает количество лейкоцитов в крови (например, снижает количество нейтрофилов в крови и/или количество лимфоцитов в крови).

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает внесосудистый и/или внутрисосудистый гемолиз.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 улучшает один или несколько маркеров гемолиза, таких как не прямой/общий билирубин, маркеры воспаления в крови, измеряемые по hsCRP (высокочувствительному С-реактивному белку), IL-1 и IL-6 (интерлейкинам), TNF-альфа, sVCAM-1, эндотелину-1, sP-селектину, sICAM-1 и ксантиноксидазе.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127

улучшает один или несколько показателей эритроцитов, включая концентрацию Hb, количество эритроцитов, гематокрит (Hct), средний объем эритроцитов (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH), среднюю концентрацию корпускулярного гемоглобина (MCHC), среднее значение концентрации корпускулярного гемоглобина (CHCM), ширину распределения эритроцитов, количество тромбоцитов и ретикулоцитов, % ретикулоцитов, % гипохромных, микроцитарных эритроцитов (объем эритроцитов в зависимости от диаграммы рассеяния Hb), CHCM (среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах), общее железо сыворотки, сывороточный ферритин, сывороточный трансферрин, расчетный уровень насыщения трансферрина, гепцидин, EPO (эритропоэтин), NTBI (железо, не связанное с трансферрином), растворимый рецептор трансферрина (sTFR), (sTFR-2) и лактатдегидрогеназу (LDH).

Это означает, что один или несколько параметров, упомянутых выше и ниже, могут быть определены для оценки эффективности соединения по настоящему изобретению при лечении СКБ. Соединение 127 по настоящему изобретению подходит для улучшения по меньшей мере одного из этих параметров.

В контексте настоящего изобретения термин «улучшает» или «улучшение» может охватывать модуляцию или изменение соответствующего маркера или состояния в контексте терапевтического эффекта.

В частности, лечение СКБ по настоящему изобретению может привести к:

снижению уровня NTBI 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%, при определении в момент времени в течение 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 часа после введения, и по сравнению с уровнями 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 перед началом лечения по изобретению;

снижению уровня лабильного железа плазмы (LPI) 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%, при определении в любой момент времени в течение 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 введения и по сравнению с общим уровнем лабильного пула железа плазмы у пациента, определяемым 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 перед началом лечения по изобретению;

улучшению по меньшей мере одного из параметров Hct, MCV, MCH, RDW и

количества ретикулоцитов у пациента по меньшей мере на 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%, при определении в любой момент времени в течение периода времени до одной недели, до 2 недель, до 3 недель, до 4 недель, до 3 месяцев после первого введения и по сравнению с соответствующим параметром у субъекта, определенным в любой момент времени в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель или за 4 недели перед началом лечения по изобретению;

снижению уровня ферритина в сыворотке крови у пациента по меньшей мере на 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%, при определении в любой момент времени в течение периода времени до одной недели, до 2 недель, до 3 недель, до 4 недель, до 3 месяцев после первого введения, и по сравнению с уровнями ферритина в сыворотке пациента, определенными в любой момент времени в пределах 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель перед началом лечения по изобретению.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 уменьшает или предотвращает дальнейшее накопление железа в печени, почках и/или селезенке.

Соответственно, в другом аспекте новое лечение может привести к снижению концентрации железа в печени, почках и/или селезенке у пациента с СКБ 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%, при определении в любой момент времени в течение периода времени до одной недели, до 2 недель, до 3 недель, до 4 недель, до 3 месяцев после первого введения, и по сравнению с уровнями концентрации железа в печени, почках и/или селезенке у пациента с СКБ, определенными в любой момент времени в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель перед началом лечения по изобретению.

В некоторых случаях лечение Соединением 127 снижает перенасыщение железом почек.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает маркеры сосудистого воспаления, т.е. уровни sVCAM-1.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 уменьшает воспаление сосудов.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает адгезию клеток крови в воспаленных венулах или к микроциркуляторному руслу, и улучшает кровоток в микрососудах.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает адгезию клеток крови к микроциркуляторному руслу, окклюзию сосудов (ОС) и облегчает проявления ОС.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает частоту вазоокклюзионных кризов или болезненных вазоокклюзионных кризов и/или предотвращает рецидивирующие болезненные ВОК, включая ОГС (острый грудной синдром).

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает частоту ВОК или болезненных ВОК и/или предотвращает повторные болезненные ВОК, включая ОГС, у пациента в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 6 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 12 месяцев, 24 месяцев от начала лечения по изобретению; или обеспечивает отсутствие у пациента с СКБ ВОК или болезненных ВОК в течение по меньшей мере 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель, 12 недель, 13 недель, 14 недель, 15 недель, 16 недель, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 24 месяца или даже более после лечения.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 приводит к уменьшению среднего числа болевых кризов (ВОК) в течение 48 недель.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 приводит к уменьшению среднего числа болевых кризов (ВОК) в течение 48 недель у пациентов, ранее не получавших ОН-мочевины.

Предпочтительный аспект относится к Соединению 127, как оно описано в настоящем документе, для использования с целью лечения, профилактики или облегчения сосудистого воспаления сосудов или ОС и проявлений ОС.

В некоторых случаях лечение субъекта, страдающего СКБ, Соединением 127 снижает потребность в переливаниях эритроцитов, например, в частности, снижает трансфузионную нагрузку у пациента по сравнению с трансфузионной нагрузкой у пациента в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 6 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 12 месяцев, 24 месяцев до начала лечения по изобретению; или достигает того, что пациенту с СКБ не требуется переливание эритроцитов в течение по меньшей мере 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель, 12 недель, 13 недель, 14 недель, 15 недель, 16 недель, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 24 месяцев или даже более вплоть до отсутствия

зависимости от трансфузии эритроцитов после лечения.

В еще одном аспекте новое лечение может привести к улучшению качества жизни у пациентов с СКБ по сравнению с качеством жизни у пациентов с СКБ, определенным в течение 1, 2, 3 или 4 недель до начала лечения по изобретению. Улучшение качества жизни определяют через 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 или 24 месяца после начала лечения. Качество жизни можно определить путем оценки изменений в исходах, отмечаемых пациентами (PRO), с использованием системы оценки качества жизни у взрослых пациентов с серповидно-клеточной анемией (ASCQ-ME).

Определение вышеописанных параметров может быть осуществлено с использованием традиционных методов из данной области техники, в частности, описанных в неопубликованной РСТ-заявке РСТ/EP2020/070391, соответствующее содержание которой включено посредством ссылки.

Группы пациентов, подлежащих лечению

В принципе, субъектами, подлежащими лечению при новом применении по изобретению, могут быть любые млекопитающие, такие как грызуны и приматы, и в предпочтительном аспекте новое медицинское применение относится к лечению людей. Субъекты, страдающие СКБ и подлежащие лечению новым способом согласно изобретению, также обозначаются как «пациенты».

Субъекты, подлежащие лечению, могут быть любого возраста. Один предпочтительный аспект изобретения относится к лечению детей и подростков. Соответственно, в одном предпочтительном аспекте изобретения субъекты, подлежащие лечению с помощью новых способов, описанных в настоящем документе, имеют возраст ≤ 18 лет. В частности, субъекты, подлежащие лечению новыми способами, описанными в настоящем документе, могут иметь возраст ≤ 16 лет, ≤ 15 лет, ≤ 14 лет, ≤ 13 лет, ≤ 12 лет, ≤ 11 лет, ≤ 10 лет, ≤ 9 лет, ≤ 8 лет, ≤ 7 лет, ≤ 6 лет или ≤ 5 лет. В другом аспекте изобретения субъекты, подлежащие лечению с помощью новых способов, описанных в настоящем документе, находятся в возрасте 1-3 лет, 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 >30 лет. Предпочтительно педиатрические пациенты, подлежащие лечению, имеют возраст ≤ 16 лет или ≤ 12 лет. В случае лечения детей предпочтительно, чтобы субъекты, подлежащие лечению новыми способами, описанными в настоящем документе, имели возраст ≥ 2 лет, предпочтительно ≥ 2 лет и ≤ 16 лет или ≤ 12 лет.

В другом аспекте лечения взрослых и подростков возраст пациентов составляет ≥ 12 лет или ≥ 16 лет.

В случае лечения взрослых субъекты, подлежащие лечению с помощью новых

способов, описанных в настоящем документе, предпочтительно имеют возраст 18-50 лет, предпочтительно 18-25 лет, 20-25 лет, 25-30 лет, 30-35 лет, 35-40 лет, 40-45 лет, 45-50 лет. Также возможно лечение пожилых людей в возрасте 50-55 лет, 55-60 лет или старше 60 лет. В случае лечения пожилых пациентов субъекты, подлежащие лечению новыми способами, описанными в настоящем документе, имеют возраст 60-80 лет, например 60-65 лет, 65-70 лет, 70-75 лет, 75-80 лет или старше 80 лет.

Лечение детей и подростков является особо предпочтительным из-за значительных преимуществ, обеспечиваемых лечением соединениями по настоящему изобретению. Указанные соединения можно вводить перорально, что имеет преимущество перед парентеральным введением. Кроме того, оказалось, что перорально биодоступное соединение по настоящему изобретению имеет умеренную биодоступность и период полужизни в организме и, таким образом, относительно быстро вымывается. Это приводит к меньшему количеству побочных эффектов и более быстрой обратимости действия препарата, что имеет особое значение при лечении детей.

Соединение 127 можно использовать для лечения пациентов, страдающих различными формами СКБ, включая HbSS, HbSC, HbS β 0-талассемию, HbS β +-талассемию, HbSD, HbSE и HbSO. В частности, Соединение 127 можно использовать для лечения пациентов, страдающих HbSS или HbS β 0 талассемией.

Соединение 127, в частности, может быть использовано для лечения пациентов, страдающих СКБ, как определено в настоящем документе, при неадекватном контроле монотерапии, например, гидроксимочевинной.

Соединение 127 можно использовать для лечения пациентов, страдающих СКБ, как описано в настоящем документе, имеющих один или несколько ВОК в год.

Соединение 127 можно использовать для лечения пациентов, страдающих СКБ, как описано в настоящем документе, имеющих один или несколько, но не более 6 ВОК в год.

Соединение 127 можно использовать для лечения пациентов, страдающих СКБ, как описано в настоящем документе, с абсолютным числом ретикулоцитов и % числа ретикулоцитов $>1,5 \times$ верхний предел нормы (ВПН).

Соединение 127 можно применять для лечения пациентов, перенесших частичную или тотальную спленэктомию в анамнезе, имеющих отмеченные в анамнезе или клинически значимые сердечные или легочные расстройства и/или получавших или получающих часто или регулярно трансфузионную терапию эритроцитарной массой (RBC) (включая хроническую, профилактическую или превентивную трансфузию для лечения СКБ).

Формы применения

Соединения по изобретению предпочтительно представлены в виде лекарственных средств или фармацевтических композиций в форме для перорального введения, включая, например, пилюли, таблетки, такие как таблетки с энтеросолюбильным покрытием, таблетки с пленочным покрытием и слоистые таблетки, препараты с замедленным высвобождением для перорального введения, препараты депо, драже, грануляты, эмульсии, дисперсии, микрокапсулы, микропрепараты, нанопрепараты, липосомальные препараты, капсулы, такие как капсулы, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, порошки, микрокристаллические препараты, мелкодисперсные порошки, капли, ампулы, растворы и суспензии для перорального приема.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения соединения по изобретению применяют в форме таблетки или капсулы, как определено выше. Более предпочтительной является капсула, наполненная лекарственным Соединением 127. Они могут присутствовать, например, в виде кислотоустойчивых форм или с pH-зависимым покрытием.

Лекарственное соединение может быть помещено в капсулы в виде чистого лекарственного вещества или в форме фармацевтической композиции, содержащей дополнительные фармацевтически приемлемые адъюванты, вспомогательные вещества, растворители, добавки и т.д.

Как правило, формы применения, содержащие соединение по настоящему изобретению, могут включать дополнительные фармацевтически приемлемые адъюванты, вспомогательные вещества, наполнители, растворители, добавки и т.д.

Указанная фармацевтическая композиция может содержать, например, до 99 мас.%, или до 90 мас.%, или до 80 мас.%, или до 70 мас.% лекарственного соединения по настоящему изобретению, где остаток образован фармацевтически приемлемыми носителями, и/или вспомогательными веществами, и/или растворителями, и/или при необходимости дополнительными фармацевтически активными соединениями.

Фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества или растворители и т.д. являются обычными фармацевтическими носителями, вспомогательными веществами или растворителями, включая различные органические или неорганические носители и/или вспомогательные материалы, которые обычно используются в фармацевтических целях, в частности, для твердых лекарственных форм. Примеры включают вспомогательные вещества, такие как сахароза, крахмал, маннит, сорбит, лактоза, глюкоза, целлюлоза, тальк, фосфат кальция, карбонат кальция; связующие агенты, такие как целлюлоза, метилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза,

полипропилпирролидон, желатин, аравийская камедь, полиэтиленгликоль, сахароза, крахмал; дезинтегранты, такие как крахмал, гидролизированный крахмал, карбоксиметилцеллюлоза, кальциевая соль карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилкрахмал, крахмалгликолят натрия, бикарбонат натрия, фосфат кальция, цитрат кальция; смазки, такие как стеарат магния, тальк, лаурилсульфат натрия; ароматизаторы, 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 титриплексов, такие как, например, диэтилентриаминпентауксусная 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 формы, такие как растворы, суспензии и гели, обычно содержат жидкий носитель, такой как вода и/или фармацевтически приемлемые органические растворители. Кроме того, такие жидкие составы могут также содержать агенты, регулирующие pH, эмульгаторы или диспергаторы, буферные агенты, консерванты, смачивающие агенты, желатинизирующие агенты (например, метилцеллюлозу), красители и/или ароматизаторы, например, как определено выше. Композиции могут быть изотоническими, то есть они могут иметь то же осмотическое давление, что и кровь. Изотоничность композиции можно регулировать с помощью 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.

Для увеличения срока хранения жидкой композиции можно использовать фармацевтически приемлемые консерванты. Бензиловый спирт может быть подходящим консервантом, даже несмотря на то, что также можно использовать множество консервантов, включая, например, парабен, мертиолят, хлорбутанол и бензалкония хлорид.

Соответственно, еще один аспект настоящего изобретения относится к

соединениям по изобретению, включая их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, гидраты и полиморфы, а также к лекарственным средствам, композициям и комбинированным препаратам, содержащим их, для применения при лечении СКБ, как определено в настоящем документе, в формах для перорального введения.

Режим дозирования

Соединения по изобретению для применения в соответствии с настоящим изобретением можно вводить по одному из следующих режимов дозирования:

В одном аспекте соединения по изобретению можно вводить нуждающемуся в этом пациенту в дозе от 0,001 до 500 мг, например, от 1 до 4 раз в сутки, предпочтительно один или два раза в сутки. Однако доза может быть увеличена или уменьшена в зависимости от возраста, массы тела, состояния больного, тяжести заболевания или типа введения. В другом аспекте изобретения соединения по изобретению можно вводить в дозах 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, более предпочтительно от 1 до 300 мг или от 3 до 300 мг, более предпочтительно от 1 до 250 мг или от 5 до 250 мг.

Наиболее предпочтительной является доза 5 мг, 15 мг, 30 мг, 60 мг, 120 мг или 240 мг. Особо предпочтительными являются дозы 30, 60, 90, 120 или 240 мг, более конкретно 30, 60, 90 или 120 мг. Наиболее предпочтительными являются дозы 30 мг, 60 мг и 120 мг.

Определенные выше дозы можно применять в виде общей суточной дозы либо в виде единичной дозы в сутки, либо разделенной на субдозы для введения два или более раз в сутки.

В еще одном предпочтительном аспекте предпочтительной является суточная доза 30 мг, 60 мг, 90 мг или 120 мг, которую вводят в виде единичной дозы один раз в сутки. В еще одном аспекте суточную дозу 60 мг или 120 мг вводят в виде двух доз по 30 мг или двух доз по 60 мг, соответственно, два раза в сутки. Также можно вводить суточную дозу 90 мг в виде трех доз по 30 мг три раза в сутки.

В другом аспекте доза составляет от 0,001 до 60 мг/кг массы тела, от 0,01 до 60 мг/кг массы тела, от 0,1 до 60 мг/кг массы тела или от 0,5; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20,

25, 30, 35 и до 60 мг/кг массы тела. Можно вводить дозу 120 мг или до 240 мг для пациентов с массой тела ≥ 50 кг и 60 мг для пациентов с массой тела ≥ 50 кг, в каждом случае один или два раза в сутки. Предпочтительно вводить дозу 60 мг для пациентов с массой тела ≥ 50 кг и 30 мг для пациентов с массой тела ≤ 50 кг, в каждом случае один или два раза в сутки. Кроме того, предпочтительно вводить определенные выше дозы 30 мг и 60 мг пациентам с массой тела ≥ 50 кг и ≤ 100 кг.

Как правило, дозирование с поправкой на массу тела возможно, и в другом аспекте является предпочтительным.

Также предпочтительно вводить соединения по изобретению в соответствующих возрасту препаратах. В частности, педиатрические формы введения для пациентов ≥ 2 лет требуют специальной формы введения, примеры включают сиропы, растворы, капли или составы для растворения в жидком напитке.

В еще одном аспекте можно выбрать одну из определенных выше доз в качестве начальной дозы и впоследствии ввести один или несколько раз такие же или различные дозы, как те, которые определены выше, с повторяющимися интервалами от 1 до 7 дней, предпочтительно от 1 до 5 дней, от 1 до 3 дней, или через день.

Начальная доза и последующие дозы могут быть выбраны из указанных выше дозировок и скорректированы/изменены в соответствии с потребностями пациента в предусмотренных диапазонах.

В частности, количество последующих доз может быть соответствующим образом выбрано в зависимости от конкретного пациента, течения заболевания и ответа на лечение. Возможно введение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и более последовательных доз.

Начальная доза может быть равной или отличаться от одной или нескольких последующих доз. Кроме того, последующие дозы могут быть равными или отличаться.

Повторяющиеся интервалы могут быть одинаковой длины или варьироваться в зависимости от конкретного пациента, течения болезни и ответа на лечение.

Предпочтительно последующие дозы уменьшаются по мере увеличения количества последующих доз.

Предпочтительно дозу от 3 мг до 300 мг, более предпочтительно от 5 мг до 250 мг, наиболее предпочтительно от 5 мг, 15 мг, 30 мг, 60 мг, 90 мг, 120 мг или 240 мг вводят один раз в сутки в течение периода лечения по меньшей мере 3 дней, по меньшей мере 5 дней, по меньшей мере 7 дней, до 4 недель. В еще одном предпочтительном аспекте дозу 30 мг, 60 мг или 120 мг вводят один раз в сутки. В еще одном предпочтительном аспекте общую суточную дозу 30 мг, 60 мг или 120 мг применяют путем введения дважды в сутки дозы 15 мг, 30 мг или 60 мг, соответственно.

В еще одном аспекте общую суточную дозу 240 мг применяют путем введения дважды в сутки дозы 120 мг.

В еще одном аспекте различные дозы вводят, начиная с начальной дозы, выбранной из доз, определенных выше, в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель или более с последующим введением увеличенной дозы, выбранной из доз, определенных выше, в течение дополнительного периода времени 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель или более. В зависимости от результатов лечения также можно начинать с более высокой начальной дозы в течение периода времени, определенного выше, с последующим уменьшением дозы для последующего интервала лечения. Предпочтительно начальную суточную дозу 30 мг или 60 мг вводят в течение 4 недель с последующим введением той же дозы в течение следующих 4 недель или с последующим введением увеличенной дозы в течение следующих 4 недель. Такой режим лечения может включать введение 30 мг ежедневно в течение 4 недель с последующим введением 60 мг ежедневно в течение дополнительных 4 недель.

В частности, дозы до общей суточной дозы 240 мг оказались безопасными и хорошо переносимыми. Предпочтительный режим дозирования также показал быструю пероральную абсорбцию с определяемыми уровнями уже через 15-30 минут после введения дозы. Уровень абсорбции может оставаться стабильным даже при многократном приеме, критического накопления не наблюдается.

Кроме того, оказалось, что предпочтительный режим дозирования эффективно снижает средние уровни железа в сыворотке и среднее расчетное насыщение трансферрина, что указывает на его эффективность для лечения СКБ.

Комбинированная терапия

Один дополнительный объект настоящего изобретения относится к лекарственным средствам или комбинированным препаратам, содержащим соединение по настоящему изобретению и по меньшей мере одно дополнительное фармацевтически активное соединение («соединение для комбинированной терапии»), предпочтительно дополнительное активное соединение, используемое при лечении СКБ. Соединения для комбинированной терапии могут быть выбраны из активных соединений, используемых для профилактики и лечения перенасыщения железом и связанных с ним симптомов, включая соединения, хелатирующие железо, или соединения для профилактики и лечения любых состояний, нарушений или расстройств, сопровождающих или возникающих в результате перенасыщения железом. Подходящие соединения для комбинированной терапии могут быть выбраны из фармацевтически активных соединений для профилактики и лечения СКБ, талассемии, гемохроматоза, нейродегенеративных

заболеваний (таких как болезнь Альцгеймера или болезнь Паркинсона) и связанных с ними симптомов. Предпочтительно по меньшей мере одно дополнительное фармацевтически активное соединение для комбинированной терапии выбрано из лекарственных средств для лечения СКБ, таких как гидроксимочевина, вокселотор, ADAKVEO® (кризанлизумаб), пероральный порошок L-глутамин (Endari), индукторы фетального гемоглобина (HbF), ингибиторы PDE9 (такие, как IMR-687) и/или обезболивающие препараты. Наиболее предпочтительным соединением для комбинированной терапии из группы препаратов для лечения СКБ являются индукторы фетального гемоглобина (HbF).

По меньшей мере одно дополнительное фармацевтически активное соединение для комбинированной терапии может быть дополнительно выбрано из лекарственных средств для снижения перенасыщения железом (например, Tmprss6-ASO) и хелаторов железа, в частности куркумина, SSP-004184, деферитрина, деферазирокса, дефероксамина и деферипрона, а также ингибиторов JAK2. Наиболее предпочтительным соединением для комбинированной терапии из группы соединений, хелатирующих железо, является деферазирокс.

Другие предпочтительные соединения для комбинированной терапии могут быть выбраны из лекарственных средств для лечения β -талассемии, таких как луспатерцепт, лентиглобин BB305 (генотерапевтический препарат, разработанный компанией Bluebird Bio, синтетический человеческий гепцидин (LJPC-401)), пептидомиметик гепцидина PTG-300 и антисмысловой олигонуклеотид, нацеленный на Tmprss6 (IONIS-TMPRSS6-L RX).

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к новому применению и медицинскому лечению, как определено в настоящем документе, где соединения, как определено в настоящем документе, вводят пациенту, нуждающемуся в этом, в комбинированной терапии с одним или несколькими соединениями для комбинированной терапии, определенными выше, в комбинации с фиксированной дозой или свободной дозой для последовательного использования. Такая комбинированная терапия включает совместное введение соединений, определенных в настоящем изобретении, по меньшей мере с одним дополнительным фармацевтически активным соединением (лекарственным средством/соединением для комбинированной терапии).

Комбинированная терапия при комбинированной терапии с фиксированной дозой включает совместное введение соединений, как определено в настоящем документе, по меньшей мере с одним дополнительным фармацевтически активным соединением в составе с фиксированной дозой.

Комбинированная терапия в виде комбинированной терапии со свободными

дозировками включает совместное введение соединений, как определено в настоящем документе, и по меньшей мере одного дополнительного фармацевтически активного соединения в свободных дозировках соответствующих соединений либо путем одновременного введения отдельных соединений, либо путем последовательного применения отдельных соединений, разнесенного во времени.

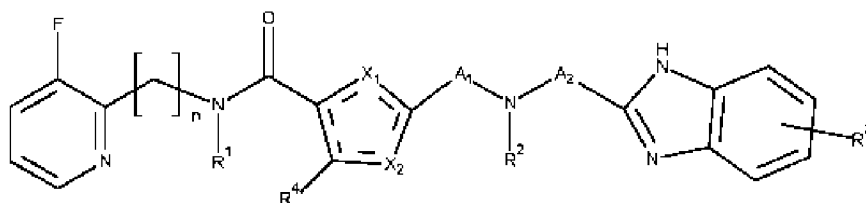
В особо предпочтительном варианте осуществления комбинированная терапия включает одновременное пероральное введение Соединения № 127 и соединения для комбинированной терапии из группы лекарственных средств для СКБ, предпочтительно гидроксимочевины и/или обезболивающих средств.

Еще один вариант осуществления настоящего изобретения относится к комбинированной терапии, описанной в настоящем документе, где лекарственное соединение является соединением, выбранным из соединений, описанных в WO 2020/123850 A1, в частности, одним из его конкретных примеров соединений, как описано ниже.

Еще один аспект относится к созданию новой комбинированной терапии для лечения СКБ путем введения Соединения 127, как описано в настоящем документе, в составе для комбинированной терапии с гидроксимочевиной, вокселотором, ADAKVEO® (кризанлизумабом), пероральным порошком L-глутамина (Endari), индукторами фетального гемоглобина (HbF), ингибиторами PDE9 (такими, как IMR-687) и/или обезболивающими препаратами. Наиболее предпочтительным соединением для комбинированной терапии из группы препаратов для лечения СКБ в комбинации с Соединением 127 являются индукторы фетального гемоглобина (HbF).

Дополнительные полезные соединения

Другие полезные соединения для лечения СКБ описаны в WO 2017/068089, WO 2017068090A1 и WO 2018/192973. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления пациента лечат путем применения соединения формулы (I)



где

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 выбран из группы, состоящей из:

- водорода и
- необязательно замещенного алкила;

n представляет собой целое число от 1 до 3;

A^1 и A^2 независимо выбирают из группы алкандиолов;

R^2 представляет собой:

- водород или
 - необязательно замещенный алкил;
- или

A^1 и R^2 вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют необязательно замещенное 4-6-членное кольцо;

R^3 обозначает 1, 2 или 3 необязательных заместителя, которые могут быть независимо выбраны из группы, состоящей из:

- галогена,
- циано,
- необязательно замещенного алкила,
- необязательно замещенной алкокси, и
- карбоксильной группы;

R^4 выбран из группы, состоящей из:

- водорода,
- галогена,
- C1-C3-алкила, и
- галогензамещенного алкила.

В некоторых вариантах осуществления:

$n = 1$;

$R^2 =$ водород;

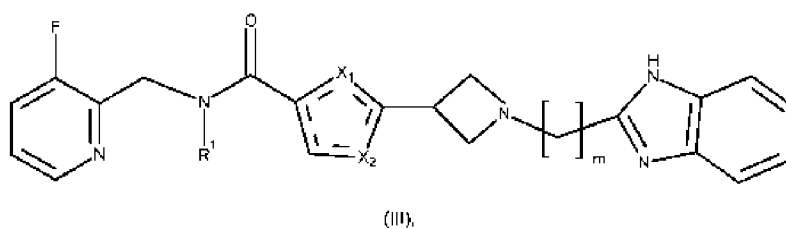
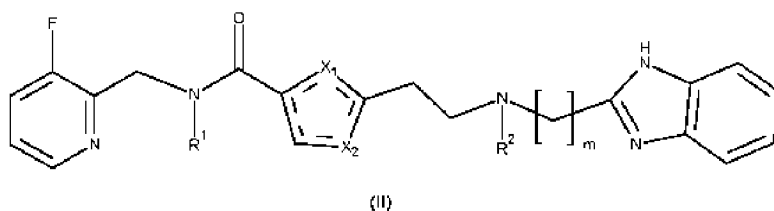
$R^3 =$ водород;

$R^4 =$ водород;

$A^1 =$ метилен или этан-1,2-диол;

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

или A^1 и R^2 вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют необязательно замещенное 4-членное кольцо, формируя соединения согласно формуле (II) или формуле (III)



где в формулах (II) и (III)

m представляет собой целое число 1, 2 или 3 и

X^1 , X^2 и R^1 имеют значения, определенные для соединений формулы (I).

В некоторых вариантах осуществления пациента лечат соединением, выбранным из группы, состоящей из:

№ эксп.	Структура
1	
2	
4	

№ эксп.	Структура
40	
94	
118	

№ эксп.	Структура
126	
127	
193	

№ эксп.	Структура
206	
208	
233	

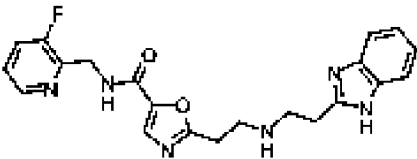
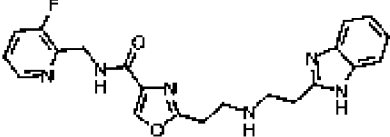
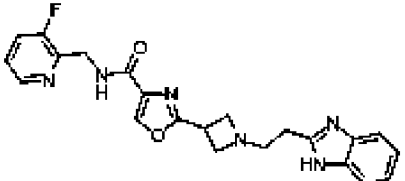
и их фармацевтически приемлемых солей.

В еще одном предпочтительном аспекте настоящее изобретение относится к новому применению и способу лечения, как определено в настоящем документе, где соединения формул (I), (II) или (III) выбраны из группы, состоящей из:

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

и их фармацевтически приемлемых солей.

В еще одном предпочтительном аспекте настоящее изобретение относится к новому применению и способу лечения, как определено в настоящем документе, где соединения формул (I), (II) или (III) выбраны из группы, состоящей из:

№ эксп.	Структура	№ эксп.	Структура
1		127	
208			

и их фармацевтически приемлемых солей.

В некоторых вариантах осуществления способ включает применение соединения, выбранного из



и их фармацевтически приемлемых солей.

В формулах I, II и III группы-заместители определены следующим образом:

необязательно замещенный алкил предпочтительно включает: линейный или разветвленный алкил, предпочтительно содержащий от 1 до 8, более предпочтительно от 1 до 6, особо предпочтительно от 1 до 4, еще более предпочтительно 1, 2 или 3 атома углерода, также обозначаемый как C₁-C₄-алкил или C₁-C₃-алкил.

необязательно замещенный алкил дополнительно включает циклоалкил, содержащий предпочтительно от 3 до 8, более предпочтительно 5 или 6 атомов углерода.

Примеры алкильных остатков, содержащих от 1 до 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, которые содержат от 1 до 4 атомов углерода (C₁-C₄-алкил), такие как, в частности, метильная, этильная, н-пропильная, изопропильная, н-бутильная, изобутильная, втор-бутильная и трет-бутильная, являются предпочтительными. C₁-C₃-алкильные группы, в частности, метильная, этильная, пропильная и изопропильная, являются более предпочтительными. Наиболее предпочтительными являются C₁ и C₂ алкилы, такие как метил и этил.

Циклоалкильные остатки, содержащие от 3 до 8 атомов углерода, предпочтительно включают циклопропильную группу, циклобутильную группу, циклопентильную группу, циклогексильную группу, циклогептильную группу и циклооктильную группу. Предпочтительными являются циклопропильная группа, циклобутильная группа, циклопентильная группа и циклогексильная группа. Особенно предпочтительной является циклопропильная группа.

Заместители определенного выше необязательно замещенного алкила предпочтительно включают 1, 2 или 3 одинаковых или разных заместителя, выбранных, например, из группы, состоящей из галогена, как определено ниже, такого как предпочтительно F, циклоалкила, как определено выше, такого как предпочтительно циклопропил, необязательно замещенного гетероарила, как определено ниже, например, предпочтительно бензимидазолильной группы, необязательно замещенной аминогруппы, как определено ниже, например, предпочтительно аминогруппы или бензилоксикарбониламино, карбоксильной группы, аминокарбонильной группы, как определено ниже, а также алкиленовой группы, такой как, в частности, метиленовая группа, образующая, например, метилен-замещенную этильную группу (CH₃-(C=CH₂)- или , где * указывает участок связывания).

Галоген включает фтор, хлор, бром и йод, предпочтительно фтор или хлор, наиболее предпочтительным является фтор.

Примеры линейного или разветвленного алкильного остатка, замещенного галогеном и содержащего от 1 до 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 фторалкильная, дифторалкильная и трифторалкильная, и предпочтительными являются трифторметильная и моно- и дифторэтильная группы. Особо предпочтительной является трифторметильная группа.

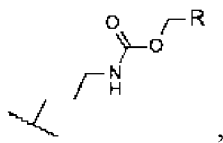
Примеры циклоалкил-замещенной алкильной группы включают вышеупомянутые алкильные остатки, содержащие от 1 до 3, предпочтительно 1 циклоалкильную группу, такую как, например, циклопропилметильная, циклобутилметильная, циклопентилметильная, циклогексилметильная, 2-циклопропилэтильная, 2-циклобутилэтильная, 2-циклопентилэтильная, 2-циклогексилэтильная, 2- или 3-циклопропилпропильная, 2- или 3-циклобутилпропильная, 2- или 3-

циклопентилпропильная, 2- или 3-циклогексилпропильная, и т.д. Предпочтительной является циклопропилметильная группа.

Примеры гетероарилзамещенной алкильной группы включают указанные выше алкильные остатки, содержащие от 1 до 3, предпочтительно одну (необязательно замещенную) гетероарильную группу, такие как, например, пиридиновая, пиридазининовая, пиримидининовая, пиазаниновая, пиазолиновая, имидазолиновая, бензимидазолиновая, тиофениновая или оксазолиновая группа, такая как пиридин-2-ил-метильная, пиридин-3-ил-метильная, пиридин-4-ил-метильная, 2-пиридин-2-ил-этильная, 2-пиридин-1-ил-этильная, 2-пиридин-3-ил-этильная, пиридазин-3-ил-метильная, пиримидин-2-ил-метильная, пиримидин-4-ил-метильная, пиазин-2-ил-метильная, пиазол-3-ил-метильная, пиазол-4-ил-метильная, пиазол-5-ил-метильная, имидазол-2-ил-метильная, имидазол-5-ил-метильная, бензимидазол-2-ил-метильная, тиофен-2-ил-метильная, тиофен-3-ил-метильная, 1,3-оксазол-2-ил-метильная.

Предпочтительной является алкильная группа, замещенная бензимидазолиновой группой, такая как бензимидазол-2-ил-метильная и бензимидазол-2-ил-этильная.

Примеры аминозамещенного алкильного остатка включают указанные выше алкильные остатки, содержащие от 1 до 3, предпочтительно одну (необязательно замещенную) аминогруппу, как определено ниже, такую как, например, аминоалкильная (NH_2 -алкильная) или моно- или диалкиламино-алкильная группа, такая как аминометильная, 2-аминоэтильная, 2- или 3-аминопропильная, метиламинометильная, метиламиноэтильная, метиламинопропильная, 2-этиламинометильная, 3-этиламинометильная, 2-этиламиноэтильная, 3-этиламиноэтильная и т.д., причем 3-аминопропильная группа является предпочтительной, или алкильную группу, которая может быть замещена необязательно замещенной алкилоксикарбониламиной группой, такой как группа согласно формуле



где R представляет собой фенильную группу, образующую бензилоксикарбониламинопропильную группу.

Необязательно замещенная амина группа предпочтительно включает амина ($-\text{NH}_2$), необязательно замещенную моно- или диалкиламино (алкил- NH -, (алкил) $_2\text{N}$ -), где в отношении «алкила» можно сделать ссылку на определение необязательно замещенного алкила выше. Предпочтительными являются моно- или диметиламино, моно- или диэтиламино и монопропиламино группа. Наиболее предпочтительной является амина

группа ($-\text{NH}_2$) и монопропиламино группа.

Кроме того, карбоксильная группа указывает на группу $[-(\text{C}=\text{O})-\text{OH}]$, а аминокарбонильная группа указывает на группу $[\text{NH}_2-(\text{C}=\text{O})-]$.

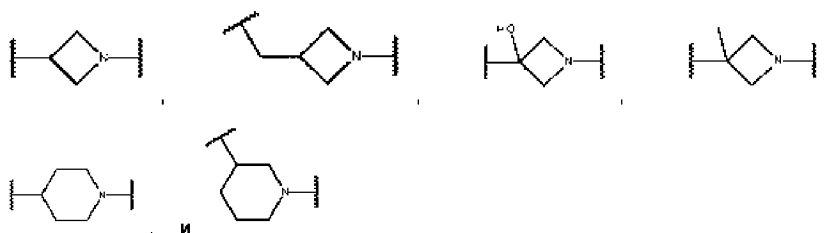
Необязательно замещенная алкокси группа включает обязательно замещенную алкил-О-группу, где можно сделать ссылку на приведенное выше определение алкильной группы. Предпочтительными алкокси группами являются линейные или разветвленные алкокси группы, содержащие до 6 атомов углерода, такие как метокси группа, этокси группа, н-пропилокси группа, изопропилокси группа, н-бутилокси группа, изобутилокси группа, втор-бутилокси группа, трет-бутилокси группа, н-пентилокси группа, изопентилокси группа, втор-пентилокси группа, трет-пентилокси группа, 2-метилбутокси группа, н-гексилокси группа, и-гексилокси группа, т-гексилокси группа, втор-гексилокси группа, 2-метилпентилокси группа, 3-метилпентилокси группа, 1-этилбутилокси группа, 2-этилбутилокси группа, 1,1-диметилбутилокси группа, 2,2-диметилбутилокси группа, 3,3-диметилбутилокси группа, 1-этил-1-метилпропилокси группа, а также циклоалкилокси группы, такие как циклопентилокси группа или циклогексилокси группа. Метокси группа, этокси группа, н-пропилокси группа и изопропилокси группа являются предпочтительными. Метокси- и этокси группы являются более предпочтительными. Особенно предпочтительной является метокси группа.

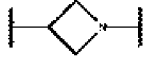
Необязательно замещенный алкандиил предпочтительно представляет собой двухвалентный алкандиильный радикал с прямой или разветвленной цепью, имеющий от 1 до 6, предпочтительно от 1 до 4, более предпочтительно 1, 2 или 3 атома углерода, который может при необходимости нести от 1 до 3, предпочтительно 1 или 2 заместителя, выбранных из группы, состоящей из галогена, гидроксила ($-\text{OH}$), оксо группы ($=\text{O}$; образующей карбонильную или ацильную группу $[-(\text{C}=\text{O})-]$) и алкильной группы, как определено выше, предпочтительно такой, как метильная группа. В качестве предпочтительных примеров можно назвать следующие: 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. Особо 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 метиленовый или этандиильный радикал, образующий карбонильную или ацильную (ацетильную) группу,

галогензамещенную алкандиильную группу.

В некоторых случаях A^1 означает линейную или разветвленную алкандиильную группу, как определено выше, и R^2 означает необязательно замещенную алкильную группу, как определено выше, которые вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют необязательно замещенное 4-6-членное кольцо, которое может быть замещено 1-3 заместителями, как определено выше. Соответственно, A^1 и R^2 могут вместе формировать группу согласно одной из следующих формул:



При этом предпочтительным является (замещенное или незамещенное) 4-членное кольцевое образование, такое как, в частности, группа . Здесь левый участок связывания указывает участок прямого связывания с гетероциклическим 5-членным кольцом между положениями X^1 и X^2 в формуле (I). Правый участок связывания указывает участок связывания с группой A^2 , означающей алкандиильную группу, как определено в настоящем документе.

В формуле (I), как определено в настоящем документе, n имеет значение целого числа от 1 до 3, включая 1, 2 или 3, таким образом, указывая на метиленовую группу, этан-1,2-диильную группу или пропан-1,3-группу. Более предпочтительно n равно 1 или 2 и еще более предпочтительно n равно 1, что указывает на метиленовую группу.

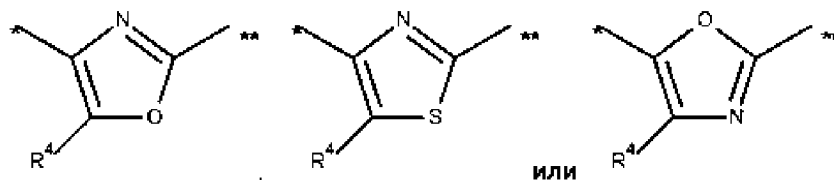
В некоторых вариантах осуществления:

А) 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;

при этом образуются 5-членные гетероциклы по формулам:



где * указывает на участок связывания с аминокарбонильной группой, а ** указывает на участок связывания с A^1 -группой.

В) n является целым числом, равным 1, 2 или 3; предпочтительно n равно 1 или 2, более предпочтительно n равно 1.

C) R^1 выбран из группы, состоящей из

- водорода, и
- необязательно замещенного алкила (как определено выше);

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

D) R^2 выбран из группы, состоящей из

- водорода, и
- необязательно замещенного алкила (как определено выше);

предпочтительно R^2 представляет собой водород или C_1 - C_4 -алкил, более предпочтительно R^2 представляет собой водород или метил, еще более предпочтительно R^2 представляет собой водород.

E) R^3 обозначает 1, 2 или 3 необязательных заместителя, которые могут быть независимо выбраны из группы, состоящей из

- галогена (как определено выше),
- циано,
- необязательно замещенного алкила (как определено выше),
- необязательно замещенного алкокси (как определено выше), и
- карбоксильной группы (как определено выше);

предпочтительно R^3 означает 1 или 2 необязательных заместителя, которые могут быть независимо выбраны из группы, состоящей из

- галогена,
- циано,
- алкила (как определено выше), который может быть замещен 1, 2 или 3 атомами галогена (как определено выше),
- необязательно замещенного алкокси (как определено выше), и
- карбоксильной группы (как определено выше);

более предпочтительно R^3 означает 1 или 2 необязательных заместителя, которые могут быть независимо выбраны из группы, состоящей из

- F и Cl,
- циано,
- трифторметила,
- метокси, и
- карбоксильной группы;

еще более предпочтительно R^3 представляет собой водород, что указывает на незамещенное концевое бензимидазолильное кольцо в формуле (I).

F) R^4 выбран из группы, состоящей из

- водорода,
- галогена (как определено выше),
- C_1 - C_3 -алкила, и
- галогензамещенного алкила (как определено выше);

предпочтительно R^4 выбран из группы, состоящей из

- водорода,
- Cl,
- метила, этила, изопропила, и
- трифторметила;

более предпочтительно R^4 выбран из группы, состоящей из

- водорода,
- Cl,
- метила, и
- трифторметила;

более предпочтительно R^4 выбран из группы, состоящей из

- водорода,
- Cl, и
- метила,

еще более предпочтительно R^4 представляет собой водород.

G) A^1 представляет собой алкандиил,

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

более предпочтительно A^2 представляет собой метилен- или этан-1,2-диил, еще более предпочтительно 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 замещенное 4-6-членное кольцо, как определено выше;

при этом A^1 и R^2 вместе с атомом азота, с которым они связаны, предпочтительно образуют необязательно замещенное 4-членное кольцо, как определено выше,

при этом A^1 и R^2 вместе с атомом азота, с которым они связаны, более предпочтительно образуют незамещенное 4-членное кольцо (азетидинильное кольцо).

Здесь заместители соединений в соответствии с (I) могут, в частности, иметь

следующее значение:

n имеет любое из значений в соответствии с (B) выше, а остальные заместители могут иметь любое из значений, определенных в (A) и (C)-(I).

R^1 имеет любое из значений в соответствии с (C) выше, а остальные заместители могут иметь любое из значений, как определено в (A) и (B) и от (D) до (I).

R^2 имеет любое из значений в соответствии с (D) выше, а остальные заместители могут иметь любое из значений, определенных в пунктах от (A) до (C) и от (E) до (H) или (I).

R^3 имеет любое из значений в соответствии с (E) выше, а остальные заместители могут иметь любое из значений, определенных в (A)-(D) и (F)-(I).

R^4 имеет любое из значений в соответствии с (F) выше, а остальные заместители могут иметь любое из значений, определенных в пунктах от (A) до (E) и от (G) до (I).

A^1 имеет любое из значений в соответствии с (G) выше, а остальные заместители могут иметь любое из значений, определенных в пунктах от (A) до (F) и (H) или (I).

A^2 имеет любое из значений согласно пункту (H) выше, а остальные заместители могут иметь любое из значений, определенных в пунктах от (A) до (G) и (I).

R^2 и A^1 имеют любое значение, определенное в (I), а остальные заместители могут иметь любое значение, определенное в пунктах от (A) до (C), (E), (F) и (H).

В некоторых случаях 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 разными; R^1 представляет собой водород; n равно 1, 2 или 3; 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 C_1 - C_4 -алкил;

Или

A^1 и R^2 вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют необязательно замещенное 4-членное кольцо; R^3 обозначает 1 или 2 необязательных заместителя, которые могут быть независимо выбраны из группы, состоящей из

- галогена,
- циано,
- алкила, который может быть замещен 1, 2 или 3 атомами галогена,
- необязательно замещенной алкокси, и
- карбоксильной группы;

R^4 выбран из группы, состоящей из

- водорода,
- Cl,

- метила, этила, изопропила и
- трифторметила; или его соли.

В некоторых случаях соли выбраны из солей соединений формулы (I) с кислотами из группы, состоящей из бензойной кислоты, лимонной кислоты, фумаровой кислоты, соляной кислоты, молочной кислоты, яблочной кислоты, малеиновой кислоты, метансульфоновой кислоты, фосфорной кислоты, янтарной кислоты, серной кислоты, винной кислоты и толуолсульфоновой кислоты, характеризующихся соотношением соединение (I):кислота, равным (от 1 до 2):(от 1 до 3).

В некоторых случаях соединений общей формулы I: 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 разными; R^1 представляет собой водород; n равно 1 или 2; 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 метил;

Или

A^1 и R^2 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют незамещенное 4-членное кольцо;

R^3 обозначает 1 или 2 необязательных заместителя, которые могут быть независимо выбраны из группы, состоящей из

- F и Cl,
- циано,
- трифторметила,
- метокси, и
- карбоксильной группы;

R^4 выбран из группы, состоящей из

- водорода,
- Cl,
- метила, и
- трифторметила.

В некоторых случаях соли выбраны из солей соединений формулы (I) с кислотами из группы, состоящей из бензойной кислоты, лимонной кислоты, фумаровой кислоты, соляной кислоты, молочной кислоты, яблочной кислоты, малеиновой кислоты, метансульфоновой кислоты, фосфорной кислоты, янтарной кислоты, серной кислоты, винной кислоты и толуолсульфоновой кислоты, характеризующихся соотношением соединение (I):кислота, равным (от 1 до 2):(от 1 до 3).

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I): 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 равно 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 незамещенное 4-членное кольцо; R^3 обозначает водород, таким образом формируя незамещенное концевое бензимидазолильное кольцо; R^4 выбран из группы, состоящей из

- водорода,
- Cl, и
- метила или его соли;

где соли выбраны из солей соединений формулы (I) с кислотами из группы, состоящей из бензойной кислоты, лимонной кислоты, фумаровой кислоты, соляной кислоты, молочной кислоты, яблочной кислоты, малеиновой кислоты, метансульфоновой кислоты, фосфорной кислоты, янтарной кислоты, серной кислоты, винной кислоты и толуолсульфоновой кислоты, характеризующихся соотношением соединения (I):кислота, равным (от 1 до 2):(от 1 до 3).

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I): 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 разными; R^1 представляет собой водород; n равно 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;

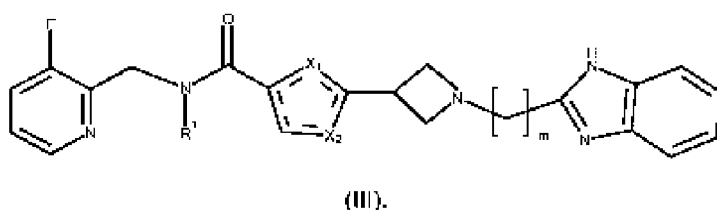
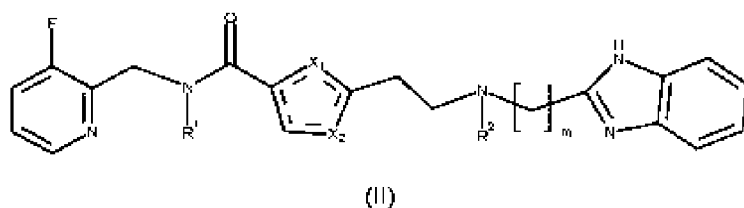
или

A^1 и R^2 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют незамещенное 4-членное кольцо; R^3 обозначает водород, таким образом формируя незамещенное концевое бензимидазолильное кольцо; и R^4 представляет собой водород; или его соль.

В некоторых вариантах осуществления соли выбраны из солей соединений формулы (I), (II), (III) или соединений согласно WO 2020/123850 A1, определенных ниже, с кислотами из группы, состоящей из бензойной кислоты, лимонной кислоты, фумаровой кислоты, соляной кислоты, молочной кислоты, яблочной кислоты, малеиновой кислоты, метансульфоновой кислоты, фосфорной кислоты, янтарной кислоты, серной кислоты, винной кислоты и толуолсульфоновой кислоты, характеризующихся соотношением соединения (I): кислота, равным (от 1 до 2):(от 1 до 3); и

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I): $n = 1$; $R^3 =$

водород; R^4 = водород; A^1 = этан-1,2-диил; A^2 = метилен, этан-1,2-диил или пропан-1,3-диил; R^2 = водород; или A^1 и R^2 вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют необязательно замещенное 4-членное кольцо, формируя соединения согласно приведенной ниже формуле (II) или (III):



где в формулах (II) и (III)

m представляет собой целое число 1, 2 или 3, и

X^1 , X^2 и R^1 имеют значения, определенные выше, в любом варианте осуществления, включающем соединения формулы (I).

В частности, в формулах (II) и (III) X^1 и X^2 имеют значение как определено выше в (A).

В формуле (II) R^1 и R^2 предпочтительно представляют собой водород.

В формуле (III) R^1 предпочтительно представляет собой водород, а m предпочтительно равно 2.

В еще одном предпочтительном варианте осуществления соединений общей формулы (II): X^1 и X^2 выбраны из N и O и отличаются друг от друга; R^1 = водород; R^2 = водород; и $m = 2$.

Соединения (I), (II) или (III) или соединения согласно WO 2020/123850 A1, определенные ниже, образующие соли, также называются «основанием» или «свободным основанием». Соединения согласно формуле (I), (II) или (III) или соединения согласно WO 2020/123850 A1, определенные ниже, в форме свободного основания имеют по меньшей мере одну основную группу, такую как аминогруппы, с которой могут связываться кислотные группы.

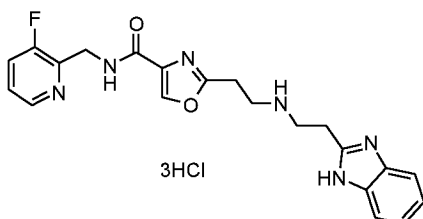
Соли соединений формулы (I), (II) или (III) или соединений согласно WO 2020/123850 A1, определенные ниже, могут быть выбраны из солей, имеющих соотношение основание (соединение (I), (II) или (III)):кислота, равное (от 1 до 2):(от 1 до 3), где в том, что касается солеобразующих кислот, сделана отсылка к выбору в

соответствии с определением выше.

Соединения могут представлять собой смешанные соли основания (соединение (I), (II) или (III)) с одной или несколькими кислотами, указанными выше, и которые могут иметь одинаковые или разные соотношения основание:кислота. Кислоты обеспечивают противоион для катионной формы соединения (I), (II) или (III).

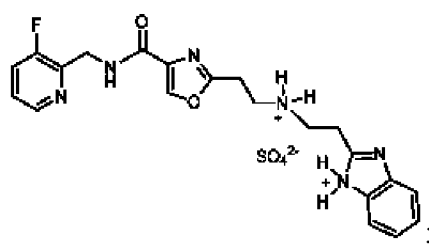
Особо предпочтительными являются соли 3HCl соединений, описанных выше.

В особо предпочтительном варианте осуществления способ включает введение 3HCl соли Соединения 127.

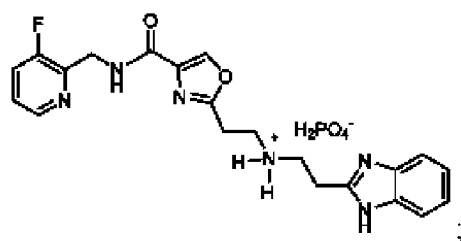


В еще одном аспекте изобретения Соединение 127 можно вводить в форме одной из следующих солей:

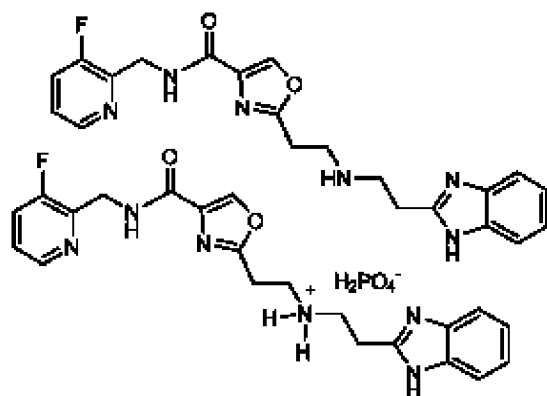
сульфатная соль 1:1, имеющая формулу



фосфатная соль 1:1, имеющая формулу

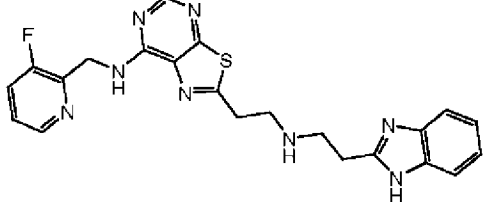
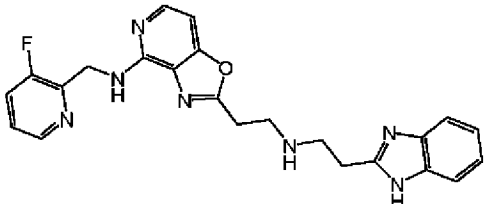
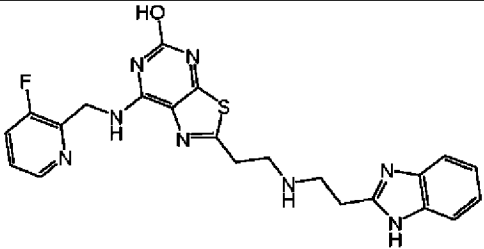
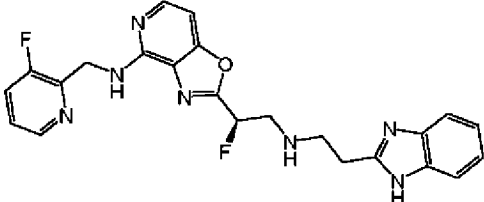
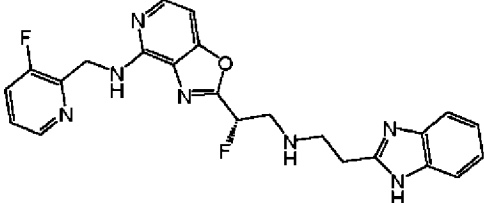
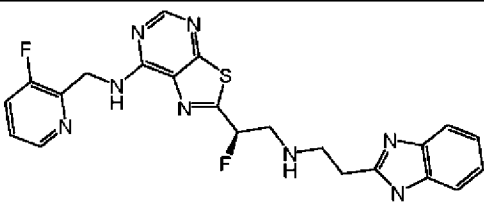


фосфатная соль 2:1 (гемифосфат)



Другими соединениями, действующими как ингибиторы ферропортина и

подходящими для лечения СКБ, как определено в настоящем документе, являются те, которые описаны в WO 2020/123850 A1, включенном в настоящую заявку посредством ссылки во всей полноте. Конкретные соединения из описанных в WO 2020/123850 A1, подходящие для лечения СКБ, как определено в настоящем документе, могут быть выбраны из группы, состоящей из:

Структура	Наименование IUPAC	Установленная 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

Соединения, описанные в WO 2020/123850 A1 и выбранные из вышеуказанной группы, могут быть использованы в качестве новой комбинированной терапии для лечения СКБ путем применения соединений в составе комбинированной терапии с индукторами фетального гемоглобина (HbF). В предпочтительном варианте

осуществления соединения 2-(2-{[2-(1H-1,3-бензодиазол-2-ил)этил]амино}этил)-N-[(3-фторпиридин-2-ил)метил]-[1,3]оксазоло[4,5-с]пиридин-4-амин применяют в комбинированной терапии с индуктором фетального гемоглобина (HbF) для лечения СКБ.

Описание чертежей

Фиг. 1: Влияние Соединения 127 на гемолиз эритроцитов мышей Townes. Показаны уровни в плазме внеклеточного гемоглобина, гема и лактатдегидрогеназы (LDH). Маркеры гемолиза измеряли с использованием коммерческих наборов (набор для внеклеточного гемоглобина № CSB E09632h, Cusabio; набор для анализа гема № MAK316, Sigma Aldrich) в соответствии с инструкциями производителя. LDH измеряли в плазме с помощью автоматического биохимического анализатора Hitachi. Показаны индивидуальные значения и среднее значение $\pm$ стандартное отклонение; статистический анализ был проведен путем сравнения всех опытных групп с группой HbSS, получавшей носитель, с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием множественного сравнения Даннета, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, $n=9-10$ мышей в группе.

Фиг. 2: Показатели эритроцитов у мышей Townes, получавших в течение 6 недель Соединение 127 или носитель. Показаны индивидуальные значения и среднее значение $\pm$ стандартное отклонение; статистический анализ был проведен путем сравнения всех опытных групп с группой HbSS, получавшей носитель, с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием множественного сравнения Даннета, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, $n=9-10$ мышей в группе.

Фиг. 3: Соединение 127 корректировало повышенное количество лейкоцитов у мышей Townes. Показаны индивидуальные значения и среднее значение $\pm$ стандартное отклонение; статистический анализ был проведен путем сравнения всех опытных групп с группой HbSS, получавшей носитель, с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием множественного сравнения Даннета, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, $n=5-10$ мышей в группе.

Фиг. 4: Соединение 127 уменьшало размер селезенки и печени у мышей Townes. Показаны индивидуальные значения и среднее $\pm$ стандартное отклонение; статистический анализ был выполнен путем сравнения всех опытных групп с группой HbSS, получавшей носитель, с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием множественных сравнений Даннета, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, $n=9-10$ мышей в группе.

Фиг. 5: Уровни общего железа и ^{58}Fe в органах у мышей Townes, получавших Соединение 127 или носитель в течение 6 недель. Показаны индивидуальные значения и

среднее значение $\pm$ стандартное отклонение; статистический анализ был проведен путем сравнения всех опытных групп с группой HbSS, получавшей носитель, с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием множественного сравнения Даннета, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, $n=8-10$ мышей в группе.

Фиг. 6: Соединение 127 снижало процент зрелых эритроцитов, содержащих митохондрии, у мышей с СКБ, получавших Соединение 127 в течение 6 недель.

Фиг. 7: Соединение 127 снижало уровень sVCAM-1 в плазме у мышей Townes. sVCAM-1 измеряли с помощью ИФА. Показаны индивидуальные значения и среднее значение $\pm$ стандартное отклонение; статистический анализ был проведен путем сравнения всех опытных групп с группой HbSS, получавшей носитель, с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием множественного сравнения Даннета, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, $n=6-9$ мышей в группе.

Фиг. 8. Железо плазмы определяли через 3 часа после последней дозы Соединения 127 на 43/44 день. Показаны отдельные значения со средним значением $\pm$ стандартное отклонение. Указаны значимые различия по сравнению с группой HbSS, получавшей носитель: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (однофакторный дисперсионный анализ с критерием множественного сравнения Даннета).

Фиг. 9. МСНС (слева) и СНСМ (справа) у мышей HbSS и HbAA на 43/44 день, при измерении с помощью автоматического анализатора крови Siemens Advia 120. Показаны отдельные значения со средним значением $\pm$ стандартное отклонение. Указаны значимые различия по сравнению с группой HbSS, получавшей носитель: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (однофакторный дисперсионный анализ с критерием множественного сравнения Даннета).

Фиг. 10. Процент гипохромных (вверху слева), микроцитарных (вверху справа), гиперхромных (внизу слева) и макроцитарных (внизу справа) эритроцитов у самцов и самок HbSS и HbAA на 43/44 день, при измерении с использованием автоматического анализатора крови Siemens Advia 120. Показаны отдельные значения со средним значением $\pm$ стандартное отклонение. Указаны значимые различия по сравнению с группой HbSS, получавшей носитель: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (однофакторный дисперсионный анализ с критерием множественного сравнения Даннета).

Фиг. 11. Общий билирубин и непрямой билирубин в плазме мышей HbSS и HbAA на 43/44 день исследования. Показаны отдельные значения со средним значением $\pm$ стандартное отклонение. Указаны значимые различия по сравнению с группой HbSS, получавшей носитель S: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (однофакторный дисперсионный анализ с критерием множественного сравнения Даннета).

Фиг. 12. Уровни sP-селектина (слева) и RANTES (справа) в плазме мышей HbSS и HbAA в конце исследования. Показаны отдельные значения со средним значением $\pm$ стандартное отклонение. Указаны значимые различия по сравнению с группой HbSS, получавшей носитель: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (однофакторный дисперсионный анализ с критерием множественного сравнения Даннета).

Фиг. 13. Активность ксантиноксидазы (ХО) в плазме и внутриклеточные АФК в цельной крови мышей HbSS и HbAA. Активность ХО в плазме и процент ROS-позитивных зрелых эритроцитов показаны как отдельные значения со средним значением $\pm$ SD. Указаны значительные различия по сравнению с группой HbSS, получавшей носитель: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (однофакторный дисперсионный анализ с критерием множественного сравнения Даннета).

Фиг. 14. Соединение 127 восстанавливало внутриклеточное железо (^{56}Fe и ^{58}Fe) в эритроцитах мышей Townes. Внутриклеточное содержание ^{56}Fe и ^{58}Fe определяли в отмытых эритроцитах мышей Townes методом ICP-MS (масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой) и нормализовали по количеству эритроцитов. Показаны индивидуальные значения со средним значением $\pm$ стандартное отклонение, статистический анализ был выполнен путем сравнения всех опытных групп с группой HbSS, получавшей носитель, с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием множественного сравнения Даннета, * $p < 0,05$, $n=6-9$ мышей в группе.

Фиг. 15. Соединение 127 уменьшало перипортальное воспаление и экспрессию мРНК хемокина CXCL1 в печени мышей Townes. Возникновение перипортального воспаления оценивали на парафиновых срезах, окрашенных H&E. Экспрессию мРНК CXCL1 из общей РНК печени оценивали с помощью ОТ-кПЦР. Показаны индивидуальные баллы или отдельные deltaCt и среднее значение $\pm$ стандартное отклонение, статистический анализ проводили путем сравнения всех опытных групп с группой HbSS, получавшей носитель, с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием множественного сравнения Даннета, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, $n=7-11$ мышей в группе.

Фиг. 16. Соединение 127 снижает биомаркер повреждения печени. Активность аланин-аминотрансферазы (АлАТ) в плазме измеряли с помощью автоматического биохимического анализатора Hitachi. Показаны индивидуальные значения со средним значением $\pm$ стандартное отклонение, статистический анализ проводили с помощью непарного двустороннего критерия Стьюдента, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, $n=9-10$ мышей в группе.

Фиг. 17. Соединение 127 снижало экспрессию мРНК IL-1 β в легких мышей Townes.

Экспрессию мРНК интерлейкина-1-бета из общей РНК легких оценивали посредством ОТ-кПЦР (RT-qPCR). Показаны индивидуальные deltaCt и среднее $\pm$ SD, статистический анализ был проведен путем сравнения всех опытных групп с группой HbSS, получавшей носитель, с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием множественного сравнения Даннета, * $p < 0,05$, $n = 8-12$ мышей на группу.

На фиг. 1-17 «VIT-2763» обозначает Соединение 127 (в форме его соли 3HCl).

Подробное описание изобретения

Мыши Townes были генетически модифицированы для экспрессии исключительно гемоглобина серповидных эритроцитов человека (Ryan et al. 1990 Science 247:566). Мыши Townes имеют анемию, повышенное количество ретикулоцитов, спленомегалию, воспаление сосудов и склонны к ОС в ответ на гипоксию, воспаление и гемолиз.

В исследованиях, описанных ниже, использовали самцов и самок мышей, гомозиготных по человеческому HbS (HbSS), и контрольных мышей (HbAA), экспрессирующих человеческий гемоглобин дикого типа (WT) HbA.

Первое исследование (фиг. 1-7):

Мыши были приобретены в Jackson Laboratories (B6;129 Hbbtm2 (HBG1,HBV*)^{Tow}/Hbbtm3(HBG1,HBV)^{Tow} Hbatm1(HbA)^{Tow}/J, инвентарный номер: 013071; «мыши Townes») в возрасте от 10 до 12 недель, и получали диету с низким содержанием железа (10-13 ppm железа, Granovit) и перорально два раза в день (дважды в день) Соединение 127 в дозе 60 или 120 мг/кг массы тела или носитель (0,5% метилцеллюлоза/вода) в течение 6 недель, за исключением выходных. В промежутках между дозами соединения мышам давали питьевую воду, содержащую стабильный изотоп железа ^{58}Fe (1 mM $^{58}\text{Fe(II)SO}_4$ с добавлением 10 mM аскорбиновой кислоты в качестве восстановителя), чтобы заменить железо, присутствующее в стандартных рационах грызунов (250 ppm железа). Меченое ^{58}Fe позволяло различать железо, поглощенное во время и до исследования.

Второе исследование (фиг. 8-13):

Мышей Townes (6-недельного возраста, Jackson Laboratories, № 013071), гомозиготных по HbS (HbSS), кормили диетой с низким содержанием железа (LID, Granovit, кат. 2039, партия 0001906903, содержание железа 8,6 мг/кг) и вводили соединение 127 per os (перорально) два раза в день (bid) в дозе 60 мг/кг или с 0,5% метилцеллюлозой (МЦ) в качестве носителя. Мыши имели доступ к питьевой воде (ПВ) с добавлением 1 mM $^{58}\text{Fe(II)}$ сульфата и 10 mM аскорбиновой кислоты в течение 6 часов после первой дозы. Концентрация сульфата $^{58}\text{Fe(II)}$, подаваемого в ПВ, была скорректирована в дополнение к пищевым добавкам железа до уровня стандартного

рациона грызунов с содержанием железа 250 мг/кг. В течение оставшихся 18 часов давали воду без железа и аскорбиновой кислоты. Не-СКБ мышам Townes (HbAA), экспрессирующим нормальный гемоглобин человека (дикий тип, WT), дважды вводили носитель и использовали в качестве контроля. Дозирование Соединения 127 или носителя с последующим воздействием воды, содержащей ^{58}Fe , повторяли в течение 44 дней. В выходные дни (ВД) дозирование было приостановлено, и мыши имели доступ к рациону с низким содержанием железа и минеральной воде без ^{58}Fe без ограничения.

Железо плазмы определяли с помощью анализа MULTIGENT Iron (Abbott Diagnostics).

Гематологические параметры определяли в образцах цельной крови, взятых в последний день исследования (день 43/44), и измеряли с помощью системы Siemens Advia 120.

АФК в эритроцитах определяли с помощью индикатора хлорметил-2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата (CM-H2DCFDA, Invitrogen, Cat. C6827) в зрелых эритроцитах, меченных APC-eFluor780-конъюгированными крысиными антимышиными антителами Ter119 и PE-конъюгированными крысиными анти-мышинными антителами к CD71 (eBioscience, Cat. 47-5921-82 и 12-0711).

Активность ксантиноксидазы в плазме измеряли с использованием набора для анализа активности ксантиноксидазы (Sigma-Aldrich, кат. MAK078).

Билирубин плазмы измеряли с помощью набора для анализа (Sigma-Aldrich, кат. MAK126) в соответствии с инструкциями производителя.

Уровень sP-селектина и RANTES в плазме измеряли с помощью наборов ИФА (R&D Systems, кат. MVC00 и кат. DY478-05, соответственно) в соответствии с инструкциями производителя.

Активность Соединения 127 в предотвращении окклюзии сосудов при лечении серповидно-клеточной анемии (СКБ) можно определить с использованием мышинной модели, описанной в WO 2018/192973, такой как, например, описана Yulin Zhao et al. в "MEK1/2 inhibitors reverse acute vascular occlusion in mouse models of sickle cell disease"; The FASEB Journal Vol. 30, No. 3, pp 1171-1186, 2016. Указанная мышинная модель может быть соответствующим образом адаптирована для определения активности Соединения 127 или соединений из дополнительных вариантов осуществления изобретения при лечении ОС при серповидно-клеточной анемии. Можно выполнить подходящую адаптацию к оптимизированным условиям испытаний, что является обычной работой специалиста в данной области техники.

В двух исследованиях, описанных в Примерах 1-17, использовали соль ZnCl

Соединения 127.

Пример 1. Соединение 127 уменьшало гемолиз у мышей Townes

Эритроциты мышей Townes склонны к гемолизу, о чем свидетельствуют повышенные уровни внеклеточного гемоглобина, гема, LDH в контрольной группе HbSS, получавшей носитель (фиг. 1). Примечательно, что Соединение 127 значительно снижало уровни внеклеточного гемоглобина, гема и LDH, что свидетельствует о том, что ингибирование ферропортина Соединением 127 уменьшало гемолиз у мышей Townes (фиг. 1).

Пример 2. Влияние Соединения 127 на показатели эритроцитов

Первое исследование (фиг. 1-7):

Мыши HbSS страдают анемией с патологически измененными гематологическими параметрами, указывающими на гемолитическую анемию, такими как снижение количества эритроцитов, Hb и компенсаторный ретикулоцитоз, а также повышенное количество лейкоцитов по сравнению с мышами HbAA. Гематологические параметры измеряли в свежей ЭДТА-крови на автоматическом анализаторе клеток крови после 6 недель лечения Соединением 127. Пероральное применение Соединения 127 у мышей HbSS в течение шести недель снижало общий Hb, количество эритроцитов, гематокрит, средний объем эритроцитов (MCV) и среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH). Снижение уровня HbS в эритроцитах у пациентов с СКБ было связано со снижением агрегации HbS и клиническим эффектом (Castro O. Am. J. Hematol., 1994).

Второе исследование (фиг. 8-13):

У мышей Townes HbSS уровни железа в плазме аналогичны контрольным группам HbAA. Во втором исследовании Соединение 127 вводили мышам HbSS в течение 44 дней два раза в день в дозе 60 мг/кг, а содержание железа в плазме измеряли через 3 часа после последней дозы соединения в качестве маркера острой эффективности. Уровни железа в плазме у мышей HbSS, получавших Соединение 127, были значительно снижены, что свидетельствует об эффективности Соединения 127 в отношении ингибирования транспорта железа в кровотоке (фиг. 8).

Кроме того, средняя концентрация корпускулярного гемоглобина (MCHC) была значительно снижена у мышей Townes, получавших Соединение 127 (фиг. 9, слева). MCHC рассчитывают путем деления средней концентрации Hb в лизированной крови на гематокрит. При гемолитических заболеваниях, таких как СКБ, значение MCHC может быть неверно оценено из-за наличия свободного гемоглобина в гемолизированных образцах крови. Чтобы избежать потенциальных артефактов из-за чрезмерного гемолиза у мышей Townes, концентрацию HbS в эритроцитах оценивали на основе параметра средней

концентрации Hb в эритроцитах (CHCM). CHCM измеряют по рассеянию лазерного излучения и используют для обратного расчета клеточного Hb, который отражает содержание гемоглобина в интактных эритроцитах. На CHCM не влияет гемолиз, и его значение было значительно ниже у мышей HbSS, получавших Соединение 127, что дополнительно демонстрирует, что ограничение содержания железа Соединением 127 снижает концентрацию HbS на модели СКБ (фиг. 9, справа). Кроме того, анализ диаграммы рассеяния распределения эритроцитов на основе их объема и концентрации гемоглобина выявил значительное увеличение процентного содержания гипохромных и микроцитарных эритроцитов в соответствии со снижением макроцитарных эритроцитов у мышей HbSS, получавших Соединение 127 (фиг. 10). Гематологический анализ образцов крови мышей Townes показывает, что, блокируя ферропортин, Соединение 127 индуцирует ограниченный железом эритропоэз, что приводит к снижению концентрации HbS в эритроцитах. Снижение уровня HbS в эритроцитах у пациентов с СКБ было связано со снижением агрегации HbS и клиническим эффектом (Castro O. *Am. J. Hematol.*, 1994). Таким образом, снижение уровня HbS с помощью Соединения 127 может быть новым терапевтическим подходом при СКБ.

Как показано в первом исследовании, Соединение 127 ослабляло гемолиз у мышей Townes, о чем свидетельствует снижение внеклеточного гемоглобина, гема и LDH (фиг. 1). Кроме того, как показано во втором исследовании, Соединение 127 снижает общий и непрямой билирубин, которые являются клинически значимыми маркерами гемолиза, что дополнительно подтверждает эффективность соединения в снижении гемолиза (фиг. 11).

Взаимодействие эритроцитов, активированных лейкоцитов и свободного гема с эндотелием вызывает воспаление сосудов и способствует окклюзии сосудов и повреждению органов. Эндотелиальная дисфункция при СКБ связана с повышенным уровнем растворимых молекул адгезии, таких как sVCAM-1 и sP-селектин.

Два независимых исследования показали, что Соединение 127 значительно снижает sVCAM-1 (фиг. 7, первое исследование) и sP-селектин (фиг. 12 слева, второе независимое исследование), что указывает на способность Соединения 127 уменьшать воспаление сосудов, тем самым предотвращая сосудистую окклюзию на модели СКБ Townes.

Гем, полученный из эритроцитов, может действовать как молекулярный паттерн, ассоциированный с повреждением, который активирует систему врожденного иммунитета, что приводит к выработке оксидантов, воспалению, окклюзии сосудов, ишемии и повреждению тканей (Belcher JD et al. *J. Clin. invest.*, 2006). Мыши Townes и пациенты с СКБ имеют повышенный уровень лейкоцитов в кровотоке, которые

продуцируют провоспалительные цитокины и хемокины, привлекая дополнительные воспалительные клетки и активируя эндотелий. Например, у мышей HbSS повышен уровень хемокина RANTES (CCL5) в плазме, который участвует в рекрутировании лейкоцитов в очаги воспаления. Лечение Соединением 127 значительно снижало уровни RANTES у мышей HbSS (фиг. 12, справа), позволяя предположить, что Соединение 127 не только снижает количество лейкоцитов в кровотоке (фиг. 3), но также подавляет их провоспалительную активность.

Активность ксантиноксидазы плазмы (ХО) подвергается повышающей регуляции у пациентов с СКБ и определяется как источник повышенной продукции супероксида и перекиси водорода в сосудах. Сообщается также о повышенной активности ХО в плазме мышей Townes (Osarogiagbon UR et al., Blood, 2000; Aslan M et al., PNAS, 2001), и она считается важным источником продукции АФК и окислительного повреждения тканей. Действительно, активность ХО была значительно выше у мышей HbSS по сравнению с мышами HbAA. Соединение 127 снижало активность ХО в плазме мышей с HbSS, что свидетельствует об уменьшении окислительного повреждения сосудов (фиг. 13, слева). Кроме того, проточный цитометрический анализ внутриклеточных АФК в клетках крови с использованием флуоресцентного индикатора CM-H2DCFDA показал, что большинство эритроцитов мышей HbSS имеют высокие уровни АФК, а лечение Соединением 127 в дозе 60 мг/кг два раза в день значительно снижает их (фиг. 13 справа).

Снижение уровня HbS Соединением 127 может оказывать положительное влияние на эритроциты. Важно отметить, что Соединение 127 значительно снижало количество ретикулоцитов, которое существенно увеличивается при СКБ из-за компенсаторного ответа на гемолиз (фиг. 2).

В совокупности эти данные ясно демонстрируют способность Соединения 127 уменьшать окислительный стресс и воспаление сосудов, что может привести к уменьшению адгезии клеток крови к эндотелию сосудов и, в конечном итоге, к предотвращению окклюзии сосудов на модели СКБ Townes.

Пример 3. Влияние Соединения 127 на показатели лейкоцитов

Лейкоцитоз при СКБ связан с увеличением частоты болевого криза, острого грудного синдрома, инсульта и смертности (Platt, NEJM, 1991). Неожиданно лечение мышей Townes Соединением 127 значительно снизило количество лейкоцитов в крови, особенно нейтрофилов и лимфоцитов (фиг. 3). Эти данные свидетельствуют о том, что Соединение 127 может оказывать благотворное влияние на воспаление при СКБ.

Пример 4. Соединение 127 уменьшало размер селезенки и печени у мышей Townes

Селезенки мышей Townes значительно увеличены (до 7-кратного увеличения по

сравнению с WT) из-за стрессового эритропоэза. Примечательно, что Соединение 127 уменьшало размер селезенки мышей Townes, демонстрируя, что Соединение 127 улучшает экстрамедуллярный эритропоэз (фиг. 4, слева). Кроме того, Соединение 127 скорректировало повышенную массу печени мышей Townes до уровней, близких к WT (фиг. 4, в середине). Масса почек у мышей Townes находится в пределах диапазона однопометников дикого типа и не изменилась после лечения Соединением 127 (фиг. 4, справа).

Пример 5. Соединение 127 предотвращало накопление железа в органах и снижало общее содержание железа в почках у мышей Townes

Мыши Townes накапливают избыточное количество железа в органах, таких как печень, почки и селезенка, в результате внутрисосудистого и внесосудистого гемолиза дефектных эритроцитов. Подсчитано, что около 1/3 гемолиза при СКБ происходит внутри сосудов из-за механического разрушения деформированных и неэластичных эритроцитов, тогда как 2/3 происходит вне сосудов, в результате удаления аномальных эритроцитов макрофагами (Hebbel RP, Am. J. Hematol., 2011). Кроме того, анемия приводит к усилению индуцируемого гипоксией фактора (HIF)-2 альфа в кишечнике, что вызывает избыточную абсорбцию железа (Das N. et al., J.Biol. Chem. 2015).

Пероральное применение в фармакокинетических исследованиях на грызунах показывает, что Соединение 127 системно доступно, что позволяет предположить, что оно способно блокировать экспорт железа во всех экспрессирующих ферропортин тканях, включая двенадцатиперстную кишку (абсорбция железа из пищи), печень (запасы железа в гепатоцитах и макрофагах) и селезенку (железо в макрофагах из стареющих эритроцитов). Чтобы различить влияние Соединения 127 на ранее существовавшее и вновь поглощенное железо в органах, мышам во время исследования давали питьевую воду, содержащую стабильный изотоп железа ^{58}Fe . Общее содержание железа и содержание ^{58}Fe в органах мышей HbSS, получавших носитель или Соединение 127, анализировали с помощью оптической эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-OES) и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS), соответственно. Соединение 127 не изменяет общую концентрацию железа в печени и содержание железа в селезенке у мышей Townes, что согласуется с ингибированием опосредованного ферропортином экспорта железа из этих тканей (фиг. 5, верхняя левая и средняя панели). Неожиданно Соединение 127 значительно снизило общую концентрацию железа в почках мышей Townes (фиг. 5, верхняя правая панель). Нарушения метаболизма железа в почках и отложения железа в коре головного мозга характерны для СКБ и связаны с почечными осложнениями (Vazquez-Meves G et al.,

Blood, 2016). Таким образом, снижение содержания железа в почках с помощью Соединения 127 может оказывать благотворное влияние на функцию почек при СКБ.

Важно отметить, что концентрации ^{58}Fe в печени, почках и селезенке мышей Townes, которым вводили Соединение 127, были значительно ниже по сравнению с таковыми у мышей, получавших носитель, что указывает на то, что Соединение 127 предотвращает дальнейшее накопление железа в органах (фиг. 5, нижние панели).

Пример 6. Соединение 127 снижает маркеры апоптоза и улучшает клиренс митохондрий в зрелых серповидных эритроцитах у мышей Townes

Полимеризация HbS вызывает образование свободных радикалов, дегидратацию и повреждение мембран эритроцитов, что может привести к апоптозу клеток. Апоптотические эритроциты высвобождают фосфатидилсерин (ФС) во внеклеточное пространство, что является сигналом, направляющим фагоцитоз эритроцитов. Воздействие ФС на эритроциты измеряли с помощью окрашивания эритроцитов аннексином V и проточной цитометрии. Соединение 127 уменьшало воздействие ФС на эритроциты дозозависимым образом, что указывает на то, что ограничение содержания железа улучшает организацию мембран и потенциально выживаемость эритроцитов (фиг. 6, слева).

Предшественники эритроцитов у здоровых людей элиминируют свои митохондрии в процессе терминальной дифференцировки путем митофагии. Сообщалось об аномальном сохранении митохондрий в зрелых эритроцитах у пациентов и мышей с СКБ (Jagadeeswaran et al., 2017). Сохранение митохондрий в эритроцитах изучали с помощью проточной цитометрии с использованием антител Ter119 и CD71 для различения состояния созревания эритроцитов и MitoTracker для детекции митохондрий. Примечательно, что эритроциты мышей Townes, получавших Соединение 127 в обеих дозах, имели меньшую долю зрелых эритроцитов, содержащих митохондрии (фиг. 6, справа). Модели мышей со специфическими делециями в генах митофагии показали снижение выживаемости эритроцитов из-за сохранения митохондрий (Sandoval et al., 2008; Mortensen et al., 2010). Это убедительно свидетельствует о том, что уменьшение доли сохраняющих митохондрии эритроцитов с помощью Соединения 127 при СКБ может положительно влиять на продолжительность жизни эритроцитов.

Пример 7. Соединение 127 снижало маркер сосудистого воспаления на модели СКБ Townes

Взаимодействие эритроцитов, активированных лейкоцитов и свободного гема с эндотелием вызывает воспаление сосудов и способствует окклюзии сосудов и поражению органов. Эндотелиальная дисфункция при СКБ связана с повышенным уровнем

растворимых молекул адгезии, таких как молекула сосудистой адгезии 1 (sVCAM-1). В соответствии со снижением гемолиза (фиг. 1) и уменьшением числа лейкоцитов (фиг. 3), лечение Соединением 127 значительно снижало уровни sVCAM-1 у мышей Townes (фиг. 7). Эти данные демонстрируют способность Соединения 127 уменьшать воспаление сосудов на модели СКБ Townes, что может предотвращать окклюзию сосудов.

Пример 8. Определение активности Соединения 127 при лечении окклюзии сосудов при серповидно-клеточной болезни на мышинной модели

Способ, описанный в WO 2018/192973, можно использовать для определения активности соединений-ингибиторов ферропортина по настоящему изобретению.

Используя мышиную модель, как описано Yulin Zhao et al. в “MEK1/2 inhibitors reverse acute vascular occlusion in mouse models of sickle cell disease”; The FASEB Journal Vol. 30, No. 3, pp 1171-1186, 2016, активность Соединения 127 при лечении серповидно-клеточной анемии можно определить следующим образом:

Кризисы окклюзии сосудов (ОС) являются основной причиной заболеваемости и смертности у пациентов с СКБ. Гипоксия, обезвоживание, воспаление или гемолиз способствуют увеличению адгезии серповидных эритроцитов, нейтрофилов и тромбоцитов к активированному эндотелию в мелких сосудах, способствуя коагуляции, окклюзии сосудов, болезненным кризам и необратимому повреждению многих органов. Высокий уровень лейкоцитов, особенно активированных нейтрофилов, коррелирует с ранней смертью, бессимптомными инфарктами головного мозга, геморрагическими инсультами и острым грудным синдромом у пациентов с СКБ (Platt OS, NEJM, 1994). Гемолиз при СКБ возникает из-за повреждения мембран серповидных эритроцитов, вызывая хроническую анемию и высвобождение Hb в кровотоке, что способствует воспалению за счет истощения NO, вызывая окислительный стресс и высвобождая гем. Серповидные эритроциты выделяют микровезикулы, которые запускают выработку активных форм кислорода (АФК) эндотелиальными клетками, стимулируют адгезию лейкоцитов и индуцируют эндотелиальный апоптоз фосфатидилсерин-зависимым образом, способствуя острой окклюзии сосудов при СКБ (Camus M, Blood, 2012).

На основании этих данных можно предположить, что соединения по настоящему изобретению могут снижать окклюзию сосудов при СКБ путем уменьшения гемолиза в серповидных эритроцитах и последующего предотвращения адгезии лейкоцитов к эндотелию.

Для проверки этой гипотезы носитель или соединения по настоящему изобретению вводят перорально в дозе 30 или 100 мг/кг два раза в сутки (BID) в течение 4 недель на модели СКБ у мышей Townes (Ryan T, Science, 1990). Эти мыши были генетически

модифицированы для экспрессии исключительно человеческого гемоглобина (h α /h α :: β S/ β S, The Jackson Laboratories). Мыши Townes имеют анемию, повышенное количество ретикулоцитов, спленомегалию, воспаление сосудов, и склонны к сосудистой окклюзии в ответ на гипоксию, воспаление и гемолиз. Для изучения влияния ингибиторов ферропортина на адгезию лейкоцитов и серповидных эритроцитов к воспаленному эндотелию мышей Townes, получавших носитель или ингибитор ферропортина в течение 25 дней, анестезируют и хирургическим путем имплантируют «кожное окно» в дорсальную кожную складку в стерильных условиях, как описано ранее (Kalambur VS et al., Am J Hematol., 2004; Zennadi, R et al., Blood, 2007). Через три дня после операции мышам вводят 0,5 мкг TNF α (фактора некроза опухоли-альфа) (R&D Systems), чтобы вызвать воспаление, приводящее к сосудистой окклюзии. Через 90 минут после введения TNF α лейкоциты и эритроциты метят *in vivo* внутривенной инъекцией Ly6G, конъюгированного с родамином (Sigma), и моноклонального антитела против TER119, конъюгированного с фикоэритрином (BioLegend), соответственно. Адгезию лейкоцитов и эритроцитов к эндотелию микрососудов контролируют в течение следующих 90 минут с помощью флуоресцентной интравитальной микроскопии, как описано ранее (Zhao et al, FASEB J, 2016). Вкратце, анестезированных животных с кожными окнами содержат при 37°C, кровоток и явления клеточной адгезии регистрируют с помощью цифровой видеокамеры C2400 (Hamamatsu Photonics KK, Хамамацу, Япония), соединенной с флуоресцентным микроскопом (Axoplan, Carl Zeiss). На одну мышь исследуют от двадцати до тридцати сегментов микрокапилляров, и адгезию клеток количественно оценивают на неподвижных изображениях путем измерения интенсивности флуоресценции прикрепленных флуоресцентно-меченых клеток с использованием программного обеспечения ImageJ. Результаты выражают в единицах флуоресценции на миллион клеток.

Вывод:

Таким образом, ограничение железа с помощью перорального ингибитора ферропортина Соединения 127 значительно снижало гемолиз, окислительный стресс, сосудистое и системное воспаление и улучшало морфологию эритроцитов, тем самым облегчая явления окклюзии сосудов и улучшая гемодинамику на модели СКБ Townes.

Ингибиторы ферропортина предотвращают острую окклюзию сосудов и повреждение органов на мышинной модели серповидно-клеточной анемии.

Пример 9 (фиг. 14). содержание железа в эритроцитах

Серповидные эритроциты содержат несколько дискретных компартментов железа, включая денатурированный гемоглобин и свободный гем, а также молекулярное железо,

связанное с мембранными фосфолипидами. Предполагается, что аномальные отложения железа на мембранах серповидных эритроцитов опосредуют окислительное повреждение мембранных структур, приводящее к их дисфункции (Browne P, Shalev O, Hebbel RP. The molecular pathobiology of cell membrane iron: the sickle red cell as a model. *Free Radic Biol Med.* 1998 Apr;24(6):1040-8). Кроме того, высокие концентрации HbS (MCHC и CHCM) в серповидных эритроцитах также связаны с кумулятивными аномалиями мембран, включая окислительное повреждение, возможно, из-за повышенного содержания железа в мембране. Таким образом, снижение общего внутриклеточного содержания железа в серповидных эритроцитах может быть полезным при СКБ. Внутриклеточное содержание ^{56}Fe и ^{58}Fe определяли в отмытых эритроцитах мышей Townes методом ICP-MS и нормализовали по количеству эритроцитов. Мыши HbSS, получавшие носитель, имели значительно более высокие уровни как внутриклеточного ^{56}Fe , так и ^{58}Fe по сравнению с мышами HbAA, несмотря на более низкие уровни гемоглобина, что свидетельствует об аномальном накоплении железа. Лечение Соединением 127 нормализовало содержание внутриклеточного железа в эритроцитах мышей Townes. Снижение содержания внутриклеточного железа в эритроцитах может быть связано не только непосредственно со снижением содержания гемоглобина (наблюдаемым как снижение MCHC и CHCM), но также и с уменьшением отложения мембранного железа. Этот результат подчеркивает способность Соединения 127 минимизировать вредное токсическое воздействие свободного железа на эритроциты при СКБ.

Пример 10 (фиг. 15). Воспаление печени

Известно, что сосудистое воспаление, вызванное взаимодействием серповидных эритроцитов, активированных лейкоцитов и свободного гема с эндотелием, способствует окклюзии сосудов (ОС) и повреждению органов. Соединение 127 значительно снижало маркеры сосудистого воспаления и лейкоциты в периферической крови, что свидетельствует о его способности уменьшать воспаление, ОС и последующее повреждение органов. Для оценки повреждения органов доли печени, выделенные от мышей Townes, получавших Соединение 127 в течение 6 недель, фиксировали в формалине, а парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином (H&E) для гистологического исследования. Среди основных патологических находок были мононуклеарные воспалительные инфильтраты в перипортальных областях, которые впоследствии были оценены патологоанатомом. Были применены следующие гистологические оценки: воспаление отсутствует (0), в отдельных портальных трактах наблюдается воспаление от легкой до умеренной степени (1), в умеренном количестве портальных трактов наблюдается воспаление от легкой до умеренной степени (2),

выраженное воспаление во многих портальных трактах (3). Гистопатологическая оценка выявила значительное уменьшение возникновения перипортального воспаления у мышей Townes, получавших Соединение 127, по сравнению с мышами Townes, получавшими носитель, что еще раз подтверждает эффективность соединения для снижения воспалительного состояния при СКБ.

Хемокин CXCL1 является критическим медиатором воспаления острого криза ОС у мышей с СКБ (Jang JE. CXCL1, а его рецептор, CXCR2, опосредует серповидно-клеточную окклюзию сосудов у мышей во время гемолитических трансфузионных реакций. *J Clin Invest.* 2011;121(4):1397 -1401). CXCL1 экспрессируется активированными эндотелиальными клетками и участвует в рекрутировании нейтрофилов в печени (Hilscher MB. Mechanical Stretch Increases Expression of CXCL1 in Liver Sinusoidal Endothelial Cells to Recruit Neutrophils, Generate Sinusoidal Microthrombi, and Promote Portal Hypertension. *Gastroenterology.* 2019;157(1):193-209), которые играют важную патологическую роль в кризе СКБ. У мышей Townes, получавших носитель, наблюдалась повышающая регуляция экспрессии мРНК CXCL1 в печени по сравнению с мышами HbAA, получавшими носитель, что продемонстрировало рекрутинг нейтрофилов в ткани печени, что согласуется с гистопатологическим анализом, упомянутым выше. Соединение 127 значительно снижало экспрессию CXCL1 в печени мышей HbSS, что указывает на защитную функцию против воспаления печени у мышей Townes.

Пример 11 (фиг. 16). АлАТ

Заболевания печени являются важной причиной заболеваемости и смертности у пациентов с СКБ. Известно, что модель СКБ на мышах Townes повторяет гепатоцеллюлярное повреждение, которое отражается повышенными уровнями аланин-аминотрансферазы (АлАТ) в плазме, клинически значимым биомаркером повреждения печени (Aslan M. Oxygen radical inhibition of nitric oxide-dependent vascular function in sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(26):15215-15220). Важно отметить, что Соединение 127 значительно снижало уровни АлАТ в плазме у мышей Townes, что подчеркивает способность соединения уменьшать повреждение тканей, вызванное ОС.

Пример 12 (фиг.17). Воспаление легких

Острый грудной синдром (ОГС) представляет собой легочное осложнение у больных СКБ со значительным совпадением с пневмонией. ОГС является второй наиболее частой причиной госпитализации и основной причиной смерти у лиц с СКБ. Вазоокклюзионные кризы (ВОК) часто предшествуют ОГС и характеризуются серповидностью эритроцитов, клеточной гиперадгезией и гемолизом (Novelli EM. Crises in Sickle Cell Disease. *Chest.* 2016;149(4):1082–1093). Провоспалительные цитокины

повышены в сыворотке больных серповидно-клеточной анемией и связаны с болевым кризисом и окклюзией сосудов. В частности, интерлейкин-1 β (IL-1 β) представляет собой провоспалительный цитокин, высвобождаемый активированными моноцитами, способный индуцировать активацию эндотелиальных клеток и играющий ведущую роль в патофизиологии легочной микрососудистой окклюзии при СКБ (Pathare A. Cytokines in Sickle Cell Disease. Hematology. 2003;8(5):329-337).

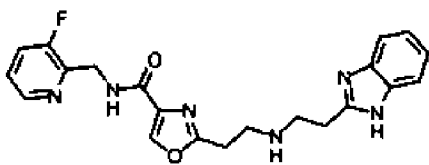
У мышей Townes, получавших носитель, наблюдалась активация экспрессии мРНК IL-1 β в легких по сравнению с мышами HbAA, получавшими носитель. Введение Соединения 127 снижало экспрессию IL-1 β в легких мышей HbSS. Хотя снижение экспрессии IL-1 β у мышей, получавших соединение, не было значительным, в основном из-за высокой вариабельности у мышей с HbSS, получавших носитель, тенденция сохранялась в независимых экспериментах, позволяя предположить, что Соединение 127 обладает потенциалом к снижению легочного воспаления и может защищать от легочной окклюзии сосудов и ОГС при СКБ.

Другие варианты осуществления

Следует понимать, что хотя изобретение было описано вместе с подробным описанием, приведенное выше описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации входят в объем следующей формулы изобретения.

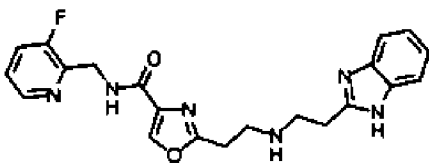
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение согласно следующей формуле



или его фармацевтически приемлемая соль для применения при лечении серповидно-клеточной болезни.

2. Соединение согласно следующей формуле



или его фармацевтически приемлемая соль для применения с целью профилактики и лечения воспаления сосудов и окклюзии сосудов.

3. Соединение для применения по п. 2, где профилактика и лечение воспаления сосудов и окклюзии сосудов включают защиту от воспаления печени и легких, уменьшение повреждения ткани, вызванного окклюзией сосудов, защиту от легочной окклюзии сосудов и острого грудного синдрома.

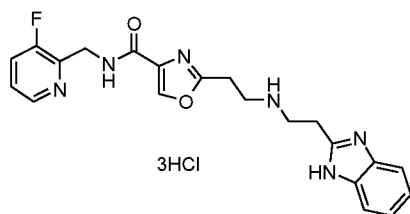
4. Соединение для применения по п. 2 и 3 у пациентов, страдающих серповидно-клеточной болезнью.

5. Соединение для применения по п. 1, 2, 3 или 4, где фармацевтически приемлемая соль выбрана из группы, состоящей из соли бензойной кислоты, соли HCl, соли лимонной кислоты, соли фумаровой кислоты, соли молочной кислоты, соли яблочной кислоты, соли малеиновой кислоты, соли метансульфоновой кислоты, соли фосфорной кислоты, соли янтарной кислоты, соли серной кислоты, соли винной кислоты и соли толуолсульфоновой кислоты.

6. Соединение для применения по п. 1, 4 или 5, где серповидно-клеточная болезнь выбрана из HbSS; HbSC; HbS β 0 талассемии; HbS β ⁺ талассемии, HbSD, HbSE и HbSO.

7. Соединение для применения по одному из пп. 1-6, представляющее собой соль HCl.

8. Соединение для применения по одному из пп. 1-7, представляющее собой соль 3HCl, имеющую следующую формулу



9. Соединение для применения по одному из пп. 1-8, находящееся в форме для перорального введения.

10. Соединение для применения по одному из пп. 1-9, которое находится в форме наполненной капсулы для перорального введения.

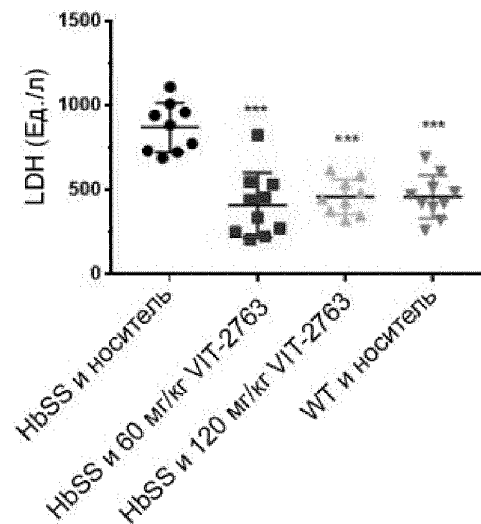
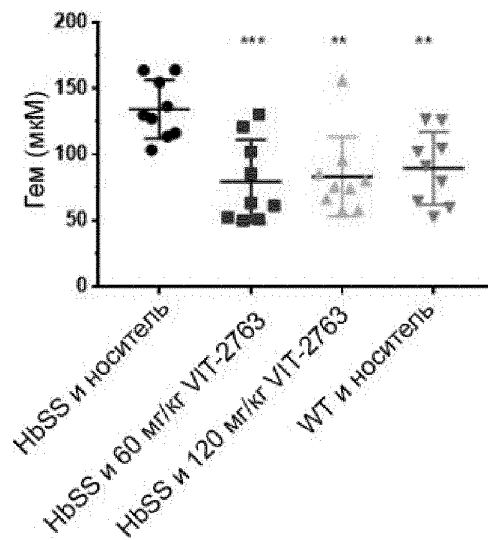
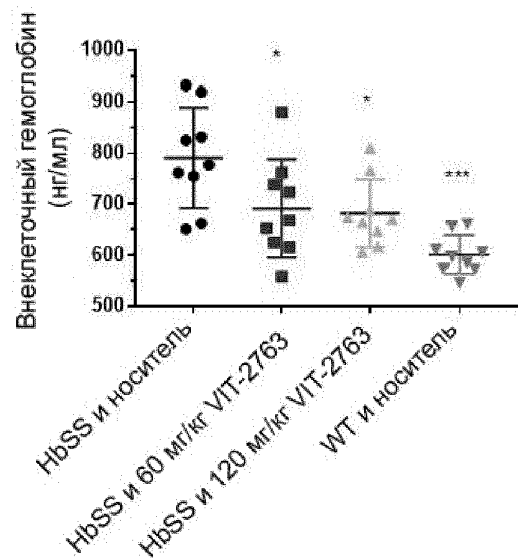
11. Соединение для применения по любому из пп. 1-10, где лечение включает введение нуждающемуся в этом пациенту суточной дозы 5 мг, 15 мг, 30 мг, 60 мг, 120 мг или 240 мг.

12. Соединение для применения по любому из пп. 1-11, где лечение включает введение нуждающемуся в этом пациенту суточной дозы 30 мг или 60 мг пациентам с массой тела ≥ 50 кг и ≤ 100 кг.

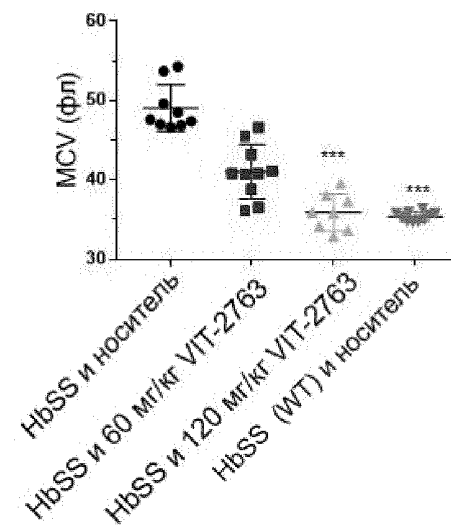
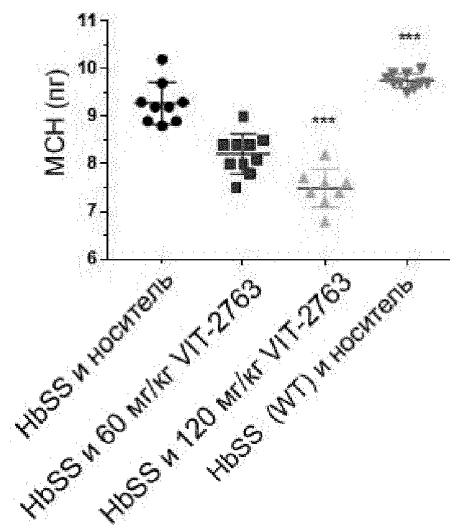
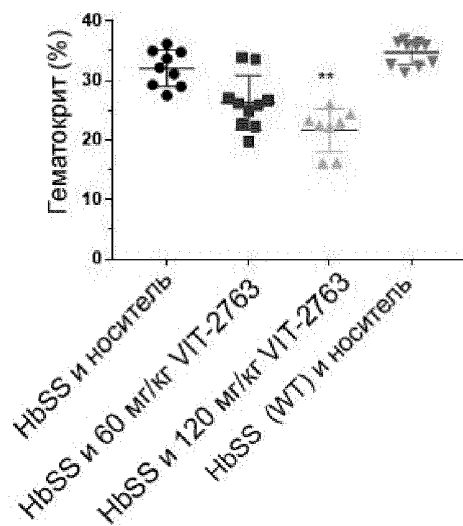
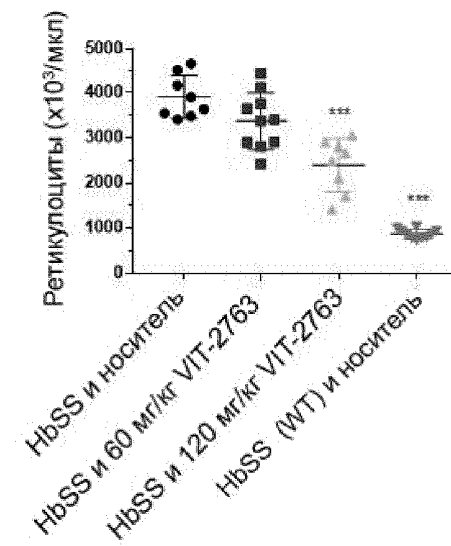
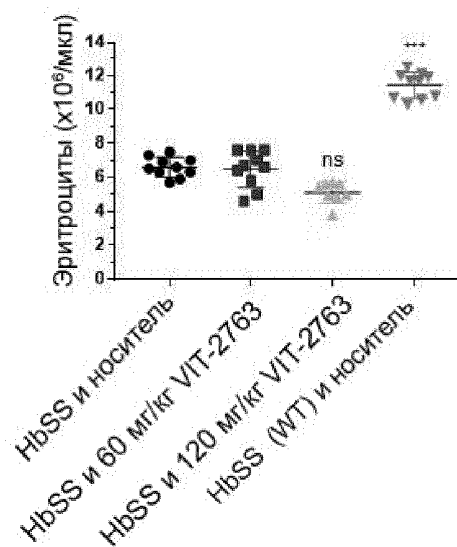
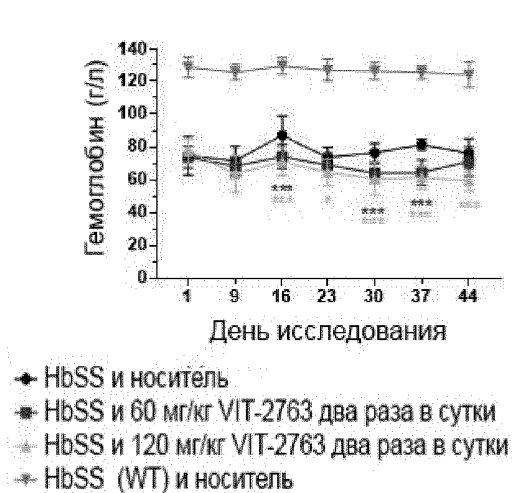
13. Соединение для применения по любому из пп. 1-12, где лечение включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, выбранной суточной дозы один или два раза в сутки.

14. Композиция для комбинированной терапии для применения по одному из пп. 1-13, где соединение для применения по пп. 1-13 присутствует в виде комбинации с фиксированной дозой или комбинации со свободной дозой по меньшей мере с одним дополнительным фармацевтически активным соединением для последовательного использования с целью совместного введения соединений.

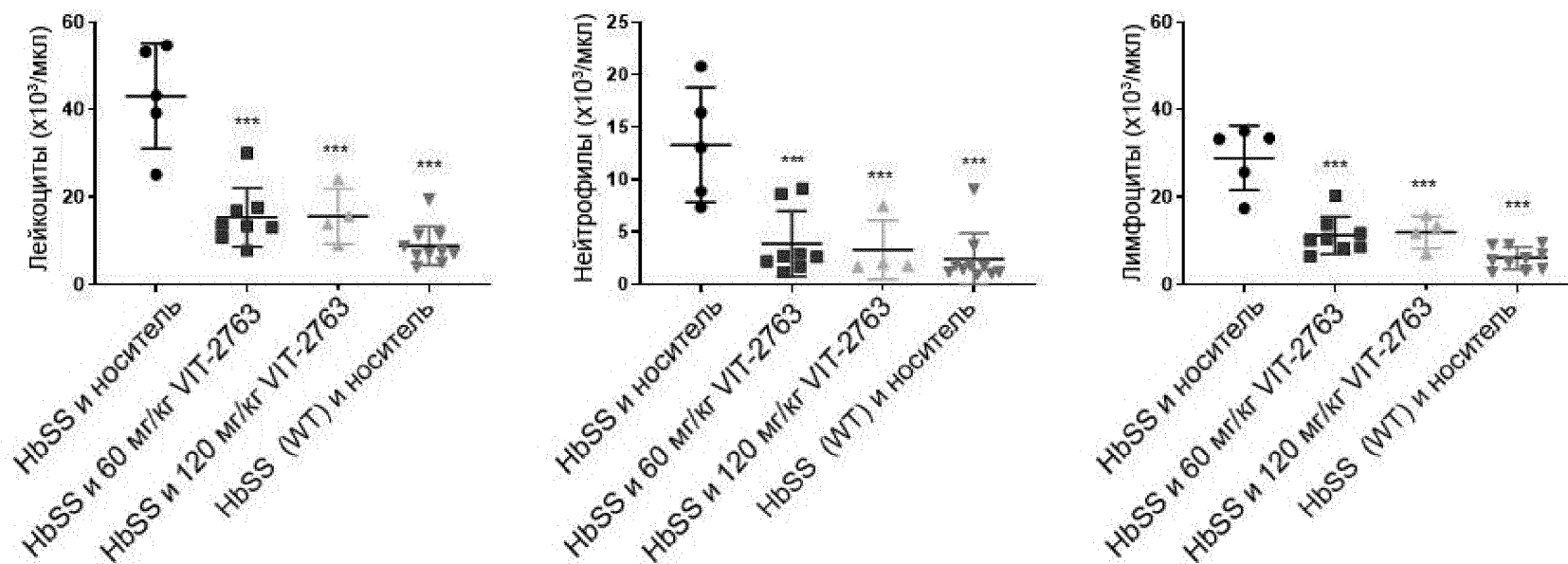
15. Композиция для комбинированной терапии по п. 14, где по меньшей мере одно дополнительное фармацевтически активное соединение выбрано из группы препаратов для СКБ, предпочтительно гидроксимочевины и/или обезболивающих препаратов.



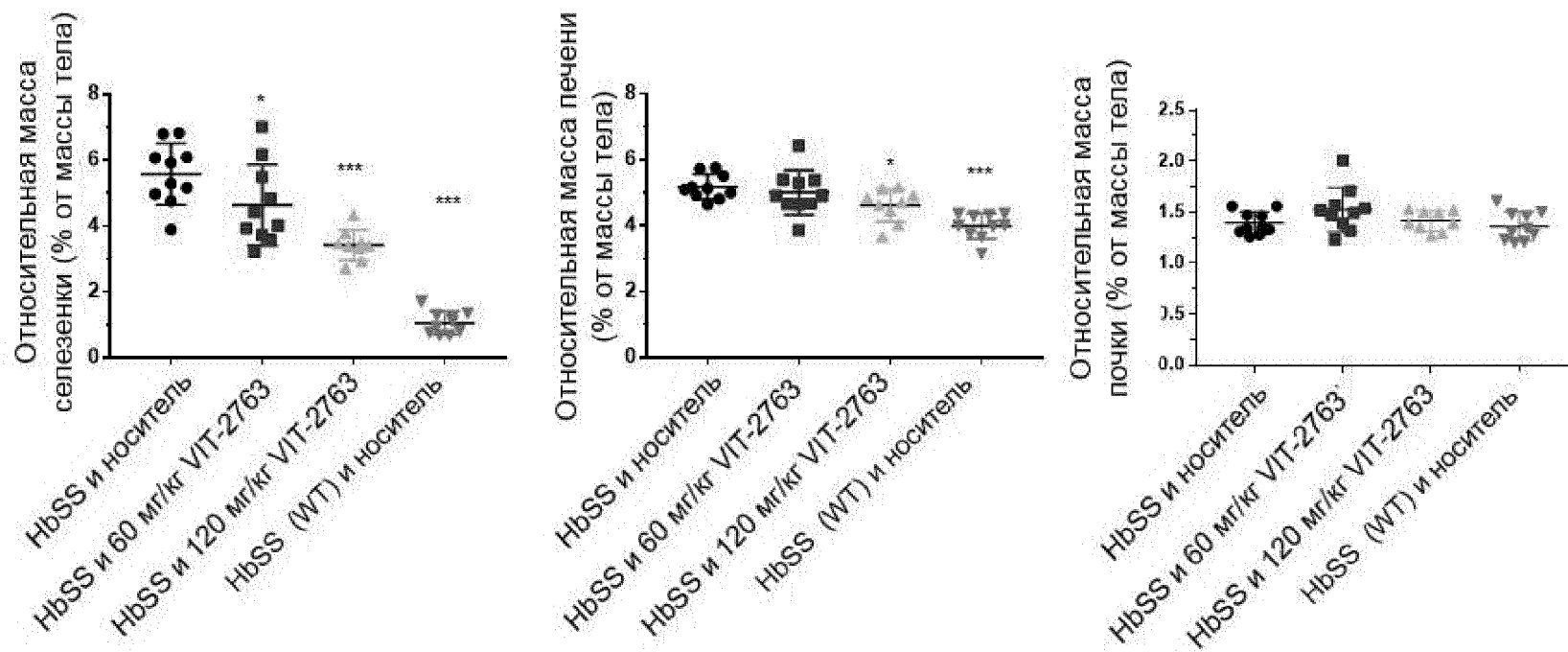
Фиг. 1



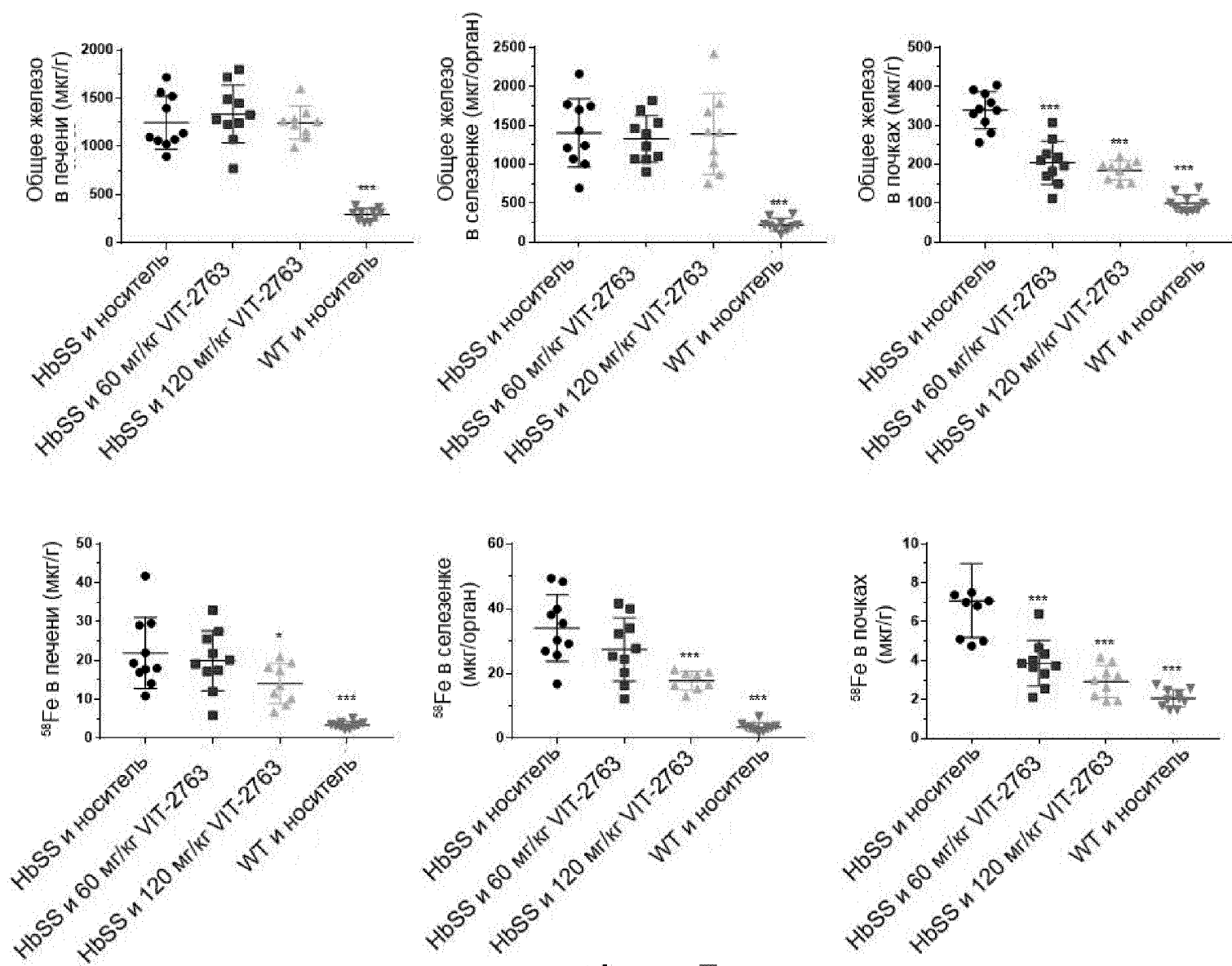
Фиг. 2



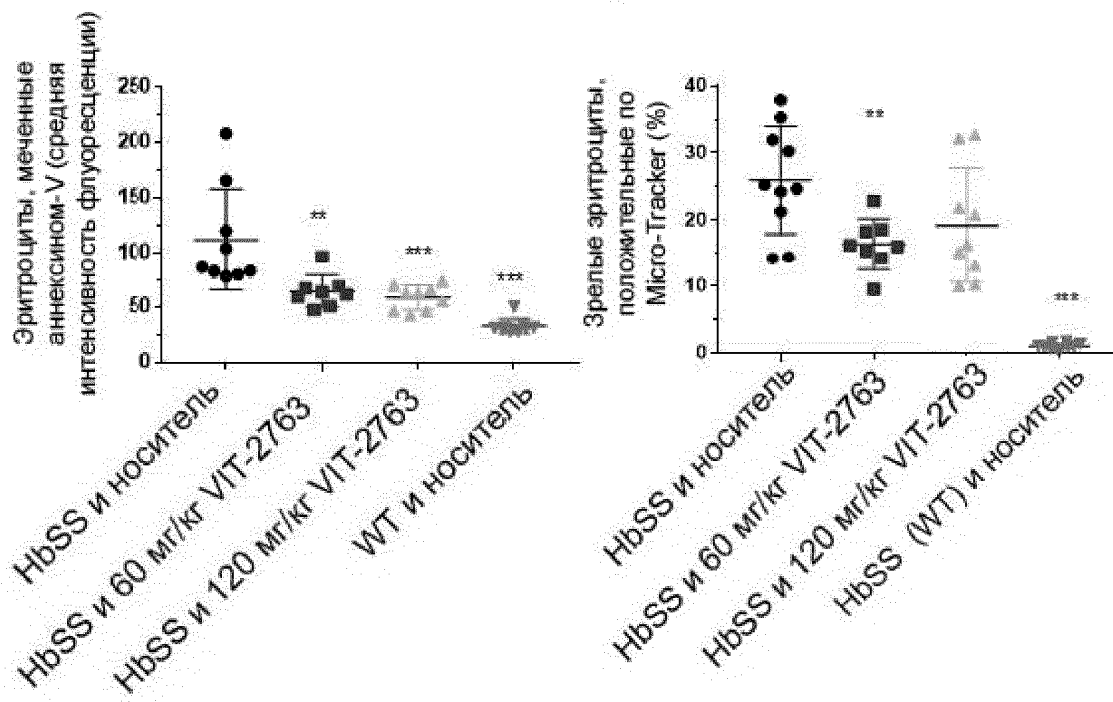
Фиг. 3



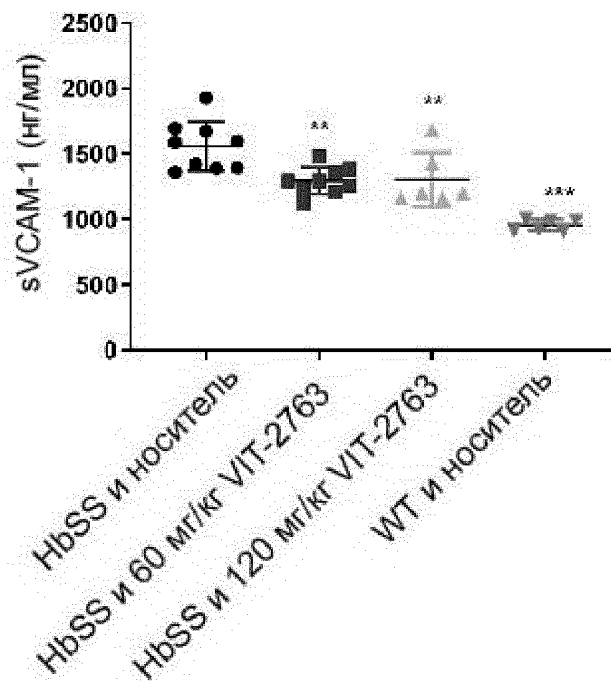
Фиг. 4



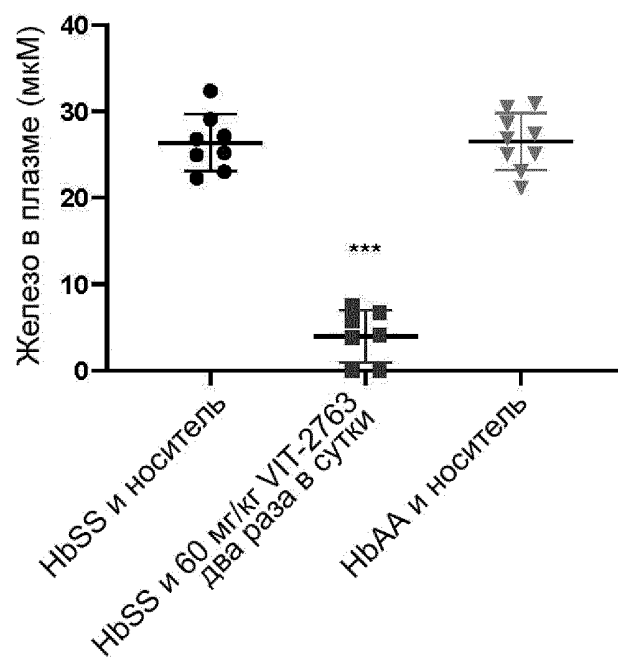
Фиг. 5



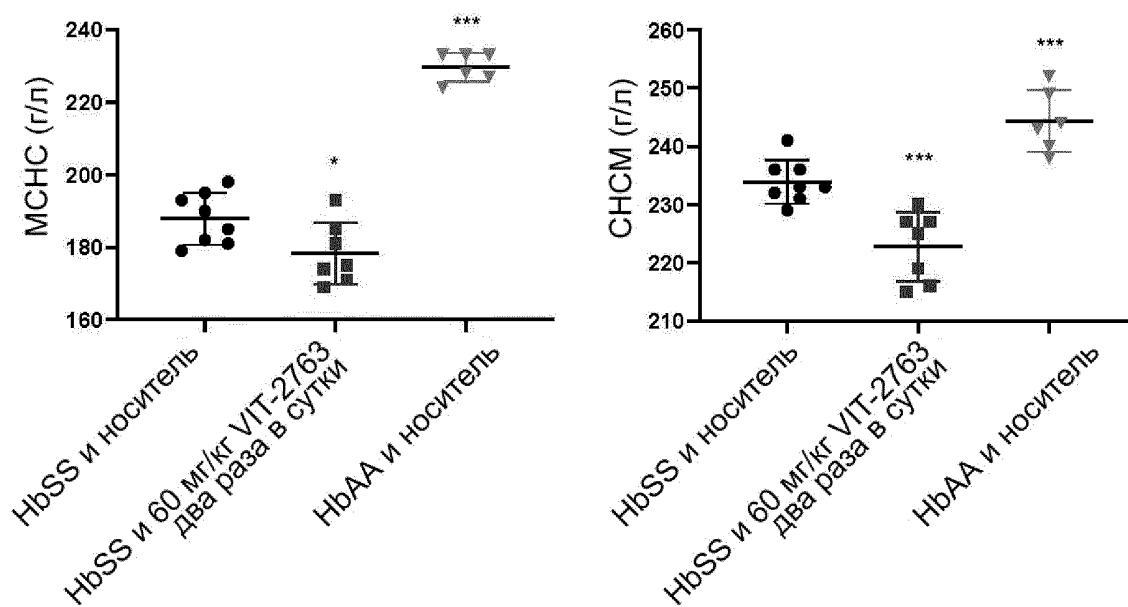
Фиг. 6



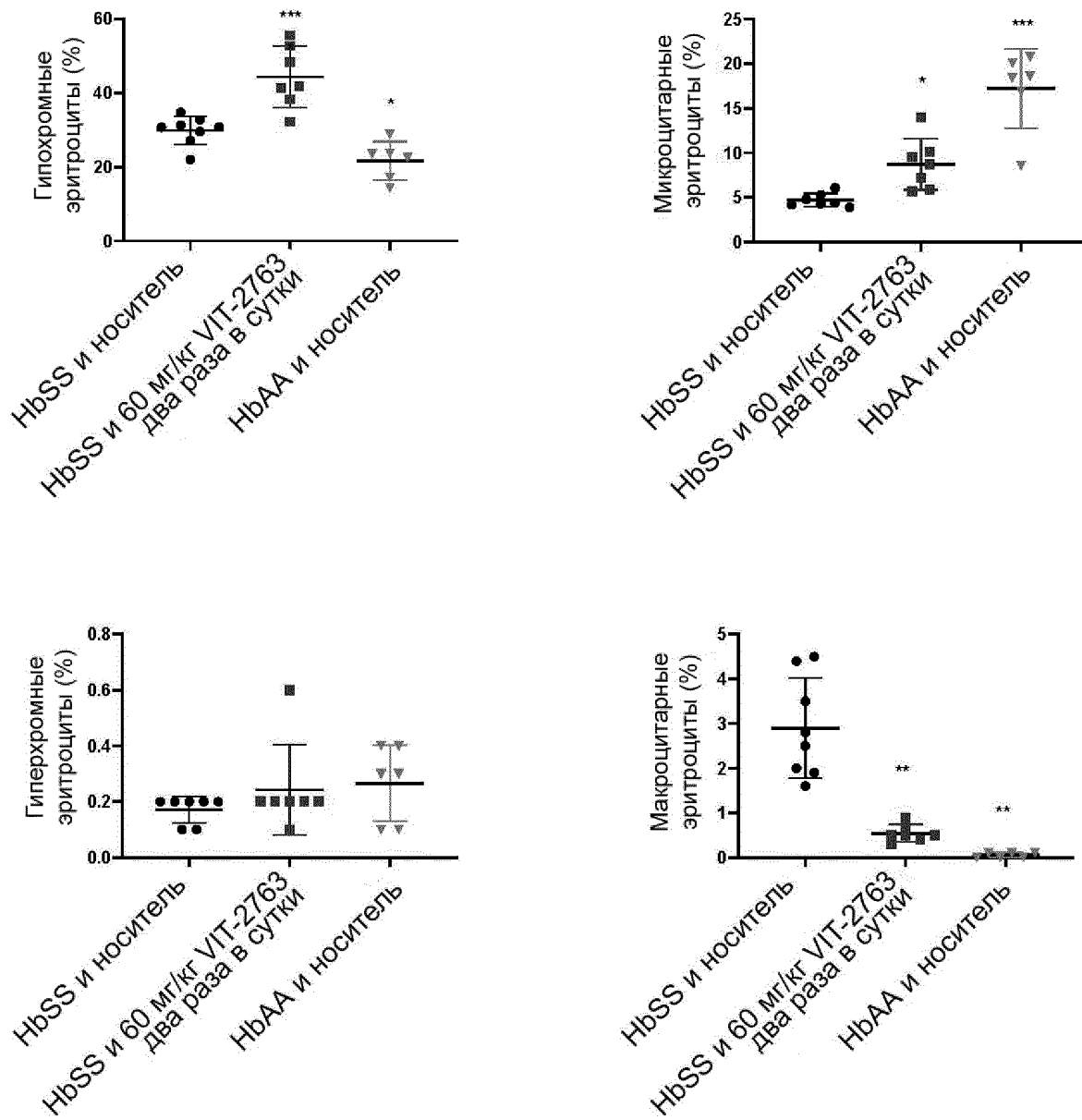
Фиг. 7



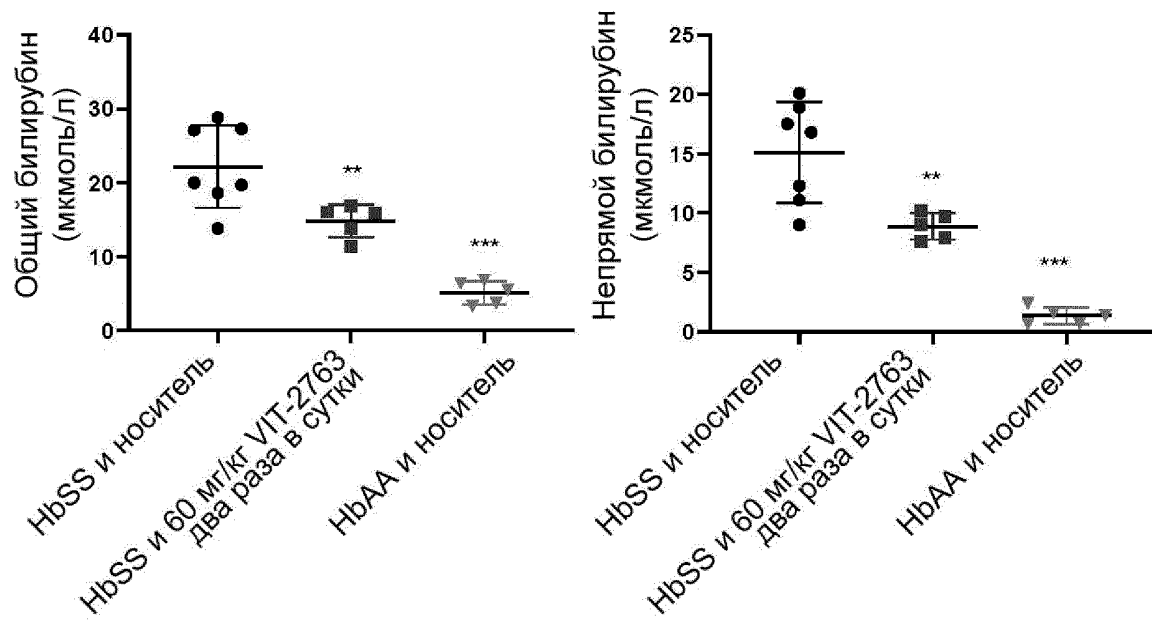
Фиг. 8



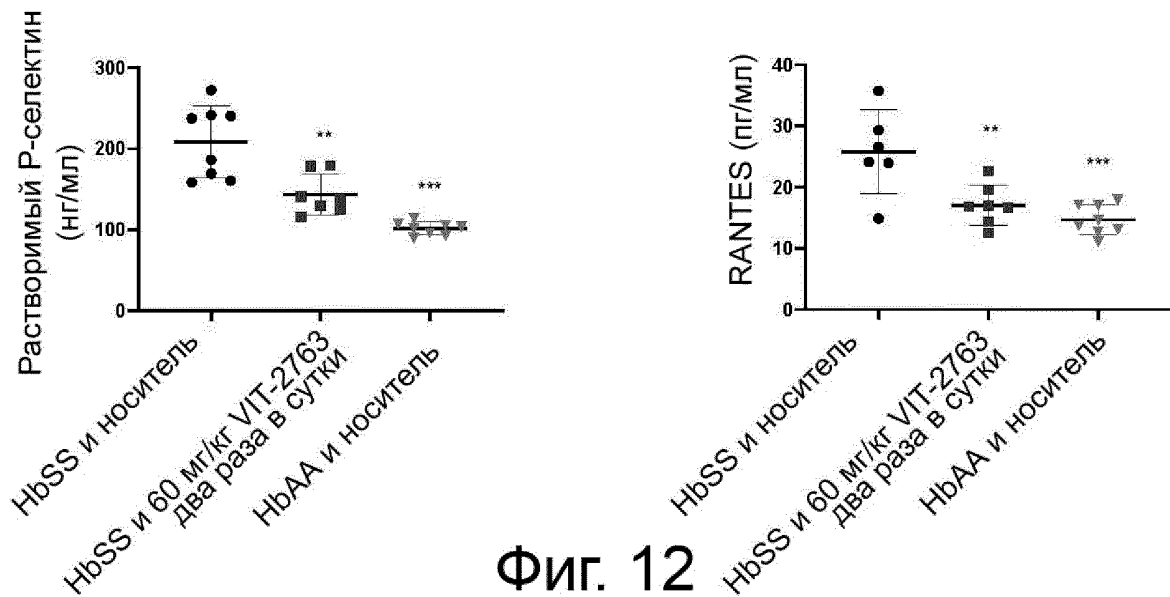
Фиг. 9



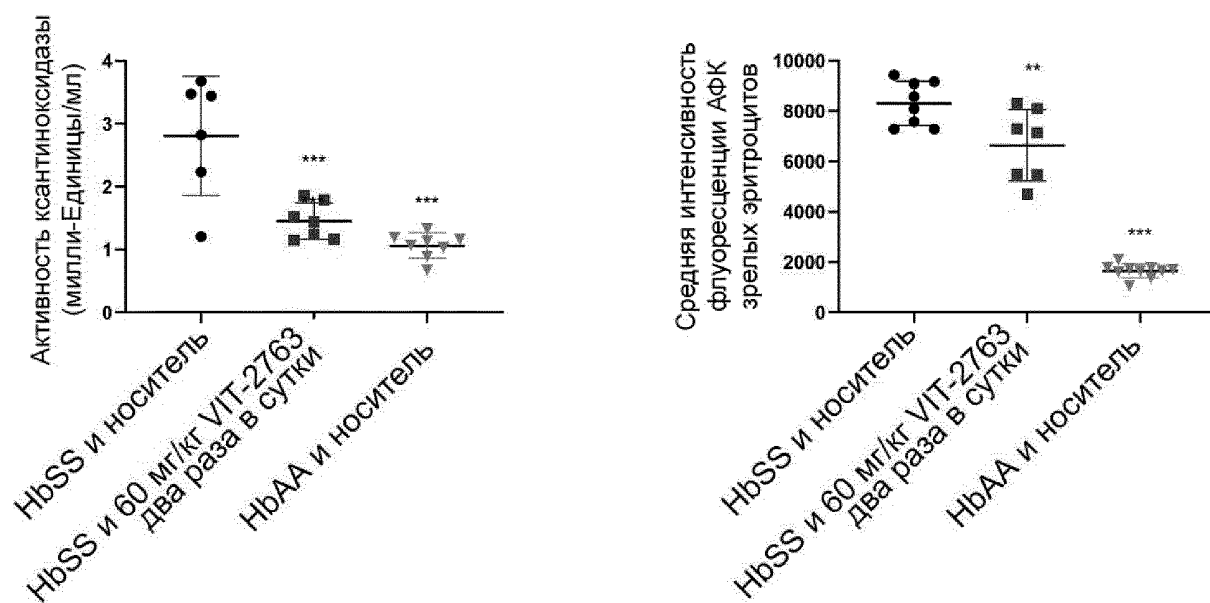
Фиг. 10



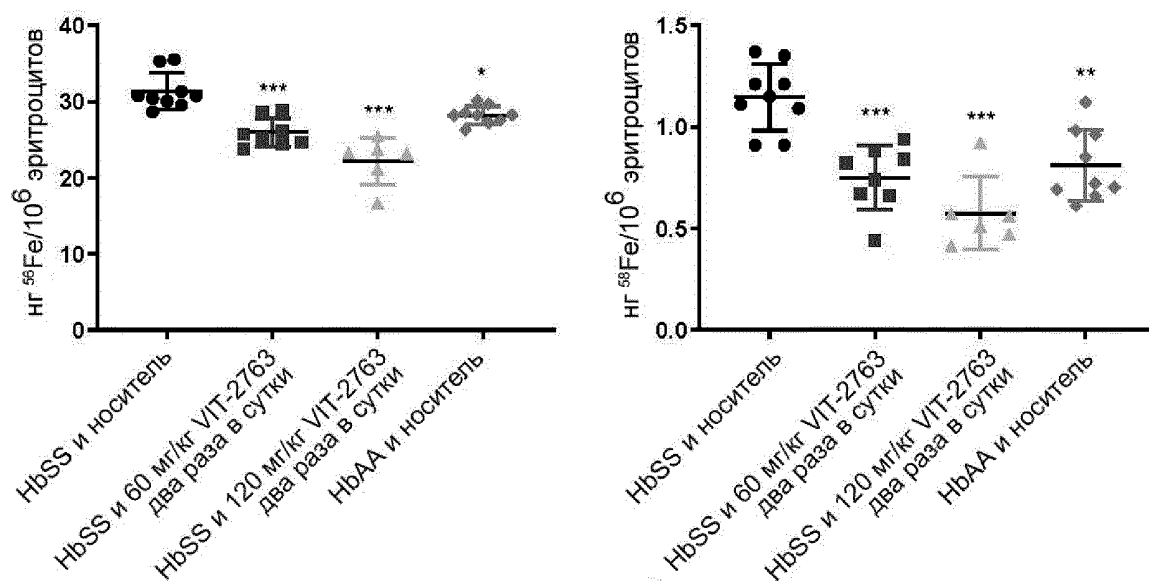
Фиг. 11



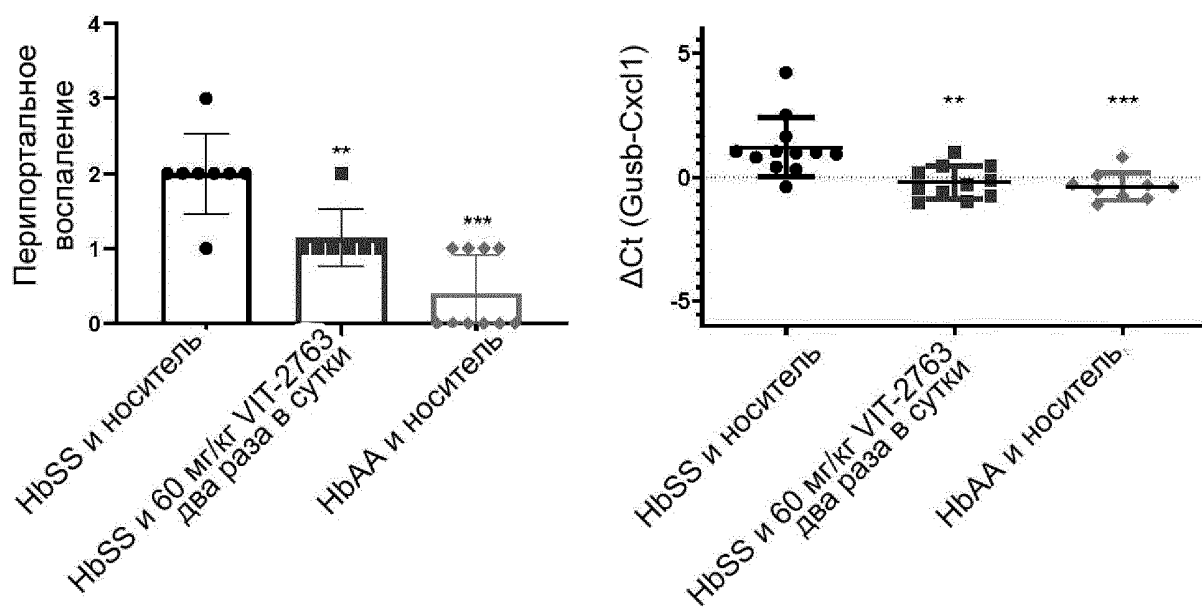
Фиг. 12



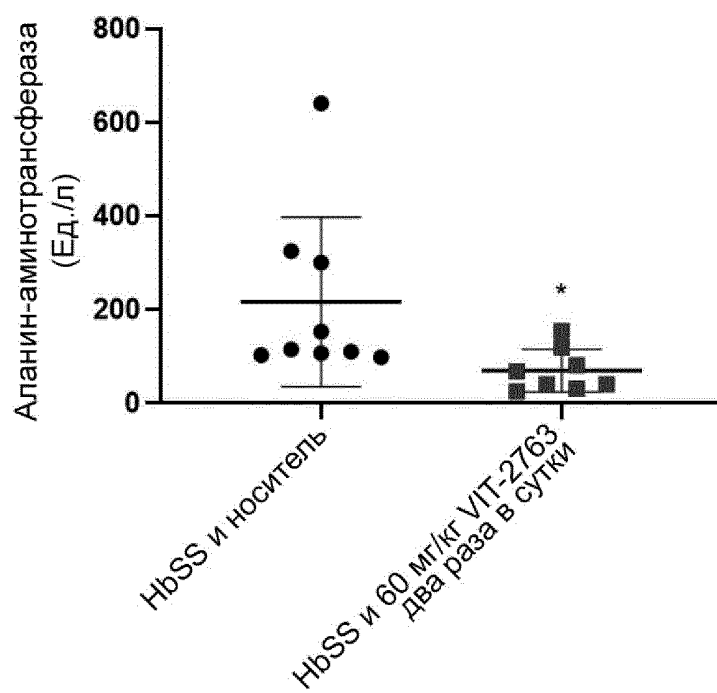
Фиг. 13



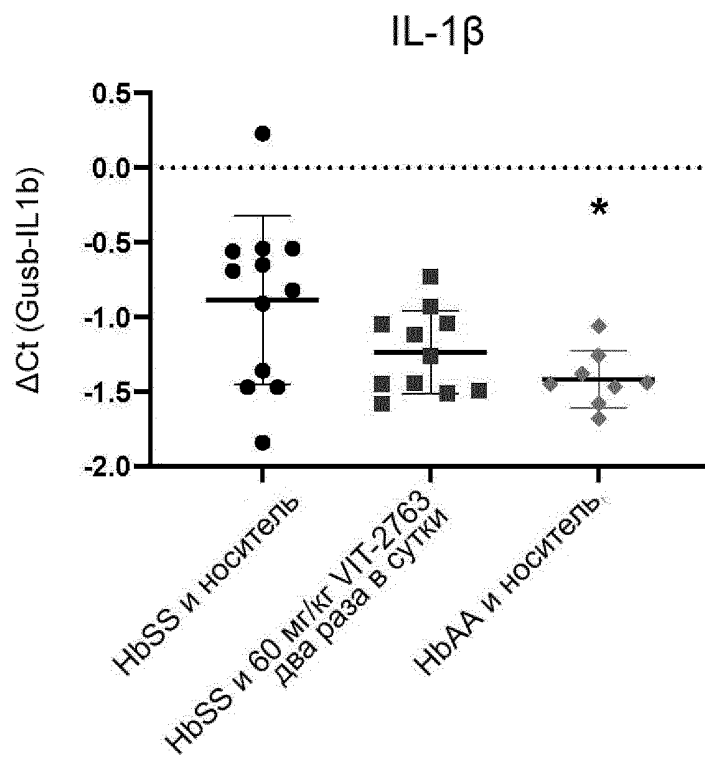
Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16



Фиг. 17