



MD/EP 3522880 T2 2021.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3522880 (13) T2

(51) Int. Cl.: **A61K 31/4439** (2006.01.01)
A61K 31/4192 (2006.01.01)
A61K 31/192 (2006.01.01)
A61P 13/12 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2019 0903 (22) Data de depozit: 2017.10.05 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 17787773.5, 2017.10.05 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3522880, 2019.08.14 (31) Numărul cererii prioritare: 201662404390 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2016.10.05 (33) Țara cererii prioritare: US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 03/2021, 2021.03.31 (80) Data publicării mențiunii eliberării de către OEB: EPB nr. 49/2020, 2020.12.02 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 09/2019, 2019.09.30
(71) Solicitant: MITOBRIDGE, INC., US (72) Inventatori: LAGU Bharat, US; PATANE Michael, US; TOZZO Effie, US; TRZASKA Scott, US (73) Titular: MITOBRIDGE, INC., US (74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela	

(54) Metode de tratare a leziunilor renale acute

(57) Rezumat:

1
Prezenta invenție se referă la metode de tratare a unui pacient uman cu leziuni renale acute.

2
Revendicări: 15
Figuri: 2

MD/EP 3522880 T2 2021.03.31

(54) Methods of treating acute kidney injury**(57) Abstract:**

1

The present invention is directed to methods of treating a human patient with acute kidney injury.

Claims: 15
Fig.: 2

2

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

Prezenta invenție se referă la metode de tratare a unui pacient uman cu leziuni renale acute.

5 **STADIUL TEHNIC AL INVENȚIEI**

Leziunea renală acută (LRA), cunoscută anterior sub numele de insuficiență renală acută (IRA), este un sindrom clinic caracterizat prin deteriorarea rapidă a funcției renale care apare în câteva zile. Principala caracteristică a LRA este scăderea bruscă a ratei de filtrare glomerulară (GFR), rezultând în reținerea deșeurilor azotate (uree, creatinină). În populația mondială generală, apar anual 170-200 de cazuri de LRA severe pe milion de populație. Până în prezent, nu există un tratament specific stabilit pentru LRA. S-au găsit mai multe medicamente care ameliorează profilactic LRA experimentale toxice și ischemice, care se manifestă prin niveluri mai scăzute de creatinină serică, deteriorări histologice reduse și recuperare mai rapidă a funcției renale în diferite modele animale. Acestea includ anti-oxidanți, blocați ai canalelor de calciu, diuretice, substanțe vasoactive, factori de creștere, agenți antiinflamatori și multe altele. Cu toate acestea, aceste medicamente au fost studiate în studii clinice și nu au prezentat niciun beneficiu, iar utilizarea lor în LRA clinică nu a fost aprobată. Tratamentul după ce LRA s-a dezvoltat este și mai dificil.

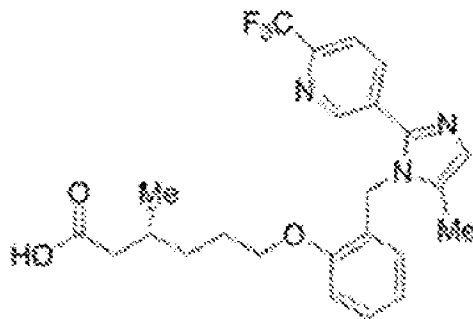
20 Fedorova și colab. (PLOS ONE 8 (2013), e64436) descrie că un agonist al PPAR delta, HPP 593, previne necroza renală sub ischemie cronică, ceea ce corespunde cu ceea ce se întâmplă în timpul leziunii renale acute.

Eun Young Lee și colab. (Nephrol. Dial. Transplant. 27 (2012), 4069-4079) descrie eficacitatea GW617042, un agonist pentru PPAR-δ pentru tratamentul nefropatiei diabetice.

25 Compușii dezvăluiți aici sunt modulatori exemplificativi ai receptorului delta activat de proliferatorul peroxizomului (PPARδ). PPARδ este un receptor nuclear capabil să regleze biosinteza mitocondriilor. Modularea activității PPARδ s-a demonstrat a fi utilă pentru tratamentul bolilor.

REZUMATUL INVENȚIEI

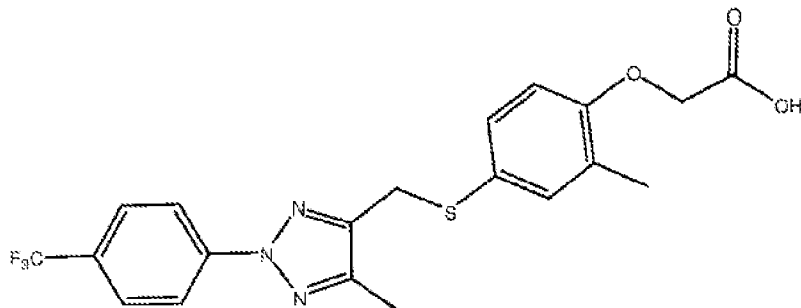
30 S-a constatat acum că un compus, acid (*R*)-3-metil-6-(2-((5-metil-2-(6-(trifluormetil)piridin-3-il)-1*H*-imidazol-1-il)metil)fenoksi)hexanoic, reprezentat de următoarea formulă structurală:



(denumit în continuare „Compusul A”)

35 a redus leziunile renale la un șobolan model de boală renală acută (a se vedea Exemplul 2). În mod specific, Compusul A reduce semnificativ nivelurile de creatinină plasmatică, îmbunătățește funcția renală și reduce biomarkerul precoce al leziunilor renale NGAL, atunci când este administrat intravenos la patru ore după ce leziunea ischemie-reperfuzie a fost indusă rinichilor șobolanilor de laborator.

De asemenea, s-a constatat că Compusul B, reprezentat de următoarea formulă structurală:



(denumit în continuare „Compusul B”)

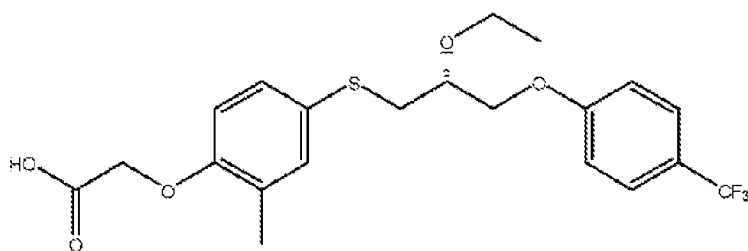
a redus leziunile renale la un șobolan model de boală renală acută (a se vedea Exemplul 3). În mod specific, Compusul B a redus semnificativ nivelurile de creatinină plasmatică și îmbunătățește funcția renală atunci când a fost administrat oral la patru ore după leziunea ischemie-reperfuzie a fost indusă rinichilor șobolanilor de laborator.

Pe baza acestor descoperiri, metodele de tratare a leziunilor renale acute sunt dezvăluite aici.

Este descrisă o metodă de tratare a unui pacient uman cu leziuni renale acute. Metoda cuprinde administrarea intravenoasă la pacient a unei cantități eficiente de Compus A sau a unei sări acceptabile farmaceutic a acestuia.

De asemenea, este descrisă o metodă de tratare a unui pacient uman cu leziuni renale acute. Metoda cuprinde administrarea la pacient a unei cantități eficiente de Compus B sau a unei sări acceptabile farmaceutic a acestuia. Într-o variantă de realizare, Compusul B este administrat oral; într-o altă variantă de realizare, este administrat intravenos.

Mai departe este descrisă o metodă de tratare a unui pacient uman cu leziuni renale acute. Metoda cuprinde administrarea la pacient a unei cantități eficiente de Compus C:



(denumit în continuare „Compusul C”);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. Într-o variantă de realizare, Compusul C este administrat oral; într-o altă variantă de realizare, este administrat intravenos.

O variantă de realizare conform invenției este Compusul A sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratamentul intravenos al unui pacient uman cu leziuni renale acute.

De asemenea, este descris Compusul B, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratarea unui pacient uman cu leziuni renale acute. Într-o variantă de realizare, Compusul B este pentru administrare orală; într-o altă variantă de realizare, Compusul B este pentru administrare intravenoasă.

Descris în continuare este Compusul C sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratarea unui pacient uman cu leziuni renale acute. Într-o variantă de realizare, Compusul C este pentru administrare orală; într-o altă variantă de realizare, Compusul C este pentru administrare intravenoasă.

SCURTĂ DESCRIERE A DESENELOR

Figura 1 a, b și c sunt grafice cu bare care arată efectul terapeutic al Compusului A administrat intravenos într-un model de șobolan cu leziuni renale acute. Graficul cu bare 1a prezintă nivelurile plasmatice de creatinină în mg/dl la șobolani, la 24 de ore după leziunea renală. Barele de la stânga la dreapta reprezintă nivelurile de creatinină plasmatică la șobolani fără vehicul administrat intravenos și la șobolani cu vehicul administrat intravenos; 0,3 mpk de Compus A; 1 mpk de Compus A; și 3,0 mpk de Compus A. În mod similar, graficul cu bare 1b prezintă nivelurile de eliminare a creatininei, o estimare a funcției renale sau GFR (rata filtrării glomerulare) la 24 de ore după leziunea renală și graficul cu bare 1c prezintă nivelurile urinare ale NGAL (Lipocalină Asociată Gelatinazei Neutrofilelor) la 48 de ore după leziunea renală. NGAL este un biomarker de leziuni renale precoce utilizat adesea în clinică.

Figura 2 a și b sunt grafice cu bare care arată efectul terapeutic al Compusului B într-un model de șobolan cu leziuni renale acute. Graficul cu bare 2a prezintă nivelurile plasmatice de creatinină în mg/dl la șobolani, la 24 de ore după leziunea renală. Barele de la stânga la dreapta reprezintă nivelurile de creatinină plasmatică la șobolani cu intervenție chirurgicală simulată dozată cu vehicul de 30 mpk; șobolani cu leziuni renale acute dozate cu vehicul de 30 mpk; și șobolani cu leziuni renale acute dozate cu 30 mpk de Compus B. În mod similar, graficul cu bare 2b prezintă nivelurile de clearance al creatininei, o estimare a funcției renale sau GFR (rata filtrării glomerulare).

DESCRIERE DETALIATĂ

Sunt descrise aici metode pentru tratarea leziunilor renale acute la un pacient uman. Astfel de metode cuprind administrarea unei cantități eficiente de Compus A, Compus B sau Compus C sau o sare acceptabilă farmaceutic de Compus A, Compus B sau Compus C, la pacientul uman.

5 Intr-o variantă de realizare, Compusul A, Compusul B sau Compusul C sau o sare acceptabilă farmaceutic a Compusului A, Compusului B sau Compusului C, este administrat după ce pacientul uman dezvoltă leziuni renale acute. Compusul A este de preferat administrat intravenos.

Așa cum este utilizat aici, termenul "leziuni renale acute" sau "LRA", denumit anterior ca "insuficiență renală acută" sau "IRA", se referă la un sindrom clinic acut caracterizat printr-un

10 declin rapid al funcțiilor renale, care este cauzat de un număr a unor factori precum reducerea fluxului sanguin renal, glomerulonefrita, utilizarea antibioticelor nefrotoxice și a agenților anticanceroși.

Leziunea renală acută este definită ca o scădere bruscă a funcției renale și poate fi diagnosticată pe baza unui pacient care prezintă modificări ale unuia sau mai multor niveluri de creatinină serică, rata filtrării glomerulare sau de urină. De exemplu, leziunile renale acute pot fi

15 caracterizate printr-un nivel de creatinină serică de cel puțin 1,5 ori valoarea inițială, în care valoarea inițială se referă la nivelul de creatinină serică a pacientului cu cel mult 7 zile înainte. De exemplu, un pacient cu leziuni renale acute poate avea un nivel de creatinină serică de 1,5 până la 1,9 ori față de inițial, de 2,0 până la 2,9 ori față de inițial sau de 3,0 sau de mai multe ori față de inițial. Alternativ, leziunea renală acută poate fi caracterizată printr-o creștere a creatininei serice

20 de cel puțin 0,3 mg/dl sau cel puțin 0,4 mg/dl.

Alternativ, leziunea renală acută poate fi caracterizată printr-o rată a filtrării glomerulare mai mică de 90 ml/min/1,73 m². De exemplu, un pacient cu leziuni renale acute poate avea o rată a filtrării glomerulare de 60-89 ml/min/1,73 m², 30-59 ml/min/1,73 m², 15-29 ml/min/1,73 m² sau

25 mai puțin mai mult de 15 ml/min/1,73 m².

Alternativ, leziunea renală acută poate fi caracterizată prin faptul că pacientul are un debit de urină mai mic de 0,5 ml/Kg timp de 6 ore, mai mic de 0,5 ml/Kg timp de 12 ore, mai puțin de 0,3 ml/Kg timp de 12 ore sau anurie timp de 12 ore sau mai multe ore.

Leziunea renală acută poate apărea cu afecțiuni renale specifice (*de exemplu*, nefrită interstițială acută, boli renale glomerulare și vasculitice acute); afecțiuni nespecifice (*de exemplu*, ischemie, leziuni toxice); precum și patologia extrarenală (*de exemplu*, azotemia prerenală și nefropatia obstructivă postrenală acută). Mai multe dintre aceste afecțiuni pot coexista la același

30 pacient și, mai important, dovezile epidemiologice susțin ideea că chiar și LRA ușoară și reversibilă are consecințe clinice importante, inclusiv un risc crescut de deces. Mai mult, deoarece manifestările și consecințele clinice ale LRA pot fi destul de similare (chiar indistincte), indiferent dacă etiologia este predominant în rinichi sau predominant din stresurile externe asupra rinichiului, sindromul LRA cuprinde atât leziuni directe la rinichi, cât și ca afectare acută a funcției.

35

În unele variante de realizare, pacientul care este tratat pentru LRA are diabet, insuficiență renală subiacentă, sindrom nefritic, boală aterosclerotică, sepsis, hipotensiune arterială, hipoxie, mioglobulinurie-hematurie sau boală hepatică. În alte variante de realizare, pacientul este în vârstă,

40 gravidă, este pacient chirurgical sau a fost expus unui agent nefrotoxic.

Intr-o variantă de realizare specifică, pacientul care este tratat pentru LRA este un pacient chirurgical. În consecință, în anumite variante de realizare, compusul este administrat unui pacient chirurgical după operație.

Intr-o altă variantă de realizare, pacientul care este tratat pentru LRA a fost expus la un agent nefrotoxic. Un agent nefrotoxic este un medicament sau substanță chimică capabilă să provoace LRA. Medicamentele sau substanțele chimice capabile să provoace leziuni renale acute includ, dar nu se limitează la, cisplatină; gentamicină; cefaloridină; ciclosporină; amfotericină; tetraclorură de carbon; tricloretilenă; și dicloroacetilenă.

45

Ca atare, un pacient cu LRA cauzate de oricare dintre afecțiunile menționate în cele trei paragrafe precedente poate fi tratat cu Compusul A, Compusul B sau Compusul C sau o sare acceptabilă farmaceutic a Compusului A, Compusului B sau Compusului C, în conformitate cu metodele dezbătute.

50

Sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului A, Compusului B și Compusului C pot fi utilizate în metodele descrise. Termenul "sare acceptabilă farmaceutic" se referă la sărurile farmaceutice care sunt, în sfera judecății medicale sănătoase, potrivite pentru utilizare în contact cu țesuturile oamenilor și animalele inferioare, fără toxicitate, iritație și răspuns alergic nejustificate și sunt proporționale cu un raport beneficiu/risc rezonabil. Sărurile acceptabile farmaceutic sunt bine cunoscute în domeniu. De exemplu, SM Berge și colab. descrie sărurile acceptabile farmacologic

55 in J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19. Săruri formate prin adăugare cu acizi, *de exemplu*, acid clorhidric, acid bromhidric, acid fosforic, acid azotic, acid sulfuric, acid acetic, acid

60

benzensulfonic, acid benzoic, acid metansulfonic, acid *p*-toluenesulfonic și acid meglumină; și prin adăugare cu baze, *de exemplu*, săruri de amoniu, săruri de metale alcaline (cum ar fi săruri de sodiu și potasiu), săruri de metale alcalino-pământoase (cum ar fi săruri de magneziu și calciu) și săruri de bază organice (cum ar fi săruri de meglumină și L-lizină).

5 *Compoziții Farmaceutice și Administrarea Acestora*

Compusul A, Compusul B sau Compusul C sau o sare acceptabilă farmaceutic a Compusului A, Compusul B sau Compusul C, pot fi utilizate în combinație cu alți agenți despre care se știe că au beneficii asupra LRA.

10 Cantitatea exactă de compus administrat pentru a oferi o „cantitate eficientă” subiectului va depinde de modul de administrare, de tipul și severitatea bolii și/sau afecțiune și de caracteristicile subiectului, cum ar fi starea generală de sănătate, vârsta, sexul, greutatea corporală și toleranța la medicamente. Specialiștii în domeniu vor putea determina dozele adecvate în funcție de acești și de alți factori. Termenul "cantitate eficientă" înseamnă o cantitate atunci când este administrată subiectului care are ca rezultat rezultate benefice sau dorite, inclusiv rezultate clinice, *de exemplu*,
15 inhibă, suprimă sau reduce simptomele afecțiunii tratate la subiect în comparație cu un martor. De exemplu, o cantitate eficientă poate fi de la 0,1 mg la aproximativ 50 g pe zi.

Termenii „a administra”, „administrand”, „administrare” și altele asemenea, așa cum sunt folosiți aici, se referă la metode care pot fi utilizate pentru a permite livrarea compozițiilor la locul dorit de acțiune biologică. Aceste metode includ, dar nu se limitează la, intraarticular (în
20 articulații), intravenos, intramuscular, intratumoral, intradermic, intraperitoneal, subcutanat, oral, local, intratecal, inhalator, transdermic, rectal și altele asemenea. Administrarea orală și intravenoasă sunt frecvent utilizate, de exemplu, când afecțiunea care se tratează este o leziune renală acută. Tehnicile de administrare care pot fi utilizate cu agenții și metodele descrise aici sunt găsite în, *de exemplu*, Goodman și Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, ediția
25 actuală; Pergamon; și Remington's, Pharmaceutical Sciences (ediția actuală), Mack Publishing Co., Easton, Pa.

Compozițiile farmaceutice utilizate în metodele descrise includ Compusul A, Compusul B sau Compusul C sau o sare acceptabilă farmaceutic a Compusului A, Compusului B sau Compusului C și, de obicei, cel puțin o substanță suplimentară, cum ar fi un excipient, un
30 tratament terapeutic cunoscut altele decât cele din prezenta dezvăluire și combinații ale acestora.

Compozițiile farmaceutice utilizate în metodele descrise sunt formulate pentru a fi compatibile cu calea sa de administrare intenționată. Într-o variantă de realizare, compoziția este formulată în conformitate cu procedurile de rutină ca o compoziție farmaceutică adaptată pentru
35 administrare intravenoasă, subcutanată, intramusculară, orală, intranazală sau topică la ființe umane.

Administrarea agenților terapeutici prin formulare intravenoasă este bine cunoscută în industria farmaceutică. Formulările intravenoase cuprind agentul farmaceutic activ (*de exemplu*,
40 Compusul A, Compusul B sau Compusul C sau o sare acceptabilă farmaceutic a Compusului A, Compusului B sau Compusului C) dizolvat într-un solvent sau soluție acceptabilă farmaceutic, cum ar fi apa sterilă, soluții saline normale, Ringer lactat sau alte soluții de sare, cum ar fi soluția Ringer. Formularea ar trebui să promoveze stabilitatea generală a ingredientului(elor) activ(e), de asemenea, fabricarea formulării ar trebui să fie rentabilă. Toți acești factori determină în cele din urmă succesul general și utilitatea unei formulări intravenoase.

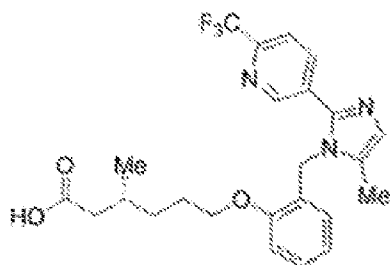
O formulare orală este de obicei preparată ca un preparat comprimat, de exemplu, sub
45 forma unei tablete sau pastile. O tabletă poate conține, de exemplu, aproximativ 5-10% din ingredientul activ (*de exemplu*, Compusul A, Compusul B sau Compusul C, sau o sare acceptabilă farmaceutic a Compusului A, Compusul B sau Compusul C) aproximativ 80% din umpluturi, dezintegranti, lubrifianți, alunecători și lianți; și 10% din compuși care asigură dezintegrarea ușoară, dezagregarea și dizolvarea tabletei în stomac sau intestin. Pastilele pot fi acoperite cu
50 zahăr, lac sau ceară pentru a masca gustul.

EXEMPLIFICARE

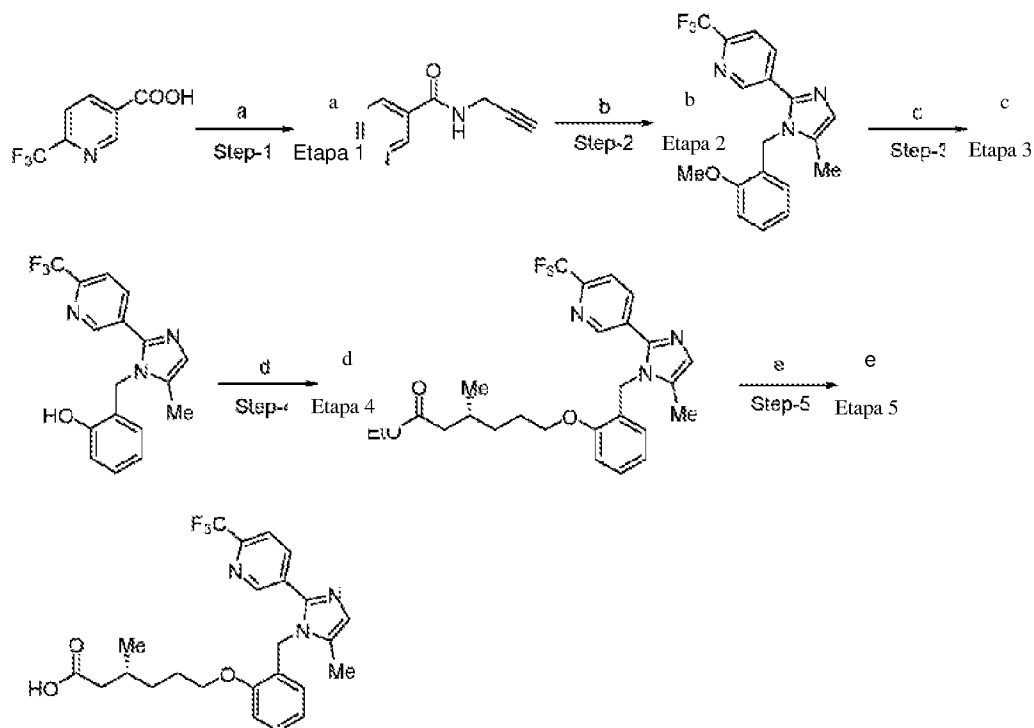
Exemplul 1

Sinteza acidului (R)-3-metil-6-(2-((5-metil-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H -imidazol-1-il)metil)fenoxi)hexanoic (Compusul A)

55

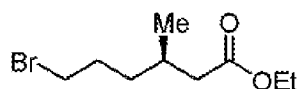


Schemă:



Sinteza (R)-6-brom-3-metilhexanoatului de etil:

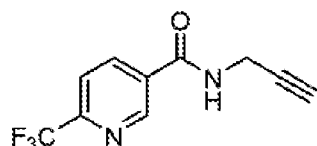
5



Intr-un balon cu fund rotund de 1 l, o soluție de (R)-6-hidroxi-3-metilhexanoat de etil (65,0 g, 373,56 mmol) în diclorometan (650 ml) a fost tratată cu PBr₃ (101,0 g, 373,56 mmol) la temperatura camerei (TC). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 3 ore. La finalizarea reacției (monitorizat prin TLC), amestecul de reacție a fost diluat cu apă (500 ml) și extras cu dietil eter (3 x 500 ml). Extractul organic se separă și se usucă pe Na₂SO₄ anhidru. Solventul a fost îndepărtat sub presiune redusă pentru a obține compusul din titlu (57,12 g).

10

Etapa 1: Sinteza N-(prop-2-in-1-il)-6-(trifluorometil)nicotinamidei:



15

Intr-un balon cu fund rotund de 100 ml, o soluție agitată de acid 6-(trifluorometil)nicotinic (3 g, 15,70 mmol) și prop-2-in-1-amină (1,05 g, 18,84 mmol) în dimetilformamidă (DMF: 50 ml) a fost tratat cu 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridiniu 3-oxid hexafluorofosfat (7,2 g, 18,84 mmol) și trietilamină (3,1 ml, 23,55 mmol) la TC sub atmosferă de azot. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de 3 ore. La finalizarea reacției (monitorizat prin TLC), amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece și solidul

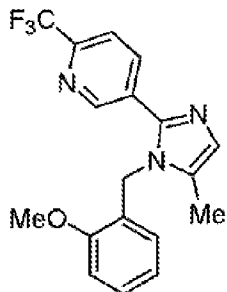
20

precipitat a fost filtrat, spălat cu apă și uscat sub presiune redusă pentru a obține compusul din titlu (2,6 g, 72,6%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9,08 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 8,32 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,78 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 6,62 (brs, 1H), 4,30-4,28 (m, 2H), 2,33 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H).

5 LCMS (ESI+, *m/z*): 229,2 (M+H)⁺.

Etapă 2: Sinteza 5-(1-(2-metoxibenzil)-5-metil-1H-imidazol-2-il)-2-(trifluorometil)piridină:

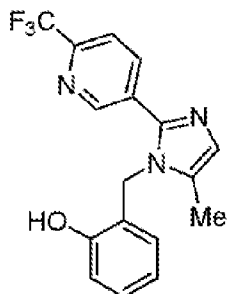


10 Intr-un tub resigilabil de 50 ml, o soluție de N-(prop-2-in-1-il)-6-(trifluorometil)nicotinamidă (1,0 g, 4,38 mmol) și 2-metoxifenbenzil amină (1,2 g, 8,77 mmol) în toluen (10 ml) a fost tratată cu trifluorometansulfonat de zinc (0,16 g, 0,43 mmol) la TC sub atmosferă de azot. Amestecul de reacție a fost încălzit la 120°C timp de 12 ore. La finalizarea reacției (monitorizată prin TLC), amestecul de reacție a fost diluat cu apă și extras cu EtOAc (3 x 20 ml). Extractul organic a fost spălat cu soluție saturată de NaHCO₃, soluție salină și se usucă pe

15 Na₂SO₄ anhidru. Soluția a fost concentrată sub presiune redusă și reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel (eluare, 25% EtOAc în hexani) pentru a se obține compusul din titlu (0,8 g, 52,6%).

20 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,79 (s, 1H), 8,07 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,68 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,31 (t, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,09 (s, 1H), 6,94-6,87 (m, 2H), 6,56 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 5,16 (s, 2H), 3,87 (s, 3H). LCMS (ESI+, *m/z*): 348,3 (M+H)⁺.

Etapă 3: Sinteza 2-((5-metil-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H-imidazol-1-il)metil)fenol:

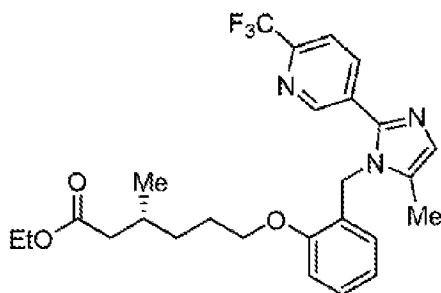


25 Intr-un balon cu fund rotund de 100 ml, o soluție de 5-(1-(2-metoxibenzil)-5-metil-1H-imidazol-2-il)-2-(trifluorometil)piridină (0,8 g, 2,31 mmol) în diclorometan (300 ml) a fost tratată cu BBr₃ (0,8 ml, 2,31 mmoli) în picături la 0°C. Amestecul de reacție a fost agitat la TC timp de 2 ore. La încheierea reacției (monitorizată prin TLC), amestecul de reacție a fost alcalinizat (pH ~ 9) cu soluție apoasă de NaHCO₃ și extras cu acetat de etil (EtOAc). Extractul organic a fost uscat pe Na₂SO₄ anhidru și concentrat sub presiune redusă pentru a produce compusul din titlu (0,5 g,

30 65,1%)

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,92 (s, 1H), 8,83 (s, 1H), 8,12 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,12 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,87 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 6,73 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,37 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,20 (s, 2H), 2,15 (s, 3H). LCMS (ESI+, *m/z*): 334,3 (M+H)⁺.

35 *Etapă 4: Sinteza (R)-3-metil-6-(2-((5-metil-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H-imidazol-1-il)metil)fenoxi)hexanoat de etil:*

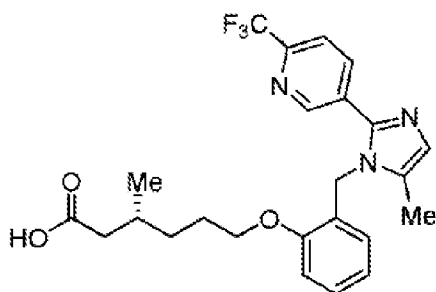


Intr-un balon cu fund rotund de 50 ml, o soluție agitată de 2-((5-metil-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H-imidazol-1-il)metil)fenol (0,5 g, 1,50 mmol) in DMF (10 ml) a fost tratată cu K₂CO₃ (0,41 g, 3,00 mmol) și (R)-6-brom-3-metilhexanoat de etil (0,710 g, 3,00 mmol) la TC sub atmosferă de azot. Amestecul de reacție rezultat a fost încălzit la 60°C timp de 12 ore. La finalizarea reacției (monitorizat prin TLC), amestecul de reacție a fost stins cu apă rece ca gheața și extras cu acetat de etil (75 ml X 3). Extractul organic combinat se spală cu soluție salină, se usucă pe Na₂SO₄ anhidru și este concentrat sub presiune redusă. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel (gradient de eluare, 15-30% EtOAc in hexani) pentru a da compusul din titlu (0,45 g, 61,3%).

Randament: 0,45 g (61,3%).

LCMS (ESI+, m/z): 491,0 (M+H)⁺.

Etapa 5: Sinteza acidului (R)-3-metil-6-(2-((5-metil-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H-imidazol-1-il)metil)fenoxi)hexanoic (Compusul A):



Intr-un balon cu fund rotund de 250 ml, o soluție agitată de etil (R)-3-metil-6-(2-((5-metil-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H-imidazol-1-il)metil)fenoxi)hexanoat (0,45 g, 0,92 mmol) in tetrahidrofuran (THF: 5 ml), etanol (2,5 ml) și apă (2,5 ml) a fost tratată cu hidroxid de litiu monohidrat (16,0 g, 74,33 mmol) la TC. Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 12 ore. La finalizarea reacției (monitorizată prin TLC), amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă. Reziduul obținut a fost spălat cu EtOAc, diluat cu apă rece și acidulat (pH ~ 5) cu HCl 1N. Solidul a fost filtrat și uscat sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (0,166 g, 39,2%).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,96 (brs, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,05 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,24 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,00 (s, 1H), 6,84 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,43 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 5,21 (s, 2H), 3,98 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,19-2,14 (m, 1H), 2,13 (s, 3H), 2,03-1,94 (m, 1H), 1,85-1,80 (m, 1H), 1,68-1,66 (m, 2H), 1,38-1,36 (m, 1H), 1,28-1,18 (m, 1H), 0,85 (d, J = 6,4 Hz, 3H).

¹⁹F RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ -66,46

LCMS (ESI+, m/z): 462,3 (M+H)⁺.

HPLC: 95,11% (210 nm).

Prepararea sării de meglumină a Compusului A

Au fost utilizate două metode separate pentru a genera o sare de meglumină a Compusului A.

Metoda 1

Compusul A (102,7 mg) a fost combinat cu meglumină (43,7 mg) și 2 ml de 2-propanol într-o fiolă de sticlă de 4 ml. Flaconul a fost sigilat cu un capac și conținutul a fost supus la sonicare la 25°C timp de 20 de minute urmat de agitare la 50°C timp de 60 de minute. Flaconul a fost apoi mutat pe o nouă placă de agitare și suspensia din flacon a fost agitată la 25°C.

Metoda 2

Compusul A (102,2 mg) a fost combinat cu meglumină (43,2 mg) și 2 ml acetonitril într-o fiolă de sticlă de 4 ml. Flaconul a fost sigilat cu un capac și conținutul a fost supus la sonicare la 25°C timp de 20 de minute urmat de agitare la 50°C timp de 60 de minute. Flaconul a fost apoi mutat pe o nouă placă de agitare și suspensia din flacon a fost agitată la 25°C.

- 5 Atât pentru metoda 1 cât și pentru metoda 2, după 2 zile de agitare la 25°C, ambele probe au fost centrifugate, supernatanții aruncați și solidele au fost uscate la aer.

Prepararea Hidratului de Sare de Meglumină a Compusului A

- 10 Într-un balon cu fund rotund de 500 ml, o soluție agitată de Compus A (20 g, 43,33 mmoli) în THF (100 ml) și apă (100 ml) a fost tratată cu meglumină (8,45 g, 43,33 mmoli) la 0°C. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de 6 ore. Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă și solidul obținut a fost uscat sub presiune redusă (3 ore) pentru a da compusul din titlu ca un solid alb (28,5 g, 98,95%).

- 15 ^1H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 8,75 (s, 1H), 8,02 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,82 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,26 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,03 (s, 1H), 6,99 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 6,85 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,50 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,25 (s, 2H), 4,09-3,99 (m, 3H), 3,97-3,77 (m, 2H), 3,74-3,61 (m, 3H), 3,29-3,06 (m, 2H), 2,64 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,18-2,14 (m, 1H), 1,99 - 1,94 (m, 2H), 1,83 - 1,75 (m, 2H), 1,51 - 1,38 (m, 1H), 1,32-1,22 (m, 1H), 0,86 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

^{19}F RMN (400 MHz, CD₃OD): δ -69,39

- 20 Analiză Elementară: Calculat pentru C₃₁H₄₃F₃N₄O₈ · H₂O: C, 55,18; H, 6,72; N, 8,30. Găsit: C, 54,95; H, 6,89; N, 8,07

Conținut de Umiditate (Karl Fischer): 2,33%

Exemplul 2

Compusul A Reduce Leziunea Ischemie-Reperfuzie Atunci Când Este Administrat Intravenos într-un Model Animal de Leziuni Renale Acute

- 25 *Animale, intervenție chirurgicală și dozare:* Șobolani masculi Sprague-Dawley de aproximativ 280-300g, cu acces ad libitum la mâncare standard și apă, au fost folosiți în aceste experimente. Șobolanii (n=8/grup) au fost anesteziați cu izofluran și așezați ventral pe o platformă chirurgicală încălzită cu temperatură controlată. S-a făcut o incizie cutanată pe suprafața dorsală, expunând ambii rinichi prin incizii de flanc. Clemele vasculare au fost aplicate atât pe pediculii renali, și ocluzia a durat 45 de minute. După 45 de minute, clemele au fost îndepărtate, rinichii au fost monitorizați pentru reperfuzie cu succes și situsurile chirurgicale au fost apoi suturate. Grupul placebo (n=4 șobolani) a fost supus unor proceduri chirurgicale similare, cu excepția faptului că clemele de ocluzie nu au fost aplicate. Compusul A a fost formulat ca o soluție curată zilnică proaspătă de hidrat al sării de meglumină a Compusului A (1,5 echivalent Molar de Compus A) în 5% dextroză. Compusul A a fost dozat IV prin vena cozii la 3 mg/kg, 1 mg/kg sau 0,3 mg/kg la 4 ore după ce animalele s-au trezit în urma intervenției chirurgicale și a intervenției chirurgicale placebo, iar animalele martor IRI au fost dozate în mod similar cu vehiculul. *Recoltarea sangelui:* Douăzeci și patru (24) de ore după reperfuzie, sângele a fost colectat în tuburi K2 EDTA prin sangerare retro-orbitală din toate grupurile sub anestezie ușoară cu izofluran. Plasma a fost separată prin centrifugare la 3000 rpm timp de 10 minute la 4°C.

- 40 *Colectarea urinei:* toate grupurile de animale din studiu au fost plasate în cuști metabolice imediat după recuperarea operației și urina a fost colectată timp de 24 sau 48 de ore. Volumul de urină a fost măsurat cu atenție și apoi a fost centrifugat la 3000 rpm timp de 10 minute la 4°C pentru a îndepărta sedimentele. Creatinina din plasmă și urină a fost analizată folosind un analizor de biochimie clinică complet automatizat (Siemens Dimension® Xpand® Plus Integrated Chemistry System). NGAL urinar a fost analizat folosind un kit BioPorto ELISA. Clearance-ul creatininei a fost calculat după cum urmează:

Clearance Creatinină

$$50 \quad = \left(\frac{\left(\text{Creatinină Urinară} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right) \times \text{Volum de Urină (ml)} \right)}{\left(\text{Creatinină Serală} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right) \times 1440 \text{ min (24 ore)} \right)} \right) / (100g \text{ Greutate Corporală})$$

Analiza Datelor și Analiza Statistică:

- Software-ul GraphPad Prism, versiunea 6.05 a fost utilizat pentru realizarea graficelor și testare statistică. Creatinina a fost testată pentru distribuția normală în toate grupurile printr-un test de normalitate D'Agostino-Pearson omnibus și un test de normalitate Shapiro-Wilk. Semnificația statistică ($p < 0,05$) este determinată de o ANOVA One-way obișnuită, urmată de comparația multiplă a lui Dunnett utilizând grupul tratat de IRI ca grup martor. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ și **** $p < 0,0001$ față de Vehicul IR.

Rezultate: Datele sunt prezentate în Figura 1. Compusul A, dozat IV la 4 ore după ischemie, reduce leziunile renale. Compusul A reduce semnificativ creatinina plasmatică, îmbunătățește funcția rinichilor și reduce biomarkerul NGAL pentru leziuni renale precoce atunci când este administrat la 0,3 mg/kg, 1 mg/kg sau

5 3 mg/kg.

Exemplul 3

Compusul B Reduce Leziunea Ischemie-Reperfuzie Atunci Când Este Administrat Pe Cale Orală într-un Model Animal de Leziuni Renale Acute

10 *Animale, intervenție chirurgicală și dozare:* Șobolani masculi Sprague-Dawley de aproximativ 280-300g, cu acces ad libitum la mâncare standard și apă, au fost folosiți în aceste experimente. Șobolanii (n=8/grup) au fost aneșteziați cu izofluran și așezați ventral pe o platformă chirurgicală încălzită cu temperatură controlată. S-a făcut o incizie cutanată pe suprafața dorsală, expunând ambii rinichi prin incizii de flanc. Clemele vasculare au fost aplicate atât pe pediculii renali, și ocluzia a durat 45 de minute. După 45 de minute, clemele au fost îndepărtate, rinichii au
15 fost monitorizați pentru reperfuzie cu succes și situsurile chirurgicale au fost suturate. Grupul placebo (n=4 șobolani) a fost supus unor proceduri chirurgicale similare, cu excepția faptului că clemele de ocluzie nu au fost aplicate. Compusul B a fost formulat ca o suspensie zilnică proaspătă în 0,25% carboximetilceluloză de sodiu, 0,25% Tween-80 în apă purificată. Compusul B a fost administrat pe cale orală la 30 mg/kg la 4 ore după ce animalele s-au trezit în urma intervenției
20 chirurgicale și a intervenției chirurgicale placebo, iar animalele martor IRI au fost dozate în mod similar cu vehiculul.

Recoltarea sangelui: Douăzeci și patru (24) de ore după reperfuzie, sângele a fost colectat în tuburi K2 EDTA prin sangerare retro-orbitală din toate grupurile sub anestezie ușoară cu izofluran. Plasma a fost separată prin centrifugare la 3000 rpm timp de 10 minute la 4°C.

25 *Colectarea urinei:* toate grupurile de animale din studiu au fost plasate în cuști metabolice imediat după recuperarea operației și urina a fost colectată timp de 24 de ore. Volumul de urină a fost măsurat cu atenție și apoi a fost centrifugat la 3000 rpm timp de 10 minute la 4°C pentru a îndepărta sedimentele.

30 Creatinina din plasmă și urină a fost analizată folosind un analizor de biochimie clinică complet automatizat (Siemens Dimension® Xpand® Plus Integrated Chemistry System). Clearance-ul creatininei a fost calculat după cum urmează:

Clearance Creatinină

$$= \left(\frac{\left(\text{Creatinină Urinară} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right) \times \text{Volum de urină (ml)} \right)}{\left(\text{Creatinină Seroică} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right) \times 1440 \text{ min (24 ore)} \right)} \right) / (100g \text{ Greutate Corporală})$$

35 *Analiza Datelor și Analiza Statistică:*

Software-ul GraphPad Prism, versiunea 6.05 a fost utilizat pentru realizarea graficelor și testare statistică. Datele au fost testate pentru distribuția normală în toate grupurile printr-un test de normalitate D'Agostino-Pearson omnibus și un test de normalitate Shapiro-Wilk. Datele distribuite în mod normal au fost supuse unui test t cu două cozi, nepereche. Datele distribuite în mod normal
40 au fost supuse unui test Mann-Whitney (non-parametric). Semnificația statistică este determinată de p < 0,05 a vehiculului IRI comparativ cu grupurile tratate cu compuși. **p < 0,01 și ***p < 0,001 față de Vehicul IR.

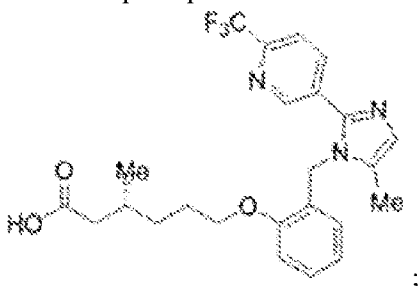
Rezultate: Compusul B, dozat la 4 ore după ischemie, reduce leziunile renale. Compusul B (Figura 2) reduce creatinina plasmatică și îmbunătățește funcția renală atunci când este administrat pe cale
45 orală. Graficul cu bare prezintă nivelurile de creatinină plasmatică în mg/dl la șobolani la 24 de ore după leziunea renală, reduc creatinina plasmatică atunci când este administrată pe cale orală. Barele de la stanga la dreapta reprezintă nivelurile de creatinină plasmatică la șobolani cu intervenție chirurgicală placebo dozată cu vehicul; șobolani cu leziuni renale acute dozate cu vehicul; și șobolani cu leziuni renale acute, dozate cu 30 mpk de Compus B (Figura 2a). În mod
50 similar, graficul cu bare b prezintă nivelurile de clearance a creatininei, o estimare a funcției rinichilor sau a GFR (rata filtrării glomerulară) (Figura 2 b).

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- DEDOROVA ET AL.: "PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR DELTA AGONIST, HPP593, PREVENTS RENAL NECROSIS UNDER CHRONIC ISCHEMIA", PLOS ONE, vol. 8, no. 5, E64436, May 2013 (2013-05), XP002776109,
- WO-A1-2017/062468
- EUN YOUNG LEE ET AL.: "PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR-DELTA ACTIVATIO AMELIORATES ALBUMINURIA BY PREVENTING NEPHRIN LOSS AND RESTORING PODOCYTE INTEGRITY IN TYPE 2 DIABETES", NEPHROL. DIAL. TRANSPLANT., vol. 27, 2012, pages 4069-4079, XP002776110,
- LETAVERNIER ET AL.: "PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR BETA/DELTA EXERTS A STRONG PROTECTION FROM ISCHEMIC ACUTE RENAL FAILURE", J. AM. SOC. NEPHROL., vol. 16, 2005, pages 2395-2402, XP002776111,

(57) Revendicări:

1. Un compus reprezentat de următoarea formulă structurală:



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratamentul intravenos al unui pacient uman cu leziuni renale acute.

2. Compusul pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1, în care sarea acceptabilă farmaceutic a compusului este o sare de meglumină.

3. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1 sau revendicarea 2, în care pacientul este un pacient chirurgical și compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia este administrată pacientului după intervenție chirurgicală.

4. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu revendicările de la 1 până la 3, în care compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia este administrat într-o cantitate eficientă de la 0,1 mg la aproximativ 50 g pe zi.

5. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul este tratat pentru leziuni renale acute cauzate de nefrită interstițială acută.

6. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul este tratat pentru leziuni renale acute cauzate de boala renală glomerulară.

7. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul este tratat pentru leziuni renale acute cauzate de boli renale vasculitice acute.

8. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul este tratat pentru leziuni renale cauzate de ischemie.

9. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul este tratat pentru leziuni renale acute cauzate de leziuni toxice.

10. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul este tratat pentru leziuni renale acute cauzate de azotemie prerenală.

11. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul este tratat pentru leziuni renale acute cauzate de nefropatie distructivă postrenală acută.

12. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul este tratat pentru leziuni renale acute cauzate de diabet, insuficiență renală subiacentă, sindrom nefritic, boală aterosclerotică, sepsis, hipotensiune arterială, hipoxie, mioglobinurie-hematurie sau boală hepatică.

13. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul care este tratat pentru leziuni renale acute este în vârstă, gravidă, pacient chirurgical sau a fost expus unui agent nefrotoxic.

14. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care pacientul a fost expus la un agent nefrotoxic și agentul nefrotoxic este un medicament sau substanță chimică capabilă să provoace leziuni renale acute.

15. Compusul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizarea în conformitate cu revendicarea 14, în care medicamentul sau substanța chimică este unul sau mai mulți dintre compușii selectați din grupul constând din cisplatină; gentamicină; cefaloridină; ciclosporină; amfotericină; tetraclorură de carbon; tricloretilenă; și dicloroacetilenă.

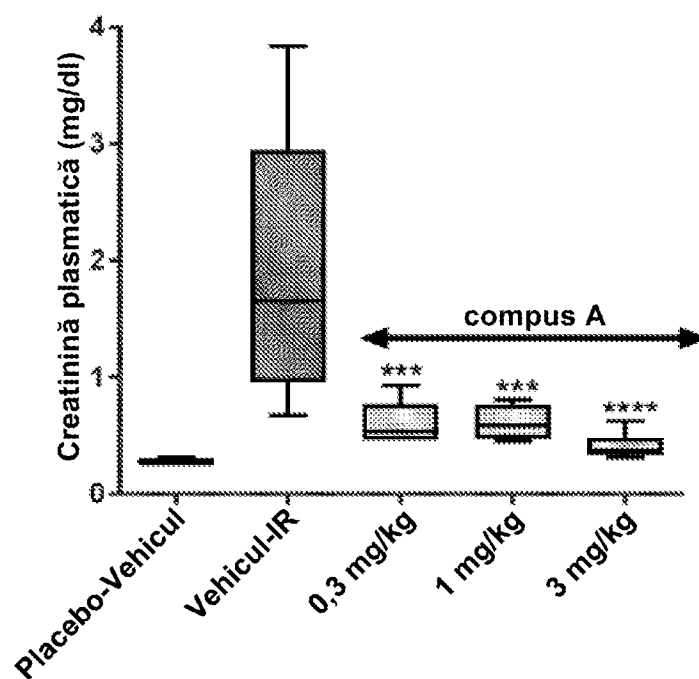


Figura 1a

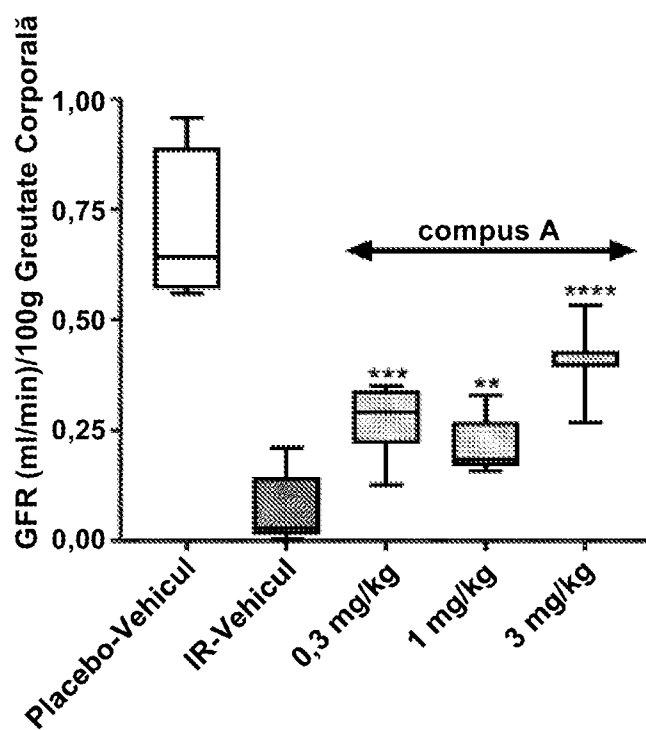


Figura 1b

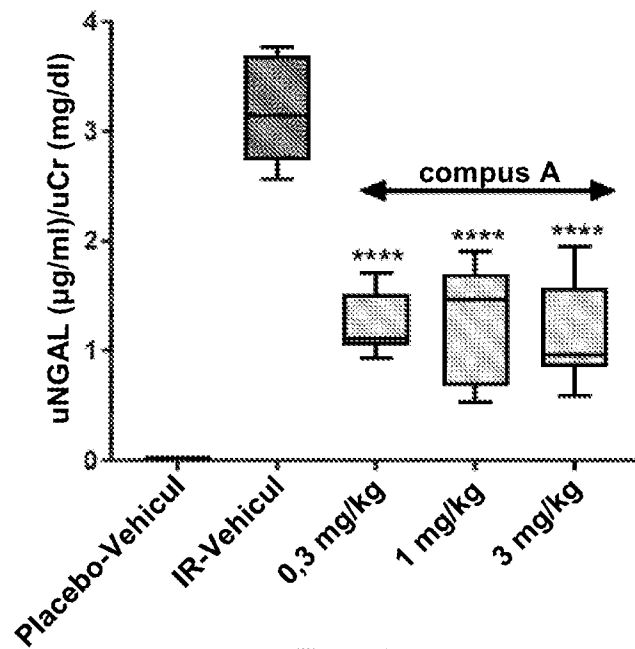


Figura 1c

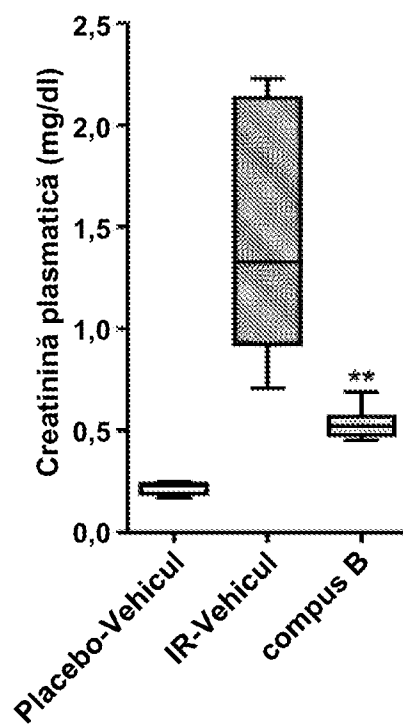


Figura 2a

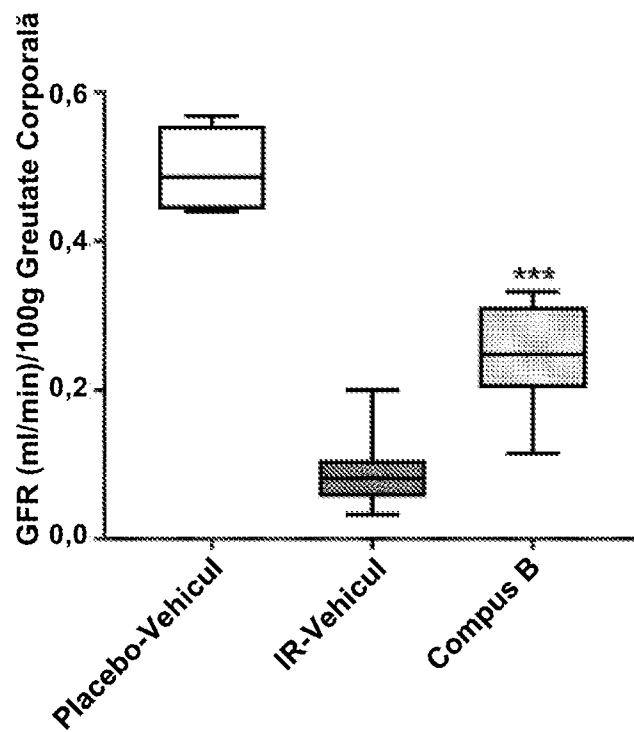


Figura 2b