

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293291 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.03.13

(22) Дата подачи заявки
2021.05.12

(51) Int. Cl. A61K 31/185 (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
C07J 9/00 (2006.01)

(54) КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ РАССТРОЙСТВ ПЕЧЕНИ

(31) 63/024,359

(32) 2020.05.13

(33) US

(86) PCT/US2021/032083

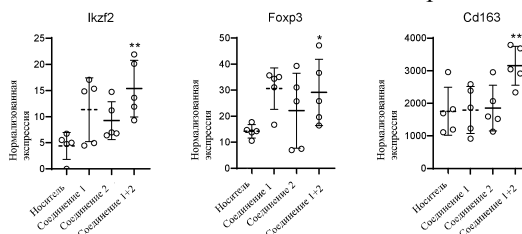
(87) WO 2021/231644 2021.11.18

(71) Заявитель:
ТЕРНС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
Фено Мартейн, Клачер Кевин, Джоунс
Кристофер Т. (US)

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

(57) В изобретении предложены способы лечения расстройств печени, включая неалкогольный стеатогепатит, а также его симптомы и проявления, у пациента, в которых применяют, среди прочего, комбинированное лечение агонистом FXR и ингибитором SSAO.



202293291

A1

A1

202293291

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576566EA/055

КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ РАССТРОЙСТВ ПЕЧЕНИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

В этой заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке США № 63/024359, поданной 13 мая 2020 г., которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Данное изобретение относится к способам и композициям для лечения расстройства печени у пациента.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Жировая болезнь печени (ЖБП) охватывает спектр болезненных состояний, характеризующихся чрезмерным накоплением жира в печени, часто сопровождающимся воспалением. ЖБП может привести к неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), которая может характеризоваться инсулинорезистентностью. При отсутствии лечения НАЖБП может прогрессировать до стойкой воспалительной реакции или неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), прогрессирующего фиброза печени и в конечном итоге до цирроза. В Европе и США НАЖБП является второй наиболее частой причиной трансплантации печени. Соответственно, существует острая потребность в лечении, однако из-за отсутствия явных симптомов у пациента у пациентов может отсутствовать мотивация придерживаться режимов лечения, в частности, обременительных режимов лечения, таких как вводимые посредством инъекции лекарственные препараты, лекарственные препараты, которые вводятся много раз в день или вызывают опасные или раздражающие побочные эффекты. В настоящее время не существует одобренного лечения НАСГ.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном документе предложены способы и композиции для лечения расстройства печени у пациента, нуждающегося в этом. Эти способы включают введение пациенту агониста фарнезоидного X-рецептора (Farnesoid X Receptor - FXR) и ингибитора семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase - SSAO).

В одном аспекте в изобретении предложены способы уменьшения воспаления печени у пациента, нуждающегося в этом, включающие введение пациенту терапевтически эффективного количества агониста FXR и терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO. Введение комбинации агониста FXR и ингибитора SSAO уменьшает воспаление печени у пациента, нуждающегося в этом, в значительно большей степени, чем введение любого из агонистов самого по себе. Уменьшение воспаления печени характеризуется уменьшением активации лейкоцитов в печени.

В другом аспекте в изобретении предложены способы лечения заболевания или патологического состояния, характеризующегося фиброзом печени, включающие введение пациенту терапевтически эффективного количества агониста FXR и терапевтически

эффективного количества ингибитора SSAO. Введение комбинации агониста FXR и ингибитора SSAO уменьшает фиброз у пациента, нуждающегося в этом, в значительно большей степени, чем введение любого из агонистов по отдельности. Уменьшение фиброза характеризуется гистологическим улучшением и снижением экспрессии профиброзных генов в печени.

В другом аспекте в изобретении предложены способы лечения заболевания или патологического состояния, характеризующегося стеатозом печени, включающие введение пациенту терапевтически эффективного количества агониста FXR и терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO. Было обнаружено, что комбинация агониста FXR и ингибитора SSAO уменьшает стеатоз печени частично за счет регуляции генов, участвующих в липидном метаболизме и транспорте жирных кислот. Неожиданно агонист FXR усиливает эффект ингибитора SSAO в регуляции генов, связанных с липидным метаболизмом и транспортом жирных кислот, приводя, таким образом, к уменьшению накопления жиров (например, триглицеридов) в печени. Соответственно, введение комбинации агониста FXR и ингибитора SSAO уменьшает стеатоз печени у пациента, нуждающегося в этом, в значительно большей степени, чем введение любого из агентов по отдельности.

Как указано в данном документе, синергизм, наблюдаемый при введении комбинации агониста FXR и ингибитора SSAO пациентам, нуждающимся в этом, позволяет уменьшить дозу одного или обоих из агониста FXR и ингибитора SSAO по сравнению с введением любого из агонистов в виде монотерапии. Более низкие дозы агониста FXR и ингибитора SSAO приводят к улучшению терапевтического индекса и облегчению побочных эффектов, которые иногда сопровождают агонизм FXR или ингибирование SSAO.

В некоторых вариантах осуществления введение агониста FXR и ингибитора SSAO не приводит к появлению у пациента зуда со степенью тяжести 2 или более. В некоторых вариантах осуществления введение агониста FXR и ингибитора SSAO не приводит к появлению зуда со степенью тяжести 1 или более. В некоторых вариантах осуществления введение агониста FXR и ингибитора SSAO не приводит к появлению зуда.

В другом аспекте в изобретении предложены способы лечения или предотвращения НАСГ у пациента, нуждающегося в этом, причем указанный способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества агониста FXR и терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO. В одном варианте осуществления пациент, нуждающийся в этом, представляет собой пациента, который страдает от жировой болезни печени, такой как НАЖБП. В другом варианте осуществления пациент, нуждающийся в этом, представляет собой пациента, который страдает от синдрома инсулинорезистентности.

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR и ингибитор SSAO вводят одновременно. В некоторых таких вариантах осуществления агонист FXR и ингибитор SSAO предложены в виде композиции с фиксированной дозой в одной фармацевтической

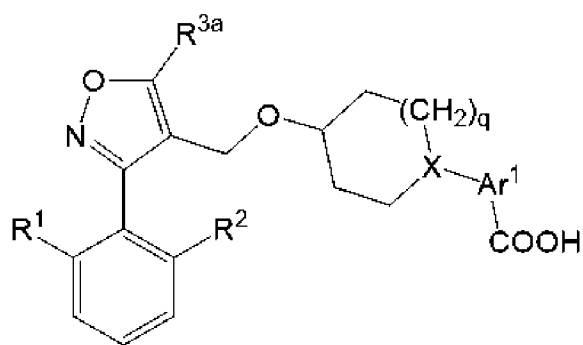
композиции, как указано в данном документе. В других вариантах осуществления агонист FXR и ингибитор SSAO вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления один или оба из агониста FXR и ингибитора SSAO вводят перорально.

В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется расстройство печени и сахарный диабет. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется расстройство печени и сердечно-сосудистое заболевание. В некоторых вариантах осуществления период лечения составляет оставшуюся продолжительность жизни пациента. В некоторых вариантах осуществления способ не включает введение антигистаминного препарата, иммунодепрессанта, стероида, рифампицина, антагониста опиоидов или селективного ингибитора обратного захвата серотонина (СИОЗС).

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR вводят один раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR вводят два раза в сутки. В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO вводят один раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO вводят два раза в сутки. В некоторых вариантах осуществления введение включает введение агониста FXR ежедневно в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель. В некоторых вариантах осуществления введение включает введение ингибитора SSAO ежедневно в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель. В некоторых вариантах осуществления введение включает введение агониста FXR ежедневно и ингибитора SSAO ежедневно в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель.

Широкий спектр различных агонистов FXR и ингибитора SSAO можно использовать для достижения благоприятных эффектов, наблюдаемых при заболевании печени, как обсуждается в данном документе. Например, в некоторых вариантах осуществления агонист FXR, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой обетихолевую кислоту. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой циклофескор. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой тропифескор. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой EYP001 (вонафескор, предложенное международное непатентованное наименование). В некоторых вариантах осуществления агонист FXR, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой MET409 (метакрин). В некоторых вариантах осуществления агонист FXR, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой MET642 (метакрин). В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой EDP-305 (от Enanta). В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой EDP-297 (от Enanta).

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой соединение формулы (I):



(I),

где:

q равно 1 или 2;

R¹ представляет собой хлор, фтор или трифторметокси;

R² представляет собой водород, хлор, фтор или трифторметокси;

R^{3a} представляет собой трифторметил, циклопропил или изопропил;

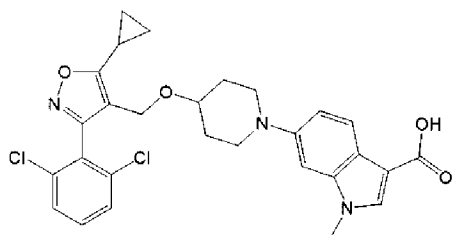
X представляет собой CH или N, при условии что когда X представляет собой CH, q равно 1; и

Ar¹ представляет собой индолил, бензотиенил, нафтил, фенил, бензоизотиазолил, индазолил или пиридилил, каждый из которых необязательно замещен метилом или фенилом,

или его фармацевтически приемлемую соль.

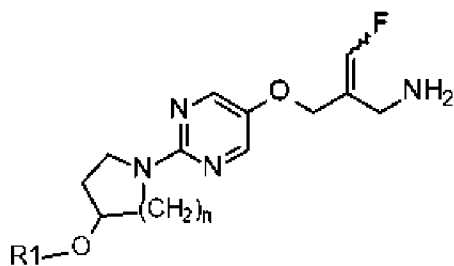
В некоторых вариантах осуществления агонист FXR, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой соединение формулы (I), где R¹ представляет собой хлор или трифторметокси. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I), где R² представляет собой водород или хлор. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I), где R^{3a} представляет собой циклопропил или изопропил. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I), где Ar¹ представляет собой 5-бензотиенил, 6-бензотиенил, 5-индолил, 6-индолил или 4-фенил, каждый из которых необязательно замещен метилом. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I), где q равно 1, а X представляет собой N.

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления ингибитора SSAO, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой соединение формулы (II):



(II),

где:

n равно 1 или 2; и

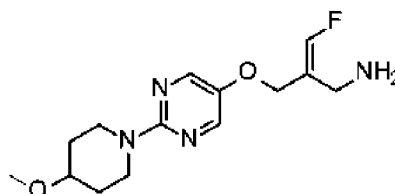
R1 представляет собой H или -CH₃,

или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой соединение формулы (II), где n равно 1, или его фармацевтически приемлемую соль. В другом варианте осуществления ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II), где n равно 2, или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO, вводимый нуждающемуся в этом пациенту, представляет собой соединение формулы (II), где R1 представляет собой H, или его фармацевтически приемлемую соль. В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предложено соединение формулы (II), где R1 представляет собой -CH₃, или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO, вводимый нуждающемуся

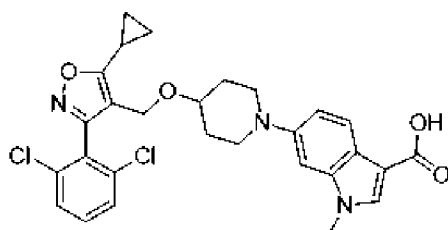


в этом пациенту, представляет собой

или его

фармацевтически приемлемую соль.

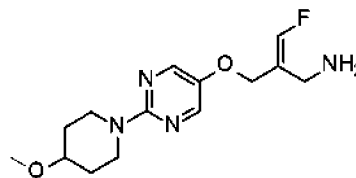
В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения расстройства печени у пациента, нуждающегося в этом, с помощью агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR) и ингибитора семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (SSAO), включающие введение терапевтически эффективного количества агониста FXR, при этом агонист FXR



представляет собой

, или его фармацевтически

приемлемой соли, и введение терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO,



при этом ингибитор SSAO представляет собой _____, или его фармацевтически приемлемой соли, при этом расстройство печени выбрано из воспаления печени, фиброза печени, алкогольного фиброза, стеатоза, алкогольного стеатоза, первичного склерозирующего холангита (ПСХ), первичного билиарного цирроза (ПБЦ), неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фиг. 1А показаны концентрации в плазме соединения 1 в различные моменты времени после внутривенного (в/в) введения крысам (1 мг/кг), собакам (1 мг/кг) и обезьянам (0,3 мг/кг).

На Фиг. 1В показаны концентрации в плазме соединения 1 в различные моменты времени после перорального введения мышам (10 мг/кг), крысам (10 мг/кг), собакам (3 мг/кг) и обезьянам (5 мг/кг).

На Фиг. 2А показано соотношение концентрации в печени и концентрации в плазме соединения 1, обетихоловой кислоты (ОХК), цилофексора или тропифексора после в/в введения 2 мг/кг крысам линии Спрег-Дули (СД).

На Фиг. 2В показано соотношение концентрации в тканях и концентрации в плазме соединения 1 для почек, легких и печени после в/в введения 2 мг/кг соединения 1 крысам линии СД с одновременным введением рифампицина или без него.

На Фиг. 3 показано распределение в тканях радиоактивно меченного соединения 1 в плазме, печени, тонком кишечнике, слепой кишке, почке, легких, сердце и коже после перорального введения 5 мг/кг соединения 1 крысам линии Лонг-Эванс.

На Фиг. 4 показана фармакодинамика введения соединения 1, измеренная с помощью 7-альфа-гидрокси-4-холестен-3-она (7АС4), после введения пероральной дозы 0,3 мг/кг, 1 мг/кг или 5 мг/кг яванским макакам.

На Фиг. 5А показана фармакокинетика введения соединения 1 после введения пероральной дозы 1 мг/кг в течение одного дня или 7 последовательных ежедневных доз яванским макакам.

На Фиг. 5В показана фармакодинамика введения соединения 1, измеренная с помощью 7-альфа-гидрокси-4-холестен-3-она (7АС4), после введения пероральной дозы 1 мг/кг в течение одного дня или 7 последовательных ежедневных доз яванским макакам.

На Фиг. 6 показаны результаты измерений кПЦР-РВ экспрессии РНК SHP1 печени, OSTb печени, SHP1 подвздошной кишки и FGF15 подвздошной кишки после введения 10 мг/кг соединения 1, 30 мг/кг ОХК или носителя в качестве контроля мышам линии C57BL/6.

На Фиг. 7А показано количество дифференциально экспрессируемых генов (по сравнению с лечением носителем: кратное изменение > 1,5 раза; $p < 0,05$), модулируемых

введением 10 мг/кг соединения 1 (всего 500 модулированных генов) или 30 мг/кг ОХК мышам линии C57BL/6 (всего 44 модулированных гена), а также количество общих дифференциально экспрессируемых генов, которые модулируются обоими соединениями (всего 37 генов).

На Фиг. 7В показаны средние уровни экспрессии (продемонстрированные значением CPM) выбранных генов, связанных с FXR, у мышей линии C57BL/6, которым вводили 10 мг/кг соединения 1, или 30 мг/кг ОХК, или носитель в качестве контроля.

На Фиг. 7С показано количество путей, обогащенных ($p < 0,05$) введением 10 мг/кг соединения 1 (32 пути) или 30 мг/кг ОХК мышам линии C57BL/6 (6 путей), а также количество путей, обогащенных обоими соединениями (2 пути).

На Фиг. 7D показано 25 путей, наиболее статистически обогащенных при введении 10 мг/кг соединения 1 мышам линии C57BL/6, а также показано сравнение обогащения этих путей с обогащением при введении 30 мг/кг ОХК.

На Фиг. 8 показан дизайн исследования, изучающего эффективность соединения 1 на мышинной модели НАСГ.

На Фиг. 9 показана оценка активности НАЖБП (NAFLD Activity Score - NAS) у контрольных мышей и мышей, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 10А показана оценка стеатоза у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 10В показана оценка воспаления у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 10С показана оценка баллонирования у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 11А показан гистологический срез фиброза у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 11В показано количество фиброза у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 12А показаны уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 12В показан уровень аспартатаминотрансферазы (АСТ) у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 12С показаны уровни триглицеридов в сыворотке у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 12D показаны уровни общего холестерина в сыворотке у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 13А показаны уровни триглицеридов в печени у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 13В показана репрезентативная оценка гистологии стеатоза у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 14А показана экспрессия COL1A1 в печени у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 14В показаны уровни экспрессии воспалительных генов у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 30 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 14С показана экспрессия генов фиброза у контрольных мышей и мышей с НАСГ, получавших лечение 30 мг/кг соединения 1.

На Фиг. 15А показана плазменная активность SSAO-специфической аминоксидазы в сравнении с исходным уровнем здоровых добровольцев, которым вводили однократную дозу плацебо или 1, 3, 6 или 10 мг соединения 2, через 4 часа и 168 часов после введения дозы. На Фиг. 15В показана временная динамика общей плазменной активности аминоксидазы в сравнении с исходным уровнем здоровых добровольцев, которым вводили однократную дозу плацебо или 1, 3, 6 или 10 мг соединения 2. На Фиг. 15С показана временная динамика уровня соединения 2 после введения однократной дозы плацебо или 1, 3, 6 или 10 мг у здоровых добровольцев. На Фиг. 15D показана временная динамика уровня метиламина в плазме после введения однократной дозы плацебо или 1, 3, 6 или 10 мг соединения 2 у здоровых добровольцев.

На Фиг. 16 показаны уровни инфильтрации печени Treg и макрофагами M2, определенные с помощью анализа представленности групп генов в одном образце. Этот анализ проводили для данных РНК-секвенирования крыс CDHFD, которым вводили NaNO_2 и которых обрабатывали соединением 1, соединением 2 или комбинацией соединения 1 и соединения 2 (*p-значение < 0,05; *** p-значение < 0,001).

На Фиг. 17 показан анализ экспрессии с помощью РНК-секвенирования для маркеров Treg и макрофагов M2 в печени крыс CDHFD, которым вводили NaNO_2 и которых обрабатывали соединением 1, соединением 2 или комбинацией соединения 1 и соединения 2. Ikzf2, цинк-пальцевый белок 2 семейства IKAROS (маркер Treg); Foxp3, Forkhead Box P3 (маркер Treg); Cd163 (маркер макрофагов M2). (*p-значение < 0,05; ** p-значение < 0,01).

На Фиг. 18 показано число и перекрытие дифференциально экспрессируемых генов (DEG), идентифицированных с помощью анализа РНК-секвенирования в печени крыс CDHFD, которым вводили NaNO_2 и которых обрабатывали соединением 1, соединением 2 или комбинацией соединения 1 и соединения 2, по сравнению с контролем НАСГ с носителем с использованием кратности изменения и порога p-значения $\geq 1,5$ и 0,01, соответственно.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Определения

При использовании в данном документе применяются следующие определения, если не указано иное. Кроме того, если какой-либо термин или символ, используемый в данном документе, не определен в соответствии со сформулированными ниже определениями, он имеет свое обычное значение, используемое в данной области техники.

Термин «содержащий» предназначен для обозначения того, что композиции и способы включают перечисленные элементы, но не исключают других. Термин «состоящий

по существу из» при использовании для определения композиций и методов означает исключение других элементов, имеющих какое-либо существенное значение для комбинации. Например, композиция, по существу состоящая из элементов, определенных в данном документе, не будет исключать других элементов, которые не оказывают материального эффекта на основные и новые характеристики заявленного изобретения. Термин «состоящий из» означает исключение более чем следового количества, например, других ингредиентов и изложенных существенных стадий способа. Варианты осуществления, определяемые каждым из этих переходных терминов, входят в объем настоящего изобретения.

Термин «комбинированная терапия» или «комбинированное лечение» относится к использованию двух или более препаратов или агентов при лечении, например, использование соединения формулы (I) или (II), как описано в данном документе, вместе с другим агентом, пригодным для лечения расстройств печени, таких как НАЖБП, НАСГ, а также симптомов и проявлений каждого из них, является комбинированной терапией. Введение в «комбинации» относится к введению двух агентов (например, соединения формулы (I) или (II), как описано в данном документе, и другого агента) любым способом, при котором фармакологические эффекты обоих веществ будут проявляться у пациента одновременно. Таким образом, введение в комбинации не требует, чтобы одна фармацевтическая композиция, одна и та же лекарственная форма или даже один и тот же путь введения использовались для введения обоих агентов или чтобы два агента вводились точно в одно и то же время. Оба агента также могут быть составлены в виде одной фармацевтически приемлемой композиции. Неограничивающим примером такой одной композиции является пероральная композиция или пероральная лекарственная форма. Например, помимо прочего, предполагается, что соединение формулы (I) или (II) можно вводить в виде комбинированной терапии с другим агентом в соответствии с настоящим изобретением.

В контексте данного документа термин «вспомогательное вещество» означает инертное или неактивное вещество, которое может использоваться при получении лекарственного средства или фармацевтического препарата, такого как таблетка, содержащая соединение по изобретению в качестве активного ингредиента. Термином вспомогательное вещество могут охватываться различные вещества, включая, помимо прочего, любое вещество, используемое в качестве связывающего вещества, разрыхлителя, покрытия, вспомогательного средства для прессования/инкапсулирования, крема или лосьона, смазывающего вещества, растворов для парентерального введения, материалов для жевательных таблеток, подсластителя или ароматизатора, суспендирующего/гелеобразующего агента или агента для влажной грануляции. Связывающие вещества включают, *например*, карбомеры, повидон, ксантановую камедь и т. п.; покрытия включают, *например*, ацетатфталат целлюлозы, этилцеллюлозу, геллановую камедь, мальтодекстрин, кишечнорастворимые покрытия и т. п.; вспомогательные средства для прессования/инкапсулирования включают, *например*, карбонат кальция, декстрозу,

фруктозу пп (пп - прямого прессования), мед пп, лактозу (ангидрат или моногидрат; необязательно в комбинации с аспартамом, целлюлозой или микрокристаллической целлюлозой), крахмал пп, сахарозу и т. п.; разрыхлители включают, *например*, кроскармеллозу натрия, геллановую камедь, гликолят крахмала натрия и т. п.; кремы или лосьоны включают, *например*, мальтодекстрин, каррагинаны и т. п.; смазывающие вещества включают, *например*, стеарат магния, стеариновую кислоту, стеарилфумарат натрия и т. п.; материалы для жевательных таблеток включают, *например*, декстрозу, фруктозу пп, лактозу (моногидрат, необязательно в комбинации с аспартамом или целлюлозой) и т. п.; суспендирующие/гелеобразующие агенты включают, *например*, каррагинан, гликолят крахмала натрия, ксантановую камедь и т. п.; подсластители включают, *например*, аспартам, декстрозу, фруктозу пп, сорбит, сахарозу пп и т. п.; и агенты для влажной грануляции включают, *например*, карбонат кальция, мальтодекстрин, микрокристаллическую целлюлозу и т. п.

Термин «пациент» относится к млекопитающим и включает людей и отличных от человека млекопитающих. Примеры пациентов включают, помимо прочего, мышей, крыс, хомяков, морских свинок, свиней, кроликов, кошек, собак, коз, овец, коров и людей. В некоторых вариантах осуществления пациент относится к человеку.

Термин «фармацевтически приемлемый» означает безопасный и нетоксичный, предпочтительно для *in vivo* введения, более предпочтительно для введения человеку.

«Фармацевтически приемлемая соль» относится к соли, которая является фармацевтически приемлемой. Соединение, описанное в данном документе, можно вводить в виде фармацевтически приемлемой соли.

«Соль» относится к ионному соединению, образованному между кислотой и основанием. Когда соединение, представленное в данном документе, содержит кислотную функциональную группу, такие соли включают, помимо прочего, соли щелочных металлов, соли щелочноземельных металлов и аммониевые соли. В контексте данного документа аммониевые соли включают соли, содержащие протонированные азотистые основания и алкилированные азотистые основания. Типичные и неограничивающие катионы, применимые в фармацевтически приемлемых солях, включают Na, K, Rb, Cs, NH₄, Ca, Ba, имидазольные и аммониевые катионы на основе встречающихся в природе аминокислот. Когда соединения, используемые в данном документе, содержат основную функциональную группу, такие соли включают, помимо прочего, соли органических кислот, таких как карбоновые кислоты и сульфоновые кислоты, и соли минеральных кислот, таких как галогениды водорода, серная кислота, фосфорная кислота и т. п. Типичные и неограничивающие анионы, применимые в фармацевтически приемлемых солях, включают оксалат, малеат, ацетат, пропионат, сукцинат, тартрат, хлорид, сульфат, бисульфат, одно-, двух- и трехосновный фосфат, мезилат, тозилат и т. п.

«Терапевтически эффективное количество» или доза соединения или композиции относится к такому количеству соединения или композиции, которое приводит к уменьшению или ингибированию симптомов или продлению выживаемости у пациента.

Результаты могут потребовать нескольких доз соединения или композиции.

Термин «лечение» или «лечить» относится к подходу для получения благоприятных или желаемых результатов, включая клинические результаты. Для целей данного изобретения полезные или желаемые результаты включают, помимо прочего, один или большее количество из следующих эффектов: уменьшение одного или большего количества симптомов, вызванных заболеванием или расстройством; уменьшение степени заболевания или расстройства; стабилизация заболевания или расстройства (*например*, предотвращение или задержка ухудшения заболевания или расстройства); отсрочка возникновения или рецидива заболевания или расстройства; отсрочка или замедление прогрессирования заболевания или расстройства; улучшение состояния при заболевании или расстройстве; обеспечение ремиссии (частичной или полной) заболевания или расстройства; снижение дозы одного или большего количества других лекарственных средств, необходимых для лечения заболевания или расстройства; усиление эффекта другого лекарственного средства, применяемого для лечения заболевания или расстройства; отсрочка прогрессирования заболевания или расстройства; повышение качества жизни и/или продление выживаемости пациента. Также под «лечением» понимается уменьшение патологических последствий заболевания или расстройства. Способы по настоящему изобретению предусматривают любой один или большее количество из этих аспектов лечения.

В контексте данного документа «отсрочка» развития заболевания означает отложить, препятствовать, замедлить, затормозить, стабилизировать и/или задержать развитие заболевания, и/или замедлить прогрессирование или изменить процесс и/или курс основного заболевания, как только оно возникло. Эта задержка может быть различной продолжительности в зависимости от истории болезни и/или индивидуума, который подлежит лечению. Как будет очевидно специалисту в данной области техники, достаточная или значительная задержка может по существу охватывать предотвращение, так что у индивидуума не будут развиваться клинические симптомы, связанные с заболеванием. Способ, который «задерживает» развитие заболевания, представляет собой способ, который снижает вероятность развития заболевания в течение заданного периода времени и/или уменьшает степень заболевания в течение заданного периода времени при сравнении с неиспользованием этого способа, включая стабилизацию одного или большего количества симптомов, возникающих в результате заболевания.

Индивидуум, который «подвержен риску» развития заболевания, может иметь или не иметь выявляемое заболевание, а также может проявлять или не проявлять выявляемое заболевание до применения способов лечения, описанных в данном документе. Термин «подвержен риску» означает, что у индивидуума имеется один или большее количество так называемых факторов риска, которые представляют собой измеряемые параметры, которые коррелируют с развитием заболевания. Индивидуум, у которого присутствует один или большее количество этих факторов риска, имеет более высокую вероятность развития заболевания, чем индивидуум, у которого эти факторы риска отсутствуют. Такие факторы

риска включают, помимо прочего, возраст, пол, расовую принадлежность, рацион, наличие в анамнезе предшествующего заболевания, наличие заболевания-предвестника и генетические (*т. е.* наследственные) факторы. Соединения в некоторых вариантах осуществления можно вводить субъекту (включая человека), который подвержен риску развития заболевания или патологического состояния или в семейном анамнезе которого имеется это заболевание или патологическое состояние.

Термин «стереоизомер» или «стереоизомеры» относится к соединениям, которые отличаются по стереогенности составляющих атомов, например, помимо прочего, по хиральности одного или более стереоцентров или в отношении *цис*- или *транс*-конфигурации углерод-углеродной или углерод-азотной двойной связи. Стереоизомеры включают энантиомеры и диастереомеры.

«Алкил» относится к одновалентным насыщенным алифатическим гидрокарбильным группам, имеющим от 1 до 12 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 10 атомов углерода и более предпочтительно от 1 до 6 атомов углерода. Данный термин включает, например, линейные и разветвленные гидрокарбильные группы, такие как метил (CH_3 -), этил (CH_3CH_2 -), *n*-пропил ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), изопропил ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ -), *n*-бутил ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), изобутил ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$ -), *втор*-бутил ($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}$ -), *трет*-бутил ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -), *n*-пентил ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -) и неопентил ($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2$ -). C_x алкил относится к алкильной группе, имеющей x атомов углерода.

«Алкилен» относится к двухвалентным насыщенным алифатическим гидрокарбильным группам, имеющим от 1 до 12 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 10 атомов углерода и более предпочтительно от 1 до 6 атомов углерода. Данный термин включает, например, линейные и разветвленные гидрокарбильные группы, такие как метилен ($-\text{CH}_2-$), этилен ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ или $-\text{CH}(\text{Me})-$), пропилен ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, или $-\text{CH}(\text{Me})\text{CH}_2-$, или $-\text{CH}(\text{Et})-$) и т. п.

«Алкенил» относится к неразветвленным или разветвленным одновалентным гидрокарбильным группам, имеющим от 2 до 6 атомов углерода и предпочтительно от 2 до 4 атомов углерода и имеющим по меньшей мере 1, а предпочтительно от 1 до 2 участков виниловой ($>\text{C}=\text{C}<$) ненасыщенности. Такие группы представлены, например, винилом, аллилом и бут-3-ен-1-илом. В данный термин включены *цис*- и *транс*-изомеры или смеси этих изомеров. C_x алкенил относится к алкенильной группе, имеющей x атомов углерода.

«Алкинил» относится к неразветвленным или разветвленным одновалентным гидрокарбильным группам, имеющим от 2 до 6 атомов углерода и предпочтительно от 2 до 3 атомов углерода и имеющим по меньшей мере 1, а предпочтительно от 1 до 2 участков ацетиленовой ($-\text{C}\equiv\text{C}-$) ненасыщенности. Примеры таких алкинильных групп включают ацетиленил ($-\text{C}\equiv\text{CH}$) и пропаргил ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$). C_x алкинил относится к алкинильной группе, имеющей x атомов углерода.

«Алкокси» относится к группе -О-алкил, где алкил определен в данном документе. Алкокси включает, например, метокси, этокси, *n*-пропокси, изопропокси, *n*-бутокси, *трет*-бутокси, *втор*-бутокси *n*-пентокси.

«Арил» относится к одновалентной ароматической карбоциклической группе из 6-14 атомов углерода, имеющей одно кольцо (например, фенил (Ph)) или несколько конденсированных колец (например, нафтил или антрил), причем конденсированные кольца могут быть или не быть ароматическими (например, 2-бензоксазолинон, 2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он-7-ил и т. п.), при условии что точка присоединения находится в ароматическом атоме углерода. Предпочтительные арильные группы включают фенил и нафтил.

«Циано» относится к группе $-C\equiv N$.

«Циклоалкил» относится к насыщенным или ненасыщенным, но неароматическим циклическим алкильным группам из 3-10 атомов углерода, предпочтительно из 3-8 атомов углерода и более предпочтительно из 3-6 атомов углерода, имеющим одно или несколько циклических колец, включая конденсированные, мостиковые и спиро-кольцевые системы. C_x циклоалкил относится к циклоалкильной группе, имеющей x кольцевых атомов углерода. Примеры подходящих циклоалкильных групп включают, например, адамантил, циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклооктил. Одно или большее количество колец могут представлять собой арильное, гетероарильное или гетероциклическое, при условии что точка присоединения находится на неароматическом, негетероциклическом кольце, насыщенном карбоциклическом кольце. «Замещенный циклоалкил» относится к циклоалкильной группе, имеющей от 1 до 5 или предпочтительно от 1 до 3 заместителей, выбранных из группы, состоящей из оксо, тиона, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, амина, замещенного амина, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонилла, аминосульфонокси, аминосульфонилламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио, карбоксила, сложного эфира карбоновой кислоты, (сложный эфир карбоновой кислоты)амино, (сложный эфир карбоновой кислоты)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио, гуанидино, замещенного гуанидино, галогена, гидроксид, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклтио, замещенного гетероциклтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонилла, сульфонокси, тиоацила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, где указанные заместители определены в данном документе.

«Гало» или «галоген» относится к фтору, хлору, бром и йоду, а предпочтительно - к фтору или хлору.

«Гидроксид» или «гидроксил» относится к группе $-OH$.

«Гетероарил» относится к ароматической группе из 1-10 атомов углерода и 1-4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из кислорода, азота и серы в кольце. Такие

гетероарильные группы могут иметь одно кольцо (*например*, пиридинил или фурил) или несколько конденсированных колец (*например*, индолизинил или бензотиенил), причем конденсированные кольца могут или не могут быть ароматическими и/или содержать гетероатом, при условии что точка присоединения находится на атоме ароматической гетероарильной группы. В одном варианте осуществления кольцевые атомы азота и/или серы гетероарильной группы необязательно окислены для получения N-оксидных ($N \rightarrow O$), сульфинильных или сульфонильных фрагментов. Предпочтительные гетероарилы включают 5- или 6-членные гетероарилы, такие как пиридинил, пирролил, тиофенил и фуранил. Другие предпочтительные гетероарилы включают 9- или 10-членные гетероарилы, такие как индолил, хинолинил, хинолонил, изохинолинил и изохинолонил.

«Гетероцикл», или «гетероциклический», или «гетероциклоалкил», или «гетероциклил» относится к насыщенной или частично насыщенной, но неароматической группе, имеющей от 1 до 10 кольцевых атомов углерода, предпочтительно от 1 до 8 атомов углерода и более предпочтительно от 1 до 6 атомов углерода, и от 1 до 4 кольцевых гетероатомов, предпочтительно от 1 до 3 гетероатомов и более предпочтительно от 1 до 2 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, серы или кислорода. C_x гетероциклоалкил относится к гетероциклоалкильной группе, имеющей x кольцевых атомов, включая кольцевые гетероатомы. Гетероцикл охватывает одно кольцо или несколько конденсированных колец, включая конденсированные, мостиковые и спиро-кольцевые системы. В конденсированных кольцевых системах одно или большее количество колец могут представлять собой циклоалкил, арил или гетероарил, при условии что точка присоединения находится на неароматическом кольце. В одном варианте осуществления атомы азота и/или серы гетероциклической группы необязательно окислены для получения N-оксидных, сульфинильных, сульфонильных фрагментов.

Примеры гетероциклила и гетероарила включают, помимо прочего, азетидинил, пирролил, имидазолил, пиразолил, пиридил, пиразил, пиримидил, придазил, индолизил, изоиндолил, индолил, дигидроиндолил, индазолил, пуринил, хинолизинил, изохинолинил, хинолинил, фталазинил, нафтилпиридинил, хиноксалинил, хиназолинил, циннолинил, птеридинил, карбазолил, карболинил, фенантридинил, акридинил, фенантролинил, изотиазолил, феназинил, изоксазолил, феноксазинил, фенотиазинил, имидазолидинил, имидазолинил, пиперидинил, пиперазинил, индолинил, фталимидил, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинил, 4,5,6,7-тетрагидробензо[b]тиофенил, тиазолил, тиазолидинил, тиофенил, бензо[b]тиофенил, морфолинил, тиоморфолинил (также называемый тиаморфолинил), 1,1-диоксотiomорфолинил, пиперидинил, пирролидинил и тетрагидрофуранил.

«Оксо» относится к атому (=O) или (O).

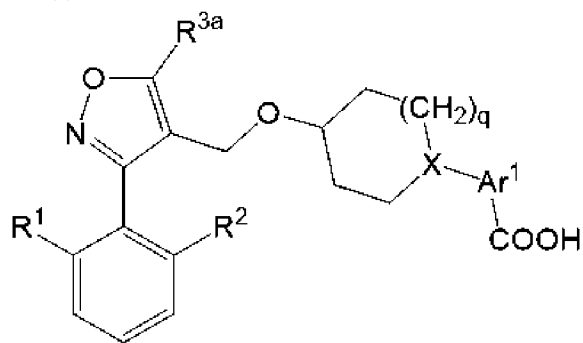
Термин «необязательный» или «необязательно», используемый на всем протяжении в описании, означает, что описанное после него событие или обстоятельство может произойти, а может не произойти, и что описание включает случаи, когда данное событие или обстоятельство происходит, и случаи, когда оно не происходит. Например, фраза «атом

азота необязательно окислен для получения N-оксидных (N→O) фрагментов» означает, что атом азота может быть окислен, а может и не быть окислен, и что описание включает ситуации, когда атом азота не окислен, и ситуации, когда атом азота окислен.

Агонисты FXR

Подходящие агонисты FXR, которые можно использовать в соответствии со способами, описанными в данном документе, включают, помимо прочего, обетихоловую кислоту, циклофексор, тропифексор, EYP001 (вонафексор, предложенное международное непатентованное наименование), MET409 (метакрин), MET642 (метакрин), EDP-305 (от Enanta), EDP-297 (Enanta) и соединение формулы (I) или фармацевтически приемлемую соль. Соединение формулы (I) описано в US 2010/0152166, содержание которой полностью включено посредством ссылки, и конкретно в отношении соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или энантиомера, а также способов получения и применения вышеперечисленных соединений.

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I)



(I),

где:

q равно 1 или 2;

R¹ представляет собой хлор, фтор или трифторметокси;

R² представляет собой водород, хлор, фтор или трифторметокси;

R^{3a} представляет собой трифторметил, циклопропил или изопропил;

X представляет собой СН или N, при условии что когда X представляет собой СН, q равно 1; и

Ar¹ представляет собой индолил, бензотиенил, нафтил, фенил, бензоизотиазолил, индазолил или пиридинил, каждый из которых необязательно замещен метилом или фенилом,

или его фармацевтически приемлемую соль.

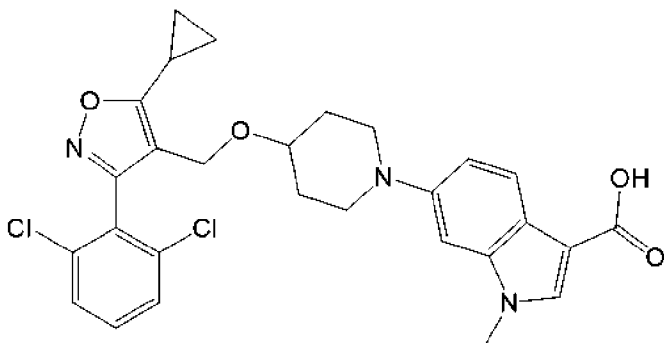
В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I), где R¹ представляет собой хлор или трифторметокси; а R² представляет собой водород или хлор.

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I), где R^{3a} представляет собой циклопропил или изопропил.

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I), где Ar^1 представляет собой 5-бензотиенил, 6-бензотиенил, 5-индолил, 6-индолил или 4-фенил, каждый из которых необязательно замещен метилом.

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I), где q равно 1, а X представляет собой N.

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы 1:

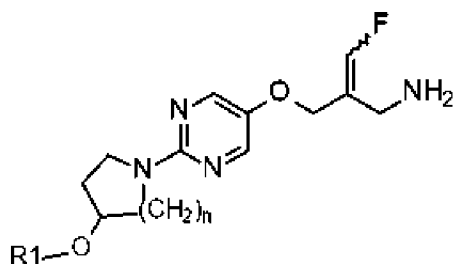


или его фармацевтически приемлемую соль. «Соединение 1» относится к соединению формулы 1.

Ингибиторы SSAO

Подходящие ингибиторы SSAO, которые можно использовать в соответствии со способами, описанными в данном документе, включают, помимо прочего, PXS-4728A (BI-1467335) и соединение формулы (II) или фармацевтически приемлемую соль. Соединение формулы (II) описано в US 2018/0297987, содержание которой полностью включено посредством ссылки, и конкретно в отношении соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли или энантиомера, а также способов получения и применения вышеперечисленных соединений.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II)



(II),

или его фармацевтически приемлемой солью, где:

n равно 1 или 2; и

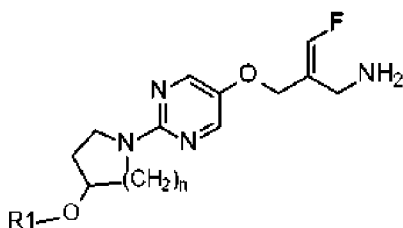
R_1 представляет собой H или $-CH_3$.

Связь с атомом фтора, которая проиллюстрирована как , указывает на то, что атом фтора и метоксипиримидиновая группа могут иметь расположение *Z* (*zusammen*, вместе) или *E* (*entgegen*, напротив) относительно друг друга (Brecher, J., *et al.*, “Graphical

Representation of Stereochemical Configuration”, Pure and Appl. Chem, 2006, 78(10) 1897, at 1959). Структура, проиллюстрированная формулой (II), включает соединения со стереохимической конфигурацией Z, стереохимической конфигурацией E или смесь соединений со стереохимической конфигурацией Z или E. Предпочтительные соединения по изобретению имеют стереохимическую конфигурацию E.

В одной форме соединения (II) присутствуют в виде свободного основания. В другой форме соединения (II) присутствуют в виде солей добавления кислот, таких как соли однократного или двукратного добавления кислоты HCl или сульфонат, предпочтительно 4-метилбензолсульфонат (тозилат).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (IIa)



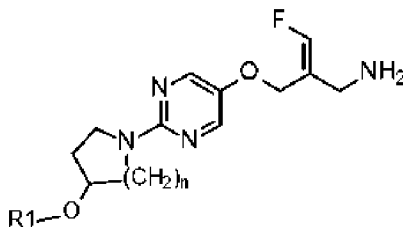
(IIa),

или его фармацевтически приемлемой солью, где:

n равно 1 или 2; и

R1 представляет собой H или -CH₃.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO



(IIb)

или его фармацевтически приемлемой солью, где:

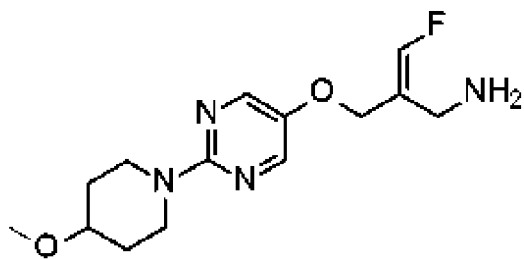
n равно 1 или 2; и

R1 представляет собой H или -CH₃.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II), (IIa) или (IIb), а n равно 2.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II), (IIa) или (IIb), а R1 представляет собой CH₃.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы 2:



или его фармацевтически приемлемую соль. «Соединение 2» относится к соединению формулы 2.

Фармацевтически приемлемые композиции и составы

Фармацевтически приемлемые композиции или просто «фармацевтические композиции» любого из соединений, подробно описанных в данном документе, охватываются настоящим изобретением. Таким образом, изобретение включает фармацевтические композиции, содержащие ингибитор FXR (такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль), агонист SSAO (такой как соединения формулы (II) или их фармацевтически приемлемая соль) и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль присоединения кислоты, такую как соль, образованная с неорганической или органической кислотой. Фармацевтические композиции в соответствии с изобретением могут иметь форму, пригодную для перорального, буккального, парентерального, назального, местного или ректального введения, или форму, пригодную для введения путем ингаляции.

Соединение, подробно описанное в данном документе, может в одном аспекте находиться в очищенной форме, а композиции, содержащие соединение в очищенных формах, подробно описаны в данном документе. Предложены композиции, содержащие соединение, подробно описанное в данном документе, или его соль, такие как композиции из по существу чистых соединений. В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая соединение, подробно описанное в данном документе, или его соль, находится в по существу чистой форме. В одном варианте «по существу чистый» подразумевает композицию, которая содержит не более чем 35% примеси, причем примесь обозначает соединение, отличное от соединения, составляющего большую часть композиции, или его соли. Например, композиция по существу чистого соединения подразумевает композицию, которая содержит не более чем 35% примеси, причем примесь обозначает соединение, отличное от этого соединения или его соли. В одном варианте предложена композиция по существу чистого соединения или его соли, причем композиция содержит не более чем 25% примеси. В другом варианте предложена композиция по существу чистого соединения или его соли, причем композиция содержит не более чем 10% примеси. В дополнительном варианте предложена композиция по существу чистого соединения или его соли, причем композиция содержит не более чем 5% примеси. В другом варианте предложена композиция по существу чистого соединения

или его соли, причем композиция содержит не более чем 3% примеси. В еще одном варианте предложена композиция по существу чистого соединения или его соли, причем композиция содержит не более чем 1% примеси. В дополнительном варианте предложена композиция по существу чистого соединения или его соли, причем композиция содержит не более чем 0,5% примеси. В еще других вариантах композиция по существу чистого соединения означает, что композиция содержит не более чем 15%, или предпочтительно не более чем 10%, или более предпочтительно не более чем 5%, или даже более предпочтительно не более чем 3%, и наиболее предпочтительно не более чем 1% примеси, причем примесь может представлять собой соединение в другой стереохимической форме.

В одном варианте соединения в данном документе представляют собой синтетические соединения, приготовленные для введения индивидууму, такому как человек. В другом варианте предложены композиции, содержащие соединение в по существу чистой форме. В другом варианте изобретение охватывает фармацевтические композиции, содержащие соединение, подробно описанное в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество. В другом варианте предложены способы введения соединения. Очищенные формы, фармацевтические композиции и способы введения соединений пригодны для любого соединения или его формы, подробно описанных в данном документе.

Соединения могут быть составлены для любого доступного способа доставки, включая пероральную, мукозальную (*например*, назальную, сублингвальную, вагинальную, буккальную или ректальную), парентеральную (*например*, внутримышечную, подкожную или внутривенную), местную или трансдермальную доставку. Соединение может быть составлено с подходящими носителями для обеспечения форм доставки, которые включают, помимо прочего, таблетки, капли, капсулы (такие как твердые желатиновые капсулы или мягкие эластичные желатиновые капсулы), облатки, пастилки, таблетки для рассасывания, жевательные резинки, дисперсии, суппозитории, мази, катаплазмы (припарки), пасты, порошки, повязки, кремы, растворы, пластыри, аэрозоли (*например*, назальные спреи или ингаляторы), гели, суспензии (*например*, водные или неводные жидкие суспензии, эмульсии масло-в-воде или жидкие эмульсии вода-в-масле), растворы и эликсиры.

Соединения, описанные в данном документе, можно использовать для получения состава, такого как фармацевтический состав, путем объединения соединений в качестве активных ингредиентов с фармацевтически приемлемым носителем, таким как упомянутые выше. В зависимости от терапевтической формы системы (*например*, трансдермальный пластырь в сравнении с пероральной таблеткой) носитель может находиться в различных формах. Кроме того, фармацевтические составы могут содержать консерванты, солюбилизаторы, стабилизаторы, повторно смачивающие агенты, эмульгаторы, подсластители, красители, регуляторы и соли для регулировки осмотического давления, буферы, покрывающие агенты или антиоксиданты. Составы, содержащие соединение, также могут содержать другие вещества, которые обладают ценными терапевтическими

свойствами. Фармацевтические составы могут быть получены с помощью известных фармацевтических способов. Подходящие составы можно найти, например, в *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott Williams & Wilkins, 21st ed. (2005), которая включена в данный документ посредством ссылки.

Соединения, описанные в данном документе, можно вводить индивидуумам (*например*, человеку) в форме общепринятых пероральных композиций, таких как таблетки, таблетки, покрытые оболочкой, и гелевые капсулы с твердой или мягкой оболочкой, эмульсии или суспензии. Примерами носителей, которые могут использоваться для получения таких композиций, является лактоза, кукурузный крахмал или его производные, тальк, стеарат или его соли и т. п. Приемлемыми носителями для гелевых капсул с мягкой оболочкой являются, например, растительные масла, воск, жиры, полутвердые и жидкие полиолы и т. д. Кроме того, фармацевтические составы могут содержать консерванты, солубилизаторы, стабилизаторы, повторно смачивающие агенты, эмульгаторы, подсластители, красители, регуляторы и соли для регулировки осмотического давления, буферы, покрывающие агенты или антиоксиданты.

Описаны композиции, содержащие два соединения, используемых в данном документе. Любое из соединений, описанных в данном документе, можно получить в виде таблетки в любой лекарственной форме, описанной в данном документе.

Настоящее изобретение дополнительно охватывает наборы (*например*, упаковки лекарственных средств). Предложенный набор может содержать фармацевтические композиции или соединения, описанные в данном документе, и контейнеры (*например*, флаконы с лекарственными средствами, ампулы, бутылки, шприцы и/или подупаковки, или другие подходящие контейнеры). В некоторых вариантах осуществления набор включает контейнер, содержащий агонист FXR (такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитор SSAO (такой как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль). В других вариантах осуществления набор включает первый контейнер, содержащий агонист FXR (такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль), и второй контейнер, содержащий ингибитор SSAO (такой как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит агонист FXR и ингибитор SSAO, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такая композиция включает соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и соединение формулы (II), или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложена лекарственная форма, содержащая терапевтически эффективное количество соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, и терапевтически эффективное количество соединения формулы (II), или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой соединение 1, а соединение формулы (II), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой соединение 2, как описано в данном

документе.

Способы применения и применения

Соединения и композиции, описанные в данном документе, можно в некоторых аспектах использовать для лечения расстройств печени. В некоторых вариантах осуществления способ лечения расстройства печени у пациента, нуждающегося в этом, включает введение пациенту агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR) и ингибитора семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (SSAO). В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, а ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II), или его фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой соединение 1, а соединение формулы (II), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой соединение 2, как описано в данном документе. Не ограничиваясь какой-либо теорией, считается, что комбинация агониста FXR и ингибитора SSAO в соответствии со способами, описанными в данном документе, может эффективно обеспечивать лечение по сравнению с монотерапией и тем самым уменьшать дозозависимые нежелательные эффекты, которые могут сопровождать лечение монотерапией.

Расстройства печени включают, помимо прочего, воспаление, фиброз и стеатогепатит печени. В некоторых вариантах осуществления расстройство печени выбрано из воспаления печени, фиброза печени, алкогольного фиброза, стеатоза, алкогольного стеатоза, первичного склерозирующего холангита (ПСХ), первичного билиарного цирроза (ПБЦ), неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). В определенных вариантах осуществления расстройство печени выбрано из фиброза печени, алкогольного фиброза, стеатоза, алкогольного стеатоза, НАЖБП и НАСГ. В одном варианте осуществления расстройство печени представляет собой НАСГ. В другом варианте осуществления расстройство печени представляет собой воспаление печени. В другом варианте осуществления расстройство печени представляет собой фиброз печени. В другом варианте осуществления расстройство печени представляет собой алкогольный фиброз. В другом варианте осуществления расстройство печени представляет собой стеатоз. В другом варианте осуществления расстройство печени представляет собой алкогольный стеатоз. В другом варианте осуществления расстройство печени представляет собой НАЖБП. В одном варианте осуществления предложенные в данном документе способы лечения подавляют или замедляют прогрессирование НАЖБП до НАСГ. В одном варианте осуществления предложенные в данном документе способы лечения подавляют или замедляют прогрессирование НАСГ. НАСГ может прогрессировать, например, до одного или более из цирроза печени, рака печени и т. д. В некоторых вариантах осуществления расстройство печени представляет собой НАСГ. В некоторых вариантах осуществления у пациента брали биопсию печени. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает

получение результатов биопсии печени.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения расстройства печени у пациента, нуждающегося в этом, причем расстройство печени выбрано из группы, состоящей из воспаления печени, фиброза печени, алкогольного фиброза, стеатоза, алкогольного стеатоза, первичного склерозирующего холангита (ПСХ), первичного билиарного цирроза (ПБЦ), неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

В данном документе предложены способы лечения расстройства печени у пациента (например, пациента-человека), нуждающегося в этом, с помощью агониста FXR и ингибитора SSAO, причем способы включают введение терапевтически эффективного количества агониста FXR и терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO, при этом расстройство печени выбрано из воспаления печени, фиброза печени, алкогольного фиброза, стеатоза, алкогольного стеатоза, первичного склерозирующего холангита (ПСХ), первичного билиарного цирроза (ПБЦ), неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, а агонист SSAO представляет собой соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой соединение 1, а соединение формулы (II), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой соединение 2, как описано в данном документе.

Также в данном документе предложены способы препятствования или замедления прогрессирования неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) до неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) у пациента (например, пациента-человека), нуждающегося в этом, причем способы включают введение агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединения формулы (II) или их фармацевтически приемлемая соль). В некоторых вариантах осуществления способы включают введение терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, и терапевтически эффективного количества соединения формулы (II), или его фармацевтически приемлемой соли. Также в данном документе предложены способы препятствования или замедления прогрессирования НАСГ у пациента (например, пациента-человека), нуждающегося в этом, причем способы включают введение агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединения формулы (II) или их фармацевтически приемлемая соль). В некоторых вариантах осуществления способы включают введение терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, и терапевтически эффективного количества соединения формулы (II), или его фармацевтически приемлемой соли.

Кроме того, зуд является хорошо задокументированным нежелательным эффектом

нескольких агонистов FXR и может вызвать дискомфорт у пациента, привести к снижению качества жизни пациента и повышению вероятности прекращения лечения. Зуд является особенно обременительным при показаниях, таких как описанные в данном документе, включая НАСГ, для которых вероятно хроническое введение лекарственных средств. Тканевая специфичность соединения формулы (I), в частности, предпочтение ткани печени вместо кожной ткани, является поразительным и непредсказуемым наблюдением, которое повышает вероятность того, что соединение не вызовет зуд кожи, - теория, которая к настоящему времени была подтверждена исследованиями с участием людей.

Соответственно, в данном документе предложены способы лечения расстройства печени у пациента, нуждающегося в этом (например, пациента-человека), с помощью агониста FXR и ингибитора SSAO, причем FXR представляет собой соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, которые предпочтительно распределяются в ткани печени вместо одного или большего количества из почек, легких, сердца и кожи.

В некоторых вариантах осуществления введение приводит к соотношению концентрации в печени к концентрации в плазме соединения формулы (I), равному 10 или более, например, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более или 15 или более.

В некоторых вариантах осуществления введение не вызывает зуд у пациента со степенью тяжести более 2. В некоторых вариантах осуществления введение не вызывает зуд у пациента со степенью тяжести более 1. В некоторых вариантах осуществления введение не вызывает зуд у пациента. Степени тяжести нежелательных эффектов являются известными. В соответствии с версией 5 Общих терминологических критериев нежелательных явлений (опубликованных 27 ноября 2017 г.) зуд степени 1 характеризуется как «легкий или локальный; показано местное лечение». Зуд степени 2 характеризуется как «распространенный и периодический; кожа изменяется от расчесов (например, отек, образование папул, экскориации, лихенификация, просачивание/коркообразование); показано пероральное лечение; ограничение инструментальной повседневной деятельности». Зуд степени 3 характеризуется как «распространенный и постоянный; ограничение самообслуживающей повседневной деятельности или сна; показано лечение системными кортикостероидами или иммунодепрессантами». Повседневная деятельность (ПД) делится на две категории: «инструментальная ПД относится к приготовлению пищи, покупке продуктов или одежды, использованию телефона, распоряжению деньгами и т. д.», а «самообслуживающая ПД относится к купанию, одеванию и раздеванию, самостоятельному приему пищи, пользованию туалетом, приему медицинских препаратов, без прикованности к постели». Соответственно, в данном документе предложены способы лечения расстройства печени у пациента (например, пациента-человека), нуждающегося в этом, с помощью агониста FXR, который не вызывает обнаруживаемого зуда у пациента, нуждающегося в этом.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены способы лечения расстройства печени у пациента, нуждающегося в этом, с помощью агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и

ингибитора SSAO (такого как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль), причем агонист FXR не активирует передачу сигналов TGR5. В некоторых вариантах осуществления уровень регулируемых FXR генов повышается. В некоторых вариантах осуществления уровень малого гетеродимерного партнера (small heterodimer partner - SHP), насоса экспорта желчных солей (bile salt export pump - BSEP) и фактора роста фибробластов 19 (fibroblast growth factor 19 - FGF19) повышается.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ уменьшения повреждения печени, включающий введение агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль) индивидууму, нуждающемуся в этом, причем фиброз уменьшается. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии одного или более маркеров фиброза снижается. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии Ccr2, Colla1, Colla2, Colla3, Cxcr3, Dcn, Hgf, Il1a, Inhbe, Lox, Loxl1, Loxl2, Loxl3, Mmp2, pdgfb, Plau, Serpine1, Perpinh1, Snai, Tgfb1, Tgfb3, Thbs1, Thbs2, Timp2 и/или Timp3 снижается. В некоторых вариантах осуществления уровень коллагена снижается. В некоторых вариантах осуществления уровень фрагментов коллагена снижается. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера фиброза снижается в по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4 или по меньшей мере 5 раз. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера фиброза снижается в по меньшей мере около 2 раза, по меньшей мере около 3 раза, по меньшей мере около 4 раза или по меньшей мере около 5 раз.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ уменьшения повреждения печени, включающий введение агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль) индивидууму, нуждающемуся в этом, причем воспаление уменьшается. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество маркеров воспаления уменьшаются. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии Adgre1, Ccr2, Ccr5, Il1A и/или Tlr4 снижается. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера воспаления снижается в по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4 или по меньшей мере 5 раз. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера воспаления снижается в по меньшей мере около 2 раза, по меньшей мере около 3 раза, по меньшей мере около 4 раза или по меньшей мере около 5 раз.

У пациента уровни щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы (GGT), аланинаминотрансферазы (АЛТ) и/или аспартатаминотрансферазы (АСТ) могут быть повышены. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ уменьшения повреждения печени, включающий введение агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединения формулы (II) или их фармацевтически приемлемая соль), причем уровни GGT, АЛТ и/или АСТ являются повышенными до лечения агонистом FXR. В

некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления уровень АЛТ у пациента в около 2-4 раза выше, чем верхняя граница нормы. В некоторых вариантах осуществления уровень АСТ у пациента в около 2-4 раза выше, чем верхняя граница нормы. В некоторых вариантах осуществления уровень GGT у пациента в около 1,5-3 раза выше, чем верхняя граница нормы. В некоторых вариантах осуществления уровень щелочной фосфатазы у пациента в около 1,5-3 раза выше, чем верхняя граница нормы. Способы определения уровней этих молекул хорошо известны. Нормальные уровни АЛТ в крови варьируются в диапазоне около 7-56 единиц/литр. Нормальные уровни АСТ в крови варьируются в диапазоне около 10-40 единиц/литр. Нормальные уровни GGT в крови варьируются в диапазоне около 9-48 единиц/литр. Нормальные уровни щелочной фосфатазы в крови варьируются в диапазоне около 53-128 единиц/литр у мужчин в возрасте 20-50 лет и около 42-98 единиц/литр у женщин в возрасте 20-50 лет.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, снижает уровень АСТ, АЛТ и/или GGT у индивидуума, имеющего повышенные уровни АСТ, АЛТ и/или GGT. В некоторых вариантах осуществления уровень АЛТ снижается в по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4 или по меньшей мере 5 раз. В некоторых вариантах осуществления уровень АЛТ снижается в около 2-5 раз. В некоторых вариантах осуществления уровень АСТ снижается в по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4 или по меньшей мере 5 раз. В некоторых вариантах осуществления уровень АСТ снижается в около 1,5-3 раза. В некоторых вариантах осуществления уровень GGT снижается в по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4 или по меньшей мере 5 раз. В некоторых вариантах осуществления уровень GGT снижается в около 1,5-3 раза.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены способы лечения расстройства печени у пациента, нуждающегося в этом, с помощью агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль), причем ингибитор SSAO селективно ингибирует SSAO. В некоторых вариантах осуществления ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемую соль. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления не ингибируется MAO-A (моноаминоксидаза А). В некоторых вариантах осуществления не ингибируется MAO-B (моноаминоксидаза В). В некоторых вариантах осуществления не ингибируются MAO-A и MAO-B.

В некоторых вариантах осуществления IC_{50} в отношении соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли является по меньшей мере в 100 раз меньшей для SSAO, чем для MAO-A и/или MAO-B. В некоторых вариантах осуществления IC_{50} в отношении соединения является по меньшей мере в 1000 раз меньшей для SSAO, чем для MAO-A и/или MAO-B. В некоторых вариантах осуществления IC_{50} в отношении соединения является по меньшей мере в 10000 раз меньшей для SSAO, чем для MAO-A

и/или MAO-B. В некоторых вариантах осуществления IC_{50} в отношении соединения является в 100-10000 раз меньшей для SSAO, чем для MAO-A и/или MAO-B. В некоторых вариантах осуществления IC_{50} в отношении соединения является в 100-1000 раз меньшей для SSAO, чем для MAO-A или MAO-B. В некоторых вариантах осуществления IC_{50} в отношении соединения является по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мере в 1000 раз, или по меньшей мере в 10000 раз, или 100-10000 раз, или 100-1000 раз меньшей для SSAO, чем для MAO-A и для MAO-B.

В некоторых вариантах осуществления пациент является человеком. Ожирение тесно связано с НАЖБП и НАСГ, однако худые люди также могут страдать от НАЖБП и НАСГ. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления пациент страдает ожирением. В некоторых вариантах осуществления пациент не страдает ожирением. Ожирение также может быть связано или вызывать другие заболевания, такие как сахарный диабет или сердечно-сосудистые заболевания. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления у пациента также имеется сахарный диабет и/или сердечно-сосудистое заболевание. Не ограничиваясь какой-либо теорией, считается, что сопутствующие заболевания, такие как ожирение, сахарный диабет и сердечно-сосудистые заболевания, могут усложнить лечение НАЖБП и НАСГ. И наоборот, единственным признанным в настоящее время способом лечения НАЖБП и НАСГ является потеря веса, которая, вероятно, не будет иметь практически никакого эффекта для худых людей.

Риск развития НАЖБП и НАСГ повышается с возрастом, однако дети также могут страдать от НАЖБП и НАСГ, причем в литературе приводятся данные по детям в возрасте всего 2 года (Schwimmer, et al., Pediatrics, 2006, 118:1388-1393). В некоторых вариантах осуществления возраст пациента составляет 2-17 лет, например, 2-10, 2-6, 2-4, 4-15, 4-8, 6-15, 6-10, 8-17, 8-15, 8-12, 10-17 или 13-17 лет. В некоторых вариантах осуществления возраст пациента составляет 18-64 года, например, 18-55, 18-40, 18-30, 18-26, 18-21, 21-64, 21-55, 21-40, 21-30, 21-26, 26-64, 26-55, 26-40, 26-30, 30-64, 30-55, 30-40, 40-64, 40-55 или 55-64 года. В некоторых вариантах осуществления возраст пациента составляет 65 лет или более, например, 70 лет или более, 80 лет или более или 90 лет или более.

НАЖБП и НАСГ являются распространенными причинами трансплантации печени, однако у пациентов, уже получивших один трансплантат печени, НАЖБП и/или НАСГ часто развиваются снова. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления пациент перенес трансплантацию печени.

В некоторых вариантах осуществления лечение в соответствии со способами, предложенными в данном документе, приводит к снижению оценки активности НАЖБП (NAS) у пациента. Например, в некоторых вариантах осуществления стеатоз, воспаление и/или баллонирование уменьшаются при лечении. В некоторых вариантах осуществления способы лечения, предложенные в данном документе, уменьшают фиброз печени. В некоторых вариантах осуществления способы снижают уровень триглицеридов в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления способы снижают уровень триглицеридов в печени.

В некоторых вариантах осуществления пациент подвержен риску развития нежелательного явления до введения в соответствии со способами, предложенными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления нежелательный эффект представляет собой нежелательный эффект, который влияет на почки, легкие, сердце и/или кожу. В некоторых вариантах осуществления нежелательный эффект представляет собой зуд.

В некоторых вариантах осуществления пациент ранее получал один или большее количество видов терапии. В некоторых вариантах осуществления расстройство печени прогрессировало в ходе терапии. В некоторых вариантах осуществления пациент страдал от зуда в ходе по меньшей мере одного или большего количества видов предшествующей терапии.

В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, не включают лечение зуда у пациента. В некоторых вариантах осуществления способы не включают введение антигистаминного препарата, иммунодепрессанта, стероида (такого как кортикостероид), рифампицина, антагониста опиоидов или селективного ингибитора обратного захвата серотонина (СИОЗС).

В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективные количества агониста FXR или ингибитора SSAO, либо и того, и другого находятся ниже уровня, вызывающего появление нежелательного эффекта у пациента, например, ниже уровня, вызывающего появление зуда, например, зуда степени 2 или степени 3.

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR и ингибитор SSAO вводят одновременно. В некоторых таких вариантах осуществления агонист FXR и ингибитор SSAO могут быть предложены в одной фармацевтической композиции. В других вариантах осуществления агонист FXR и ингибитор SSAO вводят последовательно.

Также в данном документе предложены режимы дозирования для введения агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединения формулы (II) или их фармацевтически приемлемая соль) индивидууму, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективные количества агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединения формулы (II) или их фармацевтически приемлемая соль) независимо составляют 500 мкг/сутки - 600 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективные количества независимо составляют 500 мкг/сутки - 300 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективные количества независимо составляют 500 мкг/сутки - 150 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективные количества независимо составляют 500 мкг/сутки - 100 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективные количества независимо составляют 500 мкг/сутки - 20 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективные количества независимо составляют 1 мг/сутки - 600 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления терапевтически

[illegible]

Количество дозы соединения, описанного в данном документе, определяется на основе свободного основания соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят от около 1 мг до около 30 мг агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль). В некоторых вариантах

[illegible]

В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят от около 1 мг до около 30 мг ингибитора SSAO (такого как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль). В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят от около 1 мг до около 5 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят от около 1 мг до около 3 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят от около 5 мг до около 10 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят от около 10 мг до около 15 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят от около 15 мг до около 20 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят от около 20 мг до около 25 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят от около 25 мг до около 30 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 1 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 2 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 3 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 4 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 5 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 6 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 7 мг соединения. В некоторых вариантах

осуществления индивиду вводят около 8 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 9 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 10 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 15 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 20 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 25 мг соединения. В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят около 30 мг соединения. В одном варианте осуществления соединение представляет собой соединение 2, описанное в данном документе.

Период лечения обычно составляет одну или большее количество недель. В некоторых вариантах осуществления период лечения составляет по меньшей мере 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 1 год, 2 года, 3 года, 4 года или более. В некоторых вариантах осуществления период лечения составляет от около недели до около месяца, от около месяца до около года, от около года до около нескольких лет. В некоторых вариантах осуществления период лечения составляет по меньшей мере любой из около 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 1 года, 2 лет, 3 лет, 4 лет или более. В некоторых вариантах осуществления период лечения составляет оставшуюся продолжительность жизни пациента.

Введение агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль) может независимо происходить один раз в сутки, два раза в сутки или каждые два дня в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель. В некоторых вариантах осуществления введение включает введение обоих соединений ежедневно в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель. В некоторых вариантах осуществления введение включает введение обоих соединений два раза в сутки в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель. В некоторых вариантах осуществления введение включает введение обоих соединений каждые два дня в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель.

В некоторых вариантах осуществления агонист FXR (такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитор SSAO (такой как соединение (II) или его фармацевтически приемлемая соль) вводят индивиду один раз в день в течение по меньшей мере семи дней, при этом суточное количество независимо находится в диапазоне от около 1 мг до около 10 мг, от около 1 мг до около 5 мг или от около 1 мг до около 3 мг, или около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг. В некоторых вариантах осуществления оба соединения вводят индивиду один раз в день в течение по меньшей мере 14 дней, при этом суточное количество независимо находится в диапазоне от около 1 мг до около 10 мг, от около 1 мг до около 5 мг или от около 1 мг до около 3 мг, или около 1, 2, 3,

4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг. В некоторых вариантах осуществления оба соединения вводят индивиду один раз в день в течение периода от одной до четырех недель, при этом суточное количество независимо находится от около 1 мг до около 10 мг, от около 1 мг до около 5 мг или от около 1 мг до около 3 мг, или около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг.

При введении в комбинации с ингибитором SSAO агонист FXR и/или ингибитор SSAO можно вводить в дозах, которые обычно вводят при введении любого из агентов отдельно. В альтернативном варианте, в результате синергизма, наблюдаемого для комбинации, агонист FXR и/или ингибитор SSAO можно вводить в дозах, которые ниже, чем дозы, когда любой из агентов вводится отдельно. Например, в вариантах осуществления, где агонист FXR представляет собой соединение формулы (I) (например, соединение 1) или его фармацевтически приемлемую соль, терапевтическая доза соединения формулы (I) для пациента-человека обычно составляет от около 5 мг до около 15 мг ежедневно и вводится перорально. Следовательно, в конкретных вариантах осуществления при введении в комбинации с ингибитором SSAO соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль можно вводить в пероральной дозе от около 5 мг до около 15 мг (например, 5 мг, 6 мг, 7 мг, 8 мг, 9 мг, 10 мг, 11 мг, 12 мг, 13 мг, 14 мг или 15 мг) или можно вводить в более низкой дозе. Например, при введении в комбинации с ингибитором SSAO соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль можно вводить перорально в дозе от около 1 мг до около 15 мг ежедневно, от около 1 мг до около 4,9 мг ежедневно, от около 1 мг до около 4 мг ежедневно, от около 2 мг до около 4 мг ежедневно или в любой дозе из 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 4,9, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 мг ежедневно.

В вариантах осуществления, где ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II) (например, соединение 2) или его фармацевтически приемлемую соль, терапевтическая доза соединения для пациента-человека обычно составляет от около 4 мг до около 40 мг ежедневно и вводится перорально. В конкретных вариантах осуществления при введении в комбинации с агонистом FXR соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемую соль можно вводить в пероральной дозе от около 4 мг до около 20 мг (например, 4 мг, 5 мг, 6 мг, 8 мг, 10 мг, 15 мг или 20 мг) или можно вводить в более низкой дозе. Например, при введении в комбинации с агонистом FXR соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемую соль можно вводить перорально в дозе от около 1 мг до около 20 мг ежедневно, от около 1 мг до около 3,9 мг ежедневно, от около 1 мг до около 3 мг ежедневно, от около 1,5 мг до около 3,5 мг ежедневно, от около 2 мг до около 3 мг ежедневно или в любой дозе из 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 3,6, 3,8, 3,9, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 мг ежедневно.

В конкретных вариантах осуществления, где агонист FXR представляет собой соединение формулы (I) (например, соединение 1) или его фармацевтически приемлемую соль, а ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II) (например, соединение 2) или его фармацевтически приемлемую соль, дозу каждого отдельного соединения можно вводить, как было изложено выше. Например, в некоторых вариантах

осуществления соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от около 1 мг до около 15 мг ежедневно в комбинации с соединением формулы (II) или его фармацевтически приемлемой солью, вводимыми в дозе от около 1 мг до около 20 мг ежедневно. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от около 5 мг до около 15 мг ежедневно в комбинации с соединением формулы (II) или его фармацевтически приемлемой солью, вводимыми в дозе от около 1 мг до около 5 мг ежедневно, от около 1 мг до около 10 мг ежедневно, от около 4 мг до около 20 мг ежедневно или от около 10 мг до около 20 мг ежедневно. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от около 1 мг до около 5 мг ежедневно в комбинации с соединением формулы (II) или его фармацевтически приемлемой солью, вводимыми в дозе от около 1 мг до около 5 мг ежедневно, от около 1 мг до около 10 мг ежедневно, от около 4 мг до около 20 мг ежедневно или от около 10 мг до около 20 мг ежедневно.

В некоторых вариантах осуществления количество агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и количество ингибитора SSAO (такого как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль), вводимых в день 1 периода лечения, превышает или равно количествам, вводимым во все последующие дни периода лечения. В некоторых вариантах осуществления количества, вводимые в день 1 периода лечения, равны количествам, вводимым во все последующие дни периода лечения.

Соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемую соль, используемые в соответствии с описанным в данном документе способом, можно вводить индивиду в одной суточной дозе в течение первого периода времени, за которым следует второй период времени, когда введение соединения прекращают, при этом ингибирующая SSAO активность сохраняется в течение как первого, так и второго периода времени. В некоторых вариантах осуществления первый и второй периоды времени составляют каждый одну неделю. Например, в данном документе предложен способ лечения индивида в течение периода в 14 дней, включающий введение индивиду одной суточной дозы соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли в течение первых 7 дней, за чем следует прекращение введения соединения в течение следующих 7 дней, при этом ингибирующая SSAO активность сохраняется в течение всего 14-дневного периода. В качестве другого примера, в данном документе предложен способ лечения индивида в течение периода в четыре недели, включающий введение индивиду одной суточной дозы соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли в течение первых двух недель, за чем следует прекращение введения соединения в течение следующих двух недель, при этом ингибирующая SSAO активность сохраняется в течение всего четырехнедельного периода. В некоторых вариантах осуществления суточная доза составляет около 10 мг. Следует понимать, что описанные в данном документе дозировки и схемы введения доз также применимы в монотерапии для лечения НАСГ с помощью

соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления введение модулирует одно или большее количество из следующего: метаболический путь, секреция желчи, метаболизм ретинола, метаболизм лекарственных веществ-цитохром P450, расщепление и поглощение жиров, метаболизм глицеролипидов, химический канцерогенез, метаболизм глицерофосфолипидов, никотиновая зависимость, метаболизм линолевой кислоты, ABC-переносчики, метаболизм ксенобиотиков цитохромом P450, метаболизм сфинголипидов, метаболизм глутатиона, биосинтез фолатов, морфиновая зависимость, биосинтез гликофосфолипидов лакто- и неолacto-серий, метаболизм арахидоновой кислоты, метаболизм тирозина, сахарный диабет взрослого типа у молодых, репликация ДНК, метаболизм холестерина, метаболизм лекарственных веществ-другие ферменты и метаболизм эфирлипида. В некоторых вариантах осуществления введение модулирует одно или большее количество из следующего: метаболический путь, метаболизм ретинола, расщепление и поглощение жиров, метаболизм глицеролипидов, химический канцерогенез, метаболизм глицерофосфолипидов, ABC-переносчики, метаболизм ксенобиотиков цитохромом P450, метаболизм сфинголипидов, метаболизм глутатиона, биосинтез фолатов и морфиновая зависимость. В некоторых вариантах осуществления введение модулирует экспрессию одного или более из следующего: Abcb4, APOA5, CYP7A1, CYP8B1, NR0B2 и SLC51B.

В некоторых вариантах осуществления введение комбинации агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединения формулы (II) или их фармацевтически приемлемая соль) нуждающемуся в этом индивиду приводит к дифференциальной экспрессии генов. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации приводит к дифференциальной экспрессии генов по сравнению с контролем носителем. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации приводит к дифференциальной экспрессии генов, связанных с липидным метаболизмом и транспортом жирных кислот. Гены, связанные с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот включают, помимо прочего, VLDLR, FABP2, IL1R2, VEGFC, LRP2, IRS2, VEGFA, LRP1, IRS1, PPARA, SLC27A1, LDLRAP1, LDLR, PPARGC1A, RXRA, SLC27A5. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации приводит к дифференциальной экспрессии по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 из VLDLR, FABP2, IL1R2, VEGFC, LRP2, IRS2, VEGFA, LRP1, IRS1, PPARA, SLC27A1, LDLRAP1, LDLR, PPARGC1A, RXRA и SLC27A5 по сравнению с контролем носителем.

В некоторых вариантах осуществления введение комбинации повышает уровни экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, по сравнению с контролем носителем. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации повышает уровни экспрессии по меньшей мере одного гена, связанного с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, в от

около 1 до около 1,5 раз, от около 1,5 до около 2 раз, от около 2 до около 2,5 раз, от около 2,5 до около 3 раз, от около 3 до около 3,5 раз или более чем в около 3,5 раз по сравнению с контролем без лечения. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации повышает уровни экспрессии по меньшей мере одного гена, связанного с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, при этом по меньшей мере один ген, связанный с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбран из Lgr2, Irs2, Vegfa, Lrp1, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldlrap1, Ldlr, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5.

В некоторых вариантах осуществления введение комбинации снижает уровни экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, снижается в от около 1 до около 1,5 раз, от около 1,5 до около 2 раз, от около 2 до около 2,5 раз, от около 2,5 до около 3 раз, от около 3 до около 3,5 раз или более чем в около 3,5 раз по сравнению с контролем без лечения. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации снижает уровни экспрессии по меньшей мере одного гена, связанного с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, при этом по меньшей мере один ген, связанный с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбран из Vldlr, Fabp2, Il1r2 и Vegfc.

Таким образом, следует понимать, что способы лечения, подробно описанные в данном документе, в некоторых вариантах осуществления включают лечение расстройства печени, такого как воспаление печени, фиброз печени, алкогольный фиброз, стеатоз, алкогольный стеатоз, первичный склерозирующий холангит (ПСХ), первичный билиарный цирроз (ПБЦ), неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), у индивида, нуждающегося в этом, причем лечение включает снижение экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот. В некоторых вариантах осуществления способы включают снижение экспрессии Fabp2, в частности экспрессии Fabp2 в печени.

В некоторых вариантах осуществления введение комбинации приводит к дифференциальной экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR или ингибитора SSAO. Следовательно, в таких вариантах осуществления агонист FXR усиливает антистеатозный эффект ингибитора SSAO. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации повышает экспрессию одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации повышает экспрессию одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбранных из Irs2, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldlrap1, Ldlr, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации повышает экспрессию одного или более генов, связанных с липидным

метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбранных из Lrp2, Irs2, Vegfa, Lrp1, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldlr, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5, по сравнению с введением в виде монотерапии ингибитора SSAO. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации снижает экспрессию одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации снижает экспрессию одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбранных из Vldlr, Fabp2, Il1r2 и Vegfc, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR. В некоторых вариантах осуществления введение комбинации повышает экспрессию одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбранных из Fabp2, Il1r2 и Vegfc, по сравнению с введением в виде монотерапии ингибитора SSAO.

Таким образом, следует понимать, что в некоторых вариантах осуществления способы лечения комбинацией агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль), подробно описанные в данном документе, включают лечение расстройства печени, такого как воспаление печени, фиброз печени, алкогольный фиброз, стеатоз, алкогольный стеатоз, первичный склерозирующий холангит (ПСХ), первичный билиарный цирроз (ПБЦ), неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), у индивида, нуждающегося в этом, причем лечение включает дифференциальную экспрессию генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, таких как Vldlr, Fabp2, Il1r2, Vegfc, Lrp2, Irs2, Vegfa, Lrp1, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldlrap1, Ldlr, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5. В некоторых вариантах осуществления лечение включает повышение экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбранных из Lrp2, Irs2, Vegfa, Lrp1, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldlrap1, Ldlr, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5. В некоторых вариантах осуществления лечение включает повышение экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбранных из Irs2, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldlrap1, Ldlr, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR. В некоторых вариантах осуществления лечение включает повышение экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбранных из Lrp2, Irs2, Vegfa, Lrp1, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldlr, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5, по сравнению с введением в виде монотерапии ингибитора SSAO. В некоторых вариантах осуществления лечение включает снижение экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбранных из Vldlr, Fabp2, Il1r2 и Vegfc, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR. В некоторых вариантах осуществления лечение включает снижение экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом и/или транспортом жирных кислот, выбранных из Fabp2, Il1r2 и Vegfc, по сравнению с введением в виде монотерапии ингибитора SSAO.

Следует понимать, что упоминание любого гена (например, Fabp2), описанного в данном документе, содержит ссылку на ортологи всех видов, включая людей и грызунов.

В определенных вариантах осуществления способы лечения, подробно описанные в данном документе, включают лечение индивида, нуждающегося в этом, комбинацией агониста FXR (такого как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль) в соотношении около 3 единицы агониста FXR на около 25 единиц ингибитора SSAO по массе.

Также в данном документе предложены комбинации агониста FXR (такого как соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединения формулы (II) или их фармацевтически приемлемая соль) для применения при лечении расстройства печени, такого как воспаление печени, фиброз печени, алкогольный фиброз, стеатоз, алкогольный стеатоз, первичный склерозирующий холангит (ПСХ), первичный билиарный цирроз (ПБЦ), неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), у индивидуума, нуждающегося в этом, с помощью способов, описанных в данном документе.

Также в данном документе предложены применения комбинаций агониста FXR (такого как соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитора SSAO (такого как соединения формулы (II) или их фармацевтически приемлемая соль) для производства лекарственного средства для лечения расстройства печени, такого как воспаление печени, фиброз печени, алкогольный фиброз, стеатоз, алкогольный стеатоз, первичный склерозирующий холангит (ПСХ), первичный билиарный цирроз (ПБЦ), неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), у индивидуума, нуждающегося в этом, с помощью способов, описанных в данном документе.

Готовые изделия и наборы

В настоящем изобретении дополнительно предложены готовые изделия, содержащие соединения, описанные в данном документе, или его соль, композицию, описанную в данном документе, или одну или большее количество единичных лекарственных форм, описанных в данном документе, в подходящей упаковке. В определенных вариантах осуществления готовое изделие предназначено для применения в любом из способов, описанных в данном документе. Подходящая упаковка (например, контейнеры) известна в данной области техники и включает, например, флаконы, сосуды, ампулы, бутылки, банки, гибкие упаковки и т. п. Готовое изделие может быть дополнительно стерилизовано и/или герметизировано.

В настоящем изобретении дополнительно предложены наборы для осуществления способов по настоящему изобретению, содержащие по меньшей мере два соединения, описанных в данном документе, или их фармацевтически приемлемую соль, или композицию, содержащую соединения, описанные в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль. В наборах можно использовать любые соединения,

описанные в данном документе, или их фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления в наборе используется агонист FXR (такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитор SSAO (такой как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль), описанные в данном документе. Наборы можно использовать для любого одного или большего количества применений, описанных в данном документе, и, соответственно, они могут содержать инструкции для лечения, как описано в данном документе.

Наборы обычно содержат подходящую упаковку. Наборы могут содержать один или большее количество контейнеров, содержащих любое соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль. Каждый компонент может быть упакован в отдельные контейнеры или несколько компонентов могут быть объединены в одном контейнере, где это позволяет перекрестная реактивность и срок годности. В некоторых вариантах осуществления набор включает контейнер, содержащий агонист FXR (такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль) и ингибитор SSAO (такой как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль). В других вариантах осуществления набор включает первый контейнер, содержащий агонист FXR (такой как соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль), и второй контейнер, содержащий ингибитор SSAO (такой как соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль).

Наборы могут находиться в стандартных лекарственных формах, многодозовых упаковках (*например*, многодозовых контейнерах) или в частичных дозах. Например, могут быть предложены наборы, которые содержат достаточные дозы соединения, описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли, и/или дополнительное фармацевтически активное соединение, пригодное для заболевания, подробно описанного в данном документе, для обеспечения эффективного лечения индивидуума в течение продолжительного периода, такого как любой из недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 6 недель, 8 недель, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев или более. Наборы также могут содержать многоразовые дозы соединений и инструкции по применению и могут быть упакованы в количествах, достаточных для хранения и применения в аптеках (*например*, аптеках при больницах и рецептурных аптеках).

Наборы могут необязательно содержать набор инструкций, обычно напечатанных инструкций, хотя электронные носители данных (*например*, магнитный диск или оптический диск), содержащие инструкции, также являются приемлемыми, относительно применения компонента(-ов) способов по настоящему изобретению. Инструкции, включенные в набор, обычно содержат информацию относительно компонентов и их введения индивидууму.

Пронумерованные варианты осуществления

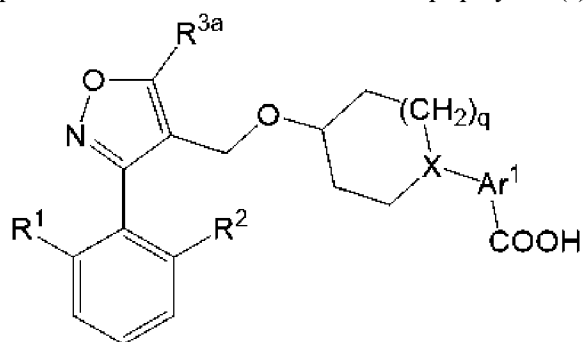
Вариант осуществления 1. Способ лечения расстройства печени у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR) и ингибитора семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (SSAO),

причем расстройство печени выбрано из группы, состоящей из воспаления печени, фиброза печени, алкогольного фиброза, стеатоза, алкогольного стеатоза, первичного склерозирующего холангита (ПСХ), первичного билиарного цирроза (ПБЦ), неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

Вариант осуществления 2. Способ по варианту осуществления 1, в котором агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту, цилофексор, тропифексор, EYP001 (вонафексор, предложенное международное непатентованное наименование), MET409 (метакрин) или EDP-305 (от Enanta).

Вариант осуществления 3. Способ по варианту осуществления 1 или 2, в котором ингибитор SSAO представляет собой PXS-4728A (BI-1467335).

Вариант осуществления 4. Способ по варианту осуществления 1, в котором агонист FXR представляет собой соединение формулы (I)



(I),

где:

q равно 1 или 2;

R¹ представляет собой хлор, фтор или трифторметокси;

R² представляет собой водород, хлор, фтор или трифторметокси;

R^{3a} представляет собой трифторметил, циклопропил или изопропил;

X представляет собой СН или N, при условии что когда X представляет собой СН, q равно 1; и

Ar¹ представляет собой индолил, бензотиенил, нафтил, фенил, бензоизотиазолил, индазолил или пиридилил, каждый из которых необязательно замещен метилом или фенилом,

или его фармацевтически приемлемую соль.

Вариант осуществления 5. Способ по варианту осуществления 4, в котором:

R¹ представляет собой хлор или трифторметокси; и

R² представляет собой водород или хлор.

Вариант осуществления 6. Способ по варианту осуществления 4 или 5, в котором:

R^{3a} представляет собой циклопропил или изопропил.

Вариант осуществления 7. Способ по любому из вариантов осуществления 4-6, в котором:

Ar¹ представляет собой 5-бензотиенил, 6-бензотиенил, 5-индолил, 6-индолил или 4-

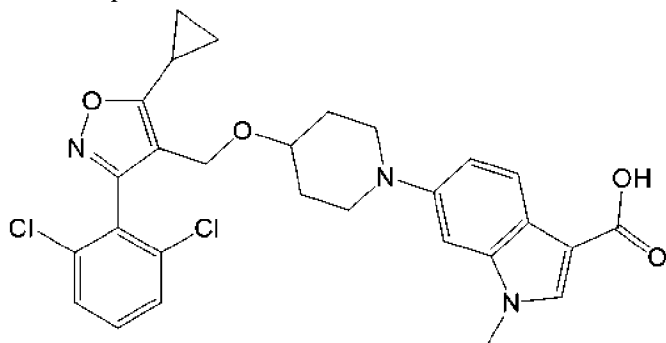
фенил, каждый из которых необязательно замещен метилом.

Вариант осуществления 8. Способ по любому из вариантов осуществления 4-7, в котором:

q равно 1; и

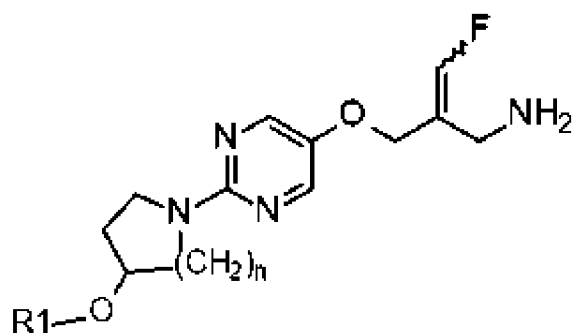
X представляет собой N.

Вариант осуществления 9. Способ по варианту осуществления 1 или 4, в котором агонист FXR представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

Вариант осуществления 10. Способ по любому из вариантов осуществления 1, 2 и 4-9, в котором ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II)



(II),

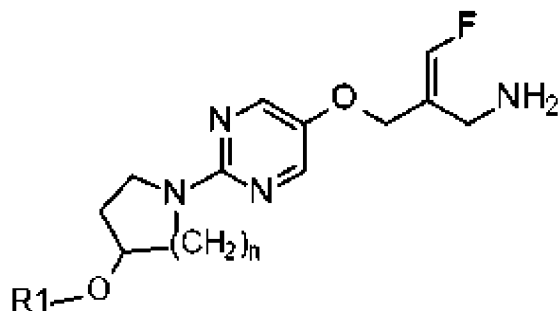
где:

n равно 1 или 2; и

R1 представляет собой H или -CH₃,

или его фармацевтически приемлемую соль.

Вариант осуществления 11. Способ по варианту осуществления 10, в котором ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (IIa)



(IIa),

где:

n равно 1 или 2; и

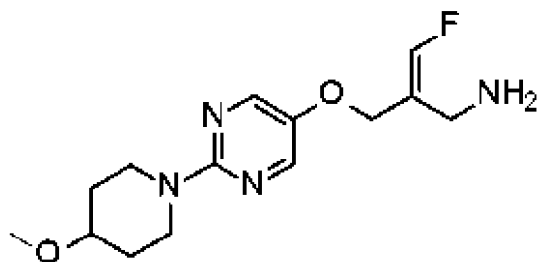
R1 представляет собой H или -CH₃,

или его фармацевтически приемлемую соль.

Вариант осуществления 12. Способ по варианту осуществления 10 или 11, в котором n равно 2.

Вариант осуществления 13. Способ по любому из вариантов осуществления 10-12, в котором R1 представляет собой CH₃.

Вариант осуществления 14. Способ по любому из вариантов осуществления 1, 2 и 4-9, в котором ингибитор SSAO представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

Вариант осуществления 15. Способ по любому из вариантов осуществления 1-14, в котором агонист FXR и ингибитор SSAO вводят одновременно.

Вариант осуществления 16. Способ по любому из вариантов осуществления 1-14, в котором агонист FXR и ингибитор SSAO вводят последовательно.

Вариант осуществления 17. Способ по любому из вариантов осуществления 1-16, в котором введение не приводит к появлению у пациента зуда со степенью тяжести 2 или более.

Вариант осуществления 18. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17, в котором введение не приводит к появлению у пациента зуда со степенью тяжести 1 или более.

Вариант осуществления 19. Способ по любому из вариантов осуществления 1-18, в котором введение не приводит к появлению у пациента зуда.

Вариант осуществления 20. Способ по любому из вариантов осуществления 1-19, в котором у пациента также имеется сахарный диабет и/или сердечно-сосудистое заболевание.

Вариант осуществления 21. Способ по любому из вариантов осуществления 1-20, в котором период лечения составляет оставшуюся продолжительность жизни пациента.

Вариант осуществления 22. Способ по любому из вариантов осуществления 1-21, в котором способ не включает введение антигистаминного препарата, иммунодепрессанта, стероида, рифампицина, антагониста опиоидов или селективного ингибитора обратного захвата серотонина (СИОЗС).

Вариант осуществления 23. Способ по любому из вариантов осуществления 1-22, в

котором агонист FXR вводят один раз в сутки или два раза в сутки.

Вариант осуществления 24. Способ по любому из вариантов осуществления 1-23, в котором ингибитор SSAO вводят один раз в сутки или два раза в сутки.

Вариант осуществления 25. Способ по любому из вариантов осуществления 1-24, в котором введение включает введение агониста FXR ежедневно в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель.

Вариант осуществления 26. Способ по любому из вариантов осуществления 1-25, в котором введение включает введение ингибитора SSAO ежедневно в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель.

Вариант осуществления 27. Способ по любому из вариантов осуществления 1-26, в котором расстройство печени выбрано из группы, состоящей из неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

Вариант осуществления 28. Способ по любому из вариантов осуществления 1-26, в котором расстройство печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит.

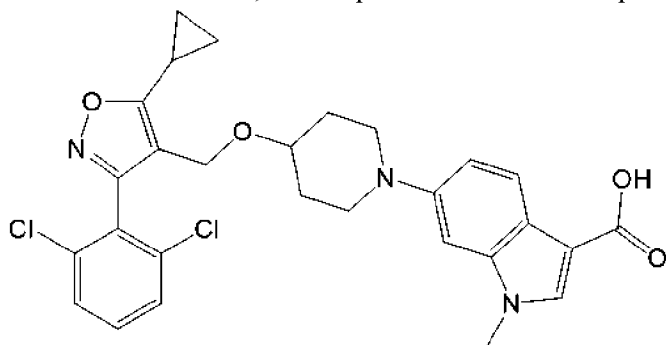
Вариант осуществления 29. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество агониста FXR, терапевтически эффективное количество ингибитора SSAO и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, эксципиент или комбинацию любого из вышеперечисленного.

Вариант осуществления 30. Лекарственная форма, содержащая терапевтически эффективное количество агониста FXR и терапевтически эффективное количество ингибитора SSAO.

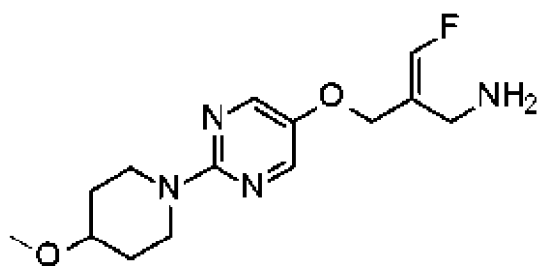
Вариант осуществления 31. Набор, содержащий контейнер, содержащий агонист FXR и ингибитор SSAO.

Вариант осуществления 32. Набор, содержащий первый контейнер, содержащий агонист FXR, и второй контейнер, содержащий ингибитор SSAO.

Вариант осуществления 33. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 29, лекарственная форма по варианту осуществления 30, набор по варианту осуществления 31 или 32, в которых агонист FXR представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль, а ингибитор SSAO представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

ПРИМЕРЫ

Пример 1 Метаболическая стабильность *in vitro*

Скорость печеночного метаболизма соединения 1 оценивали в криоконсервированных гепатоцитах, чтобы определить *in vitro* период полувыведения. 1 мкМ соединения 1 смешивали с предварительно кондиционированными гепатоцитами мыши, крысы, собаки, обезьяны или человека ($0,5 \times 10^6$ клеток/мл) и оставляли инкубироваться при 37°C в течение 2 часов, при этом образцы отбирали в несколько моментов времени и анализировали в отношении соединения 1. Значения *in vitro* периода полувыведения определяли и масштабировали, чтобы спрогнозировать печеночный клиренс (CL_{pred}) и печеночную экстракцию, с использованием тщательно перемешанной печеночной модели без коррекции в отношении плазменного белка, как описано в Obach et al., *The Prediction of Human Pharmacokinetic Parameters from Preclinical and In Vitro Metabolism Data*, J. of Pharmacology and Experimental Therapeutics, vol. 283, no. 1, pp. 46-58 (1997). Результаты представлены в таблице 1, которые свидетельствуют о том, что соединение 1 умеренно метаболизировалось в гепатоцитах всех протестированных видов.

Таблица 1. Метаболическая стабильность *in vitro* соединения 1

Вид	$t_{1/2}$ (мин.)	<i>In vitro</i> метаболический CL_{pred} (л/ч/кг)	Печеночная экстракция (%)
Мышь	$43,6 \pm 2,83$	$4,36 \pm 0,06$	$80,7 \pm 1,02$
Крыса линии Спрег-Дули	$131 \pm 4,11$	$1,57 \pm 0,03$	$47,3 \pm 0,78$
Собака породы бигль	$126 \pm 15,5$	$1,32 \pm 0,05$	$71,0 \pm 2,49$
Яванский макак	$63,4 \pm 0,78$	$1,68 \pm 0,01$	$64,4 \pm 0,28$
Человек	$84,1 \pm 6,48$	$0,83 \pm 0,22$	$67,0 \pm 1,73$

Пример 2 Анализ транспорта OATP *in vitro*

Поляризованный монослой клеток MDCK-II, выращенных на проницаемой

подложке, использовали для тестирования способности полипептида, транспортирующего органические анионы (organic-anion-transporting polypeptide - OATP), 1B1 или OATP 1B3 транспортировать соединение 1 через липидный бислой в клетки. Клетки MDCK-II трансфицировали одним из (1) вектора для экспрессии OATP 1B1, (2) вектора для экспрессии OATP 1B3 или (3) контрольного вектора. В клетках индуцировали экспрессию, прежде чем культивировать клетки при 37°C в атмосфере 5% CO₂. После индуцирования экспрессии клетки обрабатывали 1 мкМ, 3 мкМ и 10 мкМ соединения 1 или 3 мкМ соединения 1 и 100 мкМ рифампина. Затем измеряли клеточное поглощение соединения 1. Результаты этого эксперимента продемонстрировали, что соединение 1 не является подложкой OATP 1B1 или OATP 1B3.

Пример 3 Фармакокинетический анализ

Соединение 1 вводили крысам линии Спрег-Дули (СД) внутривенно в дозе 1 мг/кг (n=3) или перорально в дозе 10 мг/кг (n=3), собакам породы бигль внутривенно в дозе 1 мг/кг (n=3) или перорально в дозе 3 мг/кг (n=3), яванским макакам внутривенно в дозе 0,3 мг/кг (n=6) или перорально в дозе 5 мг/кг (n=6) и мышам перорально в дозе 5 мг/кг (n=9). Соединение 1 для перорального введения крысам линии СД было приготовлено в носителе, содержащем 10% ДМСО, 10% кремофор-EL и 80% водный раствор (10% 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин). Соединение 1 для перорального введения собакам породы бигль было приготовлено с водным раствором, содержащим 1% карбоксиметилцеллюлозу, 0,25% Твин-80 и 0,05% пеногаситель. Соединение 1 для перорального введения яванским макакам было приготовлено с 10% Solutol, 20% PEG400, 0,5% Твин-80 и 69,5% деионизованной водой. Собирали серийные образцы крови и измеряли концентрации соединения 1 в плазме. Результаты показаны на Фиг. 1А (в/в введение) и Фиг. 1В (пероральное введение) и в таблице 2. Результаты демонстрируют, что соединение 1 характеризуется низким или умеренным клиренсом *in vivo*. Объем распределения (V_{dss}) соединения 1 превышает общий объем воды в организме (0,70 л/кг) у крыс и собак. Меньший V_{dss} у обезьян коррелирует с более высокой степенью связывания с белками плазмы.

Таблица 2. Фармакокинетические параметры соединения 1

Вид	CL (л/ч/кг)	V_{dss} (л/кг)	В/в терминальное $t_{1/2}$ (ч)	Пероральная биодоступность (%)
Крыса линии Спрег-Дули	2,55	1,31	2,45	21
Собака породы бигль	0,54	1,92	5,67	82
Яванский макак	0,30	0,6	1,32	18

Пример 4 Распределение в тканях соединения 1

Распределение в тканях соединения 1, вводимого крысам, определяли и сравнивали с распределением других агонистов фарнезоидного X-рецептора (FXR) циклофексора, тропифексора и обетихоловой кислоты (ОХК). Тестируемые соединения вводили крысам линии СД (n=3 на каждое соединение) посредством 30-минутной внутривенной инфузии в дозе 2 мг/кг. У крыс собирали образцы тканей крови, печени, почек и легких, чтобы определить соотношение в тканях и в плазме. Соотношение ткань печени/плазма для соединения показано на Фиг. 2А, где продемонстрировано, что значительно большее количество соединения 1 локализуется в ткани печени по сравнению с другими тестируемыми соединениями. Совместное введение соединения 1 с 100 мкМ рифампина не приводит к значительному изменению распределения соединения 1 в печени (Фиг. 2В). Эти результаты совместно показали, что соединение 1 предпочтительно распределяется в печени и демонстрирует высокое соотношение в печени и в плазме у грызунов, приблизительно в 3-20 раз выше, чем другие агонисты FXR, изучаемые для лечения НАСГ (циклофексор, тропифексор и ОХК).

Меченное радиоизотопом (^{14}C) соединение 1 также вводили крысам линии Лонг-Эванс в пероральной дозе 5 мг/кг (100 мкКи/кг). Образцы тканей плазмы, печени, тонкой кишки, слепой кишки, почек, легких, сердца и кожи собирали через 168 часов и измеряли количество радиоактивного материала в разные моменты времени. Результаты показаны на Фиг. 3. В печени, тонкой кишке и слепой кишке наблюдалось наибольшее количество радиоактивного материала.

Пример 5 Метаболизм соединения 1

Меченное радиоизотопом (^{14}C) соединение 1 вводили крысам линии СД с интактными или канюлированными желчными протоками перорально в дозе 5 мг/кг или внутривенно в дозе 2 мг/кг (n=3 в каждой из четырех когорт) при общей радиоактивной дозе 100 мкКи/кг. Образцы крови, желчи, кала и мочи собирали у каждой крысы не более чем через 168 часов. Соединение 1 метаболизировалось в метаболит ацил-глюкуронид перед экскрецией с желчью, что было определено как основной путь выведения для соединения.

Пример 6 Фармакокинетический/фармакодинамический профиль

Фармакокинетический/фармакодинамический (ФК/ФД) профили для яванских макак определяли путем введения пероральной дозы суспензии соединения 1 в дозах 0 (носитель), 0,3, 1 или 5 мг/кг и забора образцов крови не более чем через 24 часа. Фармакодинамику измеряли как функцию восстановления 7-альфа-гидрокси-4-холестен-3-она (7АС4) (Фиг. 4) по данным количественного определения методом ЖХ-МС/МС. Фармакокинетические данные представлены в таблице 3 и были определены с помощью некомпартментного анализа.

Таблица 3. Фармакокинетические параметры соединения 1

Доза соединения 1	ФК параметры		
	AUC ₀₋₂₄ (нг*ч/мл)	C _{max} (нг/мл)	T _{max} (ч)

0,3 мг/кг	196 ± 64	58,8 ± 30,2	2,17 ± 1,47
1 мг/кг	1000 ± 419	257 ± 124	1,83 ± 1,17
5 мг/кг	2720 ± 1500	709 ± 458	2,25 ± 1,47

Соединение 1 также вводили перорально в дозе 1 мг/кг в течение 7 последовательных дней яванским макакам (n=6) для определения ФК/ФД профиля после введения нескольких доз. Результаты этого исследования показаны на Фиг. 5А (ФК профиль) и Фиг. 5В (ФД профиль), а также в таблице 4, и демонстрируют, что экспозиция соединения 1 в плазме была сопоставимой в день 1 и день 7 и что устойчивое подавление фармакодинамического биомаркера 7АС4 достигалось после повторного введения пероральных доз.

Таблица 4. Фармакокинетические параметры соединения 1

ФК параметры	C _{max} (нг/мл)	AUC ₀₋₂₄ (нг*ч/мл)	T _{max} (ч)
День 1	257 ± 124	1000 ± 419	1,83 ± 1,17
День 7	221 ± 121	858 ± 425	1,25 ± 0,61

Пример 7 Механизм действия

Мышам линии C57BL/6 вводили одну пероральную дозу 10 мг/кг соединения 1 (n=6), 30 мг/кг ОХК (n=6) или носителя в качестве контроля (n=6) и собирали образцы РНК из тканей через 6 часов после введения дозы. РНК анализировали с помощью кПЦР-РВ и РНК-секвенирования.

В кПЦР-РВ использовали ген-специфические праймеры для количественного определения FXR-регулируемой генной экспрессии в печени и подвздошной кишке, используя способ 2-ddCT. Результаты показаны на Фиг. 6 (данные показаны как среднее ± СОС; **** обозначает $p < 0,0001$, а * обозначает $p < 0,05$ по сравнению с носителем, причем статистические данные определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим тестом Тьюки). Эти данные указывают на то, что соединение 1 предпочтительно индуцирует FXR-специфические гены в печени мышей.

В анализе РНК-секвенирования мРНК экстрагировали из общей печени и секвенировали с использованием стандартной подготовки библиотек Illumina и протоколов секвенирования. Дифференциально экспрессируемые гены (Differentially expressed genes - DEG) определяли с помощью программных пакетов RSEM и edgeR и анализировали с помощью программного обеспечения Advaita Bio's iPathwayGuide. Результаты показаны на Фиг. 7А-7D и указывают, что соединение 1 модулирует значительно большее количество генов и метаболических путей, относящихся к НАСГ, по сравнению с ОХК. На Фиг. 7А показано, что введение соединения 1 модулирует экспрессию 500 связанных с НАСГ генов, ОХК модулирует экспрессию 44 связанных с НАСГ генов, включая 37 общих связанных с НАС генов, которые модулируются как соединением 1, так и ОХК, по сравнению с носителем в качестве контроля (кратное изменение $\geq 1,5$; q-значение $< 0,05$). На Фиг. 7В

показаны средние уровни экспрессии (продемонстрированные значением CPM) выбранных генов, связанных с FXR, у мышей, которым вводили носитель, ОХК и соединение 1. На Фиг. 7С показано, что введение соединения 1 вызывает обогащение 32 глобальных путей и что введение ОХК вызывает обогащение 6 глобальных путей, включая 2 общих глобальных пути при введении как соединения 1, так и ОХК. На Фиг. 7D показано 25 путей, наиболее статистически обогащенных при введении соединения 1, а также показано сравнение обогащения этих путей с обогащением при введении ОХК. В целом анализ РНК-секвенирования печени мышей, которым вводили соединение 1, показал более устойчивую модуляцию связанных с FXR генов и метаболических путей, относящихся к неалкогольной жировой болезни печени, по сравнению с лечением ОХК.

Пример 8 Клиническое исследование

Первое исследование. Здоровым людям-добровольцам ежедневно перорально вводили соединение 1 в дозе 5 мг (n=9), 75 мг (n=9), 200 мг или 400 мг (n=18) либо плацебо (n=12) в течение 14 дней. В ходе этого исследования случаев появления зуда не наблюдали.

Второе исследование. Соединение 1 вводили ежедневно в течение 7 дней в пероральных дозах по 25 мг (n=11), 75 мг (n=10) или 150 мг (n=10) или плацебо (n=5) субъектам-людям. У пациентов периодически измеряли уровни 7-альфагидрокси-4-холестен-3-она (7AC4), как показано в таблице 5, где показано, что происходило подавление уровней соединением 1. В отдельном исследовании, опубликованном независимой группой, сообщалось, что агонист FXR MET409 (метакрин) вводили ежедневно здоровым людям-добровольцам в дозах 20 мг 40 мг, 50 мг, 80 мг, 100 мг или 150 мг и измеряли уровни 7AC4, как показано в таблице 5. Смотрите Chen et al., *MET409, an Optimized Sustained FXR Agonist, Was Safe and Well-Tolerated in a 14-Day Phase 1 Study in Healthy Subjects*, The International Liver Congress, Vienna, Austria, April 10-14, 2019. В то время как у субъектов, принимающих MET409 в дозах 100 мг, наблюдали зуд, в случае субъектов, принимающих наибольшие дозы соединения 1, зуд не наблюдали. Известно, что другие агонисты FXR, такие как цилофексор, тропифексор, ОА, EDP-305 (Enanta), приводят к появлению зуда в более долгосрочных исследованиях.

Таблица 5. Сравнение MET409 и соединения 1

Параметры	MET409			Соединение 1		
	50 мг MET409	80 мг MET409	100 мг MET409	25 мг	75 мг	150 мг
AUC нг*ч/мл	6404	12479	16519	645	1480	2164
% снижения 7AC4 при самом низком уровне	85%	96%	99%	75%	82%	93%

Соотношение AUC/%7AC4	75	130	166	8,6	18	23
Зуд	Нет	Нет	Да	Нет	Нет	Нет

Пример 9 Мышиная модель НАСГ

Эффект соединения 1 на НАСГ оценивали с использованием мышиной модели, в которой НАСГ индуцировали посредством диеты с высоким содержанием жира в комбинации с введением CCl₄.

Мыши линии C57/BL6J получали пищу с высоким содержанием жира (D12492, Research Diet, жиры/белки/углеводы 60/20/20% ккал, 10w), чтобы вызвать ожирение (мышь > 36 г), прежде чем получить лечение с помощью ежедневного перорального приема соединения 1 и внутрибрюшинного введения раз в две недели четыреххлористого углерода (CCl₄) в течение четырех недель. На Фиг. 8. Соединение 1 вводили в дозе 10, 30 и 100 мг/кг.

Через 28 дней введения доз соединения 1 анализировали уровни липидов в сыворотке, трансаминаз в сыворотке и липидов в печени. Использовали гистологическое окрашивание тканей печени гематоксилином и эозином (H&E), а также красителем Sirius Red, чтобы количественно определить оценку активности НАЖБП (NAS), стеатоза, баллонирования, воспаления и фиброза. Уровень 7-альфа-гидрокси-4-холестерин-3-она (7AC4) в плазме измеряли в качестве биомаркера активации FXR. Генную экспрессию РНК анализировали с помощью кПЦР-РВ и РНК-секвенирования.

Оценка активности неалкогольной жировой болезни печени (NAS) представляет собой комплексную оценку для оценки НАСГ. NAS рассчитывают на основании стеатоза печени, воспаления печени и баллонирования, и определяли с помощью анализа гистологии ткани печени с использованием окрашивания H&E. В частности, оценку воспаления рассчитывали на основании окрашивания H&E: оценка 0, отсутствует; 1, < 2 очагов на 200X-поле; 2, 2-4 очага на 200X-поле; 3, > 4 очага на 200X-поле. Оценка стеатоза рассчитывали по окрашиванию H&E следующим образом: оценка 0, < 5%; 1, 5-33%; 2, > 33-66%; 3, > 66%). Гепатоцеллюлярное баллонирование представляет собой форму повреждения клеток печени, связанного с набуханием клеток, и также измеряется с помощью срезов печени, окрашенных H&E. Оценка баллонирования рассчитывали следующим образом: 0 - баллонирование гепатоцитов отсутствует; 1 - небольшое количество гепатоцитов с баллонированием; 2 - большое количество гепатоцитов с выраженным баллонированием.

Как показано на Фиг. 9, у мышей, обработанных 10, 30 или 100 мг/кг соединения 1, оценка NAS была значительно ниже по сравнению с необработанными мышами с НАСГ. Обработка соединением 1 также значительно уменьшала стеатоз, воспаление и баллонирование по сравнению с необработанными мышами с НАСГ. На Фиг. 10А-С

Фиброз печени количественно оценивали с помощью гистологического анализа процента Sirius Red-положительных срезов печени. На Фиг. 11А показана репрезентативная гистология для здоровых мышей, мышей с НАСГ и мышей с НАСГ, получавших лечение

соединением 1 в дозе 100 мг/кг. На Фиг. 11В показана количественная оценка площади фиброза для мышей, обработанных соединением 1. Обработка 10, 30 или 100 мг/кг соединения 1 приводила в статистически значимому уменьшению фиброза по сравнению с необработанным контролем НАСГ. Как показано на Фиг. 14А, соединение 1, вводимое в дозах 10, 30 или 100 мг/кг, вызвало уменьшение экспрессии коллагена типа 1, альфа 1 в печени по сравнению с контрольными мышами с НАСГ.

После лечения сыворотку анализировали в отношении уровней аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), триглицеридов и общего холестерина. Как показано на Фиг. 12А и Фиг. 12В, сывороточные уровни АЛТ и АСТ были снижены у мышей, обработанных соединением 1. На Фиг. 12С показано статистически значимое уменьшение концентрации триглицеридов в сыворотке у мышей, обработанных 100 мг/кг соединения 1. На Фиг. 12D показано статистически значимое уменьшение общего уровня холестерина у мышей, обработанных 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1.

Уровни триглицеридов в печени измеряли в тканях печени с помощью биохимического анализатора (Hitachi-700). На Фиг. 13А показана концентрация триглицеридов в печени у контрольных мышей или мышей, обработанных 10, 30 и 100 мг/кг соединения 1. Мыши, обработанные 100 мг/кг соединения 1, демонстрировали статистически значимые сниженные уровни триглицеридов. На Фиг. 13В показан репрезентативный гистологический срез.

Эффект соединения 1 на экспрессию генов анализировали с помощью кПЦР-РВ или РНК-секвенирования образцов печени (Фиг. 14А-С и таблица 6). В таблице 6 показан эффект соединения 1 на FXR-регулируемую генную экспрессию в печени. Уровень экспрессии каждого указанного гена (как определено значением количества генов на миллион (count per million - CPM)) после лечения соединением 1 делили на уровень экспрессии этого гена у животных, получавших носитель, чтобы определить активность соединения 1 по отношению к носителю.

Таблица 6. Экспрессия генов-мишеней FXR, воспалительных генов и генов фиброза

Ген	Соединение 1 (30 мг/кг) по отношению к носителю
SHP	4,6
BSEP	5,1
OST-B	135,7
CYP7A1	0,02
CYP8B1	0,007

Концентрацию EC_{50} соединения 1 для FXR определяли с помощью анализа коактивации FXR на основе флуоресценции. Полулогарифмические серийные разведения соединения 1 или ОХК (обетихоловая кислота, известный агонист FXR) (10мкМ-3нМ) инкубировали с доменом связывания лиганда FXR человека, вырабатываемым в клетках насекомых Sf9, меченным пептидом коактиватора SRC-1 и корегуляторным буфером G TR-

FRET в течение 1 ч при 25°C. Активность TGR5 измеряли с помощью клеточного анализа цАМФ. См. Kawamata et al JBC 278 (11)935-440 (2003). Полулогарифмические серийные разведения соединения 1 или ОХК (10мкМ-3нМ) добавляли к клеткам яичника китайского хомячка, экспрессирующим рекомбинантный TGR5 человека. Через 30 мин при к. т. измеряли цАМФ с помощью считывания HTRF. Значения EC₅₀ для FXR-регулируемой геной экспрессии определяли с помощью клеточного РНК-анализа. Полулогарифмические серийные разведения соединения 1 или ОХК (3мкМ-3нМ) добавляли к клеткам гепатомы HuH7 человека. Через 11 ч при 37°C РНК выделяли и анализировали с помощью кПЦР-РВ, используя праймеры для связанных с FXR генов: малый гетеродимерный партнер (SHP), насос экспорта желчных солей (BSEP) и фактор роста фибробластов 19 (FGF-19).

Как показано в таблице 7, соединение 1 является мощным и селективным агонистом FXR.

Таблица 7. EC₅₀ соединения 1

Анализ	EC ₅₀ соединения 1 (нМ)	EC ₅₀ ОХК (нМ)
Агонист FXR	57	73
Агонист TGR5	> 10 000	770
Индукция гена SHP/HuH7	50	200
Индукция гена BSEP/HuH7	40	200
Индукция гена FGF-19/HuH7	40	130

В целом, соединение 1 является мощным и селективным агонистом FXR.

Соединение 1 уменьшает экспрессию воспалительных и связанных с фиброзом генов, а также сильно подавляет стеатоз, воспаление, баллонирование и фиброз печени в мышинной модели НАСГ.

Пример 10

Обоснование

Семикарбазид-чувствительная аминоксидаза (SSAO) влияет на неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) путем повышения окислительного стресса посредством дезаминирования первичных аминов (например, метиламина, ММА) до альдегида, аммония и H₂O₂ и путем рекрутирования воспалительных клеток в печень, усугубляя воспаление и поражение печени. Уровни SSAO при НАСГ повышены и коррелируют со стадией фиброза. Соединение 2 представляет собой селективный ковалентный ингибитор SSAO, который снижает воспаление и фиброз печени в крысиной модели НАСГ. Проводили клиническое исследование соединения 2 с однократными нарастающими дозами.

Описанные в данном документе соединения можно получать способами, описанными в WO 2018/028517, которая в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки и, в частности, в отношении способов получения соединений,

подробно описанных в этой заявке.

Методы

Четыре группы из 8 здоровых участников рандомизировали для получения капсулы соединения 2 или соответствующего плацебо в соотношении 3:1. Определяли плазменные уровни соединения 2 и ФД биомаркеров до введения дозы и в различные моменты времени после введения дозы. Ингибирование SSAO определяли путем измерения относительного уменьшения генерации H_2O_2 в плазме после добавления экзогенного субстрата (бензиламина). Измеряли уровни эндогенного метиламина (ММА), которые по прогнозам должны повышаться после ингибирования SSAO, в плазме. Безопасность оценивали в течение 7 (± 3) дней после введения дозы.

Образцы плазмы для определения концентрации соединения 2 и активности SSAO получали через 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 (только активность SSAO) и 168 (только активность SSAO) после введения одной дозы исследуемого препарата (плацебо или соединения). Плазменные ФК параметры определяли с помощью некомпартментного анализа. Активность SSAO оценивали путем измерения уровней генерации пероксида водорода (H_2O_2) в образцах плазмы от реципиентов плацебо и соединения 2. Процентное изменение общей активности аминоксидазы определяли относительно соответствующих образцов до введения дозы (исходный уровень).

Уровни SSAO-специфической аминоксидазы в плазме определяли, используя кинетический анализ, по существу так, как было описано ранее (Schilter et al). Происходило ингибирование эндогенных моноаминоксидаз А и В при добавлении паргилина в образцы плазмы перед измерением уровней генерации H_2O_2 у реципиентов плацебо и активного вещества. Максимальное ингибирование определяли по образцам до введения дозы (исходный уровень), дополнительно обработанным высокой дозой соединения 2, а процентное изменение SSAO-специфической активности рассчитывали относительно образцов исходного уровня.

Результаты

Было включено 32 здоровых участников-людей (100% мужчин, 63% черных, 19% азиатов, 13% белых), которые получали одну пероральную дозу соединения 2 (1, 3, 6 и 10 мг, n=6 каждой) или плацебо (n=2). ФК экспозиция соединения 2 в плазме возрастала более чем пропорциональным дозе образом при уровнях дозы от 3 до 10 мг. Средний период полувыведения соединения 2 находился в диапазоне 1-3 часов. Через 4 часа после введения дозы во всех группах по величине дозы наблюдали практически полное ингибирование плазменной активности SSAO, при этом непрерывное подавление выявляли в течение до 1 недели после одной дозы соединения 2. Соединение 2 повышало максимальные плазменные уровни ММА. Не было зарегистрировано клинически релевантных нежелательных явлений или аномалий в результатах лабораторных анализов.

Как показано в таблице 8, дозы соединения 2 в 1, 3, 6 и 10 мг все переносились хорошо.

Таблица 8 Связанные с лечением нежелательные явления

	1 мг тозилатной соли соединения 2 или плацебо (n=8)	3 мг тозилатной соли соединения 2 или плацебо (n=8)	6 мг тозилатной соли соединения 2 (n=8)	10 мг тозилатной соли соединения 2 или плацебо (n=8)	Все (n=32)
Частота любых НЯВЛ у субъектов	0	0	2 (25)	3 (37,5)	5 (15,6)
Частота НЯВЛ у субъектов, которые возможно связаны с лечением	0	0	0	1 (12,5)	1 (3,1)
Диагноз и частота НЯВЛ					
запор	0	0	0	1 (12,5)	1 (3,1)
контактный дерматит	0	0	2 (25)	0	2 (6,3)
дисгевзия	0	0	0	1 (12,5)	1 (3,1)
головная боль	0	0	0	1 (12,5)	1 (3,1)
герпес полости рта	0	0	0	1 (12,5)	1 (3,1)
воспаление горла	0	0	1 (12,5)	0	1 (3,1)
инфекция верхних дыхательных путей	0	0	0	1 (12,5)	1 (3,1)

Однократные дозы тозилатной соли соединения 2 быстро выводились из плазмы и демонстрировали более чем пропорциональную дозе плазменную ФК от 3 до 10 мг.

Однократные дозы соединения 2 быстро и сильно снижали плазменную активность аминоксидазы у всех субъектов, как показано на Фиг. 15А и Фиг. 15В. Наблюдали почти полное ингибирование SSAO-специфической активности через 4 часа после введения дозы. На Фиг. 15А и Фиг. 15В. Ингибирование плазменной активности SSAO аминоксидазы и дозозависимое повышение плазменных уровней ММА сохранялись до 1 недели после однократных доз соединения 2, что позволяет предположить сильное, ковалентное связывание мишени и свидетельствует в пользу однократного суточного введения дозы несмотря на короткий плазменный период полувыведения. На Фиг. 15А и Фиг. 15В.

Концентрации ($C_{\max}$) для соединения 2 были в более чем 800 раз меньшими, чем концентрации IC_{50} для MAO-A и MAO-B, при всех уровнях доз. На Фиг. 15C.

Таблица 9 - Биохимическая активность (IC_{50} , мкМ)

Ингибитор SSAO	SSAO	MAO-A	MAO-B
Соединение 2	0,0065	> 50	> 50
BI 1467335 (PXS-4728A)	0,005	> 100	2,7

Наблюдали дозозависимое повышение метиламина, что указывает на сильное связывание мишени SSAO в плазме в указанном диапазоне доз. На Фиг. 15D.

Выводы

Соединение 2 было безопасным и хорошо переносимым для здоровых субъектов, которым вводили одну пероральную дозу в диапазоне от 1 мг до 10 мг. Соединение 2 ингибировало активность SSAO в течение до семи дней после однократной дозы. Это позволяет предположить, что соединение 2 может быть эффективным для лечения заболеваний или расстройств печени путем селективного ингибирования SSAO. Также оно может демонстрировать активность SSAO в течение семи дней после одной лишь дозы, что позволяет предположить, что ежедневное введение в течение одной недели может обеспечивать терапевтический эффект в течение двухнедельного периода.

Пример 11

Содержание животных: После поступления крыс оставляли для 2-недельного периода акклиматизации, во время которого их приручали к персоналу вивария и тренировали в отношении процедуры с использованием желудочного зонда. Через 2 недели животных сажали на CHDFD (рацион с высоким содержанием жиров и дефицитом холина) и предварительно откармливали в течение 4 недель. Затем крыс начинали обрабатывать тестируемыми соединениями и 3 х в неделю в/б инъекциями $NaNO_2$, в то время, как они оставались на CDHFD, еще в течение 8 недель. $NaNO_2$ вводили в дозе 25 мг/кг в/б, растворенный в ФСБ, 3 раза в неделю (по понедельникам, средам и пятницам) в течение 8 недель, оставляя на CDHFD.

Конечное умерщвление: Половину животных из каждой группы обработки умерщвляли на день 84. Другую половину животных в каждой группе умерщвляли на следующий день, день 85. В день умерщвления животных держали голодными в течение 2 ч и обрабатывали соответствующим тестируемым веществом. После конечной обработки соединением животные более не имели доступа к пище до умерщвления. Через 4 ч после последнего введения всех животных умерщвляли и брали образцы печени для последующего анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ: Рацион с высоким содержанием жиров и дефицитом холина (CDHFD) обычно используют для индукции НАСГ-подобного фенотипа у разных видов

грызунов. Кроме того, для моделирования запущенного заболевания НАСГ можно использовать индукцию фиброза печени посредством внутрибрюшинных (в/б) инъекций нитрита натрия (NaNO_2) у CDHFD. Таким образом, использовали крысиную модель CDHFD+ NaNO_2 НАСГ для исследования эффективности соединения 1 отдельно и в комбинации с соединением 2. В этой модели самцов крыс линии Вистар держали на рационе CDHFD в течение 4 недель для индукции заболевания перед обработкой ежедневно перорально препаратом и раз в три недели в/б NaNO_2 . Через 8 недель введения соединения 1 (3 мг/кг) и соединения 2 (25 мг/кг) в виде отдельных агентов или в комбинации обрабатывали ткань печени для полнотранскриптомного анализа методом РНК-секвенирования, чтобы посмотреть на изменения в генной экспрессии, связанной с разрешением заболевания. При НАСГ разрешение представляет собой комплексный процесс, который включает инфильтрацию печени специализированными клетками иммунной системы, включая регуляторные Т-клетки (Treg) и макрофаги M2. Treg и макрофаги M2 участвуют в иммунной супрессии и снижении воспаления и, по имеющимся данным, имеют благоприятную роль в животных моделях поражения печени, включая НАСГ. Чтобы посмотреть на наличие этих клеток, мы использовали данные РНК-секвенирования по экспрессии для проведения анализа представленности групп генов в одном образце (ssGSEA), используя сигнатуры специфической в отношении типа клеток генной экспрессии для количественной оценки относительных уровней инфильтрации Treg и макрофага M2 в печень (Фиг. 16). Комбинация соединения 1 (3 мг/кг) и соединения 2 (25 мг/кг) демонстрировала значительно большую оценку как для Treg, так и для макрофагов M2 по сравнению с обработанными носителем контрольными животными НАСГ. В отличие от этого, животные, обработанные отдельным агентом, значительно не отличались от контроля. Эти результаты верифицировали (Фиг. 17) с помощью анализа индивидуальных маркеров Treg и макрофагов M2, включая *Foxp3* (Treg), *Ikzf2* (Treg) и *Cd163* (макрофаг M2). Только комбинация соединения 1 (3 мг/кг) и соединения 2 (25 мг/кг) демонстрировала значительно большую экспрессию маркеров, связанных с клетками Treg и макрофагов M2. Вместе эти данные позволяют предположить, что комбинация соединения 1, агониста FXR, и соединения 2, ингибитора SSAO, приводила к повышенной экспрессии маркеров иммунных клеток в печени, которые связаны с разрешением НАСГ. С учетом их разных механизмов действия, соединение 1 и соединение 2 могут обеспечить комплементарные благоприятные эффекты при применении в комбинации для ускорения процессов разрешения НАСГ.

Эти результаты демонстрируют, что комбинация агониста FXR и ингибитора SSAO имеет эффект, превышающий таковой в случае введения любого из двух препаратов отдельно.

Пример 12

3 группы из 8 здоровых участников рандомизировали для получения нескольких доз один раз в день (QD) соединения 2 или соответствующего плацебо в соотношении 3:1 в течение 7 дней (1 мг и 4 мг) или 14 дней (10 мг). Определяли плазменные уровни соединения

2 и ФД биомаркеры (плазменную активность аминоксидазы и уровни метиламина) до введения дозы и в различные моменты времени после введения дозы. Безопасность оценивали в течение до 14 дней после введения последней дозы.

Не было зарегистрировано клинически релевантных нежелательных явлений или аномалий в результатах лабораторных анализов. Повышение плазменной ФК экспозиции соединения 2 было более чем пропорциональным дозе между группами с разными дозами в день 1, и при этом наблюдали значительное накопление при каждом уровне дозы после нескольких QD доз. Соотношение накопления между первым и последним днем введения доз снижалось при повышении дозы. Стационарное состояние было достигнуто в группе с наибольшей дозой (10 мг) через 7 дней. Период полувыведения соединения 2 возрастал с дозой, что согласуется с насыщаемым опосредованным мишенью клиренсом. Практически полное ингибирование плазменной активности SSAO наблюдали в день 1 во всех группах с разными дозами, а непрерывное подавление выявляли в течение до 2 недель после последней дозы в группе 10 мг. Плазменные уровни метиламина возрастали более чем пропорциональным дозе образом.

Соединение 2 было безопасным и хорошо переносимым у здоровых субъектов при введении до 10 мг QD в течение 14 дней. Уровни соединения 2, соответствующие стационарному состоянию, были достигнуты через 7 дней введения доз, свидетельствуя в пользу схемы введения доз QD. Практически полное ингибирование плазменной активности аминоксидазы SSAO и дозозависимое повышение плазменных уровней ММА сохранялись в течение до 2 недель после прекращения введения доз, что позволяет предположить, что ежедневное введение соединения 2 в течение двух недель может оказывать терапевтический эффект в течение двухнедельного периода после прекращения введения доз.

Пример 13

Проводили исследование, чтобы продемонстрировать благоприятные эффекты комбинирования агониста FXR и ингибитора SSAO в крысиной модели НАСГ.

Содержание животных: После поступления крыс оставляли для 2-недельного периода акклиматизации, во время которого их приручали к персоналу вивария и тренировали в отношении процедуры с использованием желудочного зонда. Через 2 недели животных помещали на рацион с высоким содержанием жиров и дефицитом холина (CDHFD) и предварительно откармливали в течение 4 недель для индукции стеатоза и фенотипа НАСГ-подобного заболевания. Затем крыс обрабатывали тестируемыми соединениями еще в течение 8 недель, держа их при этом на CDHFD. Одновременно с обработкой соединением крысам вводили нитрит натрия (NaNO_2 , 25 мг/кг, растворенный в ФСБ) посредством внутрибрюшинной (в/б) инъекции раз в три недели для индукции фиброза печени.

Конечное умерщвление: Половину животных из каждой группы обработки умерщвляли на день 84. Другую половину животных в каждой группе умерщвляли на следующий день, день 85. В день умерщвления животных держали голодными в течение 2

часов и обрабатывали соответствующим тестируемым веществом. После конечной обработки соединением животные более не имели доступа к пище до умерщвления. Через 4 часа после последнего введения всех животных умерщвляли и брали образцы печени для последующего анализа.

Получение образцов и анализ: Небольшие кусочки печени собирали в RNeasy (Thermo Fisher Scientific Dreieich, Germany) и хранили при -20°C перед секвенированием РНК (РНК-секвенированием) на MedGenome Inc. Анализ методом РНК-секвенирования проводили для ткани печени с помощью секвенирования Illumina, используя стандартные методологии. Вкратце, создавали библиотеки РНК-секвенирования ($n=5$ на группу), используя наборы для цепей мРНК Illumina Truseq, а секвенирование проводили на секвенаторе NovaSeq 6000. Выравнивание проводили, используя инструмент для выравнивания STAR (v2.7.3a), при этом считывания, картирующиеся на рибосомальный и митохондриальный геном, удаляли перед выравниванием. Исходное количество считываний оценивали, используя HTSeq (v0.11.1), и нормализовали, используя DESeq2 (v2.22.2). Дифференциально экспрессируемые гены (DEG) определяли, используя DESeq2 (пакет R Bioconductor).

РЕЗУЛЬТАТЫ: Рацион с высоким содержанием жиров и дефицитом холина (CDHFD) обычно используют для индукции НАСГ-подобного фенотипа у разных видов грызунов. Кроме того, для моделирования запущенного заболевания НАСГ можно использовать индукцию фиброза печени посредством внутрибрюшинных (в/б) инъекций нитрита натрия (NaNO_2) у CDHFD. Таким образом, использовали крысиную модель CDHFD+ NaNO_2 НАСГ для исследования эффективности соединения 1 отдельно и в комбинации с соединением 2. В этой модели самцов крыс линии Вистар держали на рационе CDHFD в течение 4 недель для индукции заболевания перед обработкой ежедневно перорально препаратом и раз в три недели в/б NaNO_2 . Через 8 недель введения соединения 1 (3 мг/кг) и соединения 2 (25 мг/кг) в виде отдельных агентов или в комбинации обрабатывали ткань печени для полнотранскриптомного анализа методом РНК-секвенирования. В таблице 10 показано общее число и направление изменения (т. е. повышение или снижение по сравнению с контролем носителя) дифференциально экспрессируемых генов (DEG), идентифицированных у крыс CDHFD+ NaNO_2 , которых обрабатывали соединением 1 (3 мг/кг), соединением 2 (25 мг/кг) или комбинацией соединения 1 (3 мг/кг) и соединения 2 (25 мг/кг). Используя абсолютное пороговое значение кратности изменения $\geq 1,5$ раза и скорректированное р-значение $< 0,01$, идентифицировали 309 DEG в группе обработки соединением 1, 847 DEG идентифицировали у животных, обработанных соединением 2, и 1351 DEG идентифицировали в группе комбинированного лечения. Эти результаты позволяют предположить, что комбинированное лечение приводит к по меньшей мере аддитивным эффектам на общее число DEG по сравнению с группами обработки отдельным агентом.

Неожиданно, в группе комбинированной обработки наблюдали большее количество DEG в повышенной регуляции по сравнению с группами индивидуальной обработки. На

Фиг. 18 показано число и перекрытие DEG (по сравнению с контрольной группой НАСГ с носителем), идентифицированных в каждой группе лечения, используя абсолютные пороговые значения кратного изменения и скорректированного р-значения $\geq 1,5$ и $< 0,01$, соответственно.

Таблица 10. Дифференциально экспрессируемые гены (DEG)

Группа лечения	DEG со сниженной экспрессией	DEG с повышенной экспрессией	Общее число DEG
Соединение 1 (3 мг/кг)	118	191	309
Соединение 2 (25 мг/кг)	641	206	847
Соединение 1 (3 мг/кг) + соединение 2 (25 мг/кг)	724	627	1351

Число DEG, идентифицированных (контрольная группа НАСГ с носителем по сравнению с группой лечения) для каждой группы лечения. Скорректированное р-значение $< 0,01$ и кратное изменение $\geq 1,5$ раза

После этого мы исследовали дифференциальную экспрессию генов, связанных с липидным метаболизмом и накоплением триглицеридов, которые были описаны ранее (Shepherd E, Karim S, Newsome P, and Lalor P., Inhibition of vascular adhesion protein-1 modifies hepatic steatosis in vitro and in vivo. World J Hepatol. 2020 12(11): 931-948). Обработка соединением 2 приводила к статистически значимым изменениям в экспрессии генов, связанных с липидным метаболизмом и транспортом жирных кислот, включая Vldlr, Fabp2, Vegfc, Ldlrap1, Ldlr, Ppargc1a и Slc27a5 (таблица 11, обозначение звездочкой). Из них Vldlr, Fabp2 и Slc27a5 были изменены в $\geq 1,5$ раза (выделено жирным шрифтом). Только для Fabp2 наблюдали значительную дифференциальную экспрессию после обработки соединением 1. Что интересно, комбинация соединения 1 и соединения 2 приводили к существенно большему количеству DEG, связанных с липидным метаболизмом и транспортом жирных кислот, чем в любой группе обработки отдельным агентом. Кроме того, несколько генов характеризовались дифференциальной экспрессией в $\geq 1,5$ раза по сравнению с контролем носителем, включая Vldlr, Fabp2, Il1r2, Ppara, Ldlr, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5.

Вместе эти данные позволяют предположить, что комбинация соединения 1, агониста FXR, и соединения 2, ингибитора SSAO, приводила к значительным изменениям в экспрессии генов, участвующих в липидном метаболизме и транспорте жирных кислот. Кроме того, профиль изменений генной экспрессии в значительной мере согласуется с повышенным антистеатозным эффектом по сравнению с обработкой одним соединением 1. С учетом их разных механизмов действия, соединение 1 и соединение 2 могут обеспечить комплементарные благоприятные эффекты при применении в комбинации для ускорения процессов разрешения НАСГ.

Таблица 11. Дифференциально экспрессируемые гены, связанные с липидным метаболизмом и транспортом жирных кислот

Анализ дифференциальной генной экспрессии ($\log_2$ -кратное изменение) по сравнению с контролем носителем

Ген	Соединение 2 (25 мг/кг)	Соединение 1 (3 мг/кг)	Соединение 2+соединение 1 (25 мг/кг+3 мг/кг)
Vldlr	-1,6*	-0,58	-1,17*
Fabp2	-1,02*	-1,02*	-1,2*
Il1r2	-0,45	-0,05	-0,95*
Vegfc	-0,45*	-0,28	-0,54*
Lrp2	0,08	0,33	0,32*
Irs2	0,13	0,27	0,41*
Vegfa	0,23	0,48	0,41*
Lrp1	0,25	0,51	0,48*
Irs1	0,26	-0,03	0,45*
Ppara	0,32	0,36	0,68*
Slc27a1	0,33	0,16	0,51*
Ldlrap1	0,38*	-0,07	0,32*
Ldlr	0,41*	0,4	0,67*
Ppargc1a	0,51*	0,25	0,85*
Rxra	0,51	0,03	0,62*
Slc27a5	0,68*	0,5	0,81*

Анализ генной экспрессии (РНК-секвенирование) в печени крыс CDHFD+NaNO₂. $\log_2$ -кратное изменение по сравнению с контролем носителем для генов, участвующих в липидном метаболизме и транспорте жирных кислот. Отрицательное направление изменения (-) указывает на снижение экспрессии при обработке по сравнению с носителем; положительное направление изменения указывает на повышение генной экспрессии по сравнению с контролем носителем. Абсолютные значения кратности изменения $\geq 1,5$ раза (т. е. $\log_2$ -кратное изменение $\geq 0,6$ или $\leq -0,6$) указаны жирным шрифтом. *p-значение $< 0,05$.

Пример 14

Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование поводят, чтобы оценить безопасность и эффективность комбинированных вариантов лечения, например, соединением 1 и соединением 2. Субъектов с НАСГ лечат один раз в день агонистом FXR и ингибитором SSAO в комбинации в течение 12 или 48 недель. Содержание жира в печени контролируют с помощью MPT-PDFF и измеряют сывороточные неинвазивные маркеры фиброза или НАСГ, такие как Pro-C3, TIMP-1, PIIINP, СК-18 и АЛТ. Также отслеживают побочные эффекты, такие как зуд и уровни

холестерина ЛПНП.

Все публикации, в том числе патенты, патентные заявки и научные статьи, упомянутые в данном описании, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, включая патент, патентную заявку или научную статью, о чем было бы специально и отдельно указано, были включены в настоящий документ посредством ссылки.

Несмотря на то, что вышеизложенное изобретение было описано довольно подробно посредством иллюстрации и примера для целей ясности понимания, специалистам в данной области техники будет очевидно, что некоторые незначительные изменения и модификации могут быть реализованы в свете вышеизложенного. Следовательно, описание и примеры не следует рассматривать как ограничивающие объем изобретения.

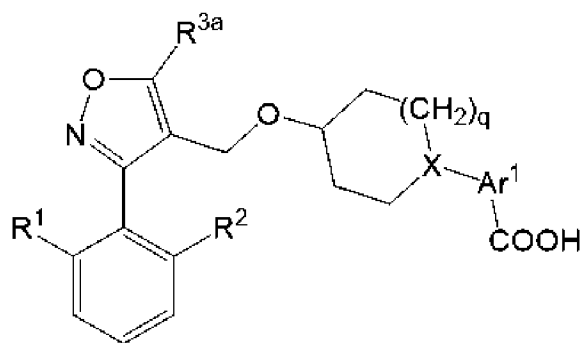
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения расстройства печени у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR) и ингибитора семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (SSAO), причем расстройство печени выбрано из группы, состоящей из воспаления печени, фиброза печени, алкогольного фиброза, стеатоза, алкогольного стеатоза, первичного склерозирующего холангита (ПСХ), первичного билиарного цирроза (ПБЦ), неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

2. Способ по п. 1, в котором агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту, циклофексор, тропифексор, EYP001 (вонафексор, предложенное международное непатентованное наименование), MET409 (метакрин), MET642 (метакрин), EDP-305 (от Enanta) или EDP-297 (от Enanta).

3. Способ по п. 1 или п. 2, в котором ингибитор SSAO представляет собой PXS-4728A (BI-1467335).

4. Способ по п. 1, в котором агонист FXR представляет собой соединение формулы (I)



(I),

где:

q равно 1 или 2;

R^1 представляет собой хлор, фтор или трифторметокси;

R^2 представляет собой водород, хлор, фтор или трифторметокси;

R^{3a} представляет собой трифторметил, циклопропил или изопропил;

X представляет собой CH или N , при условии что когда X представляет собой CH , q равно 1; и

Ar^1 представляет собой индолил, бензотиенил, нафтил, фенил, бензоизотиазолил, индазолил или пиридинил, каждый из которых необязательно замещен метилом или фенилом,

или его фармацевтически приемлемую соль.

5. Способ по п. 4, где:

R^1 представляет собой хлор или трифторметокси; и

R^2 представляет собой водород или хлор.

6. Способ по п. 4 или п. 5, где:

R^{3a} представляет собой циклопропил или изопропил.

7. Способ по любому из пп. 4-6, где:

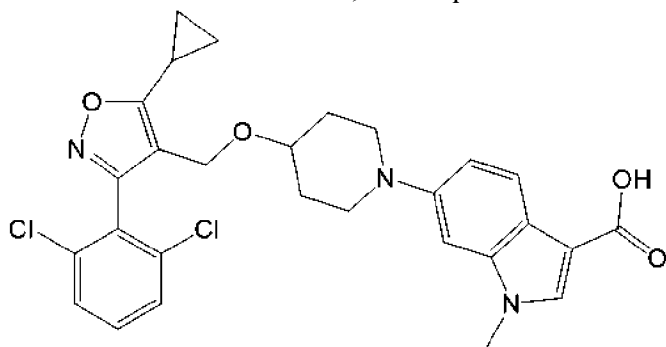
Ar^1 представляет собой 5-бензотиенил, 6-бензотиенил, 5-индолил, 6-индолил или 4-фенил, каждый из которых необязательно замещен метилом.

8. Способ по любому из пп. 4-7, где:

q равно 1; и

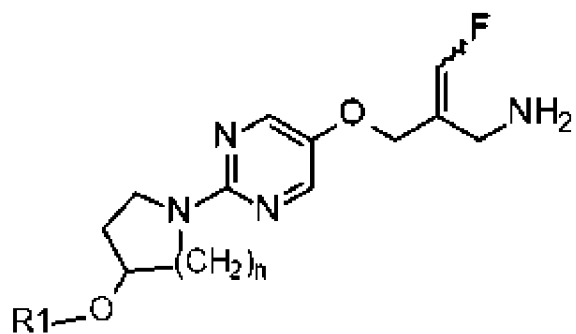
X представляет собой N .

9. Способ по п. 1 или п. 4, в котором агонист FXR представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

10. Способ по любому из пп. 1, 2 и 4-9, в котором ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (II)



(II),

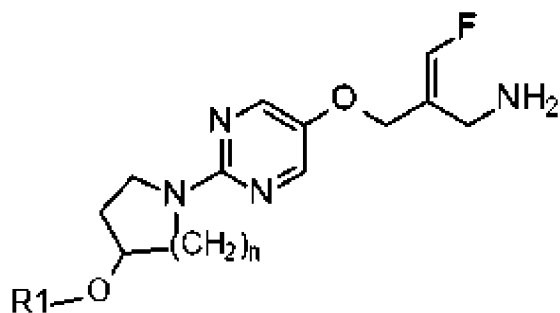
где:

n равно 1 или 2; и

R^1 представляет собой H или $-CH_3$,

или его фармацевтически приемлемую соль.

11. Способ по п. 10, в котором ингибитор SSAO представляет собой соединение формулы (IIa)



(IIa),

где:

n равно 1 или 2; и

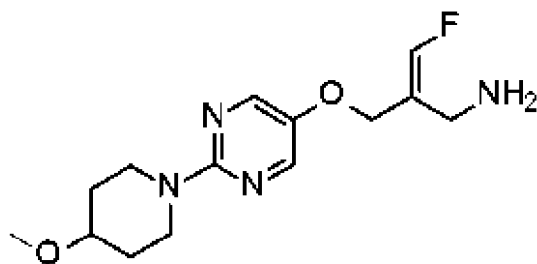
R¹ представляет собой H или -CH₃,

или его фармацевтически приемлемую соль.

12. Способ по п. 10 или п. 11, в котором n равно 2.

13. Способ по любому из пп. 10-12, где R¹ представляет собой CH₃.

14. Способ по любому из пп. 1, 2 и 4-9, в котором ингибитор SSAO представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

15. Способ по любому из пп. 1-14, в котором агонист FXR и ингибитор SSAO вводят одновременно.

16. Способ по любому из пп. 1-14, в котором агонист FXR и ингибитор SSAO вводят последовательно.

17. Способ по любому из пп. 1-16, в котором введение не приводит к появлению у пациента зуда со степенью тяжести 2 или более.

18. Способ по любому из пп. 1-17, в котором введение не приводит к появлению у пациента зуда со степенью тяжести 1 или более.

19. Способ по любому из пп. 1-18, в котором введение не приводит к появлению у пациента зуда.

20. Способ по любому из пп. 1-19, в котором у пациента также имеется сахарный диабет и/или сердечно-сосудистое заболевание.

21. Способ по любому из пп. 1-20, в котором период лечения составляет оставшуюся продолжительность жизни пациента.

22. Способ по любому из пп. 1-21, в котором способ не включает введение антигистаминного препарата, иммунодепрессанта, стероида, рифампицина, антагониста

опиоидов или селективного ингибитора обратного захвата серотонина (СИОЗС).

23. Способ по любому из пп. 1-22, в котором агонист FXR вводят один раз в сутки или два раза в сутки.

24. Способ по любому из пп. 1-23, в котором агонист SSAO вводят один раз в сутки или два раза в сутки.

25. Способ по любому из пп. 1-24, в котором введение включает введение агониста FXR ежедневно в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель.

26. Способ по любому из пп. 1-25, в котором введение включает введение агониста SSAO ежедневно в течение периода лечения продолжительностью одна или большее количество недель.

27. Способ по любому из пп. 1-26, в котором расстройство печени выбрано из группы, состоящей из неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

28. Способ по любому из пп. 1-26, в котором расстройство печени представляет собой неалкогольный стеатогепатит.

29. Способ по любому из пп. 1-28, в котором введение приводит к дифференциальной экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR или ингибитора SSAO.

30. Способ по п. 29, в котором введение приводит к повышению экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR или ингибитора SSAO.

31. Способ по п. 30, в котором введение приводит к повышению экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR, при этом один или более генов выбраны из Irs2, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldlrap1, Ldlr, Ppargc1a, Rxra или Slc27a5.

32. Способ по п. 30, в котором введение приводит к повышению экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии ингибитора SSAO, при этом один или более связанных генов выбраны из Lrp2, Irs2, Vegfa, Lrp1, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldlr, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5.

33. Способ по п. 29, в котором введение приводит к снижению экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR или ингибитора SSAO.

34. Способ по п. 33, в котором введение приводит к снижению экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии ингибитора FXR, при этом один или более связанных генов выбраны из Vldlr, Fabp2, Il1r2 и Vegfc.

35. Способ по п. 33, в котором введение приводит к снижению экспрессии одного

или более генов, связанных с липидным метаболизмом или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии ингибитора SSAO, при этом один или более связанных генов выбраны из Fabp2, Il1r2 и Vegfc.

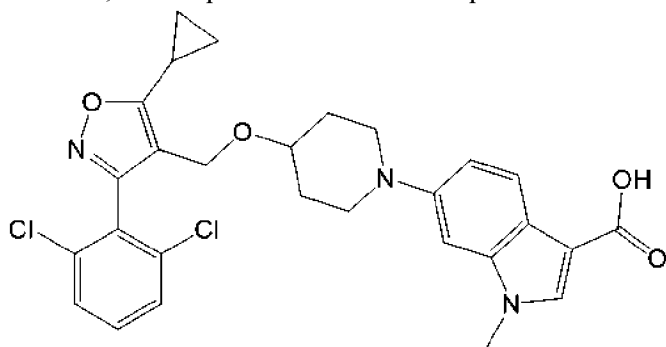
36. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество агониста FXR, терапевтически эффективное количество ингибитора SSAO и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, эксципиент или комбинацию любого из вышеперечисленного.

37. Лекарственная форма, содержащая терапевтически эффективное количество агониста FXR и терапевтически эффективное количество ингибитора SSAO.

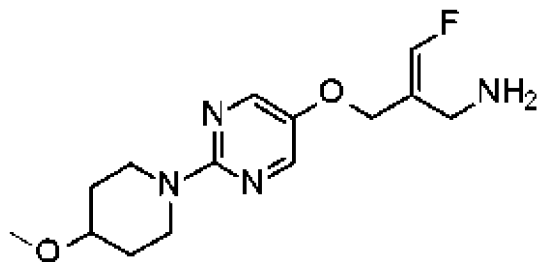
38. Набор, содержащий контейнер, содержащий агонист FXR и ингибитор SSAO.

39. Набор, содержащий первый контейнер, содержащий агонист FXR, и второй контейнер, содержащий ингибитор SSAO.

40. Фармацевтическая композиция по п. 36, лекарственная форма по п. 37, набор по п. 38 или п. 39, в которых агонист FXR представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль, а ингибитор SSAO представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

41. Способ уменьшения стеатоза печени у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества агониста FXR и терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO.

42. Способ лечения заболевания или патологического состояния, характеризующегося стеатозом печени, причем указанный способ включает введение пациенту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества агониста FXR и терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO.

43. Способ по п. 41 или п. 42, причем способ приводит к повышению экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии ингибитора SSAO, при этом один

или более связанных генов выбраны из Lrp2, Irs2, Vegfa, Lrp1, Irs1, Ppara, Slc27a1, Ldr1, Ppargc1a, Rxra и Slc27a5.

44. Способ по любому из пп. 41-43, причем способ приводит к снижению экспрессии одного или более генов, связанных с липидным метаболизмом или транспортом жирных кислот, по сравнению с введением в виде монотерапии ингибитора FXR, при этом один или более связанных генов выбраны из Vldlr, Fabp2, Il1r2 и Vegfc.

45. Способ по любому из пп. 41-44, в котором агонист FXR вводят перорально.

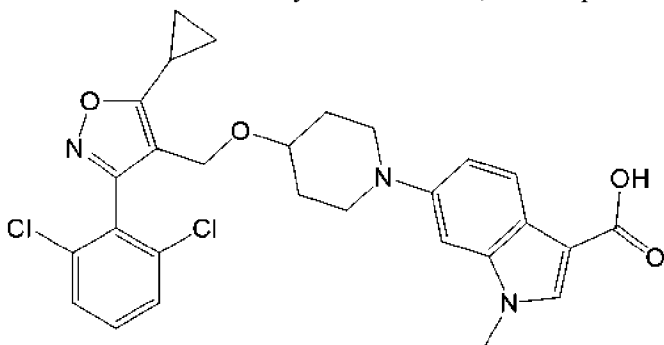
46. Способ по любому из пп. 41-45, в котором ингибитор SSAO вводят перорально.

47. Способ по любому из пп. 41-46, в котором у пациента имеется НАСГ.

48. Способ по любому из пп. 41-47, в котором у пациента имеется фиброз печени.

49. Способ по любому из пп. 41-48, в котором агонист FXR представляет собой обетихоловую кислоту, цилофексор, тропифексор, EYP001 (вонафексор, предложенное международное непатентованное наименование), MET409 (метакрин), MET642 (метакрин), EDP-305 (от Enanta) или EDP-297 (от Enanta).

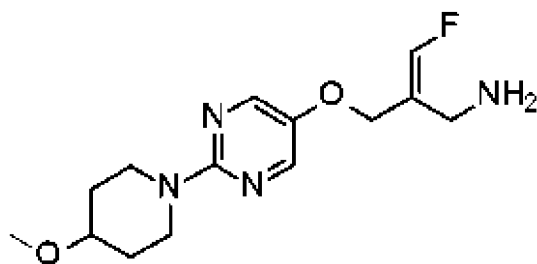
50. Способ по любому из пп. 41-48, в котором агонист FXR представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

51. Способ по любому из пп. 41-50, в котором ингибитор SSAO представляет собой PXS-4728A.

52. Способ по любому из пп. 41-50, в котором ингибитор SSAO представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

53. Способ уменьшения воспаления печени у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества агониста FXR и терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO.

54. Способ уменьшения активации лейкоцитов у пациента с расстройством, характеризующимся высокими уровнями лейкоцитов в печени, причем указанный способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества агониста FXR и

терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO.

55. Способ по любому из п. 53 или п. 54, в котором агонист FXR вводят перорально.

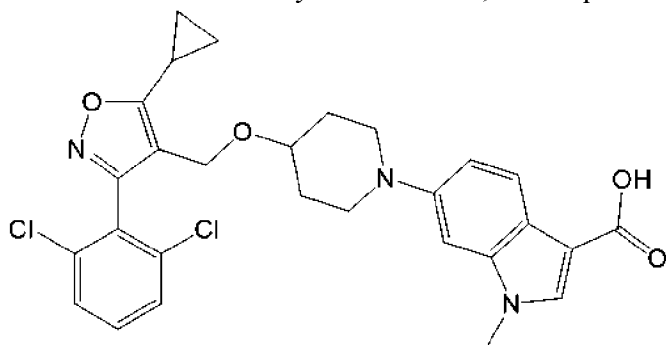
56. Способ по любому из пп. 53-55, в котором ингибитор SSAO вводят перорально.

57. Способ по любому из пп. 53-56, в котором у пациента имеется НАСГ.

58. Способ по любому из пп. 53-57, в котором у пациента имеется фиброз печени.

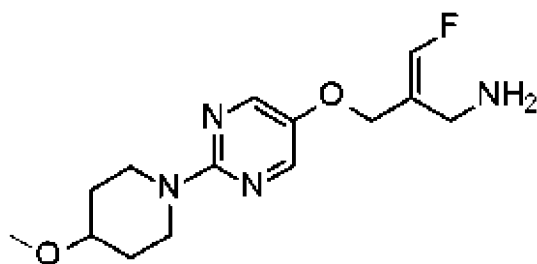
59. Способ по любому из пп. 53-58, в котором агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту, цилофексор, тропифексор, EYP001 (вонафексор, предложенное международное непатентованное наименование), MET409 (метакрин), MET642 (метакрин), EDP-305 (от Enanta) или EDP-297 (от Enanta).

60. Способ по любому из пп. 53-58, в котором агонист FXR представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

61. Способ по любому из пп. 53-60, в котором агонист SSAO представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

62. Способ лечения заболевания или патологического состояния, характеризующегося фиброзом печени, причем указанный способ включает введение пациенту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества агониста FXR и терапевтически эффективного количества ингибитора SSAO.

63. Способ по п. 62, в котором заболевание или патологическое состояние связано с воспалением печени.

64. Способ по п. 62 или п. 63, в котором введение снижает экспрессию по меньшей мере одного из Col1a1, Col3a1, Mmp2, Lgals3, Cd68 или Ccr2 по сравнению с введением в виде монотерапии агониста FXR или ингибитора SSAO.

65. Способ по любому из пп. 62-64, в котором агонист FXR вводят перорально.

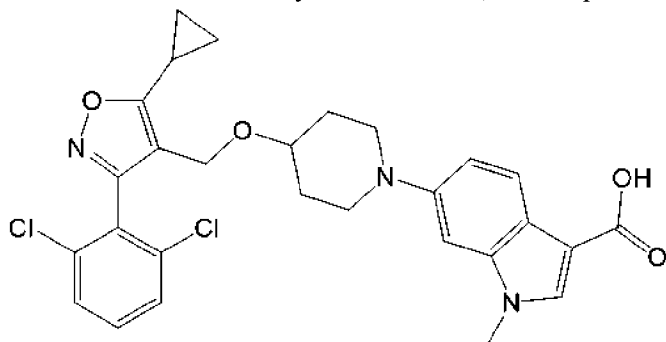
66. Способ по любому из пп. 62-65, в котором ингибитор SSAO вводят перорально.

67. Способ по любому из пп. 62-66, в котором у пациента имеется НАСГ.

68. Способ по любому из пп. 62-67, в котором агонист FXR представляет собой

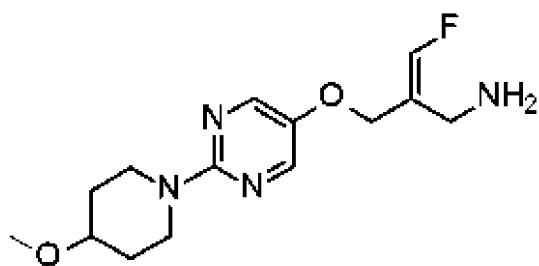
обетихолевую кислоту, цилофексор, тропифексор, EYP001 (вонафексор, предложенное международное непатентованное наименование), MET409 (метакрин), MET642 (метакрин), EDP-305 (от Enanta) или EDP-297 (от Enanta).

69. Способ по любому из пп. 62-67, в котором агонист FXR представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

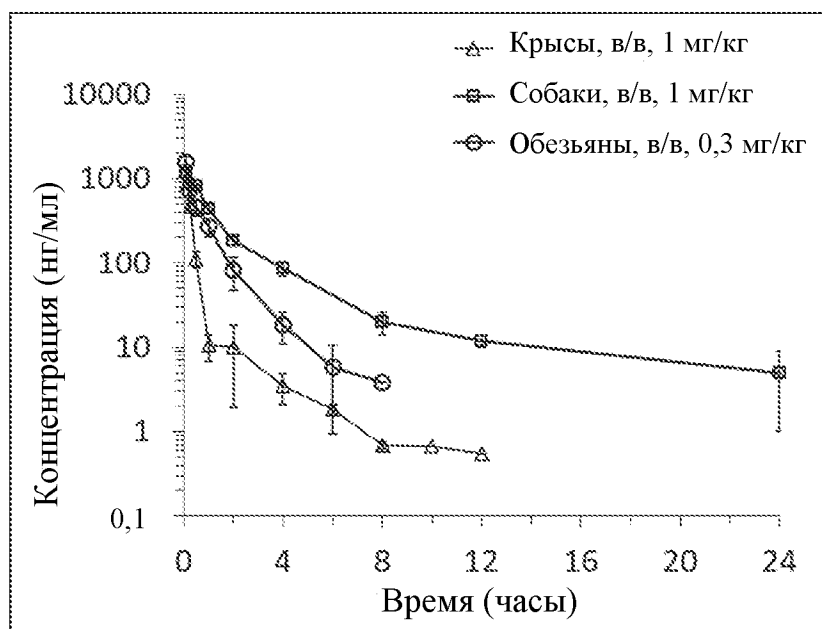
70. Способ по любому из пп. 62-69, в котором ингибитор SSAO представляет собой:



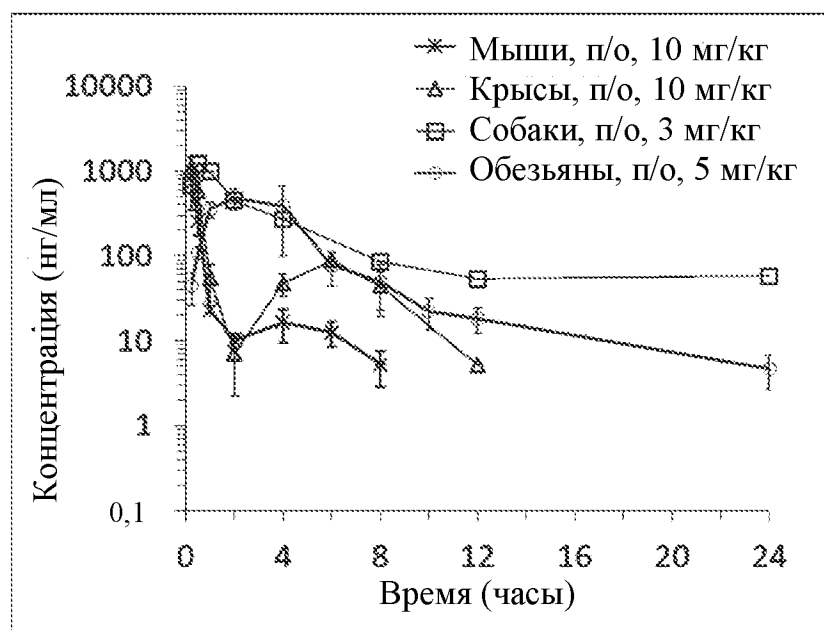
или его фармацевтически приемлемую соль.

По доверенности

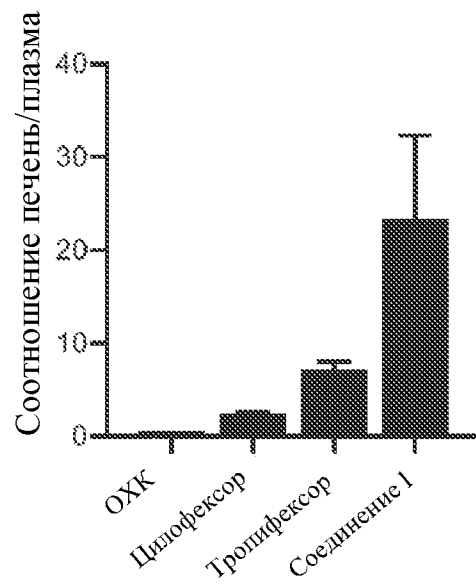
1/32



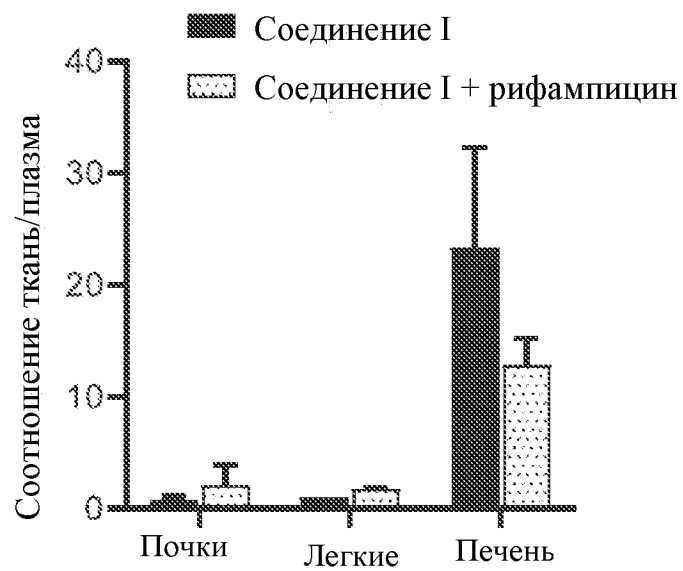
Фиг. 1А



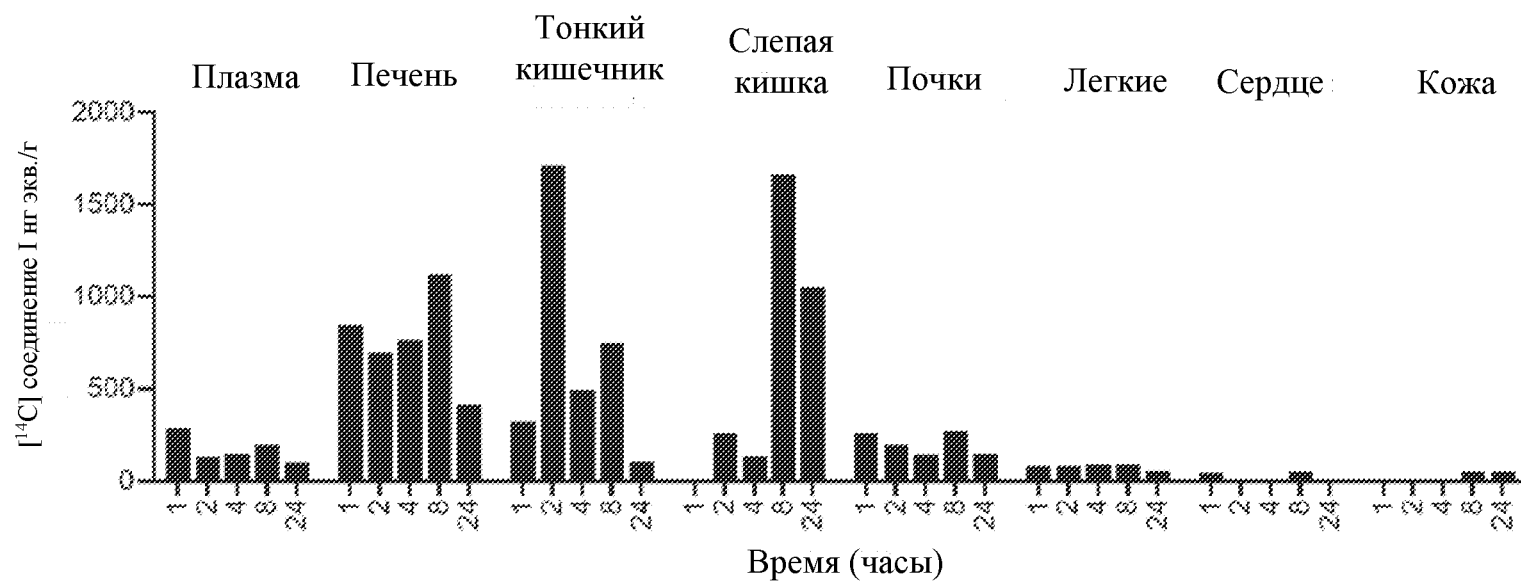
Фиг. 1В



Фиг. 2А

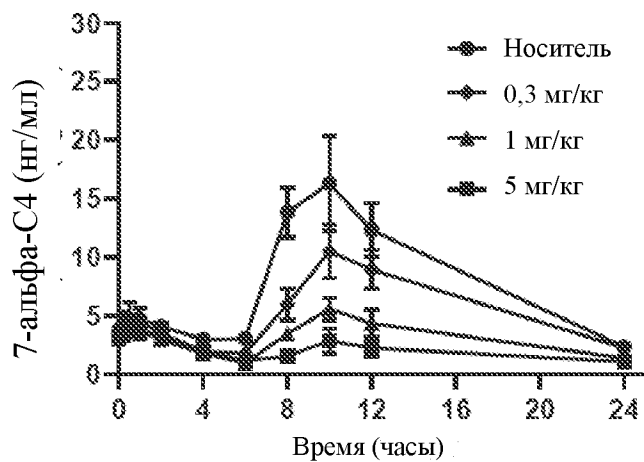


Фиг. 2В



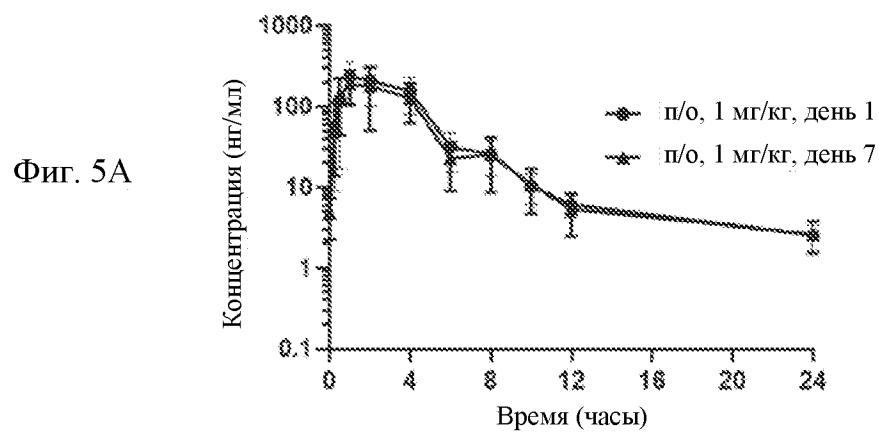
Фиг. 3

День 1, ФД у яванских макаков

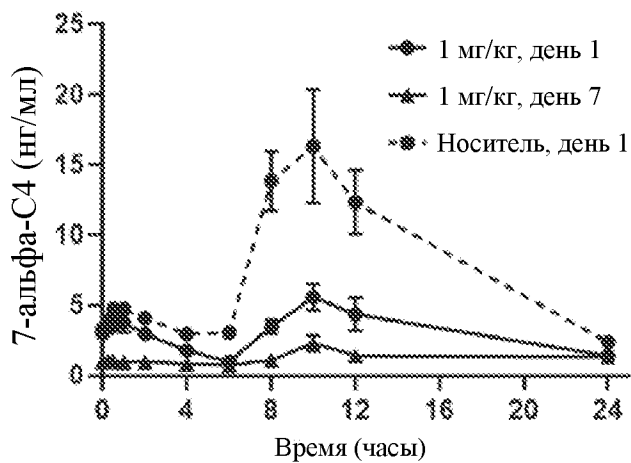


ФИГ. 4

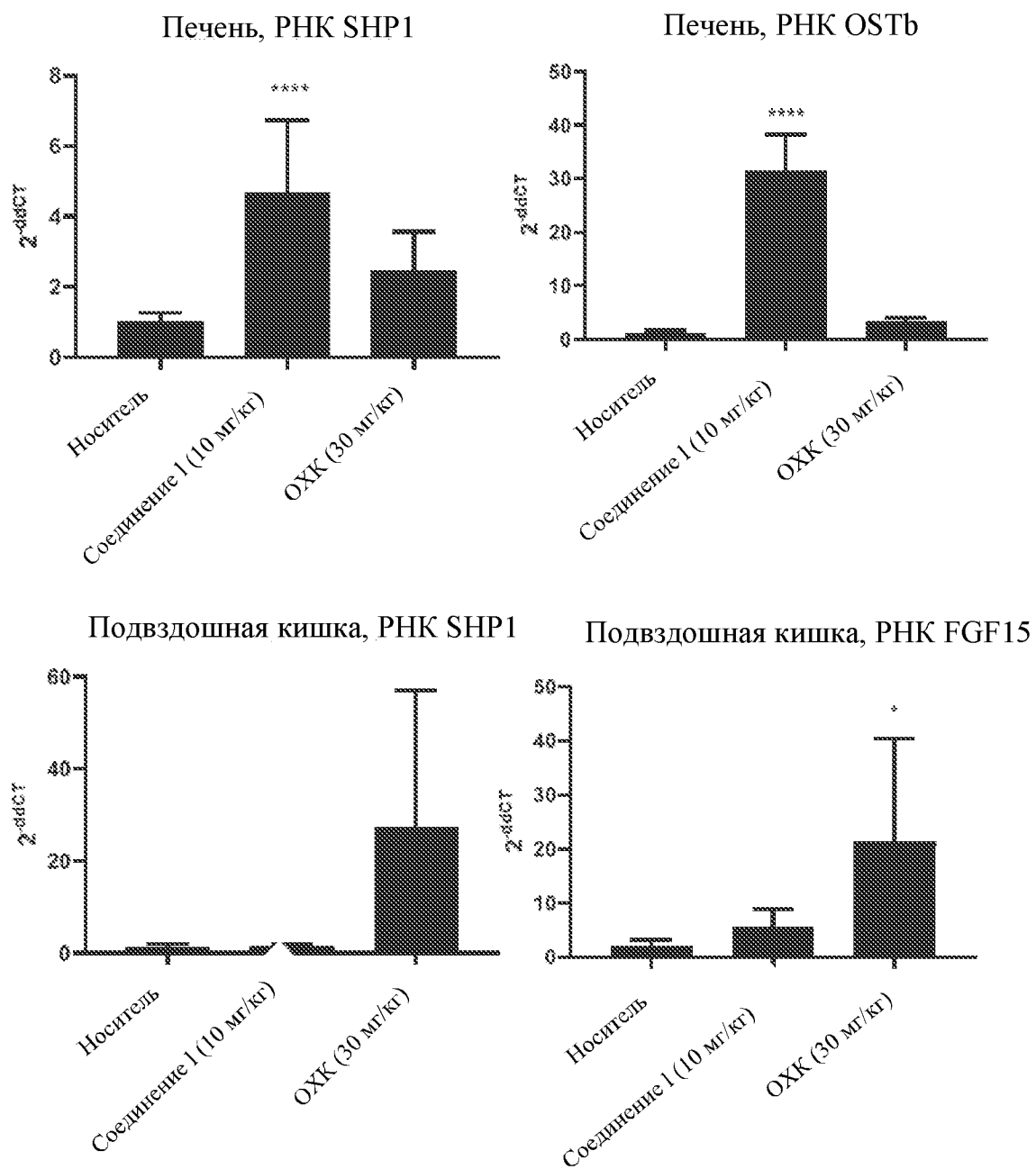
День 1/7, ФК профиль у яванских макаков



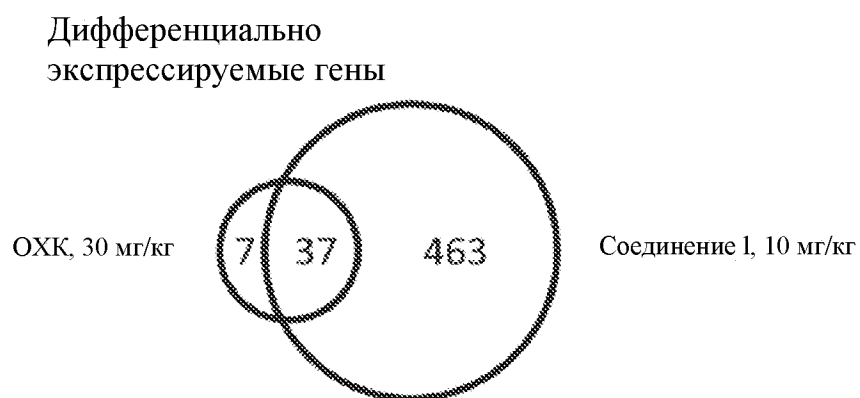
День 1/7, ФД у яванских макаков



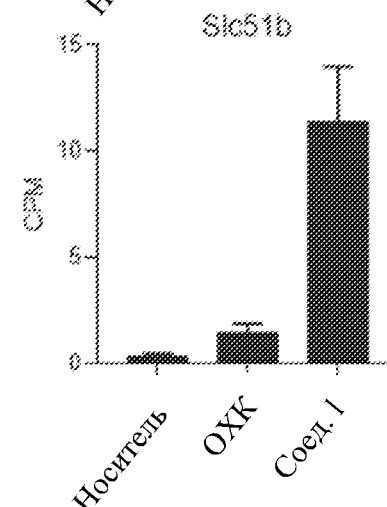
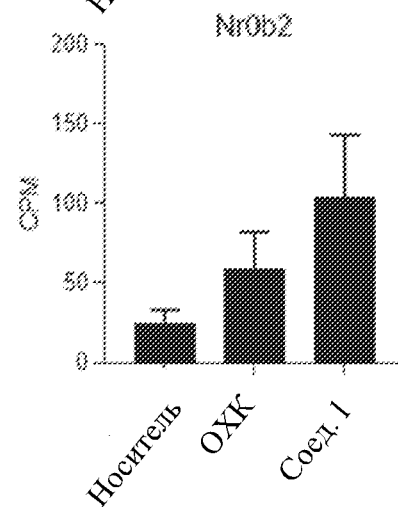
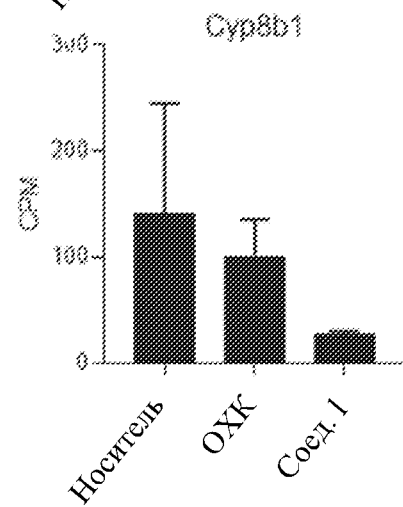
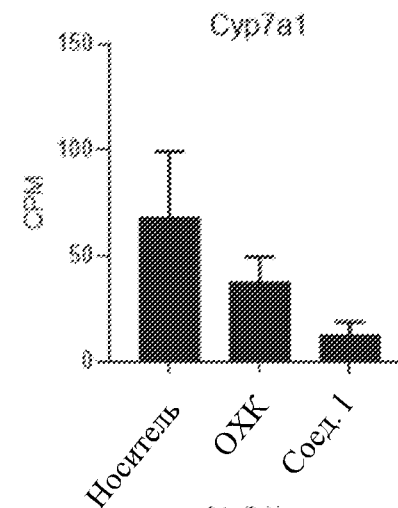
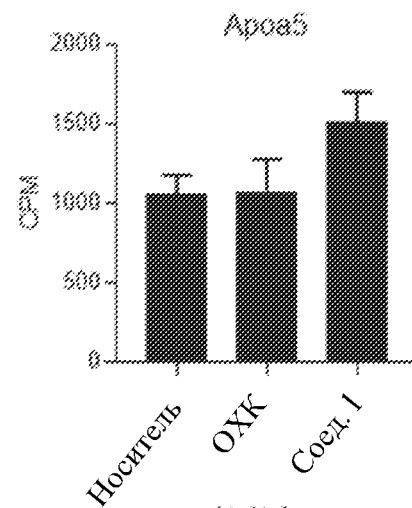
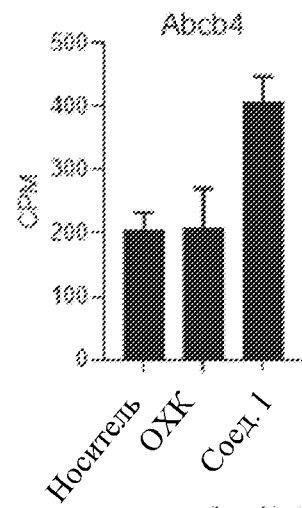
Фиг. 5В



Фиг. 6

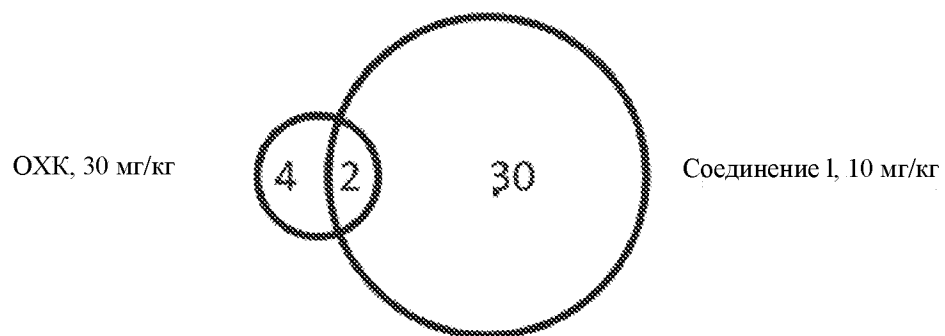


Фиг. 7А

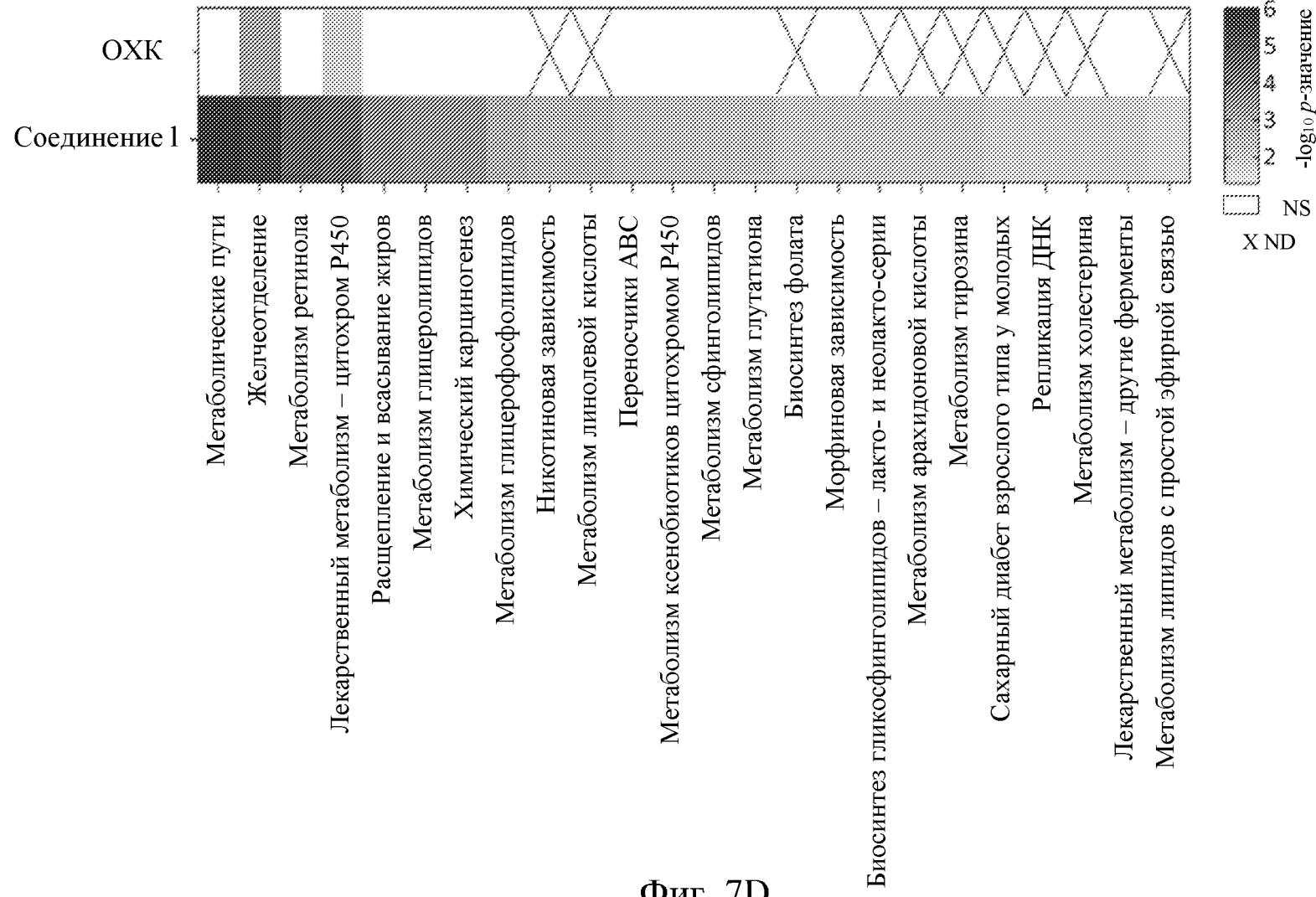


Фиг. 7В

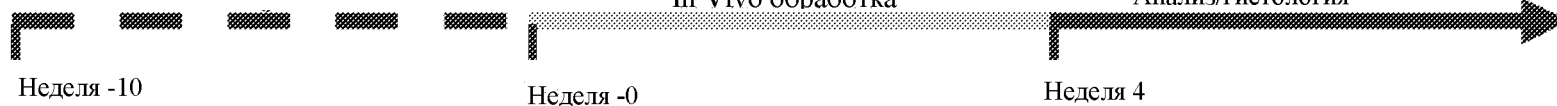
Обогащение глобального пути



Фиг. 7С



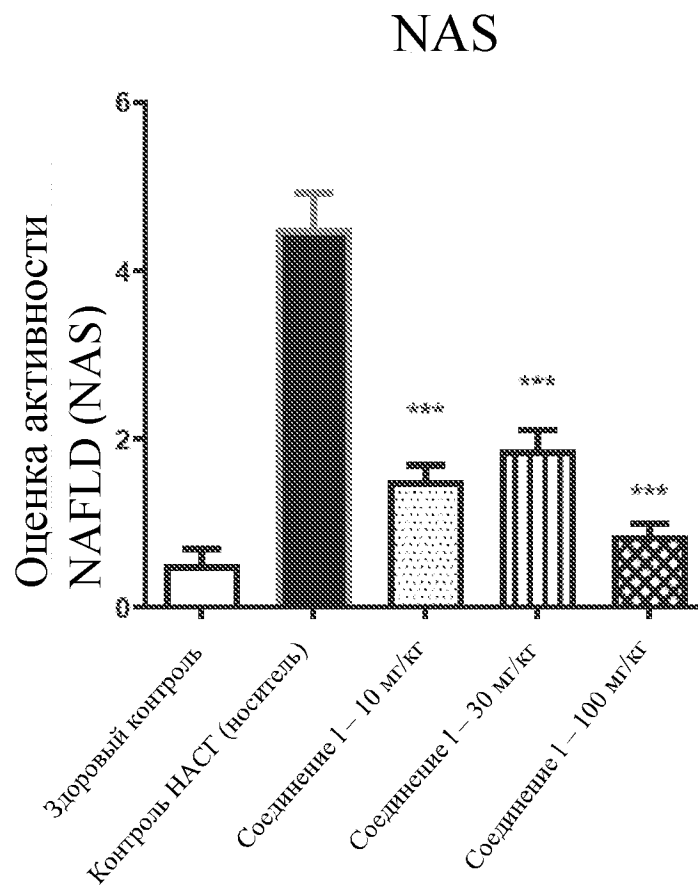
Индукция DIO: Рацион с высоким содержанием жиров



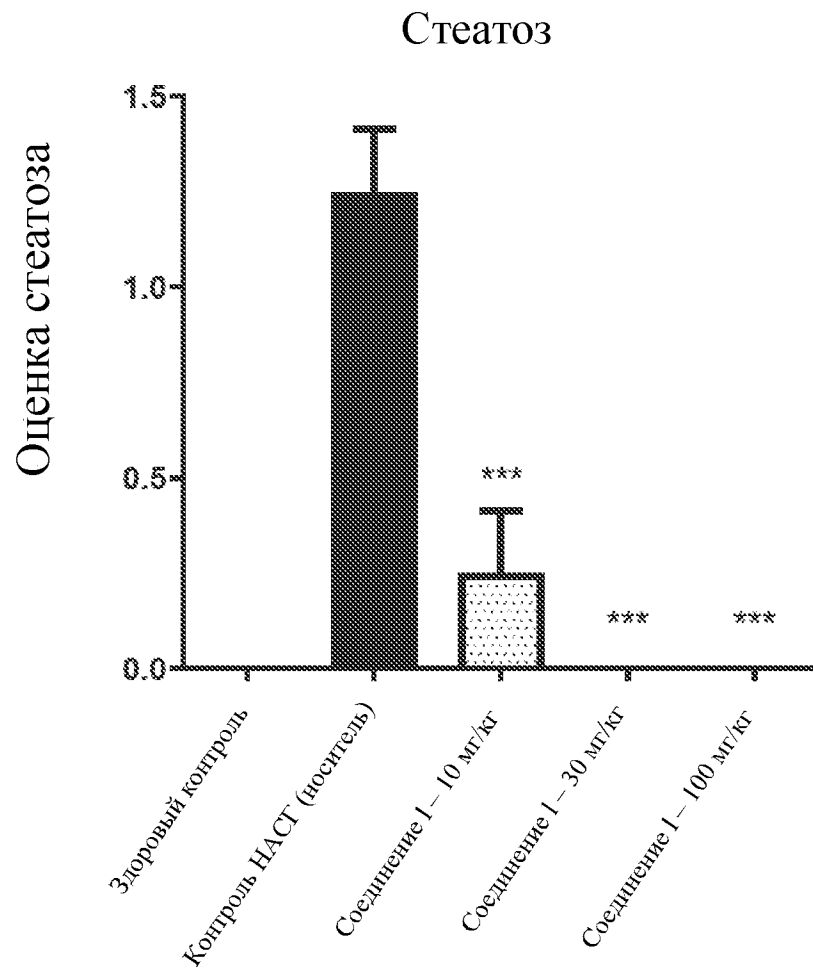
Введение п/о QD: Соединение I (10, 30, 100 мг/кг)
Введение в/б раз в две недели: 25% CCl₄

Гистология печени: NAS/фиброз
Биохимия печени: TG/холестерин
РНК-секвенирование печени
Плазменная биохимия: 7 α-СА/АЛТ/АСТ/TG/Хол.

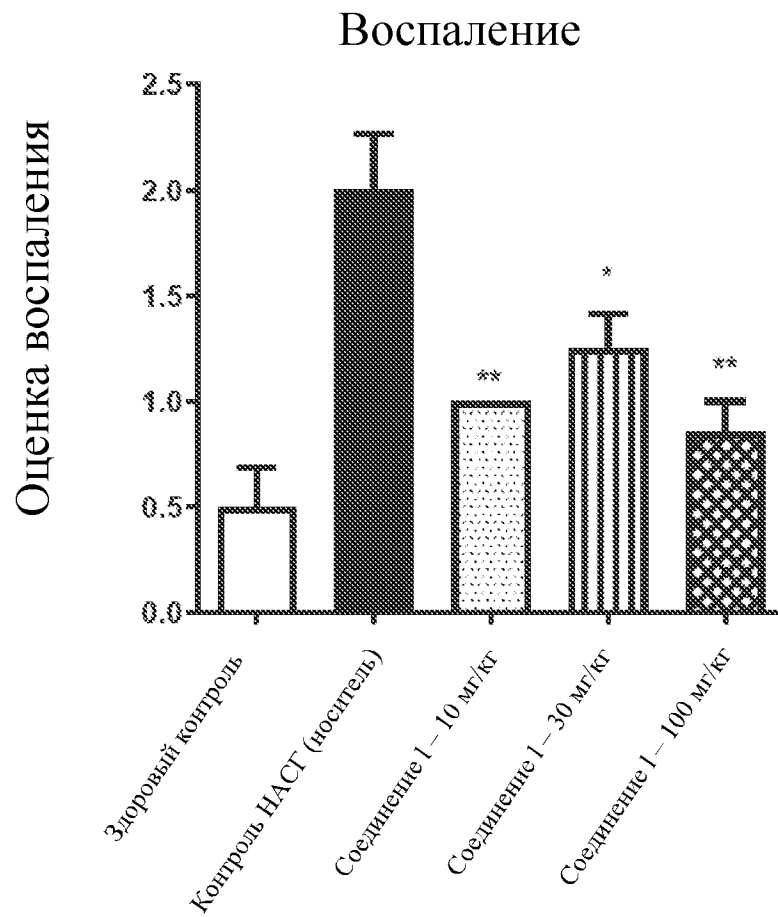
Фиг. 8



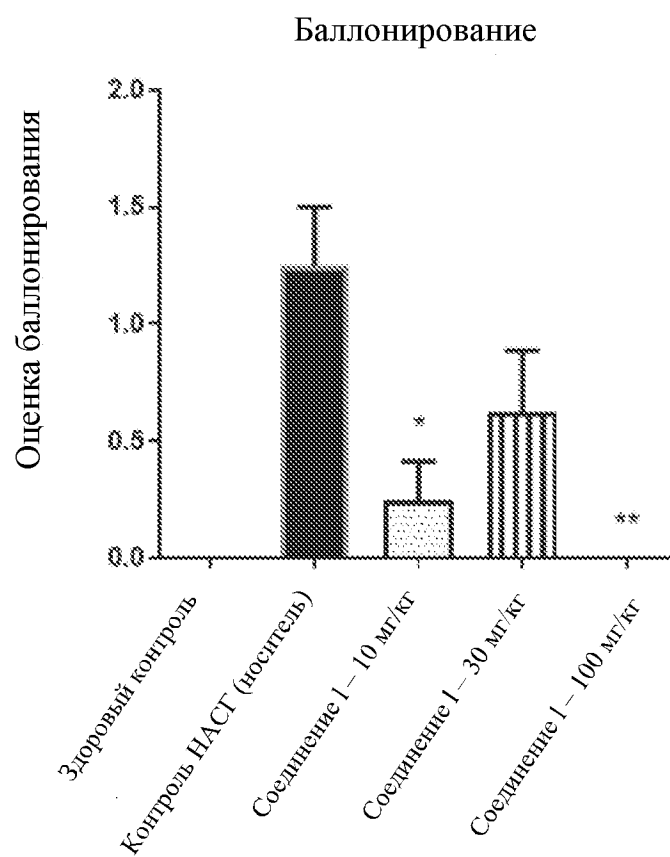
Фиг. 9



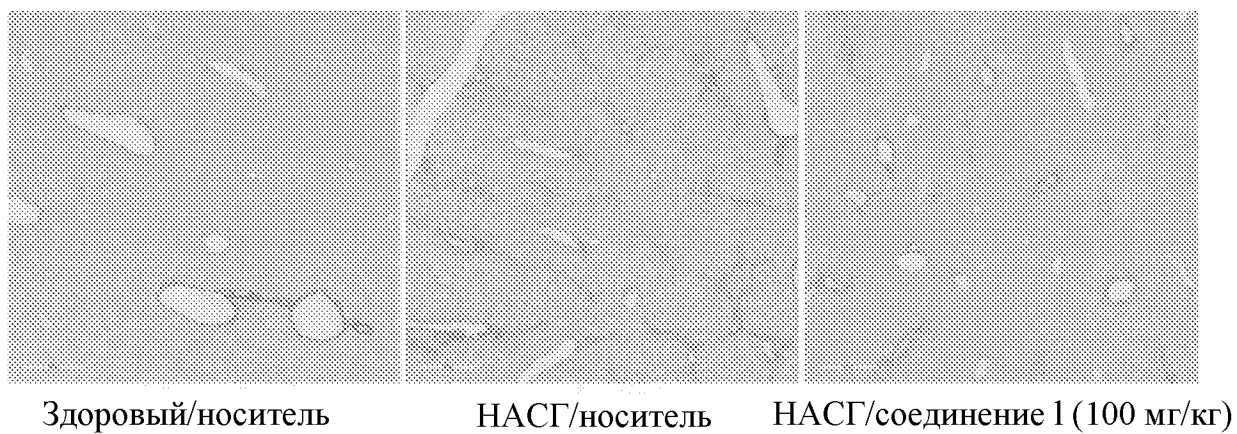
Фиг. 10А



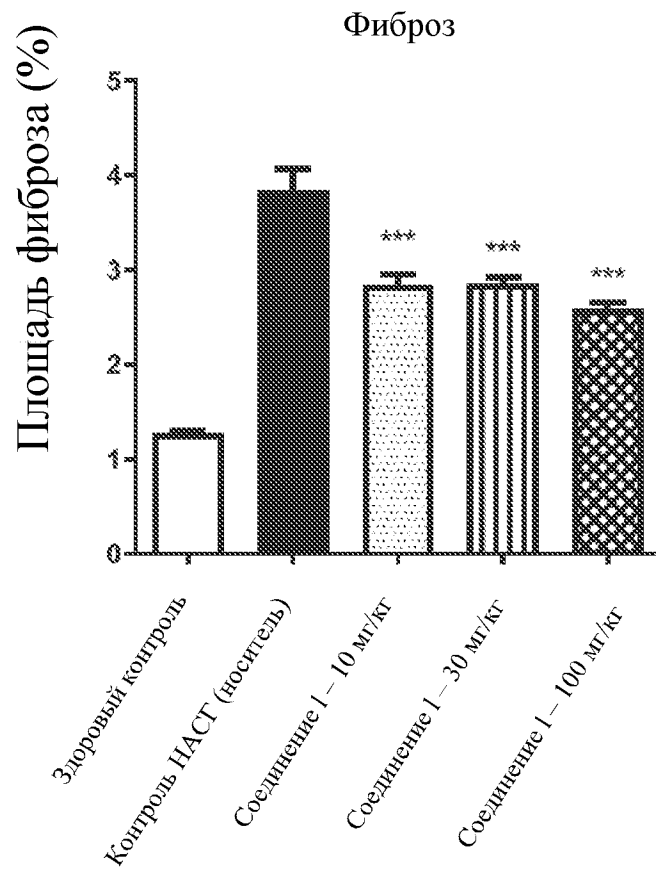
Фиг. 10В



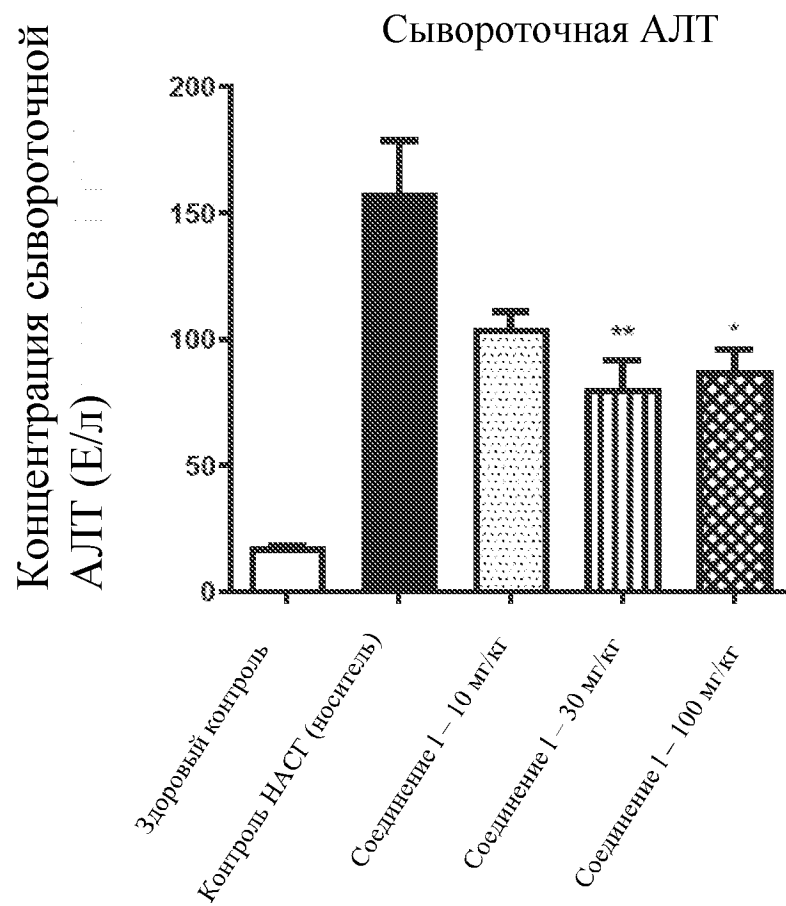
Фиг. 10С



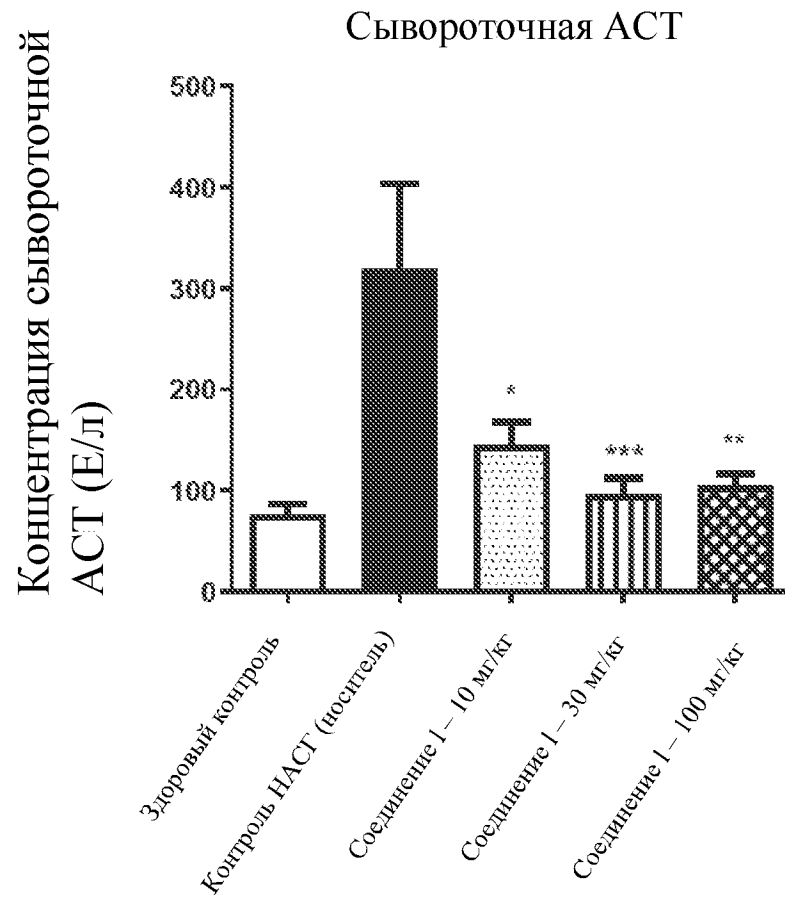
Фиг. 11А



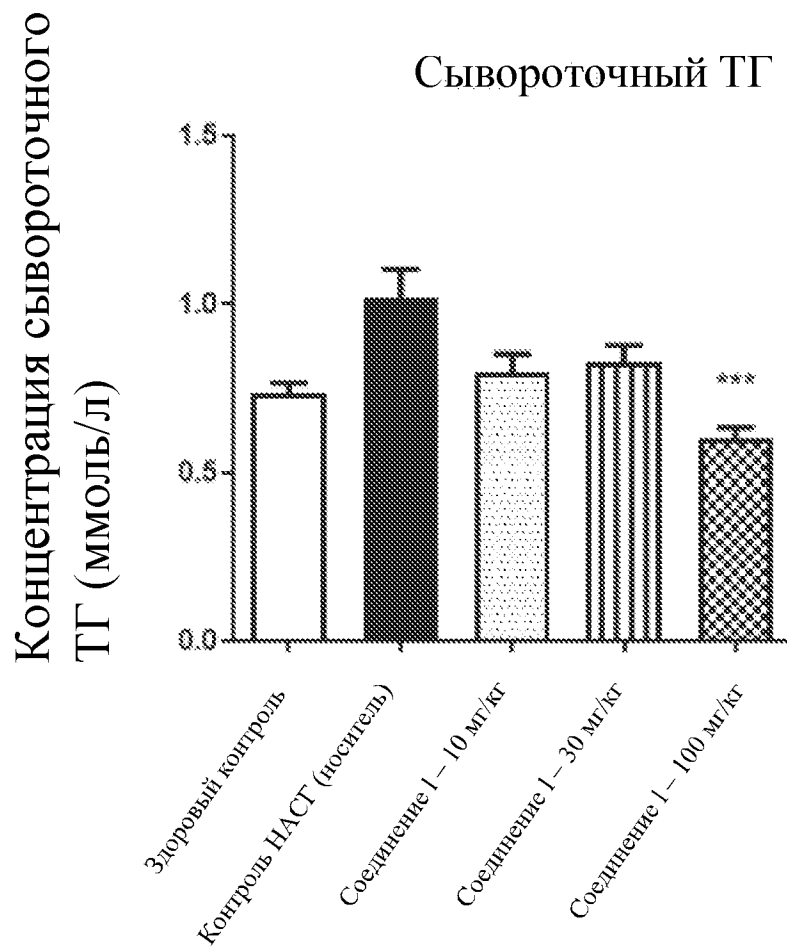
Фиг. 11В



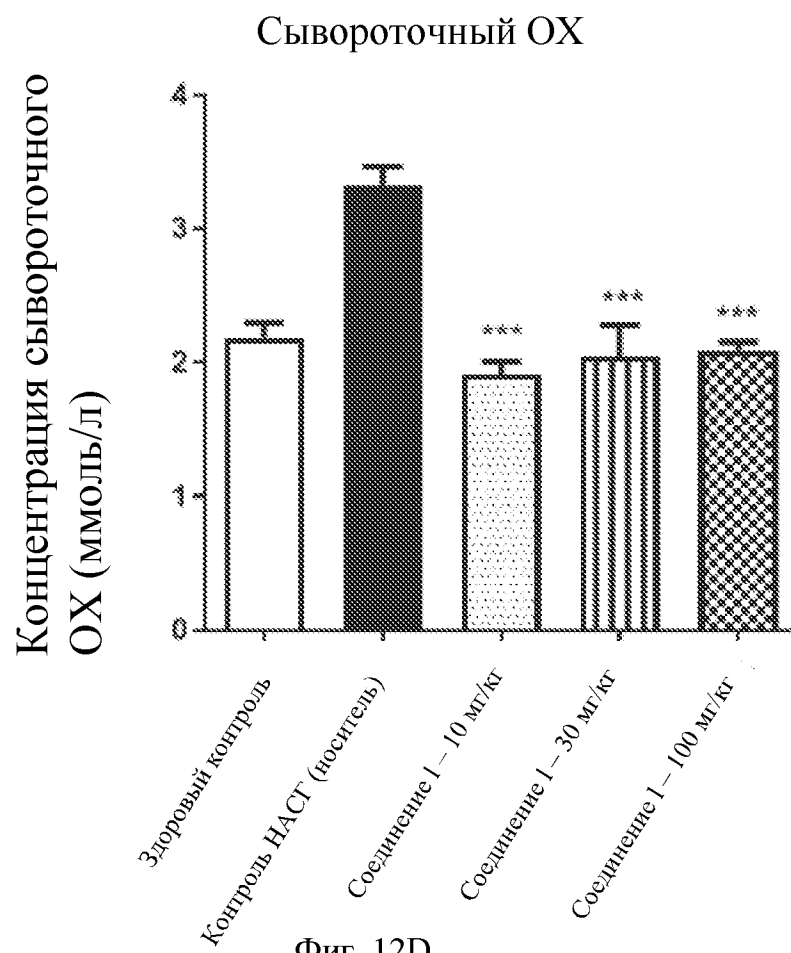
Фиг. 12А

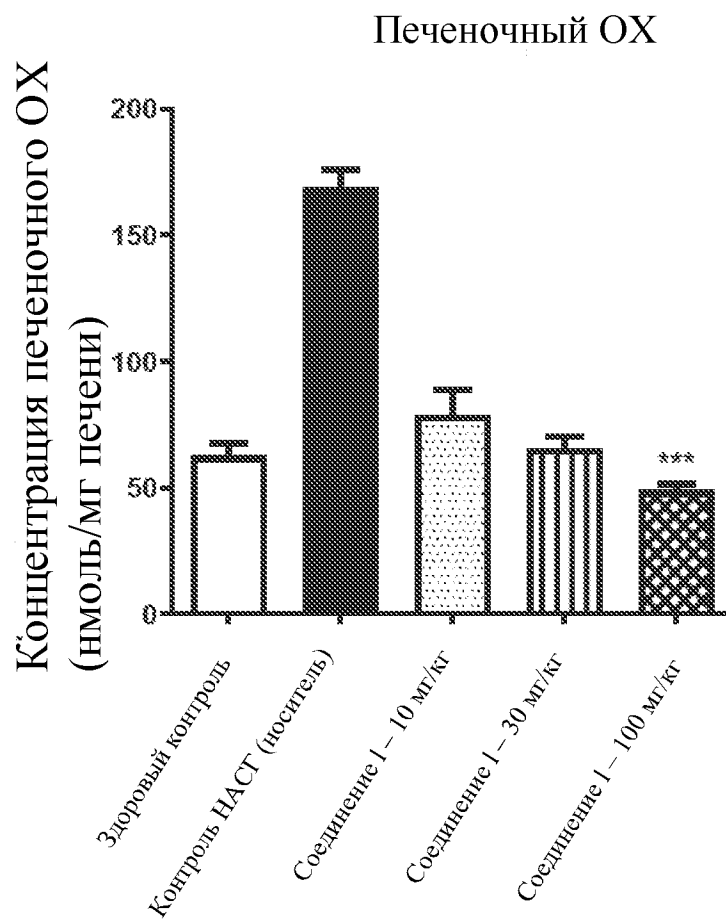


Фиг. 12В

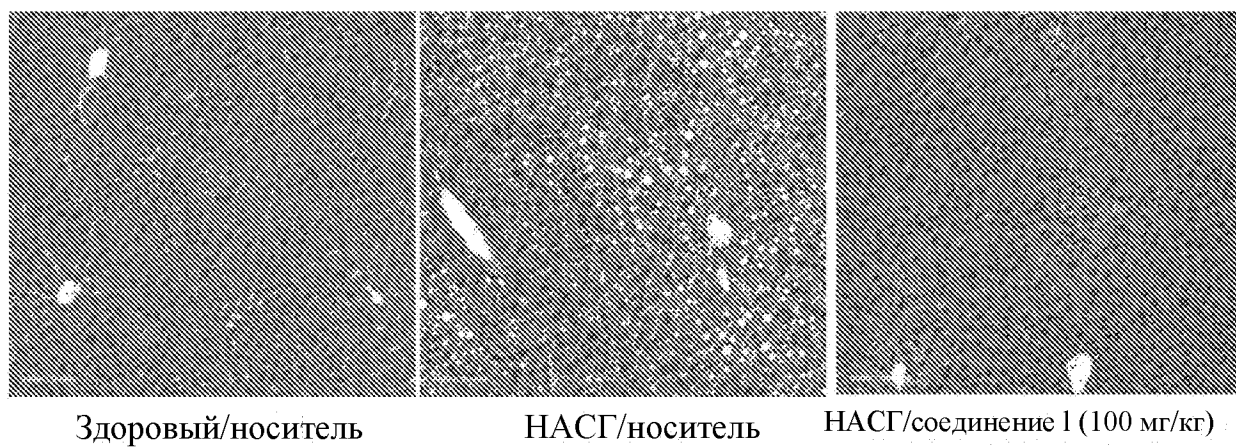


Фиг. 12С

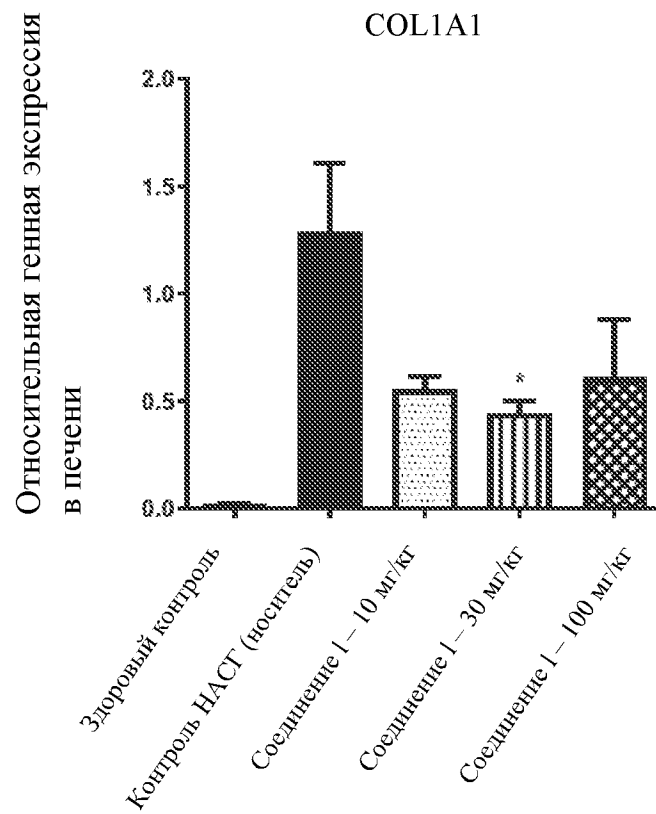




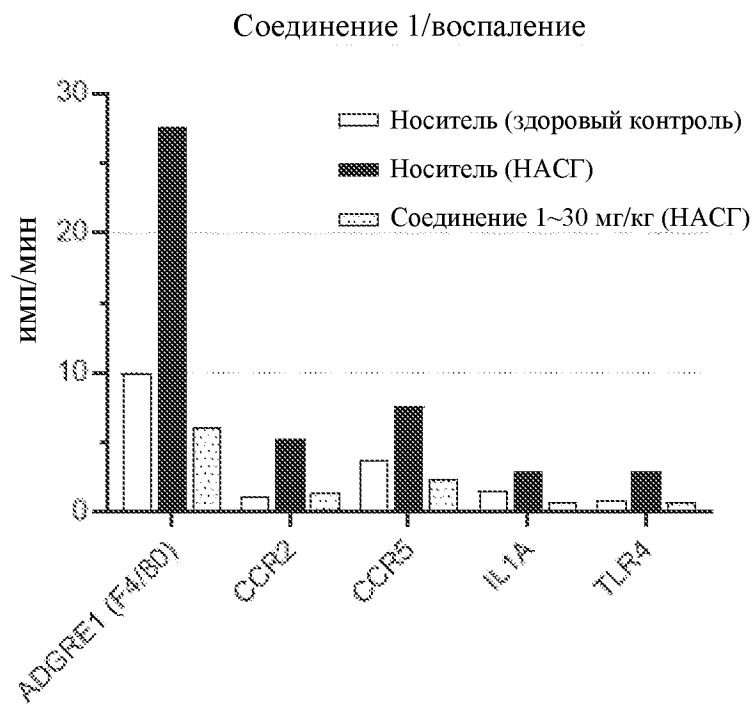
Фиг. 13А



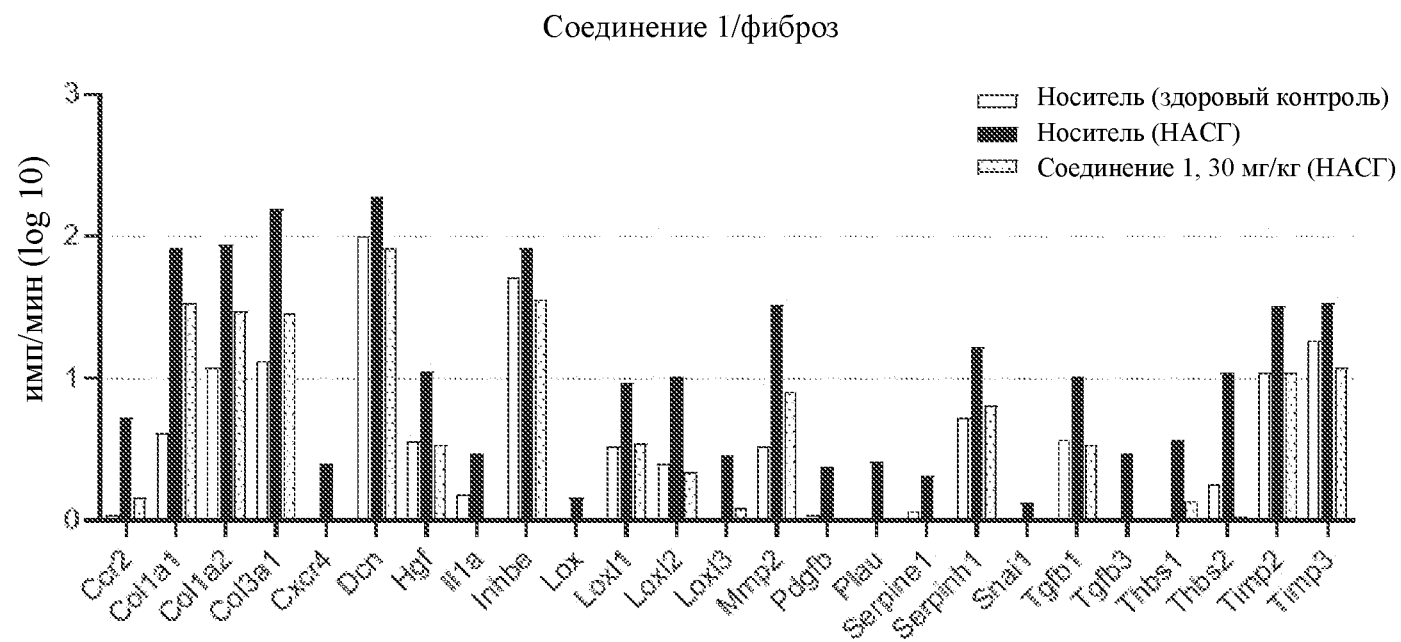
Фиг. 13В



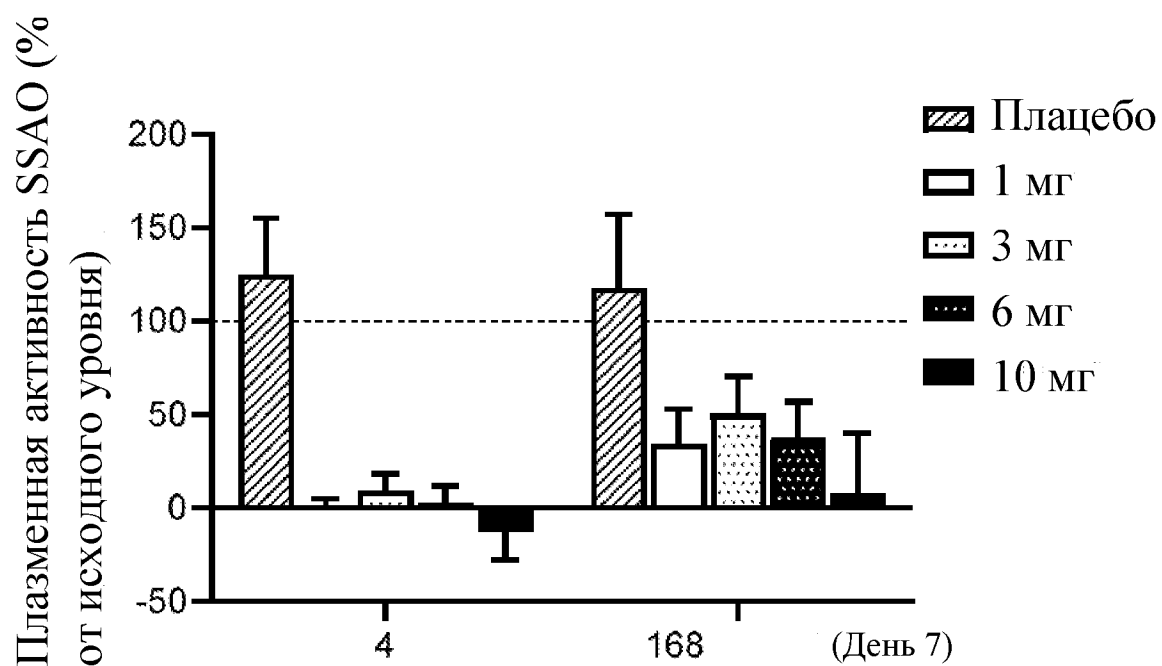
Фиг. 14А



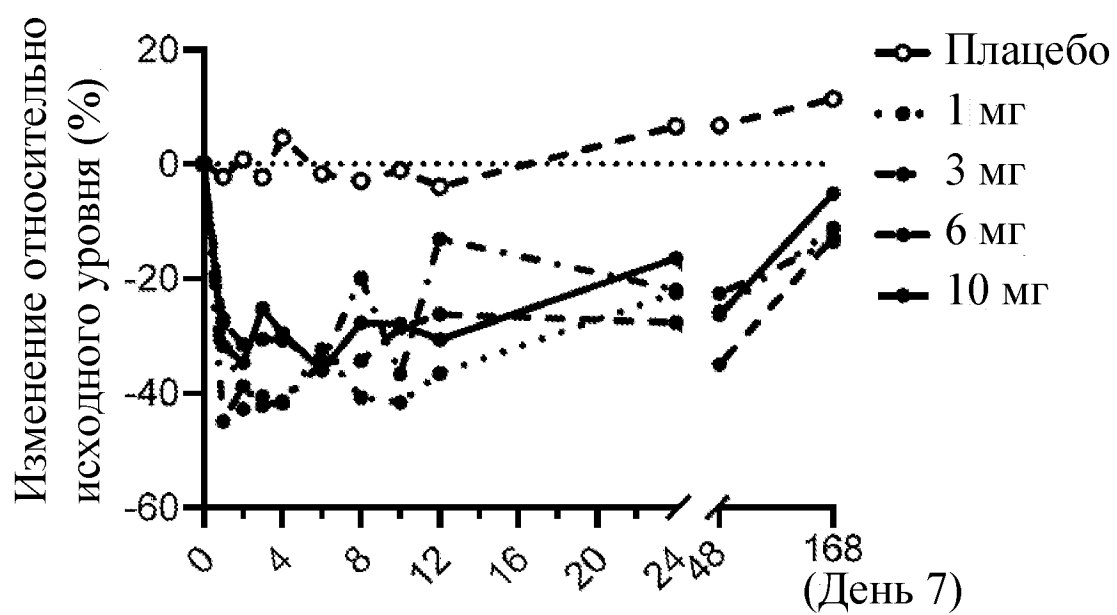
Фиг. 14В



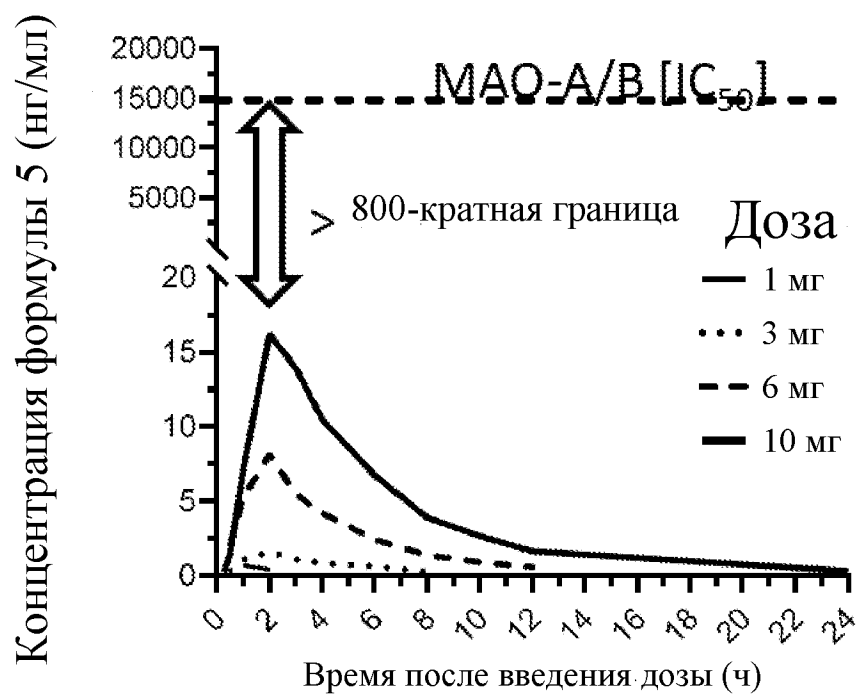
Фиг. 14С



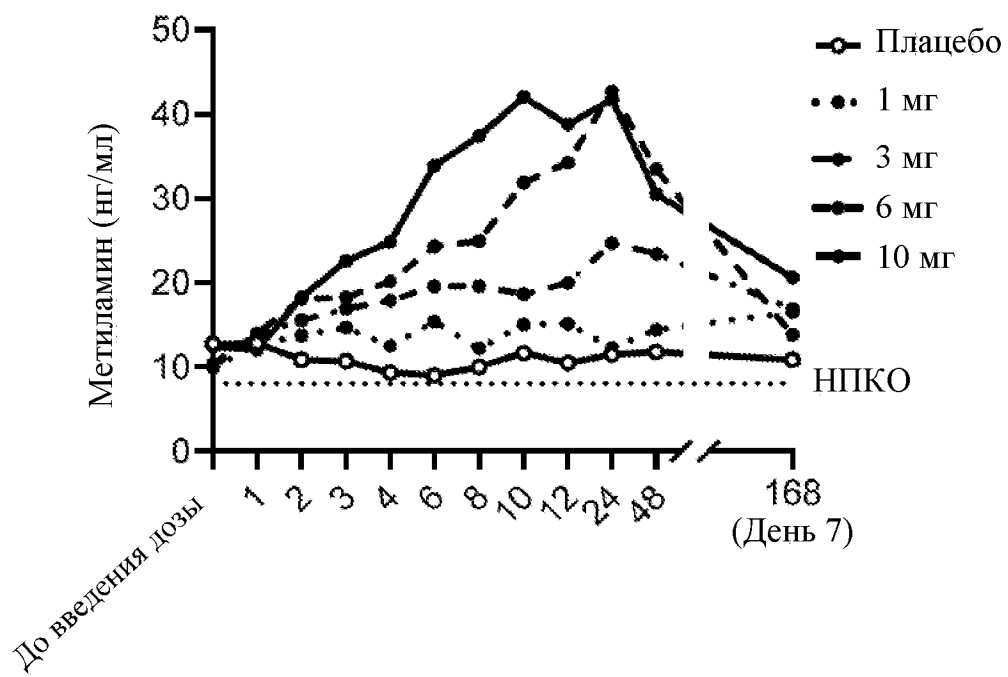
Фиг. 15А



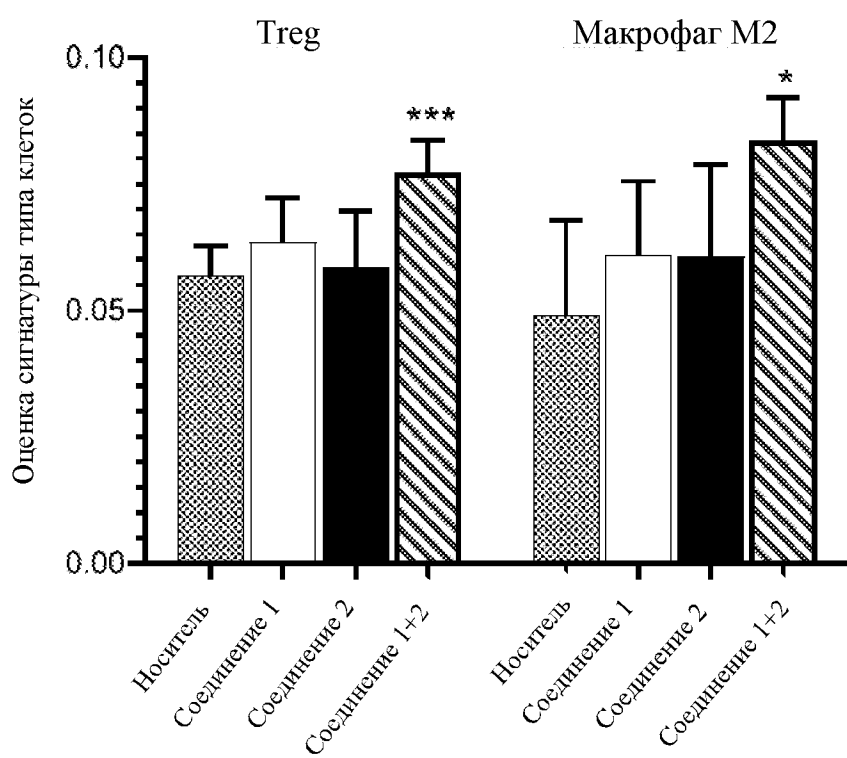
Фиг. 15В



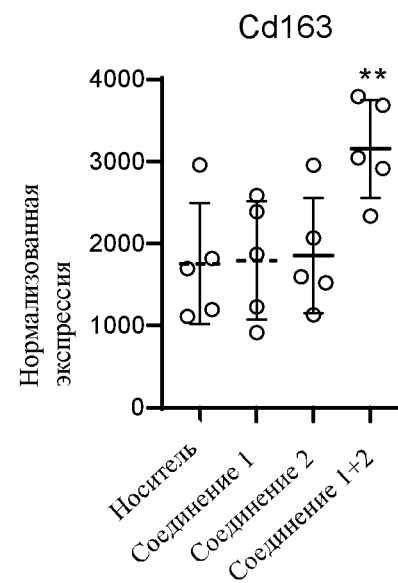
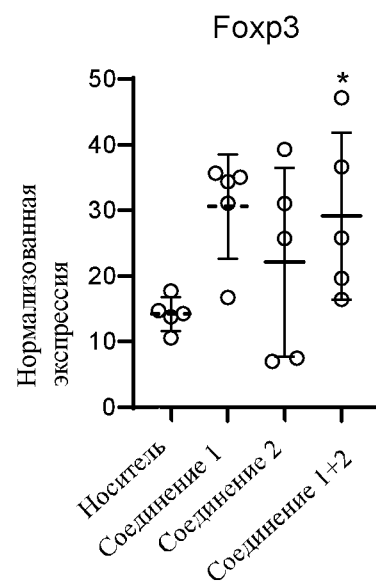
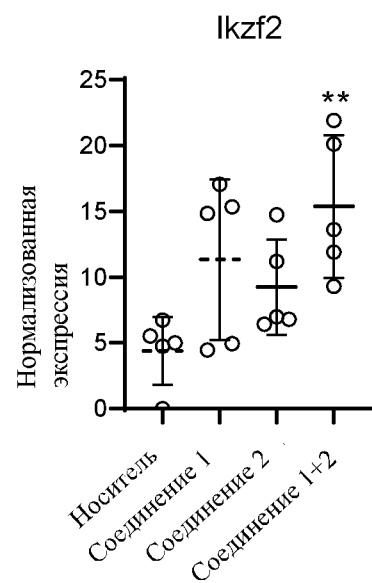
Фиг. 15С



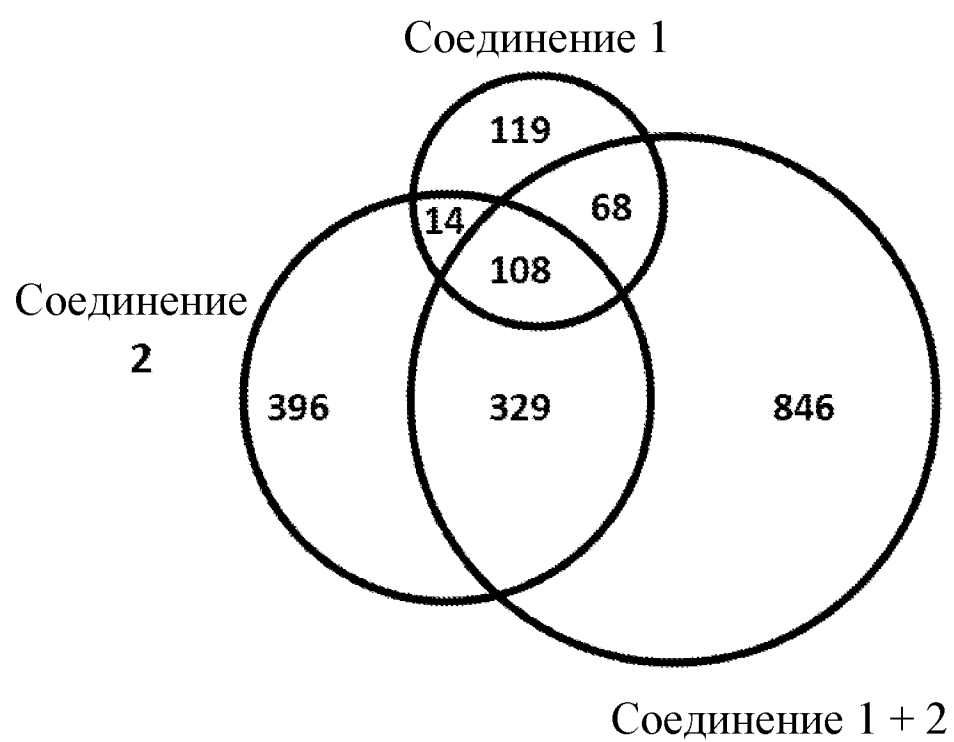
Фиг. 15D



Фиг. 16



Фиг. 17



Фиг. 18