

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037330**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.03.12

(21) Номер заявки
201892119

(22) Дата подачи заявки
2017.03.27

(51) Int. Cl. *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)
A61K 31/4178 (2006.01)
A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/42 (2006.01)
A61K 31/4245 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

**(54) ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ, ПОЛУЧЕННЫЙ ПУТЕМ КОМБИНИРОВАНИЯ
АГОНИСТА FXR И ARB**

(31) 2016-064475

(32) 2016.03.28

(33) JP

(43) 2019.02.28

(86) PCT/JP2017/012448

(87) WO 2017/170434 2017.10.05

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ИНТЕРСЕПТ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Намисаки Тадаси, Йосидзи Хитоси
(JP)**

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

(56) Namiki T. et al., Beneficial effects of combined ursodeoxycholic acid and angiotensin-II type 1 receptor blocker on hepatic fibrogenesis in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis, J. Gastroenterol., 2015.07.21, Vol.51, p.162-172

WO-A1-2014200349

WO-A2-2014142364

JP-A-2007529427

JP-A-2015521621

WO-A1-2015008849

NAMISAKI T. et al., Antifibrotic effects of combined treatment with farnesoid X receptor agonist and angiotensin-II type1 receptor blocker on hepatic fibrogenesis in the rat model of nonalcoholic steatohepatitis, Journal of Hepatology, 2016.04, Vol.64, No.2, Suppl, S686

(57) Изобретение относится к комбинированному фармацевтическому средству, содержащему в качестве активных ингредиентов агонист фарнезоидных X-рецепторов (агонист FXR) или его фармацевтически приемлемую соль и блокатор рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемую соль, в котором агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту и ARB представляет собой лозартан, кандесартан или валсартан. Изобретение также включает применение данного комбинированного фармацевтического средства для получения средства для ингибирования фиброза печени при неалкогольном стеатогепатите (NASH). Изобретение обеспечивает эффективное лечение NASH.

B1**037330****037330****B1**

Область техники

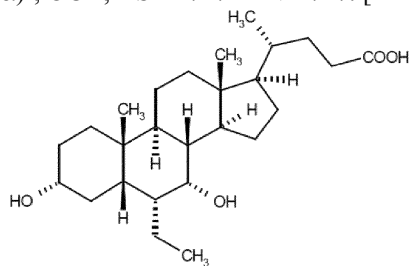
Настоящее изобретение относится к терапевтическому средству для лечения неалкогольного стеатогепатита (также сокращаемого ниже в настоящем описании как NASH) и, в частности, к терапевтическому средству, которое является эффективным против фиброза печени при NASH. Более конкретно, оно относится к терапевтическому средству для NASH, содержащему в качестве активных ингредиентов агонист фарнезоидного X-рецептора (также сокращаемого ниже в настоящем описании как FXR) (в частности, обетихоловую кислоту) или его фармацевтически приемлемую соль и блокатор рецепторов ангиотензина II (также сокращаемый ниже в настоящем описании как ARB) или его фармацевтически приемлемую соль.

Уровень техники

NASH представляет собой повсеместно встречающееся хроническое заболевание печени, типично наблюдаемое при нарушениях обмена веществ, таких как ожирение и сахарный диабет 2 типа (T2DM). В связи с возрастанием уровня распространения метаболического синдрома в последние годы, возрастает заинтересованность в предупреждении и лечении различных заболеваний, которые являются следствием метаболического синдрома. Среди этих заболеваний особое внимание уделяется NASH.

NASH представляет собой тип гепатита, являющийся следствием накопления жира в печени, который развивается из ранней стадии стеатоза печени вследствие таких факторов, как оксидативный стресс, инсулинорезистентность и воспалительные цитокины, и характеризуется переходом от стеатоза печени к значительно более тяжелой патологии. Кроме того, в случае NASH и вторичного для него прогрессирования фиброза печени имеется серьезный риск прогрессирования в такие заболевания, как цирроз печени с летальным исходом или гепатоцеллюлярный рак.

В настоящее время известно, что обетихоловая кислота, которая характеризуется показанной ниже химической формулой, оказывает эффект в виде монотерапии, заключающийся в ингибировании фиброза при различных заболеваниях печени, включая NASH, и ожидается, что она будет применима в лечении таких заболеваний, как NASH и PBC (патентные документы 1-3). Обетихоловая кислота также известна как 3 α ,7 α -дигидрокси-6 α -этил-5 β -холан-24-овая кислота, 6 α -этил-3 α ,7 α -дигидрокси-5 β -холан-24-овая кислота, 6 α -этилхенодезоксихоловая кислота, 6-этил-CDCA, 6ECDCA, холан-24-овая кислота, 6-этил-3,7-дигидрокси-(3 α , 5 β , 6 α , 7 α)-, OCA, DSP-1747 и INT-747. [Химическая формула 1]



Обетихоловая кислота

(INT-747; DSP-1747)

ARB, которые являются антагонистами вазопрессорного ангиотензина II, представляют собой лекарственные средства, которые оказывают антигипертензивное действие за счет связывания с рецепторами ангиотензина II, при этом примеры гипотензивных средств данного класса в клинической практике включают лозартан, кандесартан, телмисартан, валсартан, олмесартан, ирбесартан и азилсартан. В силу не только их антигипертензивного действия, но также и других типов действия, как например, снижения воспаления, улучшения функции эндотелия, ингибирования кардиоваскулярного ремоделирования, ингибирования оксидативного стресса, ингибирования факторов роста и снижения инсулинорезистентности, ARB применимы в лечении таких нарушений, как заболевание сердечно-сосудистой системы, заболевание почек и артериосклероз, и они были объектом многочисленных клинических и неклинических исследований (непатентные документы 1-2).

Что касается ARB, то поскольку также сообщалось, что эти лекарственные средства могут уменьшать фиброз печени и что рецепторы ангиотензина II выполняют роль в фиброзе печени, ожидается, что ARB будут способны ингибировать фиброз печени при заболевании печени (непатентные документы 3-5).

Хотя известны некоторые из этих лекарственных средств, демонстрирующих перспективность с точки зрения ингибирования фиброза печени при заболевании печени таким путем, пока не было обнаружено фактически каких-либо лекарственных средств данного класса, которые являются эффективными в качестве средств для эффективного предупреждения и лечения фиброза печени при заболевании печени, и разработка таких средств необходима безотлагательно.

Хотя авторы настоящего изобретения прежде сообщали, что комбинация урсодезоксихоловой кислоты и ARB ингибирует прогрессирование фиброза печени (непатентный документ 6), пока не было каких-либо сообщений о применении комбинации агониста FXR (в частности, обетихоловой кислоты) и

ARB в лечении фиброза печени при заболеваниях печени (в частности, NASH). Урсодезоксихолевая кислота не обладает действием агониста FXR (непатентный документ 7).

Документы известного уровня техники

Патентные документы.

Патентный документ 1: патент Японии № 4021327.

Патентный документ 2: патент Японии № 5094384.

Патентный документ 3: публикация прошедшей проверку заявки на патент Японии № 2015-52162.

Непатентные документы.

Непатентный документ 1: AMER. J. Hypertension, 18, 720-730 (2005).

Непатентный документ 2: Current Hypertension Report, 10, 261-267 (2008).

Непатентный документ 3: BMC Res Notes; 2: 7 0 (2009).

Непатентный документ 4: Hepatology, 34, 745-750 (2001).

Непатентный документ 5: Hepatol Res, 27, 51-56 (2003).

Непатентный документ 6: Journal of Gastroenterology, DOI: 10.1007/s00535-015-1104-x, pp. 1-11, первоначально опубликованный он-лайн: 21 июля 2 015 года.

Непатентный документ 7: Journal of Lipid Research, 45, 132-138 (2004).

Краткое описание изобретения

Цель изобретения

Целью настоящего изобретения является обеспечение средства, которое применимо для предупреждения и/или лечения NASH, более конкретно предупреждения, лечения или положительной динамики фиброза печени при NASH, содержащего в качестве своих активных ингредиентов агонист FXR или его фармацевтически приемлемую соль и ARB или его фармацевтически приемлемую соль.

Средства для достижения цели

Стремясь к достижению вышеуказанной цели, авторы настоящего изобретения, в частности принимая во внимание то, что NASH представляет собой комплексную патологию с участием целого ряда взаимосвязанных факторов, в попытке обеспечить эффективное лечение провели различные исследования с применением различных комбинаций нескольких лекарственных средств, характеризующихся разными механизмами действия, и в результате обширных исследований обнаружили, что введение комбинации агониста FXR или его фармацевтически приемлемой соли, в частности обетихоловой кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли, и ARB или его фармацевтически приемлемой соли существенно ингибировало фиброз печени на модели неалкогольного стеатогепатита (NASH) у крыс, пришли таким образом к настоящему изобретению. Более конкретно, авторы настоящего изобретения обнаружили, что комбинация этих лекарственных средств обеспечивала терапевтический эффект, который был синергически и значимо усиленным по сравнению с традиционным введением обетихоловой кислоты или ARB в виде монотерапии.

В связи с этим, настоящее изобретение предусматривает следующие варианты осуществления.

[1] Комбинированное фармацевтическое средство, содержащее в качестве активных ингредиентов агонист фарнезоидных X-рецепторов (агонист FXR) или его фармацевтически приемлемую соль и блокатор рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемую соль.

[2] Фармацевтическое средство согласно [1] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодесоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175, Px-104 или LJN-452.

[3] Фармацевтическое средство согласно [1] или [2] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодесоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175 или Px-104.

[4] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[3] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту или INT-767.

[5] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[4] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту.

[6] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[4] выше, в котором агонист FXR представляет собой INT-767.

[7] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[6] выше, в котором ARB представляет собой лозартан, кандесартан, телмисартан, валсартан, олмесартан, ирбесартан или азилсартан.

[8] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[7] выше, в котором ARB представляет собой лозартан.

[9] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[7] выше, в котором ARB представляет собой кандесартан.

[10] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[7] выше, в котором ARB представляет собой телмисартан.

[11] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[7] выше, в котором ARB представляет собой валсартан.

[12] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[7] выше, в котором ARB представляет собой олмесартан.

[13] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[7] выше, в котором ARB представляет со-

бой ирбесартан.

[14] Фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[7] выше, в котором ARB представляет собой азилсартан.

[15] Терапевтическое средство для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), содержащее комбинированное фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[14] выше.

[16] Терапевтическое средство согласно [15] выше, характеризующееся применением в комбинации агониста фарнезоидных X-рецепторов (агонист FXR) или его фармацевтически приемлемой соли и блокатора рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемой соли.

[17] Терапевтическое средство согласно [16] выше, характеризующееся тем, что агонист FXR или его фармацевтически приемлемая соль и ARB или его фармацевтически приемлемая соль вводятся одновременно или отдельно в разные моменты времени.

[18] Терапевтическое средство для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), содержащее агонист фарнезоидных X-рецепторов (агониста FXR) или его фармацевтически приемлемую соль, характеризующееся применением в комбинации с блокатором рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемой солью.

[19] Терапевтическое средство для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), содержащее блокатор рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемую соль, характеризующееся применением в комбинации с агонистом фарнезоидных X-рецепторов (агонистом FXR) или его фармацевтически приемлемой солью.

[20] Терапевтическое средство согласно [18] или [19] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодезоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175, P_x-104 или LJN-452.

[21] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[20] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодезоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175 или P_x-104.

[22] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[21] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту или INT-767.

[23] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[22] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту.

[24] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[22] выше, в котором агонист FXR представляет собой INT-767.

[25] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[24] выше, в котором ARB представляет собой лозартан, кандесартан, телмисартан, валсартан, олмесартан, ирбесартан или азилсартан.

[26] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[25] выше, в котором ARB представляет собой лозартан.

[27] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[25] выше, в котором ARB представляет собой кандесартан.

[28] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[25] выше, в котором ARB представляет собой телмисартан.

[29] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[25] выше, в котором ARB представляет собой валсартан.

[30] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[25] выше, в котором ARB представляет собой олмесартан.

[31] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[25] выше, в котором ARB представляет собой ирбесартан.

[32] Терапевтическое средство согласно любому из [18]-[25] выше, в котором ARB представляет собой азилсартан.

[33] Терапевтическое средство согласно любому из [15]-[32] выше, в случае которого вышеупомянутое лечение NASH представляет собой ингибирование фиброза печени при NASH.

[34] Применение комбинированного фармацевтического средства согласно любому из [1]-[14] выше для получения терапевтического средства для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH).

[35] Применение комбинированного фармацевтического средства согласно любому из [1]-[14] выше для получения средства для ингибирования фиброза печени при NASH.

[36] Способ лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), характеризующийся тем, что комбинацию агониста фарнезоидных X-рецепторов (агониста FXR) или его фармацевтически приемлемой соли и блокатора рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемой соли вводят пациенту в терапевтически эффективной дозе.

[37] Способ лечения согласно [36] выше, в случае которого агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодезоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175, P_x-104 или LJN-452.

[38] Способ лечения согласно [36] или [37] выше, в случае которого агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодезоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175 или P_x-104.

[39] Способ лечения согласно любому из [36]-[38] выше, в случае которого агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту или INT-767.

[40] Способ лечения согласно любому из [36]-[39] выше, в случае которого агонист FXR представ-

ляет собой обетихоловую кислоту.

[41] Способ лечения согласно любому из [36]-[39] выше, в случае которого агонист FXR представляет собой INT-7 67.

[42] Способ лечения согласно любому из [36]-[41] выше, в случае которого ARB представляет собой лозартан, кандесартан, телмисартан, валсартан, олмесартан, ирбесартан или азилсартан.

[43] Способ лечения согласно любому из [36]-[42] выше, в случае которого ARB представляет собой лозартан.

[44] Способ лечения согласно любому из [36]-[42] выше, в случае которого ARB представляет собой кандесартан.

[45] Способ лечения согласно любому из [36]-[42] выше, в случае которого ARB представляет собой телмисартан.

[46] Способ лечения согласно любому из [36]-[42] выше, в случае которого ARB представляет собой валсартан.

[47] Способ лечения согласно любому из [36]-[42] выше, в случае которого ARB представляет собой олмесартан.

[48] Способ лечения согласно любому из [36]-[42] выше, в случае которого ARB представляет собой ирбесартан.

[49] Способ лечения согласно любому из [36]-[42] выше, в случае которого ARB представляет собой азилсартан.

[50] Способ лечения согласно любому из [36]-[49] выше, в случае которого вышеупомянутое лечение NASH представляет собой ингибирование фиброза печени при NASH.

[51] Комбинация агониста фарнезоидных X-рецепторов (агониста FXR) или его фармацевтически приемлемой соли и блокатора рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемой соли для применения в лечении неалкогольного стеатогепатита (NASH).

[52] Комбинация согласно [51] выше, в которой агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодесоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175, Pх-104 или LJN-452.

[53] Комбинация согласно [51] или [52] выше, в которой агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодесоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175 или Pх-104.

[54] Комбинация согласно любому из [51]-[53] выше, в которой агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту или INT-767.

[55] Комбинация согласно любому из [51]-[54] выше, в которой агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту.

[56] Комбинация согласно любому из [51]-[54] выше, в которой агонист FXR представляет собой INT-7 67.

[57] Комбинация согласно любому из [51]-[56] выше, в которой ARB представляет собой лозартан, кандесартан, телмисартан, валсартан, олмесартан, ирбесартан или азилсартан.

[58] Комбинация согласно любому из [51]-[57] выше, в которой ARB представляет собой лозартан.

[59] Комбинация согласно любому из [51]-[57] выше, в которой ARB представляет собой кандесартан.

[60] Комбинация согласно любому из [51]-[57] выше, в которой ARB представляет собой телмисартан.

[61] Комбинация согласно любому из [51]-[57] выше, в которой ARB представляет собой валсартан.

[62] Комбинация согласно любому из [51]-[57] выше, в которой ARB представляет собой олмесартан.

[63] Комбинация согласно любому из [51]-[57] выше, в которой ARB представляет собой ирбесартан.

[64] Комбинация согласно любому из [51]-[57] выше, в которой ARB представляет собой азилсартан.

[65] Комбинация согласно любому из [51]-[64] выше, в случае которой вышеупомянутое лечение NASH представляет собой ингибирование фиброза печени при NASH.

[66] Набор для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), содержащий:

1) фармацевтическое средство, содержащее агонист фарнезоидных X-рецепторов (агонист FXR) или его фармацевтически приемлемую соль;

2) фармацевтическое средство, содержащее блокатор рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемую соль; и

3) инструкции по введению комбинации 1) и 2), указанных выше.

[67] Набор согласно [66] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодесоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175, Pх-104 или LJN-452.

[68] Набор согласно [66] или [67] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, хенодесоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175 или Pх-104.

[69] Набор согласно любому из [66]-[68] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту или INT-767.

[70] Набор согласно любому из [66]-[69] выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту.

[71] Набор согласно любому из [66]-[69] выше, в котором агонист FXR представляет собой INT-767.

[72] Набор согласно любому из [66]-[71] выше, в котором ARB представляет собой лозартан, кандесартан, телмисартан, валсартан, олмесартан, ирбесартан или азилсартан.

[73] Набор согласно любому из [66]-[72] выше, в котором ARB представляет собой лозартан.

[74] Набор согласно любому из [66]-[72] выше, в котором ARB представляет собой кандесартан.

[75] Набор согласно любому из [66]-[72] выше, в котором ARB представляет собой телмисартан.

[76] Набор согласно любому из [66]-[72] выше, в котором ARB представляет собой валсартан.

[77] Набор согласно любому из [66]-[72] выше, в котором ARB представляет собой олмесартан.

[78] Набор согласно любому из [66]-[72] выше, в котором ARB представляет собой ирбесартан.

[79] Набор согласно любому из [66]-[72] выше, в котором ARB представляет собой азилсартан.

[80] Набор согласно любому из [66]-[79] выше, в случае которого вышеупомянутое лечение NASH представляет собой ингибирование фиброза печени при NASH.

[81] Средство для ингибирования фиброза печени при заболевании печени, содержащее комбинированное фармацевтическое средство согласно любому из [1]-[14] выше.

[82] Средство для ингибирования фиброза печени согласно [81] выше, в случае которого заболевание печени выбрано из гепатита В; гепатита С; паразитарного заболевания печени; посттрансплантационных бактериальных инфекций, посттрансплантационных вирусных инфекций или посттрансплантационных грибковых инфекций; алкогольной болезни печени (ALD); неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD); метотрексат-индуцированного заболевания печени, изониазид-индуцированного заболевания печени, оксифенистатин-индуцированного заболевания печени, метилдопа-индуцированного заболевания печени, хлорпромазин-индуцированного заболевания печени, толбутамид-индуцированного заболевания печени или амиодарон-индуцированного заболевания печени; аутоиммунного гепатита; саркоидоза; болезни Вильсона; гемохроматоза; болезни Гоше; болезни накопления гликогена III типа, болезни накопления гликогена IV типа, болезни накопления гликогена VI типа, болезни накопления гликогена IX типа или болезни накопления гликогена X типа; дефицита α -1 антитрипсина; синдрома Целльвегера; тирозинемии; левулоземии; галактоземии; ангиопатии, обусловленной синдромом Бадда-Киари, ангиопатии, обусловленной веноокклюзионной болезнью, ангиопатии, обусловленной тромбозом воротной вены, или врожденного фиброза печени.

[83] Средство для ингибирования фиброза печени согласно [81] или [82] выше, в случае которого заболевание печени представляет собой либо ALD, либо NAFLD.

[84] Средство для ингибирования фиброза печени согласно любому из [81]-[83] выше, в случае которого заболевание печени представляет собой NAFLD.

Эффект изобретения

В соответствии с настоящим изобретением можно надеяться, что за счет введения комбинации или смеси агониста FXR или его фармацевтически приемлемой соли, в частности обетихолевой кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли, с ARB или его фармацевтически приемлемой солью станет возможным достигнуть значительного усиления терапевтического эффекта по сравнению с монотерапией с применением одного из этих лекарственных средств, обеспечивается таким образом эффект лечения и/или предупреждения NASH, более конкретно, эффект предупреждения, ингибирования и/или уменьшения фиброза печени при NASH. Кроме того, в соответствии с настоящим изобретением можно надеяться, что за счет усиления терапевтического эффекта в случае применения двух вышеупомянутых лекарственных средств (активных ингредиентов) в виде комбинированного или смешанного введения, станет возможным введение этих лекарственных средств в дозировке, уменьшенной по сравнению с их дозировкой в виде монотерапии, снижая таким образом неблагоприятные реакции, ассоциированные с ними.

Кроме того, можно ожидать, что в случае применения настоящего изобретения будет продемонстрирован терапевтический эффект в отношении фиброза печени, не только при NASH, но и при всех типах заболевания печени, включая гепатит В; гепатит С; паразитарное заболевание печени; посттрансплантационные бактериальные инфекции, посттрансплантационные вирусные инфекции и посттрансплантационные грибковые инфекции; алкогольную болезнь печени (ALD); неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD); метотрексат-индуцированное заболевание печени, изониазид-индуцированное заболевание печени, оксифенистатин-индуцированное заболевание печени, метилдопа-индуцированное заболевание печени, хлорпромазин-индуцированное заболевание печени, толбутамид-индуцированное заболевание печени или амиодарон-индуцированное заболевание печени; аутоиммунный гепатит; саркоидоз; болезнь Вильсона; гемохроматоз; болезнь Гоше; болезнь накопления гликогена III типа, болезнь накопления гликогена IV типа, болезнь накопления гликогена VI типа, болезнь накопления гликогена IX типа и болезнь накопления гликогена X типа; дефицит α -1 антитрипсина; синдром Целльвегера; тирозинемия; левулоземию; галактоземию; ангиопатию, обусловленную синдромом Бадда-Киари, ангиопатию,

обусловленную веноокклюзионной болезнью, и ангиопатию, обусловленную тромбозом воротной вены; и врожденный фиброз печени.

Упрощенное объяснение фигур

На фиг. 1 показаны типичные примеры микрофотографий срезов печени, окрашенных красителем сириус красный, от групп (G1-G5) из рабочего примера 1.

На фиг. 2 показаны результаты полуколичественного анализа гистологических характеристик прогрессирования фиброза в группах из рабочего примера 1. При этом на фигуре столбцы указывают индекс средней площади фиброзных участков у различных групп. Звездочки (**) указывают на статистически значимые различия между показанными группами ($p < 0,01$; t-критерий Стьюдента).

На фиг. 3 показаны типичные примеры микрофотографий срезов печени, иммуногистологически окрашенных на α -гладкомышечный актин (α -SMA), от групп (G1-G5) из рабочего примера 2.

На фиг. 4 показаны результаты полуколичественного анализа иммуногистохимических характеристик различных групп из рабочего примера 2. При этом на фигуре столбцы указывают индекс средней площади участков с окрашенным α -SMA у различных групп. Звездочки (**) указывают на статистически значимые различия между показанными группами ($p < 0,01$; t-критерий Стьюдента).

На фиг. 5 показаны результаты количественного анализа экспрессии mRNA TGF- β 1 и α 1 (I) - проколлагена с помощью RT-PCR в группах из рабочего примера 2. При этом столбцы на фигуре указывают уровень экспрессии mRNA. Звездочки (*; **) указывают на статистически значимые различия между показанными группами (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$).

На фиг. 6 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования способности жиронакапливающих клеток печени человека к пролиферации в группах из рабочего примера 3 (G1, G2L, G2A, G2AL, G3, G4, G5) в случае применения лозартана в качестве ARB.

На фиг. 7 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования способности жиронакапливающих клеток печени человека к пролиферации в группах из рабочего примера 3 (G1, G2AL, G3, G4, G5) в случае применения валсартана в качестве ARB.

На фиг. 8 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования способности жиронакапливающих клеток печени человека к пролиферации в группах из рабочего примера 3 (G1, G2AL, G3, G4, G5) в случае применения кандесартана в качестве ARB.

На фиг. 9 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования экспрессии гена TGF- β 1, который является маркером фиброза, в группах из рабочего примера 3 (G1, G2L, G2A, G2AL, G3, G4, G5) в случае применения лозартана в качестве ARB.

[Фиг. 10] На фиг. 10 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования экспрессии гена TGF- β 1, который является маркером фиброза, в группах из рабочего примера 3 (G1, G2AL, G3, G4, G5) в случае применения валсартана в качестве ARB.

На фиг. 11 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования экспрессии гена TGF- β 1, который является маркером фиброза, в группах из рабочего примера 3 (G1, G2AL, G3, G4, G5) в случае применения кандесартана в качестве ARB.

На фиг. 12 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования экспрессии гена α 1(I)-проколлагена, который является маркером фиброза, в группах из рабочего примера 3 (G1, G2L, G2A, G2AL, G3, G4, G5) в случае применения лозартана в качестве ARB.

На фиг. 13 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования экспрессии гена α 1(I)-проколлагена, который является маркером фиброза, в группах из рабочего примера 3 (G1, G2AL, G3, G4, G5) в случае применения валсартана в качестве ARB.

На фиг. 14 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования экспрессии гена α 1(I)-проколлагена, который является маркером фиброза, в группах из рабочего примера 3 (G1, G2AL, G3, G4, G5) в случае применения кандесартана в качестве ARB.

На фиг. 15 показаны результаты исследования эффекта уменьшения набухания клеток печени в группах введения лекарственного средства из рабочего примера 7 (G3, G4, G5). При этом на фигуре столбцы указывают степень усиления набухания клеток печени.

На фиг. 16 показаны результаты исследования эффекта снижения активности ALT в группах введения лекарственного средства из рабочего примера 8 (G3, G4, G5). При этом на фигуре столбцы указывают изменение активности ALT.

Описание предпочтительных вариантов осуществления

В контексте настоящего изобретения термин "агонист фарнезоидных X-рецепторов" или "агонист FXR" относится к лигандам, специфическим в отношении фарнезоидных X-рецепторов (FXR), которые представляют собой соединения, характеризующиеся действием в отношении связывания с FXR, приводя таким образом к специфической стимуляции лиганд-зависимой транскрипционной активности FXR (что определяется по отличию от исходного уровня, определяемого в отсутствие любого лиганда) (указанные соединения включают природные соединения, полусинтетические соединения, полученные из природных соединений, и синтетические соединения). Это действие также обозначается просто как FXR-стимулирующее действие или FXR-активирующее действие. Кроме того, в качестве синонимов для тер-

мина "агонист FXR" могут также применяться термины "активатор FXR", "стимулятор FXR", "FXR-активирующий лиганд", "FXR-специфический лиганд" или просто "лиганд FXR".

FXR (фарнезоидные X-рецепторы), которые представляют собой ядерные рецепторы, в качестве лигандов которых выступают желчные кислоты, как известно, вовлечены в метаболизм желчных кислот, метаболизм холестерина, метаболизм липидов и т. д., и ожидается, что агонисты FXR будут оказывать эффект в отношении таких нарушений, как заболевание печени, метаболические заболевания и фиброз органов.

Природную желчную кислоту, хенодезоксихолевую кислоту, выделили в качестве природного лиганда FXR, характеризующегося наиболее высокой активностью, а затем обнаружили, что обетихоловая кислота обладает наиболее сильным FXR-стимулирующим действием среди полусинтетических алкилированных желчных кислот.

Какие-либо особые ограничения в отношении агониста FXR отсутствуют, при этом примеры включают обетихоловую кислоту, хенодезоксихолевую кислоту, INT-767, LY-2562175, Pх-104, LJN-452, показанные в следующей таблице. Агонист FXR, применяемый в настоящем изобретении, предпочтительно представляет собой обетихоловую кислоту или INT-767 и более предпочтительно обетихоловую кислоту.

Агонист FXR, применяемый в настоящем изобретении, может также включать два или более агонистов FXR.

Таблица 1

Название лекарственного средства	Структурная формула	[№ по CAS] и/или ссылающийся документ
Обетихоловая кислота (INT-747 или DSP-1747)		[459789-99-2] WO 2002/072598
Хенодезоксихолевая кислота		[474-25-9]
INT-767		WO 2008/002573
LY-2562175		WO 2009/012125
Pх-104		[1268244-88-7] WO 2011/020615

Агонист FXR, более конкретно, любое из вышеупомянутых соединений, может представлять собой любое общеизвестное соединение, и оно может быть получено с помощью любого общеизвестного способа. Например, обетихоловая кислота может быть получена с помощью способа, раскрытого в публикации прошедшей проверку заявки на патент Японии № 2015-52162.

Отсутствуют какие-либо особые ограничения в отношении "блокатора рецепторов ангиотензина II" или "ARB", применяемых в настоящем изобретении, при этом примеры включают лекарственные средства, упомянутые в таблице ниже, такие как лозартан, кандесартан, телмисартан, валсартан, олмесартан, ирбесартан и азилсартан. ARB, применяемый в настоящем изобретении, предпочтительно представляет собой лозартан, валсартан или ирбесартан, более предпочтительно лозартан или ирбесартан и наиболее предпочтительно лозартан.

В другом варианте осуществления применяемое лекарственное средство предпочтительно представляет собой кандесартан, телмисартан, олмесартан или азилсартан, более предпочтительно телмисартан, олмесартан или азилсартан, даже более предпочтительно телмисартан или олмесартан и наиболее предпочтительно олмесартан.

Кроме того, в другом варианте осуществления применяемое лекарственное средство предпочтительно представляет собой кандесартан, телмисартан или азилсартан, более предпочтительно телмисартан или азилсартан и наиболее предпочтительно телмисартан. В дополнительном варианте осуществления применяемое лекарственное средство предпочтительно представляет собой кандесартан, олмесартан или азилсартан, более предпочтительно олмесартан или азилсартан и наиболее предпочтительно азилсартан. В дополнительном варианте осуществления применяемое лекарственное средство предпочтительно представляет собой кандесартан, телмисартан или олмесартан, более предпочтительно кандесартан или олмесартан и наиболее предпочтительно кандесартан. В дополнительном варианте осуществления применяемое лекарственное средство предпочтительно представляет собой лозартан, валсартан или кандесартан.

ARB по настоящему изобретению могут быть предусмотрены в форме двух или более ARB.

В контексте настоящего изобретения термин "лозартан" относится не только к лозартану, характеризующемуся структурной формулой, показанной в таблице ниже, но и к коммерчески применяемой калиевой соли лозартана (лозартану калия). Лозартан калия является предпочтительным.

В контексте настоящего изобретения термин "кандесартан" относится не только к кандесартану, характеризующемуся структурной формулой, показанной в таблице ниже, но и к коммерчески применяемому циклосилиловому сложному эфиру кандесартана (кандесартана циклосетил). Кандесартана циклосетил является предпочтительным.

В контексте настоящего изобретения термин "олмесартан" относится не только к олмесартану, характеризующемуся структурной формулой, показанной в таблице ниже, но и к медоксомилловому сложному эфиру олмесартана (олмесартана медоксомил). Олмесартана медоксомил является предпочтительным.

Таблица 2-1

Название лекарственного средства	Структурная формула
Лозартан	
Лозартана калий	
Кандесартан	
Кандесартана циклосетил	

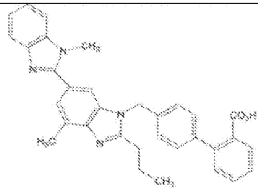
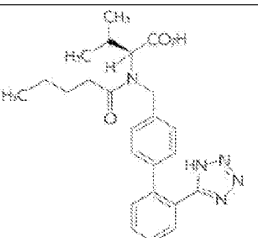
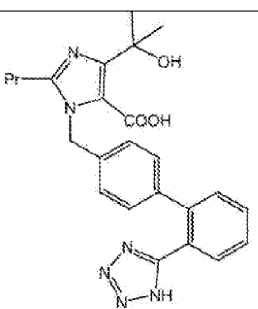
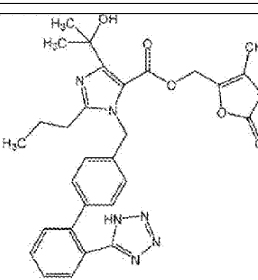
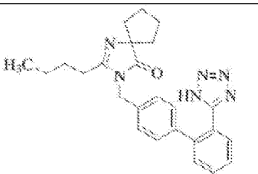
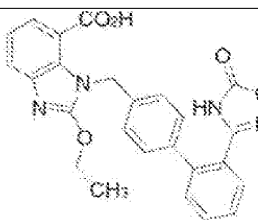
Телмисартан	
-------------	--

Таблица 2-2

Валсартан	
Олмесартан	
Олмесартана медоксомил	
Ирбесартан	
Азилсартан	

ARB или его фармацевтически приемлемую соль может быть получена с помощью общеизвестного способа. Также можно применять коммерческий ARB.

Агонист FXR и ARB по настоящему изобретению может применяться в форме фармацевтически приемлемой соли. "Фармацевтически приемлемая соль" может представлять собой любую фармацевтически приемлемую соль, которая не оказывает негативного воздействия на активность агониста FXR или ARB самих по себе, при этом примеры включают соли неорганических кислот, соли органических кислот, соли неорганических солей и соли органических солей.

В тех случаях, когда фармацевтические средства представляют собой основные соединения, примеры подходящих солей включают соли присоединения кислоты с участием неорганических кислот (таких как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, йодистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота или фосфорная кислота) или органических кислот (таких как муравьиная кислота, уксусная кислота, пропионовая кислота, щавелевая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, фума-

ровая кислота, малеиновая кислота, молочная кислота, яблочная кислота, винная кислота, лимонная кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, п-толуолсульфоновая кислота, аспарагиновая кислота или глутаминовая кислота).

В тех случаях, когда фармацевтические средства представляют собой кислые соединения, примеры подходящих солей включают соли присоединения основания с участием неорганических солей (таких как соль натрия, соль калия, соль лития, соль бария, соль кальция или соль магния) или органических солей (таких как соль пиридиния, соль пиколиния или соль триэтиламмония).

В контексте настоящего изобретения термин "фармацевтически приемлемая соль" включает гидраты и сольваты. Примеры растворителей, применяемых для образования таких веществ, включают воду и физиологически приемлемые органические растворители, такие как этанол и ацетон, однако какие-либо особые ограничения в данном отношении отсутствуют.

В случае применения комбинаций нескольких агонистов FXR и/или ARB, соли и сольваты различных применяемых соединений могут быть одинаковыми или разными.

В контексте настоящего изобретения термин "фармацевтически приемлемый" относится к свойствам соединений, веществ, композиций, носителей и/или лекарственных форм, которые по результатам тщательной медицинской оценки не вызывают какой-либо излишней токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или побочных эффектов, демонстрируют целесообразное соотношение польза/риск, и они подходят для применения в контакте с тканью человека и животных.

Кроме того, в объем настоящего изобретения также входят пролекарства агонистов FXR и ARB или их фармацевтически приемлемых солей. В контексте настоящего изобретения термин "пролекарство" относится к химически модифицированным функциональным производным соединений по настоящему изобретению, которые проявляют свои фармакологические эффекты после превращения в фармакологически активные соединения в организме или после достижения целевого сайта.

Отсутствуют какие-либо особые ограничения в отношении пролекарств, применяемых в настоящем изобретении, при этом примеры включают следующие типы:

- (1) пролекарство на основе сложного эфира фосфорной кислоты гидроксильной группы или аминоксильной группы соединения по настоящему изобретению;
- (2) пролекарство на основе карбоната или карбамата гидроксильной группы или аминоксильной группы соединения по настоящему изобретению;
- (3) пролекарство на основе амина группы карбоновой кислоты или аминоксильной группы соединения по настоящему изобретению;
- (4) пролекарство на основе аминокислоты, связанной с группой карбоновой кислоты или аминоксильной группой соединения по настоящему изобретению; и
- (5) пролекарство на основе оксима кетона, амидина или гуанидина соединения по настоящему изобретению.

Например, пролекарство по настоящему изобретению можно получать с помощью способов, описанных в Nature Reviews Drug Discovery 7; 255-270 (2008) или Journal of Medicinal Chemistry 2005, 48 (16), 5305-5320.

Кроме того, агонист FXR по настоящему изобретению можно применять в форме конъюгата с аминокислотой. В контексте настоящего описания термин "конъюгат с аминокислотой" относится к любому конъюгату требуемой подходящей аминокислоты с соединением (таким как обетихоловая кислота или хенодзоксихоловая кислота).

Большинство природных желчных кислот находятся в организме в форме конъюгатов с аминокислотами, биосинтезированных за счет конъюгации, главным образом с такими аминокислотами, как глицин и таурин (также обозначаются как конъюгированные желчные кислоты). У человека, например, хенодзоксихоловая кислота конъюгируется с глицином и таурином с образованием конъюгированных желчных кислот, гликохолевой кислоты и таурохолевой кислоты, соответственно.

Аналогичным образом, агонисты FXR по настоящему изобретению образуют конъюгаты с аминокислотами, например, с участием природной желчной кислоты, хенодзоксихоловой кислоты и полусинтетической алкилированной желчной кислоты, обетихоловой кислоты. Такие соединения на основе конъюгатов с аминокислотами предпочтительно должны обладать дополнительным преимуществом, заключающимся в том, что они демонстрируют повышенную стабильность в желчи или кишечном соке. Любые подходящие аминокислоты предпочтительно включают глицин и таурин, однако какие-либо особые ограничения в данном отношении отсутствуют. Более конкретно, обетихоловая кислота может применяться в форме конъюгата с аминокислотой, при этом указанный конъюгат с аминокислотой включает конъюгаты с глицином и таурином.

"Терапевтическое средство для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH)" по настоящему изобретению представляет собой средство для лечения и/или предупреждения у пациентов, у которых диагностирован NASH, или с подозрением на наличие NASH. В соответствии со стандартами, такими как Практическое руководство по NASH/NAFLD Японского общества гепатологии, неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD) представляет собой понятие более высокого уровня, которое включает NASH, при этом NAFLD представляет собой патологию, определяемую по присутствию стеатоза печени,

диагностированного гистологически или с помощью визуализации, за исключением других заболеваний печени, таких как алкогольное повреждение печени. Стеатоз печени является общим термином, обозначающим заболевания, включающие повреждение печени, вызванное отложением нейтральных жиров (TG) в гепатоцитах. Поскольку во многих случаях NAFLD является следствием таких нарушений, как ожирение, диабет, дислипидемия и гипертензия, то их лечат как поражения печени, ассоциированные с метаболическим синдромом. Гистологически NAFLD основан на крупнокапельном стеатозе печени, и данное заболевание подразделяется на две группы - неалкогольная жировая болезнь печени (NAFL) и NASH. При NAFL, также называемом простым жировым перерождением печени, прогноз считается благоприятным, при этом прогрессирование фактически отсутствует. NASH характеризуется накоплением жира, воспалением и повреждением клеток печени (баллонированием), а также возрастающей тяжестью, при этом NASH сопровождается прогрессирующим фиброзом печени. Считается, что прогноз при NASH зависит от того, насколько далеко зашло прогрессирование фиброза печени, и в случаях плохого прогноза заболевание может прогрессировать в цирроз печени и гепатоцеллюлярный рак.

"Средство для лечения NASH" по настоящему изобретению способно предупреждать и/или лечить NAFLD, а также предупреждать прогрессирование из NAFL в NASH.

"Средство для ингибирования фиброза печени" по настоящему описанию представляет собой средство для предупреждения, ингибирования и/или уменьшения фиброза печени. В контексте настоящего изобретения термин "фиброгенез" включает патологическое состояние фиброза и переход в него, а также его появление, прогрессирование и ухудшение. "Фиброз" относится к состояниям, включающим накопление избыточной фиброзной ткани в тканях или органах (такой как рубцовая ткань). Такая рубцовая ткань может появляться в результате таких факторов, как заболевание, травма или химическая токсичность, или как ответ на инфекцию, воспаление или повреждение органов. Фиброз может возникать в целом ряде тканей и органов (таких как печень, почки, кишечник, легкие и сердце).

В контексте настоящего изобретения термин "фиброз печени" относится к фиброзной ткани, появляющейся в печени, и включает патологическое состояние фиброза и переход в него, а также его появление, прогрессирование и ухудшение.

Кроме того, настоящее изобретение особым образом не ограничивается различными стадиями фиброза печени, а относится ко всем типам заболевания печени, включая гепатит В; гепатит С; паразитарное заболевание печени; посттрансплантационные бактериальные инфекции, посттрансплантационные вирусные инфекции или посттрансплантационные грибковые инфекции; алкогольную болезнь печени (ALD); неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), включая неалкогольный стеатогепатит (NASH);

метотрексат-индуцированное заболевание печени, изониазид-индуцированное заболевание печени, оксифенистатин-индуцированное заболевание печени, метилдопа-индуцированное заболевание печени, хлорпромазин-индуцированное заболевание печени, толбутамид-индуцированное заболевание печени или амиодарон-индуцированное заболевание печени; аутоиммунный гепатит; саркоидоз; болезнь Вильсона; гемохроматоз; болезнь Гоше; болезнь накопления гликогена III типа, болезнь накопления гликогена IV типа, болезнь накопления гликогена VI типа, болезнь накопления гликогена IX типа или болезнь накопления гликогена X типа; дефицит α -1 антитрипсина; синдром Целвегера; тирозинемия; левулоземию; галактоземию; ангиопатию, обусловленную синдромом Бадда-Киари, ангиопатию, обусловленную веноокклюзионной болезнью, или ангиопатию, обусловленную тромбозом воротной вены; или врожденный фиброз печени, и можно надеяться, что настоящее изобретение будет эффективным в лечении фиброза печени при всех этих заболеваниях.

Настоящее изобретение предпочтительно может быть применено при фиброзе печени, ассоциированном с алкогольной болезнью печени (ALD) или неалкогольной жировой болезнью печени (NAFLD) (включая неалкогольный стеатогепатит (NASH)), более предпочтительно при фиброзе печени, ассоциированном с NAFLD (включая NASH), и особенно предпочтительно при фиброзе печени, ассоциированном с NASH.

Кроме того, настоящее изобретение может демонстрировать исключительный терапевтический эффект у пациентов с вторичным NASH при нарушениях обмена веществ, таких как ожирение и сахарный диабет 2 типа (T2DM). В частности, настоящее изобретение подходит для применения в лечении NASH, вызванного метаболическими заболеваниями. Оно также подходит для применения в лечении NASH, сопровождающегося гипертензией.

Термин "лечение" включает все виды лечения, связанные с заболеванием и его симптомами (такие как положительная динамика, уменьшение и ингибирование прогрессирования). Оно также может предусматривать предупреждение симптомов и/или прогрессирования заболевания. Кроме того, термины "лечение" или "осуществление лечения" включают любые эффекты, которые приводят к положительной динамике при любом болезненном состоянии (таком как снижение, уменьшение, ингибирование прогрессирования, уменьшение, предупреждение, регуляция или устранение заболевания). Например, термины "лечение" или "осуществление лечения" болезненного состояния включают предупреждение болезненного состояния, в частности, прекращение прогрессирования болезненного состояния или его клинических симптомов или уменьшение болезненного состояния, в частности, временного или посто-

янного или частичного или полного, и устранение болезненного состояния или его клинических симптомов.

В контексте настоящего изобретения термин "лечение" относится к лечению и/или предупреждению NASH у пациента, такого как млекопитающее или, в частности, человек, и к предупреждению, ингибированию и/или уменьшению фиброза печени. Например, лечение NASH включает предупреждение появления NASH, ингибирование прогрессирования NASH, лечение NASH, ингибирование рецидива после лечения NASH и т. д. Оно также включает предупреждение и/или лечение NAFLD и предупреждение прогрессирования из NAFL в NASH.

"Пациент" относится к человеку и другим животным, таким как собаки, кошки и мыши. Предпочтительными являются млекопитающие, а среди них особенно предпочтительным является человек.

Термин "терапевтически эффективная доза" относится к дозе лекарственного средства или фармацевтического средства, которая вызывает в ткани, системе животного или человека биологический или фармацевтический ответ, на который надеется исследователь или врач. Кроме того, в случае введения млекопитающему для лечения заболевания, "терапевтически эффективная доза" относится к дозе лекарственного средства (агониста FXR, ARB и т. д.), достаточной для лечения заболевания. "Терапевтически эффективная доза" будет варьировать в зависимости от лекарственного средства, заболевания и его тяжести и, в случае млекопитающего, - от его возраста, массы тела и т.д.

Кроме того, термин "эффективная доза" также относится к дозе лекарственного средства (агониста FXR, ARB и т.д.), которая приводит к острому или хроническому терапевтическому эффекту при введении точной дозы. Примеры такого терапевтического эффекта включают предупреждение, коррекцию, блокировку или обратное развитие в выявляемой степени признаков, симптомов и лежащей в основе патологии заболевания/патологического состояния (такого как фиброз печени), а также осложнений, связанных с ними.

Примерами такой эффективной дозы являются доза агониста FXR или ARB по настоящему изобретению в виде монотерапии, доза комбинации агониста FXR и ARB по настоящему изобретению и/или доза комбинированного фармацевтического средства по настоящему изобретению вместе с другим терапевтическим средством для NASH.

В настоящем изобретении отсутствуют особые ограничения в отношении соотношения комбинации агониста FXR или его фармацевтически приемлемой соли и ARB или его фармацевтически приемлемой соли, и данное соотношение может быть выбрано как подходящее, чтобы достигался требуемый эффект предупреждения и/или лечения NASH. Отсутствуют какие-либо особые ограничения в отношении данного соотношения в комбинации, и оно может быть выбрано как подходящее, например, в диапазонах 1:100 - 100:1, 1:10 - 10:1 или 1:3 - 3:1.

В комбинации агониста FXR или его фармацевтически приемлемой соли и ARB или его фармацевтически приемлемой соли по настоящему изобретению два средства могут вводиться отдельно или они могут вводиться вместе в качестве единой лекарственной формы. Кроме того, один из компонентов комбинации по настоящему изобретению может вводиться перед другим компонентом, одновременно с ним или после него. Компоненты можно получать в качестве фармацевтических составов в виде единой лекарственной формы или отдельных лекарственных форм.

Отсутствуют какие-либо особые ограничения в отношении вариантов осуществления комбинации агониста FXR или его фармацевтически приемлемой соли и ARB или его фармацевтически приемлемой соли по настоящему изобретению, и варианты осуществления (I) и (II) ниже могут быть упомянуты в качестве примеров:

(I) вариант осуществления, содержащий два компонента агонист FXR или его фармацевтически приемлемую соль и ARB или его фармацевтически приемлемую соль (единая композиция фармацевтических средств, смешанный состав), в качестве одного состава; и

(II) вариант осуществления, содержащий агонист FXR или его фармацевтически приемлемую соль (фармацевтическую композицию) и ARB или его фармацевтически приемлемую соль (фармацевтическую композицию) в качестве отдельных составов.

В случае варианта осуществления (II) выше, составы могут вводиться одновременно или отдельно через надлежащие временные интервалы, и чтобы достичь требуемого эффекта предупреждения и/или лечения NASH может применяться подходящий режим введения. Кроме того, в случае варианта осуществления (II) выше, два состава могут предоставляться в качестве набора, содержащего указанные составы, скомбинированные в одной упаковке.

Отсутствуют какие-либо особые ограничения в отношении путей введения по настоящему изобретению, при этом примеры включают пероральное, сублингвальное, буккальное, парентеральное (такое как подкожное, внутримышечное или внутривенное), ректальное, местное и интраназальное введение. Пероральное или парентеральное введение является предпочтительным, при этом пероральное введение является особенно предпочтительным. В случае варианта осуществления (II) выше, один из составов может вводиться перорально, а другой парентерально.

Примеры форм для перорального введения включают таблетки, капсулы, гранулы, порошки и сиропы. Примеры форм для парентерального введения включают инъекционные составы, суппозитории,

ингаляционные препараты, препараты для чрескожного всасывания, препараты для местного нанесения на кожу, глазные капли и капли в нос.

Активные ингредиенты по настоящему изобретению могут состояться либо по отдельности, либо вместе в препарат, содержащий обычный нетоксичный фармацевтически приемлемый носитель, вспомогательное вещество или среду-носитель, подходящие для рассматриваемого пути введения. Среди этих форм введения предпочтительными являются формы для перорального введения, при этом таблетки, капсулы, гранулы, порошки и сиропы являются особенно предпочтительными. Вышеупомянутые формы для перорального и парентерального введения можно получать с применением общеизвестных добавок для составления, например на основании способов, указанных в стандартах, таких как Общие правила по получению препаратов из 16-й редакции Японской фармакопеи.

Фармацевтическое средство по настоящему изобретению может дополнительно содержать фармацевтически приемлемые носители, наполнители, связующие, стабилизаторы и другие компоненты. Например, если фармацевтическая лекарственная форма по настоящему изобретению представляет собой препарат для инъекции, то могут быть добавлены приемлемые буферы, солюбилизирующие средства, средства изотоничности и средства, регулирующие pH. Фармацевтически приемлемые компоненты известны специалисту в данной области, и при необходимости они могут быть выбраны в рамках реализации специалистом в данной области техники из компонентов, указанных например в других письменных стандартах из 16-й редакции Японской фармакопеи.

Отсутствуют какие-либо особые ограничения в отношении дозировки в комбинации активных ингредиентов по настоящему изобретению (агониста FXR или его фармацевтически приемлемой соли и ARB или его фармацевтически приемлемой соли), и при необходимости она может быть увеличена или уменьшена, в зависимости от различных условий, таких как возраст пациента, масса тела, симптомы, а также формы и частоты введения. Кроме того, дозировка одного из компонентов комбинации по настоящему изобретению, при необходимости, может быть увеличена или уменьшена независимо от другого компонента.

Кроме того, вследствие усиления терапевтического эффекта при введении комбинированного или смешанного препарата из комбинации активных ингредиентов по настоящему изобретению (в качестве двух фармацевтических средств, агониста FXR или его фармацевтически приемлемой соли и ARB или его фармацевтически приемлемой соли), становится возможным уменьшение дозировки (или вводимой дозировки) до более низкого значения, чем применялась бы при индивидуальном введении компонентов, и в результате этого можно надеяться на ослабление побочных эффектов указанных компонентов. Например, агонисты FXR (такие как обетихоловая кислота) приводят к побочным эффектам, таким как зуд, и за счет введения комбинации обетихоловой кислоты и ARB по настоящему изобретению в комбинированном или смешанном препарате, например, становится возможным применять дозу, которая является более низкой, чем доза, требуемая при монотерапии, таким образом, обеспечивается возможность снижения частоты возникновения и/или тяжести побочного эффекта в виде зуда.

Агонист FXR или его фармацевтически приемлемая соль могут применяться при суточной дозе, составляющей 0,1 мг - 1 г и предпочтительно 1-500 мг. Например, если агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, то лекарственное средство применяется у взрослых при суточной дозе свободного лекарственного средства, составляющей 0,1 мг - 1 г, предпочтительно 1-500 мг, более предпочтительно 2-100 мг и особенно предпочтительно 5-50 мг, при этом предпочтительным является введение 1 мг, 2 мг, 2,5 мг, 5 мг, 10 мг, 12,5 мг, 20 мг, 25 мг, 40 мг, 50 мг или 100 мг.

Кроме того, например, если антагонист FXR представляет собой INT-7 67, то лекарственное средство применяется у взрослых при суточной дозе свободного лекарственного средства, составляющей 0,1 мг - 1 г, предпочтительно 1-500 мг, более предпочтительно 2-100 мг и особенно предпочтительно 5-50 мг, при этом предпочтительным является введение 1 мг, 2 мг, 2,5 мг, 5 мг, 10 мг, 12,5 мг, 20 мг, 25 мг, 40 мг, 50 мг или 100 мг.

ARB или его фармацевтически приемлемая соль могут применяться при суточной дозе, составляющей 0,1-200 мг и предпочтительно 1-100 мг. Например, если ARB представляет собой лозартан или, более конкретно, лозартана калий, то лекарственное средство применяется у взрослых при суточной дозе, составляющей 1-100 мг, предпочтительно 2-100 мг, более предпочтительно 5-100 мг и особенно предпочтительно 10-50 мг, при этом предпочтительным является введение 1 мг, 2 мг, 2,5 мг, 5 мг, 10 мг, 12,5 мг, 20 мг, 25 мг, 40 мг, 50 мг или 100 мг.

Кроме того, например, если ARB представляет собой ирбесартан, то лекарственное средство применяется у взрослых при суточной дозе, составляющей 1-200 мг, предпочтительно 2-200 мг, более предпочтительно 5-200 мг и особенно предпочтительно 10-100 мг, при этом предпочтительным является введение 1 мг, 2 мг, 2,5 мг, 5 мг, 10 мг, 12,5 мг, 20 мг, 25 мг, 40 мг, 50 мг, 100 мг или 200 мг.

Кроме того, например, если ARB представляет собой олмесартан или, более конкретно, олмесартана медоксомил, то лекарственное средство применяется у взрослых при суточной дозе, составляющей 1-40 мг, предпочтительно 2-40 мг, более предпочтительно 5-40 мг и особенно предпочтительно 10-20 мг, при этом предпочтительным является введение 1 мг, 2 мг, 2,5 мг, 5 мг, 10 мг, 12,5 мг, 20 мг, 25 мг или 40 мг.

Кроме того, например, если ARB представляет собой телмисартан, то лекарственное средство применяется у взрослых при суточной дозе, составляющей 1-80 мг, предпочтительно 2-80 мг, более предпочтительно 5-80 мг и особенно предпочтительно 10-40 мг, при этом предпочтительным является введение 1 мг, 2 мг, 2,5 мг, 5 мг, 10 мг, 12,5 мг, 20 мг, 25 мг, 40 мг, 50 мг или 80 мг.

Кроме того, например, если ARB представляет собой кандесартан или, более конкретно, кандесартана цилексетил, то лекарственное средство применяется у взрослых при суточной дозе, составляющей 0,2-12 мг, предпочтительно 0,5-12 мг, более предпочтительно 1-12 мг и особенно предпочтительно 2-8 мг, при этом предпочтительным является введение 0,2 мг, 0,5 мг, 1 мг, 2 мг, 2,5 мг, 4 мг, 5 мг, 8 мг, 10 мг или 12 мг.

Кроме того, например, если ARB представляет собой валсартан, то лекарственное средство применяется у взрослых при суточной дозе, составляющей 1-160 мг, предпочтительно 2-160 мг, более предпочтительно 5-160 мг и особенно предпочтительно 10-80 мг, при этом предпочтительным является введение 1 мг, 2 мг, 2,5 мг, 5 мг, 10 мг, 12,5 мг, 20 мг, 25 мг, 40 мг, 50 мг, 80 мг или 160 мг.

Кроме того, например, если ARB представляет собой азилсартан, то лекарственное средство применяется у взрослых при суточной дозе, составляющей 1-40 мг, предпочтительно 2-40 мг, более предпочтительно 5-40 мг и особенно предпочтительно 10-20 мг, при этом предпочтительным является введение 1 мг, 2 мг, 2,5 мг, 5 мг, 10 мг, 12,5 мг, 20 мг, 25 мг или 40 мг.

Что касается интервала между введениями, то вышеупомянутые дозировки могут вводиться один раз в сутки или в виде разделенных доз от 2 до нескольких раз в сутки.

Отсутствуют какие-либо особые ограничения в отношении препарата из этих активных ингредиентов в едином составе и, например, они могут смешиваться при соотношении, составляющем 0,01-100 частей по весу, предпочтительно 0,1-10 ч. по весу и более предпочтительно 0,3-3 ч. по весу ARB или его фармацевтически приемлемой соли на 1 часть по весу агониста FXR или его фармацевтически приемлемой соли. Также отсутствуют особые ограничения в отношении единых составов и, например, общее количество активных ингредиентов может составлять 0,1-70% по весу фармацевтической композиции.

Рабочие примеры

Далее представлено более детальное описание настоящего изобретения, выполненное посредством рабочих примеров, однако объем настоящего изобретения ни в коем случае не ограничивается этими примерами.

Рабочий пример 1. Способ.

Крысам линии Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF), использующимся в качестве крысиной модели NASH, которые известны как модель встречающегося в природе диабета II типа с ожирением, вводили свиную сыворотку (PS) для того, чтобы экспериментальным путем вызвать фиброз печени, и исследовали терапевтические эффекты дистиллированной воды (группа введения носителя), обетихоловой кислоты (агонист FXR) и лозартана (ARB) (группы введения, группа комбинированного введения) в соответствии со следующим способом.

Используемые животные.

Самцы крыс OLETF (n=40) и крыс Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) (n=10; группа отрицательного контроля без диабета)

Используемые лекарственные средства.

Обетихоловая кислота (полученная от Intercept Pharmaceuticals, Inc. через посредничество Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.) использовалась в качестве агониста FXR, и коммерческий лозартан (калиевая соль лозартана; в данном рабочем примере называемая просто "лозартан") использовался в качестве ARB.

Вводимая доза, период введения.

Обетихоловая кислота (30 мг/кг/день) и/или лозартан (30 мг/кг/день) доставлялась/доставлялись путем принудительного перорального введения; во всех случаях период введения составлял 8 недель.

Способ проведения эксперимента.

12-недельных крыс линии OLETF случайным образом разделяли на 4 группы (G2, G3, G4, G5) (для каждой группы n=10), которым осуществляли внутрибрюшинное введение 1,0 мл/кг свиной сыворотки (PS) дважды в неделю в течение 8 недель. В качестве группы G1 использовали 12-недельных крыс линии LETO (n=10), и вводили им PS аналогичным образом. В тот же день, когда было начато введение PS, крысам групп G3 и G4 начинали, соответственно, вводить обетихоловую кислоту (30 мг/кг/день) и лозартан (30 мг/кг/день) ежедневно в течение 8 недель путем принудительного непрерывного перорального введения. Аналогичным образом, крысам группы G5 ежедневно осуществляли комбинированное введение обетихоловой кислоты (30 мг/кг/день) и лозартана (30 мг/кг/день) в течение 8 недель. Крысам группы G1 (LETO) и группы G2 (OLETF) вместо лекарственных средств вводили дистиллированную воду в качестве носителя, и использовали их соответственно в качестве группы отрицательного и положительного контроля (для которых применялся тот же способ введения, что и для групп введения лекарственных средств).

Гистологический анализ.

Для того, чтобы оценить прогрессирование фиброза печени у крыс, которые завершили вышеука-

занные тесты, отбирали срезы печени (толщиной 5 мкм), которые фиксировали в формалине, парафинировали и окрашивали с помощью красителя сириус красный. Для окрашенных срезов делали и собирали микроснимки (для всех крыс микроскопические изображения собирали в сумме из 10 полей на образец) и сравнивали микроснимки разных групп. Для того, чтобы количественно оценить прогрессирование фиброза в разных группах, проводили полуколичественный анализ гистологических характеристик собранных изображений окрашенных образцов с использованием программного обеспечения ImageJ от NIH (Национальные институты здравоохранения). (Результаты)

Результаты введения лекарственного средства в крысиной модели NASH показаны на фиг. 1 и 2.

На фиг. 1 показаны соответствующие примеры микроснимков срезов печени разных групп, окрашенных красителем сириус красный. Сравнение группы отрицательного контроля (G1) и группы положительного контроля (G2) показало, что введение PS не вызывало прогрессирования фиброза печени у крыс линии LETO (G1), и заметный прогресс фиброза печени наблюдался только у крыс линии OLETF (G2). Более того, в группе, которую подвергали монотерапии обетихоловой кислотой (G3), и в группе, которую подвергали монотерапии лозартаном (G4), наблюдали умеренное ингибирование фиброза, хотя можно было бы ожидать, что эти группы будут демонстрировать такой же прогресс, как и группы положительного контроля (G2), которым вводили только носитель, и неожиданно то, что группа, которая подвергалась комбинированному введению обетихоловой кислоты и лозартана (G5), продемонстрировала полное ингибирование фиброза печени до уровня, аналогичного таковому у группы отрицательного контроля (G1). Данный эффект был чрезвычайно выражен в группе, подвергавшейся комбинированному введению (G5), по сравнению с соответствующими группами, подвергавшимися монотерапии (G3, G4), и это, можно сказать, представляет собой непредвиденный синергический эффект.

На фиг. 2 показаны результаты полуколичественного анализа гистологических характеристик прогрессирования фиброза в разных группах. Индекс фиброза (FI), показанный на вертикальной оси фигуры, представляет собой индекс средней площади фиброзных участков, который рассчитывали путем компьютерного анализа изображений окрашенных срезов печени, которые отбирали и собирали у крыс в разных группах. Данный результат количественно согласуется с результатами определения гистологических характеристик, которые можно увидеть на микроснимках на фиг. 1.

Значения FI показали наличие статистически значимого различия между разными группами ($p < 0,01$; t-критерий Стьюдента). Для группы положительного контроля (G2) показаны крайне высокие значения FI, которые были приблизительно в 20 раз выше, чем в группе отрицательного контроля (G1). Для групп, подвергавшихся монотерапии обетихоловой кислотой (G3) и лозартаном (G4), показано умеренное, но существенное снижение, составившее соответственно приблизительно 6/10 и 7/10 от уровней группы положительного контроля. Более того, значения в группе, которая подвергалась комбинированному введению обетихоловой кислоты и лозартана (G5), составляли приблизительно 1/20 от уровня группы положительного контроля, при этом было показано существенное и заметное снижение значений FI до того же уровня, что и в группе отрицательного контроля (G1). Данный результат показывает количественно и статистически значимым образом, что комбинированное введение полностью ингибирует фиброз печени, демонстрируя сильно выраженный синергический эффект по сравнению с монотерапией с помощью соответствующих лекарственных средств.

Рабочий пример 2.

С использованием срезов печени крыс из разных групп, полученных в рабочем примере 1, осуществляли иммуногистохимическое исследование путем иммуногистологического окрашивания с помощью антитела к α -актину гладких мышц (α -SMA) и количественный анализ экспрессии mRNA трансформирующего фактора роста- β 1 (TGF- β 1) и коллагена (α 1(I) проколлагена). Известно, что α -SMA является индикатором (маркером) активации жиронакапливающих клеток печени (HSC) (также известных как звездчатые клетки печени). Более того, считается, что активация жиронакапливающих клеток печени (HSC), повышенная выработка TGF- β 1 (фиброз-стимулирующий цитокин), которыми сопровождается упомянутая активация, и повышенная выработка компонентов внеклеточного матрикса, таких как коллаген, выполняет центральную роль в механизме прогрессирующего фиброза печени при NASH. По этой причине экспрессию mRNA TGF- β 1 и коллагена (α 1(I) проколлагена) можно использовать в качестве индикатора (маркера) фиброза.

(1) Иммуногистохимическое исследование путем иммуногистологического окрашивания с помощью антитела к α -SMA.

Способ.

С применением способа, аналогичного описанному под заголовком "Гистологический анализ" для рабочего примера 1 выше, за исключением того, что вместо окрашивания красителем сириус красный применяли иммуногистологическое окрашивание с помощью антитела к α -SMA, осуществляли сравнение микрофотографий между различными группами и полуколичественный анализ иммуногистохимических характеристик собранных изображений окрашенных срезов, и оценивали блокирующий эффект обетихоловой кислоты и лозартана (группы введения, группа комбинированного введения) в отношении активации HSC при прогрессировании фиброза печени.

Результаты.

Результаты показаны на фиг. 3 и фиг. 4.

На фиг. 3 показаны иллюстративные примеры микроснимков иммуногистологически окрашенных с помощью α -SMA срезов, полученных в разных группах. Как и в случае результатов гистологического анализа из рабочего примера 1 (т.е. ингибирование фиброза печени), сравнение группы отрицательного контроля (G1) и группы положительного контроля (G2) продемонстрировало, что в то время как в случае крыс LETO (G1) активированные HSC (активированные жиронакапливающие клетки печени, Ас-HSC) практически не наблюдались, в случае крыс OLETF (G2) наблюдалось заметное повышение содержания Ас-HSC. Более того, повышение содержания Ас-HSC умеренно ингибировалось под воздействием монотерапии обетихоловой кислотой (G3) и лозартаном (G4), а в случае группы, которой вводили комбинацию обетихоловой кислоты и лозартана (G5), продемонстрировано полное ингибирование до того же уровня, что и в группе отрицательного контроля (G1) (т.е. активация HSC была практически полностью заблокирована).

На фиг. 4 показано результаты полуколичественного анализа иммуногистохимических характеристик разных групп. Индекс α -SMA (α -SI), показанный на вертикальной оси фигуры, представляет собой индекс средней площади участков, окрашенных с помощью α -SMA, который рассчитывали путем компьютерного анализа изображений окрашенных срезов печени, которые отбирали и собирали у крыс в разных группах. Данный результат количественно согласуется с результатами определения иммуногистохимических характеристик, которые можно увидеть на микроснимках на фиг. 3.

Значения α -SI продемонстрировали наличие статистически значимого различия между разными группами ($p < 0,01$; t-критерий Стьюдента). Группа положительного контроля (G2) продемонстрировала крайне высокие значения α -SI по сравнению с группой отрицательного контроля (G1). Группы, подвергавшиеся монотерапии обетихоловой кислотой (G3) и лозартаном (G4), продемонстрировали умеренное, но существенное снижение по сравнению с группой положительного контроля. Более того, группа, которая подвергалась комбинированному введению обетихоловой кислоты и лозартана (G5), продемонстрировала существенное и выраженное снижение значений α -SI до уровня, аналогичного таковому у группы отрицательного контроля (G1). Данный результат, как и результат гистологического анализа из рабочего примера 1 (т.е. ингибирование фиброза печени), показывает количественно и статистически значимым образом, что комбинированное введение полностью ингибирует повышение содержания Ас-HSC, проявляя сильно выраженный синергический эффект по сравнению с монотерапией соответствующими лекарственными средствами.

(2) Количественный анализ экспрессии mRNA TGF- β 1 и коллагена.

Способ.

Сравнительное исследование осуществляли путем анализирования экспрессии mRNA TGF- β 1 и коллагена (α 1(I) проколлагена) в печени крыс разных групп из рабочего примера 1 с помощью количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR). Количественное определение уровней экспрессии mRNA с помощью RT-PCR осуществляли на системе StepOne Plus™ (производства Applied Biosystems®) с использованием флуоресцирующего красителя SYBR® Green.

Результаты.

Результаты показаны на фиг. 5. На фиг. 5 показаны результаты осуществленного с помощью RT-PCR количественного определения экспрессии mRNA TGF- β 1 и α 1(I) проколлагена в разных группах. На вертикальной оси на фигуре указан уровень экспрессии mRNA. Как для TGF- β 1, так и для α 1(I) проколлагена продемонстрированы очень высокие уровни экспрессии mRNA в группе положительного контроля (G2) по сравнению с группой отрицательного контроля (G1). Группы, подвергавшиеся монотерапии обетихоловой кислотой (G3) и лозартаном (G4), продемонстрировали умеренное снижение тенденции по сравнению с группой положительного контроля. Более того, в случае группы, которой вводили комбинацию обетихоловой кислоты и лозартана (G5), экспрессия mRNA была существенно и заметно сниженной. Данный результат, как и результат гистологического анализа из рабочего примера 1 (т.е. ингибирование фиброза печени), показывает количественно и статистически значимым образом, что комбинированное введение ингибирует возрастание экспрессии mRNA как TGF- β 1, так и α 1(I) проколлагена, проявляя сильно выраженный синергический эффект по сравнению с монотерапией соответствующими лекарственными средствами.

Более того, с помощью того же способа осуществляли количественное определение экспрессии mRNA Toll-подобного рецептора 4 (TLR4). Как и в случае результатов гистологического анализа из рабочего примера 1 (т.е., ингибирование фиброза печени), комбинированное введение приводило к заметному ингибированию возрастания уровня экспрессии mRNA TLR4 (в настоящем описании данные не представлены). Известно, что TLR4-опосредованные пути внутриклеточной передачи сигнала в печени (передача сигнала LPS-эндотоксина) выполняют важную роль в механизме прогрессирования фиброза печени.

Рабочий пример 3. Способ.

Различные комбинированные эффекты обетихоловой кислоты и трех типов ARB (лозартан, валсар-

тан и кандесартан) подтверждали в экспериментах на клеточных системах *in vitro*. В частности, при использовании жиронакапливающих клеток печени человека (HHSC), которые вовлечены в основной механизм прогрессирования фиброза печени при NASH, эффекты введения обетихоловой кислоты в комбинации с тремя ARB, ингибирующими способность HHSC к пролиферации, и экспрессию маркеров фиброза оценивали в соответствии со следующим способом.

Используемые клетки.

Жиронакапливающие клетки печени человека (HHSC) (также известные как звездчатые клетки печени).

Используемые лекарственные средства.

Обетихоловую кислоту (получена от Intercept Pharmaceuticals, Inc. через посредничество Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.) использовали в качестве агониста FXR, а коммерческий лозартан (калиевая соль лозартана; в данном рабочем примере называемая просто "лозартан"), а также валсартан и кандесартан (сложный циклосексипиловый эфир кандесартана; в данном рабочем примере называемый просто "кандесартан") использовали в качестве ARB.

Используемые реагенты.

Использовали ангиотензин II (AT-II) и/или липополисахарид (LPS) (известно, что главные роли в активации HSC и прогрессировании фиброза печени выполняют как ATI-опосредованная передача сигнала с помощью AT-II, так и TLR4-опосредованная передача сигнала с помощью LPS).

Способ проведения эксперимента.

(1) Исследование ингибирующего эффекта в отношении пролиферации жиронакапливающих клеток печени человека (HHSC).

Непосредственное действие в отношении ингибирования способности HHSC к пролиферации оценивали с помощью количественного анализа пролиферации клеток с использованием реагента WST-1.

1) HHSC наносили на 96-луночный планшет в количестве 3000 клеток/200 мкл и оставляли для пролиферации в 1% растворе FBS в среде DMEM на 24 ч.

2) Через 24 ч клетки разделяли на следующие 7 групп и переносили в культуральную среду после добавления следующих лекарственных средств и/или реагентов. В качестве ARB использовали лозартан.

Группа отрицательного контроля (G1): не добавляли каких-либо лекарственных средств (контроль).

Группа положительного контроля A (G2A): AT-II (10^{-6} M).

Группа положительного контроля L (G2L): LPS (10^{-5} M).

Группа положительного контроля AL (G2AL): AT-II (10^{-6} M)+LPS (10^{-5} M).

Введение обетихоловой кислоты (G3): AT-II (10^{-6} M)+LPS (10^{-5} M) + обетихоловая кислота (5×10^{-6} M).

Введение ARB (G4): AT-II (10^{-6} M)+LPS (10^{-5} M)+ARB (10^{-6} M).

Комбинированное введение обетихоловой кислоты+ARB (G5): AT-II (10^{-6} M)+LPS (10^{-5} M) + обетихоловая кислота (5×10^{-6} M)+ARB (10^{-6} M).

3) После культивирования клеток вышеперечисленных групп (G1, G2A, G2L, G2AL, G3, G4, G5) в течение 24 ч осуществляли соответствующие количественные анализы пролиферации клеток с помощью WST-1 и оценивали ингибирующий эффект фармацевтических средств на пролиферацию клеток.

Ингибирующий эффект валсартана и кандесартана в отношении пролиферации HHSC также оценивали в соответствии со стадиями 1)-3) выше. Оценки проводились в пяти группах G1, G2AL, G3, G4 и G5.

(2) Исследование ингибирующего эффекта в отношении экспрессии генов, которые являются маркерами фиброза.

Что касается эффекта в отношении ингибирования экспрессии генов, которые являются маркерами фиброза, оценку способности продуцировать коллаген и способности продуцировать TGF- β выполняли способом RT-PCR.

1) HHSC наносили на 6-луночный планшет в количестве 300000 клеток/2 мл и оставляли для пролиферации в 1% растворе FBS в среде DMEM на 24 ч.

2) Через 24 ч клетки разделяли на следующие 7 групп и переносили в культуральную среду после добавления следующих лекарственных средств и/или реагентов. В качестве ARB использовали лозартан.

Группа отрицательного контроля (G1): не добавляли каких-либо лекарственных средств (контроль).

Группа положительного контроля A (G2A): AT-II (10^{-6} M).

Группа положительного контроля L (G2L): LPS (10^{-5} M).

Группа положительного контроля AL (G2AL): AT-II (10^{-6} M)+LPS (10^{-5} M).

Введение обетихоловой кислоты (G3): AT-II (10^{-6} M)+LPS (10^{-5} M)+обетихоловая кислота (5×10^{-6} M).

Введение ARB (G4): AT-II (10^{-6} M)+LPS (10^{-5} M)+ARB (10^{-6} M).

Комбинированное введение обетихоловой кислоты+ARB (G5): AT-II (10^{-6} M)+LPS (10^{-5} M) + обетихоловая кислота (5×10^{-6} M)+ARB (10^{-6} M).

3) После культивирования клеток вышеперечисленных групп (G1, G2A, G2L, G2AL, G3, G4, G5) в течение 24 ч из разных групп выделяли mRNA. Из mRNA путем обратной транскрипции получали cДНК и с помощью способа RT-PCR оценивали экспрессию гена, который является маркером фиброза (TGF- β 1).

и $\alpha 1(I)$ проколлаген).

Ингибирующий эффект валсартана и кандесартана в отношении экспрессии гена, который является маркером фиброза, также оценивали в соответствии со стадиями 1)-3) выше. Оценки проводились в пяти группах G1, G2AL, G3, G4 и G5.

Результаты.

Результаты исследования ингибирующего действия в отношении пролиферации жиронакапливающих клеток печени человека (HHSC) показаны на фиг. 6-8, а результаты ингибирующего действия в отношении экспрессии гена, который является маркером фиброза, показаны на фиг. 9-14. Столбики, показанные на фигурах для разных групп, отображают средние значения $\pm$ стандартное отклонение ($n=8$). Звездочки обозначают, что между разными группами продемонстрировано наличие статистически значимого различия (* $P<0,05$, ** $P<0,01$).

На фиг. 6, фиг. 7 и фиг. 8 показано результаты исследования ингибирующего действия в отношении способности HHSC к пролиферации в разных группах при использовании лозартана, валсартана и кандесартана в качестве ARB. На вертикальных осях на фигурах указано поглощение (абсорбция, OD), которая сильно коррелирует с количеством жизнеспособных клеток. Измерение поглощения можно использовать для количественного определения продукта, являющегося формазановым красителем, который образуется метаболически активными клетками при использовании реагента WST-1. Поскольку между содержанием формазана и числом активных клеток в культуральной среде существует линейная положительная корреляция, то становится возможным следить за способностью клеток к пролиферации и жизнеспособностью клеток.

Добавление двух реагентов AT-II и LPS (G2AL) продемонстрировало статистически значимое повышение пролиферации активированных HHSC по сравнению с группами, которые подвергались соответствующей монотерапии (G2A и G2L) (фиг. 6).

Для групп, подвергавшихся монотерапии ARB (лозартан, валсартан или кандесартан) (G4), и групп, подвергавшихся комбинированному введению обетихоловой кислоты и ARB (лозартан, валсартан или кандесартан) (G5), продемонстрировано статистически значимое ингибирование повышения пролиферации активированных HHSC, обусловленного двумя реагентами, AT-II и LPS, по сравнению с группой положительного контроля AL (G2AL) (фиг. 6, фиг. 7 и фиг. 8).

На фиг. 9, фиг. 10 и фиг. 11 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования экспрессии гена TGF- $\beta 1$, который является маркером фиброза, в разных группах, в которых в качестве ARB использовали лозартан, валсартан и кандесартан, а на фиг. 12, фиг. 13 и фиг. 14 показаны результаты исследования эффекта в отношении ингибирования экспрессии гена $\alpha 1(I)$ проколлагена, который является маркером фиброза, в разных группах, в которых в качестве ARB использовали лозартан, валсартан и кандесартан. На вертикальной оси на фигурах указана относительная величина экспрессии mRNA.

Показано, что экспрессия mRNA TGF- $\beta 1$ и $\alpha 1(I)$ -проколлагена (TLR4), индуцированная AT-II и LPS в группе положительного контроля AL (G2AL), подвергалась статистически значимому ингибированию как в группе, которую подвергали монотерапии обетихоловой кислотой, (G3), так и в группе, которую подвергали монотерапии ARB (лозартан, валсартан или кандесартан). Более того, в группе, в которой добавляли одновременно обетихоловую кислоту и ARB (лозартан, валсартан или кандесартан) (G5), наблюдали эффект в отношении ингибирования экспрессии mRNA TGF- $\beta 1$ и $\alpha 1(I)$ -проколлагена, который был достаточно выраженным и статистически значимым по сравнению с группами, подвергавшимися монотерапии (G3, G4).

Представленные выше результаты демонстрируют, что комбинация обетихоловой кислоты и ARB (лозартана, валсартана или кандесартана) характеризуется исключительным профилактическим и терапевтическим эффектом в отношении NASH. В частности, может ожидать выраженный эффект в отношении предупреждения, ингибирования и уменьшения фиброза печени при NASH. Более того, ожидается, что комбинация обетихоловой кислоты и ARB или агониста FXR и ARB также будет характеризоваться исключительным профилактическим и терапевтическим эффектом в отношении NASH.

Рабочий пример 4.

Терапевтический эффект в группе, подвергавшейся введению носителя (дистиллированной воды), группах введения и группах комбинированного введения оценивали с использованием такого же способа, как и в рабочем примере 1, за исключением того, что введение лекарственных средств и т. д. начинали после того, как животным вводили свиную сыворотку (PS), и при этом предусматривалось прогрессирование фиброза печени в течение установленного периода (такого как 4 недели).

При патологиях с более тяжелым прогрессированием фиброза, как и в рабочем примере 1, ожидается исключительный эффект в отношении предотвращения и лечения NASH.

Рабочий пример 5.

Терапевтический эффект в группе, подвергавшейся введению носителя (дистиллированной воды), группах введения и группах комбинированного введения оценивали с использованием такого же способа, как и в рабочем примере 1, за исключением того, что в качестве животных-моделей NASH вместо

крыс линии OLETF использовали крыс на холин-дефицитной, определенной 1-аминокислотой диете (CDAА), а вместо крыс линии LETO использовали крыс на холинбогатой, определенной 1-аминокислотой диете (CSAA) в качестве группы отрицательного контроля.

В других моделях NASH так же, как было и в случае рабочего примера 1, ожидается исключительный эффект в отношении предотвращения и лечения NASH.

Рабочий пример 6. Способ.

Оценку терапевтического эффекта 0,5% раствора карбоксиметилцеллюлозы (СМС) (группа, подвергавшаяся введению носителя), и обетихоловой кислоты (агонист FXR), и лозартана (ARB) (группа введения, группа комбинированного введения), с использованием в качестве мышинной модели NASH мышей на метионин-холин-дефицитной диете (MCD), осуществляли с помощью следующего способа.

Используемые животные.

Мыши-самцы линии C57B1/6J (n = 50-70).

Используемые лекарственные средства.

Обетихоловая кислота (полученная от Intercept Pharmaceuticals, Inc. через посредничество Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.) использовалась в качестве агониста FXR, и коммерческий лозартан (калиевая соль лозартана; в данном рабочем примере называемая просто "лозартан") использовалась в качестве ARB.

Вводимая доза, период введения.

Обетихоловая кислота (3-30 мг/кг/день) и/или лозартан (0,1-30 мг/кг/день) доставлялась(-ись) путем принудительного перорального введения; во всех случаях период введения составлял от 1 до 6 недель.

Способ проведения эксперимента.

6-12-недельных мышей линии C57B1/6J в течение 0-5 недель кормили с использованием диеты MCD, после чего случайным образом разделяли на 4 группы (G2, G3, G4, G5) (для каждой группы n=10). Аналогичным образом, 6-12-недельных мышей линии C57B1/6J (n=10) кормили обычным кормом и использовали в качестве группы G1. Начиная с дня начала диеты MCD или через 3-5 недель после этого, группам мышей G3 и G4 вводили соответственно обетихоловую кислоту (3-30 мг/кг/день) и лозартан (0,1-30 мг/кг/день) ежедневно в течение 1-3 недель путем принудительного непрерывного перорального введения. Аналогичным образом, мышам группы G5 ежедневно осуществляли комбинированное введение обетихоловой кислоты (3-30 мг/кг/день) и лозартана (0,1-30 мг/кг/день) в течение 1-6 недель. Мышам в группе G1 (группа обычного кормления) и в группе G2 (группа MCD) вместо лекарственных средств вводили 0,5% раствор СМС в качестве носителя, и использовали их соответственно в качестве группы отрицательного контроля и группы положительного контроля (использовали тот же способ введения, что и в группах, которым вводили лекарственные средства).

Гистологический анализ.

Для того, чтобы оценить прогрессирование фиброза печени у мышей, которые завершили вышеуказанные тесты, отбирали срезы печени (толщиной 5 мкм), которые фиксировали в формалине, парафинировали и окрашивали с помощью красителя сириус красный. Для окрашенных срезов получали и собирали микроснимки (для всех мышей, причем микроскопические изображения собирали из нескольких полей на образце), и сравнивали микроснимки разных групп. Для того, чтобы количественно оценить прогрессирование фиброза в разных группах, осуществляли полуколичественный анализ гистологических характеристик собранных изображений окрашенных образцов с использованием программного обеспечения для анализа. Более того, образцы печени (толщиной 5 мкм) окрашивали с помощью масляного красного О, аналогичным образом получали микроснимки окрашенных срезов, и собирали, и сравнивали изображения между группами. Для того, чтобы количественно оценить прогрессирование дегенерации жировой ткани в разных группах, осуществляли полуколичественный анализ гистологических характеристик собранных изображений окрашенных образцов с использованием программного обеспечения для анализа. В качестве альтернативы, факторы фиброза измеряли по выделенной из печени mRNA с использованием способа полуколичественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR).

В других моделях NASH так же, как было и в случае рабочих примеров 1, 4 и 5, ожидается исключительный эффект в отношении предотвращения и лечения NASH.

Рабочий пример 7.

Принятым диагностическим критерием патологии в отношении NASH является "наблюдение баллонирования клеток печени, сопровождающегося воспалением, в дополнение к крупнокапельному стеатозу печени." Matteoni et al. проводил исследование, состоящее в долгосрочном наблюдении за пациентами с NAFLD, распределяя это заболевание на основании полученных данных о патологии на 4 типа (тип 1: только жировая печень, тип 2: накопление жира плюс инфильтрация воспалительными клетками, тип 3: накопление жира плюс баллонизирующая дистрофия гепатоцитов, тип 4: накопление жира/баллонизирующая дистрофия гепатоцитов плюс тельца Мэллори-Денка или фиброз). Их результаты продемонстрировали, что прогрессирование цирроза печени и смертность, связанная с заболеваниями печени, существенно более часто встречались у пациентов с типами 3 и 4 по сравнению с типами 1 и 2, что указывает на то, что классификация патологии имеет большое клиническое значение. Для того, чтобы сократить различия между отдельными наблюдателями и учреждениями, система клинических иссле-

дований неалкогольного стеатогепатита предложила бальную систему патодиагностики, в которой оценивается уровень жировой дегенерации, воспаления и баллонирования гепатоцитов (NAS: оценка активности NAFLD в баллах) (Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ: Non-alcoholic fatty liver disease: A spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*, 116; 1413-1419, 1999). Патодиагностические стандарты, составляющие баллы оценки NASH, оценивали с использованием следующей животной модели, и при этом изучали эффекты агониста FXR (обетихоловая кислота) и ARB (лозартан), как по отдельности, так и в комбинации.

Способ.

Оценку терапевтического эффекта 0,5% раствора метилцеллюлозы (MC) (группа, подвергавшаяся введению носителя), и обетихоловой кислоты (агонист FXR), и лозартана (ARB) (группа введения, группа комбинированного введения), с использованием в качестве мышинной модели NASH мышей на холин-дефицитной, определяемой аминокислотами диете с высоким содержанием жиров (CDAHFD) со сниженным содержанием метионина, осуществляли с помощью следующего способа.

Используемые животные.

Мыши-самцы линии C57B1/6J (n=49).

Используемые лекарственные средства.

Обетихоловая кислота (полученная от Intercept Pharmaceuticals, Inc. через посредничество Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.) использовалась в качестве агониста FXR, и коммерческий лозартан (калиевая соль лозартана; в данном рабочем примере называемая просто "лозартан") использовалась в качестве ARB.

Вводимая доза, период введения.

Обетихоловая кислота (30 мг/кг/день) и/или лозартан (30 мг/кг/день) доставлялась(-ись) путем принудительного перорального введения; весь период введения составлял 3 недели.

Способ проведения эксперимента.

6-недельных мышей линии C57B1/6J в течение от 0 до 2,5 недель кормили с использованием диеты CDAHFD, после чего случайным образом разделяли на 4 группы (G2, G3, G4, G5) (для каждой группы n=10). Аналогичным образом, 6-недельных мышей линии C57B1/6J (n=13) кормили обычным кормом и использовали в качестве группы G1. Через 2,5 недели после начала CDAHFD, мышам групп G3 и G4 начинали вводить соответственно обетихоловую кислоту (30 мг/кг/день) и лозартан (30 мг/кг/день) ежедневно в течение 3 недель путем принудительного непрерывного перорального введения. Аналогичным образом, мышам группы G5 ежедневно осуществляли комбинированное введение обетихоловой кислоты (30 мг/кг/день) и лозартана (30 мг/кг/день) в течение 3 недель. Мышам в группе G1 (группа обычного кормления) и в группе G2 (группа CDAHFD) вместо лекарственных средств вводили 0,5% раствор MC в качестве носителя, и использовали их соответственно в качестве группы отрицательного контроля и группы положительного контроля (использовали тот же способ введения, что и в группах, которым вводили лекарственные средства).

Гистологический анализ.

Для того, чтобы оценить прогрессирование фиброза печени у мышей, которые завершили вышеуказанные тесты, отбирали срезы печени (толщиной 3 мкм), которые фиксировали в формалине, парафинировали и окрашивали с помощью гематоксилина и эозина. Для окрашенных срезов получали и собирали микроснимки (для всех мышей, причем микроскопические изображения собирали из нескольких полей на образец), и сравнивали микроснимки разных групп. Для того, чтобы количественно оценить степень NAS в разных группах, осуществляли полуколичественный анализ гистологических характеристик собранных изображений окрашенных образцов с использованием программного обеспечения для анализа. Что касается набухания клеток печени (набухание приблизительно в 1,5 раза или больше по сравнению с диаметром нормальной клетки печени), индикатора, аналогичного жировой дегенерации клеток печени и баллонированию, оценивали отношения площадей, занимаемых поражениями. Что касается воспаления, то оценивали число очагов агломерации, содержащих 5 или больше воспалительных клеток на единицу площади. Сумма этих оценок определялась как NAS.

Результаты.

На фиг. 15 показаны результаты исследования действия введения в отношении снижения набухания клеток печени в модели NASH, представляющей собой мышей, которых кормили CDAHFD. Вертикальная ось графика демонстрирует положительный показатель площади набухания клеток печени (степень усиления набухания клеток печени: %) в разных группах введения (G3, G4, G5), принимая разницу между группой отрицательного контроля (G1) и группой положительного контроля (G2) за 100%. Наблюдающееся в группе положительного контроля (G2) существенное повышенное набухание клеток печени, как правило, ингибировалось в группе, которую подвергали монотерапии обетихоловой кислотой (G3). Группа, которую подвергали монотерапии лозартаном (G4), вообще не продемонстрировала тенденцию к улучшению. Более того, неожиданно то, что в случае группы, которая подвергалась комбинированному введению обетихоловой кислоты и лозартана (G5), набухание клеток печени снижалось, при этом наблюдалась статистически значимая разница. Данный эффект был чрезвычайно выражен в группе, подвергавшейся комбинированному введению (G5), по сравнению с соответствующими группами, подвер-

гавшимися монотерапии (G3, G4), и это, можно сказать, представляет собой непредвиденный синергический эффект.

Статистически значимое различие в отношении улучшения показателя положительной площади набухания клеток печени показано только для группы G5 ($P < 0,01$; непараметрический критерий Даннетта). Этот результат показывает, что эффект комбинированного введения в отношении снижения набухания клеток печени является чрезвычайно выраженным и синергическим по сравнению с монотерапией отдельными средствами, причем этот эффект является как количественно, так и статистически значимым.

Также как и в случае оценки набухания клеток печени, действие, проявляющееся в снижении жировой дегенерации клеток печени и NASH, в особенности проявляется в группе G5.

Рабочий пример 8.

В соответствии с Практическими рекомендациями по NASH/NAFLD 2015 (Japan Society of Hepatology, NASH/NAFLD Practice Guideline 2015. Tokyo: Bunkodo; 2015.), важными факторами при диагностическом скрининге NASH являются абдоминальная ультразвуковая диагностика жировой печени и аномальные уровни ALT (аланинаминотрансфераза). Диагноз NASH подтверждается посредством биопсии печени, при этом одними из основных критериев являются контроль ожирения/гипертонии/нарушения липидного обмена, а также важное значение имеют постоянно повышенные значения трансаминаз (аминотрансфераз). Более того, NASH демонстрирует тенденцию быстро развиваться у пациентов с высокими уровнями ALT. С другой стороны, в соответствии с исследованием PIVENS, в рамках которого было рассмотрено эффективность и безопасность витамина E для пациентов с NASH, где пациентов, в случае которых уровень ALT снижался до 40 МЕ/л или меньше, или в случае которых уровень ALT снижался на 30% или больше по сравнению с исходным уровнем, принимали в качестве ALT-респондеров в группе, получавшей витамин E, при этом для ALT-респондеров было показано существенное улучшение в отношении NASH по сравнению с ALT-нереспондерами, причем в группе, получавшей плацебо, не наблюдалось улучшения в отношении NASH и отмечалось существенное улучшение в отношении фиброза (Hoofnagle JH, Van Natta ML, Kleiner DE, Clark JM, Kowdley KV, Loomba R, et al. Vitamin E and changes in serum alanine aminotransferase levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013 Jul; 38 (2) : 134-43). На основании вышеприведенных результатов, поскольку ALT считается важным прогностическим фактором в отношении прогрессирования NASH, ожидается, что лечение, направленное на снижение уровней ALT, будет смягчать патологический процесс при NASH. По этой причине оценка проводилась с использованием животной модели ослабления ALT, а также изучались эффекты монотерапии и комбинированного введения агониста FXR (обетихоловой кислоты) и ARB (лозартана).

Способ.

Применяли такой же способ, как и в рабочем примере 7.

Используемые животные.

Мыши-самцы линии C57B1/6J ($n=50$).

Используемые лекарственные средства.

Применяли такие же лекарственные средства, как и в рабочем примере 7.

Вводимая доза, период введения.

Обетихоловая кислота (10 мг/кг/день) и/или лозартан (30 мг/кг/день) доставлялась(-ись) путем принудительного перорального введения; весь период введения составлял 3 недели.

Способ проведения эксперимента.

После того, как 6-недельных мышей линии C57B1/6J кормили в течение 0-6 недель с использованием диеты CDHFD, их случайным образом разделяли на 4 группы (G2, G3, G4, G5) (для каждой группы $n=10$). Аналогичным образом, 6-недельных мышей линии C57B1/6J ($n=10$) кормили обычным кормом и использовали в качестве группы G1. Через 6 недель после начала CDHFD мышам групп G3 и G4 начинали вводить соответственно обетихоловую кислоту (10 мг/кг/день) и лозартан (30 мг/кг/день) ежедневно в течение 3 недель путем принудительного непрерывного перорального введения. Аналогичным образом, мышам группы G5 ежедневно осуществляли комбинированное введение обетихоловой кислоты (10 мг/кг/день) и лозартана (30 мг/кг/день) в течение 3 недель. Мышам в группе G1 (группа обычного кормления) и в группе G2 (группа CDHFD) вместо лекарственных средств вводили 0,5% раствор СМС в качестве носителя, и использовали их соответственно в качестве группы отрицательного контроля и группы положительного контроля (использовали тот же способ введения, что и в группах, которым вводили лекарственные средства).

Биохимические тесты.

Для того, чтобы оценить активность аланинаминотрансферазы (ALT) в сыворотке крови у мышей, которые завершили вышеуказанные тесты, отбирали образцы крови и отделяли сыворотку крови. Активность ALT в пробах сыворотки крови измеряли методом ферментативного анализа с применением фармацевтического продукта для *in vitro* диагностики.

Результаты.

На фиг. 16 показаны результаты исследования эффекта от введения лекарственного средства в отношении снижения активности ALT у животных, использующихся в качестве модели NASH, которые содержались на диете CDHFD.

На фиг. 16 показано изменение активности ALT ($\Delta U/L$; отрицательное значение свидетельствует об улучшении) в группах, подвергавшихся введению лекарственного средства (G3, G4, G5), в пересчете на среднюю активность ALT в группе положительного контроля (G2). Продemonстрировано, что по сравнению с группой отрицательного контроля (G1) в группе положительного контроля (G2) активность ALT статистически значимо возрастала, в то время как в группах, подвергавшихся монотерапии обетихоловой кислотой (G3) и монотерапии лозартаном (G4), наблюдалась только тенденция к улучшению без статистически значимого улучшения. Неожиданно то, что группа, в которой осуществляли комбинированное введение обетихоловой кислоты и лозартана (G5), продемонстрровала статистически значимое различие в отношении улучшения активности ALT. Данный эффект был чрезвычайно выражен в группе, подвергавшейся комбинированному введению (G5), по сравнению с соответствующими группами, подвергавшимися монотерапии (G3, G4), и это, можно сказать, представляет собой непредвиденный синергический эффект.

Что касается улучшения активности ALT, то статистически значимое различие наблюдалось только в группе G5 ($p < 0,01$; непараметрический критерий Даннетта). Этот результат показывает, что эффект уменьшения проявления повреждения печени при комбинированном введении является чрезвычайно выраженным и синергическим по сравнению с эффектом при монотерапии отдельными средствами, причём этот эффект является как количественно, так и статистически значимым.

Рабочий пример 9.

Терапевтический эффект, проявляющийся при использовании обетихоловой кислоты в качестве агониста FXR и кандесартана, телмисартана, валсартана, олмесартана, ирбесартана или азилсартана вместо лозартана в качестве ARB, в группе, подвергавшейся введению носителя (дистиллированной воды), в группах введения и комбинированного введения оценивали в соответствии с тем же способом, что и в рабочих примерах 1, 2 и 4-8. Более того, комбинированный эффект агонистов FXR и ARB при использовании обетихоловой кислоты в качестве агониста FXR и телмисартана, олмесартана, ирбесартана или азилсартана вместо лозартана, валсартана или кандесартана в качестве ARB подтверждали в соответствии с тем же способом, что и в рабочем примере 3.

Ожидается, что комбинация обетихоловой кислоты и ARB, как и комбинация обетихоловой кислоты и лозартана, будет обладать исключительным эффектом в отношении предотвращения и лечения NASH.

Рабочий пример 10.

Терапевтический эффект, проявляющийся при использовании хенодезоксихоловой кислоты, INT-767, LY-2562175, P_x-104 или L_{JN}-452 вместо обетихоловой кислоты в качестве агониста FXR и лозартана в качестве ARB, оценивали в группе, подвергавшейся введению носителя (дистиллированной воды), в группах введения и группе комбинированного введения в соответствии с тем же способом, что и в рабочих примерах 1, 2 и 4-8. Более того, комбинированный эффект агонистов FXR и ARB при использовании хенодезоксихоловой кислоты, INT-767, LY-2562175, P_x-104 или L_{JN}-452 вместо обетихоловой кислоты в качестве агониста FXR и лозартана в качестве ARB подтверждали в соответствии с тем же способом, что и в рабочем примере 3.

Ожидается, что комбинации других агонистов FXR и лозартана, так же, как и комбинация обетихоловой кислоты и лозартана, будут обладать исключительным эффектом в отношении предотвращения и лечения NASH.

Рабочий пример 11.

Терапевтический эффект кандесартана, телмисартана, валсартана, олмесартана, ирбесартана или азилсартана, проявляющийся при использовании хенодезоксихоловой кислоты, INT-767, LY-2562175, P_x-104 или L_{JN}-452 вместо обетихоловой кислоты в качестве агониста FXR и лозартана в качестве ARB, оценивали в группе, подвергавшейся введению носителя (дистиллированной воды), в группах введения и группе комбинированного введения в соответствии с тем же способом, что и в рабочих примерах 1, 2 и 4-8. Более того, комбинированный эффект агонистов FXR и ARB при использовании хенодезоксихоловой кислоты, INT-767, LY-2562175, P_x-104 или L_{JN}-452 вместо обетихоловой кислоты в качестве агониста FXR и телмисартана, олмесартана, ирбесартана или азилсартана вместо лозартана в качестве ARB подтверждали в соответствии с тем же способом, что и в рабочем примере 3.

Ожидается, что комбинации других агонистов FXR и ARB, так же как и комбинация обетихоловой кислоты и лозартана, будут обладать исключительным эффектом в отношении предотвращения и лечения NASH.

Промышленная применимость

Комбинированное фармацевтическое средство по настоящему изобретению является применимым для предупреждения и/или лечения заболевания печени, в частности NASH. Более того, оно является применимым в отношении всех заболеваний печени, в частности, в предупреждении, ингибировании и/или уменьшении проявления фиброза печени при NASH.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Комбинированное фармацевтическое средство, содержащее в качестве активных ингредиентов агонист фарнезоидных X-рецепторов (агонист FXR) или его фармацевтически приемлемую соль и блокатор рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемую соль, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту и ARB представляет собой лозартан, кандесартан или валсартан.

2. Фармацевтическое средство по п.1, в котором ARB представляет собой лозартан.

3. Терапевтическое средство для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), содержащее комбинированное фармацевтическое средство по п.1 или 2.

4. Терапевтическое средство по п.3 для ингибирования фиброза печени при NASH.

5. Применение комбинированного фармацевтического средства по п.1 или 2 для получения терапевтического средства для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH).

6. Применение комбинированного фармацевтического средства по п.1 или 2 для получения средства для ингибирования фиброза печени при NASH.

7. Способ лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), отличающийся тем, что комбинацию агониста FXR или его фармацевтически приемлемой соли и блокатора рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемой соли вводят пациенту в терапевтически эффективной дозе, при этом агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту и ARB представляет собой лозартан, кандесартан или валсартан.

8. Способ лечения по п.7, в котором ARB представляет собой лозартан.

9. Способ лечения по п.7 или 8, в котором лечение представляет собой ингибирование фиброза печени при NASH.

10. Способ по любому из пп.7-9, отличающийся тем, что агонист FXR или его фармацевтически приемлемая соль и ARB или его фармацевтически приемлемая соль вводятся одновременно или отдельно в разные моменты времени.

11. Комбинация для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), содержащая агонист фарнезоидных X-рецепторов (агонист FXR) или его фармацевтически приемлемую соль и блокатор рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемую соль, где агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту и ARB представляет собой лозартан, кандесартан или валсартан.

12. Комбинация по п.11, в которой ARB представляет собой лозартан.

13. Комбинация по п.11 или 12, где лечение представляет собой ингибирование фиброза печени при NASH.

14. Набор для лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), который содержит:

1) фармацевтическое средство, содержащее агонист фарнезоидных X-рецепторов (агонист FXR) или его фармацевтически приемлемую соль;

2) фармацевтическое средство, содержащее блокатор рецепторов ангиотензина II (ARB) или его фармацевтически приемлемую соль; и

3) инструкции по введению комбинации 1) и 2), указанных выше, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту и ARB представляет собой лозартан, кандесартан или валсартан.

15. Набор по п.14, в котором ARB представляет собой лозартан.

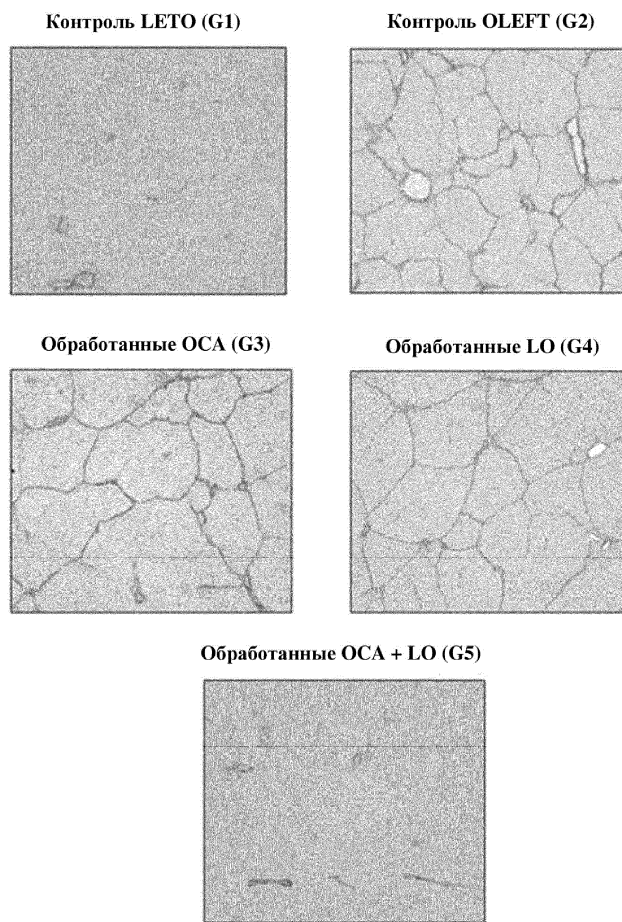
16. Набор по п.14 или 15, где лечение представляет собой ингибирование фиброза печени при NASH.

17. Средство для ингибирования фиброза печени при заболевании печени, содержащее комбинированное фармацевтическое средство по п.1 или 2.

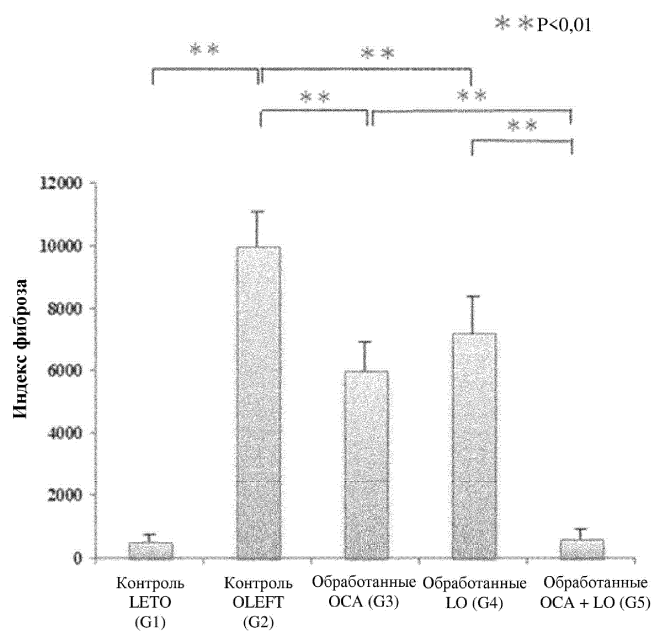
18. Средство для ингибирования фиброза печени по п.17, где заболевание печени выбрано из гепатита В; гепатита С; паразитарного заболевания печени; посттрансплантационных бактериальных инфекций, посттрансплантационных вирусных инфекций или посттрансплантационных грибковых инфекций; алкогольной болезни печени (ALD); неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD); метотрексат-индуцированного заболевания печени, изониазид-индуцированного заболевания печени, оксифенистин-индуцированного заболевания печени, метилдопа-индуцированного заболевания печени, хлорпромазин-индуцированного заболевания печени, толбутамид-индуцированного заболевания печени или амиодарон-индуцированного заболевания печени; аутоиммунного гепатита; саркоидоза; болезни Вильсона; гемохроматоза; болезни Гоше; болезни накопления гликогена III типа, болезни накопления гликогена IV типа, болезни накопления гликогена VI типа, болезни накопления гликогена IX типа или болезни накопления гликогена X типа; дефицита α -1 антитрипсина; синдрома Целлевегера; тирозинемии; леулоземии; галактоземии; ангиопатии, обусловленной синдромом Бадда-Киари, ангиопатии, обусловленной вено-окклюзионной болезнью, или ангиопатии, обусловленной тромбозом воротной вены; или врожденного фиброза печени.

19. Средство для ингибирования фиброза печени по п.17 или 18, где заболевание печени представляет собой либо ALD, либо NAFLD.

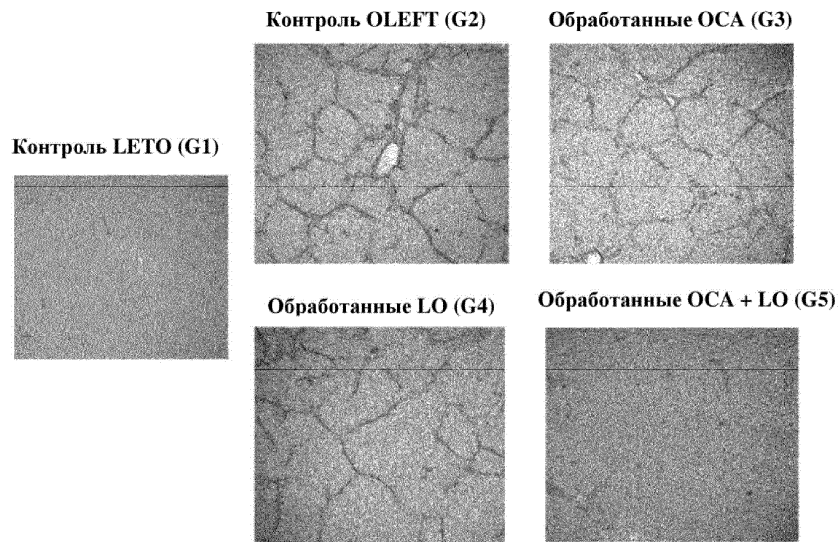
20. Средство для ингибирования фиброза печени по любому из пп.17-19, где заболевание печени представляет собой NAFLD.



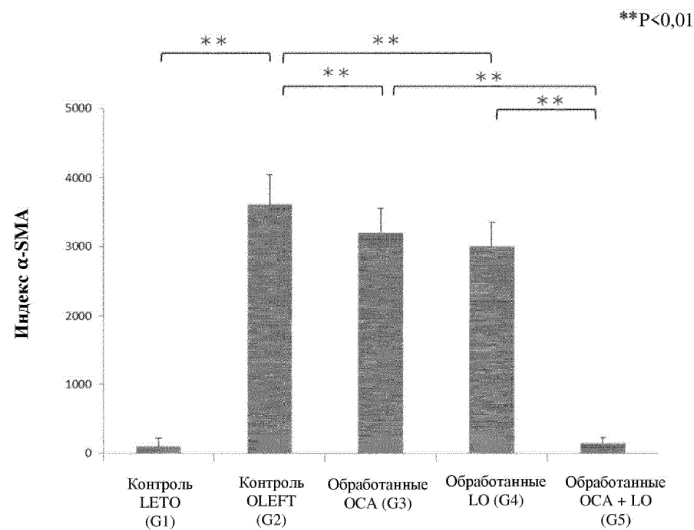
Фиг. 1



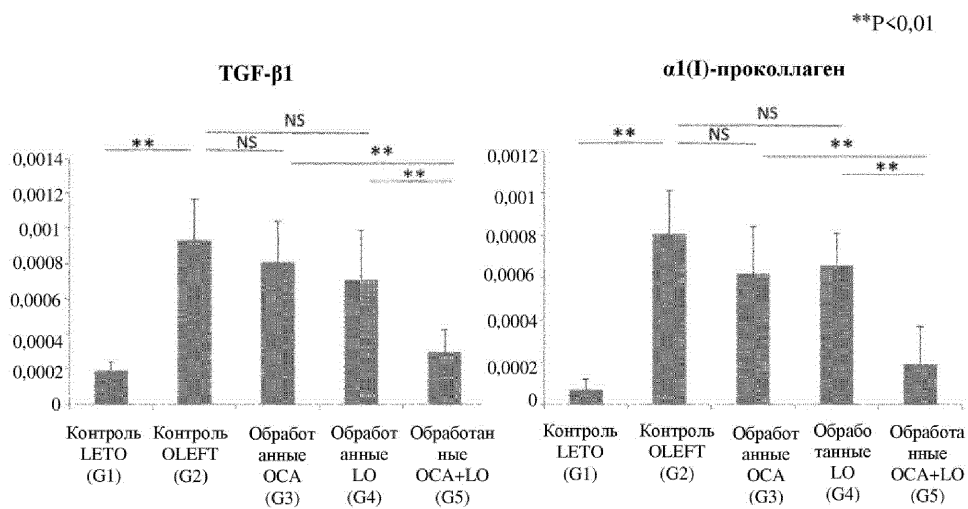
Фиг. 2



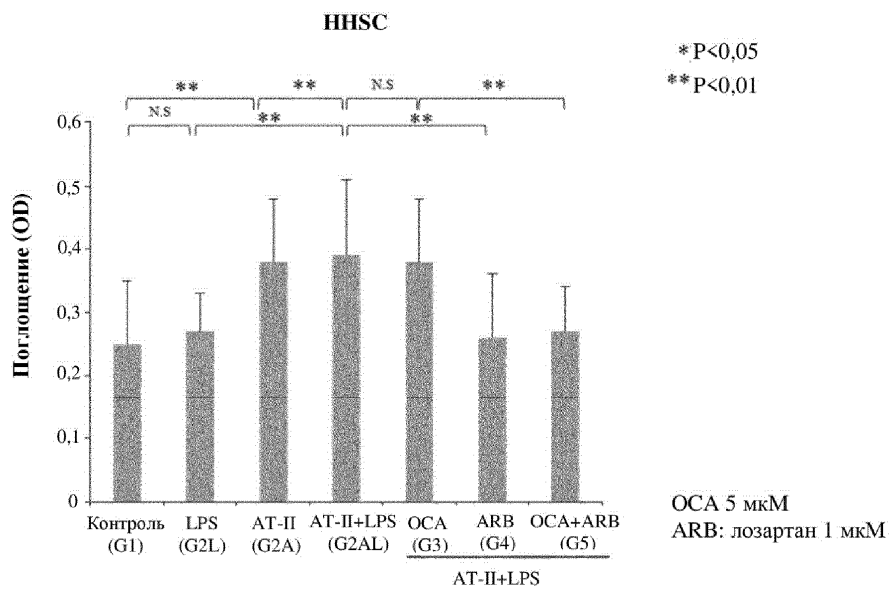
Фиг. 3



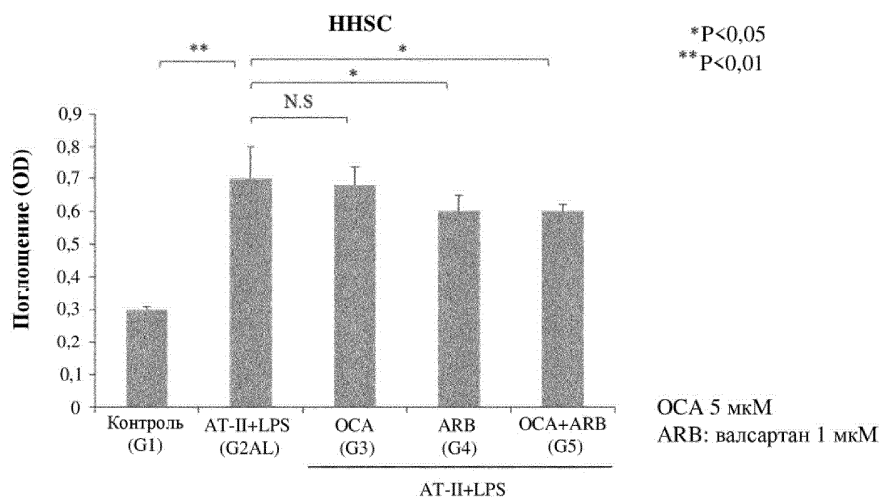
Фиг. 4



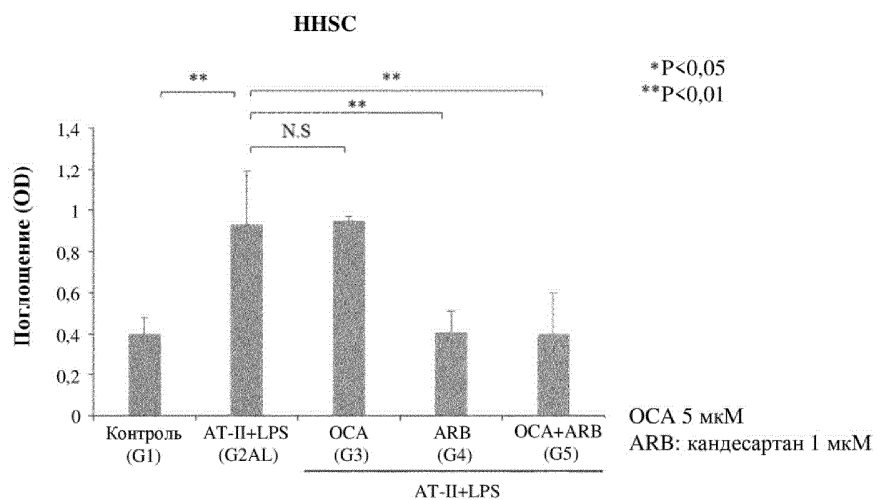
Фиг. 5



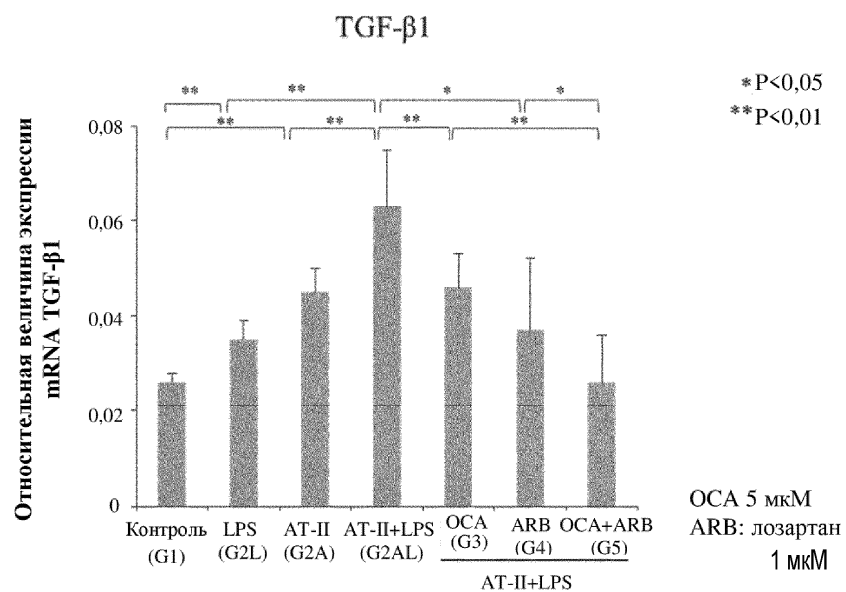
Фиг. 6



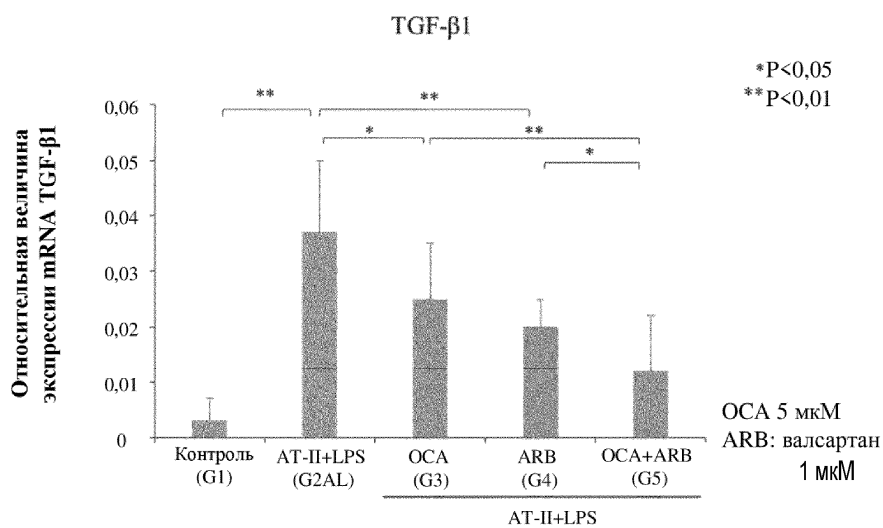
Фиг. 7



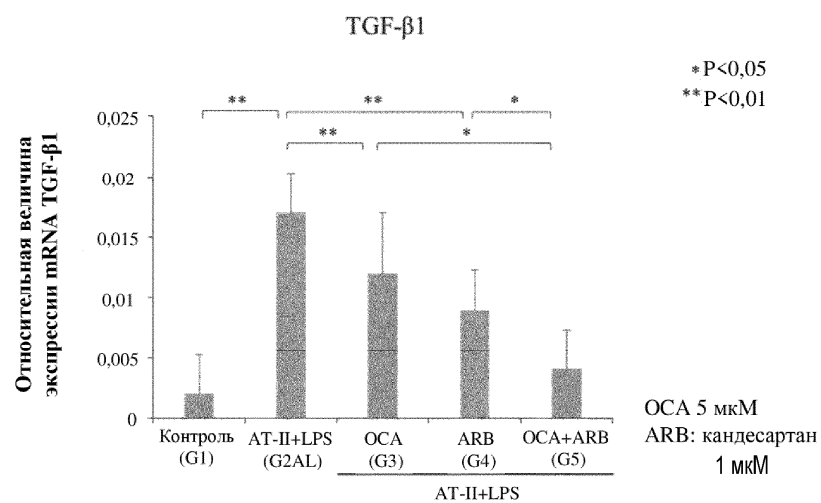
Фиг. 8



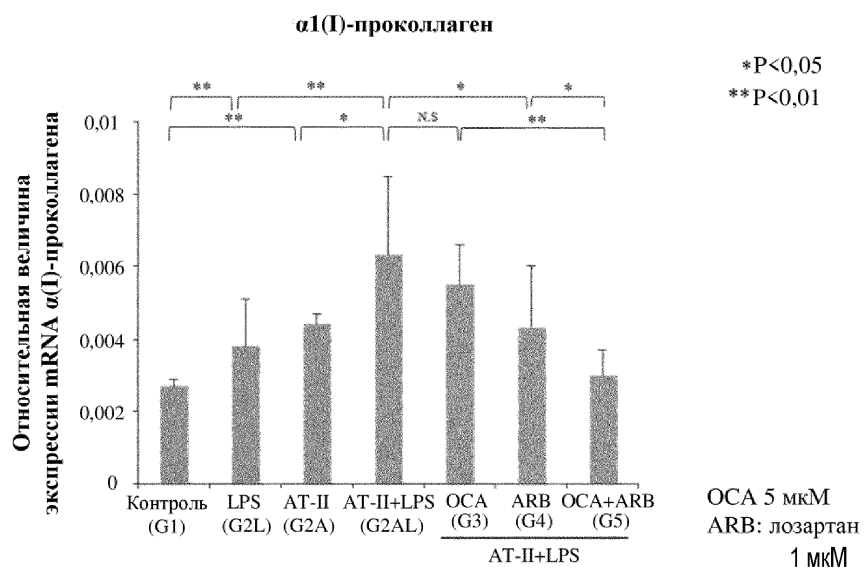
Фиг. 9



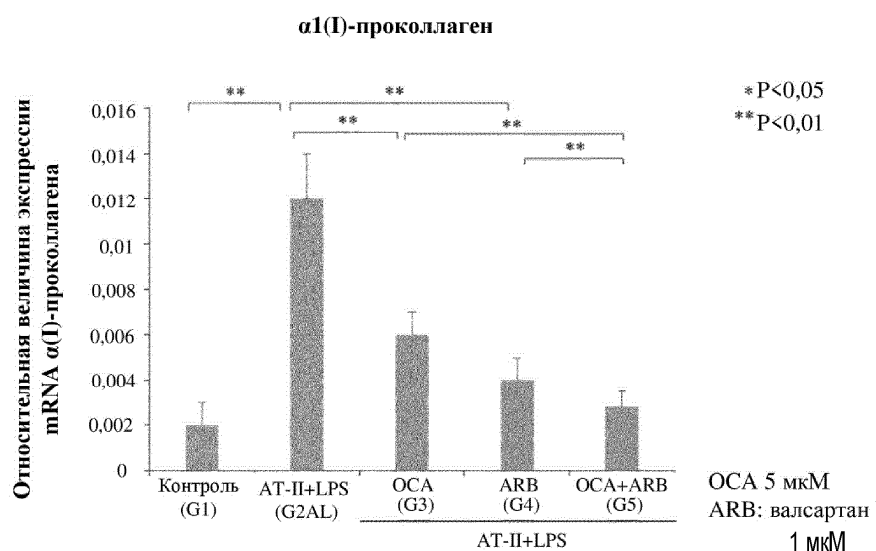
Фиг. 10



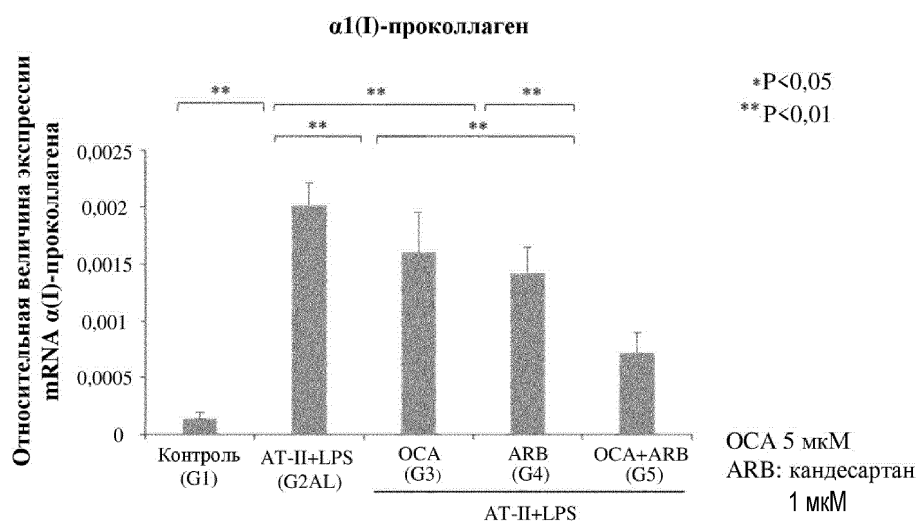
Фиг. 11



Фиг. 12

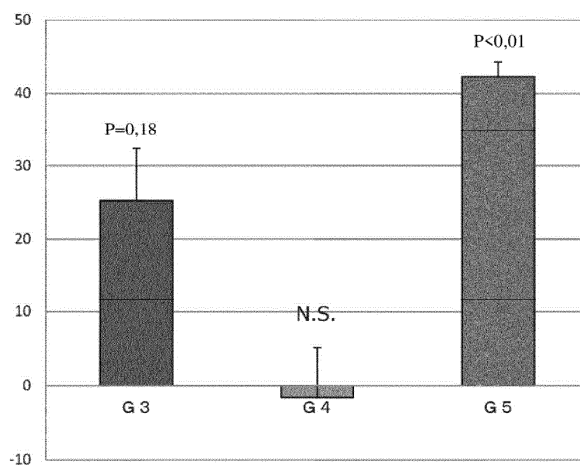


Фиг. 13



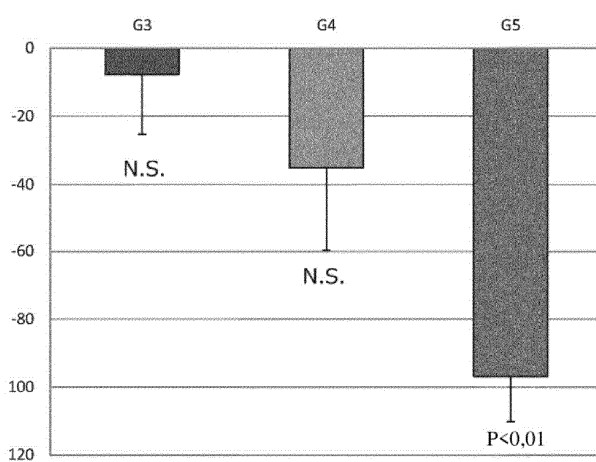
Фиг. 14

Уровень снижения набухания клеток печени (%),
принимая разницу между G1 и G2 за 100%



Фиг. 15

Активность ALT, исходя из среднего по G2 (Ед/л)



Фиг. 16

