

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202390200** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2023.07.10**

(51) Int. Cl. *A61K 31/497* (2006.01)  
*A61K 31/70* (2006.01)  
*A61P 13/12* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2021.07.09**

---

(54) **КОМБИНАЦИЯ ЗИБОТЕНТАНА И ДАПАГЛИФЛОЗИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ  
ХРОНИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ПОЧЕК**

---

(31) **63/050,147; 63/196,793**

(32) **2020.07.10; 2021.06.04**

(33) **US**

(86) **PCT/IB2021/056177**

(87) **WO 2022/009163 2022.01.13**

(71) Заявитель:  
**АСТРАЗЕНЕКА АБ (SE)**

(72) Изобретатель:

**Грисли Петер, Альстрём Кристин,  
Скртич Станко, Мензис Роберт (SE)**

(74) Представитель:

**Билык А.В., Поликарпов А.В.,  
Соколова М.В., Путинцев А.И.,  
Черкас Д.А., Игнатъев А.В., Дмитриев  
А.В., Бучака С.М., Бельтюкова М.В.  
(RU)**

---

(57) Изобретение относится к антагонисту эндотелинового рецептора (ERA) зиботентану в комбинации с дапаглифлозином, ингибитором натрийзависимого котранспортера глюкозы 2 (SGLT-2), для применения в лечении определенных связанных с эндотелином заболеваний.

---

**A1**

**202390200**

**202390200**

**A1**

## КОМБИНАЦИЯ ЗИБОТЕНТАНА И ДАПАГЛИФЛОЗИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ПОЧЕК

### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к антагонисту эндотелинового рецептора (ERA) зиботентану в комбинации с дапаглифлозином, ингибитором натрийзависимого котранспортера глюкозы 2 (SGLT-2), для применения в лечении определенных связанных с эндотелином заболеваний.

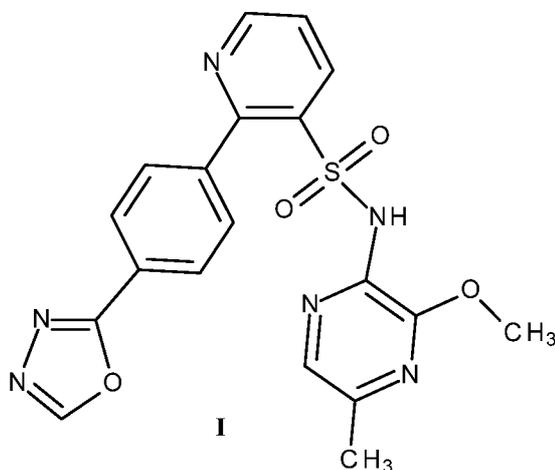
### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Эндотелин-1 (ET-1) представляет собой сильнодействующий сосудосуживающий пептид. ET-1, модулируемый эндотелиновыми рецепторами типа А и В (ETA и ETB), является сильнодействующим системным вазоконстриктором и фактором прогрессирования почечной недостаточности. При хроническом заболевании почек (СКД) уровни ET-1 повышаются с повышением соотношения альбумина и креатинина в моче (UACR) и тяжести почечной функциональной недостаточности (Grenda et al., *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22(12): 3487-3494; Kohan *Am J Kidney Dis*. 1997; 29(1): 2-26). Считается, что патологические эффекты ET-1, включая протеинурию, вазоконстрикцию и воспаление, преимущественно обусловлены эндотелиновым рецептором типа А (ETA) (Goddard et al., *Circulation*. 2004; 109(9): 1186-1193). Антагонисты ETA продемонстрировали защитные эффекты в отношении почек. При диабетической болезни почек (DKD) было продемонстрировано снижение соотношения альбумина к креатинину в моче (UACR) на 30% (Heerspink et al., *Diabetes Obes Metab*. 2018; 20(8): 1829-1835; Heerspink et al., *Lancet* 2019; 393(10184): 1937-1947). Однако клиническая разработка антагониста рецептора ETA была ограничена вследствие проблем с задержкой жидкости и госпитализацией по поводу сердечной недостаточности (Heerspink et al., *Lancet* 2019; 393(10184): 1937-1947). Зиботентан является сильнодействующим антагонистом рецептора ETA, разработанным для лечения рака предстательной железы, но его применение было прекращено в 2011 году вследствие недостаточной эффективности в фазе 3 и повышения частоты периферических отеков на 17% по сравнению с плацебо.

Ингибиторы SGLT-2 приводят к применению осмотических диуретиков в результате глюкозурии, повышению объема мочи и снижению объемной перегрузки, в значительной степени независимо от изменений системной нагрузки натрия. Ингибиторы SGLT-2 блокируют реабсорбцию глюкозы в почках, повышают экскрецию глюкозы и снижают

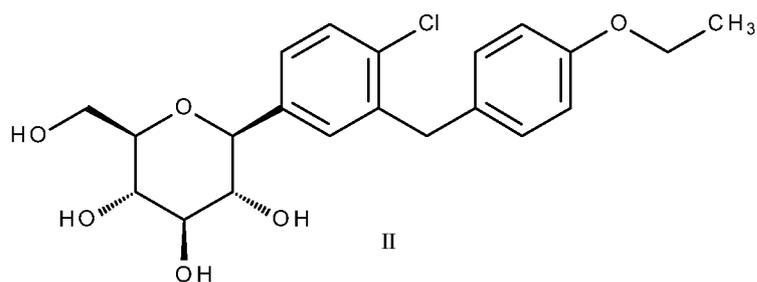
концентрацию глюкозы в крови. В дополнение к этому хорошо охарактеризованному способу действия ингибиторы SGLT-2 приводят к снижению артериального давления, уменьшению жесткости сосудов, улучшению функции эндотелия и характеризуются противовоспалительными и антифибротическими свойствами, напоминая свойства ERA (H.J. Heerspink et al., *Circulation* (2016), 134(10): 752-772). Ингибиторы SGLT2 доказали свою эффективность при DKD (Stephens et al., *Diabetes Obes Metab.* 2020;22 Suppl 1:32-45). Дапаглифлозин изучается в отношении его эффективности при СКД в исследовании DAPA-СКД, которое недавно было прекращено досрочно вследствие избыточных доказательств эффективности. Апостериорный анализ исследования SONAR, представленный на ежегодном собрании недели почек Американского общества нефрологов в Вашингтоне, округ Колумбия, в 2019 г., показал, что в подгруппе пациентов с DKD (n = 14), принимающих в качестве антагонистов ЕТА как атразенетан, так и ингибитор SGLT2, увеличивалось снижение UACR по сравнению с атрасентаном в отдельности и снижением прибавки в весе, вызванной атрасентаном, заменителем средства для задержки жидкости.

Зиботентан, *N*-(3-метокси-5-метилпиразин-2-ил)-2-[4-(1,3,4-оксадиазол-2-ил)фенил]пиридин-3-сульфонамид, характеризуется химической структурой формулы I,



Зиботентан, также обозначенный как ZD4054, описан в качестве антагониста эндотелинового рецептора в WO 1996040681 вместе с подробным описанием химического синтеза зиботентана. О специфическом ингибировании эндотелинового рецептора типа А зиботентаном сообщалось Morris et al., *British Journal of Cancer* (2005), 92, 2148-2152.

Дапаглифлозин, (1*S*)-1,5-ангидро-1-{4-хлор-3-[(4-этоксифенил)метил]фенил}-D-глюцитол, характеризуется химической структурой формулы II,



Дапаглифлозин является сильнодействующим, высокоселективным и активным при пероральном введении ингибитором человеческого почечного натрийзависимого транспортера глюкозы 2 (SGLT2) (SGLT2i), который был одобрен для улучшения гликемического контроля у взрослых с сахарным диабетом 2 типа (в качестве дополнения к диете и физическим нагрузкам) и для снижения риска госпитализации по поводу сердечной недостаточности у взрослых с сахарным диабетом 2 типа и подверженным сердечно-сосудистым заболеванием или множественными сердечно-сосудистыми факторами риска. Дапаглифлозин раскрыт в WO 2003099836 вместе с подробностями химического синтеза.

При комбинации специфического ингибитора эндотелинового рецептора типа A, зиботентана, с ингибитором SGLT-2 дапаглифлозином диуретический эффект дапаглифлозина может быть ослаблен побочным эффектом задержки жидкости, связанным с антагонистом эндотелинового рецептора зиботентаном, за счет чего снижаются оба риска, ассоциированные с соответствующими отдельными соединениями.

В этом описании показано, что дапаглифлозин ослабляет вызванную зиботентаном гемодилюцию, где гемодилюция определяется как снижение концентрации гематокрита, и, следовательно, подчеркивает потенциал комбинации зиботентана и дапаглифлозина для демонстрации эффективности в лечении определенных связанных с эндотелином заболеваний.

Эндотелин-1, модулируемый эндотелиновыми рецепторами типа A и B (ET<sub>A</sub> и ET<sub>B</sub>), является сильнодействующим системным вазоконстриктором и фактором прогрессирования почечной недостаточности.

Блокада антагонистов ET<sub>A</sub> улучшает функцию почек, тогда как блокада ET<sub>B</sub> не является предпочтительной, поскольку ET<sub>B</sub> также устраняет циркулирующий эндотелин-1.

Связанные с эндотелином заболевания ассоциированы с увеличением вазоконстрикции, пролиферации или воспаления вследствие эндотелина, возникающих при многих сердечно-почечных метаболических заболеваниях. Примерами таких связанных с эндотелином

заболеваний являются гипертония, коронарные заболевания, сердечная недостаточность, почечная и миокардиальная ишемия, хроническая болезнь почек (СКД), в частности СКД, ассоциированная с артериальной гипертензией или диабетом (диабетическая болезнь почек, DKD). ERA может быть полезным при лечении облитерирующего заболевания периферических артерий, включая диабетическую артериопатию, посредством острого (периферическая вазодилатация) и хронического

(вазодилатация, улучшение сосудистой структуры и модуляция симпатической активности, антитромботическое, противовоспалительное действие) эффектов.

Механизм действия SGLT-2 приводит к одновременному ингибированию глюкозы и поглощению натрия в проксимальных канальцах нефрона, что, как полагают, приводит к сбросу тубуло-гломерулярной обратной связи, предположительно вызывая феномен клубочковой гиперfiltrации. Считается, что эффективность ингибиторов SGLT-2 снижается при более низких уровнях глюкозы в плазме крови или снижении скорости клубочковой filtration (GFR), таким образом, ингибиторы SGLT-2 характеризуются низким риском развития гипогликемии. Как следствие, свойства ингибиторов SGLT-2 могут открыть путь для лечения HF, включая HFpEF, даже у пациентов без диабета (P. Martens et al., *Curr Treat Options Cardio Med* (2017), 19: 23).

Побочным эффектом, ассоциированным с фармакологическими эффектами ингибиторов SGLT-2, является снижение объема/сокращения внутрисосудистого объема, что может привести к дегидратации, гиповолемии, ортостатической гипотензии или гипотензии. Таким образом, ингибиторы SGLT-2 обычно индуцируют повышение гематокрита (Hct), маркера гемоконцентрации, и повышение вязкости крови, что является предполагаемой причиной повреждения сосудов в контексте заболевания периферических сосудов.

Содержание креатинина сыворотки крови повышается, а eGFR снижается посредством фармакологического действия ингибиторов SGLT-2. Зиботентан, ERA, вызывающий эффективную блокаду рецептора ET<sub>A</sub>, может подходить для лечения связанных с эндотелином заболеваний, при назначении в комбинации с дапаглифлозином. При комбинировании ERA с ингибитором SGLT-2 диуретический эффект такого ингибитора SGLT-2 и его потенциальное фармакологическое действие по снижению риска сердечной недостаточности могут быть подходящими для ослабления наиболее выраженных побочных эффектов, обычно ассоциированных с ERA, таких как задержка жидкости и потенциально ассоциированный повышенный риск застойной сердечной недостаточности. Такое комбинированное лечение может привести к фармакологическому действию в отношении раскрытых связанных с эндотелином заболеваний, при сохранении

благоприятного профиля побочных эффектов даже при оптимальных эффективных дозах зиботентана, возможно даже при повышенных дозах зиботентана по сравнению с максимально переносимыми дозами зиботентана в отдельности. Повышенные дозы зиботентана, которые могут стать доступными, например, посредством ослабления побочных эффектов при применении зиботентана в комбинации с дапаглифлозином может позволить усилить воздействие на заболевания, обусловленные повреждающим действием эндотелиновой паракринной системы, широко распространенной в организме. Такое комбинированное лечение может приводить к улучшению соотношения польза/риск. Было описано, что ERA приводят к снижению гематокрита (Hct) посредством гемодилюции. Таким образом, зиботентан при применении в комбинации с дапаглифлозином может оказывать антагонизирующее действие в отношении наиболее выраженных побочных эффектов, обычно ассоциированных с ингибиторами SGLT-2, таким как гемоконцентрация вследствие эффекта уменьшения объема. Было описано, что ERA приводят к улучшению уровней сахара в крови посредством различных механизмов (увеличение кровотока, улучшение передачи сигналов с участием инсулина). Таким образом, зиботентан при применении в комбинации с дапаглифлозином может оказывать аддитивные или даже синергетические эффекты в отношении снижения уровня сахара в крови.

В первом аспекте предусмотрен зиботентан для применения в лечении хронической болезни почек (СКД) у пациента-человека, где зиботентан вводят в комбинации с дапаглифлозином.

В дополнительном аспекте предусмотрен способ лечения хронической болезни почек (СКД) у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где зиботентан вводят в комбинации с терапевтически эффективным количеством дапаглифлозина.

В дополнительном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для лечения хронической болезни почек (СКД) у пациента-человека, где зиботентан вводят в комбинации с дапаглифлозином.

## ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **фиг. 1** показаны индивидуальные концентрации зиботентана в крови в примере 1, эксперименте 1 после перорального введения зиботентана.

На **фиг. 2** показаны индивидуальные концентрации зиботентана в крови в примере 1, эксперименте 2 после перорального введения зиботентана в отдельности или в комбинации с дапаглифлозином.

На **фиг. 3** показаны индивидуальные концентрации дапаглифлозина в крови в примере 1, эксперименте 2 после перорального введения дапаглифлозина в отдельности или в комбинации с зиботентаном.

На **фиг. 4** показан эффект зиботентана в отношении концентрации Hct в примере 1, эксперименте 1.

На **фиг. 5** показан эффект зиботентана в отношении веса тела в примере 1, эксперименте 1.

На **фиг. 6** показан эффект зиботентана, дапаглифлозина и их комбинации в отношении Hct в примере 1, эксперименте 2.

На **фиг. 7** показан эффект зиботентана, дапаглифлозина и их комбинации в отношении веса тела в примере 1, эксперименте 2.

На **фиг. 8** показаны эффекты дапаглифлозина и зиботентана в отношении глюкозурии, потребления воды и пищи в примере 1, эксперименте 2.

На **фиг. 9** показан эффект дапаглифлозина в отношении снижения UACR у пациентов с СКД и либо диабетом 2 типа, либо без диабета 2 типа по данным фазы 3 исследования DAPA СКД.

На **фиг. 10** показана регрессия и прогрессия UACR у пациентов с СКД, стратифицированных по диабетическому статусу на основе фазы 3 исследования DAPA СКД.

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

В первом аспекте предусмотрен зиботентан для применения в лечении хронической болезни почек (СКД) у пациента-человека, где зиботентан вводят в комбинации с дапаглифлозином.

В дополнительном аспекте предусмотрен способ лечения хронической болезни почек (СКД) у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где зиботентан вводят в комбинации с терапевтически эффективным количеством дапаглифлозина.

В дополнительном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для лечения хронической болезни почек (СКД) у пациента-человека, где зиботентан вводят в комбинации с дапаглифлозином.

В определенных вариантах осуществления хроническая болезнь почек (СКД) представляет собой СКД стадии 1-4, как определено в Руководстве по улучшению общих исходов заболевания почек (KDIGO).

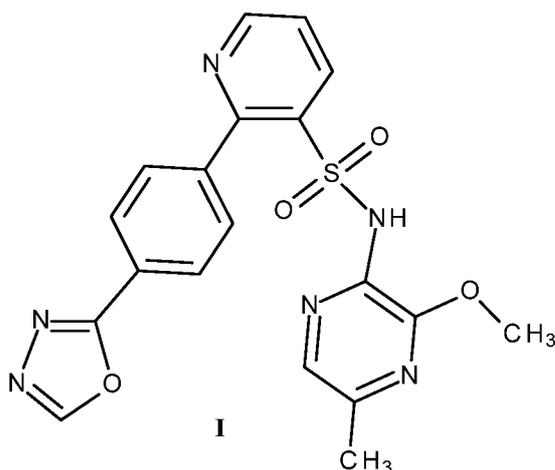
В определенных вариантах осуществления СКД представляет собой СКД стадии 2-3.

В определенных вариантах осуществления СКД представляет собой СКД стадии 3-4.

В определенных вариантах осуществления СКД представляет собой СКД стадии 4.

В определенных вариантах осуществления СКД представляет собой СКД стадии 3а или 3б.

Зиботентан, *N*-(3-метокси-5-метилпиразин-2-ил)-2-[4-(1,3,4-оксадиазол-2-ил)фенил]пиридин-3-сульфонамид, характеризуется химической структурой формулы I,



Зиботентан также обозначается как ZD4054.

В вариантах осуществления зиботентан или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки.

В вариантах осуществления общая суточная доза зиботентана составляет приблизительно 10 мг.

В вариантах осуществления общая суточная доза зиботентана составляет приблизительно 5 мг.

В вариантах осуществления общая суточная доза зиботентана составляет приблизительно 1,5 мг.

В вариантах осуществления общая суточная доза зиботентана составляет приблизительно 0,5 мг.

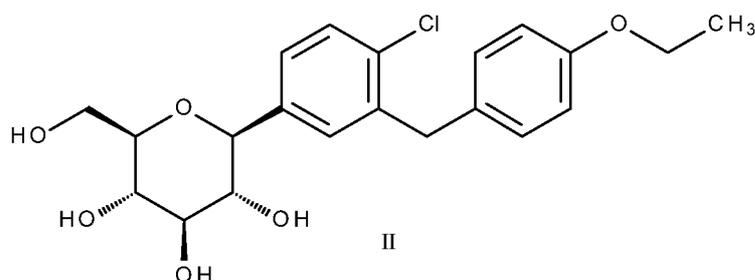
В вариантах осуществления общая суточная доза зиботентана составляет приблизительно 0,25 мг.

В вариантах осуществления зиботентан или его фармацевтически приемлемая соль представлены в таблетированной форме.

В вариантах осуществления зиботентан или его фармацевтически приемлемую соль вводят в форме фармацевтической композиции, содержащей одно или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ. В дополнительных вариантах

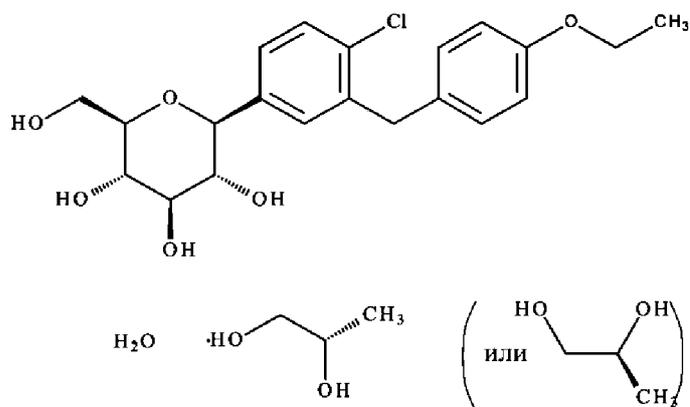
осуществления композиция содержит один или несколько фармацевтических разбавителей, один или несколько фармацевтических разрыхлителей или одно или несколько фармацевтических смазывающих веществ.

Дапаглифлозин, (1*S*)-1,5-ангидро-1-{4-хлор-3-[(4-этоксифенил)метил]фенил}-D-глюцитол, характеризуется химической структурой формулы II,



В вариантах осуществления дапаглифлозин или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки.

В по меньшей мере одном варианте осуществления дапаглифлозин представлен в форме фармацевтически приемлемого сольвата, смешанного сольвата или комплекса. В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, дапаглифлозин представлен в форме некристаллического твердого вещества. В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, дапаглифлозин представлен в форме твердого кристаллического вещества. В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, дапаглифлозин представлен в форме сольвата (S)-пропиленгликоля ((S)-PG), который характеризуется структурой:



В по меньшей мере одном варианте осуществления дапаглифлозин представлен в форме фармацевтически приемлемого сольвата, смешанного сольвата или комплекса. В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, дапаглифлозин представлен в

форме некристаллического твердого вещества. В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, дапаглифлозин представлен в форме твердого кристаллического вещества.

В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, фармацевтические композиции вводят пациенту перорально. В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, фармацевтические композиции вводят пациенту в виде таблеток.

В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, фармацевтическая композиция, содержащая дапаглифлозин, содержит дозу, эквивалентную от приблизительно 2,5 мг/сутки до приблизительно 10 мг/сутки дапаглифлозина, которую вводят пациенту. В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, фармацевтическая композиция, содержащая дапаглифлозин, содержит дозу, эквивалентную приблизительно 2,5 мг/сутки, приблизительно 5 мг/сутки или приблизительно 10 мг/сутки дапаглифлозина, которую вводят пациенту. В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, фармацевтическая композиция, содержащая дапаглифлозин, содержит дозу, эквивалентную приблизительно 5 мг/сутки дапаглифлозина, которую вводят пациенту один раз в день. В некоторых аспектах, предусмотренных в данном документе, фармацевтическая композиция, содержащая дапаглифлозин, содержит дозу, эквивалентную приблизительно 10 мг/сутки дапаглифлозина, которую вводят пациенту один раз в день.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в лечении СКД у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3.

В одном аспекте предусмотрен способ лечения СКД у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для лечения СКД у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении UACR у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо раздельно,

последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения UACR у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа.

В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения UACR у пациента-человека, где лечение включает отдельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении UACR до < 300 мг/г у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо отдельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах

осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения UACR до  $< 300$  мг/г у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное, или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения UACR до  $< 300$  мг/г у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах

осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3а или 3б. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении риска прогрессирования UACR до  $\geq 3000$  мг/г у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо отдельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3а или 3б. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения риска прогрессирования UACR до  $\geq 3000$  мг/г у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает отдельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах

осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения риска прогрессирования UACR до  $\geq 3000$  мг/г у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении риска снижения eGFR у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо раздельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек

представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа. В некоторых вариантах осуществления применение приводит к снижению риска снижения eGFR на  $\geq 30\%$ . В некоторых вариантах осуществления применение приводит к снижению частоты снижения eGFR на  $\geq 40\%$ .

В одном аспекте предусмотрен способ снижения риска снижения eGFR у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа. В некоторых вариантах осуществления способ приводит

к снижению риска снижения eGFR на  $\geq 30\%$ . В некоторых вариантах осуществления способ приводит к снижению частоты снижения eGFR на  $\geq 40\%$ .

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения риска снижения eGFR у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа. В некоторых вариантах осуществления применение приводит к снижению риска снижения eGFR на  $\geq 30\%$ . В некоторых вариантах осуществления применение приводит к снижению частоты снижения eGFR на  $\geq 40\%$ .

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении риска задержки жидкости (отека) у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо раздельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах

осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа. В некоторых вариантах осуществления снижение риска задержки жидкости (отека) можно измерять, например, по снижению Hct или повышению веса тела.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения риска задержки жидкости (отека) у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа. В некоторых вариантах осуществления снижение риска задержки жидкости (отека) можно измерять, например, по снижению Hct или повышению веса тела.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения риска задержки жидкости (отека) у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах

осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа. В некоторых вариантах осуществления снижение риска задержки жидкости (отека) можно измерять, например, по снижению Hct или повышению веса тела.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении общего количества воды в организме у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо раздельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения общего количества воды в организме у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения общего количества воды в организме у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД,

классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении давления крови у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо отдельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения давления крови у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах

осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3а или 3б. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения давления крови у пациента-человека, где лечение включает отдельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3а или 3б. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении риска повышения давления крови у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо отдельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах

осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3а или 3б. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения риска повышения давления крови у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3а или 3б. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения риска повышения давления крови у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В

дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении частоты комбинированной конечной точки снижения eGFR на  $\geq 40\%$ , достижения терминальной стадии заболевания почек (ESKD) и смерти из-за сердечно-сосудистой или почечной недостаточности у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо отдельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения риска снижения частоты комбинированной конечной точки снижения eGFR на  $\geq 40\%$ , достижения терминальной

стадии заболевания почек (ESKD) и смерти из-за сердечно-сосудистой или почечной недостаточности у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для применения в снижении частоты комбинированной конечной точки снижения eGFR на >40%, достижения терминальной стадии заболевания почек (ESKD) и смерти из-за сердечно-сосудистой или почечной недостаточности у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД,

классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении частоты достижения терминальной -стадии заболевания почек (ESKD) у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо отдельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения частоты достижения терминальной стадии заболевания почек (ESKD) у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает отдельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД,

классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения частоты достижения терминальной стадии заболевания почек (ESKD) у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен зиботентан для применения в снижении частоты смерти из-за сердечно-сосудистой или почечной недостаточности у пациента-человека, включающий введение пациенту-человеку либо раздельно, последовательно, либо одновременно: i) зиботентана и ii) дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-

человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрен способ снижения частоты смерти из-за сердечно-сосудистой или почечной недостаточности у пациента-человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества зиботентана, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение пациенту-человеку i) терапевтически эффективного количества зиботентана и ii) терапевтически эффективного количества дапаглифлозина. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В одном аспекте предусмотрено применение зиботентана в производстве лекарственного препарата для снижения частоты смерти из-за сердечно-сосудистой или почечной

недостаточности у пациента-человека, где лечение включает раздельное, последовательное или одновременное введение i) зиботентана и ii) дапаглифлозина пациенту-человеку. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 1-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3-4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 4. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 3a или 3b. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД, классифицированного как пациент со стадией 2-3. В дополнительных вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с диабетом 2 типа. В других вариантах осуществления пациент-человек представляет собой пациента-человека с СКД без диабета 2 типа.

В любом из вышеуказанных аспектов способы и их применение также могут относиться к пациенту-человеку, получающему по меньшей мере один SGLT2-I (например, дапаглифлозин, эмпаглифлозин, канаглифлозин и т.д.) в отдельности или в комбинации с по меньшей мере одним стандартным средством лечения СКД. В таких аспектах стандартным средством лечения СКД могут быть ACE-Is (например, каптоприл, эналаприл и лизиноприл) и/или ARB (валсартан, лозартан и ирбесартан).

В любом из вышеуказанных аспектов способы и их применение могут быть представлены относительно пациента с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления способы и их варианты применения могут быть представлены относительно исходного состояния пациента по сравнению с пациентами, получающими по меньшей мере один SGLT2-I в отдельности или в комбинации с по меньшей мере одним стандартным средством лечения СКД.

В одном аспекте предусмотрен набор, который содержит:

первую фармацевтическую композицию, содержащую зиботентан и фармацевтически приемлемый носитель; и

вторую фармацевтическую композицию, содержащую дапаглифлозин и фармацевтически приемлемый носитель.

Такие термины, как "осуществление лечения", или "лечение", или "лечить", или "облегчение", или "облегчать", относятся к терапевтическим мерам, с помощью которых излечивают, замедляют, ослабляют симптомы диагностированного патологического состояния или нарушения и/или останавливают их прогрессирование. Таким образом, нуждающиеся в лечении включают тех, у кого уже диагностировано нарушение, или тех, в отношении которых имеется подозрение на наличие у них нарушения. Пациенты или субъекты, нуждающиеся в лечении, могут предусматривать пациентов с диагнозом СКД.

"Терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" относится к количеству по меньшей мере одного соединения по настоящему изобретению или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно такое соединение, которое при введении пациенту в качестве однократной дозы либо в качестве части серии доз является эффективным при получении по меньшей мере одного терапевтического эффекта. Оптимальные дозы обычно можно определить с использованием экспериментальных моделей и/или клинических испытаний. Планирование и проведение доклинических и клинических исследований для каждого из терапевтических средств (в том числе при введении для достижения профилактического благоприятного эффекта), описанных в данном документе, в полной мере находится в компетенции специалиста обычной квалификации в соответствующей области техники. Оптимальная доза терапевтического средства может зависеть от массы тела, веса и/или объема крови пациента. У пациентов обычно могут осуществлять мониторинг терапевтической эффективности с использованием анализов, подходящих для заболевания, нарушения и/или состояния, которое подвергается лечению или предупреждению, при этом данные анализы будут знакомы специалистам обычной квалификации в данной области и описаны в данном документе. Мониторинг уровня соединения, вводимого пациенту, можно осуществлять путем определения уровня соединения (или метаболита соединения) в биологической жидкости, например, в крови, фракции крови (например, сыворотке крови), и/или в моче, и/или в другом биологическом образце от пациента. Любой способ выявления соединения или его метаболита, применяемый на практике в данной области техники, можно применять для измерения уровня соединения в ходе осуществления терапевтического режима.

В качестве альтернативы фармакологический и/или физиологический эффект может быть профилактическим, т. е. эффект обеспечивает полное или частичное предупреждение заболевания или его симптома. В этом отношении раскрытый способ предусматривает введение "профилактически эффективного количества" лекарственного средства (например, зиботентана или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, смешанного

сольвата, комплекса или пролекарства и дапаглифлозина или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, смешанного сольвата, комплекса или его пролекарства). "Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения необходимого профилактического результата (например, предупреждения СКД или начала заболевания).

Используемые в данном документе термины "субъект" и "пациент" используются взаимозаменяемо. В некоторых аспектах субъектом является человек.

Используемый в данном документе термин "терминальная стадия болезни почек (ЕКSD)" относится к (i) наличию

устойчивой eGFR <15 мл/мин./1,73 м<sup>2</sup>, (ii) получению хронического лечения диализом или (iii) получению почечного трансплантата. В некоторых вариантах осуществления "устойчивый" относится к подтверждению аналогичного измерения eGFR с помощью второго теста eGFR с интервалом в 3 месяца.

Термины "вводить", "осуществление введения", "введение" и т.п., используемые в данном документе, относятся к способам, которые можно применять для обеспечения доставки лекарственного средства, например, зиботентана или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, смешанного сольвата, комплекса или пролекарства и дапаглифлозина или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, смешанного сольвата, комплекса или пролекарства, как описано в данном документе. Методики введения, которые можно использовать в отношении средств и способов, описанных в данном документе, можно найти, например, в Goodman and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, текущее издание, Pergamon; and Remington's, *Pharmaceutical Sciences*, текущее издание, Mack Publishing Co., Easton, Pa. В некоторых аспектах зиботентан и дапаглифлозин вводят перорально.

Термины "фармацевтический состав" и "фармацевтическая композиция" относятся к препарату, который представлен в такой форме, которая обеспечивает эффективную биологическую активность активного(ых) ингредиента(ов), и который не содержит дополнительных компонентов, неприемлемо токсичных для субъекта, которому будут вводить состав. Такие составы могут быть стерильными.

"Фармацевтически приемлемый носитель" относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, вспомогательному веществу в составе или носителю, общепринятому в данной области техники для применения с терапевтическим средством, которые вместе составляют "фармацевтическую композицию" для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый

носитель нетоксичен для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и совместим с другими ингредиентами состава. Фармацевтически приемлемый носитель является подходящим для используемой композиции.

“Стерильный” состав является асептическим или практически не содержит живых микроорганизмов и их спор.

Используемый в данном документе термин "пролекарство" относится, например, к сложным эфирам и карбонатам, которые могут превращаться, например, в физиологических условиях или путем сольволиза, в зиботентан или дапаглифлозин. Таким образом, термин "пролекарство" включает метаболические предшественники зиботентана или дапаглифлозина, которые являются фармацевтически приемлемыми. Термин пролекарство также включает ковалентно связанные носители, которые высвобождают зиботентан или дапаглифлозин *in vivo*, когда такое пролекарство вводят пациенту. Неограничивающие примеры пролекарств включают сложные эфиры и карбонаты.

Различные формы пролекарств известны из уровня техники. Для примеров таких пролекарств см. (1) Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) and Methods in Enzymology, Vol. 42, p. 309-396, edited by K. Widder, et al. (Academic Press, 1985); (2) A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard, Chapter 5 “Design and Application of Prodrugs”, by H. Bundgaard p. 113-191 (1991); (3) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992); (4) H. Bundgaard, et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988); и (5) N. Kakeya, et al., Chem Pharm Bull, 32, 692 (1984).

Следует понимать, что во всех случаях, если аспекты описываются в данном документе формулировкой "содержащий", также предусмотрены в иных отношениях аналогичные аспекты, описываемые терминами "состоящий из" и/или "состоящий по сути из". В настоящем изобретении термины "содержит", "содержащий", "состоящий" и "имеющий" и т. п. могут означать "включает", "включающий" и т. п.; термины "состоящий по сути из" или "состоит по сути" являются открытыми, допускающими наличие не только того, что упоминается, при условии, что основные или новые характеристики того, что упоминается, не изменяются благодаря наличию не только того, что упоминается, но исключают аспекты из предшествующего уровня техники.

Если конкретно не указано или не очевидно из контекста, используемый в данном документе термин "или" понимают как включающий.

Используемые в данном документе термины "приблизительно" и "примерно", в случае их использования для модификации числового значения или числового диапазона,

указывают на то, что отклонения на величину до 10% выше и до 10% ниже значения или диапазона остаются в пределах предусматриваемой величины приведенного значения или диапазона. Следует понимать, что во всех случаях, если аспекты описываются в данном документе формулировкой "приблизительно" или "примерно" в отношении числового значения или диапазона, также предусмотрены в иных отношениях аналогичные аспекты, относящиеся к конкретному числовому значению или диапазону (без "приблизительно").

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПРОЦЕДУРЫ

### ПРИМЕР 1

Исследовали эффект дапаглифлозина и зиботентана в отношении концентрации гематокрита (Hct) у самцов крыс линии Wistar на 4% солевой диете.

В эксперименте 1 зиботентан вводили перорально один раз в сутки в дозах, составляющих 30, 100 или 300 мг/кг, в течение 14 дней. В день 7 все три дозы зиботентана приводили к значимому снижению концентрации Hct по сравнению со средой-носителем ( $p < 0,05$ ). В день 14 значимое снижение концентрации Hct по сравнению со средой-носителем ( $p < 0,05$ ) обнаруживали для более высоких доз зиботентана (100 мг/кг и 300 мг/кг), но не для более низких доз (30 мг/кг).

В эксперименте 2 концентрацию Hct измеряли после введения зиботентана (30 или 100 мг/кг) или дапаглифлозина (3,0 мг/кг) в течение 7 дней по отдельности или в комбинации у самцов крыс Wistar, получавших 4% солевую диету. Зиботентан (30 или 100 мг/кг) приводил к значимому снижению концентрации Hct. Совместное введение дапаглифлозина (3,0 мг/кг) с зиботентаном (30 мг/кг) приводило к концентрации Hct, которая значимо не отличалась от таковой у животных, обработанных средой-носителем. Совместное введение дапаглифлозина (3,0 мг/кг) с зиботентаном (100 мг/кг) ослабляло эффект зиботентана в отношении концентрации Hct, как было выявлено с помощью однофакторного ANOVA, апостериорного критерия Тьюки (зиботентан  $-4,00 \pm 0,87$  по сравнению с зиботентан + дапаглифлозин  $-1,72 \pm 0,68$ ,  $\#p < 0,05$ ). Зиботентан не оказывал влияния на эффект дапаглифлозина в отношении экскреции глюкозы с мочой.

#### Материалы и способы

Состав для зиботентана в отдельности: суспензия в 30% (вес/вес) TEG, 2% (вес/вес) EtOH, 0,5% (вес/вес) НРМС, 10000 сП, 0,1% (вес/вес) Tween 80, 67,4% очищенной воды

Состав для дапаглифлозина в отдельности: раствор в 30% (вес/вес) TEG, 2% (вес/вес) EtOH, 0,5% (вес/вес) НРМС, 10000 сП, 0,1% (вес/вес) Tween 80, 67,4% очищенной воды

Состав для комбинации зиботентана и дапаглифлозина: суспензия/раствор в 30% (вес/вес) ТЕГ, 2% (вес/вес) EtOH, 0,5% (вес/вес) НРМС, 10000 сП, 0,1% (вес/вес) Tween 80, 67,4% очищенной воды

Исследование разделяли на два эксперимента.

В первом эксперименте (эксперимент 1) эффект зиботентана в отношении концентрации гематокрита (Hct) определяли, когда зиботентан вводили перорально (р.о.) QD в течение 14 дней. За три дня до первого введения исследуемого лекарственного средства животных рандомизировали в зависимости от веса тела (BW) на следующие группы; 1) среда-носитель 2) зиботентан (30 мг/кг) 3) зиботентан (100 мг/кг) 4) зиботентан (300 мг/кг). Животных взвешивали ежедневно перед введением дозы на протяжении всего эксперимента. Образцы крови (20 мкл) для биоанализа брали через 4 и 24 ч. после введения первой дозы через хвостовую вену у находящихся в сознании животных и через 24 ч. после введения последней дозы ретроорбитальным путем у анестезированных животных. Образцы крови собирали через хвостовую вену (100 мкл) для измерения концентрации Hct и гемоглобина (Hb) в день 7 и день 14, через 1-2 ч. после введения дозы. Мочу, образовавшуюся в течение двадцати четырех часов, собирали для измерения уровня глюкозы в моче, объема мочи и электролитов между введением девятой и десятой дозы. Животных умерщвляли через 24 ч. после введения последней дозы. В день прекращения исследования животных анестезировали 5% изофлюраном, кровь собирали ретроорбитальным путем (в системе Microvette с гепариновым покрытием, Sarsted) и центрифугировали при 3500 об/мин. при 4 °С в течение 10 минут, плазму крови собирали и до анализа хранили при -80°С. Затем животных подвергали эвтаназии путем удаления сердца. Извлекали и взвешивали сердце и почки. Из правой почки брали срез ткани толщиной 4 мм и фиксировали в 4% формальдегиде для последующего гистологического анализа, а также кусочек кортикальной ткани почки и ткани сердца брали для анализа экспрессии генов.

Во втором эксперименте (эксперимент 2) определяли эффект зиботентана и дапаглифлозина (по отдельности или в комбинации) в отношении концентрации Hct и Hb. Семьдесят два животных рандомизировали в зависимости от BW и концентрации Hct за 2-3 дня до введения исследуемых лекарственных средств в следующие группы; 1) среда-носитель, 2) зиботентан (30 мг/кг), 3) зиботентан (100 мг/кг), 4) дапаглифлозин (3 мг/кг), 5) зиботентан (30 мг/кг) + дапаглифлозин (3 мг/кг) и 6) зиботентан (100 мг/кг) + дапаглифлозин (3 мг/кг). Из практических соображений исследование проводили в двух последовательных периодах с 36 животными (6 в группе) в каждом периоде. Соединения вводили р.о. QD в течение семи дней. Образцы крови для биоанализа собирали через 4 и 24

ч. после введения первой дозы и через 24 ч. после введения последней дозы для определения концентрации Нст и анализа Нб в день три и день семь, как описано для примера 1. Между третьей и четвертой дозой собирали мочу, образованную в течение двадцати четырех часов. Потребление пищи и воды в течение 24 ч. измеряли между днем 2 и 3 и днем 6 и 7. При наличии двух животных в клетке потребление пищи и воды на одно животное в клетке оценивали путем деления потребления пищи и воды в клетке на два.

Экспериментаторы не были осведомлены о назначении лечения животным во время прекращения исследования, забора крови и анализа образцов.

Концентрации зиботентана и дапаглифлозина в крови и моче определяли биоаналитическим методом с использованием жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией (LC-MS/MS).

Образцы цельной крови для биоанализа дапаглифлозина и зиботентана подвергались той же процедуре. Цельную кровь объемом 20 мкл осаждали 150 мкл ацетонитрила, содержащего внутренний стандарт, и быстро перемешивали на вортексе с последующим центрифугированием в течение 20 мин. при 3220 g и 4°C. Супернатант переносили в свежий планшет с глубокими лунками и разбавляли водой 1:1 перед анализом посредством LC-MS. Соответствующие матрице калибровочные образцы и холостые пробы обрабатывали так же, как и исследуемые образцы. Образцы зиботентана дополнительно разводили дважды и трижды в соотношении 1:10 33% ацетонитрилом, чтобы убедиться, что все разведенные образцы обнаруживаются в пределах диапазона калибровки.

Концентрации образцов определяли по калибровочным стандартам с добавлением матрицы в диапазоне от 0,010 мкМ до 10,0 мкМ для дапаглифлозина и от 0,75 мкМ до 376 мкМ для зиботентана с применением взвешенной линейной регрессии ( $1/X^2$ ) с использованием программного обеспечения Waters TargetLynx версии XS V4.2 SCN986. Остатки калибровочного образца характеризовались гомоскедастическим распределением. Аналитическая погрешность составляла <15% в диапазоне концентраций для обоих аналитов.

Образцы анализировали с помощью обращенно-фазовой жидкостной хроматографии высокого давления с быстрым градиентным элюированием. Соединения обнаруживали с помощью тройного квадрупольного масс-спектрометра Waters Xevo TQ-S (Waters Corporation, Милфорд, Массачусетс, США). Хроматографическое разделение проводили на колонке ACQUITY VEN C18 1,8 мкМ, 2,1x50 мм при температуре 40°C. Подвижная фаза А представляла собой 2% ацетонитрила и 0,2% муравьиной кислоты в воде (А), а подвижная фаза В представляла собой 0,2% муравьиной кислоты в ацетонитриле (В). Разделение

достигали с использованием следующего градиента элюции: от 0 мин. до 1,5 мин., 4% В с линейным повышением до 95% В; от 1,5 мин. до 2,3 мин. при 95% В; от 2,3 мин. до 2,4 мин., от 95% В до 4% В и поддерживали при 4% В до 2,7 мин. Скорость потока составляла 0,7 мл/мин. Зиботентан элюировали через 0,82 мин. и выявляли в положительном режиме электрораспыления с использованием множественного контроля реакции перехода (425,3 масса/заряд > 139,25 масса/заряд).

Образцы анализировали с помощью обращенно-фазовой жидкостной хроматографии высокого давления с быстрым градиентным элюированием. Соединения обнаруживали с помощью тройного квадрупольного масс-спектрометра Waters Xevo TQ-S (Waters Corporation, Милфорд, Массачусетс, США). Подвижная фаза А представляла собой 1 М ацетат аммония/ацетонитрил/вода (0,1/2/97,5, об./об./об.), а подвижная фаза В представляла собой 1 М ацетат аммония/ацетонитрил (0,1/99,5, об./об.). Разделение проводили на колонке ACQUITY VEN C18 1,8 мкМ, 2,1x50 мм Waters с использованием следующего градиента: от 0 мин. до 2,5 мин., от 4% В до 60% В; от 2,5 мин. до 2,9 мин., от 60% В до 95% В; от 2,9 мин. до 3,4 мин. выдерживали при 95% В, и от 3,4 мин. до 3,5 мин. подвижную фазу В возвращали к 4% В и выдерживали при 4% В до 4 мин. Скорость потока 0,6 мл/мин., температура колонки 40°C. Дапаглифлозин элюировали через 2,19 мин. и определяли в отрицательном режиме электрораспыления с переходами 407,1 > 329,07 для дапаглифлозина и 413,0 > 335,13 для внутреннего стандарта <sup>13</sup>C<sub>6</sub>-дапаглифлозина.

Биоанализ зиботентана в моче крыс: 50 мкл PBS, содержащего 5% BSA, добавляли к 50 мкл образца мочи с последующим добавлением 500 мкл ацетонитрила, содержащего нифедипин, в качестве внутреннего стандарта. Образцы встряхивали в течение 1 мин. и центрифугировали при 2400 g в течение 5 мин. при 4°C. 400 мкл супернатанта переносили на новый планшет и сушили в атмосфере нагретого азота. Образцы восстанавливали в 100 мкл деионизированной воды/муравьиной кислоты (100/0,2, об./об.), перемешивали на вортексе и перед анализом центрифугировали. Соответствующие матрице калибровочные образцы, образцы для контроля качества и холостые образцы обрабатывали так же, как и исследуемые образцы.

Образцы анализировали на системе UPLC Acquity i-class (Waters, Милфорд, Массачусетс, США), объединенной с API 4500 (Sciex LLC, Фрамингем, Массачусетс, США). Подвижной фазой А являлся ацетонитрил с 0,2% муравьиной кислоты, а подвижной фазой В являлась вода с 0,2% муравьиной кислоты. Разделение проводили на колонке Acquity UPLC VEN C18 (50 мм x 2,1 мм, размер частиц 1,7 мкм от Waters) с использованием следующего градиента: от 0 мин. до 1,5 мин., от 5% А до 100% А; от 1,5 мин. до 2,0 мин.,

от 100% А до 100% А; от 2,0 мин. до 2,5 мин., от 100% А до 5% А. Скорость потока составляла 0,75 мл/мин., а температура колонки составляла 60°C. Зиботентан (425,1 масса/заряд > 361,2 масса/заряд) анализировали в режиме положительной ионизации при температуре источника 700°C и напряжении ионного распыления 5000 В.

Нижний предел количественной оценки (LLOQ) составлял 0,010 мкМ, погрешность анализа составляла < 15%, за исключением наиболее низкого стандарта контроля качества, где CV% составлял 13,6%, а погрешность 21,0%.

Биоанализ дапаглифлозина в моче крыс: 50 мкл PBS, содержащего 5% BSA, добавляли к 50 мкл образца мочи с последующим добавлением 500 мкл смеси ацетонитрил/муравьиная кислота (100/0,5, об./об.), содержащей нифедипин, в качестве внутреннего стандарта. Образцы встряхивали в течение 1 мин и центрифугировали при 2400 g в течение 5 мин. при 4°C. 450 мкл супернатанта переносили на новый планшет и сушили в атмосфере нагретого азота. Образцы восстанавливали в 400 мкл 1 М ацетата аммония/воды/муравьиной кислоты (20/75/5, об./об./об.) и перемешивали на вортексе. Образцы дополнительно очищали с помощью твердофазной экстракции (SPE) с использованием планшета для SPE SOLA HRP (10 мг) (ThermoFisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) на роботе для работы с жидкостями. Планшет кондиционировали 450 мкл метанола, а затем 450 мкл 1 М ацетата аммония/воды/муравьиной кислоты (20/75/5, об./об./об.). Образцы загружали на планшет для SPE и промывали 450 мкл 1 М ацетата аммония/воды/муравьиной кислоты (20/75/5, об./об./об.) и 450 мкл ацетонитрила/воды (95/5, об./об.). Образцы дважды элюировали 250 мкл ацетонитрила/деионизированной воды/уксусной кислоты (80/20/1, об./об./об.) и сушили в токе нагретого азота. Образцы восстанавливали в 100 мкл деионизированной воды, перемешивали на вортексе и перед анализом центрифугировали. Соответствующие матричные калибровочные образцы, образцы для контроля качества и холостые образцы обрабатывали так же, как и исследуемые образцы.

Образцы анализировали на системе UPLC Acquity i-class (Waters, Милфорд, Массачусетс, США), объединенной с API 4500 (Sciex LLC, Фрамингем, Массачусетс, США). Подвижная фаза А представляла собой 1 М ацетат аммония/ацетонитрил/вода (0,5/95/4,5, об./об./об.), а подвижная фаза В представляла собой 1 М ацетат аммония/ацетонитрил/вода (0,5/25/74,5, об./об./об.). Разделение проводили на колонке Acquity UPLC HSS T3 (50 мм x 2,1 мм, размер частиц 1,8 мкм от Waters) с использованием следующего градиента: от 0 мин. до 3,0 мин., от 5% А до 50% А; от 3,0 мин. до 3,5 мин., от 50% А до 100% А; от 3,5 мин. до 4 мин., от 100% А до 5% А. Скорость потока составляла

0,45 мл/мин., а температура колонки составляла 25°C. Ацетатный аддукт дапаглифлозина (467,2 масса/заряд > 329,0 масса/заряд) использовали для количественной оценки и анализировали в режиме отрицательной ионизации при температуре источника 750°C и напряжении ионного распыления -4500 В. LLOQ составлял 0,010 мкМ, CV и погрешность, как правило, составляли <5% (при наиболее низком стандарте контроля качества, 0,03 мкМ, CV составлял 10,3%).

Уровни альбумина, креатинина, глюкозы, мочевины, калия и натрия в плазме крови и моче анализировали с использованием прибора ABX Pentra 400 (Horiba Medical, Ирвин, Калифорния, США) в соответствии с протоколом производителя.

Для анализа Hct и Hb собирали 100 мкл крови из хвостовой вены крысы и измеряли с использованием картриджей CG8, проанализированных с помощью прибора iSTAT (Abbott Point of Care Inc, Эббот Парк, Иллинойс, США).

Данные для каждого измеренного признака проверяли в отношении нормального распределения и, при необходимости, в отношении данных с ненормальным распределением применяли логарифмическое преобразование с использованием R. Поскольку данные группировали по одному фактору, дозам зиботентина или комбинированной терапии, для анализа признаков, измеренных в одной временной точке (emmeans пакета статистики GraphPad версии 8 или R) использовали однофакторный ANOVA, а для анализа данных нескольких измерений веса тела использовали линейную модель смешанных эффектов (пакет nlme) в R. Различия между группами проверяли с помощью либо критерия Даннетта (пакет emmeans в R или GraphPad v8) при сравнении обработанных групп с группой, получавшей среду-носитель, либо критерия Тьюки (пакет emmeans в R или Graphpad v8) для конкретных попарных сравнений обработанных групп. Все предположения модели проверяли с использованием диагностических графиков модели в статистике R. Результаты выражены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего значения (SEM) для фармакодинамических параметров и среднее значение ± стандартное отклонение (SD) для концентрации соединения в крови и моче. Значимость была установлена на уровне  $p < 0,05$ .

#### Результаты

Концентрации зиботентана выше LLOQ измеряли во всех образцах крови, собранных через 4 ч. или 24 ч. после введения первой дозы, или через 24 ч. после введения последней дозы у животных, получавших зиботентан, что подтверждает воздействие зиботентана (таблица 1 и таблица 2, фиг. 1 и фиг. 2).

**Таблица 1. Концентрации зиботентана (Zibo) в крови (мкмоль/л) в эксперименте 1**

	Среденоситель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Zibo (300 мг/кг)
4 ч. после введения первой дозы	<LLOQ (10)	53,8 ± 17,40 (10)	134 ± 43,8 (10)	247 ± 46,0 (10)
24 ч. после введения первой дозы	< LLOQ (10)	4,68 ± 3,93 (10)	39,1 ± 38,1 (10)	176 ± 108 (10)
24 ч. после введения последней дозы	0,272 ± 0,146 (6)	7,39 ± 10,38 (9)	39,0 ± 32,4 (10)	249 ± 193 (10)

Представленные данные представляют собой среднее значение ± SD (количество образцов).

LLOQ Нижний предел количественной оценки

SD стандартное отклонение

**Таблица 2. Концентрации зиботентана (Zibo) и дапаглифлозина (Dapa) в крови в эксперименте 2**

	Среденоситель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Dapa (3 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг) + Dapa (3 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг) + Dapa (3 мг/кг)
Дапаглифлозин (мкмоль/л)						
4 ч. после введения первой дозы	-	-	-	1,94 ± 0,517 (11)	1,90 ± 0,309 (12)	2,07 ± 0,292 (11)
24 ч. после введения первой дозы	-	-	-	0,086 ± 0,052 (11)	0,133 ± 0,043 (11)	0,212 ± 0,0649 (12)
24 ч. после введения последней дозы	-	-	-	0,048 ± 0,019 (12)	0,111 ± 0,042 (12)	0,172 ± 0,050 (12)
Зиботентан (мкмоль/л)						
4 ч. после введения первой дозы	-	61,1 ± 8,67 (12)	161 ± 31,0 (10)	-	59,9 ± 19,1 (12)	150 ± 18,8 (11)
24 ч. после введения первой дозы	-	7,80 ± 6,19 (12)	63,9 ± 46,9 (12)	-	4,59 ± 2,69 (11)	44,3 ± 28,8 (12)
24 ч. после введения последней дозы	-	22,9 ± 27,2 (12)	136 ± 123 (12)	-	5,40 ± 5,29 (12)	42,4 ± 26,7 (12)

Представленные данные представляют собой среднее значение  $\pm$  SD (количество образцов).

LLOQ Нижний предел количественной оценки

SD стандартное отклонение

- Не обнаружено, все концентрации ниже LLOQ.

Концентрации дапаглифлозина выше LLOQ измеряли во всех образцах крови, собранных через 4 ч. или 24 ч. после введения первой дозы, или через 24 ч. после введения последней дозы у животных, получавших дапаглифлозин, что подтверждает воздействие дапаглифлозина (**фиг. 3, таблица 2**). В эксперименте 2 концентрации зиботентана выше LLOQ измеряли во всех образцах мочи, собранных в течение ночи между днями 3 и 4 у животных, получавших зиботентан (**таблица 3**), а концентрации дапаглифлозина выше LLOQ измеряли во всех образцах мочи животных, получавших дапаглифлозин (**таблица 3**).

**Таблица 3. Количество дапаглифлозина (Dapa) и зиботентана (Zibo), выведенных с мочой в эксперименте 2**

	Среда - носит ель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/ кг)	Dapa (3 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг) + Dapa (3 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг) + Dapa (3 мг/кг)
Дапаглифлозин (мкмоль)						
	-	-	-	0,198 $\pm$ 0,0637 (12)	0,293 $\pm$ 0,0600 (11)	0,343 $\pm$ 0,107 (12)
Зиботентан (мкмоль)						
	0,001 27 $\pm$ 0,001 80 (5)	2,17 $\pm$ 1,88 (12)	3,21 $\pm$ 1,20 (11)	-	1,11 $\pm$ 0,531 (11)	5,24 $\pm$ 2,93 (12)

Представленные данные представляют собой среднее значение  $\pm$  SD (количество образцов).

LLOQ Нижний предел количественной оценки

SD стандартное отклонение

- Не обнаружено, все концентрации ниже LLOQ.

В эксперименте 1 поддающиеся количественной оценке концентрации зиботентана обнаруживали в 6 образцах крови контрольных животных в день 14. Кажущаяся концентрация зиботентана в этих положительных образцах составляла по меньшей мере в 13- раз ниже (при использовании самого наиболее высокого значения наблюдаемой (0,54

мкМ) среды-носителя для животных по отношению к среднему (7,39 мкМ) в группе 30 мг/кг), чем средняя концентрация в крови в группе с низкой дозой (30 мг/кг). В эксперименте 2 концентрации зиботентана или дапаглифлозина выше LLOQ в образцах крови от контрольных животных не обнаруживали, но концентрации зиботентана выше LLOQ обнаруживали в 5 образцах мочи от контрольных животных. Количество зиботентана, выведенного с мочой в этих образцах, составляло по меньшей мере в 190 раз ниже, чем среднее количество, выведенное из организма в группе, получавшей зиботентан, причем наименьшее количество наблюдали в моче (30 мг/кг зиботентана + 3 мг/кг дапаглифлозина).

В эксперименте 2 концентрации зиботентана в крови через 24 ч. после последней дозы были в 3-4 раза ниже в группах, где зиботентан комбинировали с дапаглифлозином, по сравнению с группами, получавшими зиботентан в отдельности.

Зиботентан вызывал значимое ( $p < 0,05$ ) снижение концентрации Hct по сравнению со средой-носителем при всех дозах (30 мг/кг, 100 мг/кг и 300 мг/кг) в день 7 и для доз 100 мг/кг и 300 мг/кг в день 14 (фиг. 4).

Вес тела измеряли ежедневно для каждой дозы зиботентана (30, 100 и 300 мг/кг) и сравнивали со средой-носителем. Разница в изменении веса тела для любой из групп, получавших зиботентан, по сравнению с группой, получавшей носитель (таблица 4, фиг. 5), отсутствовала. В день 10 вес тела животных снизился вследствие помещения в метаболические клетки.

**Таблица 4. Сравнение веса тела между зиботентаном (30, 100 и 300 мг/кг) и средой-носителем**

Обработанные	Контроль	Разница*	Стандартная ошибка	р-значение
Zibo 30 мг/кг	Среда-носитель	0,02	0,01	0,14
Zibo 100 мг/кг	Среда-носитель	0,02	0,01	0,12
Zibo 300 мг/кг	Среда-носитель	0,01	0,01	0,73

\* Различия в средних значениях выражали в логарифмической шкале и оценивали с помощью линейной модели смешанных эффектов и апостериорного критерия Даннета.

Зиботентан вызывал значимое снижение Hb по сравнению со средой-носителем при всех трех дозах (30, 100 и 300 мг/кг) в день 7 и для двух более высоких дозах (100 и 300 мг/кг) в день 14 (таблица 5).

**Таблица 5. Эффект зиботентана (Zibo) в отношении Hb в эксперименте 1**

Параметры	Среда- носитель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Zibo (300 мг/кг)
Hb в день 7 (г/л)	157,4 ± 1,68	146,4 ± 2,51*	141,5 ± 2,02*	143,2 ± 1,79*
Hb в день 14 (г/л)	162,2 ± 1,77	156,8 ± 2,43	148,5 ± 2,49*	150,3 ± 3,13*

Эффект 30, 100 и 300 мг/кг зиботентана в отношении Hb. N = 8-10/группа, \* $p < 0,05$  по сравнению со средой-носителем. При анализе данных использовали однофакторный ANOVA и критерий Даннета для множественных сравнений. Данные представлены как среднее значение ± SEM.

Изменения в уровне Na, K, глюкозы и мочевины в плазме крови в ответ на разные дозы зиботентана по сравнению со средой-носителем, как показано в таблице 6, отсутствовали.

**Таблица 6. Эффект зиботентана (Zibo) в отношении Na, K, глюкозы и мочевины в плазме крови в эксперименте 1**

Параметры	Среда- носитель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Zibo (300 мг/кг)
Na (ммоль/л)	136,4 ± 0,70	137,0 ± 0,96	137,2 ± 0,97	139,4 ± 0,86
K (ммоль/л)	4,35 ± 0,11	4,50 ± 0,06	4,52 ± 0,06	4,76 ± 0,09
Глюкоза (ммоль/л)	9,23 ± 0,29	9,76 ± 0,28	9,65 ± 0,30	9,34 ± 0,13
Мочевина (ммоль/л)	4,60 ± 0,25	4,64 ± 0,20	4,77 ± 0,25	4,94 ± 0,39

Эффект различных доз зиботентана в отношении Na, K, глюкозы и мочевины в плазме крови. N = 8-10/группа. При анализе данных использовали однофакторный ANOVA и критерий Даннета для множественных сравнений.

Данные представлены как среднее значение ± SEM.

Изменения в уровне объема мочи, Na, K, мочевины, креатинина и глюкозы в ответ на различные дозы зиботентана по сравнению с носителем, как показано в таблице 7, отсутствовали.

**Таблица 7. Эффект зиботентана (Zibo) в отношении объема мочи и Na, K, мочевины, креатинина, глюкозы в моче в эксперименте 1**

Параметры	Среда-носитель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Zibo (300 мг/кг)
Объем мочи (мл)	24,79 ± 2,85	28,19 ± 2,99	23,88 ± 2,02	29,09 ± 2,74
Na (ммоль)	13,42 ± 1,27	14,05 ± 0,95	13,01 ± 1,07	13,76 ± 0,76
K (ммоль)	1,62 ± 0,07	1,57 ± 0,05	1,52 ± 0,06	1,44 ± 0,03
Мочевина (ммоль)	4,73 ± 0,42	6,19 ± 1,71	4,04 ± 0,39	4,60 ± 0,19
Креатинин (мкмоль)	86,84 ± 3,13	88,8 ± 3,3	82,8 ± 2,5	82,9 ± 3,3
Глюкоза (ммоль)	0,05 ± 0,0	0,01 ± 0,0	0,02 ± 0,0	0,18 ± 0,1

Эффект различных доз зиботентана в отношении объема мочи, Na, K, глюкозы, креатинина и мочевины. N = 8-10/группа. При анализе данных использовали однофакторный ANOVA и критерий Даннета для множественных сравнений. Данные представлены как среднее значение ± SEM.

После 14 дней лечения зиботентаном наблюдали повышение веса почек с нормализацией или без нормализации длины большеберцовой кости для дозы 300 мг/кг по сравнению со средой-носителем и повышение веса сердца для дозы зиботентана 100 мг/кг, но это повышение не было статистически значимым после нормализация в отношении длины большеберцовой кости (таблица 8).

**Таблица 8. Эффект зиботентана (Zibo) в отношении веса почек и сердца в эксперименте 1**

Параметры	Среда-носитель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Zibo (300 мг/кг)
Почка (г)	2,06 ± 0,03	2,13 ± 0,04	2,16 ± 0,05	2,25 ± 2,74*
Сердце (г)	1,00 ± 0,01	1,00 ± 0,02	1,05 ± 0,01*	0,98 ± 0,00
Длина большеберцовой кости (мм)	39,35 ± 0,23	39,26 ± 0,26	39,00 ± 0,13	39,09 ± 0,21
Почка/длина большеберцовой кости (мг/мм)	52,0 ± 0,89	54,00 ± 0,80	55,0 ± 1,65	57,0 ± 1,39*
Сердце/длина большеберцовой кости (мг/мм)	25,00 ± 0,44	25,00 ± 0,47	27,00 ± 0,37	25,00 ± 0,24

Эффект 30, 100 и 300 мг/кг зиботентана в отношении веса почек и сердца. N = 8-10/группа. При анализе данных использовали однофакторный ANOVA и критерий Даннета

для множественных сравнений. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  SEM,  $*p < 0,05$  по сравнению со средой-носителем.

Данные Hct анализировали с использованием линейной модели смешанных эффектов для оценки предельных средних значений и стандартных отклонений в группах со средой-носителем и обработанных группах в день 3, день 7 и в целом для всего исследования для апостериорных сравнений. Группы обработки сравнивали с группой, получавшей средо-носитель, для определения эффектов в отношении Hct по сравнению с контрольной группой, обработанной средой-носителем (критерий Даннета), а группы, обработанные зиботентаном, сравнивали с группами, получавшими зиботентан плюс дапаглифлозин (с использованием критерия Тьюки) для определения того, ослабляла ли комбинированная терапия эффект зиботентана в отношении Hct.

Разница в уровне абсолютного значения Hct на исходном уровне между группами (фиг. 6А) отсутствовала. В день 3 зиботентан (30 мг/кг и 100 мг/кг), вводимый с дапаглифлозином или без него (3 мг/кг), приводил к снижению Hct по сравнению со средой-носителем (фиг. 6В, таблица 9А). В день 7 зиботентан (30 мг/кг и 100 мг/кг) приводил к снижению Hct по сравнению со средой-носителем, и обе дозы при совместном введении с дапаглифлозином (3 мг/кг) приводили к Hct, сходному для среды-носителя (фиг. 6С, таблица 9В). В целом, зиботентан в дозе 100 мг/кг плюс дапаглифлозин приводил к более высоким уровням Hct, чем зиботентан в отдельности в дозе 100 мг/кг (таблица 9С).

**Таблица 9А. Сравнение уровней Hct в зависимости от групп обработки попарно и с общим контролем в день 3 после обработки**

Группа 1	Группа 2	Оценка	Стандартная ошибка	р-значение
Дара (3,0 мг/кг)	Среда-носитель	0,03	0,02	0,42
Zibo (100 мг/кг) + Дара (3,0 мг/кг)	Среда-носитель	-0,05	0,02	0,02
Zibo (100 мг/кг)	Среда-носитель	-0,08	0,02	0,0009
Zibo (30 мг/кг) + Дара (3,0 мг/кг)	Среда-носитель	-0,06	0,02	0,01
Zibo (30 мг/кг)	Среда-носитель	-0,10	0,02	0,0001
Zibo (100 мг/кг) + Дара (3,0 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	0,03	0,02	0,08
Zibo (30 мг/кг) + Дара (3,0 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг)	0,04	0,02	0,05

\* Различия в средних значениях выражали в логарифмической шкале и оценивали с помощью линейной модели смешанных эффектов и апостериорного критерия Даннета для сравнений со средой-носителем и критерия Тьюки для попарных сравнений.

В день 7 обработка зиботентаном в отдельности в дозах 30 мг/кг и 100 мг/кг вызывала снижение Hct, но этот эффект исчезал, когда зиботентан комбинировали с дапаглифлозином (фиг. 6С, таблица 9В).

**Таблица 9В. Сравнение уровней Hct в зависимости от групп обработки попарно и с общим контролем в день 7 после обработки**

Группа 1	Группа 2	Разница*	Стандартная ошибка	р-значение
Дара (3,0 мг/кг)	Среда-носитель	0,01	0,02	0,92
Zibo (100 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Среда-носитель	-0,03	0,02	0,52
Zibo (100 мг/кг)	Среда-носитель	-0,08	0,02	0,0003
Zibo (30 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Среда-носитель	-0,05	0,02	0,12
Zibo (30 мг/кг)	Среда-носитель	-0,06	0,02	0,02
Zibo (100 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	0,06	0,02	0,009
Zibo (30 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг)	0,01	0,02	0,93

**Таблица 9С. Разница в средних значениях Hct в зависимости от групп обработки по сравнению со средой-носителем для всех временных точек**

Группа 1	Группа 2	Разница	Стандартная ошибка	р-значение
Дара (3 мг/кг)	Среда-носитель	0,01	0,012	0,85
Zibo (100 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Среда-носитель	-0,03	0,012	0,10
Zibo (100 мг/кг)	Среда-носитель	-0,06	0,012	< 0,0001
Zibo (30 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Среда-носитель	-0,04	0,012	0,01
Zibo (30 мг/кг)	Среда-носитель	-0,05	0,012	0,0003
Zibo (100 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	-0,03	0,012	0,01
Zibo (30 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг)	-0,01	0,012	0,46

Известно, что дапаглифлозин приводит к повышению потери веса (Hansen et al., *Endocr Pract.* 2014; 20(11): 1187-1197). Для оценки влияния комбинированной терапии на снижение веса тела вес тела измеряли ежедневно и сравнивали его с помощью линейной модели смешанных эффектов. Животные, получавшие среду-носитель, прибавляли в весе в течение периода введения, как и ожидалось, обработка дапаглифлозином в отдельности предупреждала такое повышение BW по сравнению со средой-носителем ( $p < 0,05$ ), в то время как зиботентан в отдельности или в комбинации с дапаглифлозином не приводил к этому (фиг. 7, таблица 10).

**Таблица 10. Групповые сравнения изменений веса тела в течение всего исследования в зависимости от групп обработки.**

Группа 1	Группа 2	Разница	Стандартная ошибка	P-значение
Zibo (30 мг/кг)	Среда- носитель	0,01	0,01	0,06
Zibo (100 мг/кг)	Среда- носитель	0,01	0,01	0,11
Дара (3 мг/кг)	Среда- носитель	-0,03	0,01	< 0,001
Zibo (30 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Среда- носитель	0,00	0,01	> 0,99
Zibo (100 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Среда- носитель	-0,01	0,01	0,14
Zibo (100 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	0,04	0,01	< 0,001
Zibo (30 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг)	0,01	0,01	0,07

Животные, получавшие среду-носитель, прибавляли в весе в течение периода введения, как и ожидалось, обработка дапаглифлозином в отдельности предупреждала такое

повышение BW по сравнению со средой-носителем ( $p < 0,05$ ), в то время как зиботентан в отдельности или в комбинации с дапаглифлозином не приводил к этому (фиг. 7).

Дапаглифлозин приводил к значимому повышению экскреции глюкозы с мочой, в то время как эффект зиботентана отсутствовал (фиг. 8А). Совместное введение зиботентана не приводило к изменению опосредованного дапаглифлозином повышению уровня глюкозы в моче (фиг. 8А). Потребление воды и пищи не изменилось по сравнению со средой-носителем при введении зиботентана. Обработка дапаглифлозином приводила к повышению потребления воды и пищи по сравнению со средой-носителем, как показано на фиг. 8В и фиг. 8С. Животные, которым вводили совместно дапаглифлозин и зиботентан, значительно увеличивали потребление воды и пищи по сравнению со средой-носителем и до аналогичного уровня, наблюдаемого у животных, которым вводили дапаглифлозин в отдельности (фиг. 8В и фиг. 8С соответственно).

**Таблица 11. Эффект зиботентана (Zibo) и дапаглифлозина в отношении Hb в эксперименте 2**

Параметры	Среда-носитель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Дара (3 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)
Исходный Hb (г/л)	159,4 ± 2,44	160,2 ± 1,62	158,5 ± 2,00	157,9 ± 2,34	159,3 ± 2,17	158,7 ± 1,04
Hb в день 3 (г/л)	159,1 ± 2,20	144,4 ± 2,32*	147,5 ± 1,96*	164,4 ± 1,42*	151,3 ± 1,62 <sup>#</sup>	152,4 ± 1,02 <sup>#</sup>
Hb в день 7 (г/л)	157,5 ± 1,91	148,6 ± 1,86	144,8 ± 1,69*	159,1 ± 1,88*	149,7 ± 2,80	152,9 ± 1,99 <sup>#</sup>

Эффект 30 мг/кг и 100 мг/кг зиботентана с дапаглифлозином 3 мг/кг или без него, дапаглифлозина 3 мг/кг в отдельности и среды-носителя в отношении Hb, N = 8-12/группа, \* $p < 0,05$  по сравнению со средой-носителем, <sup>#</sup> $p < 0,05$  по сравнению с группами, обработанными зиботентаном в отдельности. При анализе данных использовали однофакторный ANOVA и критерий Тьюки для множественных сравнений. Данные представлены как среднее значение ± SEM.

Концентрации Na, K, глюкозы, мочевины в плазме крови не изменялись при обработке зиботентаном, дапаглифлозином или их комбинацией по сравнению со средой-носителем, как показано в таблице 12. Обработка Zibo в отдельности (100 мг/кг) или в комбинации с Дара (3 мг/кг) приводит к значимому повышению уровня креатинина в плазме крови по сравнению со средой-носителем ( $p < 0,05$ ), как показано в таблице 12.

**Таблица 12. Эффект зиботентана (Zibo), дапаглифлозина (Dapa) или их комбинации в отношении концентрации Na, K, глюкозы, мочевины и креатинина в плазме крови в эксперименте 2**

Параметры	Среды-носитель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Dapa (3 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг) + Dapa (3 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг) + Dapa (3 мг/кг)
Na (ммоль/л)	138,9 ± 0,90	139,1 ± 1,23	138,4 ± 0,76	137,6 ± 0,74	138,4 ± 0,96	139,2 ± 0,87
K (ммоль/л)	3,99 ± 0,68	4,17 ± 0,07	4,13 ± 0,06	3,68 ± 0,10	3,96 ± 0,05	4,0 ± 0,08
Глюкоза (ммоль/л)	8,64 ± 0,28	8,96 ± 0,19	8,73 ± 0,17	8,98 ± 0,28	8,49 ± 0,39	9,41 ± 0,21
Мочевина (ммоль/л)	4,51 ± 0,30	4,47 ± 0,25	4,25 ± 0,18	4,34 ± 0,14	3,95 ± 0,18	3,91 ± 0,12
Креатинин (мкМ)	15,35 ± 0,75	17,58 ± 0,68	18,08 ± 0,62*	14,62 ± 0,44	16,64 ± 0,52	17,98 ± 0,92*

Эффект 30 мг/кг и 100 мг/кг зиботентана с дапаглифлозином 3 мг/кг или без него, дапаглифлозина 3 мг/кг в отдельности и среды-носителя в отношении электролитов плазмы крови, мочевины, глюкозы и креатинина, N = 8-12/группа. При анализе данных использовали однофакторный ANOVA и критерий Даннета для множественных сравнений. Данные представлены как среднее значение ± SEM.

Объем мочи, образованной в течение 24 часов, и экскреция мочевины были повышены во всех группах, обработанных дапаглифлозином, с совместным введением зиботентана или без него. Разница в группах, обработанных зиботентаном в отдельности, по сравнению с группами, обработанными средой-носителем, отсутствовала. Изменения Na, K и креатинина ни в одной из групп обработки по сравнению со средой-носителем, как показано в **таблице 13**, не наблюдали.

**Таблица 13. Эффект зиботентана (Zibo), дапаглифлозина (Дара) и комбинации в отношении объема мочи и Na, K, мочевины и креатинина в моче в эксперименте 2**

Параметры	Среды-носитель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Дара (3 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг) + Дара (3 мг/кг)
Объем мочи (мл)	22,59 ± 2,10	19,08 ± 2,98	19,08 ± 2,98	43,13 ± 5,85*	48,00 ± 5,71*,#	53,21 ± 4,82*,#
Na (ммоль)	11,58 ± 0,87	10,67 ± 0,74	10,03 ± 0,95	12,60 ± 1,54	13,18 ± 1,41	14,13 ± 1,19
K (ммоль)	1,26 ± 0,07	1,27 ± 0,05	1,16 ± 0,06	1,40 ± 0,07	1,48 ± 0,07	1,31 ± 0,07
Мочевина (ммоль)	5,07 ± 0,38	4,61 ± 0,36	4,11 ± 0,34	7,43 ± 0,44*	6,88 ± 0,41*,#	6,95 ± 0,39*,#
Креатинин (мкмоль)	70,64 ± 3,02	71,33 ± 2,6	68,18 ± 3,6	76,42 ± 3,5	79,09 ± 2,9	77,00 ± 3,5

Эффект различных доз 30 мг/кг и 100 мг/кг зиботентана с дапаглифлозином 3 мг/кг или без него, дапаглифлозина 3 мг/кг в отдельности и среды-носителя в отношении объема мочи, электролитов плазмы крови, мочевины, глюкозы и креатинина, N = 8-12/группа. При анализе данных использовали однофакторный ANOVA и критерий Тьюки для множественных сравнений. Данные представлены как среднее ± SEM, \*  $p < 0,05$  по сравнению со средой-носителем, # $p < 0,05$  по сравнению с группами с обработкой зиботентаном в отдельности.

После семи дней обработки вес почек увеличился в группе Zibo 100 мг/кг + Дара 3 мг/кг по сравнению со средой-носителем. Вес сердца увеличился в группе Zibo 30 мг/кг по сравнению с группой, обработанной носителем в отдельности, с нормализацией или без нормализации по длине большеберцовой кости, как показано в **таблице 14**.

**Таблица 14. Эффект зиботентана (Zibo) и дапаглифлозина (Dapa) в отношении веса почек и сердца в эксперименте 2**

Параметры	Среда-носитель	Zibo (30 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг)	Dapa (3 мг/кг)	Zibo (30 мг/кг) + Dapa (3 мг/кг)	Zibo (100 мг/кг) + Dapa (3 мг/кг)
Почка (г)	1,89 ± 0,04	2,05 ± 0,04	1,90 ± 0,05	2,01 ± 0,05	2,07 ± 0,06	2,12 ± 0,03*
Сердце (г)	0,89 ± 0,01	0,96 ± 0,01*	0,93 ± 0,01	0,85 ± 0,02	0,91 ± 0,01	0,88 ± 0,01
Длина большеберцовой кости (мм)	39,28 ± 0,19	39,28 ± 0,22	39,42 ± 0,15	38,85 ± 0,23	39,88 ± 0,22	39,32 ± 0,17
Почка/длина большеберцовой кости (мг/мм)	48,33 ± 1,31	52,49 ± 1,15	48,20 ± 1,35	51,96 ± 1,34	52,02 ± 1,62	53,99 ± 1,13*
Сердце/длина большеберцовой кости (мг/мм)	22,82 ± 0,45	24,75 ± 0,27*	23,82 ± 0,46	22,08 ± 0,46	23,00 ± 0,33	23,59 ± 0,36

Эффект различных доз 30 мг/кг и 100 мг/кг зиботентана с дапаглифлозином 3 мг/кг или без него, дапаглифлозина 3 мг/кг в отдельности и среды-носителя в отношении веса почек и сердца. N = 12/группа, \* $p < 0,05$  по сравнению со средой-носителем. При анализе данных использовали однофакторный ANOVA и критерий Даннета для множественного сравнения. Данные представлены как среднее значение ± SEM.

Антагонист эндотелинового рецептора типа A, зиботентан, приводил к значимому снижению концентрации Hct у самцов крыс линии Wistar, получавших 4% солевую диету. Совместное введение ингибитора SGLT-2 дапаглифлозина в течение 7 дней приводило к значимому снижению эффекта зиботентана в отношении концентрации Hct. Дапаглифлозин ослабляет вызванное зиботентаном снижение задержки жидкости (гематокрита) у крыс.

### **ПРИМЕР 2**

Эффект дапаглифлозина в отношении альбуминурии исследовали у пациентов с СКД с диабетом 2 типа и без него. В этом анализе фазы 3 исследования DAPA СКД оценивали эффективность дапаглифлозина, чтобы определить, приводит ли лечение дапаглифлозином к снижению уровня альбуминурии у пациентов с СКД.

В исследовании 4304 пациента с предполагаемой скоростью клубочковой фильтрации, составляющей 25-75 мл/мин./1.73 м<sup>2</sup>, и UACR мочи, составляющей 200-5000 мг/г, рандомизировали в группу дапаглифлозина (10 мг) или плацебо. Изменение альбуминурии оценивали как среднее изменение логарифмически преобразованного UACR от исходного уровня до окончания исследования. Регресс на стадии UACR, определяемый как переход от макроальбуминурии ( $\geq 300$  мг/г) к микро- или нормоальбуминурии ( $< 300$  мг/г), и прогресс на стадии UACR, определяемый как переход от  $< 3000$  мг/г к  $\geq 3000$  мг/г, представляли собой дополнительные конечные точки.

В общей популяции медиана (25<sup>й</sup>-75<sup>й</sup> перцентиль) UACR составляла 965 (472-1903) мг/г (по сравнению с плацебо с медианой UACR, составляющей 934 (482-1868)). Дапаглифлозин по сравнению с плацебо приводил к снижению UACR на 29,3% (95% доверительный интервал [CI], 25,2–33,1%;  $p < 0,001$  у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и без него. Стратифицированный по диабетическому статусу, дапаглифлозин по сравнению с плацебо приводил к снижению UACR на 35,1% (95% доверительный интервал [CI], 30,6–39,4%;  $p < 0,001$ ) у пациентов с диабетом 2 типа и приводил к снижению UACR на 14,8% (95% доверительный интервал [CI], 5,9–22,9%;  $p < 0,001$ ) у пациентов без сахарного диабета 2 типа.

У 3860 пациентов с UACR  $\geq 300$  мг/г на исходном уровне дапаглифлозин приводил к повышению вероятности регресса на стадии UACR (отношение рисков [HR] 1,81; 95% CI, 1,60–2,05). У 3820 пациентов с UACR  $< 3000$  мг/г на исходном уровне дапаглифлозин приводил к снижению риска прогресса на стадии UACR (HR 0,41; 95% CI 0,32–0,52). Регресс и прогресс альбуминурии дополнительно стратифицированы по диабетическому статусу и показаны на **фиг. 9** и **фиг. 10**. Как показано в этом анализе, лечение дапаглифлозином приводило к снижению UACR у пациентов с СКД независимо от диабетического статуса.

### **ПРИМЕР 3**

В настоящее время проводится доклиническое исследование дапаглифлозина в комбинации с зиботентаном для того, чтобы показать эффекты средства в отдельности и комбинации в отношении определенных биомаркеров, свидетельствующих о функции почек и сердечно-сосудистой системы, у самцов крыс, чувствительных к соли Даля (DSS).

В примере 3 будут оценивать эффект зиботентана в отдельности и комбинации зиботентана и дапаглифлозина в отношении веса тела, давления крови (среднее артериальное давление – MAP, систолическое артериальное давление – SBP и диастолическое артериальное давление – DBP), а также частоты сердечных сокращений,

белка мочи альбумина и креатинина, сывороточного креатинина, общего анализа крови, эхокардиографии сердца и диаметра и толщины стенки LV, фракционного укорочения и фракции выброса и почки (левой и правой), веса сердца и легких и длины большеберцовой кости у 7-9-недельных крыс DSS на 4% солевой диете в исследовании в 7-недельном исследовании. Обработку будут начинать через 12 дней после начала 4% солевой диеты.

Состав для среды-носителя: 30% (вес/вес) PEG400, 2% (вес/вес) EtOH, 0,5% (вес/вес) НРМС (10000 сП), 0,1% (вес/вес) Tween 80, и 67,4% очищенной воды.

Состав для зиботентана в отдельности: суспензия в 30% (вес/вес) PEG400, 2% (вес/вес) EtOH, 0,5% (вес/вес) НРМС, 10000 сП, 0,1% (вес/вес) Tween 80 67,4%, очищенная вода

Состав для дапаглифлозина в комбинации с зиботентаном: суспензия/раствор в 30% (вес/вес) PEG400, 2% (вес/вес) EtOH, 0,5% (вес/вес) НРМС, 10000 сП, 0,1% (вес/вес) Tween 80 67,4%, очищенная вода

Эффект зиботентана в отдельности и дапаглифлозина в отношении веса тела, давления крови (MAP, SBP и DBP) и частоты сердечных сокращений, белка мочи альбумина и креатинина, сывороточного креатинина, общего анализа крови, эхокардиографии сердца и диаметра и толщины стенки LV, фракционного укорочения и фракции выброса и почки (левой и правой), веса сердца и легких и длины большеберцовой кости будут определять в соответствии с тремя группами, обобщенными в таблице 15 ниже.

**Таблица 15. Исследуемые группы для примера 3**

Группа	Диета	Исследуемое средство	Доза (мг/кг)	Концентрация номинальной дозы (мг/мл)*	Объем дозы (мл/кг)	Частота и продолжительность	Размер выборки
A	4% NaCl диета	Среда-носитель	н.о.	н.о.	5	QD, с дня 12 до завершения исследования	14
B	4% NaCl диета	Зиботентан	0,75 мг/кг	0,15	5		12
C	4% NaCl диета	Дапаглифлозин	3 мг/кг	0,6	5		12
		Зиботентан	0,75 мг/кг	0,15			

Образцы цельной крови (20 мкл) из групп B и C будут собирать на неделях 3 и 6 для оценки РК. Дополнительные образцы цельной крови объемом 200 мкл будут собирать на неделе 1 для оценки гематологических показателей Hct и MCV (посредством HoriBa ABX Micros ESV60). Мочу будут собирать на неделе 1, 3 и 6 для оценки клинического

биохимического анализа (посредством RX Daytona®) для оценки сывороточного креатинина и белка мочи альбумина и креатинина. Изображения эхокардиограммы будут получать у крыс под легкой анестезией 1-2% изофлюраном с использованием системы ультразвуковой эхокардиографии VisualSonics Vevo 3100® и датчика микросканирования MX201 15 МГц. Изображения левого желудочка в М-режиме (по короткой оси) будут собирать для LVEDD, LVESD, AWT, PWT, FS и EF. Левую почку, легкие и сердце будут извлекать, декапсулировать и взвешивать. Большеберцовую кость будут измерять по длине и изображать с помощью рентгеновского снимка.

Данные клинического биохимического анализа и общего анализа крови, данные эхокардиографии, а также вес тела и вес ткани (нормализованные по длине большеберцовой кости) будут анализировать с использованием однофакторного ANOVA (версия GraphPad Prism 7.0a). Статистически значимые различия между группами будут проверять с помощью критерия Даннета. Анализ давления крови будут оценивать как среднее значение  $\pm$  SEM MAP, SBP, DBP и частоту сердечных сокращений в виде линейного графика.

#### **ПРИМЕР 4**

Клинические испытания (ZENITH-CKD) комбинации дапаглифлозина и зиботентана продолжаются в рамках фазы 2b многоцентрового рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования с параллельным групповым диапазоном доз для оценки эффективности, безопасности и переносимости зиботентана и дапаглифлозина у участников с СКД с eGFR от 20 до 60 мл/мин./1,73 м<sup>2</sup>.

#### **План исследования**

Исследование будет состоять из 2 частей: части А и части В. В обеих частях исследования

участников будут рандомизировать на 12 недель лечения плюс 2 недели последующего наблюдения. Все

переменные будут собирать для проверки критериев включения и дополнительных демографических данных,

такие как раса/этническая принадлежность, сывороточный креатинин и рост. Все анализы (за исключением промежуточных анализов в части А) будут включать данные из обеих частей исследования.

Участников, отвечающих критериям приемлемости, будут рандомизировать для лечения, описанного для части А или части В, в дополнение к фоновой местной терапии SoC. Для сохранения маскировки участники будут получать процедуру как для активного ингредиента, так и для плацебо в каждый день введения дозы при монотерапии Zibo/Dapa.

Участники, получающие только плацебо, будут получать плацебо обеих исследуемых процедур.

В части А планируется набрать 132 соответствующих критериям участника и рандомизировать их в 4 группы лечения по 33 участника в каждой:

- Зиботентан 5 мг + дапаглифлозин 10 мг 1 раз в сутки.
- Зиботентан 5 мг 1 раз в сутки.
- Дапаглифлозин 10 мг 1 раз в сутки.
- Плацебо один раз в сутки.

Промежуточный анализ данных части А будут выполнять, когда примерно 30 участников в каждой группе (120 участников) завершат лечение в течение 6 недель для оценки изменений

связанных с жидкостью измерений (прибавка в весе или BNP). Если связанные с жидкостью показатели соответствуют указанным

критериям у по меньшей мере 5 участников в группе монотерапии зиботентаном в дозе 5 мг,

группа будет досрочно исключена из оставшегося интервенционного периода исследования.

Если указанные критерии досрочного участия для группы монотерапии зиботентаном 5 мг не будут соблюдены при промежуточном анализе через 6 недель лечения, имеющиеся данные части А будут подвергнуты второму промежуточному анализу для оценки изменений связанных с жидкостью показателей, когда все рандомизированные участники части А закончат 12 недель лечения. Если связанные с жидкостью показатели соответствуют указанным критериям у по меньшей мере 5 участников группы монотерапии зиботентаном 5 мг при втором промежуточном анализе (через 12 недель после лечения), эта группа будет досрочно исключена из оставшегося интервенционного периода исследования.

В части В планируется включить еще 528 соответствующих критериям участников. Из них 352 участников рандомизируют в те же 4 группы лечения из части А по 88 участников в каждой. Остальных соответствующих критериям участников рандомизируют на 2 дополнительные

группы лечения по 88 участников в каждой:

- Зиботентан 0,25 мг + дапаглифлозин 10 мг 1 раз в сутки.
- Зиботентан 1,5 мг + дапаглифлозин 10 мг 1 раз в сутки.
- Зиботентан 5 мг + дапаглифлозин 10 мг 1 раз в сутки.

- Зиботентан 5 мг 1 раз в сутки.
- Дапаглифлозин 10 мг 1 раз в сутки.
- Плацебо один раз в сутки.

Участники, рандомизированные в части А, не могут быть рандомизированы в части В.

Участников будут стратифицировать в зависимости от диабета (DKD по сравнению с СКД без DM) и исходной eGFR

(ниже по сравнению с выше 45 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) во время рандомизации для того, чтобы обеспечить

примерный баланс между группами лечения в каждой подгруппе. Количество рандомизированных участников в каждой страте будут контролировать для того, чтобы гарантировать, что подгруппа с СКД без DM составляет примерно минимум 30% и максимум 33% от общего числа рандомизированных участников.

Для каждого участника общая продолжительность участия составит от примерно 17 до 19 недель. В каждой части исследования период скрининга может длиться до 4 недель до рандомизации. Первая доза будет принята после рандомизации при исходном визите в день 1. В дополнение к исходному визиту участник посетит клинику 5 раз в течение следующих 12 недель лечения. Примерно через 2 недели после введения последней дозы участник повторно посетит клинику для последующей оценки.

#### Цели и конечные точки

Первичная конечная точка будет измерять эффект зиботентана и дапаглифлозина в комбинации и в отдельности по сравнению с плацебо в отношении UACR. Изменение UACR будут измерять в логарифмическом преобразовании UACR ( $UACR \text{ (мг/г)} = \text{альбумин мочи (мг/дл)}/\text{креатинин мочи (г/дл)}$ ) от исходного уровня до недели 12. Вторичные конечные точки и цели приведены в таблице 17 ниже.

**Таблица 17. Вторичные конечные точки и дополнительные цели исследования ZENITH-СКД Ph2b**

<u>Цель</u>	<u>Описание конечных точек</u>
Определить изменение UACR для доз зиботентана в комбинации с 10 мг дапаглифлозина по сравнению с 10 мг дапаглифлозина в отдельности.	Изменение UACR с логарифмическим преобразованием от исходного уровня до недели 12.
Определить изменение систолического и диастолического ВР в клинике для доз зиботентана в комбинации с	Изменение ВР от исходного уровня (визит 2) до недели 12.

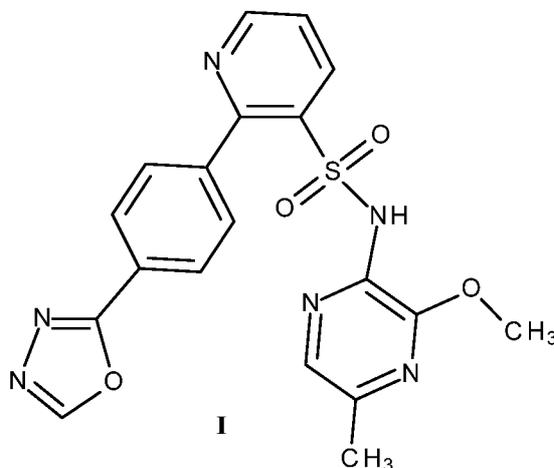
<p>дапаглифлозином 10 мг и для монотерапии зиботентаном и дапаглифлозином 10 мг по сравнению с плацебо.</p>	
<p>Охарактеризовать зависимость доза-ответ (взаимосвязь между различными дозами зиботентана/фиксированной дозой дапаглифлозина и снижением UACR).</p>	<p>Среднее изменение UACR на основе метода меньших квадратов на неделе 12 из 3 групп доз Zibo/Dapa и группы монотерапии дапаглифлозином</p>
<p>для определения эффекта ранжирования доз зиботентана и дапаглифлозина в комбинации и в отдельности в отношении eGFR.</p>	<p>Изменение eGFR от исходного уровня до недели 1. Изменение eGFR от исходного уровня до недели 12. Изменение eGFR от исходного уровня до недели 14. Изменение eGFR от недели 1 до недели 12.</p>
<p>Оценить безопасность и переносимость различных доз зиботентана и дапаглифлозина в комбинации и в отдельности по сравнению с плацебо</p>	<p>AE/SAE/DAE. Основные показатели жизнедеятельности. Клинико-лабораторные тесты. ECG в 12 отведениях. Явление, представляющее особый интерес (изменения связанных с жидкостью показателей).</p>
<p>Оценить фармакокинетику различных доз зиботентана и дапаглифлозина в плазме крови.</p>	<p>Плазменные концентрации зиботентана и дапаглифлозина.</p>
<p>Исследовательский анализ метаболитов зиботентана (только часть B).</p>	<p>Плазменная концентрация метаболитов зиботентана.</p>
<p>Оценить изменения веса тела с поправкой на плацебо в ответ на различные дозы зиботентана и дапаглифлозина в комбинации и в отдельности.</p>	<p>Изменение веса тела на протяжении интервенционного периода.</p>

<p>Изучить взаимосвязи между дозой/воздействием зиботентана и переменными безопасности/PD.</p>	<p>Доза/воздействие зиботентана по отношению к безопасности и PD. Переменные безопасности/PD предусматривают оценку крови в отношении на NT-proBNP, BNP, креатинина и цистатина С, и анализ мочи в отношении альбумина и креатинина.</p>
<p>Оценить эффект зиботентана и дапаглифлозина в комбинации и в отдельности по сравнению с плацебо в отношении уровней <math>K^+</math>, <math>Na^+</math>, мочевой кислоты в плазме крови/сыворотке крови, глюкозы в плазме крови натощак, гематокрита, гемоглобина, ET-1, ELDR, CT-proET-1 и копептина.</p>	<p>Изменение концентраций <math>K^+</math>, <math>Na^+</math>, мочевой кислоты, азота мочевины в плазме крови/сыворотке крови, уровней глюкозы в плазме натощак, гематокрита, гемоглобина, ET-1, ELDR, CT-proET-1 и копептина с течением времени во время исследования.</p>
<p>Оценить эффект зиботентана и дапаглифлозин в комбинации и в отдельности по сравнению с плацебо в отношении сердечно-сосудистых биомаркеров в крови</p>	<p>Оценка изменений сердечно-сосудистых биомаркеров в крови с течением времени во время исследования.</p>
<p>Оценить эффект зиботентана и дапаглифлозин в комбинации и в отдельности по сравнению с плацебо в отношении объема жидкости в организме и статуса распределения.</p>	<p>Оценка изменений объема и распределения жидкости в организме во время исследования. Изменение общего объема воды в организме, объемов внеклеточной воды и внутриклеточной воды. Результаты будут получать с использованием биоимпедансной спектроскопии.</p>
<p>Собирать и хранить образцы плазмы крови, сыворотки крови и мочи для потенциальных будущих поисковых исследований, направленных на изучение</p>	<p>Оценка изменений биомаркеров в крови и моче,</p>

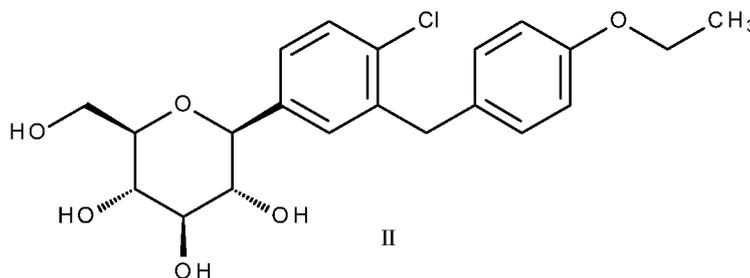
<p>биомаркеров, связанных с РК, PD, безопасностью и переносимостью, связанными с зиботентаном и дапаглифлозином в комбинации и в отдельности по сравнению с плацебо или связанными с сердечно-почечными заболеваниями.</p>	<p>относящихся к сердечно-почечным механизмам, воспалению и фиброзу, во время исследования.</p>
--	---

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Зиботентан, *N*-(3-метокси-5-метилпиразин-2-ил)-2-[4-(1,3,4-оксадиазол-2-ил)фенил]пиридин-3-сульфонамид,



или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении хронического заболевания почек у пациента-человека, где зиботентан или его фармацевтически приемлемая соль вводятся в комбинации с дапаглифлозином, (1*S*)-1,5-ангидро-1-{4-хлор-3-[(4-этоксифенил)метил]фенил}-*D*-глюцитолом,



или его фармацевтически приемлемой солью.

2. Применение по п. 1, где зиботентан или его фармацевтически приемлемая соль вводятся один раз в сутки в комбинации с дапаглифлозином или его фармацевтически приемлемой солью.

3. Применение по п. 1 или п. 2, где зиботентан или его фармацевтически приемлемая соль вводятся один раз в сутки в дозе, составляющей приблизительно 5 мг, в комбинации с дапаглифлозином или его фармацевтически приемлемой солью, где дапаглифлозин вводится в дозе, составляющей 10 мг.

4. Применение по п. 1 или п. 2, где зиботентан или его фармацевтически приемлемая соль вводятся один раз в сутки в дозе, составляющей приблизительно 1,5 мг, в комбинации

с дапаглифлозином или его фармацевтически приемлемой солью, где дапаглифлозин вводится в дозе, составляющей 10 мг.

5. Применение по п. 1 или п. 2, где зиботентан или его фармацевтически приемлемая соль вводятся один раз в сутки в дозе, составляющей приблизительно 0,25 мг, в комбинации с дапаглифлозином или его фармацевтически приемлемой солью, где дапаглифлозин вводится в дозе, составляющей 10 мг.

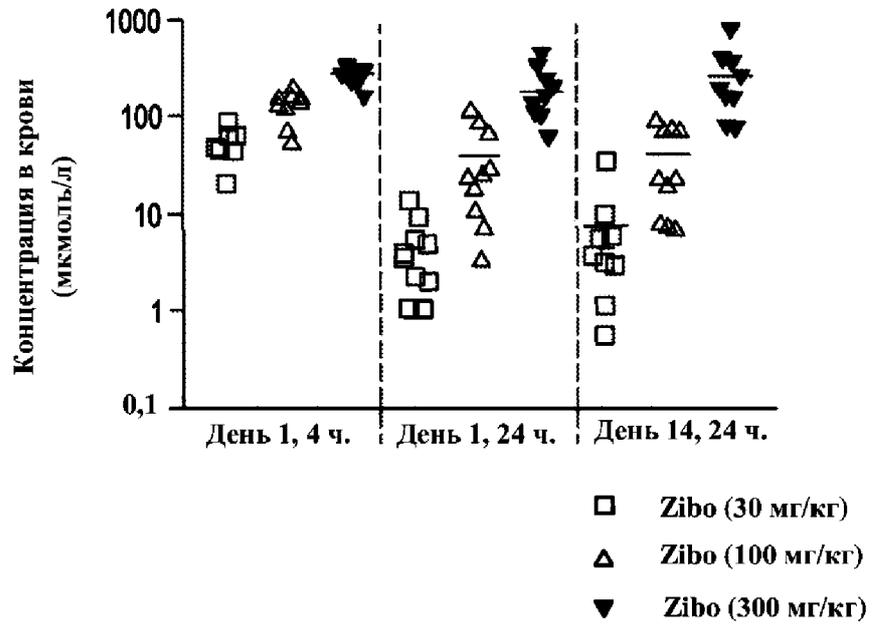
6. Применение по любому из пп. 1-5, где пациент-человек представляет собой пациента с хроническим заболеванием почек, классифицированного как пациент со стадией 1-4, характеризующийся eGFR, составляющей 20-60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>.

7. Применение по п. 6, где пациент-человек представляет собой пациента с хроническим заболеванием почек, классифицированного как пациент со стадией 3-4.

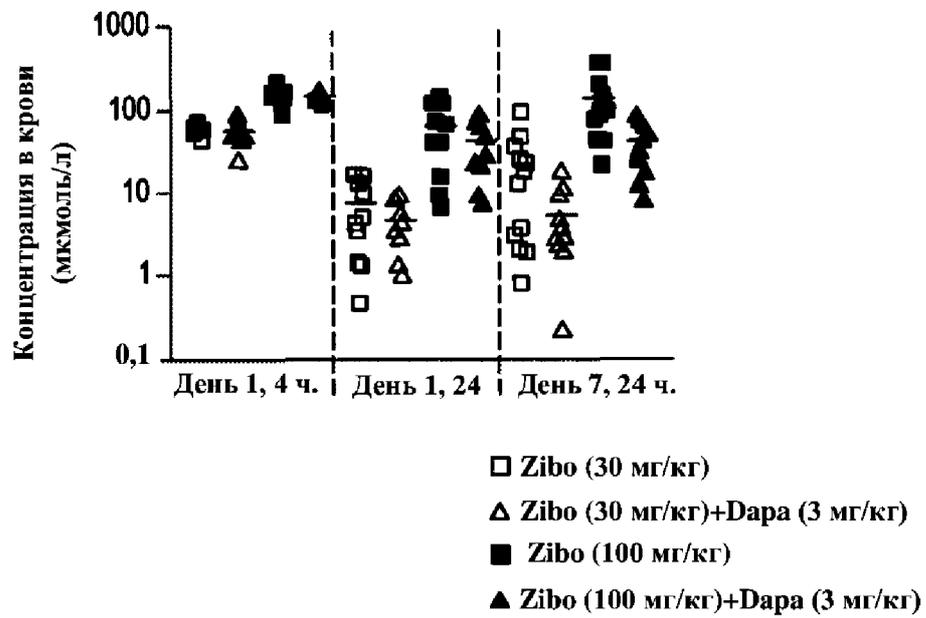
8. Применение по п. 6, где пациент-человек представляет собой пациента с хроническим заболеванием почек, классифицированного как пациент со стадией 4.

9. Применение по п. 6, где пациент-человек представляет собой пациента с хроническим заболеванием почек, классифицированного как пациент со стадией 3а или 3б.

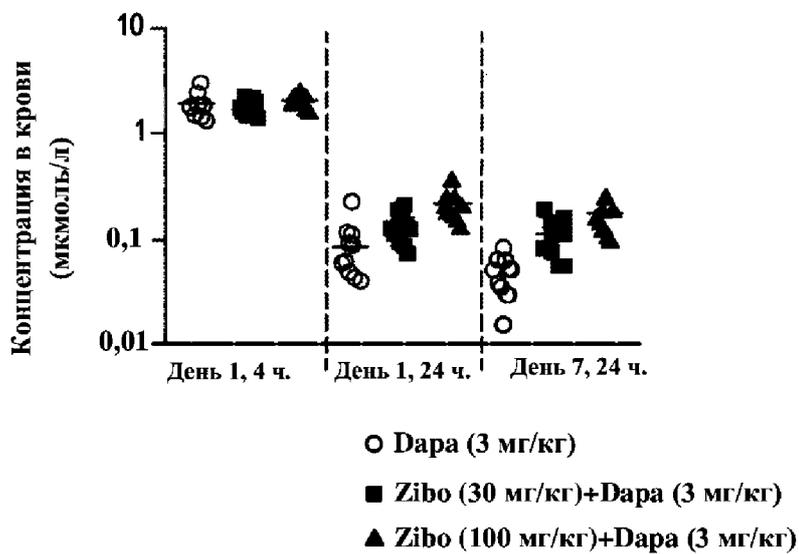
Фиг. 1



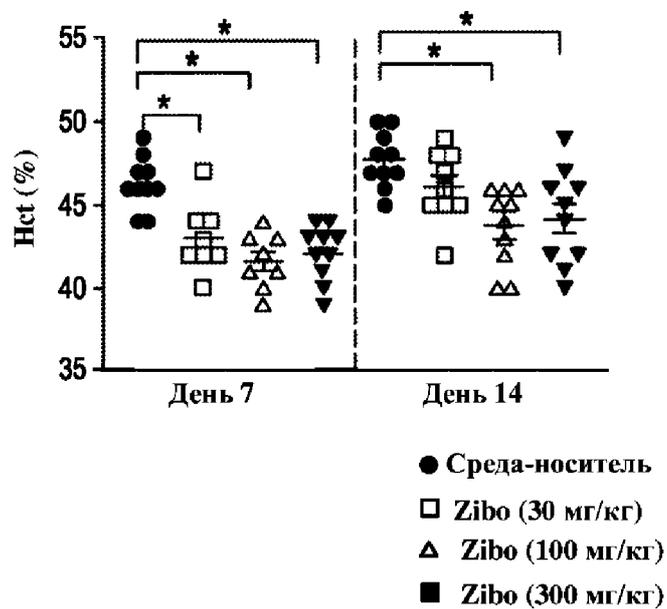
Фиг. 2



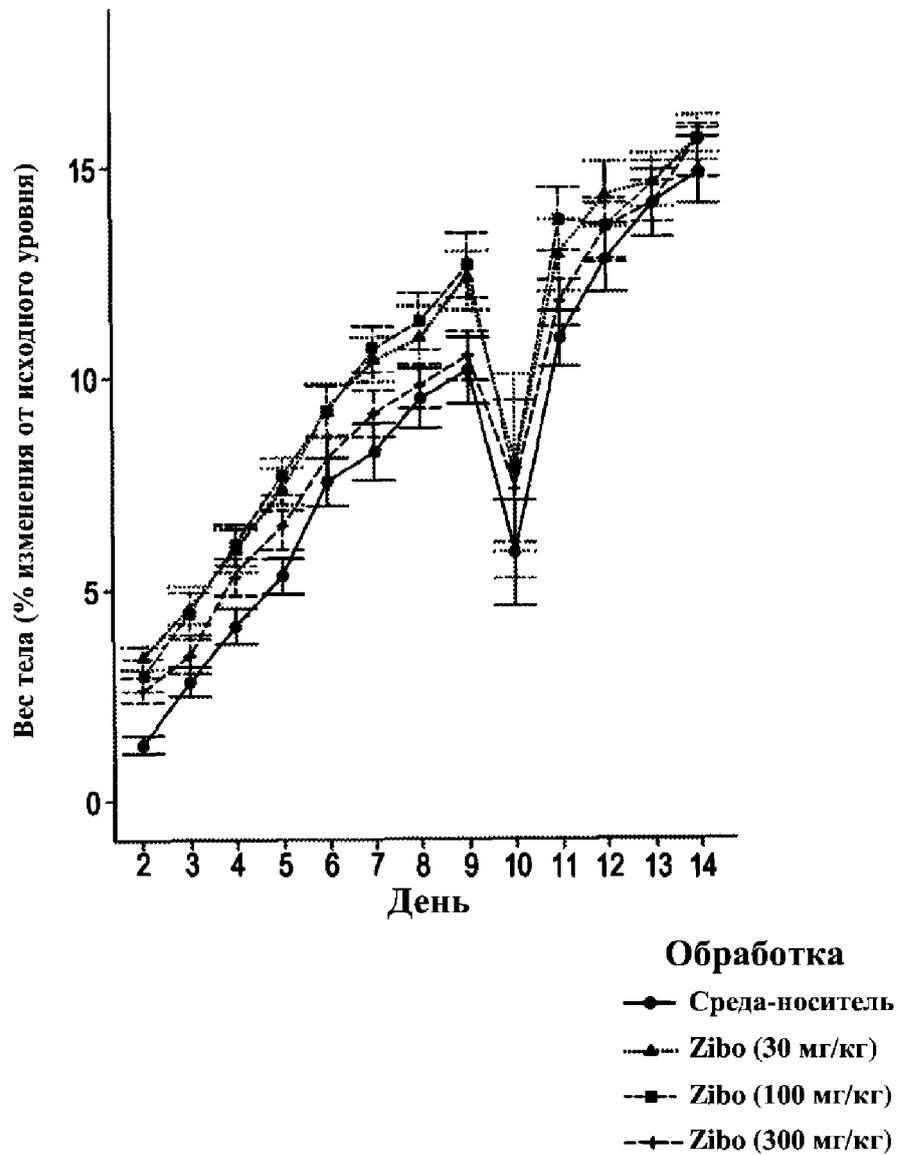
Фиг. 3



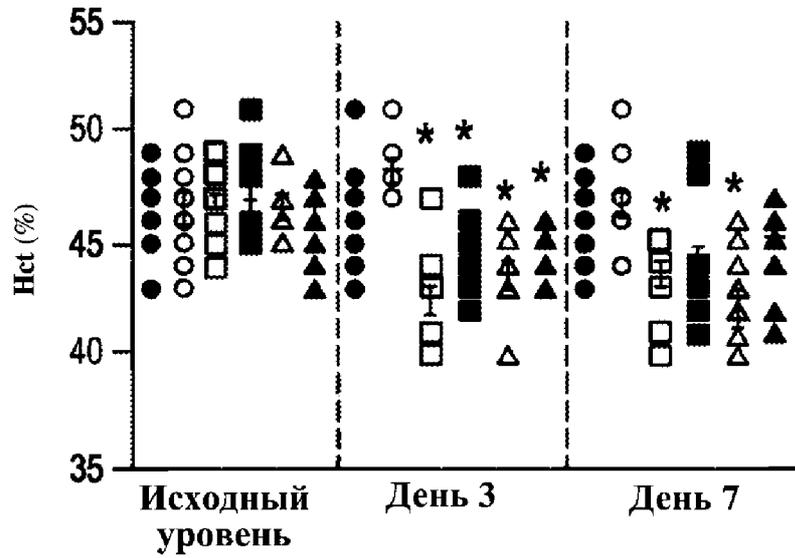
Фиг. 4



Фиг. 5

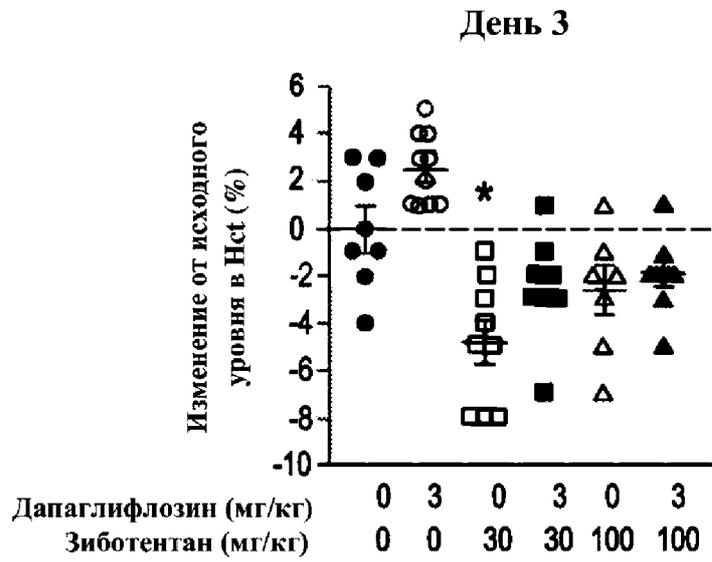


Фиг. 6А

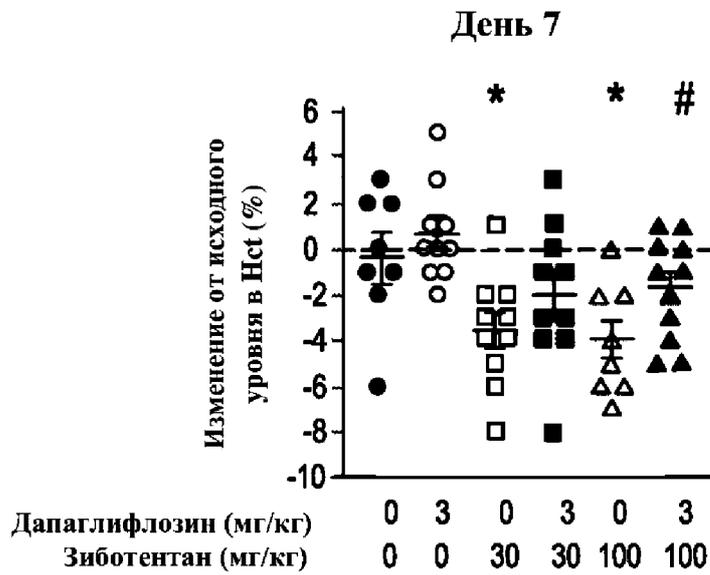


- Среда-носитель
- Дара (3 мг/кг)
- Zibo (30 мг/кг)
- Zibo (30 мг/кг)+Дара (3 мг/кг)
- △ Zibo (100 мг/кг)
- ▲ Zibo (100 мг/кг)+Дара (3 мг/кг)

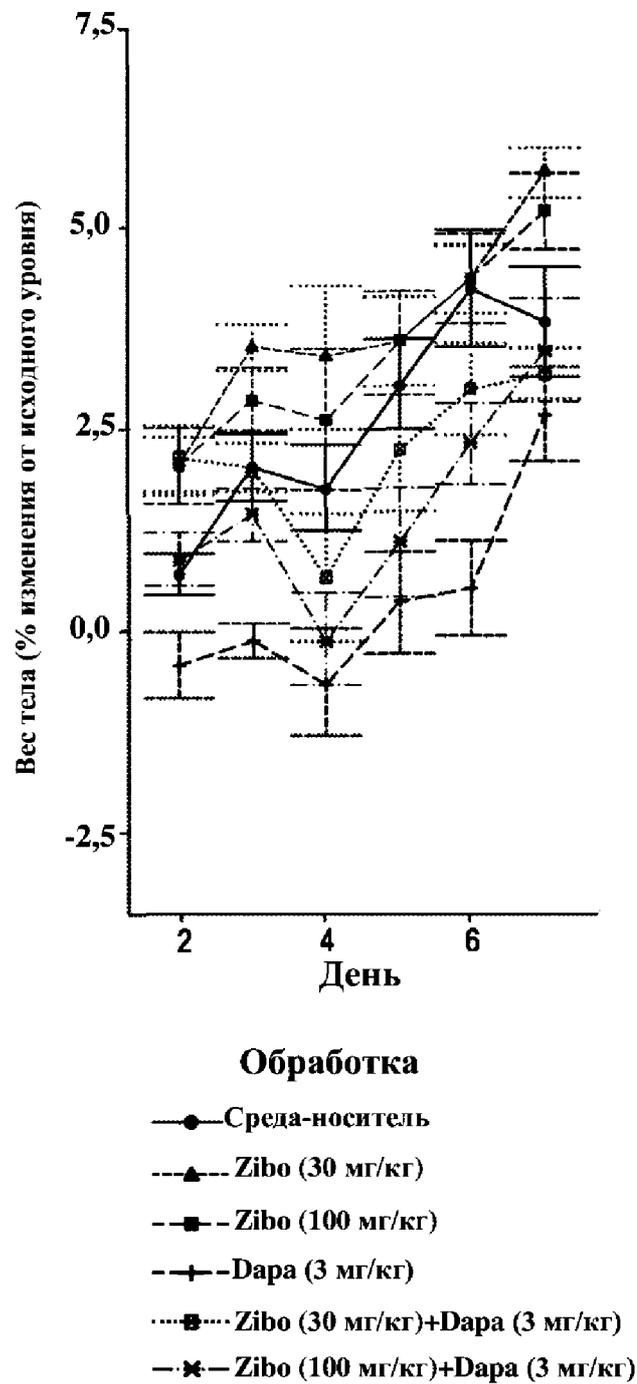
Фиг. 6В



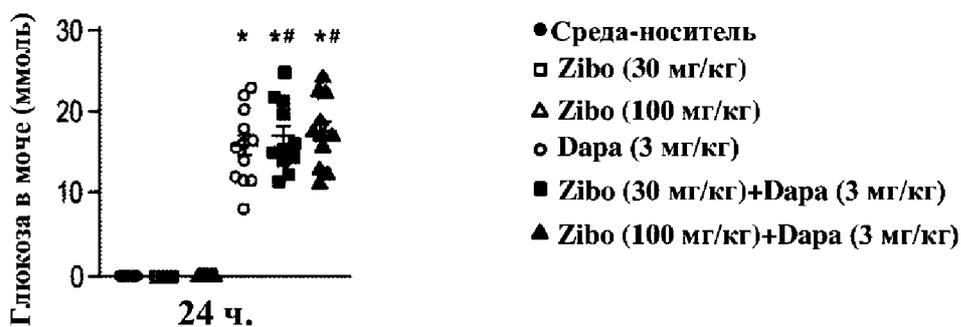
Фиг. 6С



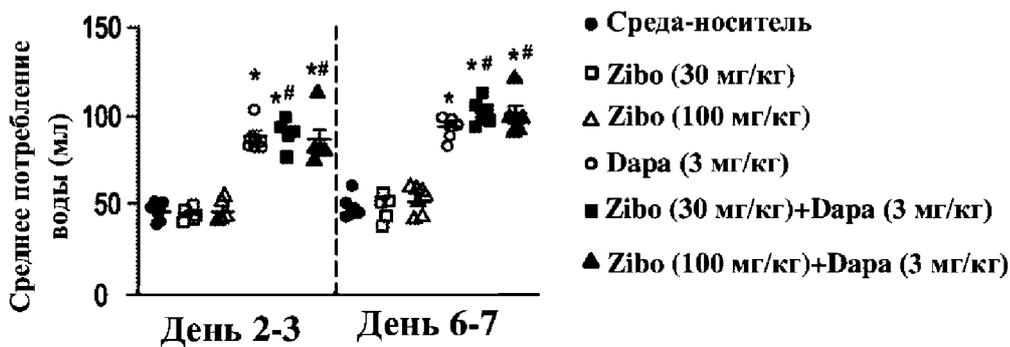
Фиг. 7



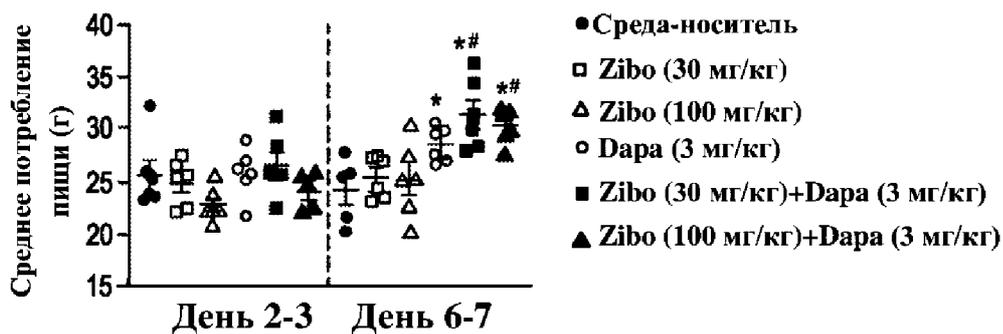
Фиг. 8А



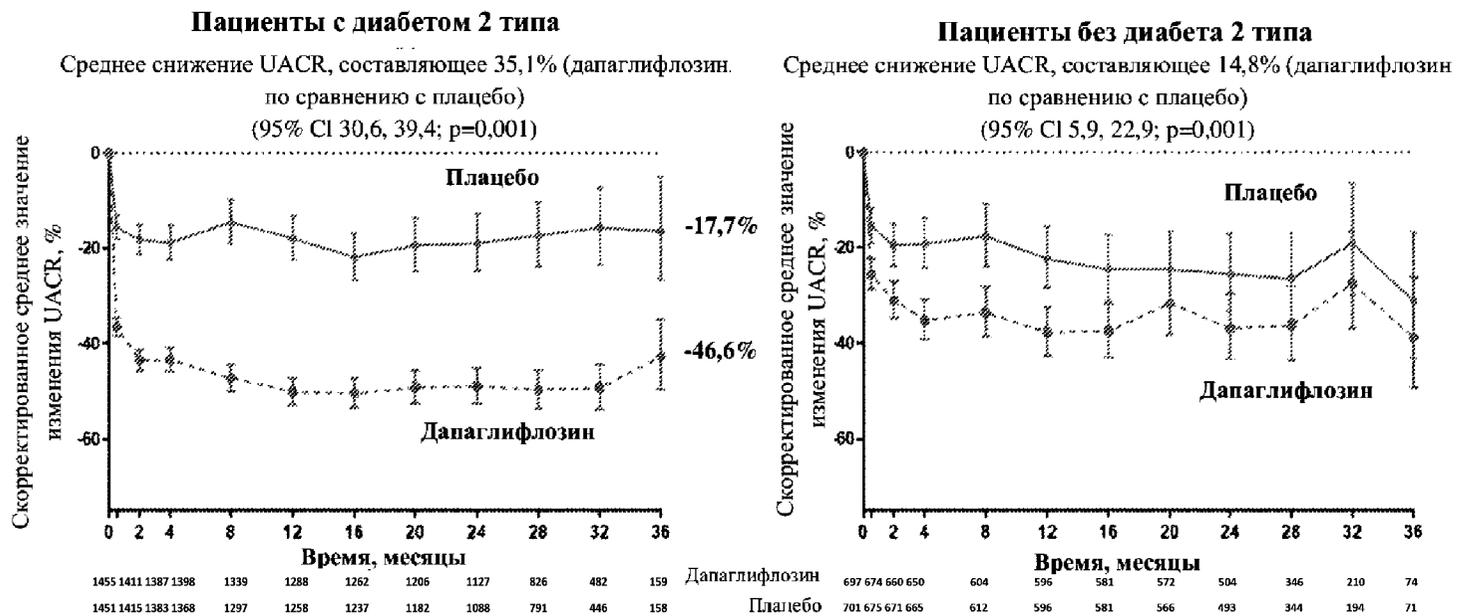
Фиг. 8В



Фиг. 8С



**Фиг. 9**



**Фиг. 10**

