



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 123537

(13) C2

(51) МПК

A61K 31/513 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2017 04069**
(22) Дата подання заявки: **14.10.2015**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **22.04.2021**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **62/064,358, 62/092,041**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **15.10.2014, 15.12.2014**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US, US**
(41) Публікація відомостей про заявку: **11.09.2017, Бюл.№ 17**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **21.04.2021, Бюл.№ 16**
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/US2015/055487, 14.10.2015**

(72) Винахідник(и):
**Беланофф Джозеф К. (US),
Хант Хейзл (US),
Меєр Онно С. (NL),
ван ден Хьовел Йосе (NL)**

(73) Володілець (володільці):
**КОРЦЕПТ ТЕРАП'ЮТІКС, ІНК.,
149 Commonwealth Drive, Menlo Park,
California 94025, United States of America
(US)**

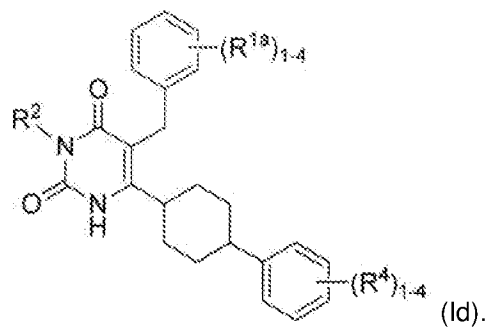
(74) Представник:
Шпакович Тетяна Іванівна, реєстр. №240

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
US 2007066557 A1, 22.03.2007
TSUTOMU WADA ET AL, "Spironolactone Improves Glucose and Lipid Metabolism by Ameliorating Hepatic Steatosis and Inflammation and Suppressing Enhanced Gluconeogenesis Induced by High-Fat and High-Fructose Diet", ENDOCRINOLOGY, US, (20100501), vol. 151, no. 5, doi:10.1210/en.2009-0869, ISSN 0013-7227, pages 2040 - 2049, XP055470049
WO 03105838 A2, 24.12.2003
US 2013072486 A1, 21.03.2013
RAY ET AL, "Discovery and optimization of novel, non-steroidal glucocorticoid receptor modulators", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, AMSTERDAM, NL, (20070804), vol. 17, no. 17, doi:10.1016/J.BMCL.2007.06.036, ISSN 0960-894X, pages 4901 - 4905, XP022184932
HAZEL J. HUNT ET AL, "Discovery of a novel non-steroidal GR antagonist with in vivo efficacy in the olanzapine-induced weight gain model in the rat", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, (20121201), vol. 22, no. 24, doi:10.1016/j.bmcl.2012.10.074, ISSN 0960-894X, pages 7376 - 7380, XP055136322

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ АНТАГОНІСТІВ ГЛЮКОКОРТИКОЇДНИХ ТА МІНЕРАЛОКОРТИКОЇДНИХ РЕЦЕПТОРІВ**(57) Реферат:**

Винахід стосується способу лікування жирової хвороби печінки, що включає введення суб'єкту, який цього потребує, терапевтично ефективної кількості сполуки Формули Іd, тим самим здійснюючи лікування жирової хвороби печінки, при цьому зазначена сполука Формули Іd має структуру:

UA 123537 C2



Стаття I. Перехресні посилання на споріднені заявки

[0001] У даній заявці заявляється пріоритет на підставі попередньої заявки на патент США № 62/090041, поданої 15 грудня 2014 року, та попередньої заявки на патент США № 62/064358, поданої 15 жовтня 2014 року. Зміст вищезгаданих попередніх заявок повністю включений у дану заявку за допомогою посилання.

Стаття II. Рівень техніки

[0002] Розлад печінки можна класифікувати по різних групах захворювань, таких як індукована алкоголем жирова хвороба печінки (AFLD), неалкогольна жирова хвороба печінки (NAFLD), пов'язані з ліками або алкоголем захворювання печінки, вірусні захворювання, імуніопосередковані захворювання печінки, метаболічні захворювання печінки та ускладнення, пов'язані з печіночною недостатністю та/або трансплантацією печінки. Неалкогольна жирова хвороба печінки являє собою розповсюджений розлад печінки з гістологічними особливостями, подібними з особливостями при індукованій алкоголем жировій хворобі печінки, у індивідуумів, які вживають мало або взагалі не вживають алкоголь. Жирова хвороба печінки пов'язана з аномальним утриманням ліпідів (жирів) у гепатоцитах.

[0003] Продовжує спостерігатися нестача ефективних засобів для лікування AFLD та NAFLD. На сьогоднішній день таким пацієнтам не призначають терапевтичне лікування лікарськими засобами. Існує потреба у нових терапевтичних можливостях для регулювання жирової хвороби печінки.

[0004] У більшості видів, включаючи людину, фізіологічний глюкокортикоїд являє собою кортизол (гідрокортизон). Глюкокортикоїди секретуються у відповідь на АКТГ (кортикотропін), який демонструє одночасну зміну та підвищення рівнів у період циркадного ритму у відповідь на стрес та їжу. Рівні кортизолу протягом декількох хвилин швидко реагують на багато фізичних та психологічних стресів, включаючи травму, хірургію, фізичні вправи, занепокоєння та депресію. Кортизол є стероїдом та діє за допомогою зв'язування із внутрішньоклітинним глюкокортикоїдним рецептором (GR). У людини глюкокортикоїдні рецептори присутні у двох формах: лігандзв'язуючого GR-альфа 777 амінокислот та ізоформі GR-бета, у якій відсутні 50 карбоксильних кінцевих залишків. Оскільки ці залишки містять лігандзв'язуючий домен, GR-бета не може зв'язувати природній ліганд, та він конститутивно локалізований у ядрі. GR також відомий як GR II.

[0005] Кортизол та інші глюкокортикоїди також можуть впливати на мінералокортикоїдний рецептор (MR), у цьому випадку вони згадуються як антагоністи мінералокортикоїдів або мінералокортикоїдних рецепторів (MRA). Мінералокортикоїдний рецептор в основному регулює концентрацію солі у організмі. MR може по суті мати однакову афінність стосовно мінералокортикоїдів та глюкокортикоїдів.

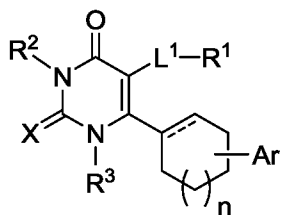
[0006] Біологічні ефекти кортизолу, у тому числі ті, які викликані гіперкортизолемією, можна модулювати на рівні GR із застосуванням модуляторів рецепторів, таких як агоністи, часткові агоністи та антагоністи. Декілька різних класів агентів здатні блокувати фізіологічні ефекти зв'язування GR-агоністів. Ці антагоністи включають композиції, які за допомогою зв'язування з GR блокують здатність агоніста ефективно зв'язувати та/або активувати GR. Було виявлено, що один з таких відомих GR-антагоністів, міфепристон, є ефективним антиглюкокортикоїдним агентом у людей (Bertagna (1984) J. Clin. Endocrinol. Metab. 59: 25). Міфепристон з високою афінністю зв'язується з GR зі значенням константи дисоціації (K_d) 10^{-9} M (Cadepond (1997) Annu. Rev. Med. 48: 129).

[0007] На додаток до кортизолу біологічні ефекти інших стероїдів можна модулювати на рівні GR із застосуванням модуляторів рецепторів, таких як агоністи, часткові агоністи та антагоністи. При введенні суб'єктам, які цього потребують, стероїди можуть забезпечувати як передбачувані терапевтичні ефекти, наприклад, шляхом стимуляції трансрепресії глюкокортикоїдного рецептору, так і негативних побічних ефектів, наприклад, шляхом трансактивації хронічного глюкокортикоїдного рецептору.

[0008] У даній галузі техніки необхідні нові композиції та способи модуляції GR-рецепторів для лікування жирової хвороби печінки. Несподіваним чином даний винахід відповідає цим та іншим потребам.

Стаття III. Короткий опис винаходу

[0009] У одному варіанті реалізації даного винаходу запропонований спосіб лікування жирової хвороби печінки. Спосіб включає введення суб'єктові, який цього потребує, терапевтично ефективної кількості сполуки Формули I, тим самим здійснюється лікування жирової хвороби печінки, при цьому сполука Формули I має структуру:



(I).

У вказаній сполуці Формули I пунктирна лінія відсутня або являє собою зв'язок. X являє собою O або S. R¹ являє собою циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил або гетероарил, необов'язково заміщений однією-трьма R^{1a} групами. Кожен R^{1a} незалежно являє собою H, C₁₋₆ алкіл, C₂₋₆ алкеніл, C₂₋₆ алкініл, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ алкіл-OR^{1b}, галоген, C₁₋₆ галогеналкіл, C₁₋₆ галогеналокси, -OR^{1b}, -NR^{1b}R^{1c}, -C(O)R^{1b}, -C(O)OR^{1b}, -OC(O)R^{1b}, -C(O)NR^{1b}R^{1c}, -NR^{1b}C(O)R^{1c}, -SO₂R^{1b}, -SO₂NR^{1b}R^{1c}, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил або гетероарил. R^{1b} та R^{1c} кожен являє собою H або C₁₋₆ алкіл. R² являє собою H, C₁₋₆ алкіл, C₁₋₆ алкіл-OR^{1b}, C₁₋₆ алкіл-NR^{1b}R^{1c} або C₁₋₆ алкіленгетероциклоалкіл. R³ являє собою H або C₁₋₆ алкіл. Ar являє собою арил, необов'язково заміщений однією-чотирма R⁴ групами. Кожен R⁴ являє собою H, C₁₋₆ алкіл, C₁₋₆ алкокси, галоген, C₁₋₆ галогеналкіл або C₁₋₆ галогеналокси. L¹ являє собою зв'язок або C₁₋₆ алкілен. Підстрочний індекс n являє собою ціле число від 0 до 3. Також включені солі та ізомери

приведених у даному документі сполук.

Стаття IV. Короткий опис креслень

[0010] На Фігурі 1 представлений відсоток жирів (ліпідних крапельок) у пофарбованій за допомогою Oil Red O печінці мишей, які одержували харчування з високим вмістом жирів та Сполуку 1 (60 мг/кг/день), відносно контрольних мишей, які одержували харчування з високим вмістом жирів та середовище-носії.

[0011] На Фігурах 2A та 2B представлене фарбування за допомогою Oil Red O ліпідних крапельок з печінки миші, яка одержувала харчування з високим вмістом жирів ("HF") та Сполуку 1 (Фігура 2A), та контрольної миші, яка одержувала харчування з високим вмістом жирів та середовище-носії (Фігура 2B).

[0012] На Фігурі 3 представлений відсоток жирів (ліпідних крапельок) у пофарбованій за допомогою Oil Red O печінці мишей, які одержували харчування з високим вмістом жирів та або міфепристон, або Сполуку 1 (60 мг/кг/день), відносно контрольних мишей, які одержували харчування з високим вмістом жирів та середовище-носії. * p < 0,05 "Сполука 1" у порівнянні з "CTRL".

[0013] На Фігурі 4 представлені рівні тригліцеридів у печінці мишей, що одержували нормальне харчування (група "CHOW"), мишей, що одержували харчування з високим вмістом жирів протягом 3 тижнів (група "HF-3wks"), мишей, що одержували харчування з високим вмістом жирів протягом 6 тижнів (група "HF-6wks"), мишей, що одержували харчування з високим вмістом жирів та Сполуку 1 протягом 6 тижнів (група "HF+118335-6wks"), та мишей, що одержували харчування з високим вмістом жирів протягом 6 тижнів із введенням Сполуки 1 тільки у останні 3 тижні (група "HF-118335 rev"). ** p < 0,01 у порівнянні з "CHOW"; # p < 0,05 у порівнянні з "HF-6wks"; ## p < 0,01 у порівнянні з "HF-6wks".

Стаття V. Детальний опис винаходу

I. Загальні положення

[0014] У даному винаході запропоновані сполуки та способи лікування жирової хвороби печінки за допомогою введення сполуки згідно із даним винаходом пацієнтові, що страждає від жирової хвороби печінки. Не обмежуючись якою-небудь теорією, всупереч загальноприйнятому розумінню у даній галузі техніки, що зазначені сполуки згідно із даним винаходом специфічно зв'язуються із глюкокортикоїдним рецептором, у даному винаході лікування жирової хвороби печінки здійснюється за допомогою зв'язування як із глюкокортикоїдним, так і з мінералокортикоїдним рецептором, ніж специфічного зв'язування із глюкокортикоїдним рецептором у порівнянні з іншими ядерними рецепторами, такими як мінералокортикоїдний рецептор та прогестероновий рецептор.

II. Визначення

[0015] Застосовувані у даному документі аббревіатури мають загальноприйняте значення у галузі хімії та біології.

[0016] Якщо групи замісників позначені за допомогою загальноприйнятих хімічних формул, написаних зліва направо, вони рівною мірою охоплюють хімічно ідентичні замісники, які можуть виникнути у результаті запису структури справа наліво, наприклад, -CH₂O- еквівалентний -OCH₂-.

[0017] "Алкіл" відноситься до нерозгалуженого або розгалуженого насиченого аліфатичного радикалу, що містить зазначене число атомів вуглецю. Наприклад, C_1 - C_6 алкіл включає, але не обмежується ними, метил, етил, пропіл, бутил, пентил, гексил, ізопропіл, ізобутил, втор-бутил, трет-бутил і т.д.

5 [0018] «Алкілен» відноситься або до нерозгалуженого, або до розгалуженого алкілену з 1-7 атомами вуглецю, тобто до двовалентного вуглеводневого радикалу з 1-7 атомами вуглецю; наприклад, алкілену з нерозгалуженим ланцюгом, що є двовалентним радикалом згідно з Формулою $-(CH_2)_n-$, де n являє собою 1, 2, 3, 4, 5, 6 або 7. Переважно алкілен являє собою алкілен з нерозгалуженим ланцюгом, що містить від 1 до 4 атомів вуглецю, наприклад, метиленовим, етиленовим, пропіленовим або бутиленовим ланцюгом, або метиленовим, етиленовим, пропіленовим або бутиленовим ланцюгом, монозаміщеним C_1 - C_3 алкілом (переважно метилом) або двозаміщеним біля одного і того ж або різних атомів вуглецю C_1 - C_3 алкілом (переважно метилом), із загальною кількістю атомів вуглецю, що становить не більше та включно 7. Спеціалісту у даній галузі техніки буде зрозуміло, що один вуглець алкілену може бути двовалентним, як, наприклад, у $-CH((CH_2)_nCH_3)-$, при цьому $n=0-5$.

10 [0019] «Алкеніл» відноситься до вуглеводню з або нерозгалуженим, або з розгалуженим ланцюгом з 2-6 атомами вуглецю, що містить щонайменше один подвійний зв'язок. Приклади алкенільних груп включають, але не обмежуються ними, вініл, пропеніл, ізопропеніл, 1-бутеніл, 2-бутеніл, ізобутеніл, бутадієніл, 1-пентеніл, 2-пентеніл, ізопентеніл, 1,3-пентадієніл, 1,4-пентадієніл, 1-гексеніл, 2-гексеніл, 3-гексеніл, 1,3-гексадієніл, 1,4-гексадієніл, 1,5-гексадієніл, 2,4-гексадієніл або 1,3,5-гексатрієніл. Алкенільні групи також можуть містити від 2 до 3, від 2 до 4, від 2 до 5, від 3 до 4, від 3 до 5, від 3 до 6, від 4 до 5, від 4 до 6 та від 5 до 6 атомів вуглецю. Алкенільні групи звичайно одновалентні, однак можуть бути двовалентними, наприклад, коли алкенільна група зв'язує разом два фрагменти.

25 [0020] «Алкініл» відноситься до вуглеводню або з нерозгалуженим, або з розгалуженим ланцюгом з 2-6 атомами вуглецю, що містить щонайменше один потрійний зв'язок. Приклади алкінільних груп включають, але не обмежуються ними, ацетиленіл, пропініл, 1-бутиніл, 2-бутиніл, ізобутиніл, втор-бутиніл, бутадиніл, 1-пентиніл, 2-пентиніл, ізопентиніл, 1,3-пентадиніл, 1,4-пентадиніл, 1-гексиніл, 2-гексиніл, 3-гексиніл, 1,3-гексадиніл, 1,4-гексадиніл, 1,5-гексадиніл, 2,4-гексадиніл або 1,3,5-гексатриніл. Алкінільні групи також можуть містити від 2 до 3, від 2 до 4, від 2 до 5, від 3 до 4, від 3 до 5, від 3 до 6, від 4 до 5, від 4 до 6 та від 5 до 6 атомів вуглецю. Алкінільні групи звичайно одновалентні, однак можуть бути двовалентними, наприклад, коли алкінільна група зв'язує разом два фрагменти.

30 [0021] «Алкокси» відноситься до описаного вище алкільного радикалу, який також містить кисневий замісник, здатний ковалентно приєднуватися до іншого вуглеводню, наприклад, метокси, етокси або трет-бутоксигрупи.

35 [0022] «Галоген» сам собою або як частина іншого замісника позначає, якщо не зазначено інше, атом фтору, хлору, бром у або йоду.

40 [0023] «Галогеналкіл» відноситься до визначеного вище алкілу, у якого деякі або всі атоми водню заміщені атомами галогену. Галоген (halo) переважно являє собою хлор або фтор, однак також може являти собою бром або йод. Наприклад, галогеналкіл включає трифторметил, фторметил, 1,2,3,4,5-пентафторфеніл та т.д. Термін "перфтор" означає сполуку або радикал, яка містить щонайменше два доступні водні, заміщені фтором. Наприклад, перфторметан відноситься до 1,1,1-трифторметилу.

45 [0024] «Галогеналкокси» відноситься до визначеного вище алкокси, у якого деякі або всі атоми водню заміщені атомами галогену. Мається на увазі, що "галогеналкокси" включає моногалогеналкіл(окси) та полігалогеналкіл(окси).

50 [0025] «Алкіламін» відноситься до визначених вище алкільних груп, що містять одну або більше аміногруп. Аміногрупи можуть бути первинними, вторинними або третинними. Алкіламін може бути також заміщений гідроксильною групою. Алкіламіни, що підходять для застосування у даному винаході, включають, але не обмежуються ними, етиламін, пропіламін, ізопропіламін, етилендіамін та етаноламін. Аміногрупа може зв'язувати алкіламін через точку приєднання з рештою сполуки, знаходиться у омега-положенні алкільної групи або разом зв'язувати щонайменше два атоми вуглецю алкільної групи. Спеціалісту у даній галузі техніки буде зрозуміло, що інші алкіламіни є підходящими для застосування у даному винаході.

55 [0026] «Циклоалкіл» відноситься до насиченого або частково ненасиченого, моноциклічного, конденсованого біциклічного або з'єднаного містковим зв'язком поліциклічного ансамблю кілець, що містить від 3 до 12 кільцевих атомів або зазначене число атомів. Наприклад, C_3 - C_8 циклоалкіл включає циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил та циклооктил. Циклоалкіл також включає норборніл та адамантил.

[0027] «Гетероциклоалкіл» відноситься до кільцевої системи, що містить від 3 кільцевих членів до приблизно 20 кільцевих членів та від 1 до приблизно 5 гетероатомів, таких як N, O та S. Додаткові гетероатоми можуть бути також підходящими, включаючи, але не обмежуючись ними, B, Al, Si та P. Гетероатоми можуть бути також окисленими, такі як, але не обмежуючись ними, $-S(O)-$ та $-S(O)_2-$. Наприклад, гетероцикл включає, але не обмежується ними, тетрагідрофураніл, тетрагідротіофеніл, морфоліно, піролідініл, піролініл, імідазолідініл, імідазолініл, піразолідініл, піразолініл, піперазиніл, піперидиніл, індолініл, хінуклідініл та 1,4-діокса-8-азаспіро[4,5]дец-8-ил.

[0028] «Алкіленгетероциклоалкіл» відноситься до визначеної вище гетероциклоалкільної групи, яка зв'язана з іншою групою за допомогою алкілену. Гетероциклоалкіл та група, з якою гетероциклоалкіл зв'язаний за допомогою алкілену, можуть бути зв'язані з одним і тим же атомом або з іншим атомом алкілену.

[0029] Доти, поки не зазначене інше, "арил" означає поліненасичений ароматичний вуглеводневий замісник, який може являти собою одне кільце або безліч кілець (переважно від 1 до 3 кілець), які конденсовані або ковалентно зв'язані. Приклади включають, але не обмежуються ними, феніл, біфеніл, нафтил та бензил.

[0030] «Гетероарил» відноситься до арильних груп (або кілець), які містять від одного до чотирьох гетероатомів, вибраних з N, O та S, при цьому атоми азоту та сірки необов'язково окислені, а атом(-и) азоту необов'язково кватернізовані. Гетероарильну групу можна приєднати до решти молекули через вуглець або гетероатом. Необмежуючі приклади арильних та гетероарильних груп включають феніл, 1-нафтил, 2-нафтил, 4-біфеніл, 1-піроліл, 2-піроліл, 3-піроліл, 3-піразоліл, 2-імідазоліл, 4-імідазоліл, піразиніл, 2-оксазоліл, 4-оксазоліл, 2-феніл-4-оксазоліл, 5-оксазоліл, 3-ізоксазоліл, 4-ізоксазоліл, 5-ізоксазоліл, 2-тіазоліл, 4-тіазоліл, 5-тіазоліл, 2-фурил, 3-фурил, 2-тієніл, 3-тієніл, 2-піридил, 3-піридил, 4-піридил, 2-піримідил, 4-піримідил, 5-бензотіазоліл, пуриніл, 2-бензімідазоліл, 5-індоліл, 1-ізохіноліл, 5-ізохіноліл, 2-хіноксалініл, 5-хіноксалініл, 3-хіноліл та 6-хіноліл. Замісники для кожної із зазначених вище арильних та гетероарильних кільцевих систем вибрані з групи прийнятних замісників, описаних нижче.

[0031] Для стислості термін "арил" при використанні у комбінації з іншими термінами (наприклад, арилокси, арилтіокси, ариалалкіл) включає як арильні, так і гетероарильні кільця, визначені вище. Таким чином, мається на увазі, що термін "арилалкіл" включає ті радикали, у яких арильна група приєднана до алкільної групи (наприклад, бензил, фенетил, піридилметил та їм подібні), включаючи ті алкільні групи, у яких атом вуглецю (наприклад, метиленова група) замінена, наприклад, атомом кисню (наприклад, феноксиметил, 2-піридилоксиметил, 3-(1-нафтилокси)пропіл та їм подібні). Аналогічним чином мається на увазі, що термін "гетероарилалкіл" включає ті радикали, у яких гетероарильна група приєднана до алкільної групи.

[0032] Мається на увазі, що кожен із зазначених вище термінів (наприклад, "алкіл", "арил" та "гетероарил") включає як заміщені, так і незаміщені форми зазначеного радикалу. Приклади замісників для кожного типу радикалу приведені нижче.

[0033] Замісники для алкільних та гетероалкільних радикалів (включаючи ті групи, які часто позначають як алкілен, алкеніл, гетероалкілен, гетероалкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, циклоалкеніл та гетероциклоалкеніл) можуть являти собою одну або більше з множини груп, вибраних з, але не обмежених ними: $-OR'$, $=O$, $=NR'$, $=N-OR'$, $-NR'R''$, $-SR'$, галоген, $-SiR'R'R'''$, $-OC(O)R'$, $-C(O)R'$, $-CO_2R'$, $-CONR'R''$, $-OC(O)NR'R''$, $-NR'C(O)R'$, $-NR'C(O)NR'R'''$, $-NR'C(O)_2R'$, $-NR-C(NR'R'R''')=NR'''$, $-NR-C(NR'R'')=NR'''$, $-S(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)_2NR'R''$, $-NR(SO_2)R'$, $-CN$ та $-NO_2$ у кількості від нуля до $(2m'+1)$, де m' являє собою загальне число атомів вуглецю у такому радикалі. R' , R'' , R''' та R'''' кожен переважним чином незалежно один від іншого позначає водень, заміщені або незаміщені гетероалкільні, заміщені або незаміщені циклоалкільні, заміщені або незаміщені гетероциклоалкільні, заміщені або незаміщені арильні (наприклад, арил, заміщений 1-3 галогенами), заміщені або незаміщені алкільні, алкокси або тіоалкокси групи або ариалалкільні групи. Коли сполука у відповідності з даним винаходом включає більше, ніж одну R-групу, наприклад, незалежним чином вибирають кожну з R-груп, також як і кожну R' , R'' , R''' та R'''' -групу, коли представлена більше, ніж одна із зазначених груп. Коли R' та R'' приєднані до одного і того ж атому азоту, їх можна об'єднати з атомом азоту з утворенням 4-, 5-, 6- або 7-членного кільця. Наприклад, мається на увазі, що $-NR'R''$ включає, але не обмежується ними, 1-піролідініл та 4-морфолініл. З приведенного вище обговорення замісників спеціалісту у даній галузі техніки буде зрозуміло, що термін "алкіл" буде включати групи, що містять атоми вуглецю, зв'язані з групами, відмінними від водневих груп,

такі як галогеналкіл (наприклад, $-\text{CF}_3$ та $-\text{CH}_2\text{CF}_3$) та ацил (наприклад, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CF}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{OCH}_3$ та їм подібні).

[0034] Аналогічно замісникам, описаним для алкільного радикалу, замісники для арильних та гетероарильних груп варіюються, та вони вибрані, наприклад, з: галогену, $-\text{OR}'$, $-\text{NR}'\text{R}''$, $-\text{SR}'$, $-\text{SiR}'\text{R}''\text{R}'''$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{CO}_2\text{R}'$, $-\text{CONR}'\text{R}''$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$, $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{NR}'\text{R}'''$, $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$, $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}''\text{R}''')=\text{NR}''''$, $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}''\text{R}''')=\text{NR}''''$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$, $-\text{NR}(\text{SO}_2)\text{R}'$, $-\text{CN}$ та $-\text{NO}_2$, $-\text{R}'$, $-\text{N}_3$, $-\text{CH}(\text{Ph})_2$, фтор(C_1 - C_4)алкокси та фтор(C_1 - C_4)алкілу у кількості від нуля до загального числа відкритих валентностей у системі ароматичних кілець, та де R' , R'' , R''' та R'''' переважним чином незалежно вибрані з водню, заміщеного або незаміщеного алкілу, заміщеного або незаміщеного гетероалкілу, заміщеного або незаміщеного циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного гетероциклоалкілу, заміщеного або незаміщеного арилу та заміщеного або незаміщеного гетероарилу. Коли сполука у відповідності з даним винаходом включає більше, ніж одну R-групу, наприклад, незалежним чином вибирають кожну з R-груп, також як і кожну R' -, R'' -, R''' - та R'''' -групу, коли представлена більше, ніж одна із зазначених груп.

[0035] Коли два замісники "необов'язково з'єднані разом з утворенням кільця", два замісники ковалентно зв'язані разом з атомом або атомами, до яких приєднані два замісники з утворенням заміщеного або незаміщеного арильного, заміщеного або незаміщеного гетероарильного, заміщеного або незаміщеного циклоалкільного або заміщеного або незаміщеного гетероциклоалкільного кільця.

[0036] «Сіль» відноситься до солей кислот або основ сполук, застосовуваних у способах згідно із даним винаходом. Ілюстративними прикладами фармацевтично прийнятних солей є солі мінеральних кислот (соляна кислота, бромистоводнева кислота, фосфорна кислота та їм подібні), солі органічних кислот (оцтова кислота, пропіонова кислота, глутамінова кислота, лимонна кислота та їм подібні), солі четвертинного амонію (метилйодид, етилйодид та їм подібні). Зрозуміло те, що фармацевтично прийнятні солі є нетоксичними. Додаткову інформацію про підходящі фармацевтично прийнятні солі можна знайти у Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., видавництво Mack Publishing, Істон, Пенсильванія, 1985, яке включено у даний документ за допомогою посилання.

[0037] «Гідрат» відноситься до сполуки, яка знаходиться у комплексі з щонайменше однією молекулою води. Зазначені сполуки у відповідності з даним винаходом можуть знаходитися у комплексі з 1-10 молекулами води.

[0038] «Ізомери» відносяться до сполук з однією і тією ж хімічною формулою, але які відрізняються за структурою.

[0039] «Таутомер» відноситься до одного з двох або більше структурних ізомерів, які існують у рівновазі та які легко перетворюються з однією форми у іншу.

[0040] «Фармацевтично прийнятна допоміжна речовина» та "фармацевтично прийнятний носій" відносяться до речовини, яка сприяє введенню активного агенту та абсорбції суб'єктом та які можна включати у композиції згідно із даним винаходом, не викликаючи значимого несприятливого токсикологічного ефекту у зазначеного пацієнта. Необмежуючі приклади фармацевтично прийнятних допоміжних речовин включають воду, NaCl , нормальні фізіологічні розчини, Рінгера лактат, нормальну сахарозу, нормальну глюкозу, зв'язувальні речовини, наповнювачі, розпушувачі, лубриканти, речовини для покриття, підсолоджувачі, ароматизатори та барвники та їм подібні. Фахівцеві у даній галузі техніки буде зрозуміло, що інші фармацевтичні допоміжні речовини є підходящими для застосування у даному винаході.

[0041] «Лікувати», "лікування" та "лікуючий" відносяться до будь-яких ознак ефективності при лікуванні або зменшенні інтенсивності травми, патології або стану, включаючи будь-які об'єктивні або суб'єктивні параметри, такі як ослаблення болю або виразності симптомів; ремісія; ослаблення симптомів або коли травма, патологія або стан стає більш стерпним для пацієнта; показник швидкості дегенерації або погіршення стану здоров'я; коли кінцева точка дегенерації стає менш виснажливою; поліпшення фізичного або психічного самопочуття пацієнта. Лікування або зменшення інтенсивності симптомів можуть бути основані на об'єктивних або суб'єктивних параметрах, включаючи результати фізичного обстеження, нейропсихіатричних обстежень та/або психіатричної оцінки.

[0042] «Ядерні рецептори» відносяться до класу білків, відповідальних за розпізнавання та відповідь на стероїдні та тиреоїдні гормони, а також синтетичні гормони та сполуки. Існує ряд підродин, включаючи подібні рецептору тиреоїдного гормону, ретиноїдному X-рецептору, естрогеновому рецептору та факторові росту нервів ІВ серед інших. Підродина подібних естрогеновому рецептору включає сімейства естрогенового рецептору, пов'язаного з естрогеном рецептору та 3-кетостероїдні рецептори. Сімейство 3-кетостероїдних рецепторів

включає безліч рецепторів, таких як, але не обмежуючись ними, глюкокортикоїдний рецептор (GR), мінералокортикоїдний рецептор (MR), естрогеновий рецептор (ER), прогестероновий рецептор (PR) та андрогенний рецептор (AR).

[0043] «Глюкокортикоїдний рецептор» ("GR") відноситься до сімейства внутрішньоклітинних рецепторів, які специфічним чином зв'язуються з кортизолом та/або аналогами кортизолу. Глюкокортикоїдний рецептор також згадується як рецептор кортизолу. Термін включає ізоформи GR, рекомбінантний GR та мутований GR. "Глюкокортикоїдний рецептор" ("GR") відноситься до GR II типу, який специфічним чином зв'язується з кортизолом та/або аналогами кортизолу, такими як дексаметазон (див., наприклад, Turner & Muller, J. Mol. Endocrinol. 1 жовтня 2005 р., 35, 283-292). Константи інгібування (K_i) для зазначених сполук згідно із даним винаходом відносно ядерних рецепторів людини становлять від 0,0001 нМ до 1000 нМ, переважно від 0,0005 нМ до 10 нМ та найбільш переважно від 0,001 нМ до 1 нМ.

[0044] «Модуляція ядерного рецептора» відноситься до способів коректування відповіді глюкокортикоїдного рецептору відносно глюкокортикоїдів, антагоністів, агоністів та часткових агоністів глюкокортикоїдів, а також мінералокортикоїдного рецептору стосовно мінералокортикоїдів, антагоністів, агоністів та часткових агоністів MR. Способи включають взаємодію GR та MR з ефективною кількістю або антагоністу, агоністу, або часткового агоністу, та виявлення зміни активності GR або активності GR та MR.

[0045] «Модулятор ядерного рецептору» відноситься до будь-якої композиції або сполуки, яка модулює зв'язування агоніста глюкокортикоїдного рецептору (GR), такого як кортизол або аналог кортизолу, синтетичний або природний, з GR, а також модулює зв'язування агоніста MR, такого як альдостерон або його аналогів, з MR. Модуляція може включати часткове або повне інгібування (антагонізм) зв'язування агоністу GR з GR та/або агоністу MR з MR.

[0046] «Антагонізм» відноситься до блокування зв'язування агоніста на молекулі рецептору або до інгібування сигналу, утвореного агоністом рецептору. Антагоніст рецептору блокує або послабляє опосередковані агоністами відповіді.

[0047] «Антагоніст глюкокортикоїдного рецептору» відноситься до будь-якої композиції або сполуки, яка частково або повністю інгібує (антагонізує) зв'язування агоніста глюкокортикоїдного рецептору (GR), такого як кортизол або аналог кортизолу, синтетичний або природний, з GR.

[0048] «Специфічний антагоніст глюкокортикоїдного рецептору» або "специфічний антагоніст мінералокортикоїдного рецептору" відноситься до будь-якої композиції або сполуки, яка інгібує будь-яку біологічну відповідь, пов'язану зі зв'язуванням GR та/або MR з агоністом. Під "специфічним" автори даного винаходу мають на увазі, що лікарський засіб переважно зв'язується з GR та/або MR, ніж з іншими ядерними рецепторами, такими як естрогеновий рецептор (ER), прогестероновий рецептор (PR) або андрогенний рецептор (AR).

[0049] «Мінералокортикоїдний рецептор» відноситься до сімейства внутрішньоклітинних рецепторів, які зв'язуються з мінералокортикоїдами, такими як альдостерон, та глюкокортикоїдами, такими як кортизол, з по суті рівною афінністю. Мінералокортикоїдний рецептор (MR) також згадується як рецептор альдостерону або ядерний рецептор під родини 3, групи C, член 2 (NR3C2). MR відноситься до сімейства цитозольних рецепторів. Активація MR здійснюється за допомогою мінералокортикоїдів, таких як альдостерон та його попередник дезоксикортикостерон, а також глюкокортикоїдів, таких як кортизол.

[0050] «Антагоніст мінералокортикоїдного рецептору» відноситься до будь-якої композиції або сполуки, яка частково або повністю інгібує (антагонізує) зв'язування агоніста мінералокортикоїдного рецептору (MR), такого як альдостерон або аналоги альдостерону, синтетичні або природні, з MR.

[0051] «Пацієнт» або "суб'єкт" відноситься до живого організму, що страждає на або схильний до стану, який можна лікувати шляхом введення фармацевтичної композиції, запропонованої у даному документі. Необмежуючі приклади включають людей, інших ссавців та інших тварин, що не є ссавцями.

[0052] «Терапевтично ефективна кількість» відноситься до кількості кон'югованого функціонального агенту або фармацевтичної композиції, що підходить для лікування або зменшення ефективності ідентифікованого захворювання або стану, або для прояву виявлюваного терапевтичного або інгібуючого ефекту. Зазначений ефект можна виявити за допомогою будь-якого методу аналізу, відомого у даній галузі техніки.

[0053] Терміни "форми однини", коли їх використовують відносно групи замісників або "група замісників" у даному документі, означають щонайменше один. Наприклад, коли сполука заміщена алкілом або арилом, сполука необов'язково заміщена щонайменше одним алкілом та/або щонайменше одним арилом, при цьому кожен алкіл та/або арил необов'язково різні. У

іншому прикладі, коли сполука заміщена групою замісників, зазначена сполука заміщена щонайменше однієї групою замісників, при цьому кожна група замісників необов'язково різна.

[0054] «Жирова хвороба печінки» відноситься до захворювання або патологічного стану, викликаного, щонайменше частково, аномальними відкладеннями ліпідів у печінці. Жирова хвороба печінки включає, наприклад, алкогольну жирову хворобу печінки, неалкогольну жирову хворобу печінки та гостру жирову дистрофію печінки при вагітності. Жирова хвороба печінки може являти собою, наприклад, макровезикулярний стеатоз або мікровезикулярний стеатоз.

[0055] «Пов'язане з алкоголем захворювання печінки» або "ARLD" відноситься до захворювань печінки, які повністю або частково викликані або обумовлені надмірним споживанням алкоголю. Існують чотири основні типи ARLD, алкогольна жирова дистрофія печінки (AFL, підтип жирової хвороби печінки), алкогольний стеатогепатит (ASH), індукований алкоголем цироз та алкогольний гепатоцелюлярний рак. У контексті даного опису термін "надмірне споживання алкоголю" звичайно відноситься до споживання більш, ніж приблизно 15-30 г етанолу на день.

[0056] Фізіологічні ефекти споживання алкоголю на функцію або захворювання печінки залежать від безлічі генетичних та негенетичних факторів, які змінюють як індивідуальну сприйнятливість, так і клінічний перебіг ARLD. Таким чином, у певних пацієнтів ARLD може розвиватися при набагато більш низьких показниках споживання алкоголю, включаючи споживання щонайменше приблизно 12 г/день, 15 г/день, 20 г/день, 25 г/день та більше. Більше того, зрозуміло те, що у деяких пацієнтів оцінки щоденного споживання алкоголю являють собою середнє значення, яке включає періоди надмірного вживання алкоголю та періоди вживання алкоголю у невеликій кількості або його невживання. Таке середнє значення може включати середнє споживання алкоголю щонайменше протягом приблизно тижня, двох тижнів, місяця, трьох місяців, шести місяців, дев'яти місяців, року, 2, 3 або 4 років або більше. У деяких випадках визначення того, чи представляє собою дисфункція печінки ARLD, ґрунтується на згадуванні безлічі факторів, включаючи, але не обмежуючись ними: кількість та тип споживання алкогольного напою (наприклад, пиво або спиртні напої); тривалість зловживання алкоголем; моделі поведінки, пов'язані із вживанням алкоголю (наприклад, непомірне вживання алкоголю, вживання алкоголю без одночасного споживання продуктів харчування і т.д.); стать; етнічна приналежність; супутні захворювання, такі як метаболічний синдром або діабет, перенасичення залізом або інфекція вірусом гепатиту, генетичні маркери; історія родини; рівні ферментів печінки; рівні прозапальних цитокінів; аналіз експресії генів або білків або гістопатологічне дослідження тканини або клітин печінки.

[0057] «Розлад печінки, не пов'язаний з надмірним вживанням алкоголю» - це розлад печінки, який відрізняється від ARLD. Тому такий розлад відноситься до широкого спектру захворювань печінки, які не викликані вживанням алкоголю. Наприклад, гепатит може бути викликаний вірусною інфекцією. Розлад печінки, викликаний надмірним вживанням алкоголю та іншими факторами, розглядається як ARLD, а не як розлад печінки, не пов'язаний з надмірним споживанням усередину алкоголю. На противагу цьому розлад печінки, усього лише збільшений надмірним вживанням алкоголю, розглядається як розлад печінки, не пов'язаний з надмірним споживанням усередину алкоголю.

[0058] «Неалкогольна жирова хвороба печінки» або "NAFLD" відноситься до жирової хвороби печінки, що характеризується наявністю жиру (ліпідів) у печінці та відсутністю значного запалення або ушкодження печінки. NAFLD може прогресувати у безалкогольний стеатогепатит, а потім у необоротне прогресуюче рубцювання печінки або цироз.

[0059] «Неалкогольний стеатогепатит» або "NASH" відноситься до жирової хвороби печінки, яка нагадує алкогольну хворобу печінки, але зустрічається у людей, які вживають мало або взагалі не вживають алкоголь. Основною особливістю при NASH є жир у печінці поряд із запаленням та ушкодженням. NASH може привести до цирозу, при якому печінка повністю ушкоджена та рубцювана та більше не може нормально функціонувати. Диференціальний діагноз NASH у порівнянні з NAFLD можна визначити за допомогою біопсії печінки.

[0060] Описи сполук згідно із даним винаходом обмежені принципами утворення хімічних зв'язків, відомих фахівцям у даній галузі техніки. Відповідно там, де групи можуть бути заміщені одним або більше замісниками, такі заміни вибирають таким чином, щоб дотримуватися принципів утворення хімічних зв'язків та утворювати речовини, які за своєю суттю не є нестабільними та/або будуть відомі звичайному фахівцеві у даній галузі техніки як, по всій видимості, нестабільні в умовах навколишнього середовища, таких як водні, нейтральні або фізіологічні умови.

III. Жирова хвороба печінки

[0061] Жирова хвороба печінки (FLD, також відома як гепатостеатоз) – це розповсюджене захворювання печінки, яке виникає при накопиченні ліпідів у клітинах печінки. Накопичення ліпідів викликає ушкодження клітин та робить печінку сприйнятливою до подальших травм. Жирова хвороба печінки характеризується накопиченням надлишкового жиру (ліпідів) у клітинах печінки, що у цілому викликане аномальним утриманням ліпідів клітинами печінки (тобто стеатозом). На додаток до жиру у гепатоцитах утримуються білки та вода, що може привести до балонування гепатоцитів. Накопичення жиру у печінці може бути пов'язане з порушенням однієї з наступних стадій обміну ліпідів гепатоцитів та адипоцитів: (1) збільшеною доставкою вільних жирних кислот у печінку; (2) посиленням синтезом вільних жирних кислот у печінці; (3) зниженим бета-окисненням жирних кислот та (4) зниженим синтезом або секрецією ліпопротеїнів дуже низької густини. (Bacon та ін., Gastroenterology, 1994, 107: 1103-1109).

[0062] FLD може виникати з ряду причин, включаючи надмірне вживання алкоголю та порушення обміну речовин, такі як ті, які пов'язані з порушенням сприйнятливості до інсуліну, ожирінням та гіпертонією. Зазначена хвороба найпоширеніша у людей, що страждають на ожиріння або діабет. При індукованій алкоголем жировій хворобі печінки (AFL) спочатку жир накопичується у клітинах печінки, однак потім хвороба може прогресувати до алкогольного гепатиту, що викликає набряк печінки та приводить її до ушкодження, якщо індивідуум продовжує вживати алкоголь. У зазначеного індивідуума також може розвинути алкогольний цироз або рубцювання печінки, що, у свою чергу, може викликати печіночну недостатність. Особи, що вживають алкоголь у надмірних кількостях, із часом можуть прогресувати від AFL до алкогольного гепатиту до алкогольного цирозу.

[0063] Неалкогольна жирова хвороба печінки (NAFLD) - це порушення печінки з гістологічними ознаками AFL у людей, які вживають мало алкоголю або не вживають його взагалі. Подібно AFL, NAFLD обумовлена аномальним утриманням жиру (ліпідів) гепатоцитами. Інші жирові хвороби печінки можуть розвиватися у пацієнта з іншими видами захворювань печінки, такими як, але не обмежуючись ними, хронічний вірусний гепатит С (HCV), хронічний вірусний гепатит В (HBV), хронічний аутоімунний гепатит (AIH), діабет та хвороба Вільсона. Жирова дистрофія печінки також може бути пов'язана з ознаками, викликаними порушеннями у обміні ліпідів, такими як розлади внаслідок застосування лікарських засобів, наприклад, шлунково-кишкові розлади (наприклад, ріст кількості бактерій у кишечнику, гастропарез та синдром подразненої товстої кишки), хіміотерапія, шлунково-кишкові операції при ожиріння, недоїдання та генетичні розлади у білках, які процесують ліпіди.

[0064] У деяких варіантах реалізації жирова хвороба печінки являє собою пов'язане з алкоголем захворювання печінки (ARLD) або неалкогольну жирову хворобу печінки (NAFLD). У деяких випадках пов'язане з алкоголем захворювання печінки - це алкогольна жирова хвороба печінки (AFL), алкогольний стеатогепатит (ASH) або алкогольний цироз. У деяких випадках неалкогольна жирова хвороба печінки являє собою неалкогольний стеатогепатит (NASH) або неалкогольний цироз.

А. Пов'язане з алкоголем захворювання печінки (ARLD)

[0065] Пов'язане з алкоголем захворювання печінки (ARLD) описує сімейство пов'язаних з алкоголем або індукованих алкоголем патологій печінки, включаючи індуковану алкоголем жирову хворобу печінки (AFL), алкогольний гепатит та алкогольний цироз. Практично у всіх людей, які хронічно та у надмірній кількості вживають алкоголь, буде розвиватися AFL. Крім того, внаслідок високої поширеності ускладнюючих факторів, таких як ожиріння, діабет та метаболічний синдром у населення в цілому, багато індивідуумів, які не попадають під критерій хронічних споживачів алкоголю у надмірній кількості, сприйнятливі до розвитку AFL.

[0066] AFL можна діагностувати за допомогою ультразвуку. Як правило, печінка пацієнта з AFL "ехогенна", що означає, що вона більш щільна, ніж звичайно, стосовно відображаючих звукових хвиль. Крім того, печінка звичайно збільшена внаслідок набрякання та наявності великої кількості жиру.

[0067] AFL можна також визначити й, таким чином, діагностувати внаслідок наявності одного або декількох симптомів або факторів ризику (наприклад, ожиріння, діабет, характеру вживання алкоголю та наслідків цього і т.д.). Жирова хвороба печінки може проявлятися в таких симптомах, як утомля, м'язова слабкість, дискомфорт у області живота, втрата ваги та потьмарення свідомості. Однак при жировій хворобі печінки прояв явних фізичних симптомів звичайно не відбувається. Жирова хвороба печінки також може супроводжуватися запаленням печінки або фіброзом печінки або передувати їм. У пацієнтів з жировою хворобою печінки звичайно є підвищені рівні ферментів печінки у сироватці. Більше того, змінюються відносні рівні декількох ферментів печінки. Рівень аспартатамінотрансферази у сироватці (AST) при AFL у цілому виявляється у більших кількостях, ніж рівень аланінамінотрансферази (ALT). Це

відрізняє зазначене захворювання від неалкогольної жирової хвороби печінки, при якій ALT вище, ніж AST.

[0068] Існують чотири основні патогенні фактори для AFL: (1) Збільшене утворення НАДФ, викликане окисненням алкоголю, сприятливе для синтезу жирних кислот та тригліцеридів, та інгібування мітохондріального β -окиснення жирних кислот. (2) Поліпшений приплив до печінки вільних жирних кислот з жирової тканини та хіломікронів зі слизової оболонки кишечника. (3) Опосередковане етанолом інгібування активності АМФ-активованої кінази (АМРК), що приводить до збільшеного ліпогенезу та зменшеного ліполізу внаслідок інгібування рецептору, що активує проліферацію пероксисом (PPAR α), та стимулювання білку 1с, що зв'язує стеролрегулюючі елементи (SREBP1с). А також (4) ушкодження мітохондрій та мікротрубочок ацетальдегідом, що приводить до зменшення окиснення НАДФ та накопичення ліпопротеїнів дуже низької густини (VLDL), відповідно.

[0069] На ефективне лікування AFL вказує поліпшення одного або більше клінічних, лабораторних або гістопатологічних симптомів. Наприклад, на ефективне лікування може вказувати зменшення обсягу жирової дистрофії печінки, наприклад, виявлене за допомогою ультразвукового дослідження. У якості іншого прикладу на ефективне лікування може вказувати зменшення одного або більше клінічних симптомів, таких як втома, слабкість або припинення втрати ваги. У якості іншого прикладу на ефективне лікування може вказувати нормалізація рівнів ферментів печінки або відносних рівнів (наприклад, нормалізація відношення рівня аспартатамінотрансферази до рівня аланінамінотрансферази).

[0070] Алкогольний гепатит або алкогольний стеатогепатит (ASH) є наступною стадією ARLD після AFL. Таким чином, AFL є передумовою для розвитку ASH. У 17 % випадків усіх біопсій печінки пацієнтів, які надходять для проведення алкогольної детоксикації, виявляється ASH, а 40 % пацієнтів з алкогольним цирозом також мають ASH у циротичній печінці. У 25 % пацієнтів розвивається посилений некроз печінки із клінічними ознаками печіночної недостатності та печіночної енцефалопатії. У важких випадках ASH може викликати глибоке ушкодження печінки, підвищений гемодинамічний опір, та бути пов'язаний з несприятливим прогнозом. Висока смертність від важкого ASH становить від приблизно 15 % до 25 %. ASH характеризується запаленням печінки. Різні фактори можуть сприяти розвитку ASH, включаючи: (1) токсичні ефекти, індуковані ацетальдегідом; (2) утворення активних форм кисню (ROS) та виникає у результаті перекисне окиснення ліпідів; (3) підвищувальна регуляція прозапальних цитокінів; та (4) розлад роботи убіквітин-протеасомного шляху.

[0071] Ацетальдегід зв'язується з білками та ДНК, що приводить до функціональних змін та утворення адуктів білків. Такі адукти можуть активувати імунну систему шляхом утворення аутоантигенів. Ацетальдегід також викликає ушкодження мітохондрій та порушує роботу глутатіону, що приводить до окисного стресу та апоптозу.

[0072] Основними джерелами ROS є CYP2E1-залежний мітохондріальний транспорт електронів, НАДФ-залежна цитохромредуктаза та ксантиноксидаза. Хронічне вживання алкоголю явно підвищує регулює CYP2E1, що приводить до погіршення утворення ROS. Більше того, CYP2E1 метаболізує етанол до ацетальдегіду, що приводить до подальших змін білку та ДНК.

[0073] Метаболіти алкоголю та ROS стимулюють сигнальні шляхи, такі як ті, які опосередковані NF- κ B, STAT-JAK та JNK у резидентних клітинах печінки, що приводить до локального синтезу запальних медіаторів, таких як ФНО- α та СХС-хемокіни (наприклад, інтерлейкін-8), а також остеопонтин. Зловживання алкоголем також приводить до змін у кишковій мікробіоті та підвищеної проникності кишечника, що приводить до підвищених рівнів ліпополісахаридів у сироватці, які індукують запальні дії у клітинах Купфера за допомогою CD14/TLR4. Виникає у результаті запальне середовище в ураженій алкоголем печінці приводить до поліморфноядерної лейкоцитарної інфільтрації (PMN), утворення ROS та гепатоцелюлярного ушкодження.

[0074] Гістопатологію ASH можна охарактеризувати за допомогою балонуючої дистрофії гепатоцитів, пов'язаної з некрозом, посиленим апоптозом та часто з появою тіл Мелорі-Денка (MDB). Гістопатологія ASH також може демонструвати інфільтрацію імунних клітин, включаючи поліморфноядерні клітини, Т-лімфоцити або природні клітини-кілери. MDB зв'язують із несприятливим прогнозом. На додаток до MDB, у клітинах печінки пацієнтів з ASH можуть спостерігатися гігантські мітохондрії. Додаткові гістопатологічні характеристики ASH включають макровезикулярний стеатоз, мікровезикулярний стеатоз, лобулярний гепатит, ядерні вакуолі, проліферацію каналів, перівенулярний фіброз та фіброз або цироз.

[0075] У пацієнтів з ASH може розвиватися прогресуючий фіброз. При ARLD фіброзна тканина звичайно розташовується у періцентральної та перисинусоїдальних областях. На пізніх

стадіях з'являються колагенові стяжки та розвивається містковий фіброз. Цей стан передусь розвитку вузлів регенерації та цирозу печінки. Клітинні та молекулярні механізми фіброзу при ARLD не повністю зрозумілі. Метаболіти алкоголю, такі як ацетальдегід, можуть безпосередньо активувати зірчасті клітини печінки (HSC), основні колагеноутворюючі клітини в ушкодженій печінці. Ушкоджені гепатоцити, активовані клітини Купфера та інфільтраційні PMN-клітини паракринним чином також можуть активувати HSC. Ці клітини вивільняють фіброгенні медіатори, такі як фактори росту (TGF- β 1, PDGF), цитокіни (лептин, ангіотензин II, інтерлейкін-8 та ФНО- α), розчинні медіатори (оксид азоту) та ROS. Важливо відзначити те, що ROS стимулюють профіброгенні внутрішньоклітинні сигнальні шляхи у HSC, включаючи ті, які опосередковані ERK, PI3K/AKT та JNK. Вони також підвищують регулюють TIMP-1 та зменшують дію металопротеїназ, тим самим сприяючи накопиченню колагену. Клітини, відмінні від HSC, також можуть синтезувати колаген при ARLD. Вони включають порталні фіброblastи та клітини, отримані з кісткового мозку.

[0076] ASH можна класифікувати на м'які, помірні та важкі форми внаслідок інтенсивності та частоти широкого різноманіття суб'єктивних та об'єктивних результатів клінічних досліджень. Клінічні симптоми ASH включають: неспецифічні болі у правому верхньому квадранті, нудоту та блювоту, що часто супроводжуються лихоманкою та жовтяницею. Інші симптоми включають: утому, сухість у роті та підвищену спрагу, або кровотечу з розширених вен у стінках нижньої частини стравоходу. Інші стани шкіри, що указують на ASH, включають: маленькі червоні паукоподібні вени на шкірі, дуже темну або бліду шкіру, почервоніння на ногах або руках або сверблячку. У пацієнтів з ASH можуть також проявлятися симптоми відмови від алкоголю та ознаки недоїдання. Крім того, клінічні маркери включають гепатомегалію, асцит, анорексію, енцефалопатію, спленомегалію, втрату ваги, панкреатит або шлунково-кишкові кровотечі. У важких випадках у пацієнтів можуть спостерігатися проблеми з мисленням, пам'яттю та настроєм, непритомності або переднепритомний стан або оніміння нижніх кінцівок та ніг.

[0077] Присутні у сироватці та крові маркери ASH включають збільшення активності аспартатамінотрансферази та аланінамінотрансферази, що супроводжується більш високим рівнем аспартатамінотрансферази у порівнянні з аланінамінотрансферазою. Як правило, у пацієнтів з ASH також підвищується рівень гамаглутамілпептидази. Підвищений рівень гамаглутамілпептидази у цілому розглядається як результат індукції ферменту етанолом, проте, рівні аспартатамінотрансферази та аланінамінотрансферази розглядаються як маркери ушкодження клітин печінки. У 40-80 % пацієнтів також спостерігаються підвищені рівні активності лужної фосфатази. При важкому ASH підвищені рівні бета- та гама-глобулінів. Крім того, при ASH може спостерігатися підвищена кількість лейкоцитів з токсичною грануляцією та лихоманкою. Гематологічні аномалії для ASH включають макроцитозну гіперхромну анемію та тромбоцитоз. При важкому ASH може також виявлятися зниження параметрів, що вказують на первинну функцію печінки, таких як протромбіновий час, білірубін у сироватці або сироватковий альбумін. У деяких випадках ASH можна визначити за наявністю білірубину у сечі.

[0078] У цілому ASH не відрізняється від AFL за допомогою ультразвуку. Проте, ультразвук може бути підходящим для виключення позапечінкового холестазу, при якому можуть спостерігатися схожі клінічні симптоми (наприклад, жовтяниця). Якщо діагноз не може бути встановлений за допомогою вивчення клінічних ознак присутніх у крові та сироватці маркерів та ультразвуку, можна провести біопсію печінки. Біопсія печінки може допомогти при визначенні важкості захворювання або для напрямку фармакологічного втручання.

[0079] На ефективне лікування ASH указує поліпшення одного або більше клінічних, лабораторних або гістопатологічних симптомів. Наприклад, на ефективне лікування може вказувати зменшення обсягу жирової дистрофії печінки, наприклад, виявлене за допомогою ультразвукового дослідження. У якості іншого прикладу на ефективне лікування може вказувати зменшення одного або більше клінічних симптомів, таких як утом, слабкість або припинення втрати ваги. У якості іншого прикладу на ефективне лікування може вказувати нормалізація рівнів ферментів печінки або відносних рівнів (наприклад, нормалізація відношення рівня аспартатамінотрансферази до рівня аланінамінотрансферази). У якості ще одного прикладу на ефективне лікування може вказувати зниження рівнів бета- та гама-глобуліну або рівнів лужної фосфатази. У якості іншого прикладу на ефективність лікування може вказувати відновлення або поліпшення параметрів первинної функції печінки, таких як протромбіновий час, білірубін у сироватці або сечі та сироватковий альбумін. У ще одному прикладі на ефективне лікування може вказувати зменшення інтенсивності або припинення однієї або більше ознак: гепатомегалії, асцит, анорексії, енцефалопатії, спленомегалії, втрати ваги, панкреатиту або шлунково-кишкової кровотечі.

[0080] Алкогольний цироз – це пізня стадія серйозного захворювання печінки, яка відзначається запаленням, набряком, фіброзом, ушкодженими клітинними мембранами, фляками та некрозом. У від приблизно 10 % до приблизно 20 % осіб, що вживають алкоголь у надмірних кількостях, розвивається цироз печінки. Симптоми цирозу включають, але не обмежуються ними, жовтяницю, збільшення печінки, біль та хворобливу чутливість. На ефективне лікування може вказувати будь-яке зниження швидкості прогресування погіршення функції печінки.

В. Неалкогольна жирова хвороба печінки (NAFLD)

[0081] NAFLD включає спектр гістологічних форм, включаючи печіночний стеатоз та неалкогольний стеатогепатит (NASH), який характеризується запаленням печінки, стеатозом, некрозом та фіброзом внаслідок руйнування клітин печінки. Умови, пов'язані з NAFLD, різні та включають діабет 2 типу, ожиріння, дисліпідемію, метаболічний синдром, лікування гепатотоксичними лікарськими засобами, токсини, інфекційні агенти або інші екзогенні причини. Наприклад, NAFLD може бути результатом метаболічних розладів, таких як, наприклад, галактоземія, хвороба накопичення глікогену, гомоцистинурия та тироземія, а також харчові статуси, такі як недоїдання, загальне парентеральне харчування, голодування та переїдання. У певних випадках NAFLD пов'язана з операціями з шунтування тонкої кишки. Інші причини включають вплив певних хімічних речовин, таких як, наприклад, вуглеводневі розчинники, та певних лікарських препаратів для медичного застосування, таких як, наприклад, аміодарон, естрогени (наприклад, синтетичні естрогени), тамоксифен, малеат, метотрексат, нуклеозидні аналоги та перхексилін. Гострі стани жирової дистрофії печінки також можуть виникати під час вагітності.

[0082] Клінічний перебіг NAFLD як правило є доброякісним та непрогресуючим, проте NASH являє собою потенційно серйозний стан. До 25 % пацієнтів з NASH можуть прогресувати до вираженого фіброзу, цирозу та ускладнень, пов'язаних з портальною гіпертензією, печіночною недостатністю та гепатоцелюлярною карциномою (Yeh та Brunt, Am. J. Clin. Pathol, 2007, 128(5):837-47).

[0083] У індивідуумів з NAFLD може не бути симптомів, однак клінічні лабораторні тести можуть демонструвати підвищені рівні ферментів печінки. У індивідуумів можуть спостерігатися симптоми NAFLD, такі як дискомфорт у області живота (наприклад, дискомфорт у правому верхньому черевному квадранті), чорніючий акантоз, розлад кишечника, кома, запор, диссемінована внутрішньосудинна коагулопатія, болі у епігастральній області, втома, нездужання, гепатомегалія (звичайно із гладкою твердою поверхнею при пальпації), гіпоглікемія, жовтяниця, ліпоматоз, ліпоатрофія, ліподистрофія, нудота, неврологічні дефекти, еритема Палмера, панікуліт, навколопупочні болі, надмірний ріст бактерій кишечника, судинні зірочки, спленомегалія, підгостра печінкова недостатність та блювота. Клінічна оцінка для виключення пов'язаної з алкоголем жирової хвороби печінки може включати визначення того, чи вживає індивідуум алкоголь у надлишкових кількостях (наприклад, > 60 г/день для чоловіків та >20 г/день для жінок протягом останніх 5 років). Наявність рівня антитіл до гепатиту С та рівнів церулоплазміну у сироватці можна застосовувати для того, щоб виявити у індивідуума NAFLD.

[0084] Неінвазивну оцінку біохімії та метаболізму можна застосовувати для діагностики NAFLD та NASH. Застосовуючи біологічний зразок, такий як кров, плазма або сироватка, високий рівень ферментів, таких як аланінамінотрансфераза (ALT), аспартатамінотрансфераза (AST), лужна фосфатаза (AP) та/або γ-глутамілтранспептидаза (GGT), а також наявність інших білків печінкового походження (включаючи гаптоглобін, загальний білірубін, альфа-2-мікроглобулін, резистин, розщеплений або інтактний цитокератин-18) звичайно вимірюють на додаток до глюкози у сироватці та параметрів порушення сприйнятливості до інсуліну. Оскільки рівень активності ALT часто збільшений у пацієнтів з NASH (Angulo i Lindor, Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol., 2002, 16(5):797-810), даний критерій вважається сурогатним маркером для оцінки ушкодження печінки.

[0085] У індивідуума з підозрою на NAFLD або NASH контрольне дослідження сироватки може включати вимірювання або визначення рівнів AST, ALT, загального та прямого білірубіну та глюкози у сироватці натще, а також ліпідограми. Наприклад, на стеатоз може вказувати підвищені рівні у сироватці (часто помірковано підвищені, наприклад, підвищені приблизно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11 або 12-кратно щодо нормальних рівнів) ферментів печінки (таких як, наприклад, AST, ALT, GGT та лужна фосфатаза), коли були усунуті інші причини (такі як, наприклад, гострий гепатит, аутоімунне захворювання, хронічний гепатит, цироз, фульмінантний гепатит, гепатоцелюлярна карцинома, метастатична карцинома, серцева недостатність та вірусний гепатит). Наприклад, значення ALT, більші, ніж 32, 24 або 56 одиниць на літр сироватки, або перевищуючі щонайменше у 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-разовому або

більше розмірі нормальні значення, можуть вказувати на порушення, пов'язане з відкладанням ліпідів у печінці, або значення AST, більші, ніж 40 одиниць на літр сироватки або щонайменше 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12-разово або більше разів перевищуючі нормальні значення. Найбільш часто виявляють слабковиражені до помірного рівня рівні амінотрансферази у сироватці (середній діапазон - 100-200 МО/л). Співвідношення AST/ALT при NAFLD часто менше одиниці, однак воно може бути більше одиниці у пацієнтів з алкогольною хворобою печінки або прогресуючим захворюванням печінки або якщо пацієнт прогресує до фіброзу. Рівні GGT також можуть бути значимо збільшені, наприклад, щонайменше у 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 або більше разів щодо нормальних значень, обумовлених у нормального здорового індивідуума. Рівні ферментів печінки можуть бути нормальними у великого відсотка пацієнтів з NAFLD, тому нормальні рівні AST або ALT не виключають наявності прогресуючого захворювання. Рівні лужної фосфатази та GGT у сироватці можуть бути злегка аномальними. Враховуючи, що більше, ніж 80 % пацієнтів з NAFLD мають деякі компоненти метаболічного синдрому, можна визначити рівні холестерину та тригліцеридів натще, а також рівнів глюкози та інсуліну натще. Рівні альбуміну, білірубіну та тромбоцитів можуть бути нормальними доти, поки хвороба не розвилася до цирозу. Деякі пацієнти з NAFLD мають низькі титри аутоімунних антитіл (наприклад, антиядерні антитіла та антитіла проти клітин гладких м'язів) та підвищення феритину (Carey та ін., "Nonalcoholic Fatty Liver Disease" in Current Clinical Medicine, 2-е видання, Elsevier, Нью-Йорк). У деяких варіантах реалізації співвідношення AST/ALT, що перевищує одиницю, може слугувати прогнозом для жирової хвороби печінки більш пізньої стадії.

[0086] Для виявлення NAFLD можна застосовувати радіологічні методи, такі як, але не обмежуючись ними, рентгенологічне дослідження, ультрасонографія, комп'ютерна томографія (КТ), магнітно-резонансна томографія (МРТ) та магнітно-резонансна спектроскопія. При ультрасонографії підвищена ехогенність печінки у порівнянні із нирками може вказувати на стеатоз печінки.

[0087] NASH можна діагностувати із застосуванням гістопатологічних методів на зразках печінки (наприклад, біопсії) для того, щоб зробити оцінку макровезикулярного стеатозу, балонуючої дегенерації, некрозу гепатоцитів, лобулярного запалення, мегамітохондрій, інфільтрації запальних клітин, апоптозу та фіброзу (див., наприклад, Brunt і Tiniakos, World J. Gastroenterol., 2010, 16 (42):5286-8296). Балонування гепатоцитів характеризується набряканням та збільшенням клітин, а іноді і появою цитоплазматичних змін, що містять тіла Меллори-Денка. Із часом може також розвиватися фіброз, спочатку як періцелюлярний/первинний фіброз, та у остаточному підсумку до портально-центрального місткового фіброзу та цирозу.

[0088] Фарбування за допомогою гематоксиліну та еозину (H&E), трихрому Массона, Oil Red O та імуногістохімічне фарбування та інші стандартні гістологічні методи, відомі спеціалістам у даній галузі техніки, можна проводити для аналізу характеристик тканин та клітин. Для оцінки та діагностики NAFLD, включаючи NASH, можна застосовувати систему оцінки (наприклад, показник активності NAFLD), яка включає одну або більше гістологічних характеристик. У деяких варіантах реалізації Систему Оцінки Мережі Центрів Клінічних Досліджень NASH, розроблену Комітетом з патології Мережі центрів клінічних досліджень NASH (див., наприклад, Kleiner та ін., Hepatology, 2005, 41 (6): 1313-1321), можна застосовувати для прогнозування у індивідуума NAFLD або NASH. Клініцист для діагностики або відстеження NAFLD, включаючи неалкогольну жирову дистрофію печінки, NASH та пов'язаний з NASH цироз, може дотримуватися практичних рекомендацій, опублікованих Американською асоціацією гастроентерологів, Американською асоціацією з вивчення захворювань печінки та Американським коледжем гастроентерології (Chalasani та ін., Gastroenterology, 2012, 142: 1592-1609).

[0089] Печінка індивідуума може вважатися стеатозною, коли при біопсії виявляють щонайменше 5-10 % мас./мас. жирових відкладень (див., наприклад, Clark та ін., J. Am. Med. Assoc., 2003, 289: 3000-3004 (2003) та Adams та ін., Can. Med. Assoc. J., 2005, 172: 899-905). Печінка з жировими відкладеннями, що містить не більш 25 % (мас./мас.), може вважатися помірковано стеатозною, а печінка з жировими відкладеннями, що містить більше, ніж 25 % (мас./мас.), може вважатися важко стеатозною.

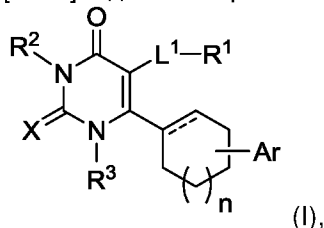
[0090] Лікування NAFLD, включаючи NASH, включає фізичну активність, втрату ваги та виключення гепатотоксинів або будь-якої речовини, яка може зашкодити печінці. У деяких варіантах реалізації методи лікування включають введення антиоксидантів, цитозахисних агентів, протидіабетичних агентів, агентів, чутливих до інсуліну (наприклад, метформін), протигіперліпідемічних агентів, інших хімічних сполук, таких як фібрати, тіазолідиндіони (тобто росиглітазон або піоглітазон), бігуаніди, статини, каннабіноїди та інші терапевтичні сполуки або

молекули, які націлені на ядерні рецептори, рецептори ангіотензину, каннабіноїдні рецептори або HMG-CoA-редуктазу.

[0091] Ефективність лікування може бути визначена шляхом виявлення зменшення одного або більше симптомів або клінічних проявів захворювання, а також за допомогою будь-якого з досліджень, описаних вище для діагностики.

IV. Сполуки

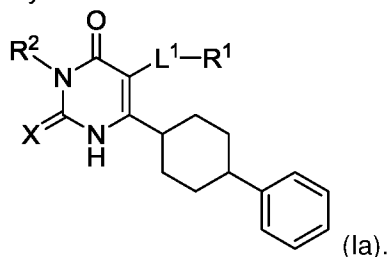
[0092] У деяких варіантах реалізації даного винаходу запропонована сполука формули I:



при цьому пунктирна лінія відсутня або являє собою зв'язок. X являє собою O або S. R¹ являє собою циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил або гетероарил, необов'язково заміщений однією-трьма групами R^{1a}. Кожен R^{1a} незалежно являє собою H, C₁₋₆ алкіл, C₂₋₆ алкеніл, C₂₋₆ алкініл, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ алкіл-OR^{1b}, галоген, C₁₋₆ галогеналкіл, C₁₋₆ галогеналокси, -OR^{1b}, -NR^{1b}R^{1c}, -C(O)R^{1b}, -C(O)OR^{1b}, -OC(O)R^{1b}, -C(O)NR^{1b}R^{1c}, -NR^{1b}C(O)R^{1c}, -SO₂R^{1b}, -SO₂NR^{1b}R^{1c}, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил або гетероарил. R^{1b} та R^{1c} кожен являє собою H або C₁₋₆ алкіл. R² являє собою H, C₁₋₆ алкіл, C₁₋₆ алкіл-OR^{1b}, C₁₋₆ алкіл-NR^{1b}R^{1c} або C₁₋₆ алкілгетероциклоалкіл. R³ являє собою H або C₁₋₆ алкіл. Ar являє собою арил, необов'язково заміщений однією-чотирма R⁴ групами. Кожен R⁴ являє собою H, C₁₋₆ алкіл, C₁₋₆ алкокси, галоген, C₁₋₆ галогеналкіл або C₁₋₆ галогеналокси. L¹ являє собою зв'язок або C₁₋₆ алкілен. Підстрочний індекс n являє собою ціле число від 0 до 3. Також включені солі та ізомери

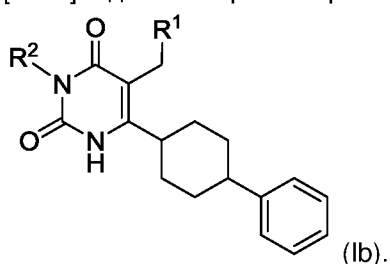
приведених у даному документі сполук.

[0093] У деяких інших варіантах реалізації даного винаходу запропонована сполука формули Ia:

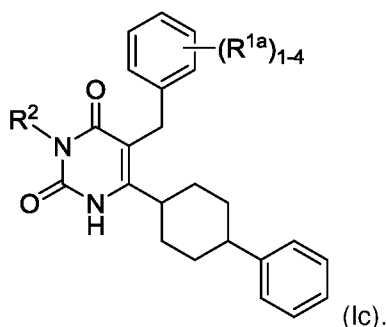


[0094] У деяких варіантах реалізації L¹ являє собою метилен. У інших варіантах реалізації Ar являє собою феніл.

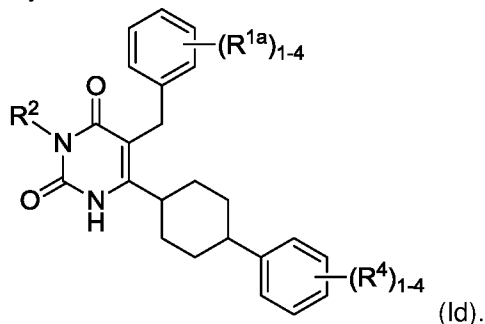
[0095] У деяких варіантах реалізації даного винаходу запропонована сполука формули Ib:



[0096] У деяких інших варіантах реалізації даного винаходу запропонована сполука формули Ic:



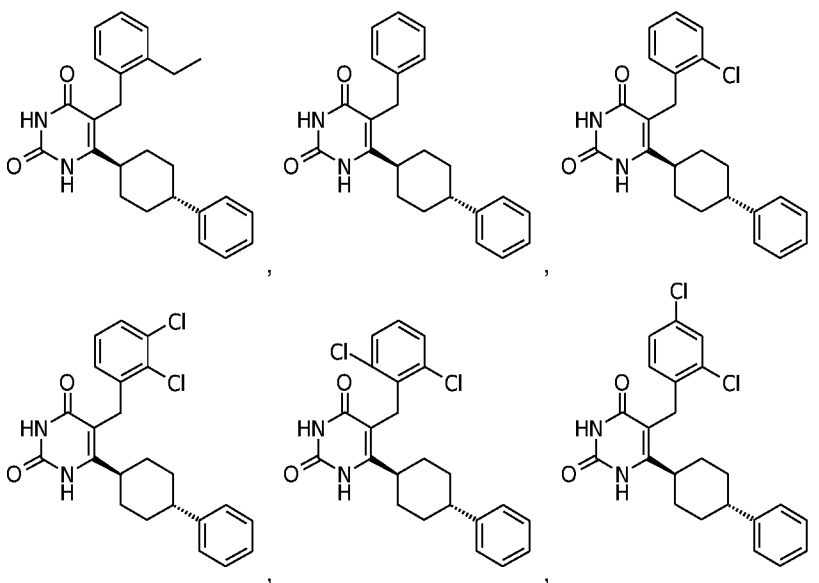
[0097] У деяких інших варіантах реалізації даного винаходу запропонована сполука формули Id:

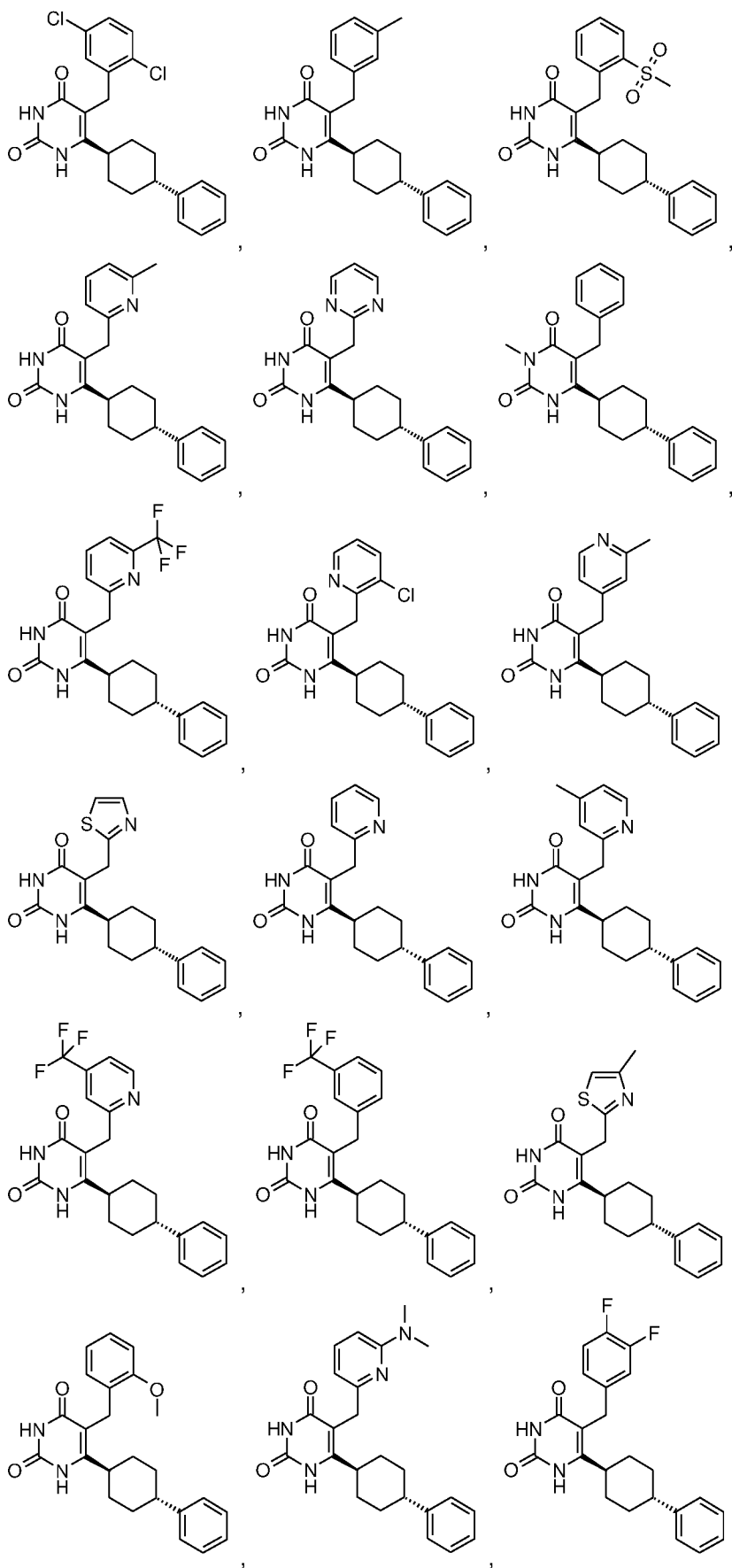


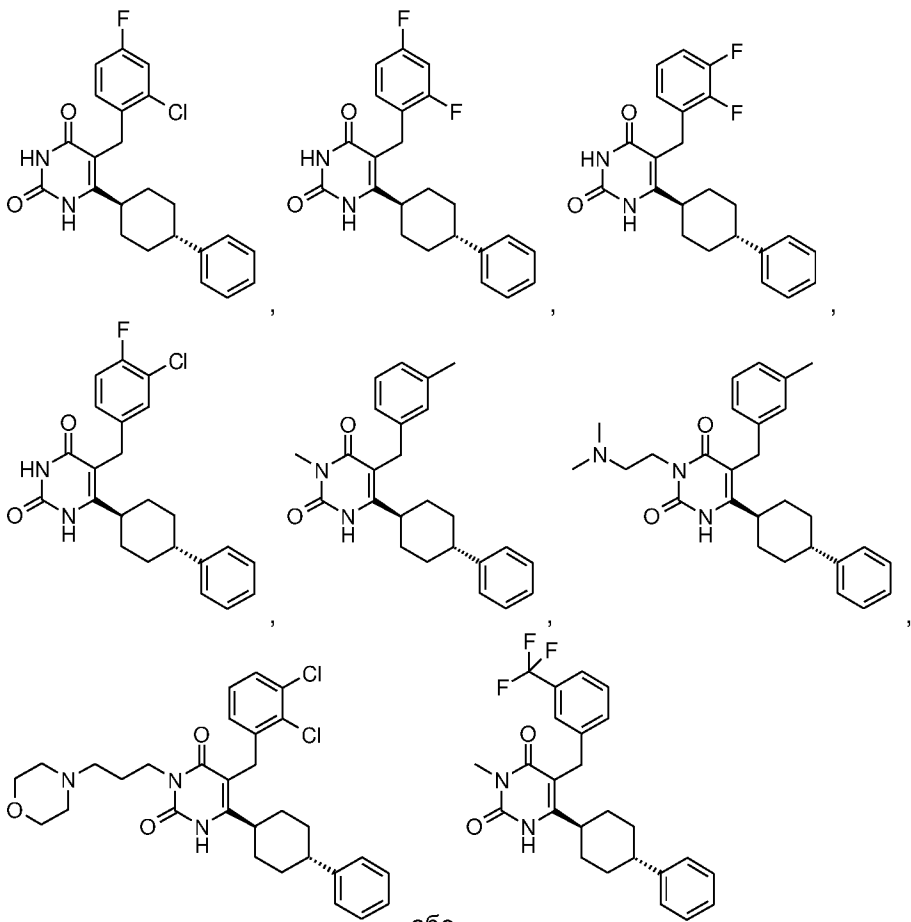
5 [0098] У деяких варіантах реалізації кожен R^{1a} , R^2 та R^4 являє собою групи, визначені вище для Формули I. У деяких варіантах реалізації зазначені сполуки Формули Id являють собою ті сполуки, де кожен R^{1a} незалежно являє собою H, C_{1-6} алкіл, галоген або C_{1-6} галогеналкіл; R^2 являє собою H або C_{1-6} алкіл та кожен R^4 являє собою H, C_{1-6} алкіл, галоген або C_{1-6} галогеналкіл.

10 [0099] У деяких інших варіантах реалізації даного винаходу запропонована сполука, де R^1 являє собою арил або гетероарил. У інших варіантах реалізації R^1 вибраний з групи, що складається з фенілу, піридилу, піримідину та тіазолу. У деяких інших варіантах реалізації кожен R^{1a} незалежно являє собою H, C_{1-6} алкіл, C_{1-6} алкокси, галоген, C_{1-6} галогеналкіл, $-NR^{1b}R^{1c}$ або $-SO_2R^{1b}$. У інших варіантах реалізації кожен R^{1a} являє собою C_{1-6} галогеналкіл. У деяких інших варіантах реалізації кожен R^{1a} незалежно являє собою H, Me, Et, -OMe, F, Cl, $-CF_3$, $-NMe_2$ або $-SO_2Me$. У деяких інших варіантах реалізації кожен R^{1a} незалежно являє собою H, Me, Et, F, Cl або $-CF_3$. У інших варіантах реалізації кожен R^{1a} являє собою $-CF_3$. У деяких інших варіантах реалізації R^2 являє собою H або C_{1-6} алкіл. У інших варіантах реалізації R^2 являє собою H.

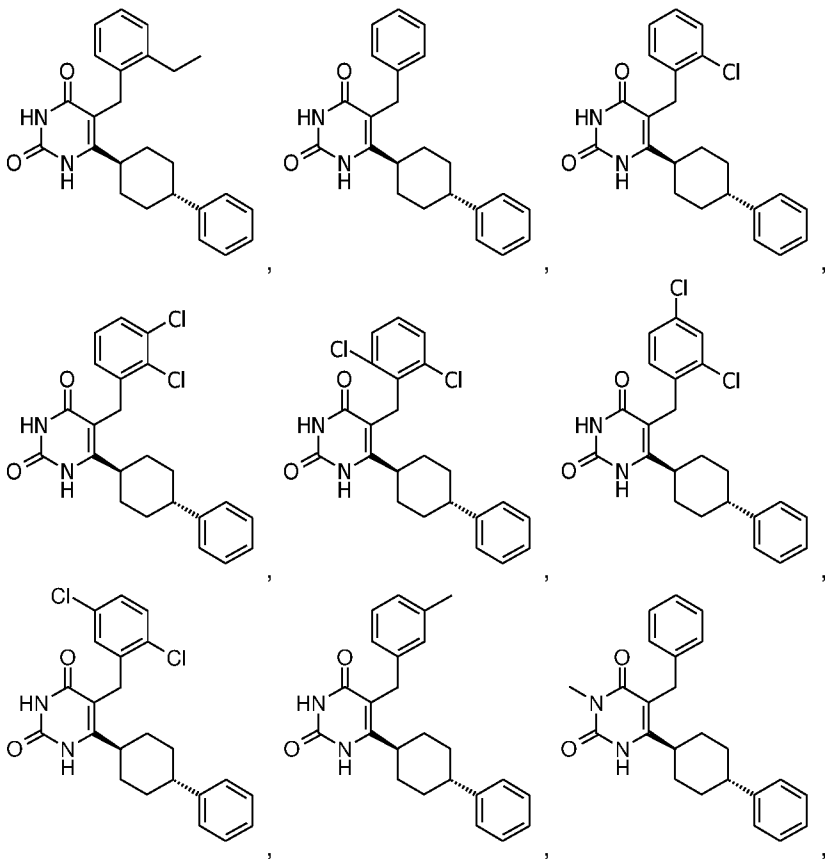
20 [0100] У деяких варіантах реалізації даного винаходу запропонована сполука, вибрана з наступних:

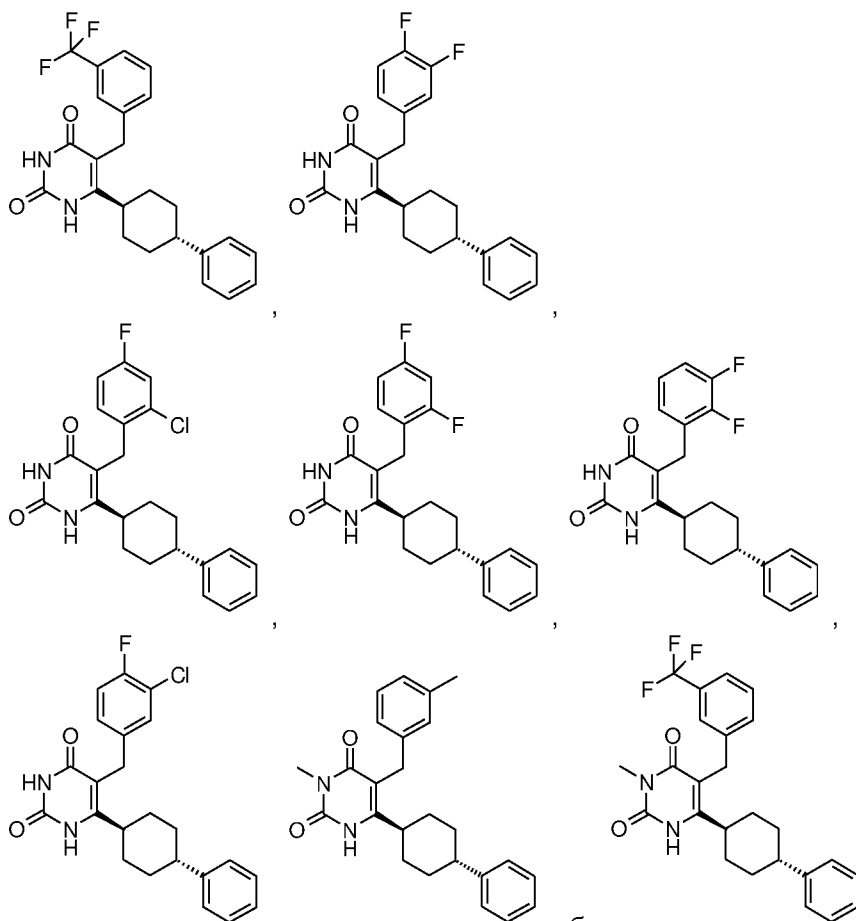




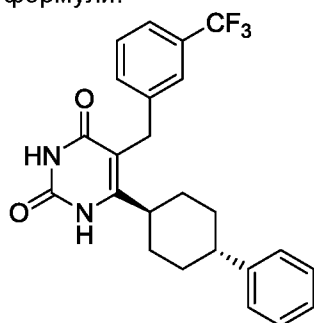


[0101] У деяких варіантах реалізації зазначена сполука являє собою





[0102] У деяких інших варіантах реалізації даного винаходу запропонована сполука
5 формули:



[0103] Сполуки згідно з даним винаходом можуть існувати у вигляді солей. Даний винахід
включає такі солі. Приклади підходящих форм солей включають гідрохлориди, гідроброміди,
сульфати, метансульфонати, нітрати, малеати, ацетати, цитрати, фумарати, тартрати
10 (наприклад, (+)-тартрати, (-)-тартрати або їх суміші, включаючи рацемічні суміші, сукцинати,
бензоати та солі з амінокислотами, такими як глютамінова кислота. Ці солі можна одержати за
способами, відомими спеціалістам у даній галузі техніки. Також включені солі приєднання
основ, такі як натрій, калій, кальцій, амоній, органічний аміно або магнієва сіль або аналогічна
сіль. Коли сполуки відповідно до даного винаходу містять відносно основні функціональні групи,
15 солі приєднання кислот можна одержати шляхом взаємодії нейтральної форми таких сполук із
достатньою кількістю бажаної кислоти, або у бездомішковому, або у підходящому інертному
розчиннику. Приклади підходящих солей приєднання кислот включають ті, які отримані з
неорганічних кислот, таких як соляна, бромистоводнева, азотна, карбонова,
20 моногідрогенкарбонова, фосфорна, моногідрогенфосфорна, дигідрогенфосфорна, сірчана,
моногідрогенсірчана, йодистоводнева або фосфориста кислоти та їм подібні, а також солі,
отримані з органічних кислот, таких як оцтова, пропіонова, ізомасляна, малеїнова, малінова,
бензойна, бурштинова, суберинова, фумарова, молочна, мигдальна, фталева,
бензолсульфонова, п-толілсульфонова, лимонна, винна, метансульфонова та їм подібні. Також

включені солі амінокислот, такі як аргінат та їм подібні, та солі органічних кислот, таких як глюкуронова або галактунорна кислоти та їм подібні. Певні специфічні сполуки згідно з даним винаходом містять як основні, так і кислотні функціональні групи, які дозволяють перетворювати зазначені сполуки у солі приєднання або основ, або кислот.

5 [0104] Інші солі включають кислі та основні солі зазначених сполук, застосовуваних у способах згідно з даним винаходом. Ілюстративними прикладами фармацевтично прийнятних солей є солі мінеральних кислот (соляна кислота, бромистоводнева кислота, фосфорна кислота та їм подібні), солі органічних кислот (оцтова кислота, пропіонова кислота, глутамінова кислота, лимонна кислота та їм подібні) та солі четвертинного амонію (метилйодид, етилйодид та їм подібні). Зрозуміло те, що фармацевтично прийнятні солі є нетоксичними. Додаткову інформацію про підходящі фармацевтично прийнятні солі можна знайти у Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., видавництво Mack Publishing, Істон, Пенсильванія, 1985, яке включено у даний документ за допомогою посилання.

15 [0105] Фармацевтично прийнятні солі включають солі активних сполук, які одержують із відносно нетоксичними кислотами або основами, залежно від конкретних замісників, що виявляються на описаних у даному документі сполуках. Коли сполуки згідно з даним винаходом містять відносно кислотні функціональні групи, солі приєднання основ можна одержати шляхом взаємодії нейтральної форми таких сполук із достатньою кількістю бажаної основи, або у бездомішковому, або у підходящому інертному розчиннику. Приклади фармацевтично прийнятних солей приєднання основ включають натрій, калій, кальцій, амоній, органічний аміно або магнієву сіль або аналогічну сіль. Коли сполуки згідно з даним винаходом містять відносно основні функціональні групи, солі приєднання кислот можна одержати за допомогою взаємодії нейтральної форми таких сполук із достатньою кількістю бажаної кислоти, або у бездомішковому, або у підходящому інертному розчиннику. Приклади фармацевтично прийнятних солей приєднання кислот включають солі, отримані з неорганічних кислот, таких як соляна, бромистоводнева, азотна, карбонова, моногідрогенкарбонова, фосфорна, моногідрогенфосфорна, дигідрофосфорна, сірчана, моногідрогенсірчана, йодистоводнева або фосфориста кислоти та їм подібні, а також солі, отримані з відносно нетоксичних органічних кислот, таких як оцтова, пропіонова, ізомасляна, малеїнова, малінова, бензойна, бурштинова, суберинова, фумарова, молочна, мигдальна, фталева, бензолсульфонова, п-толїлсульфонова, лимонна, винна, метансульфонова та їм подібні. Також включені солі амінокислот, такі як аргінат та їм подібні, та солі органічних кислот, таких як глюкуронова або галактунорна кислоти та їм подібні (див., наприклад, Berge та ін., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Певні специфічні сполуки згідно з даним винаходом містять як основні, так і кислотні функціональні групи, які дозволяють перетворювати зазначені сполуки у солі приєднання або основ, або кислот.

30 [0106] Нейтральні форми сполук кращим чином відновлюють шляхом взаємодії солі з основою або кислотою та виділення вихідної сполуки звичайним способом. Вихідна форма зазначеної сполуки відрізняється від різних сольових форм деякими фізичними властивостями, такими як розчинність у полярних розчинниках.

40 [0107] Деякі сполуки згідно з даним винаходом можуть існувати у несольватованих формах, також як і у сольватованих формах, включаючи гідратовані форми. У цілому зазначені сольватовані форми еквівалентні несольватованим формам, та вони входять у обсяг даного винаходу. Деякі сполуки згідно з даним винаходом можуть існувати у множинних кристалічних або аморфних формах. У цілому всі фізичні форми рівноцінні для застосувань, передбачених даним винаходом, та призначені для того, щоб входити у обсяг даного винаходу.

45 [0108] Деякі сполуки згідно з даним винаходом містять асиметричні атоми вуглецю (оптичні центри) або подвійні зв'язки; енантіомери, рацемати, діастереомери, таутомери, геометричні ізомери, стереоізометричні форми, які можна визначити з погляду абсолютної стереохімії як (R)- або (S)- або як (D)- або (L)- для амінокислот, та індивідуальні ізомери включені у обсяг даного винаходу. Сполуки згідно з даним винаходом не включають ті сполуки, які відомі у даній галузі техніки як занадто нестабільні для синтезу та/або виділення. Даний винахід призначений для включення сполук у рацемічних та оптично чистих формах. Оптично активні (R)- та (S)- або (D)- та (L)-ізомери можна одержати із застосуванням хіральних синтонів або хіральних реагентів або розділити із застосуванням звичайних методів.

55 [0109] Ізомери включають сполуки, що містять однакову кількість та вид атомів і, отже, що мають одну і ту ж молекулярну масу, але що різняться відносно структурного розташування або конфігурації атомів.

60 [0110] Для спеціаліста у даній галузі техніки буде очевидно, що деякі сполуки згідно з даним винаходом можуть існувати у таутомерних формах, причому всі такі таутомерні форми сполук

входять у обсяг даного винаходу. Таутомер відноситься до одного із двох або більше структурних ізомерів, які існують у рівновазі та які легко перетворюються з однієї ізомерної форми у іншу.

[0111] Доти, поки не зазначене інше, мається на увазі, що структури, представлені у даному документі, включають усі стереохімічні форми зазначеної структури, тобто, R- та S- конфігурації для кожного асиметричного центру. Отже, одиночні стереохімічні ізомери, а також енантіомерні та діастереомерні суміші даних сполук, знаходяться у межах обсягу даного винаходу.

[0112] Доти, поки не зазначене інше, сполуки згідно з даним винаходом можуть також містити пропорції атомних ізоотопів, що не зустрічаються у природі, у одного або більше атомів, які становлять основу такої сполуки. Наприклад, сполуку згідно з даним винаходом можна позначити радіоактивними ізотопами, такими як, наприклад, дейтерій (^2H), тритій (^3H), йод-125 (^{125}I), вуглець-13 (^{13}C) або вуглець-14 (^{14}C). Усі ізотопні варіації сполук згідно з даним винаходом, незалежно від того, чи є вони радіоактивними чи ні, включені у обсяг даного винаходу.

[0113] На додаток до сольових форм даного винаходу запропоновані сполуки, які знаходяться у формі пролікарського засобу. Пролікарські засоби сполук, описаних у даному документі, являють собою сполуки, які легко зазнають хімічних змін у фізіологічних умовах для одержання сполук згідно з даним винаходом. Крім того, пролікарські засоби можна перетворити у сполуку згідно з даним винаходом за допомогою хімічних або біохімічних способів у середовищі *ex vivo*. Наприклад, пролікарські засоби можуть повільно перетворюватися у сполуки згідно з даним винаходом при їхньому розміщенні у трансдермальному пластирі-резервуарі з підходящим ферментом або хімічним реагентом.

[0114] Сполуку згідно з даним винаходом можна одержати за різними способами, відомими у даній галузі техніки. Див., наприклад, патент США № 8685973, який повністю включений у дану заявку за допомогою посилання.

V. Фармацевтичні композиції

[0115] У деяких варіантах реалізації даного винаходу запропонована фармацевтична композиція, що містить фармацевтично прийнятну допоміжну речовину та сполуку згідно з даним винаходом.

[0116] Сполуки згідно з даним винаходом можна одержати та вводити у широкому діапазоні лікарських форм для перорального, парентерального та місцевого застосувань. Пероральні препарати включають таблетки, пігулки, порошок, драже, капсули, рідини, таблетки для розсмоктування, гелі, сиропи, суспензії, емульсії і т.д., що підходять для приймання всередину пацієнтом. Сполуку згідно з даним винаходом можна також вводити шляхом ін'єкцій, тобто внутрішньовенно, внутрішньом'язово, внутрішньошкірно, підшкірно, інтрадуоденально або внутрішньочеревинно. Крім того, описані у даному документі сполуки можна вводити за допомогою інгаляції, наприклад, інтраназально. Крім того, сполуку згідно з даним винаходом можна вводити трансдермально. Модулятори GR згідно з даним винаходом можна також вводити за допомогою внутрішньоочного, внутрішньовагінального та внутрішньоректального способів введення, включаючи супозиторії, інсуфляцію, порошки та аерозольні склади (прикладі стероїдних інгальнтів див. Rohatagi, J. Clin. Pharmacol, 35: 1187-1193, 1995; Tjwa, Ann. Allergy Asthma Immunol., 75: 107-111, 1995). Відповідним чином, у даному винаході також запропоновані фармацевтичні композиції, що містять фармацевтично прийнятний носій або допоміжну речовину та або сполуку Формули (I), або фармацевтично прийнятну сіль сполуки Формули (I).

[0117] Для одержання фармацевтичних композицій зі сполук згідно з даним винаходом фармацевтично прийнятні носії можуть бути або твердими, або рідкими. Тверді форми препаратів включають порошки, таблетки, пігулки, капсули, крохмальні капсули, супозиторії та диспергуємі гранули. Твердий носій може являти собою одну або більше речовин, які також можуть діяти як розріджувачі, ароматизатори, зв'язувальні речовини, консерванти, дезінтегруючі таблетки агенти або інкапсулюючий матеріал. Докладна інформація про методи готування та введення добре описана у науковій та патентній літературі, див., наприклад, останнє видання Remington's Pharmaceutical Sciences, Maack Publishing Co, Істон, Пенсильванія ("Remington's").

[0118] У порошках зазначений носій являє собою тонкоподрібнену тверду речовину, яка знаходиться у суміші з тонкоподрібненим активним компонентом. У таблетках зазначений активний компонент змішують у підходящих пропорціях із зазначеним носієм, що має необхідні зв'язуючі властивості, та ущільнюють до бажаної форми та розміру.

[0119] Порошки та таблетки переважно містять від 5 % або 10 % до 70 % активної сполуки. Підходящими носіями є карбонат магнію, стеарат магнію, тальк, цукор, лактоза, пектин,

декстрин, крохмаль, желатин, трагакант, метилцелюлоза, натрій карбоксиметилцелюлоза, низькоплавкий віск, масло какао та їм подібні. Термін "препарат" призначений для включення складів активної сполуки з інкапсулюючим матеріалом у якості носія, що забезпечує капсулу, у якій зазначений активний компонент з іншим або без інших носіїв оточений носієм, який у такий

5 спосіб пов'язаний з ним. Аналогічним чином включені таблетки для розсмоктування та крохмальні капсули. Таблетки, порошки, капсули, пігулки, крохмальні капсули та таблетки для розсмоктування можна застосовувати у вигляді твердих лікарських форм, що підходять для перорального введення.

10 [0120] Підходящими твердими допоміжними речовинами є вуглеводневі або білкові наповнювачі, включаючи, але не обмежуючись ними, цукри, включаючи лактозу, сахарозу, маніт або сорбіт; крохмаль із кукурудзи, пшениці, рису, картоплі або інших рослин; целюлозу, таку як метилцелюлоза, гідроксипропілметилцелюлоза або натрій карбоксиметилцелюлоза, та камедь, включаючи арабік та трагакант; а також білки, такі як желатин та колаген. Якщо це необхідно, можна додавати дезінтегруючі або солубілізуючі агенти, такі як поперечно-зшитий

15 полівінілпіролідон, агар, альгінова кислота або її сіль, таку як альгінат натрію.

[0121] Серцевину драже можна забезпечити підходящими речовинами для покриття, такими як концентровані розчини цукри, які можуть також містити гуміарабік, тальк, полівінілпіролідон, гель карбопол, поліетиленгліколь та/або діоксид титану, лакові розчини, та підходящі органічні розчинники або суміші розчинників. Барвники або пігменти можна додавати до таблеток або

20 речовин для покриття драже для ідентифікації продукту або для того, щоб охарактеризувати кількість активної речовини (тобто дозування). Фармацевтичні препарати згідно з даним винаходом можна також застосовувати перорально із застосуванням, наприклад, твердих капсул, отриманих з желатину, а також м'яких герметичних капсул, отриманих з желатину та покриття, такого як гліцерин або сорбіт. Тверді капсули можуть містити модулятор GR, змішаний

25 з наповнювачем або зв'язувальними речовинами, такими як лактоза або крохмаль, лубрикантами, такими як тальк або стеарат магнію, та необов'язково стабілізаторами. У м'яких капсулах сполуку для модуляції GR можна розчиняти або суспендувати у підходящих рідинах, таких як жирні масла, рідкий парафін або рідкий поліетиленгліколь зі стабілізаторами або без них.

30 [0122] Для готування супозиторіїв низькоплавкий віск, такий як суміш гліцеридів жирних кислот або масла какао, спочатку розплавляють та гомогенно у ньому диспергують активний компонент, як при перемішуванні. Потім зазначену розплавлену гомогенну суміш виливають у форми зручного розміру, дають можливість остудитися та тим самим затвердіти.

35 [0123] Рідкі форми препаратів включають розчини, суспензії та емульсії, наприклад, розчини води або води/пропіленгліколю. Для парентеральної ін'єкції рідкі препарати можна готувати у розчині у водному розчині поліетиленгліколю.

[0124] [0125] Водні розчини, що підходять для перорального застосування, можна одержати шляхом розчинення активного компоненту у воді та додавання підходящих барвників, ароматизаторів, стабілізаторів та загусників за необхідності. Водні суспензії, що підходять для

40 перорального застосування, можуть бути отримані шляхом диспергування тонкоподрібненого активного компоненту у воді із в'язким матеріалом, таким як природна або синтетична камедь, смоли, метилцелюлоза, натрій карбоксиметилцелюлоза, гідроксипропілметилцелюлоза, альгінат натрію, полівінілпіролідон, трагакантова камедь та аравійська камедь, та диспергуючими або змочувальними агентами, такими як фосфатид, що зустрічається у природі (наприклад, лецитин), продукт конденсації алкіленового оксиду з жирною кислотою (наприклад, поліоксиетиленстеарат), продукт конденсації етиленоксиду із довголанцюговим аліфатичним спиртом (наприклад, гептадекаетиленоксицетанол), продукт конденсації етиленоксиду з неповним ефіром, отриманим з жирної кислоти та гекситу (наприклад, поліоксиетиленсорбітолмоноолеат), або продукт конденсації етиленоксиду з неповним ефіром,

45 отриманим з жирної кислоти та ангідриду гекситу (наприклад, моноолеат поліоксиетиленсорбітану). Водна суспензія може також містити один або більше консервантів, таких як етил або н-пропіл-п-гідроксибензоат, один або більше барвників, один або більше ароматизаторів та один або більше підсолоджувачів, таких як сахароза, аспартам або сахарин. Склади можна регулювати за значенням осмолярності.

50 [0126] Також включені тверді форми препаратів, які незадовго до застосування призначені для перетворення у рідкі форми препаратів для перорального введення. Такі рідкі форми включають розчини, суспензії та емульсії. Ці препарати можуть містити на додаток до активного компонента барвники, ароматизатори, стабілізатори, буфери, штучні та натуральні підсолоджувачі, диспергатори, згущувачі, солубілізуючі агенти та їм подібні.

[0127] Масляні суспензії можна приготувати шляхом суспендування сполуки згідно з даним винаходом у рослинному маслі, такому як арахісове масло, маслинове масло, кунжутне масло або кокосове масло, або у мінеральному маслі, такому як рідкий парафін, або їх суміші. Масляні суспензії можуть містити згущувач, такий як бджолиний віск, твердий парафін або цетиловий спирт. Підсолонджувачі можна додавати для одержання перорального препарату із приємним смаком, такі як гліцерин, сорбіт або сахароза. Ці склади можуть бути збережені додаванням антиоксиданту, такого як аскорбінова кислота. Як приклад масляного середовища-носія для ін'єкцій див. Minto, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281: 93-102, 1997. Фармацевтичні склади згідно з даним винаходом також можуть бути у формі емульсій типу масло-у-воді. Масляна фаза може являти собою рослинне масло або мінеральне масло, описане вище, або їх суміш. Підходящі емульгатори включають камедь, що зустрічається у природі, таку як аравійська камедь та трагакант, фосфатиди, що зустрічаються у природі, такі як соєвий лецитин, ефіри або неповні ефіри, отримані з жирних кислот та ангідридів гекситу, такі як моноолеат сорбітану, та продукти конденсації цих неповних ефірів з етиленоксидом, такі як моноолеат поліоксиетиленсорбітану. Зазначена емульсія може також містити підсолонджувачі та ароматизатори, як у складі сиропів та еліксирів. Такі склади можуть також містити пом'якшувачі засіб, консервант або барвник.

[0128] Забезпечити доставку сполук згідно з даним винаходом можна трансдермально, за допомогою місцевого способу введення, приготування у вигляді паличок-аплікаторів, розчинів, суспензій, емульсій, гелів, кремів, мазей, паст, желе, речовин, що наносяться пензликом, порошків та аерозолів.

[0129] Доставку сполук та композицій згідно з даним винаходом можна також здійснити у вигляді мікросфер для повільного вивільнення у організмі. Наприклад, мікросфери можна вводити за допомогою внутрішньошкірної ін'єкції мікросфер, що містять лікарські засоби, які повільно вивільняються підшкірно (див. Rao, J. Biomater. Sci. Polym, Ed., 7: 623-645, 1995), у вигляді біорозкладаваних та гелевих складів для ін'єкцій (див., наприклад, Gao, Pharm. Res. 12: 857-863, 1995) або у вигляді мікросфер для перорального введення (див., наприклад, Eyles, J. Pharm. 49: 669-674, 1997). Як трансдермальний, так і внутрішньошкірний спосіб введення забезпечують постійну доставку протягом тижнів або місяців.

[0130] Фармацевтичні склади згідно з даним винаходом можна одержати у вигляді солі, та їх можна утворювати з багатьох кислот, включаючи, але не обмежуючись ними, соляну, сірчану, оцтову, молочну, винну, яблучну, бурштинову і т.д. Солі, як правило, більш розчинні у водних або інших протонних розчинниках, які являють собою відповідні форми вільної основи. У інших випадках зазначений препарат може являти собою ліофілізований порошок у 1 мМ - 50 мМ гістидині, 0,1 %-2 % сахарозі, 2 %-7 % маніті при значенні рН від 4,5 до 5,5, який поєднують із буфером перед застосуванням.

[0131] У іншому варіанті реалізації доставку складів згідно з даним винаходом можна здійснювати із застосуванням ліпосом, які зливаються із клітинною мембраною або ендодитуються, тобто за допомогою використання лігандів, прикріплених до зазначеної ліпосоми або прикріплених безпосередньо до олігонуклеотиду, які зв'язуються з рецепторними білками поверхневої мембрани клітини, приводячи до ендодитозу. Застосовуючи ліпосоми, зокрема там, де поверхня ліпосоми несе на собі ліганди, специфічні для клітин-мішеней, або іншим способом переважно спрямованих на специфічний орган, можна сфокусувати доставку модулятора GR у клітини-мішені *in vivo*. (див., наприклад, Al-Muhammed, J. Microencapsul, 13: 293-306, 1996; Chonn, Curr. Opin. Biotechnol. 6: 698-708, 1995; Ostro, Am. J. Hosp., Pharm., 46: 1576-1587, 1989).

[0132] Фармацевтичний препарат кращим чином знаходиться у одиничній лікарській формі. У такій формі зазначений препарат підрозділяють на одиничні дози, що містять відповідні кількості активного компоненту. Одинична лікарська форма може являти собою упакований препарат, упакування, що містить дискретні кількості препарату, такі як пакетовані таблетки, капсули та порошки у флаконах або ампулах. Крім того, одинична лікарська форма може являти собою капсулу, таблетку, крохмальну капсулу або таблетку для розсмоктування у вихідному вигляді, або вона може являти собою відповідну кількість будь-якого з них в упакованій формі.

[0133] Кількість активного компоненту у препараті з одиничною дозою можна варіювати або регулювати від 0,1 мг до 10000 мг, більш часто від 1,0 мг до 1000 мг, найбільш часто від 10 мг до 500 мг, відповідно до конкретного застосування та ефективності зазначеного активного компоненту. За необхідності зазначена композиція може також містити інші сумісні терапевтичні агенти.

[0134] При режимі дозування також враховуються параметри фармакокінетики, добре відомі у даній галузі техніки, тобто швидкість абсорбції, біологічна доступність, обмін речовин, кліренс та їм подібні (див., наприклад, Hidalgo-Aragones (1996) J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 58:611-617;

Groning (1996) Pharmazie 51:337-341; Fotherby (1996) Contraception 54:59-69; Johnson (1995) J. Pharm. Sci. 84:1144-1146; Rohatagi (1995) Pharmazie 50:610-613; Brophy (1983) Eur. J. Clin. Pharmacol. 24:103-108; останнє видання Remington's, див. вище). Сучасний розвиток галузі техніки дозволяє клініцистові визначати режим дозування для кожного окремого пацієнта, модулятора GR та захворювання або стану, що піддається лікуванню.

[0135] Одиночне або множинне введення складів можна здійснювати залежно від дозування та частоти у міру необхідності та переносимості пацієнтом. Зазначені склади повинні забезпечувати достатню кількість активного агента для ефективного лікування стадії захворювання. Таким чином, у одному варіанті реалізації фармацевтичні склади для перорального введення сполуки згідно з даним винаходом знаходяться у діапазоні добової кількості від приблизно 0,5 до приблизно 20 мг на кілограм маси тіла на день. У альтернативному варіанті реалізації застосовуються дозування від приблизно 1 до приблизно 4 мг на кілограм маси тіла пацієнта на день. Можна застосовувати більш низькі дозування, зокрема тоді, коли зазначений лікарський засіб вводять у анатомічно важкодоступну ділянку, таку як простір цереброспінальної рідини (CSF), на відміну від перорального введення, у потік крові, у порожнину тіла або у порожнину органу. Значно більш високі дозування можна застосовувати при місцевому введенні. Фактичні способи одержання складів, що вводяться парентерально, будуть відомі або очевидні спеціалістам у даній галузі техніки, та більш докладно описані у таких публікаціях, як Remington's, див. вище. Див. також Nieman у публікації "Receptor Mediated Antisteroid Action", Agarwal та ін., Eds., De Gruyter, Нью-Йорк (1987).

[0136] Сполуки, описані у даному документі, можна застосовувати у комбінації один з іншим, з іншими активними агентами, які відомі як підходящі для модуляції глюкокортикоїдного рецептору, або з допоміжними агентами, які можуть бути неефективні окремо, однак можуть сприяти ефективності активного агента.

[0137] У деяких варіантах реалізації спільне введення включає введення одного активного агента у межах 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 або 24 годин від введення другого активного агента. Спільне введення включає введення двох активних агентів одночасно, приблизно одночасно (наприклад, у межах приблизно 1, 5, 10, 15, 20 або 30 хвилин один від іншого) або послідовно у будь-якому порядку. У інших варіантах реалізації спільне введення можна здійснити за допомогою спільного готування, тобто одержання однієї фармацевтичної композиції, що включає обидва активні агенти. У іншому варіанті реалізації зазначені активні агенти можна вводити до складу окремо. У інших варіантах реалізації активні та/або допоміжні агенти можуть бути зв'язані або кон'юговані один з іншим.

[0138] Після того, як фармацевтичну композицію, що містить модулятор GR згідно з даним винаходом, приготували у підходящому носії, її можна помістити у відповідну ємність та провести маркування для лікування зазначеного стану. Для введення сполук згідно з даним винаходом таке маркування буде включати, наприклад, інструкції щодо кількості, частоти та способу введення.

[0139] Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом можна одержати у вигляді солі, та їх можна утворювати з багатьох кислот, включаючи, але не обмежуючись ними, соляну, сірчану, оцтову, молочну, винну, яблучну, бурштинову і т.д. Солі, як правило, більш розчинні у водних або інших протонних розчинниках, які являють собою відповідні форми вільної основи. У інших випадках препарат може являти собою ліофілізований порошок у 1 mM - 50 mM гістидині, 0,1 %-2 % сахарозі, 2 %-7 % маніті у діапазоні значень pH від 4,5 до 5,5, який змішують із буфером перед застосуванням.

[0140] У іншому варіанті реалізації композиції згідно з даним винаходом є підходящими для парентерального введення, такого як внутрішньовенне (в.в.) введення або введення у порожнину тіла або просвіт органу. Зазначені склади для введення звичайно будуть містити розчин композицій згідно з даним винаходом, розчинених у фармацевтично прийнятному носії. Прийнятні носії та розчинники, які можуть бути використані, являють собою воду та розчин Рінгера, ізотонічний хлорид натрію. Крім того, стерильні нелеткі масла можна традиційно використовувати як розчинник або суспендує середовище. Для цієї мети можна використовувати будь-яке м'яке нелетке масло, включаючи синтетичні моно- або дигліцериди. Крім того, жирні кислоти, такі як олеїнова кислота, можна також застосовувати для одержання препаратів для ін'єкцій. Ці розчини є стерильними та у цілому не містять небажаних речовин. Ці склади можна стерилізувати за допомогою звичайних добре відомих методів стерилізації. Склади можуть містити фармацевтично прийнятні допоміжні речовини, необхідні для наближення до фізіологічних умов, таких як агенти регуляції pH та буферизуючі агенти, агенти, що регулюють токсичність, наприклад, ацетат натрію, хлорид натрію, хлорид калію, хлорид кальцію, лактат натрію та їм подібні. Концентрація композицій згідно з даним винаходом у цих

складах може варіюватися у широких межах та буде обрана в основному на основі обсягів рідини, в'язкості, маси тіла і т.п., відповідно до обраного конкретного способу введення та потреб пацієнта. Для в.в. введення зазначений склад може являти собою стерильний препарат для ін'єкцій, такий як стерильна водна або масляна суспензія для ін'єкцій. Цю суспензію можна приготувати згідно з відомим рівнем техніки із застосуванням підходящих диспергуючих або змочувальних агентів та суспендуючих агентів. Зазначений стерильний препарат для ін'єкцій може також являти собою стерильний розчин або суспензію для ін'єкцій у нетоксичному парентерально прийнятному розріджувачі або розчиннику, такому як розчин 1,3-бутандіолу.

VI. Способи лікування жирової хвороби печінки

[0141] [0142] У деяких варіантах реалізації даного винаходу запропонований спосіб лікування розладу або стану за допомогою модуляції глюкокортикоїдного рецептору, причому зазначений спосіб включає введення суб'єктові, який потребує такого лікування, терапевтично ефективної кількості сполуки формули I.

[0143] У деяких інших варіантах реалізації даного винаходу запропонований спосіб лікування розладу або стану через антагонізм глюкокортикоїдного рецептору, причому зазначений спосіб включає введення суб'єктові, який потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки формули I.

[0144] У іншому варіанті реалізації даного винаходу запропоновані способи модуляції активності ядерного рецептору із застосуванням описаних у даному документі методів. У прикладі варіанту реалізації зазначений спосіб включає взаємодію GR та MR з ефективною кількістю сполуки згідно з даним винаходом, такої як сполука формули I, та виявлення зміни у активності GR та MR.

[0145] У прикладі варіанту реалізації ядерний модулятор є антагоністом активності GR та MR. Застосовуваний у даному документі антагоніст ядерного рецептору відноситься до будь-якої композиції або сполуки, яка частково або повністю інгібує (антагонізує) зв'язування агоніста глюкокортикоїдного рецептору (GR) (наприклад, кортизолу та синтетичного або природного аналогу кортизолу) з GR, і частково або повністю інгібує (антагонізує) зв'язування агоніста мінералокортикоїдного рецептору (MR) (наприклад, альдостерону та синтетичного або природного аналогу альдостерону) з MR, тим самим інгібуючи будь-яку біологічну відповідь, пов'язану зі зв'язуванням GR та MR із зазначеним агоністом. У деяких варіантах реалізації антагоніст ядерного рецептору переважно зв'язується з GR та/або MR, а не з естрогеновим рецептором (ER), прогестероновим рецептором (PR) та/або андрогенним рецептором (AR). Перевага антагоніста ядерного рецептору у відношенні GR та/або MR у порівнянні з ER, PR та/або AR може становити значення більше, ніж щонайменше 10:1. Наприклад, перевага може становити щонайменше 10:1, 50:1, 100:1, 500:1 або щонайменше 1000:1. У деяких варіантах реалізації антагоніст ядерного рецептору кращим чином зв'язується з GR та/або MR, а не з ER, PR та/або AR, зі значенням щонайменше 100:1.

[0146] У деяких варіантах реалізації антагоніст ядерного рецептору згідно з даним винаходом можна застосовувати у комбінації з одним або більше засобів для лікування для зменшення інтенсивності або зменшення одного або більше симптомів жирової хвороби печінки. Ядерний антагоніст можна вводити пацієнтові з жировою хворобою печінки, у якого відбуваються або відбувалися зміни способу життя, такі як адаптація до режиму втрати ваги або обмеження калорійності, підвищена фізична активність та/або уникнення алкоголю або гепатотоксинів. Зазначений пацієнт може зазнати або міг зазнати операції щодо зниження ваги (баріатрична хірургія). У деяких варіантах реалізації специфічний антагоніст глюкокортикоїдного рецептору вводять індивідуумові у комбінації з терапевтичним агентом, таким як, але не обмежуючись ними, пропілтіоурацил, інфліксимаб, інсулін, глюкагон, блокатори кальцієвих каналів, антиоксиданти (наприклад, вітамін E), S-аденозил-L-метіонін (SAMe), силімарин та пентоксифілін для лікування пов'язаної з алкоголем жирової хвороби печінки, включаючи AFL та ASH. У інших варіантах реалізації специфічний антагоніст глюкокортикоїдного рецептору вводять індивідуумові з терапевтичним агентом, таким як, але не обмежуючись ними, інгібітор зворотного захоплення серотоніну, сибутрамін, орлістат, агент, чутливий до інсуліну (наприклад, тіазолідиндіон, розиглітазон та піоглітазон), агент, що знижує кількість ліпідів (наприклад, пробукол), антиоксиданти (наприклад, вітамін E, пентоксифілін, бетаїн та N-ацетилцистеїн), гепатопротекторний препарат (наприклад, урсодезоксихолева кислота), інгібітор ангіотензинперетворюючого ферменту, блокатор ангіотензинового рецептору, метформін, мононенасичені жирні кислоти, поліненасичені жирні кислоти та їх комбінації для лікування неалкогольної жирової хвороби печінки, включаючи NASH.

VII. Аналізи та способи досліджень сполук для лікування жирової хвороби печінки

[0147] Сполуки згідно з даним винаходом можна досліджувати на їх антиглюкокортикоїдні властивості. У даному документі представлені способи здійснення аналізу сполук, здатних модулювати активність глюकोкортикоїдних рецепторів. Як правило, сполуки згідно з даним винаходом здатні до модуляції активності ядерного рецептору за допомогою зв'язування з ядерними рецепторами, такими як GR та MR, або за допомогою запобігання зв'язування GR- та MR-лігандів з відповідними GR та MR. У деяких варіантах реалізації зазначені сполуки виявляють слабкий вплив або взагалі не виявляють цитотоксичного впливу.

А. Аналізи зв'язування

[0148] У деяких варіантах реалізації модулятори ядерних рецепторів ідентифікують шляхом скринінгу на молекули, які конкурують із лігандом ядерного рецептору, таким як дексаметазон. Спеціалісти у даній галузі техніки розуміють, що існує безліч способів проведення аналізів конкурентного зв'язування. У деяких варіантах реалізації ядерний рецептор попередньо інкубують з міченим лігандом ядерного рецептору та потім здійснюють взаємодію з досліджуваною сполукою. Цей тип конкурентного аналізу зв'язування у даному документі може також згадуватися як аналіз зсуву зв'язування. Зміна (наприклад, зменшення) кількості ліганду, пов'язаного з ядерним рецептором, вказує на те, що молекула являє собою потенційний модулятор ядерного рецептору. Альтернативним чином, зв'язування досліджуваної сполуки з ядерним рецептором можна безпосередньо вимірювати за допомогою міченої досліджуваної сполуки. Цей останній вид аналізу називається аналізом прямого зв'язування.

[0149] Аналіз прямого зв'язування та аналіз конкурентного зв'язування можна застосовувати у різноманітні різних форматів. Формати можуть бути аналогічні тим, які застосовують у імуноаналізі та аналізі зв'язування рецепторів. Для опису різних форматів аналізів зв'язування, у тому числі аналізів конкурентного зв'язування та аналізів прямого зв'язування, див. Basic and Clinical Immunology 7th Edition (D. Stites та A. Terr ed.) 1991; Enzyme Immunoassay, E.T. Maggio, ed., CRC Press, Boca Raton, Флорида (1980) та "Practice and Theory of Enzyme Immunoassays", P. Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Elsevier Science Publishers B.V. Амстердам (1985), кожна з яких включена у дану заявку за допомогою посилання.

[0150] У аналізах конкурентного зв'язування на твердій фазі, наприклад, зразок сполуки може конкурувати з міченою аналізованою речовиною для специфічних сайтів зв'язування на зв'язуючому агенті, пов'язаному із твердою поверхнею. При даному типі формату зазначена мічена аналізована речовина може являти собою ліганд ядерного рецептору, а зв'язуючий агент може являти собою ядерний рецептор, пов'язаний із твердою фазою. Альтернативним чином, зазначена мічена аналізована речовина може являти собою мічений ядерний рецептор, а зв'язуючий агент може бути лігандом ядерного рецептору твердої фази. Концентрація міченої аналізованої речовини, пов'язаної з агентом захоплення, обернено пропорційна здатності досліджуваної сполуки конкурувати у аналізі зв'язування.

[0151] Альтернативним чином, аналіз конкурентного зв'язування можна проводити у рідкій фазі, та будь-який з безлічі методів, відомих у даній галузі техніки, можна застосовувати для відділення зв'язаного міченого білку від незв'язаного міченого білку. Наприклад, було розроблено декілька процедур для відрізнєння зв'язаного ліганду від надлишкового зв'язаного ліганду або зв'язаної досліджуваної сполуки від надлишкової незв'язаної досліджуваної сполуки. Процедури включають ідентифікацію зв'язаного комплексу за допомогою седиментації у градієнтах сахарози, гель-електрофорезу або гель-ізоелектричного фокусування; осадження комплексу рецептор-ліганд із протамінсульфатом або адсорбцію на гідроксилапатиті та видалення незв'язаних сполук або лігандів за допомогою адсорбції на покритому декстраном деревному вугіллі (DCC) або зв'язування з іммобілізованим антитілом. Після розділення визначають кількість зв'язаного ліганду або досліджуваної сполуки.

[0152] Альтернативним чином, можна провести аналіз гомогенного зв'язування, при якому етап розділення не потрібен. Наприклад, мітка на ядерному рецепторі може бути змінена шляхом зв'язування ядерного рецептору з його лігандом або досліджуваною сполукою. Ця зміна міченого ядерного рецептору приведе до зменшення або збільшення сигналу, що випромінюється міткою, таким чином, що вимірювання мітки наприкінці аналізу зв'язування дозволяє виявити або кількісно визначити ядерний рецептор у зв'язаному стані. Можна застосовувати широку різноманітність міток. Зазначений компонент можна позначити за допомогою будь-якого з декількох способів. Підходящими радіоактивними мітками є ті, які включають ³H, ¹²⁵I, ³⁵S, ¹⁴C або ³²P. Підходящими нерадіоактивними мітками є ті, які включають флуорофори, хемілюмінесцентні агенти, фосфоресцюючі агенти, електрохемілюмінесцентні агенти та їм подібні. Флуоресцентні є особливо підходящими для застосування у аналітичних методах, які застосовують для виявлення зсувів у структурі білку, таких як анізотропія

флуоресценції та/або поляризація флуоресценції. Вибір мітки залежить від необхідної чутливості, простоти кон'югації із сполукою, вимог до стабільності та доступних технічних засобів. Для огляду різних систем маркування або утворення сигналів, які можна застосовувати, див. Патент США № 4391904, який повністю включений у дану заявку за допомогою посилання для всіх цілей. Мітку можна безпосереднім або непрямим способом зв'язати з бажаним компонентом аналізу згідно способів, добре відомих у даній галузі техніки.

[0153] Способи високопродуктивного скринінгу можна застосовувати для аналізу великої кількості потенційних сполук для модуляції. Такі "бібліотеки сполук" потім піддають скринінгу у одному або більше аналізах, описаних у даному документі, для ідентифікації тих членів бібліотеки (конкретних хімічних видів або підкласів), які демонструють бажану характеристичну активність. Одержання та скринінг хімічних бібліотек добре відомі фахівцям у даній галузі техніки. Обладнання для одержання хімічних бібліотек комерційно доступні (див., наприклад, 357 MPS, 390 MPS, Advanced Chem. Tech., Louisville KY, Symphony, Rainin, Вобурн, Массачусетс, 433A Applied Biosystems, Фостер Сіті, Каліфорнія, 9050 Plus, Millipore, Бедфорд, Массачусетс).

В. Клітинні аналізи

[0154] Клітинні аналізи включають цільні клітини або клітинні фракції, що містять ядерний рецептор, для аналізу зв'язування або модуляції активності ядерного рецептору за допомогою сполуки згідно з даним винаходом. Приклади типів клітин, які можна застосовувати згідно способів даного винаходу, включають, наприклад, будь-які клітини ссавців, включаючи лейкоцити, такі як нейтрофіли, моноцити, макрофаги, еозинофіли, базофіли, тучні клітини та лімфоцити, такі як Т-клітини та В-клітини, лейкозу, лімфоми Буркітта (Burkitt), пухлинні клітини (включаючи клітини пухлини молочної залози миші, викликані вірусом), клітини ендотелію, фібробластів, клітини серця, клітини м'язів, клітини пухлини молочної залози, карциноми раку яєчників, карциноми шийки матки, гліобластоми, клітини печінки, клітини нирок та нейрональні клітини, а також клітини грибів, включаючи дріжджі. Клітини можуть бути первинними клітинами або пухлинними клітинами або іншими типами безсмертних ліній клітин. Звичайно, експресія ядерного рецептору може здійснюватися у клітинах, які не експресують ендегенний варіант ядерного рецептору.

[0155] У деяких випадках для скринінгу можна застосовувати фрагменти ядерного рецептору, а також білки злиття. Коли бажані молекули, які конкурують за зв'язування з лігандами ядерних рецепторів, застосовувані фрагменти ядерного рецептору являють собою фрагменти, здатні до зв'язування лігандів (наприклад, дексаметазон). Альтернативним чином, будь-який фрагмент ядерного рецептору можна застосовувати як мішень для ідентифікації молекул, які зв'язують ядерний рецептор. Фрагменти ядерного рецептору можуть включати будь-який фрагмент, наприклад, щонайменше 20, 30, 40, 50 амінокислот аж до білку, що містить усі, за винятком однієї амінокислоти ядерного рецептору. Як правило, лігандзв'язуючі фрагменти будуть містити трансмембранні області та/або більшість або всі позаклітинні домени ядерного рецептору.

[0156] У деяких варіантах реалізації для ідентифікації модюляторів ядерних рецепторів застосовують передачу сигналу, що запускається шляхом активації ядерного рецептору. Сигнальну активність ядерного рецептору можна визначити багатьма способами. Наприклад, можна відслідковувати наступні молекулярні події для визначення активності передачі сигналу. Наступні події включають ті види діяльності або прояву, які відбуваються у результаті стимулювання ядерного рецептору. Приклади наступних подій, що підходять для функціональної оцінки активації транскрипції та антагонізму у незмінених клітинах, включають підвищувальну регуляцію ряду генів, залежних від елементів відповіді (RE) (PERCK, тирозинамінотрансфераза, ароматаза). Крім того, можна застосовувати специфічні типи клітин, які чутливі до активації ядерного рецептору, такої як експресія остеокальцину у остеобластах, яку понижувально регулюють глюкокортикоїди; первинні гепатоцити, які проявляють опосередковану ядерним рецептором підвищувальну регуляцію PERCK та глюкозо-6-фосфату (G-6-Pase). Експресія RE-опосередкованого гену також була продемонстрована у трансфікованих лініях клітин із застосуванням добре відомих RE-регульованих послідовностей (наприклад, промотор вірусу пухлини молочної залози миші (MMTV), трансфікований проти ходу транскрипції конструкцією репортерного гену). Приклади підходящих конструкцій репортерного гену включають люциферазу (luc), лужну фосфатазу (ALP) та хлорамфеніколацетилтрансферазу (CAT). Функціональну оцінку транскрипційної репресії можна здійснити у лініях клітин, таких як моноцити або фібробласти шкіри людини. Підходящі функціональні аналізи включають ті, у яких вимірюють експресію ІЛ-6, стимульовану ІЛ-1 бета; понижувальну регуляцію колагенази, циклооксигенази-2 та різних хемокінів (MCP-1, RANTES)

або експресію генів, регульованих факторами транскрипції NF- κ B або AP-1 у трансфікованих лініях клітин.

[0157] Як правило, сполуки, які досліджують у аналізах із застосуванням цільних клітин, також досліджують у аналізі на визначення цитотоксичності. Аналізи на визначення цитотоксичності застосовують для визначення ступеня, до якого сприйманий модулюючий ефект обумовлений клітинними ефектами зв'язування неядерного рецептору. У прикладі варіанту реалізації аналіз на визначення цитотоксичності включає взаємодію конститутивно активної клітини з досліджуваною сполукою. Будь-яке зниження клітинної активності вказує на цитотоксичний ефект.

С. Специфічність

[0158] Сполуки згідно з даним винаходом можуть бути піддані аналізу на визначення специфічності (що також згадується у даному документі як аналіз на селективність). Як правило, аналізи на визначення специфічності включають дослідження сполуки, яка зв'язує ядерний рецептор *in vitro* або у клітинному аналізі, на ступінь зв'язування з неядерними рецепторними білками. Аналізи на визначення селективності можна проводити *in vitro* або у системах на основі клітин, описаних вище. Зв'язування з ядерним рецептором можна досліджувати у відношенні будь-якого підходящого неядерного рецепторного білку, включаючи антитіла, рецептори, ферменти та їм подібні. У прикладі варіанту реалізації неядерний рецептор-зв'язуючий білок являє собою рецептор клітинної поверхні або ядерний рецептор. У іншому прикладі варіанту реалізації неядерний рецепторний білок являє собою стероїдний рецептор, такий як естрогеновий рецептор, прогестероновий рецептор або андрогенний рецептор.

[0159] Терміни та вирази, які були використані у даному документі, застосовуються як терміни опису, а не обмеження, та при використанні таких термінів та виразів не мають на увазі виключаючі еквіваленти представлених та описаних відмітних ознак або їх частин, при цьому визнається те, що у обсязі заявленого винаходу можливі різні модифікації. Крім того, будь-яку одну або більше відмітних ознак будь-якого варіанту реалізації даного винаходу можна об'єднати з будь-якою однією або більше іншими відмітними ознаками будь-якого іншого варіанту реалізації даного винаходу у межах обсягу даного винаходу. Наприклад, відмітні ознаки сполук для модуляції ядерного рецептору однаково застосовні до способів лікування стадій захворювання та/або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі. Усі публікації, патенти та патентні заявки, наведені у даному документі, повністю включені у дану заявку за допомогою посилання для всіх цілей.

(a) VIII. Приклади

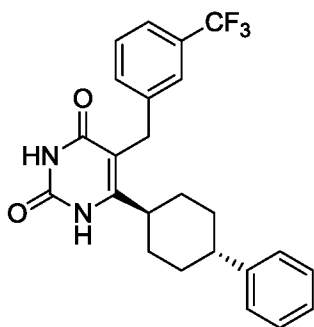
(b) Приклад 1. Аналіз репортерного гену GR із застосуванням клітин SW1353/MMTV-5

[0160] SW1353/MMTV-5 являє собою лінію адгезивних клітин хондросаркоми людини, яка містить ендogenous глюোকортикоїдні рецептори. Її трансфікували плазмідом (pMAMneo-Luc), що кодує люциферазу світлячків, розташованою за чутливим до глюোকортикоїду елементом (GRE), отриманим з вірусного промотору (довгий кінцевий повтор вірусу пухлини молочної залози миші). Стабільну лінію клітин SW1353/MMTV-5 відібрали із застосуванням генетицину, який був потрібний для підтримки даної плазмиди. Таким чином, ця лінія клітин була чутлива до глюোকортикоїдів (дексаметазону), що приводило до експресії люциферази (EC_{50}^{dex} 10 нМ). Ця індукована дексаметазоном відповідь поступово зникала із часом, та кожні три місяці починали вирощування нової культури, отриманої з більш раннього пасажу (з аліквоти, збереженої у низькотемпературних умовах).

[0161] З метою дослідження GR-антагоністу, такого як Сполука 1, клітини SW1353/MMTV-5 інкубували з декількома розведеннями зазначених сполук у присутності $5 \times EC_{50}^{dex}$ (50 нМ) та вимірювали інгібування індукованої люциферазою експресії, застосовуючи люмінесценцію, що виявляється на Topcount (комплект Britelite Plus, Perkin Elmer). Для кожного аналізу одержували криву доза-відповідь для дексаметазону, щоб визначити EC_{50}^{dex} , необхідний для обчислення K_i за значенням IC_{50} досліджуваної сполуки, наприклад, Сполуки 1.

[0162] Клітини SW1353/MMTV-5 розподіляли по 96-лунковим планшетах та інкубували у середовищі (без генетицину) протягом 24 годин. Додавали розведення зазначеної досліджуваної сполуки у середовищі + 50 нМ дексаметазону, та планшети додатково інкубували ще протягом 24 годин, після чого вимірювали експресію люциферази.

[0163] Сполука 1 названа (Е)-6-(4-фенілциклогексил)-5-(3-трифторметилбензил)-1Н-піримідин-2,4-діон або 6-((1r, 4r)-4-феніл-циклогексил)-5-(3-(трифторметил)бензил)-піримідин-2,4(1H, 3H)-діон, та має хімічну структуру, представлену нижче.



[0164] Сполука 1 є антагоністом глюкокортикоїдного рецептору (GR II). У аналізах репортерного гену Сполука 1 має значення K_i 24 нМ для GR.

Приклад 2. Аналізи репортерного гену MR та PR із застосуванням клітин T47D/MMTV-5

[0165] T47D/MMTV-5 являє собою лінію адгезивних клітин карциноми молочної залози людини, що містить ендогенні мінералокортикоїдні та прогестеронові рецептори (PR). Як описано вище для лінії клітин SW1353, клітини T47D трансфікували однією і тією ж плазмідною рMAMneo-Luc, та стабільні лінії відбирали із застосуванням генетицину. Виділяли лінію клітин T47D/MMTV-5, яка відповідала на альдостерон (EC_{50} 100 нМ) та прогестерон (EC_{50} 10 нМ), що приводило до експресії люциферази. Для дослідження антагоністів MR або PR клітини T47D/MMTV-5 інкубували з декількома розведеннями зазначених сполук у присутності 5-разового значення EC_{50} агоністу альдостерону або прогестерону. Для кожного аналізу одержували криву залежності доза-відповідь як для альдостерону, так і прогестерону.

[0166] Клітини T47D/MMTV-5 розподіляли по 96-лунковим планшетах (100 мкл) у середовищі RPMI640+10 % деревного вугілля, позбавленому FCS. Клітини інкубували протягом 24 годин у печі із CO_2 . У середовище додавали розведення сполуки у об'ємі 100 мкл + агоніст (500 нм альдостерону, 50 нм прогестерону), та планшети інкубували ще протягом 24 годин, після чого вимірювали експресію люциферази.

[0167] Сполука 1 являє собою антагоніста мінералокортикоїдного рецептору (MR, GR). У аналізах репортерного гену Сполука 1 має значення K_i 148 нМ для MR. Сполука 1 неактивна при аналізі репортерного гену прогестеронового рецептору.

(с) Приклад 3. Визначення ліпідів у печінці у мишей, що отримували харчування з високим вмістом жирів

[0168] Миші C57B16/J (n=8 у групі) одержували харчування з високим вмістом жирів (60 % жиру) протягом трьох тижнів, потім їх умертвляли. Печінки збирали та зважували. Шматочки печінки одержували та аналізували на визначення рівнів ліпідів за допомогою фарбування Oil Red O (Фігури 1 та 3). Одна група мишей одержувала Сполуку 1, яку змішували з їжею (60 мг/кг/день), у той час як інша група мишей одержувала середовище-носії, змішану з їжею. Печінка мишей, що одержували з харчуванням Сполуку 1, не містила або містила низький рівень ліпідних крапельок (Фігура 2A), тоді як контрольні миші мали більшу кількість ліпідних крапельок (Фігура 2B). Додаткова група одержувала з їжею міфепристон (RU-486; 60 мг/кг/день). Сполука 1 має активність антагоніста GR та деяку активність антагоніста MR. Дані показують, що міфепристон викликав збільшену жирову дистрофію печінки у порівнянні з контролем. Сполука 1 мала протилежний ефект та не індукувала жирову дистрофію печінки.

[0169] У окремому експерименті (Фігура 4) накопичення жиру у печінці мишей, які одержували харчування з високим вмістом жирів (60 % жиру), а потім були умертвлені, визначали за допомогою гомогенізації печінки та екстрагування тригліцеридів. Цей експеримент включав 5 груп мишей:

Група 1 ("CHOW"): нормальне харчування впродовж 6 тижнів;

Група 2 ("HF-3wks"): харчування з високим вмістом жирів впродовж 3 тижнів;

Група 3 ("HF-6wks"): харчування з високим вмістом жирів впродовж 6 тижнів;

(d) Група 4 ("HF+118335-6wks"): харчування з високим вмістом жирів та Сполука 1 впродовж 6 тижнів;

(e) Група 5 ("HF-118335 rev"): харчування з високим вмістом жирів впродовж 3 тижнів з наступним харчуванням з високим вмістом жирів та Сполукою 1 впродовж 3 тижнів.

(f) Приклад 4. Аналіз взаємодії GR-білок:білок

[0170] Аналізи білок-білкової взаємодії застосовували для визначення здатності досліджуваних сполук діяти як антагоністи глюкокортикоїдного рецептору та/або мінералокортикоїдного рецептору. У цих аналізах використовують комерційну платформу для

проведення аналізу, надану DiscoveRx Corp. (Фремонт, Каліфорнія). Технологія DiscoveRx основана на комплементції фрагменту ферменту β -галактозидази із застосуванням люміногенного субстрату. Коротко, клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO-K1) конструювали для експресії або рекомбінантного GR людини, або MR спільно зі стероїд-чутливим білком-коактиватором (SRCP), що називається PGC1 α (коактиватор 1 α рецептору, активуємого проліфераторами пероксисом, гама). У аналізі вимірюють чистий результат активації GR або MR, тобто ядерну транслокацію із цитоплазми, та взаємодія GR або MR з коактиватором PGC1 α у ядрах клітин. Конфігурація аналізу може бути як у режимі агоніста, так і антагоніста.

[0171] Клітини (100 мл) поміщали у 96-лункові планшети та розміщали у інкубаторі при 37 °C, 5 % CO₂ протягом 24 годин. Після видалення клітин з інкубатора у кожен лунку додавали 5 мкл досліджуваної сполуки або середовища-носія, та планшети інкубували протягом 1 години при 37 °C, 5 % CO₂. У кожен лунку планшета додавали дексаметазон (5 мкл 792 нМ розчину) або середовище-носій, та планшети інкубували протягом 6 годин при 37 °C, 5 % CO₂. Додавали реагент для виявлення у кількості 55 мкл на лунку, та планшети інкубували при кімнатній температурі у темряві без змішування. Читання планшетів для визначення люмінесценції здійснювали за допомогою планшета-рідера Envision® (прочитання протягом 3 годин). Значення люмінесценції виражали як відсоток інгібування (%інгібування) 36 нМ дексаметазону, а значення K_i розраховували за експериментально визначеними значеннями IC₅₀ з використанням рівняння Ченга-Прусса. Було встановлено, що у цьому аналізі значення K_i для Сполуки 1 становить 118 нМ.

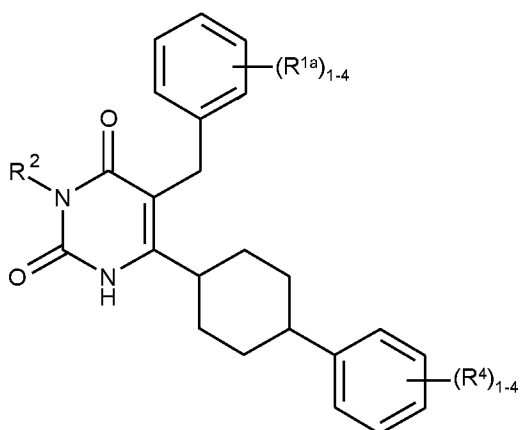
Приклад 5. Аналіз взаємодії MR-білок:білок

[0172] Клітини (100 мл) поміщали у 96-лункові планшети та розміщали у інкубаторі при 37 °C, 5 % CO₂ протягом 24 годин. Після видалення клітин з інкубатора у кожен лунку додавали 5 мкл досліджуваної сполуки або середовища-носія, та планшети інкубували протягом 1 години при 37 °C, 5 % CO₂. У кожен лунку планшета додавали альдостерон (5 мкл 88 нМ розчину) або середовище-носій, та планшети інкубували протягом 6 годин при 37 °C, 5 % CO₂. Додавали реагент для виявлення у кількості 55 мкл на лунку, та планшети інкубували при кімнатній температурі у темряві без змішування. Читання планшетів для визначення люмінесценції здійснювали за допомогою планшета-рідера Envision® (Perkin Elmer, Уолтем, Массачусетс) (прочитання протягом 3 годин). Значення люмінесценції виражали як відсоток інгібування (%інгібування) 4 нМ альдостерону, а значення K_i розраховували за експериментально визначеними значеннями IC₅₀ з використанням рівняння Ченга-Прусса. Було встановлено, що у цьому аналізі значення K_i для Сполуки 1 становить 125 нМ.

[0173] Хоча вищенаведений винахід більш докладний було описано за допомогою ілюстрації та прикладу для ясності розуміння, спеціаліст у даній галузі техніки зрозуміє, що певні зміни та модифікації можуть бути реалізовані в рамках прикладеної формули винаходу. Крім того, кожне посилання, представлене у даному документі, у такому ж ступені у повному обсязі включене за допомогою посилання, так якби кожне посилання було індивідуально включене за допомогою посилання. У випадку різночитань між заявкою, розглянутою у цей момент, та посиланням, наведеним у даному документі, заявка, розглянута у цей момент, буде мати вирішальне значення.

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

1. Спосіб лікування жирової хвороби печінки, що включає введення суб'єкту, який цього потребує, терапевтично ефективної кількості сполуки Формули Id, тим самим здійснюючи лікування жирової хвороби печінки, при цьому зазначена сполука Формули Id має структуру:



, (Id)

у якій

кожен R^{1a} незалежно являє собою H, C_{1-6} алкіл, галоген або C_{1-6} галогеналкіл;

R^2 являє собою H або C_{1-6} алкіл; та

5 кожен R^4 являє собою H, C_{1-6} алкіл, галоген або C_{1-6} галогеналкіл; та її солі або ізомери.

2. Спосіб за п. 1, у якому жирова хвороба печінки являє собою пов'язане із алкоголем захворювання печінки (ARLD) або неалкогольну жирову хворобу печінки (NAFLD).

3. Спосіб за п. 2, у якому пов'язане із алкоголем захворювання печінки являє собою алкогольну жирову хворобу печінки (AFL), алкогольний стеатогепатит (ASH) або алкогольний цироз.

10 4. Спосіб за п. 2, у якому неалкогольна жирова хвороба печінки являє собою неалкогольний стеатогепатит (NASH) або неалкогольний цироз.

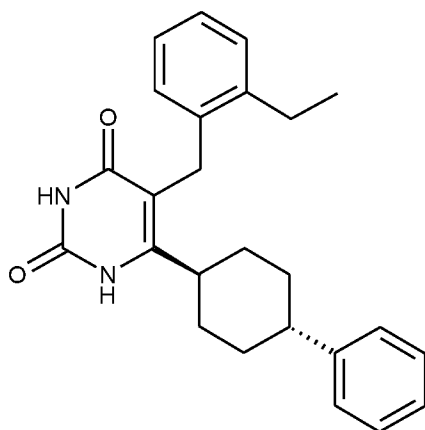
5. Спосіб за п. 1, у якому кожен R^{1a} являє собою C_{1-6} галогеналкіл.

6. Спосіб за п. 1, у якому кожен R^{1a} незалежно вибраний з групи, що складається з H, Me, Et, F, Cl та $-CF_3$.

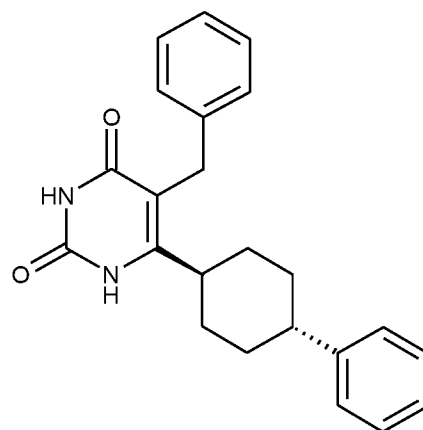
15 7. Спосіб за п. 1, у якому кожен R^{1a} являє собою $-CF_3$.

8. Спосіб за п. 1, у якому R^2 являє собою H.

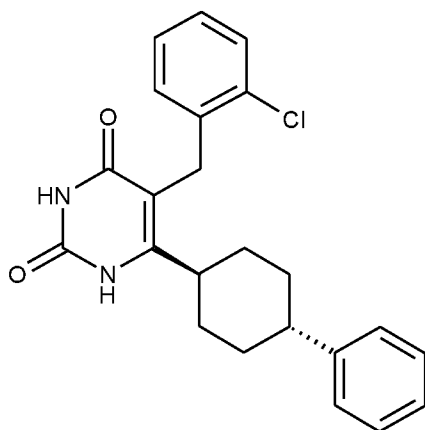
9. Спосіб за п. 1, у якому сполука вибрана з групи, що складається з:



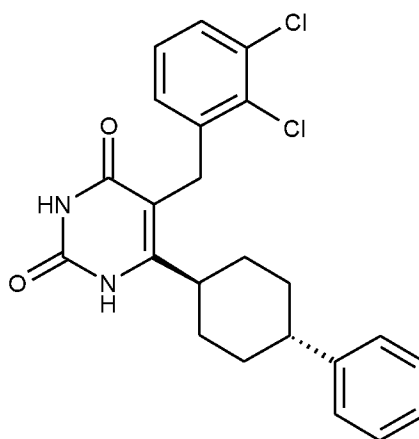
,



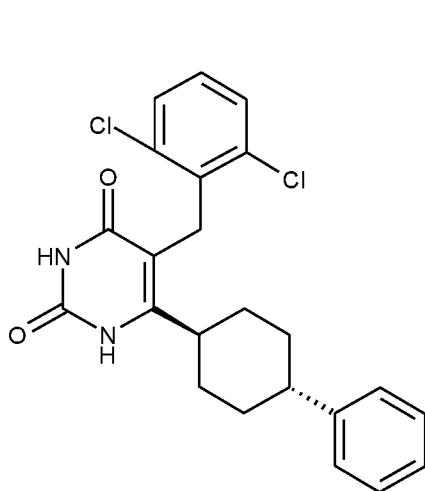
,



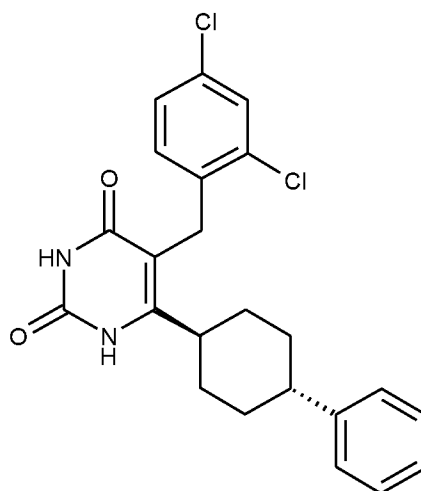
,



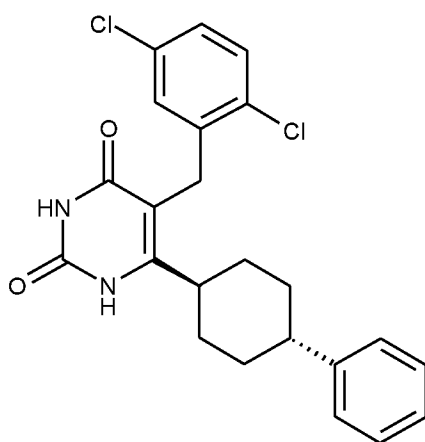
,



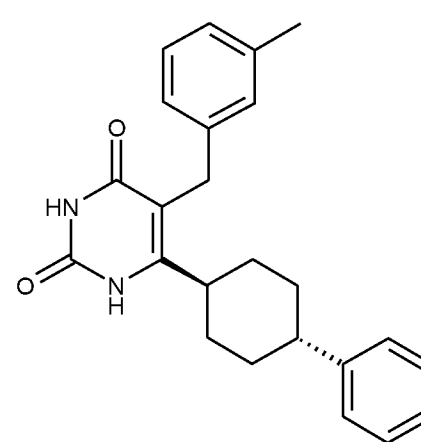
,



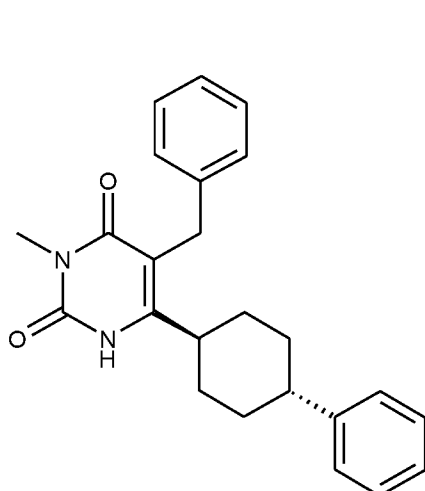
,



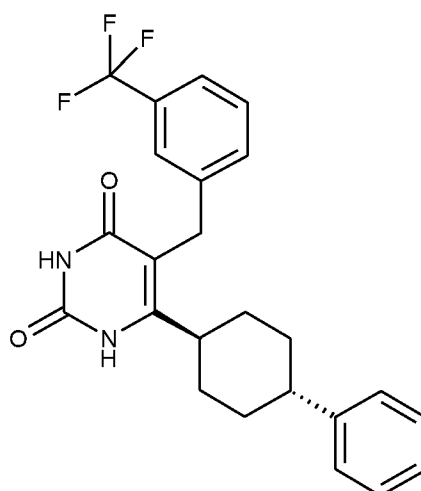
,



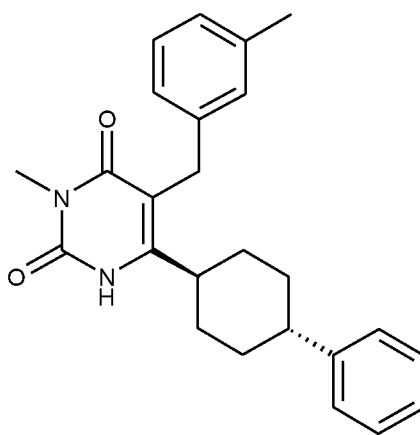
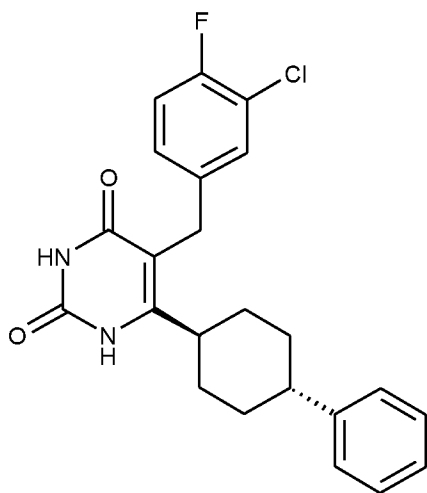
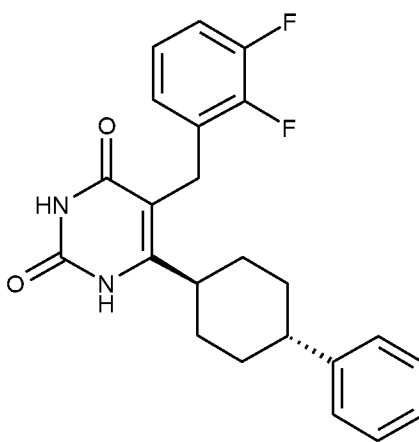
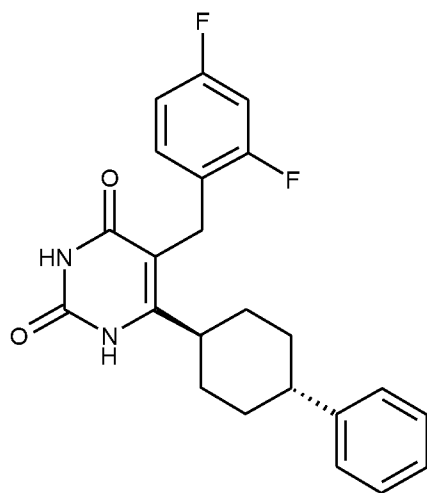
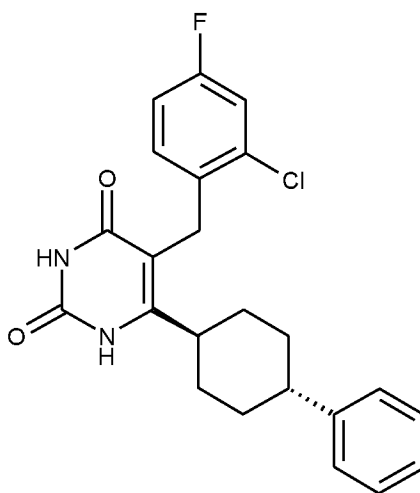
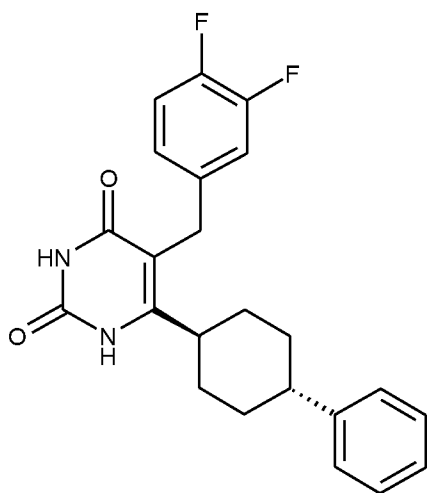
,



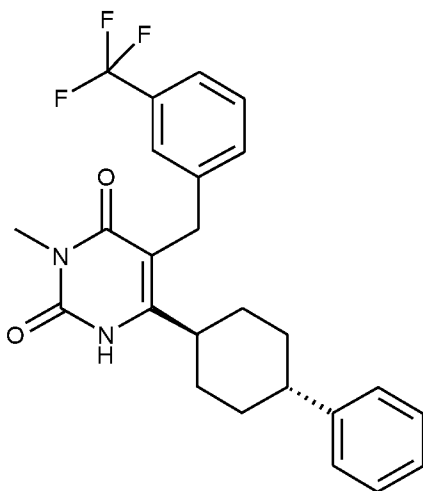
,



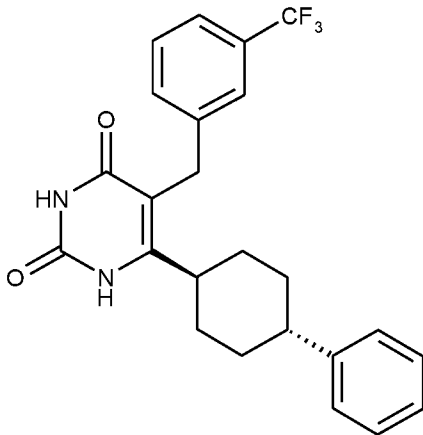
,



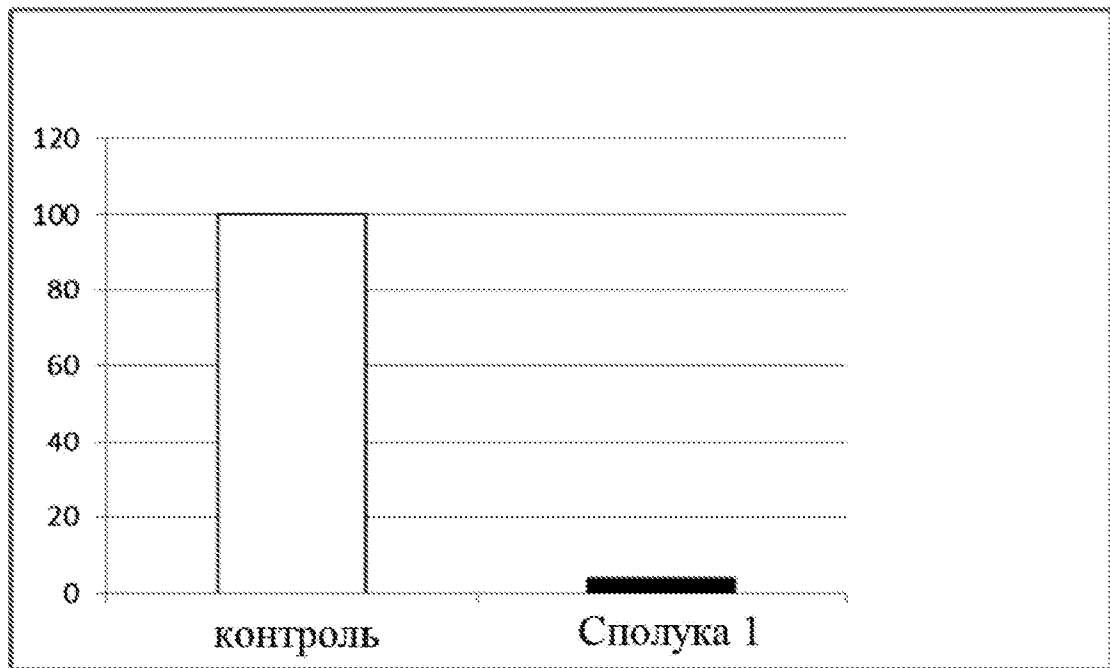
ta



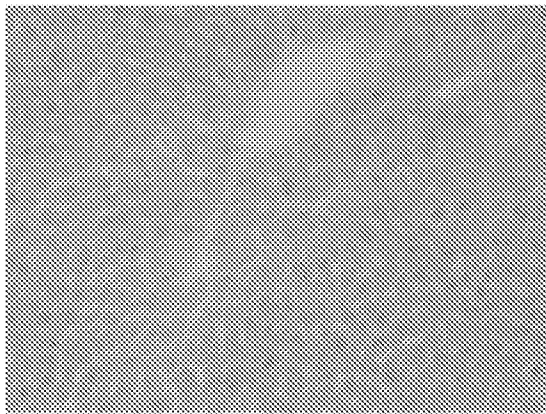
10. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що сполука має формулу:



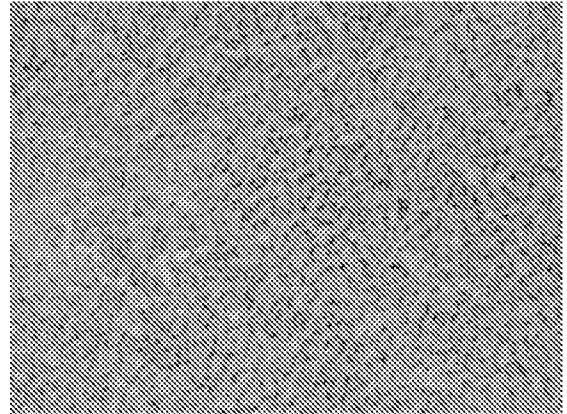
11. Спосіб за п. 1, у якому зазначена сполука Формули Іd являє собою антагоніст глюкокортикоїдного рецептора.
12. Спосіб за п. 1, у якому зазначена сполука Формули Іd являє собою антагоніст мінералокортикоїдного рецептора.
13. Спосіб за п. 1, у якому зазначена сполука Формули Іd інгібує зв'язування глюкокортикоїду з глюкокортикоїдним рецептором і являє собою антагоніст мінералокортикоїдного рецептора.
14. Спосіб за п. 1, у якому зазначена сполука Формули Іd інгібує зв'язування глюкокортикоїду з глюкокортикоїдним рецептором з константою інгібування (K_i) від 0,0001 наномоль (нМ) до 1000 нМ і являє собою антагоніст мінералокортикоїдного рецептора.



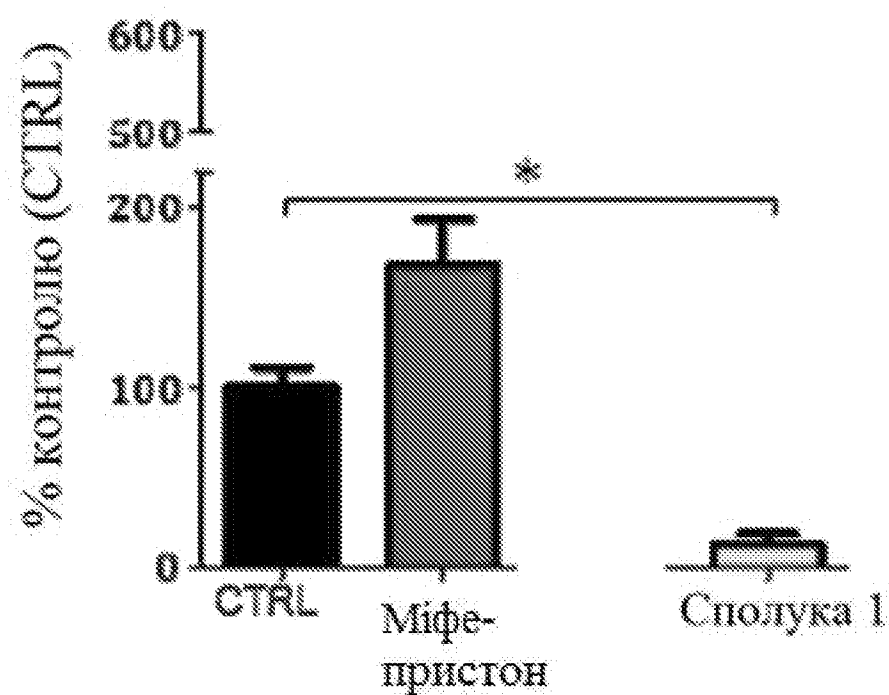
ФІГ. 1



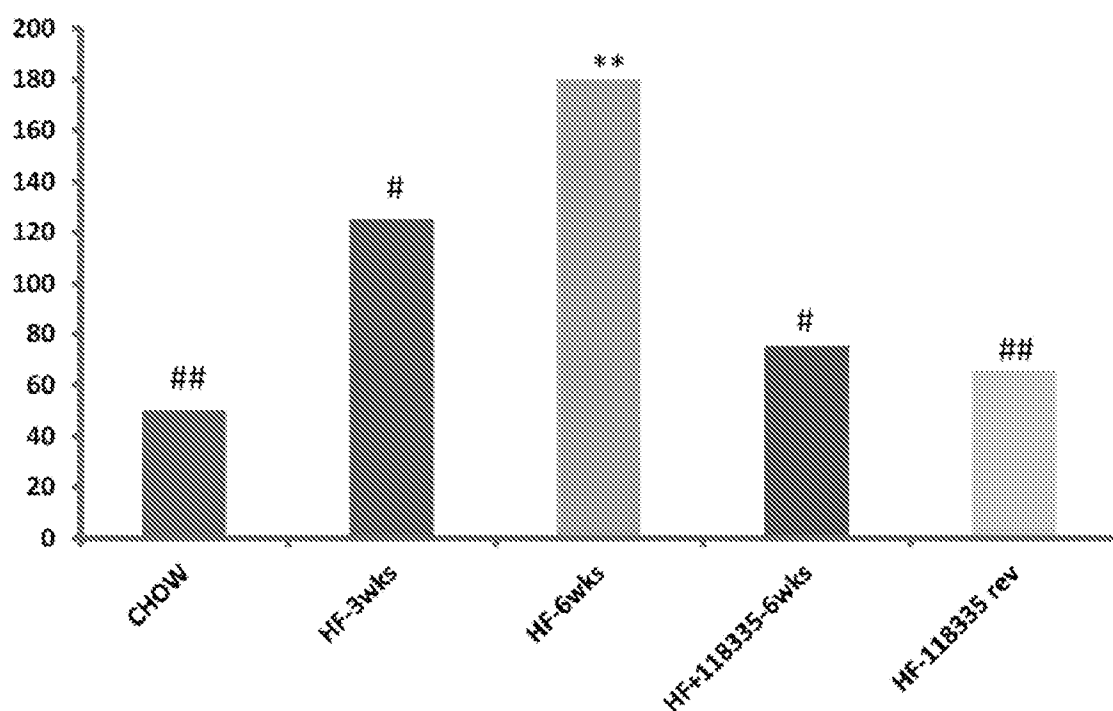
ФІГ. 2А



ФІГ. 2В



ФІГ. 3



ФІГ. 4