

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202293064** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.12.22

(51) Int. Cl. *A61K 38/00* (2006.01)
A61K 47/54 (2017.01)
C07K 14/605 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.04.22

(54) **АНАЛОГИ ГЛЮКАГОНА КАК АГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРОВ ГПП-1/ГЛЮКАГОНА
ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ В ЛЕЧЕНИИ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ И
СТЕАТОГЕПАТИТА**

(31) 20171285.8

(72) Изобретатель:

(32) 2020.04.24

Томас Лео (DE)

(33) EP

(74) Представитель:

(86) PCT/EP2021/060532

(87) WO 2021/214220 2021.10.28

(71) Заявитель:

**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)**

**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**

(57) Изобретение относится к медицинскому применению специфических аналогов глюкагона длительного действия, обладающих двойной активностью агониста рецепторов ГПП-1/глюкагона для профилактики и/или лечения метаболического заболевания печени, в частности неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), неалкогольной жировой печени (НАЖП), неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), фиброза и/или цирроза печени, связанного с НАЖБП.

202293064

A1

A1

202293064

АНАЛОГИ ГЛЮКАГОНА КАК АГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРОВ ГПП-1/ГЛЮКАГОНА ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ В ЛЕЧЕНИИ ЖИРОВОЙ
5 БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ И СТЕАТОГЕПАТИТА

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к медицинскому применению
специфических аналогов глюкагона длительного действия, обладающих двойной
10 активностью агониста рецепторов ГПП-1/глюкагона для профилактики и/или
лечения метаболического заболевания печени, в частности неалкогольной
жировой болезни печени (НАЖБП), неалкогольной жировой печени (НАЖП),
неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), фиброза и/или цирроза печени,
связанного с НАЖБП.

15 ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Жировая болезнь печени представляет собой хроническое заболевание,
характеризующееся избыточным отложением триглицеридов в печени. Это
может быть вызвано несколькими причинами, две основные формы связаны с
неумеренным употреблением алкоголя или нарушением регуляции обмена
20 веществ при отсутствии чрезмерного употребления алкоголя. Последнее
получило название неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Она
обычно связана с метаболическим синдромом и его отдельными компонентами
(ожирение, сахарный диабет 2 типа, дислипидемия и артериальная гипертензия).
Спектр НАЖБП варьируется от изолированного стеатоза печени, также
25 называемого неалкогольной жировой печенью (НАЖП), через неалкогольный
стеатогепатит (НАСГ), характеризующийся накоплением триглицеридов в
печени, гепатоцеллюлярным повреждением и лобулярным воспалением, до
фиброза печени. Следует отметить, что фиброз может присутствовать в
различной степени у пациентов с НАСГ. Наличие НАСГ с фиброзом является
30 сильным фактором риска развития цирроза и потенциально гепатоцеллюлярной
карциномы (Nagstrom и др., Journal of Hepatology 2017, vol. 67, pp. 1265-1273).

НАЖБП является распространенным заболеванием; по оценкам, глобальная
распространенность заболевания достигает 25% (Younossi и др, Hepatology 2016,
vol. 64, pp. 73-84). Переход от НАЖП, как относительно доброкачественного

состояния к НАСГ и особенно к прогрессированию фиброза связан с увеличением риска общей смертности (см., например, Dulai и др, *Hepatology* 2017, vol. 65, pp. 1557-1565).

Известно, что НАЖБП обуславливается различными этиологиями, такими как резистентность к инсулину, липотоксичность и воспалительные реакции. Среди них наиболее распространенной этиологией является резистентность к инсулину.

Было предпринято много усилий для улучшения в отношении резистентности к инсулину для профилактики/лечения неалкогольной жировой болезни печени. Например, были проведены клинические испытания тиазолиддинонов (TZD) или метформина, своего рода сенсбилизатора инсулина (см. *Hepatology* (2003) 38: 1008-17, *J Clin Invest* (2001) 108: 1167-74).

Однако, в случае лечения препаратами на основе TZD наблюдаются недостатки, заключающиеся в большой прибавке в массе тела и задержке жидкости, и поэтому известно, что применение такого лечения невозможно для пациентов с сердечными заболеваниями. В дополнение к препаратам на основе TZD для лечения НАЖБП были проведены клинические испытания с применением агонистов рецептора ГПП-1, таких как Виктоза (Victoza, лираглутид) или Баета (Byetta).

Лираглутид представляет собой продаваемый химически модифицированный аналог глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1). Аминокислотная последовательность лираглутида показана в SEQ ID NO.: 1
 NAEGTFTSDVSSYLEGQAAK((S)-4-карбокси-4-гексадеcanoил-амино-бутирил-)
 EFLAWLVRGRG (SEQ ID NO.: 1)

Лираглутид действует как агонист рецептора ГПП-1 (ГПП1R). Было показано, что такие агонисты ГПП1R снижают уровень глюкозы в крови и уменьшают массу тела. Более того, лечение пациентов с избыточной массой тела или ожирением с подтвержденным биопсией НАСГ с помощью агониста ГПП1R лираглутида привело к регрессии НАСГ у 39% пациентов, по сравнению с 9% при применении плацебо (Armstrong и др., *BMJ Open* 2013, vol. 3, e003995; Armstrong и др, *Lancet* 2016, vol. 387, pp.679-690).

Пегилированный синтетический аналог оксинтомодулина, двойного агониста рецепторов ГПП-1 и глюкагона, хотя и с меньшей аффинностью по сравнению с отдельными агонистами ГПП-1 и глюкагона, был протестирован на

модели НАСГ грызунов (Valdecantos и др., Hepatology 2017, vol. 65, pp. 950-968). Аналог, названный G49 и имеющий длину 29 аминокислот, анализировали на микромассивах и в регенерации печени после частичной гепатэктомии.

Документ WO 2014/091316 относится к коагонистам глюкагона и ГПП-1.
5 WO 2017/153575 раскрывает дополнительные данные об этих коагонистах, включая данные клинических испытаний G933. Среднее геометрическое время полувыведения G933, по-видимому, составляет от 10 до 12 часов.

В публикациях WO 2014/056872 A1 и WO 2018/100174 A1 раскрываются производные эксендина-4, которые активируют рецепторы ГПП-1 и глюкагона.
10 В этих производных эксендина-4, среди прочих замен, метионин в положении 14 заменен аминокислотой, несущей группу NH₂ в боковой цепи, которая далее замещена неполярным остатком (например, жирной кислотой, необязательно объединенной с линкером). В WO 2014/056872 сообщается о периоде полувыведения некоторых производных эксендина-4 у мышей (Пример 10,
15 Таблица 6). Все зарегистрированные значения меньше 4 часов. Дополнительная информация, например, о некоторых соединениях в вызванной диетой мышинной модели НАСГ, представлена в WO 2019/030268.

Документы WO 2015/055801 и WO 2015/055802 раскрывают пептиды-аналоги глюкагона, обладающие повышенной селективностью в отношении
20 рецептора ГПП-1 по сравнению с глюкагоном человека. Также раскрыты способы лечения ожирения, избыточной массы тела и диабета на основе этих пептидов.

Ожидается, что одновременная активация рецепторов ГПП-1 и глюкагона уменьшит потребление пищи и увеличит расход энергии, а также приведет к
25 потере веса у пациентов с ожирением или избыточной массой тела. В то время как гликемический контроль обеспечивается свойством агониста рецептора ГПП-1, потребление пищи снижается обоими рецепторами, а расход энергии увеличивается за счет агонизма рецептора глюкагона. Ожидается, что сочетание эффектов на потребление пищи и расход энергии приведет к более длительному
30 отрицательному энергетическому балансу, чем при применении чистых агонистов рецептора ГПП-1, и приведет к устойчивой потере веса и улучшению состояния при НАСГ. Предполагается, что баланс активации рецепторов ГПП-1 и глюкагона является ключевым фактором для достижения снижения и

поддержания веса при наличии благоприятного соотношения пользы и риска, а также для улучшения в отношении НАСГ.

Однако, что касается соединений, упомянутых выше, они имеют короткий период полувыведения *in vivo*, и поэтому их введение необходимо часто повторять, например, раз в день. Недостатком является неудобство для пациентов, поскольку эти введения обычно осуществляются подкожно. Такие частые введения причиняют боль и дискомфорт пациентам.

Фармакологическое лечение заболевания, относящегося к спектру НАЖБП, до сих пор не было одобрено медицинскими органами. Таким образом, существует острая потребность в выявлении новых, безопасных и эффективных соединений, которые могут замедлять, останавливать или обращать вспять прогрессирование НАЖБП (включая НАСГ) или прогрессирование в сторону выраженного фиброза и/или цирроза печени.

Кроме того, существует потребность в лечении НАЖБП (включая НАСГ), включающем введение лекарственного средства (длительного действия), которое необходимо вводить реже (например, еженедельно). В то же время, лечение также должно быть эффективным, т. е. на основании балла активности НАЖБП или других соответствующих биомаркеров (например, снижение содержания жира в печени или изменение ферментов печени).

Соединения для применения в лечении, как раскрыты в настоящем документе, потенциально могут вводиться менее часто и при этом оставаться эффективными.

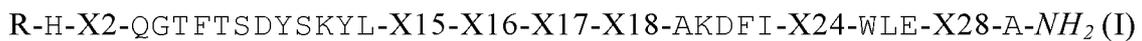
СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем документе предложено медицинское применение специфических двойных агонистов рецепторов ГПП-1/глюкагона длительного действия для профилактики и/или лечения метаболического заболевания печени, такого как неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), в частности неалкогольная жировая печень (НАЖП), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз и/или цирроз печени, связанный с НАЖБП.

В публикации WO 2015/055801 описаны пептидные соединения полученные из глюкагона, которые (в отличие от нативного глюкагона) сильно активируют как рецептор ГПП-1, так и глюкагона.

В настоящее время было обнаружено, что аналоги глюкагона формулы I, обладающие активностью двойного агониста, могут быть эффективно применены при лечении конкретных заболеваний печени, таких как НАЖБП, в частности НАСГ. Все соединения формулы I являются структурно подобными, имеют длину 29 аминокислот, амидированный С-конец и общую идентичность из 22 аминокислот.

Соответственно, настоящее изобретение относится к соединению (включая соли), имеющему общую формулу I



в которой

R выбран из H, C₁₋₄ алкила и ацетила;

X2 выбран из Aib и Ac4c;

X15 выбран из Asp и Glu;

X16 выбран из Glu и Ψ;

X17 выбран из Arg и Ψ;

X18 выбран из Ala и Arg;

X24 выбран из Glu и Ψ;

X28 выбран из Ser и Ψ;

при этом указанное соединение содержит один и только один Ψ

и при этом указанный Ψ представляет собой остаток Lys, в котором аминогруппа боковой цепи конъюгирована с заместителем, выбранным из группы, состоящей из

HOOC-(CH₂)₁₆-(CO)-isoGlu-Peg3-Peg3-, и

HOOC-(CH₂)₁₆-(CO)-isoGlu-GSGSGG-,

для применения в способе профилактики и/или лечения метаболического заболевания печени, в частности, для лечения НАЖБП, НАСГ и/или цирроза печени.

В более конкретном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению, выбранному из

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH₂ (Соединение 1, SEQ ID NO.: 3)

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD ERAAKDFI-K([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH₂ (Соединение 2, SEQ ID NO.: 4)

H-*H*-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH₂ (Соединение 3, SEQ ID NO.: 5)

H-*H*-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂ (Соединение 4, SEQ ID NO.: 6)

5 *H*-*H*-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH₂ (Соединение 5, SEQ ID NO.: 7)

H-*H*-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH₂ (Соединение 6, SEQ ID NO.: 8)

10 для применения в способе профилактики и/или лечения НАЖБП, НАСГ и/или цирроза печени.

Дальнейшие аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения станут очевидными из приведенного ниже раскрытия.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

15 Как упоминалось выше, настоящее изобретение относится к соединению общей формулы I:

R-*H*-X2-QGTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-AKDFI-X24-WLE-X28-A-NH₂ (I)

в котором

20 *R* выбран из *H*, C₁₋₄ алкила и ацетила;

X2 выбран из Aib и Ac4c;

X15 выбран из Asp и Glu;

X16 выбран из Glu и Ψ;

X17 выбран из Arg и Ψ;

X18 выбран из Ala и Arg;

25 X24 выбран из Glu и Ψ;

X28 выбран из Ser и Ψ;

при этом соединение содержит один и только один Ψ

и при этом указанный Ψ представляет собой остаток Lys, в котором аминогруппа боковой цепи конъюгирована с заместителем, выбранным из группы, состоящей

30 из

HOOC-(CH₂)₁₆-(CO)-isoGlu-Peg3-Peg3-, и

HOOC-(CH₂)₁₆-(CO)-isoGlu-GSGSGG-,

для применения в способе профилактики или лечения метаболического заболевания печени, в частности, для лечения НАЖБП, НАСГ и/или цирроза печени.

5 Если иное не определено в настоящем документе, научные и технические термины, используемые в настоящем документе, должны иметь значения, обычно понятные специалистам в данной области техники.

10 В данном описании слово «**содержит**» или варианты, такие как «содержать» или «содержащий», следует понимать как подразумевающие включение указанного целого числа или компонента, или указанной группы целых чисел или компонентов, но не исключение любого другого целого числа или компонента или группы целых чисел или компонентов.

Формы единственного числа включают формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное.

15 Термин «**включает**» используется для обозначения «включает, но не ограничиваясь этим». «Включает» и «включает, но не ограничиваясь этим» используются взаимозаменяемо.

Термины «**пациент**», «**субъект**» и «**индивидуум**» могут использоваться взаимозаменяемо и относятся к животному-человеку.

20 Приведенное выше определение формулы I включает соответствующие соединения, находящиеся в нейтральном или заряженном состоянии. Соединения в заряженном состоянии присутствуют, например, в форме солей, т. е. фармацевтически приемлемых солей или в растворах, особенно в водных растворах.

25 Используемый в настоящем документе термин «**фармацевтически приемлемая соль**» предназначен для обозначения соли, которая не является вредной для пациента или субъекта, которому вводят рассматриваемую соль. Подходящим образом это может быть соль, выбранная, например, из кислотно-аддитивных солей и основных солей. Примеры кислотно-аддитивных солей включают хлоридные соли, цитратные соли и ацетатные соли. Примеры 30 основных солей включают соли, в которых катион выбран из катионов щелочных металлов, таких как ионы натрия или калия, катионов щелочноземельных металлов, таких как ионы кальция или магния, а также замещенных ионов аммония, таких как ионы типа $N(R^1)(R^2)(R^3)(R^4)^+$, где R^1 , R^2 , R^3 и R^4 независимо обычно обозначают водород, необязательно замещенный C_1 .

6-алкил или необязательно замещенный С₂₋₆-алкенил. Примеры соответствующих С₁₋₆-алкильных групп включают метильную, этильную, 1-пропильную и 2-пропильную группы. Примеры С₂₋₆-алкенильных групп, которые могут иметь отношение, включают этенил, 1-пропенил и 2-пропенил. Другие
 5 примеры фармацевтически приемлемых солей описаны в “Remington’s Pharmaceutical Sciences”, 17th edition, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985 (и его более поздних изданиях), в “Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology”, 3rd edition, James Swarbrick (Ed.), Informa Healthcare USA (Inc.), NY, USA, 2007, и в *J. Pharm. Sci.* 66: 2 (1977).

10 Термин «агонист», используемый в контексте изобретения, относится к веществу, которое активирует рассматриваемый тип рецептора, как правило, путем связывания с ним (т. е. в качестве лиганда).

В данном описании используются общепринятые однобуквенные и трехбуквенные коды для встречающихся в природе аминокислот, а также
 15 общепринятые сокращения для других аминокислот, такие как Aib (α -аминоизомасляная кислота) и Ac4c (1-амино-циклобутанкарбоновая кислота). Термин «isoGlu» относится к звену γ -глутаминовой кислоты.

Если не указано иное, делается ссылка на L-изомерные формы рассматриваемых аминокислот.

20 Дополнительные сокращения включают следующие:

НАЖП: неалкогольная жировая печень

НАЖБП: неалкогольная жировая болезнь печени

NAS: балл активности НАЖБП

НАСГ: неалкогольный стеатогепатит

25 МРТ-ППЖФ: магнитно-резонансная томография, протонная плотность жировой фракции

Термин «**терапевтически эффективное количество**», используемый в настоящем документе в контексте описанных здесь способов лечения или других
 30 терапевтических вмешательств по изобретению, относится к количеству, достаточному для излечения, улучшения, облегчения или частичной остановки клинических проявлений конкретного заболевания, расстройства или состояния, которое является объектом рассматриваемого лечения или другого терапевтического вмешательства, например по установленным клиническим конечным точкам или другим биомаркерам (установленным или

экспериментальным), включая биопсию печени. Терапевтически релевантное количество может быть определено эмпирически специалистом в данной области техники на основании показаний, подлежащих лечению или профилактике, и субъекта, которому вводится терапевтически релевантное количество.

- 5 Например, квалифицированный специалист может измерить один или несколько клинически значимых показателей биологической активности, описанных в настоящем документе, например, содержание жира в печени с помощью МРТ-ППЖФ, массу тела или NAS (балл активности НАЖБП). Квалифицированный специалист может определить клинически релевантное количество посредством измерений *in vitro* или *in vivo*. Другие иллюстративные показатели включают маркеры фиброза (сыворотка или плазма), снижение массы тела, изменение гистологических показателей НАСГ или фиброза, снижение содержания жира в печени и изменение ферментов печени.

- 15 Количество, достаточное для достижения любого или всех этих эффектов, определяется как терапевтически эффективное количество. Вводимое количество и способ введения могут быть адаптированы для достижения оптимальной эффективности. Количество, эффективное для данной цели, будет зависеть, среди прочего, от тяжести заболевания, расстройства или состояния, которое является объектом конкретного лечения или другого терапевтического вмешательства, от массы тела и общего состояния рассматриваемого субъекта, от диеты, возможного одновременного лечения и других факторов, хорошо известных специалистам в области медицины. Определение соответствующего размера дозы и режима дозирования, наиболее подходящего для введения пептида или его фармацевтически приемлемой соли согласно изобретению
- 20 человеку, может основываться на результатах, полученных в соответствии с настоящим изобретением, и может быть подтверждено в должным образом спланированных клинических испытаниях. Эффективная дозировка и протокол лечения могут быть определены обычными способами, начиная с низкой дозы на лабораторных животных и затем увеличиванием дозы при мониторинге
- 25 эффектов, а также систематической сменой режима дозирования. При определении оптимальной дозы для данного субъекта клиницист может принимать во внимание многочисленные факторы. Такие соображения хорошо известны специалистам в данной области техники.
- 30

Термин «**лечение**» и его грамматические варианты (например, «леченный», «лечение», «лечить»), используемые в настоящем контексте, относятся к подходу для получения благоприятных или желаемых клинических результатов. Для целей настоящего изобретения благоприятные или желаемые клинические результаты включают, но не ограничиваются указанными, облегчение симптомов, уменьшение распространенности заболевания, стабилизацию (т. е. отсутствие ухудшения) состояния заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, улучшение или паллиативное лечение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), независимо от того, поддается оно обнаружению или нет. «Лечение» также может означать увеличение продолжительности жизни по сравнению с ожидаемой продолжительностью жизни, если бы лечение не проводилось. Таким образом, субъект (например, человек), нуждающийся в лечении, может быть субъектом, уже страдающим рассматриваемым заболеванием или расстройством. Термин «лечение» включает ингибирование или уменьшение увеличения тяжести патологического состояния или симптомов (например, прогрессирования до цирроза печени, прогрессирования фиброза или ухудшения НАСГ, например, увеличения балла NAS) по сравнению с отсутствием лечения и не обязательно подразумевает полное излечение соответствующего заболевания, расстройства или состояния.

Термин «**профилактика**» и его грамматические варианты (например, «предотвращать», «предупреждать», «предотвращение»), используемые в настоящем контексте, относятся к подходу для сдерживания или предотвращения развития или изменения патологии состояния, заболевания или расстройства. Соответственно, «профилактика» может относиться к профилактическим или превентивным мерам. Для целей настоящего изобретения благоприятные или желаемые клинические результаты включают, но не ограничиваются указанными, профилактику или замедление симптомов, прогрессирования или развития заболевания, независимо от того, поддается оно обнаружению или нет. Таким образом, субъект (например, человек), нуждающийся в «профилактике», может быть субъектом, еще не страдающим рассматриваемым заболеванием или расстройством. Таким образом, термин «профилактика» включает ингибирование или замедление развития заболевания по сравнению с отсутствием лечения и не обязательно означает постоянную

профилактику соответствующего заболевания, расстройства или состояния. В более конкретном аспекте профилактика относится к предотвращению прогрессирующего заболевания печени (например, прогрессирующего до цирроза, прогрессирующего фиброза или ухудшения НАСГ, например, увеличения балла NAS).

C_{1-4} алкильные группы, которые могут присутствовать в качестве группы R в контексте соединений по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются указанными, C_{1-3} алкильные группы, такие как метил, этил, 1-пропил или 2-пропил.

Peg3 относится к следующей структурной единице, включающей звено этиленгликоля: $-NH(CH_2)_2O(CH_2)_2OCH_2C(O)NH(CH_2)_2O(CH_2)_2OCH_2C(O)-$.

Все публикации, патенты и опубликованные патентные заявки, упомянутые в этой заявке, включены в настоящий документ посредством ссылки, в частности содержание WO 2015/055 801 включено в качестве ссылки. В случае конфликта, настоящее описание, включая его конкретные определения, будет иметь преимущественную силу.

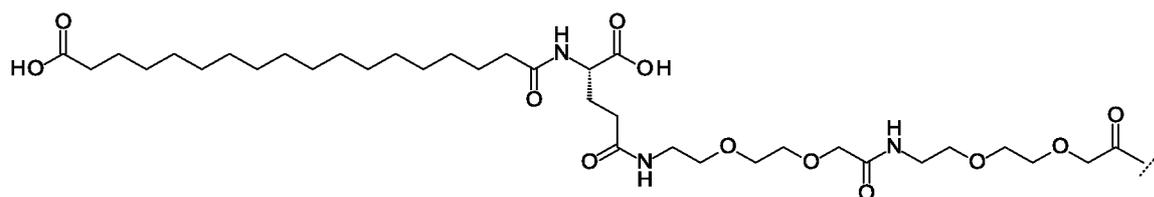
Каждый описанный здесь вариант осуществления изобретения может быть рассмотрен отдельно или в сочетании с одним или несколькими другими вариантами осуществления изобретения.

Все соединения формулы I разделяют идентичность последовательности по крайней мере в 22 положениях из 29. С ограничением, состоящим в том, что соединения содержат только один Ψ , возможные вариации дополнительно ограничиваются, так что фактически имеется только 4 переменных положения, что приводит к идентичности последовательности по меньшей мере в 86%.

Кроме того, они имеют один и тот же амидированный C-конец, а заместитель в остатке Lys (Ψ в положениях 16, 17, 24 или 28) выбран из двух различных альтернатив, а именно $HOOC-(CH_2)_{16}-(CO)-isoGlu-Peg3-Peg3-$ и $HOOC-(CH_2)_{16}-(CO)-isoGlu-GSGSGG-$. Здесь показаны их структуры (в каждом случае, --- указывает на точку присоединения к боковой цепи аминокислотного компонента Ψ (Lys):

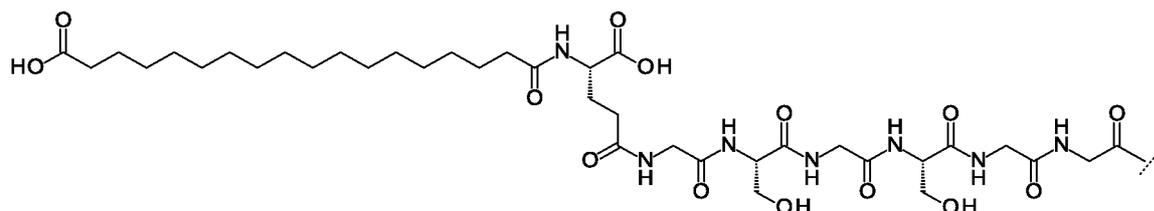
$HOOC-(CH_2)_{16}-(CO)-isoGlu-Peg3-Peg3-$ или

[17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-Peg3-Peg3:



HOOC-(CH₂)₁₆-(CO)-isoGlu-GSGSGG или

[17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-GSGSGG:



5

Соединения 1 - 6 являются агонистами рецепторов GLP-1 и глюкагона, что определяется их способностью стимулировать внутриклеточное образование цАМФ в соответствующих анализах (например, как описано в WO 2015/055801, Пример 2, стр. 36, Таблица 1, и Примеры 3 и 4, стр. 37-40, Таблицы 2 и 3).

10 Терапевтические применения

В первом аспекте соединения по изобретению могут обеспечивать варианты лечения и/или профилактики, среди прочего, неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) с фиброзом/циррозом печени и без них и метаболических заболеваний, включая ожирение и диабет 2 типа, как обсуждается ниже.

15 Метаболический синдром характеризуется наличием группы метаболических факторов риска у одного человека. К ним относятся абдоминальное ожирение (избыток жировой ткани вокруг внутренних органов брюшной полости), атерогенная дислипидемия (расстройства жировых отложений в крови, включая высокий уровень триглицеридов, низкий уровень

20 холестерина ЛПВП и/или высокий уровень холестерина ЛПНП, которые способствуют накоплению бляшек на стенках артерий), повышенное кровяное давление (гипертония), резистентность к инсулину и непереносимость глюкозы, протромботическое состояние (например, высокий уровень фибриногена или ингибитора активатора плазминогена-1 в крови) и провоспалительное состояние

25 (например, повышенный уровень С-реактивного белка в крови), и неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП, включая НАСГ с фиброзом/циррозом печени или без них).

Не желая быть связанными какой-либо конкретной теорией, полагают, что соединения по изобретению действуют как двойные агонисты как на человеческий рецептор глюкагона, так и на человеческий рецептор ГПП-1, сокращенно обозначаемые здесь как двойные агонисты ГПП-1/глюкагона.

5 Двойной агонист может сочетать действие глюкагона, т. е. на метаболизм жиров, с эффектом ГПП-1, т. е. на уровень глюкозы в крови и прием пищи. Следовательно, они могут ускорять элиминацию избыточной жировой ткани, включая окисление жирных кислот в печени, вызывать устойчивую потерю веса и приводить к улучшениям относительно стеатоза и воспаления в печени. Таким
10 образом, соединения по изобретению могут быть использованы для лечения НАЖБП за счет уменьшения содержания жира в печени, т. е. за счет усиления окисления липидов. Двойные агонисты ГПП-1/глюкагона также могут снижать сердечно-сосудистые факторы риска, такие как высокий уровень холестерина, высокий уровень холестерина ЛПНП или низкое соотношение холестерина
15 ЛПВП/ЛПНП.

Таким образом, соединения по настоящему изобретению можно применять в отношении субъекта, нуждающегося в этом, в качестве фармацевтических средств для лечения НАСГ и последующего фиброза/цирроза печени, стимулируя потерю веса, лечения ожирения, а также сопутствующих
20 заболеваний и состояний здоровья, включая, помимо прочего, воспаления, связанного с метаболическим синдромом, и гепатоцеллюлярной карциномы, связанной с НАСГ. Соединения по изобретению могут также применяться для лечения состояний, вызванных нарушением контроля уровня глюкозы или связанных с ним, включая резистентности к инсулину, непереносимости
25 глюкозы, преддиабета, повышенного уровня глюкозы натощак, диабета 2 типа, гипертензии, атеросклероза, артериосклероза, ишемической болезни сердца, заболевания периферических артерий и инсульта у субъекта, нуждающегося в этом. Некоторые из этих состояний могут быть связаны с метаболическим синдромом и НАСГ/НАЖБП. Однако эффекты соединений по изобретению на
30 эти состояния могут быть полностью или частично опосредованы влиянием на массу тела или могут быть независимыми от него.

Таким образом, изобретение обеспечивает применение соединения по изобретению для лечения описанного выше состояния у индивидуума, нуждающегося в этом. Например, описанные соединения могут быть применены

для улучшения НАСГ и/или фиброза, предотвращения прогрессирования до цирроза, обратного развития цирроза и стимулирования потери веса.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение включает применение соединения в способе лечения состояния кластера заболеваний неалкогольной жировой болезни печени, метаболической и алкогольной жировой болезни печени и/или метаболического синдрома, например, лечения и/или профилактики неалкогольной жировой печени (НАЖП), НАСГ без фиброза, НАСГ с фиброзом, цирроза, связанного с НАСГ, воспаления, связанного с НАСГ, избыточного веса и ожирения, преддиабета, сахарного диабета, особенно диабета 2 типа, гипертензии, атерогенной дислипидемии, атеросклероза, артериосклероза, ишемической болезни сердца, заболевания периферических артерий, инсульта или микрососудистых заболеваний у индивидуума, нуждающегося в этом.

В другом аспекте изобретение относится к соединению общей формулы I (как определено выше) для применения в способе профилактики или лечения метаболического заболевания печени.

В связанном аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение, имеющее общую формулу I (как определено выше), для применения в способе профилактики или лечения метаболического заболевания печени.

В другом аспекте изобретение относится к способу профилактики или лечения метаболического заболевания печени у пациента, нуждающегося в этом, включающему введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения, имеющего общую формулу I (как определено выше).

В связанном аспекте изобретение относится к способу профилактики или лечения метаболического заболевания печени у пациента, нуждающегося в этом, включающему введение указанному пациенту фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения или его соли, имеющего общую формулу I (как определено выше).

Используемый здесь термин «метаболическое заболевание печени» относится к заболеванию печени, вызванному алкоголем (также называемому алкогольной болезнью печени, АБП), неалкогольным заболеваниям печени, а также к их комбинации. Метаболическое заболевание печени включает спектр состояний, характеризующихся отложением жира в печени, например,

чрезмерным отложением жира в печени, включая неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП), в частности: неалкогольную жировую печень (НАЖП), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз печени, связанный с НАЖБП и цирроз печени, связанный с НАЖБП.

5 Спектр АБП варьируется от алкогольной жировой печени (стеатоза) через
алкогольный стеатогепатит (АСГ) до фиброза и цирроза печени. Стеатоз
является самой ранней стадией алкогольной болезни печени и наиболее частым
заболеванием печени, вызванным алкоголем. Это заболевание обратимо, если
вовремя прекратить чрезмерное употребление алкоголя. АСГ определяется
10 наличием жировой дистрофии печени, воспалительного инфильтрата,
состоящего в основном из полиморфноядерных лейкоцитов, и
гепатоцеллюлярного повреждения.

Неалкогольные заболевания печени связаны с нарушением регуляции
метаболизма при отсутствии чрезмерного употребления алкоголя.

15 Неалкогольное заболевание печени, представляющее особый интерес в
контексте изобретения, представляет собой неалкогольную жировую болезнь
печени (НАЖБП). НАЖБП представляет собой наличие стеатоза печени при
отсутствии других причин вторичного накопления жира в печени (например,
злоупотребления алкоголем). Пациенты с НАЖБП имеют стеатоз печени с
20 воспалением или без него, гепатоцеллюлярное повреждение или фиброз/цирроз
печени.

НАЖБП в контексте настоящего изобретения подразделяется на
неалкогольную жировую печень (НАЖП), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ),
фиброз печени, связанный с НАЖБП и цирроз печени, связанный с НАЖБП.

25 Таким образом, у пациента с НАЖБП по настоящему изобретению должна быть
диагностирована НАЖП или НАСГ и/или фиброз/цирроз печени, связанный с
НАЖБП. Следует отметить, что фиброз обычно может присутствовать в
различной степени у людей с НАСГ от легкой (стадия гистологического фиброза
F1, Kleiner и др.) до цирроза печени (стадия гистологического фиброза F4). При
30 НАЖП стеатоз печени присутствует без признаков гепатоцеллюлярного
баллонирования и развитого воспаления, тогда как при НАСГ стеатоз печени
связан с воспалением печени, которое гистологически может быть неотличимо
от алкогольного стеатогепатита. Согласно Ratziu и др (Gastroenterology 2016,
vol. 150, pp. 1 147-1 159) и Kleiner и Bedossa (Gastroenterology 2015, vol. 149, pp.

1305-1308), НАСГ отличается от НАЖП наличием баллонирования гепатоцитов с некоторой степенью воспаления в дополнение к стеатозу. Другие термины, используемые для описания НАСГ, включают псевдоалкогольный гепатит, алкоголеподобный гепатит, жировой гепатоз печени, стеатонекроз и

5 диабетический гепатит.

Фиброз печени возникает в результате хронического повреждения печени в сочетании с накоплением белков внеклеточного матрикса, что характерно для большинства типов хронических заболеваний печени. Основные причины фиброза печени в промышленно развитых странах включают хроническую

10 инфекцию HCV (вируса гепатита С), злоупотребление алкоголем и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). Накопление белков внеклеточного матрикса искажает строение печени, образуя фиброзный рубец, а последующее развитие узелков регенерирующих гепатоцитов определяет цирроз печени (Bataller and Brenner, J Clin Invest. 2005, vol. 115, pp. 209-218).

15 Неалкогольный стеатогепатит представляет собой клиническое состояние, характеризующееся результатами биопсии печени, идентичными таковым при алкогольном гепатите; однако пациенты с НАСГ не употребляют алкоголь в количествах, вызывающих повреждение печени. Пациенты с НАСГ, как правило, среднего возраста или старше, с бессимптомной гепатомегалией и диабетом или

20 гиперлипидемией, избыточной массой тела или ожирением и не связанными с ними медицинскими проблемами. Анализ образцов биопсии печени является краеугольным камнем диагностики; морфологические признаки печени варьируют от легкой жировой дистрофии и воспаления до клеточной дегенерации, фиброза и цирроза с наличием или без наличия гиалиновых телец

25 Мэллори.

Пациенты с НАСГ не имеют специфических симптомов в течение длительного периода времени, но могут прогрессировать до цирроза печени или гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Соответственно, цирроз печени, связанный с НАЖБП, и гепатоцеллюлярная карцинома, связанная с НАЖБП,

30 также упоминаются здесь как последствия НАСГ. Риск прогрессирования НАСГ к циррозу печени особенно высок у пациентов с выраженным фиброзом. Цирроз, связанный с НАЖБП, является важным фактором риска дальнейшего развития заболевания к ГЦК, связанной с НАЖБП. Однако ГЦК, связанная с НАЖБП, может также развиваться у пациентов с НАСГ без цирроза печени.

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) наблюдается во всем мире и является наиболее распространенным метаболическим заболеванием печени в западных промышленно развитых странах, где распространены основные факторы риска развития НАЖБП, центральное ожирение, сахарный диабет 2 типа, дислипидемия и метаболический синдром. В Соединенных Штатах исследования сообщают о распространенности НАЖБП от 10 до 46 процентов, при этом в большинстве исследований, основанных на биопсии, сообщается о распространенности НАСГ от 3 до 5 процентов.

Распространенность НАЖБП во всем мире составляет от 6 до 35 процентов (в среднем 20 процентов) (Williams CD и др., *Gastroenterology*. 2011;140(1):124-31; Vernon G и др., *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(3):274-85; Lazo M и др., *Am J Epidemiol*. 2013;178(1):38-45).

У большинства пациентов с НАЖБП симптомы отсутствуют, хотя некоторые пациенты с НАСГ могут жаловаться на неспецифические для печени симптомы, такие как утомляемость, недомогание и неопределенный дискомфорт в правой верхней части живота. Пациенты чаще обращают на себя внимание, потому что лабораторные исследования выявляют повышенные печеночные aminotransferases, или стеатоз печени обнаруживают случайно при визуализации органов брюшной полости. После развития стеатогепатита риск цирроза увеличивается по сравнению с простым стеатозом. Согласно публикации Bertot и Adams (*Int J Mol Sci*. 2016;17(5):774-85), анализируется скорость прогрессирования у пациентов с НАЖБП к НАСГ, от НАЖБП к НАСГ с фиброзом, от НАСГ к циррозу печени, связанному с НАЖБП, и от НАСГ с фиброзом к гепатоцеллюлярной карциноме. Существует явно повышенный риск прогрессирования к циррозу печени у пациентов с НАСГ, и около 25% пациентов с НАЖБП могут прогрессировать к НАСГ в течение 3-летнего периода. После установления НАСГ и в зависимости от дополнительных факторов риска у 38% пациентов со временем развивается цирроз печени, связанный с НАЖБП.

Как указано выше, один аспект настоящего изобретения относится к применению соединения формулы I или фармацевтической композиции, содержащей это соединение, в способе лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Более точно, болезненное состояние, подлежащее лечению, представляет собой неалкогольную жировую печень (НАЖП), неалкогольный

стеатогепатит (НАСГ), фиброз печени, связанный с НАЖБП или цирроз печени, связанный с НАЖБП.

В более конкретных аспектах соединение формулы I или фармацевтическая композиция, содержащая такое соединение, предназначена для применения в 5 способе профилактики или лечения неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). НАСГ может быть связан или не связан с различными стадиями фиброза печени, включая цирроз печени.

В 2005 г. Комитет по патологии Сети клинических исследований НАСГ (CRN) разработал так называемый «балл активности НАЖБП (NAS)» для 10 использования в клинических испытаниях (Kleiner и др., Hepatology 2005, vol. 41, pp. 1313-1321). Для диагностики НАЖБП и тяжести ее компонентов могут также использоваться другие системы оценки.

NAS специально включает признаки активного повреждения, которые 15 потенциально обратимы в краткосрочной перспективе. NAS определяется как невзвешенная сумма подбаллов для (i) стеатоза, (ii) лобулярного воспаления и (iii) гепатоцеллюлярного баллонирования. Каждый подбалл оценивается полуколичественно, как описано в следующей Таблице 1.

Таблица 1: Определение подбаллов NAS

| Подбалл | определение | балл |
|---|--|------|
| гистологический признак | | |
| стеатоз (0-3) | | |
| оценка | поражение паренхимы стеатозом от низкой до средней силы (% клеток) | |
| | <5% | 0 |
| | 5% - 33% | 1 |
| | > 33% - 66% | 2 |
| | >66% | 3 |
| лобулярное воспаление (0-3) | | |
| | общая оценка всех фокусов воспаления | |
| | нет фокусов | 0 |
| | от 1 до < 2 фокусов на поле 200x | 1 |
| | от 2 до 4 фокусов на поле 200x | 2 |
| | > 4 фокусов на поле 200x | 3 |
| гепатоцеллюлярное баллонирование (0-2) | | |
| | нет баллонированных клеток | 0 |
| | несколько баллонированных клеток (редкие, но определенные баллонированные гепатоциты; включены случаи, которые являются диагностически пограничными) | 1 |
| | много баллонированных клеток / заметное баллонирование | 2 |

Обычно НАЖБП определяется наличием стеатоза в $> 5\%$ гепатоцитов, НАСГ определяется наличием, кроме того, гепатоцеллюлярного баллонирования любой степени и лобулярных воспалительных инфильтратов в любом количестве (Bedossa и др., *Hepatology* 2015, vol. 56, pp. 1751-1759).

- 5 Диагностирование НАЖБП и НАСГ согласно настоящему изобретению описано в следующей Таблице 2:

Таблица 2: Алгоритм диагностирования НАЖП по сравнению с НАСГ в соответствии с подбаллами NAS

| стеатоз | (гепатоцит) баллонирование | (лобулярное) воспаление | диагноз |
|---------|----------------------------|-------------------------|-----------|
| 0 | 0, 1, 2 | 0, 1, 2, 3 | Нет НАЖБП |
| 1, 2, 3 | 0 | 0 | НАЖП |
| 1, 2, 3 | 0 | 1 | НАЖП |
| 1, 2, 3 | 0 | 2 | НАСГ |
| 1, 2, 3 | 0 | 3 | НАСГ |
| 1, 2, 3 | 1 | 0 | НАСГ |
| 1, 2, 3 | 1 | 1 | НАСГ |
| 1, 2, 3 | 1 | 2 | НАСГ |
| 1, 2, 3 | 1 | 3 | НАСГ |
| 1, 2, 3 | 2 | 0 | НАСГ |
| 1, 2, 3 | 2 | 1 | НАСГ |
| 1, 2, 3 | 2 | 2 | НАСГ |
| 1, 2, 3 | 2 | 3 | НАСГ |

- 10 Соответственно, в контексте настоящего изобретения пациент диагностируется как страдающий НАЖБП, если по крайней мере подбалл для стеатоза (иногда также называемый в данном документе «подбалл стеатоза» или просто «балл стеатоза») составляет > 1 . НАСГ можно отличить от НАЖП или простого стеатоза по наличию баллонирования гепатоцитов (иногда также
- 15 называемого здесь «подбалл баллонирования» или просто «балл баллонирования») с некоторой степенью воспаления или без нее (иногда также называемой здесь «подбалл воспаления» или просто «балл воспаления»). В этом контексте устранение НАСГ определяется как исчезновение баллонирования (подбалл = 0), вместе с исчезновением лобулярного воспаления или сохранением
- 20 только легкого лобулярного воспаления (подбалл = 0 или 1) (Kleiner and Bedossa, *Gastroenterology* 2015, vol 149, pp. 1305-1308). Это определение было использовано для алгоритма диагностирования, описанного в Таблице 2.

Для оценки эффективности соединений по изобретению определяют не только NAS, но и балл фиброза. Балл фиброза можно, например, определить

согласно Kleiner и др. (Hepatology 2005, vol. 41, pp. 1313-1321; также упоминается здесь как «балл фиброза Кляйнера»), как обобщенно в следующей Таблице 3.

Таблица 3. Определение шкалы фиброза Кляйнера

| Фиброз | комментарии | балл |
|--|---|-------------|
| отсутствует | | 0 |
| портальный/перипортальный | легкий фиброз | 1 |
| перисинусоидальный и портальный/перипортальный | умеренный фиброз между портальными областями, но без разрушения дольковой структуры | 2 |
| мостовидный фиброз | фиброзные мостики между портальными областями и между портальными областями и центральными венами | 3 |
| цирроз печени | сформированы дополнительные псевдодольки | 4 |

5

В то время как NAS определяет степень НАЖП и НАСГ (более высокий балл означает более высокую активность заболевания), балл фиброза Кляйнера определяет степень прогрессирования фиброза. Снижение NAS имеет значение только в том случае, если фиброз не прогрессирует. Таким образом, присутствует положительная реакция на лечение, если нет ухудшения (т.е. увеличения) или улучшение (более низкий балл) в NAS, в частности исчезновение баллонирования гепатоцитов (балл баллонирования = 0), при отсутствии ухудшения (т.е. повышения) по баллу фиброза Клейнера.

10

Фармацевтические композиции

Изобретение также распространяется на композиции, такие как фармацевтические композиции, содержащие соединение формулы I, для применения в способе профилактики или лечения метаболического заболевания печени, в частности, для лечения НАЖБП и/или НАСГ. Как и во всех аспектах изобретения, следует понимать, что ссылка на соединение формулы I включает ссылку на соединения в форме фармацевтически приемлемой соли.

20

Соединения формулы I могут быть приготовлены в виде фармацевтических композиций, подходящих для введения и обычно содержащих терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения по изобретению вместе с фармацевтически приемлемым носителем, эксципиентом или наполнителем.

25

Термин «фармацевтически приемлемый носитель» включает любой из стандартных фармацевтических носителей. Фармацевтически приемлемые носители для терапевтического применения хорошо известны в области фармацевтики и описаны, например, в “Remington's Pharmaceutical Sciences”, 17th edition, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985. Например, можно использовать стерильный физиологический раствор и фосфатно-солевой буфер со слабокислым или физиологическим рН. Подходящими рН-буферными агентами могут быть, например, фосфат, цитрат, ацетат, трис(гидроксиметил)аминометан (ТРИС), N-трис(гидроксиметил)метил-3-аминопропансульфоновая кислота (ТАПС), бикарбонат аммония, диэтаноламин, гистидин, аргинин, лизин или ацетат (например, в виде ацетата натрия) или их смеси. Этот термин также включает любые агенты-носители, перечисленные в Фармакопее США для применения к людям.

Фармацевтическая композиция по изобретению может быть представлена в виде единичной лекарственной формы. В такой форме композиция разделена на единичные дозы, содержащие соответствующие количества активного компонента или компонентов. Единичная лекарственная форма может быть представлена в виде упакованного препарата, где указанная упаковка содержит дискретные количества препарата, например, упакованные таблетки, капсулы или порошки во флаконах или ампулах. Единичная лекарственная форма также может быть, например, капсулой, саше или таблеткой сама по себе, или она может представлять собой подходящее количество любой из этих упакованных форм. Единичная лекарственная форма также может быть представлена в форме для инъекций в устройстве для применения, например, в форме шприц-ручки или автоинъектора, содержащего жидкофазную (обычно водную) композицию.

Подкожное введение является наиболее распространенным способом применения терапевтических пептидов в целом, и также представляется подходящим для соединений формулы I. В этом случае может быть использовано одноразовое устройство для введения (обеспечивает количество соединения для единичной дозы лекарства) или многоразовое устройство для введения (обеспечивает количество соединения для более чем одной дозы лекарства). Подходящие устройства включают автоинжектор (например, для одноразового использования) или шприц-ручки (например, для многоразового

использования), содержащие картридж с жидким (например, водным) составом соединения.

Дозы

Обычная доза соединения в соответствии с формулой I может находиться в диапазоне от примерно 0,0005 до примерно 5 мг/кг массы тела в неделю, например от примерно 0,001 до примерно 0,5 мг/кг массы тела в неделю. Точная используемая доза может зависеть, среди прочего, от: характера и тяжести заболевания или расстройства, подлежащего лечению, от пола, возраста, массы тела и общего состояния субъекта, подлежащего лечению, от возможного другого сопутствующего заболевания или расстройства, которое подвергается или должно подвергаться лечению, а также от других факторов, которые будут известны практикующему врачу в данной области техники.

Комбинированная терапия

Соединение согласно формулы I может быть введено как часть комбинированной терапии вместе с другим активным агентом для лечения заболевания печени, например НАЖБП, в частности НАЖП, НАСГ или фиброза печени, связанного с НАЖБП. В таких случаях два активных агента могут быть введены вместе или по отдельности, т. е. в качестве компонентов одной и той же фармацевтической композиции или состава или в виде отдельных составов.

Таким образом, пептид, согласно настоящему изобретению, можно применять в комбинации с другим фармацевтически активным соединением, включая, но не ограничиваясь указанными, соединения, выбранные из группы, состоящей из

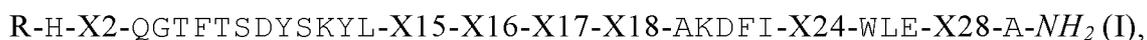
ингибитора AOC3, активатора sGC, агониста FGF21, агониста GDF15, ингибитора HSD17B13, ингибитора КНК, ингибитора RORc, ингибитора cGAS, ингибитора STING, ингибитора ACC, агониста FXR, бета-агониста THR, агониста FGF19, ингибитора NLRP3, ингибитора KLB/FGFR1c, ингибитора PNPLA3, ингибитора альфа-V бета-интегрин, ингибитора лейкотриена и ингибитора SGLT2.

В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к устройству, содержащему соединение в соответствии с формулой I или комбинацию, как определено выше, или фармацевтическую композицию согласно изобретению, для доставки соединения субъекту.

КОНКРЕТНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Описаны дополнительные варианты осуществления изобретения:

1. Соединение, имеющее общую формулу I



5 в которой

R выбран из H, C₁₋₄ алкила и ацетила;

X2 выбран из Aib и Ac4c;

X15 выбран из Asp и Glu;

X16 выбран из Glu и Ψ;

10 X17 выбран из Arg и Ψ;

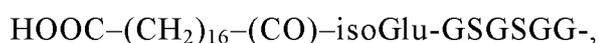
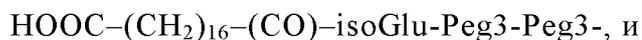
X18 выбран из Ala и Arg;

X24 выбран из Glu и Ψ;

X28 выбран из Ser и Ψ;

при этом соединение содержит один и только один Ψ,

15 и при этом указанный Ψ представляет собой остаток Lys, в котором аминогруппа боковой цепи конъюгирована с заместителем, выбранным из группы, состоящей из



20 для применения в способе профилактики или лечения метаболического заболевания печени.

2. Соединение согласно варианту осуществления 1 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X2 представляет собой Aib.

3. Соединение согласно варианту осуществления 1 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X2 представляет собой Ac4c.

4. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 3 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X15 представляет собой Asp.

5. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 4 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X16 представляет собой Glu.

6. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 4 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X16 представляет собой Ψ.

7. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 6 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X17 представляет собой Arg.

5 8. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 6 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X17 представляет собой Ψ.

9. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 8 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X18 представляет собой Ala.

10 10. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 8 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X18 представляет собой Arg.

15 11. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 10 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X24 представляет собой Glu.

12. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 10 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X24 представляет собой Ψ.

20 13. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 12 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X28 представляет собой Ser.

14. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 12 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где X28 представляет собой Ψ.

25 15. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 14 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где Ψ представляет собой Lys(-Peg₃-Peg₃-isoGlu-(CO)-(CH₂)₁₆-COOH).

30 16. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 14 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, где Ψ представляет собой Lys(-GSGSGG-isoGlu-(CO)-(CH₂)₁₆-COOH).

17. Вариант осуществления 1, в котором соединение представляет собой H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-карбоксии-гептадеканоил]-isoGlu-Peg₃-Peg₃)-RAAKDFIEWLESA-NH₂ (Соединение 1).

18. Вариант осуществления 1, в котором соединение представляет собой *H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K*([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH₂ (Соединение 2).

5 19. Вариант осуществления 1, в котором соединение представляет собой *H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K*([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH₂ (Соединение 3).

20. Вариант осуществления 1, в котором соединение представляет собой *H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K*([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH₂ (Соединение 4).

10 21. Вариант осуществления 1, в котором соединение представляет собой *H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K*([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH₂ (Соединение 5).

15 22. Вариант осуществления 1, в котором соединение представляет собой *H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K*([17-карбокси-гептадеканоил]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH₂ (Соединение 6).

23. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 22, где соединение представлено в форме соли, более конкретно, в форме фармацевтически приемлемой соли.

20 24. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 23, для применения в способе профилактики или лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) (включая неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), неалкогольную жировую печень (НАЖП) или фиброз и/или цирроз печени, связанный с НАЖБП).

25 25. Вариант осуществления 24, где метаболическим заболеванием печени является НАЖП.

26. Вариант осуществления 24, где метаболическим заболеванием печени является НАСГ, необязательно НАСГ, связанный с фиброзом печени (например, выраженным фиброзом печени).

30 27. Вариант осуществления 24, где метаболическим заболеванием печени является фиброз печени, связанный с НАЖБП, например выраженный фиброз печени (стадия фиброза средняя (F2) и тяжелая (F3)).

28. Вариант осуществления 24 для применения к пациентам с баллом NAS не менее 2.

29. Вариант осуществления 25 для применения к пациентам с баллом NAS не менее 2.
30. Вариант осуществления 26 для применения к пациентам с баллом NAS не менее 2.
- 5 31. Вариант осуществления 24 для применения к пациентам с баллом NAS не менее 3.
32. Вариант осуществления 25 для применения к пациентам с баллом NAS не менее 3.
- 10 33. Вариант осуществления 26 для применения к пациентам с баллом NAS не менее 3.
34. Вариант осуществления 24 для применения к пациентам с баллом NAS не менее 4.
35. Вариант осуществления 25 для применения к пациентам с баллом NAS не менее 4.
- 15 36. Вариант осуществления 26 для применения к пациентам с баллом NAS не менее 4.
37. Вариант осуществления согласно любому из вариантов 28 - 36, при этом не менее 1 балла NAS возникает от подбалла баллонирования.
- 20 38. Вариант осуществления согласно любому из вариантов 28, 30, 31, 33, 34 и 36, при этом не менее 1 балла NAS, каждый возникает от подбалла баллонирования и подбалла воспаления.
39. Вариант осуществления согласно любому из вариантов 28 - 38, при этом балл NAS подтвержден биопсией.
- 25 40. Соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 23, для применения в способе профилактики прогрессирования НАЖП, НАСГ или фиброза печени, связанного с НАЖБП.
41. Любой из вариантов осуществления 24 - 40, при этом способ включает предотвращение ухудшения одного из подбаллов NAS (стеатоза, воспаления или баллонирования).
- 30 42. Любой из вариантов осуществления 24 - 41, при этом способ включает предотвращение ухудшения балла NAS.
43. Любой из вариантов осуществления 24 - 42, при этом способ включает улучшение подбалла стеатоза.

44. Любой из вариантов осуществления 24 - 43, при этом способ включает улучшение подбалла баллонирования.

45. Любой из вариантов осуществления 24 - 44 для применения к пациентам с избыточной массой тела или ожирением.

5 46. Любой из вариантов осуществления 24 - 44 для применения к пациентам с ожирением.

47. Любой из вариантов осуществления 24 - 44 для применения к пациентам с ИМТ ≥ 27 кг/м².

10 48. Вариант осуществления 47, в котором у пациента есть дополнительные сопутствующие заболевания, связанные с ожирением.

49. Вариант осуществления 48, в котором сопутствующие заболевания выбирают из группы, состоящей из диабета 2 типа, гипертонии, дислипидемии, апноэ во сне и сердечно-сосудистых заболеваний.

15 50. Любой из вариантов осуществления 24 - 44 для применения к пациентам с ИМТ ≥ 30 кг/м².

51. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 23 и фармацевтически приемлемый носитель для применения в способе профилактики или лечения метаболического заболевания печени.

20 52. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 23 и фармацевтически приемлемый носитель для применения в способе лечения НАЖБП (включая НАСГ, НАЖП и фиброза и/или цирроза печени, связанного с НАЖБП).

25 53. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 23 и фармацевтически приемлемый носитель для применения в способе лечения НАЖП, НАСГ или фиброза печени, связанного с НАЖБП.

30 54. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 23 и фармацевтически приемлемый носитель для применения в способе лечения НАСГ.

55. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 23 и фармацевтически приемлемый носитель для применения согласно любому из вариантов осуществления 28 - 39.

56. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно любому из вариантов осуществления 1 - 23 и фармацевтически приемлемый носитель для применения в способе профилактики или лечения НАСГ, необязательно НАСГ, связанного с фиброзом печени (например, выраженным фиброзом печени), у пациента с баллом NAS не менее 4.

57. Способ профилактики или лечения метаболического заболевания печени у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения по любому из вариантов осуществления 1 - 23.

58. Способ лечения НАСГ, в частности НАСГ, связанного с фиброзом печени, у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения по любому из вариантов осуществления 1 - 23.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

Фигура 1: а) Уменьшение стеатоза печени у мышей с ожирением, вызванным диетой (DIO)/триглицериды печени (Пример 1)

б) Снижение АЛТ в плазме у мышей DIO/АЛТ

Статистический анализ выполняли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим тестом множественных сравнений Даннета. Значимые различия отмечены звездочками (**, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$).

Фигура 2: Эффект лечения соединением 5 в дозах 80 мкг/кг, 120 мкг/кг и 160 мкг/кг (ежедневно - qd) и лираглутидом в дозе 400 мкг/кг qd в течение восьми недель на мышях с НАСГ, алиментарно-индуцированным AMLN, по сравнению с контрольными животными, которым вводили носитель, на той же диете. (Пример 2)

а) Масса тела в начале исследования и через 55 дней лечения.

б) Общий балл активности НАЖБП после прекращения лечения на 56-й день.

в) Изменение балла активности НАЖБП (предварительная биопсия до начала лечения по сравнению с биопсией после лечения).

д) Изменение балла активности НАЖБП (с поправкой на носитель).

е) Компоненты балла активности НАЖБП (стеатоз печени, лобулярное воспаление, баллонирование гепатоцитов) в конце исследования.

ф) Изменение балла фиброза

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Влияние на ожирение печени у мышей DIO (ожирение, вызванное диетой)

СПОСОБ

5 Самцов мышей C57BL/6J получали от Charles River (Зульцфельд, Германия) в возрасте 6-7 недель. По прибытии в комплекс для животных их кормили без ограничений гранулированным рационом № 3808 от Provimi Kliba (Кайзераугст, Швейцария) и они имели свободный доступ к питьевой воде. Через одну неделю животных переводили на диету с высоким содержанием жиров, при этом 45%
10 метаболизируемой энергии поступало от жиров (ssniff EF R/M в соответствии с D12451 (I) мод.; ssniff Spezialdiäten GmbH, Зост, Германия). Через 25 недель на диете с высоким содержанием жиров животных рандомизировали в группы с одинаковой средней массой тела (день 0). В исследовании использовалась дополнительная контрольная группа (тощий контроль), состоящая из животных,
15 которые оставались на стандартной диете с низким содержанием жиров (диета № 3808 от Provimi Kliba). Возраст мышей на момент начала лечения соединением составлял 32-33 недели.

Все животные получали подкожную инъекцию два раза в день, первую в 7 часов утра и вторую через 8 часов в 15 часов дня. Соединение 5 вводили один
20 раз в день в 7 часов утра путем подкожной инъекции с последующей дополнительной инъекцией носителя через 8 часов. Лираглутид вводили два раза в день в 7 часов утра и в 15 часов дня путем подкожной инъекции. Контрольным животным (либо на диете с высоким содержанием жиров, либо на группе тощего контроля) дважды в день вводили носитель (25 мМ PBS). Массу тела измеряли
25 ежедневно перед утренним введением. Первую дозу вводили в 1-й день, последнюю дозу - на 28-й день. Животных умерщвляли сразу же после конечного забора крови на 29-й день путем цервикальной дислокации. Аликвоту около 100 мг из левой боковой доли печени использовали для измерения триглицеридов в печени.

30 АЛТ (аланин-аминотрансферазу) в плазме измеряли с помощью автоматического клинического анализатора (Cobas Integra 400 plus; Roche Diagnostics, Мангейм, Германия). Для определения триглицеридов печени, 100 мг ткани левой латеральной доли экстрагировали 1 мл изопропанола с использованием пробирок Fastprep (Mp Biomedicals). Триглицериды в

надосадочной жидкости измеряли с помощью автоматического клинического анализатора (Cobas Integra 400 plus; Roche Diagnostics, Мангейм, Германия).

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Жир в печени измеряли на 29-й день в конце исследования после 12-
5 часового голодания (Фиг. 1a). Среднее содержание триглицеридов в печени животных, получавших носитель, на диете с высоким содержанием жиров указывает на стеатоз печени (203 мг/г печени) по сравнению с животными из группы тощего контроля (53 мг/г печени). Триглицериды печени были
10 значительно снижены на 63 мг/г и -146 мг/г после ежедневного приема соединения 5 в дозах 10 и 30 нмоль/кг (40 мкг/кг и 120 мкг/кг, соответственно). Лираглутид (10 нмоль/кг два раза в день, 40 мкг/кг два раза в день) снижал уровень триглицеридов в печени на -27 мг/г, что было значительно меньше, чем при приеме соединения 5 в дозе 10 нмоль/кг ежедневно. В целом, соединение 5 оказывает большее влияние на снижение уровня триглицеридов в печени по
15 сравнению с лираглутидом.

Трансаминаза АЛТ, которая в основном экспрессируется в печени, показала сильно повышенные средние уровни в плазме животных на диете с высоким содержанием жиров, получавших носитель (404 ЕД/л; Фиг. 1b) по сравнению с животными из группы тощего контроля (38 ЕД/л), что указывает на повреждение
20 клеток печени, вызванное стеатозом, в этой модели мышей DIO. АЛТ значительно снизилась на 250 ЕД/л и -347 ЕД/л после ежедневного приема 10 и 30 нмоль/кг соединения 5. Лираглутид снижал АЛТ на -188 ЕД/л, что было значительно меньше, чем при ежедневном приеме дозы 10 нмоль/кг соединения 5. Более выраженное снижение АЛТ в плазме под действием
25 соединения 5 сопровождается более значительным снижением уровня триглицеридов в печени, чем у лираглутида.

Пример 2: Эффективность в мышинной модели НАСГ, индуцированного диетой

СПОСОБ

30 Соединение 5 и лираглутид исследовали на мышинной модели НАСГ (мышинная модель НАСГ, индуцированного диетой), как описано у Kristiansen и др. (World Journal of Hepatology 2016, vol. 8, pp. 673-684). Мышам C57BL/6J обеспечивали свободный доступ к диете (D09100301, Research Diet, США) с высоким содержанием жиров (40 %, из них 18 % транс-жиров), углеводов (40 %,

из них 20 % фруктозы) и холестерина (2%), которая ранее была описана как диета AMLN (Clapper и др., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2013, vol. 305, pp. G483-G495). Контрольная группа содержалась на обычном корме для грызунов (Altromin 1324, Брогорден, Дания). Через 26 недель пребывания на диете, была выполнена биопсия печени для гистологической оценки НАСГ и фиброза в начале исследования. Для этого мышей анестезировали ингаляционным наркозом с использованием изофлурана (2-3%). Делали небольшой разрез брюшной полости по средней линии и обнажали левую латеральную долю печени. Конусообразный клин ткани печени (примерно 50 мг) вырезали из дистальной части доли и фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (4% формальдегид) для гистологии. Поверхность среза печени мгновенно электрокоагулировали методом биполярной коагуляции (электрохирургический аппарат ERBE VIO 100). Печень возвращали в брюшную полость, брюшную стенку ушивали, и кожу закрывали степлером. Для послеоперационного восстановления мышам вводили карпрофен (5 мг/кг) подкожно в день операции и в 1 и 2 день после операции.

Для гистологической оценки предметные стекла с залитыми парафином срезами депарафинировали в ксилоле и регидратировали в сериях градуированного этанола. Для окрашивания гематоксилином и эозином (H&E) предметные стекла инкубировали в гематоксилине Майера (Dako), промывали водопроводной водой, окрашивали раствором эозина Y (Sigma-Aldrich), гидратировали, заключали в Pertex и затем давали высохнуть перед сканированием. Для окрашивания красным Сириусом предметные стекла инкубировали в гематоксилине железа Вейгерта (Sigma-Aldrich), промывали водопроводной водой, окрашивали красным Пикросириусом (Sigma-Aldrich) и дважды промывали подкисленной водой. Избыток воды удаляли путем встряхивания предметных стекол, а затем предметные стекла гидратировали в трех сменах 100% этанола, очищали ксилолом и заключали в Pertex, и давали высохнуть перед сканированием.

Гистологическую оценку проводил патологоанатом, не принимавший участие в исследовании. Балл активности НАЖБП и балл фиброза определяли в соответствии с клиническими критериями, изложенными Kleiner и др. (Hepatology 2005, vol. 14, pp. 1313- 1321).

Животных рандомизировали в разные группы лечения в зависимости от массы тела и степени фиброза. Период лечения составлял восемь недель, в течение которых животные оставались на диете AMLN. Соединения вводили путем подкожной инъекции один раз в сутки. В качестве контроля были включены животные на диете AMLN, которым вводили носитель, а также животные на обычном корме для грызунов, которых не подвергали обработке. Размер групп составлял от 10 до 14 животных.

После лечения образцы терминальной печени были собраны и проанализированы так же, как и при предварительной биопсии.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Соединение 5 (суточные дозы 80 мкг/кг, 120 мкг/кг и 160 мкг/кг) и лираглутид (суточная доза 400 мкг/кг) исследовали в модели НАСГ, индуцированной диетой. Исходно, через 26 недель на диете AMLN, масса тела животных составляла от 38 до 40 г и была значительно выше, чем в группе тощего контроля, но существенно не отличалась между группами лечения. После 8 недель лечения при всех дозах соединения 5 и лираглутида была достигнута значительная потеря массы тела аналогичной степени по сравнению с носителем. Масса тела значительно различалась между соединением 5 в дозе 120 мкг/кг ежедневно (32,0 г) или 160 мкг/кг ежедневно (31,2 г) и лираглутидом (33,8 г) (Фиг. 2а).

По прошествии 8 недель лечения балл активности НАЖБП (NAS) был значительно ниже при всех дозах соединения 5 и лираглутида, чем в группе, получавшей носитель (6,2). Средний ранг соединения 5 при 120 мкг/кг ежедневно (3,3) или 160 мкг/кг ежедневно (3,2) был значительно ниже, чем средний ранг группы лираглутида (4,1) (Фиг. 2b). Лечение соединением 5 при всех дозах или лираглутидом также приводило к значительному улучшению NAS по сравнению с исходным уровнем по сравнению с животными, получавшими носитель (Фиг. 2c). В то время как NAS увеличился на 0,9 балла в группе, получавшей носитель, он снизился на 2,0 балла, 2,5 балла и 2,4 балла с соединением 5 при дозах 80, 120 и 160 мкг/кг ежедневно, соответственно. Снижение на 1,8 балла при применении лираглутида статистически не отличалось от исходного снижения NAS, достигнутого при использовании соединения 5. Исходное изменение NAS с поправкой на носитель показано на Фиг. 2d.

Отдельные компоненты NAS (баллы стеатоза, воспаления и баллонирования гепатоцитов) показаны на Фиг. 2е. После 8 недель лечения балл стеатоза составил 3 у животных, получавших носитель, в то время как он значительно снизился до 1,5, 1,3 и 1,2 при дозах соединения 5 составляющих 80, 120 и 160 мкг/кг один раз в сутки. Лираглутид значительно снизил балл стеатоза до 2,1. Следует отметить, что все снижения, достигнутые с помощью соединения 5, были статистически значимыми по сравнению с лечебным эффектом лираглутида. Балл воспаления составил 2,3 у животных, получавших носитель, и он был умеренно и статистически недостоверно снижен до 2 при всех дозах соединения 5. Лираглутид значительно снизил балл воспаления до 1,9. Однако влияние соединения 5 и лираглутида на балл воспаления статистически не отличалось друг от друга. Средний ранг балла баллонирования составил 0,9 у животных, получавших носитель. Не было выявлено баллонированных клеток у животных, получавших соединение 5 в любой дозе (балл баллонирования 0), и только у нескольких животных, получавших лираглутид (балл баллонирования 0,1), при этом статистические различия между соединением 5 и лираглутидом отсутствовали.

Балл фиброза умеренно увеличивался на 0,2 у животных, получавших носитель, в то время как он оставался неизменным при применении соединения 5 в дозе 80 мкг/кг один раз в сутки и значительно снижался на 0,1 и 0,2 при применении соединения 5 в дозе 120 и 160 мкг/кг один раз в сутки. Исходное изменение балла фиброза для лираглутида составило 0,1 и существенно не отличалось от снижения, наблюдаемого для соединения 5 (Фиг. 2f).

Результаты показывают, что репрезентативный пример двойных агонистов рецептора ГПП-1/глюкагона, согласно настоящему изобретению, значительно снижает массу тела и NAS у мышей DIO-НАСГ. Улучшение балла активности НАЖБП в основном обусловлено уменьшением стеатоза печени. Снижение массы тела и стеатоза печени более выражены, чем при применении лираглутида.

Пример 3: Оценка фармакокинетических параметров

Фармакокинетические параметры исследуемых соединений определяли после внутривенного введения крысам линии Han/Wistar. Ацилированный аналог ГПП-1 семаглутид также исследовали в сравнительных целях.

Самцы крыс Wistar были получены из Charles River (Германия) и весили примерно от 180 до 210 г на момент прибытия в испытательную лабораторию. Крыс содержали в клетках европейского стандарта для крыс типа IV со световым циклом 12-часов темноты и 12-часов света. Во время исследования крыс содержали в стандартных клетках для крыс III типа. Как диету - Altromin 1324 (Altromin, Германия), так и воду обеспечивали в свободном доступе в течение всего периода эксперимента. Животных помещали в испытательную лабораторию не менее чем на 4 дня, чтобы обеспечить надлежащую акклиматизацию.

10 Соединения сначала растворяли в 0,1% водном растворе аммиака до номинальной концентрации 2 мг/мл, а затем разбавляли до желаемой дозировки (10 мкМ) в стерильном PBS, содержащем 25 мМ фосфатного буфера, pH 7,4. Внутривенные инъекции, соответствующие 20 нмоль/кг, вводили через латеральную хвостовую вену.

15 Образцы крови (200 мкл) собирали из периорбитального сплетения в моменты времени, соответствующие 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 32 и 48 ч после введения, в пробирки с КЗЭДТА и центрифугировали в течение 5 минут при 4°C в течение 20 минут подготовки образца. Образцы плазмы (>100 мкл) переносили в 96-луночные планшеты для ПЦР, немедленно замораживали и хранили при -20°C до анализа на концентрацию в плазме соответствующего соединения ГПП-1-глюкагона с использованием ЖХ-МС/МС. Индивидуальные профили зависимости концентрации в плазме от времени были проанализированы с использованием некомпартментального подхода с использованием ToxKin™ версии 3.2 (Unilog IT Services) и были определены результирующие фармакокинетические параметры. См. Таблицу 4.

Таблица 4.

| Соединение | Клиренс (мл/мин/кг) | Конечный период полувыведения (ч) | Среднее время удерживания (ч) |
|------------|---------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| 1 | 0,11 | 9,1 | 13,6 |
| 2 | 0,056 | 23,4 | 28,7 |
| 3 | 0,11 | 13,7 | 17,6 |
| 5 | 0,0595 | 22,8 | 28,5 |
| 6 | 0,0997 | 18,1 | 23,7 |

Пример 4: Краткий обзор протокола клинического испытания для оценки эффективности, безопасности и переносимости многократных подкожных (п/к) доз соединения 5 у пациентов с НАСГ и фиброзом

Конечные точки испытания

5 Первичной конечной точкой является улучшение (да / нет) по сравнению с исходным уровнем гистологических данных печени, основанных на биопсии печени, по прошествии 48 недель лечения у пациентов с НАСГ ($NAS \geq 4$, фиброз F1-F3).

Улучшение гистологических данных определяется как совокупность:

10 Улучшение НАСГ:

Снижение по крайней мере на два балла NAS, с уменьшением как минимум на один балл NAS подбалла для лобулярного воспаления или баллонирования и отсутствие ухудшения фиброза, определяемое как отсутствие какого-либо увеличения стадии фиброза

15 Вторичные конечные точки эффективности включают:

- Улучшение в отношении содержания жира в печени (да / нет), определяемое как относительное снижение содержания жира в печени не менее чем на 30% по прошествии 48 недель лечения по сравнению с исходным уровнем, оцененное по измерению протонной плотности жировой фракции с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ-ППЖФ).

20

- Абсолютное и относительное изменение содержания жира в печени по сравнению с исходным уровнем по прошествии 48 недель лечения, оцененное с помощью МРТ-ППЖФ.

25 - Улучшение в отношении фиброза (да / нет), определяемое как уменьшение стадии фиброза по крайней мере на одну стадию по прошествии 48 недель лечения, оцененное с помощью биопсии печени.

- Абсолютное изменение по сравнению с исходным уровнем NAS по прошествии 48 недель лечения, оцененное с помощью биопсии печени.

Схема клинического испытания

30 Многоцентровое, рандомизированное, дозозависимое, двойное слепое, плацебо-контролируемое, испытание в параллельных группах

Общее количество рандомизированных пациентов

240 пациентов

Количество пациентов в каждой группе лечения

60 пациентов в группе соединения 5: 2,4 мг (Группа 1)

60 пациентов в группе соединения 5: 4,8 мг (Группа 2)

60 пациентов в группе соединения 5: 6,0 мг (Группа 3)

5 60 пациентов в группе плацебо (Группа 4)

Диагноз

Неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) и фиброз

Основные критерии включения и исключения

Критерии включения:

10 - Пациенты мужского или женского пола ≥ 18 лет (или достигшие совершеннолетия в странах, где этот возраст превышает 18 лет) и ≤ 80 лет на момент получения согласия.

15 - Диагноз НАСГ (NAS ≥ 4 , минимум по 1 баллу воспаления и баллонирования, каждого) и стадии фиброза F1–F3, подтвержденные биопсией, проведенной в период скрининга, или биопсии в анамнезе в течение последних 6 месяцев до рандомизации и стабильная масса тела, определяемая как изменение массы тела менее чем на 5%, о котором сообщают сами пациенты, между биопсией в анамнезе и рандомизацией, если используется биопсия в анамнезе.

20 - Фракция жира в печени $\geq 8\%$, измеренная с помощью МРТ-ППЖФ, и жесткость печени $> 6,0$ кПа, измеренная с помощью FibroScan® во время скринингового визита (если биопсия запланирована в период скрининга, перед биопсией необходимо провести оценку МРТ-ППЖФ и FibroScan®).

- Пациенты, которые по оценке исследователя желают и способны пройти биопсию печени в соответствии с протоколом.

25 - ИМТ ≥ 25 кг/м² и масса тела ≥ 70 кг при визите 1.

Критерии исключения:

30 - Текущее или предыдущее значительное употребление алкоголя (определяется как употребление > 210 г в неделю для мужчин и > 140 г в неделю для женщин в среднем в течение более чем 3 месяца подряд) или невозможность надежной количественной оценки потребления алкоголя на основании мнения исследователя в течение последних 5 лет.

- Прием лекарств, исторически связанных с повреждением печени, стеатозом печени или стеатогепатитом в течение 12 недель до визита 1. Прием

лекарств ограниченного использования или любых лекарств, которые, как считается, могут помешать безопасному проведению исследования.

5 - Другие формы хронического заболевания печени в анамнезе (например, вирусный гепатит, аутоиммунное заболевание печени, первичный билиарный склероз, первичный склерозирующий холангит, болезнь Вильсона, гемохроматоз, дефицит A1At, трансплантация печени в анамнезе).

10 - Подозрение, диагноз или присутствие в анамнезе гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) или любого документально подтвержденного активного или предполагаемого злокачественного новообразования или присутствие в анамнезе злокачественного новообразования в течение 5 лет до скрининга, за исключением соответствующим образом пролеченного базальноклеточного рака кожи или карциномы *in situ* шейки матки.

15 - Диагноз серьезного или нестабильного заболевания, включая печеночные (кроме НАСГ), почечные, гастроэнтерологические, респираторные, сердечно-сосудистые (включая ишемическую болезнь сердца), эндокринологические, неврологические, психиатрические, иммунологические или гематологические заболевания и другие состояния, которые, по клинической оценке исследователя, могут помешать анализу безопасности и эффективности в этом исследовании. Также исключаются пациенты с трансплантацией органов в анамнезе, за
20 исключением трансплантации роговицы, и пациенты с ожидаемой продолжительностью жизни менее 2 лет.

Препарат(ы) для тестирования

Раствор для инъекций соединения 5: 0,6 мг/мл, 1,8 мг/мл, 3,6 мг/мл, 4,8 мг/мл и 6,0 мг/мл.

25 Предварительно заполненные шприцы, объем заполнения 0,5 мл.

Доза

Группа 1: начальная доза 0,3 мг с последующим повышением дозы до поддерживающей дозы 2,4 мг, два предварительно заполненных шприца один раз в неделю.

30 Группа 2: начальная доза 0,3 мг с последующим увеличением дозы до поддерживающей дозы 4,8 мг, два предварительно заполненных шприца один раз в неделю.

Группа 3: начальная доза 0,3 мг с последующим повышением дозы до поддерживающей дозы 6,0 мг, два предварительно заполненных шприца один раз в неделю.

Способ введения: Подкожно, п/к.

5 Препарат сравнения: Группа 4: Плацебо

Доза: Соответствие

Способ введения: Подкожно, п/к.

Продолжительность лечения

10 48 недель лечения, включая период повышения дозы до 24 недель и период поддерживающей терапии не менее 24 недель.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее общую формулу I



5 в котором

R выбран из H, C₁₋₄ алкила и ацетила;

X2 выбран из Aib и Ac4c;

X15 выбран из Asp и Glu;

X16 выбран из Glu и Ψ;

10 X17 выбран из Arg и Ψ;

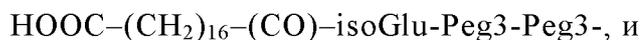
X18 выбран из Ala и Arg;

X24 выбран из Glu и Ψ;

X28 выбран из Ser и Ψ;

при этом соединение содержит один и только один Ψ,

15 и при этом указанный Ψ представляет собой остаток Lys, в котором аминогруппа боковой цепи конъюгирована с заместителем, выбранным из группы, состоящей из



20 для применения в способе профилактики или лечения метаболического заболевания печени.

2. Соединение по п. 1 для применения в соответствии с п. 1, в котором X24 представляет собой Ψ.

25

3. Соединение по п. 1 или 2 для применения в соответствии с п. 1, в котором Ψ представляет собой Lys(-GGSGSG-isoGlu-(CO)-(CH₂)₁₆-COOH).

4. Соединение по п. 1 для применения в соответствии с п. 1, где указанное

30

соединение выбрано из группы, состоящей из
 $H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17\text{-карбоксии-гептадеканойл}]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH_2$ (Соединение 1),

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-карбокси-гептадеканоил]-*isoGlu-GSGSGG*)-*WLESA-NH₂* (Соединение 2),

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-карбокси-гептадеканоил]-*isoGlu-Peg3-Peg3*)-*RAKDFIEWLESA-NH₂* (Соединение 3)

5 *H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K*([17-карбокси-гептадеканоил]-*isoGlu-GSGSGG*)-*RAAKDFIEWLESA-NH₂* (Соединение 4),

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-карбокси-гептадеканоил]-*isoGlu-GSGSGG*)-*WLESA-NH₂* (Соединение 5),

10 *H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K*([17-карбокси-гептадеканоил]-*isoGlu-GSGSGG*)-*A-NH₂* (Соединение 6).

5. Соединение по любому из п.п. 1 - 4 для применения в соответствии с п. 1, где заболевание представляет собой НАЖБП (неалкогольную жировую болезнь печени).

15 6. Соединение по любому из п.п. 1 - 4 для применения в соответствии с п. 1, где заболевание представляет собой НАЖП (неалкогольную жировую печень), НАСГ (неалкогольный стеатогепатит), фиброз печени, связанный с НАЖБП, или цирроз печени, связанный с НАЖБП.

20 7. Соединение по любому из п.п. 1 - 4 для применения в способе лечения НАСГ, в частности НАСГ, связанного с фиброзом печени.

25 8. Соединение по любому из п.п. 1 - 4 для применения в соответствии с п. 7, где пациент диагностирован как имеющий NAS (балл активности НАЖБП) по меньшей мере 4 и, необязательно, фиброз печени.

30 9. Соединение по любому из п.п. 1 - 4 для применения в соответствии с п. 8, при этом по меньшей мере 1 балл NAS возникает из подбалла баллонирования и воспаления.

10. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из п.п. 1 - 4 и фармацевтически приемлемый носитель для применения в способе профилактики или лечения метаболического заболевания печени.
- 5 11. Фармацевтическая композиция по п. 10 для применения в соответствии с п. 10, где заболевание представляет собой НАЖБП.
12. Фармацевтическая композиция по п. 10 для применения в способе лечения НАСГ, в частности, НАСГ, связанного с фиброзом печени.
- 10 13. Фармацевтическая композиция по п. 10 для применения в соответствии с п. 12, где пациент диагностирован как имеющий NAS по меньшей мере 4 и, необязательно, фиброз печени.
- 15 14. Способ профилактики или лечения метаболического заболевания печени у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения, имеющего общую формулу I.
- 20 15. Способ лечения НАСГ, в частности НАСГ, связанного с фиброзом печени, у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения, имеющего общую формулу I.

Фигура 1

а)

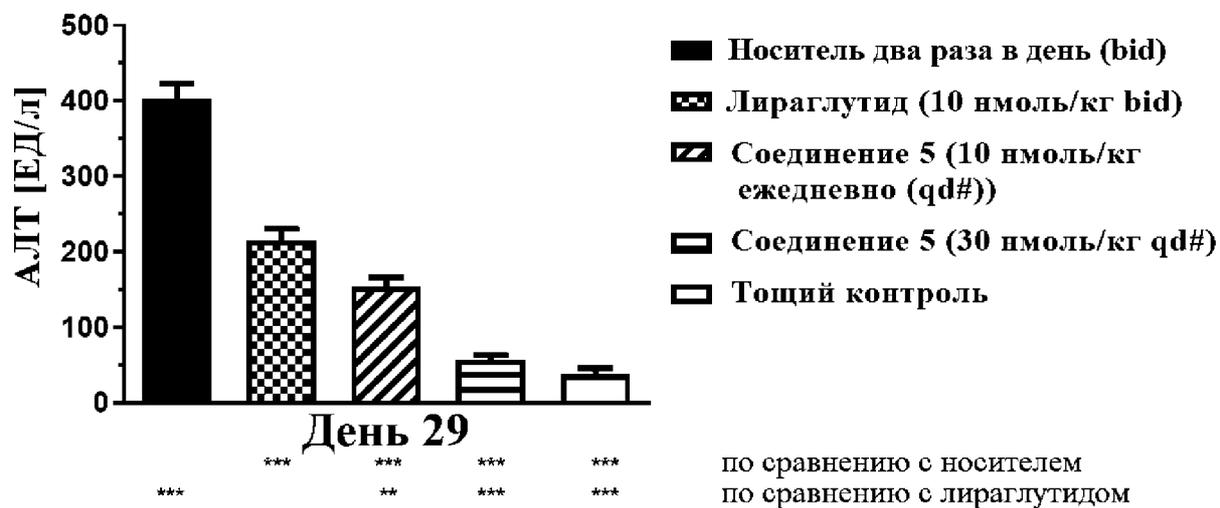


Однофакторный дисперсионный анализ (Anova) с тестом множественных сравнений Даннета

дополнительное введение носителя через 8 ч

Фигура 1

b)

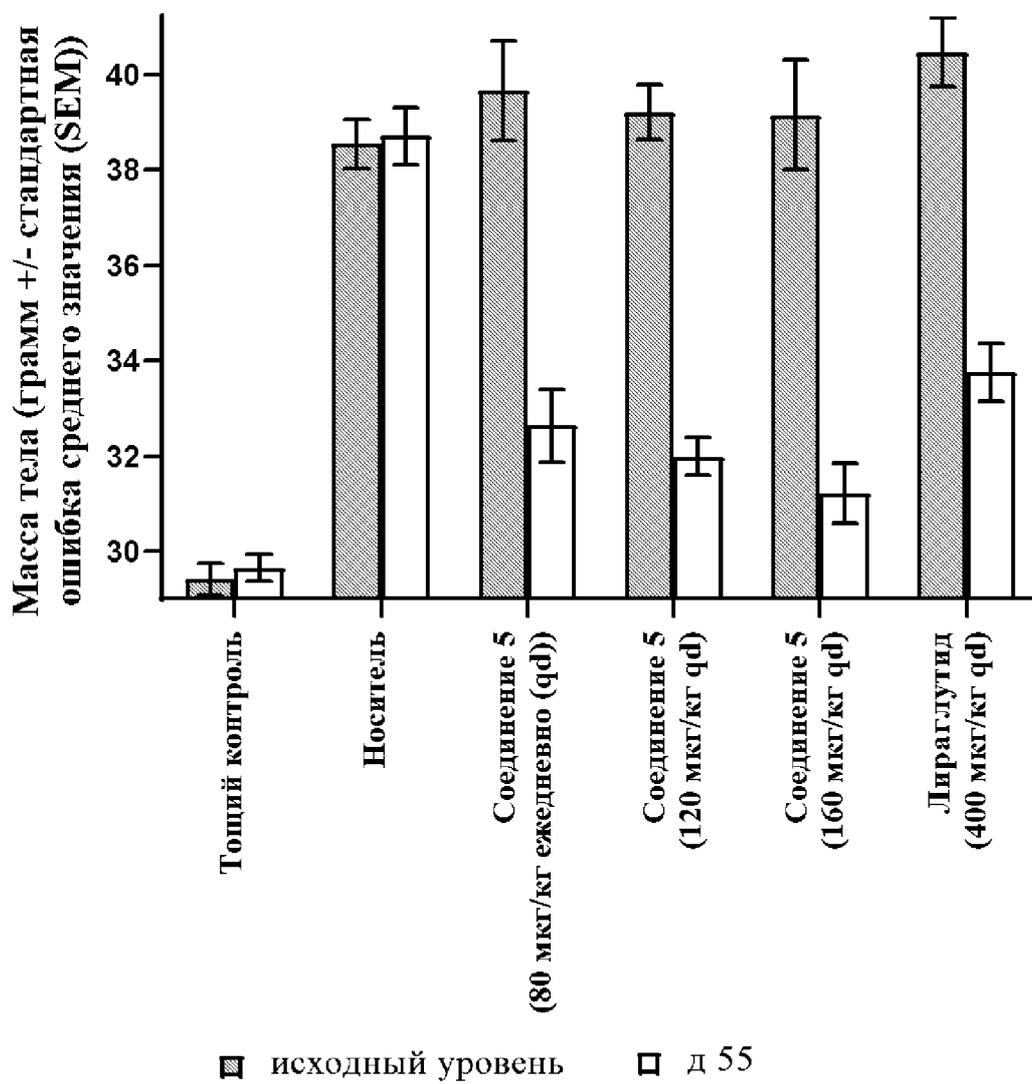
Мыши с ожирением, вызванным диетой (DIO) (n=9-10)**АЛТ в плазме мышей**

Однофакторный дисперсионный анализ (Anova) с тестом множественных сравнений Даннета

дополнительное введение носителя через 8 ч

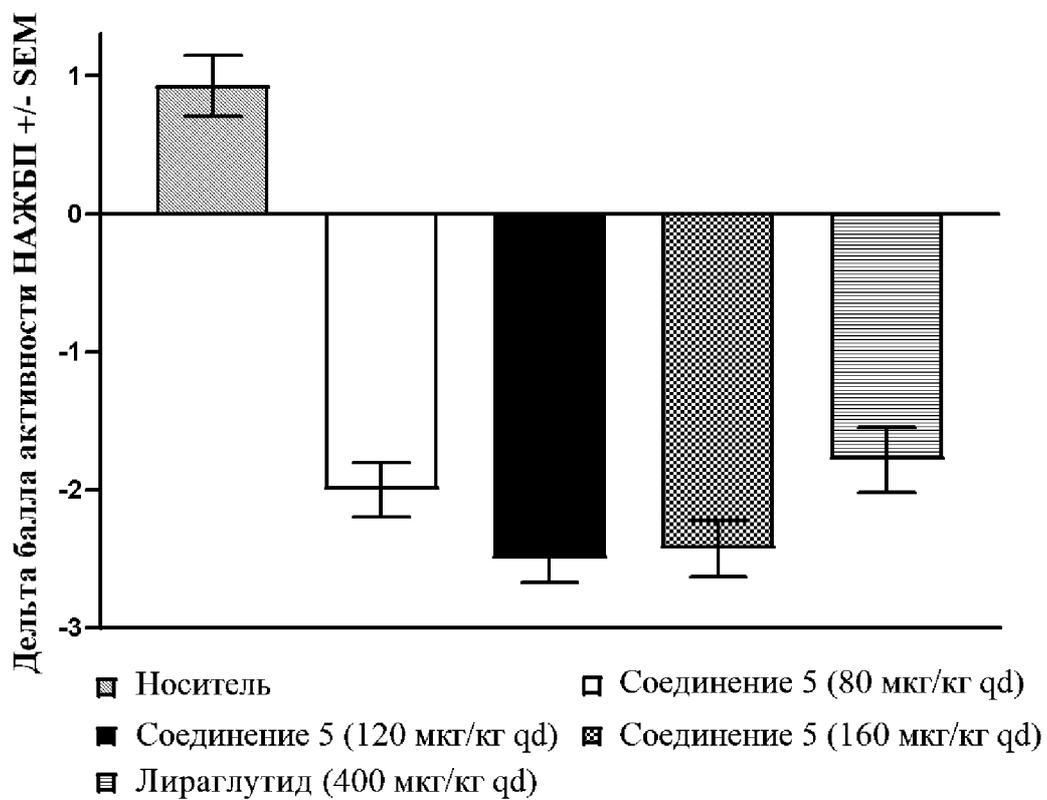
Фигура 2

а)



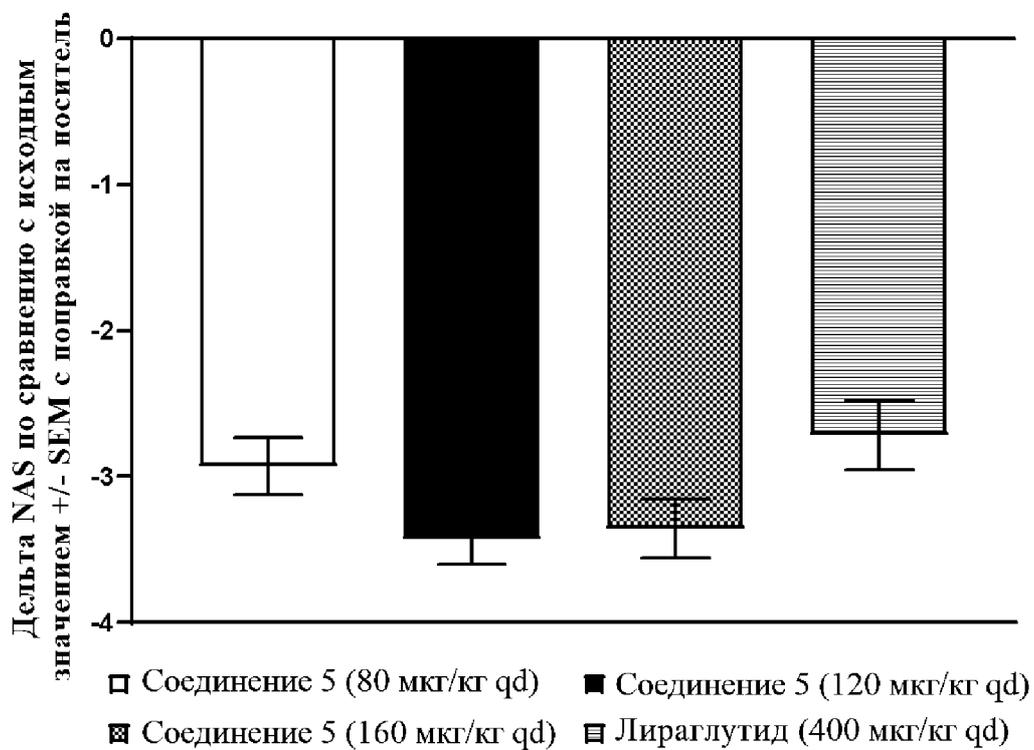
Фигура 2

с)



Фигура 2

d)



Фигура 2

е)

