



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201733582 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：106110180

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 03 月 27 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/454 (2006.01)*

A61K31/575 (2006.01)

A61P1/16 (2006.01)

(30)優先權：2016/03/28 日本

特願 2016-064475

(71)申請人：大日本住友製藥股份有限公司 (日本) SUMITOMO DAINIPPON PHARMA CO., LTD.

(JP)

日本

(72)發明人：浪崎正 NAMISAKI, TADASHI (JP)；吉治仁志 YOSHIJI, HITOSHI (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：49 項 圖式數：16 共 64 頁

(54)名稱

FXR 促效劑及 ARB 之組合醫藥

PHARMACEUTICAL COMBINATION COMPRISING FXR AGONIST AND ARB

(57)摘要

本發明提供一種包含 FXR 促效劑、較佳為奧貝膽酸或其藥學上所容許之鹽及 ARB 或其藥學上所容許之鹽的 NASH 之治療劑。

The present invention provides a medicament for treating NASH, comprising a FXR agonist, preferably obeticholic acid, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and an ARB or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

【發明說明書】

【中文發明名稱】

FXR促效劑及ARB之組合醫藥

【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMBINATION COMPRISING FXR AGONIST AND
ARB

【技術領域】

本發明係關於一種非酒精性脂肪肝炎(Nonalcoholic steatohepatitis：以下，於本說明書中有時記載為「NASH」)之治療劑、尤其是對NASH中之肝纖維化有效之治療劑。更詳細而言，係關於一種包含法尼酯衍生物X受體(Farnesoid X receptor：以下，於本說明書中有時記載為「FXR」)促效劑(尤其奧貝膽酸)或其藥學上所容許之鹽、及血管收縮素II受體拮抗劑(Angiotensin Receptor Blocker：以下，於本說明書中有時記載為「ARB」)或其藥學上所容許之鹽作為有效成分之NASH治療劑。

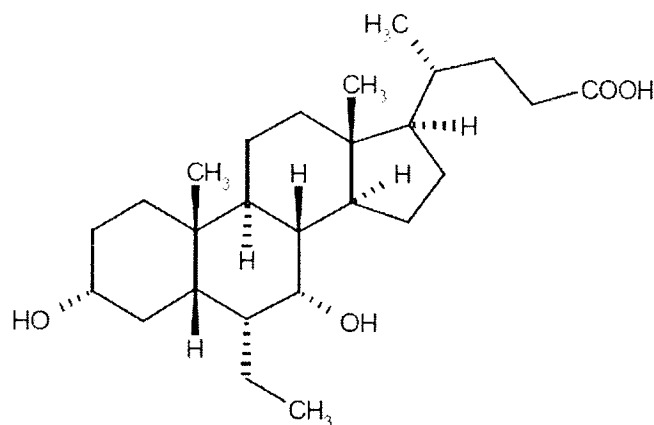
【先前技術】

NASH為高發之慢性肝病，特徵在於肥胖、II型糖尿病(T2DM)等代謝性疾病。近年來，隨著新陳代謝症候群之增加，對於源自新陳代謝症候群之各疾病之預防及治療的關心正在提高。其中，尤以NASH為關心較高之疾病之一。

NASH係由脂肪堆積於肝臟所引起之肝炎，因初期之脂肪肝所對應之氧化壓力、胰島素抗性、炎症性細胞激素等因素，而由自脂肪肝之轉變或病態之惡化導致。進而，若NASH之發病及繼發之肝組織之纖維化(肝纖維化)進行，則非常擔心會轉變為致命之肝硬化或肝癌。

目前，已知有下述化學式所表示之奧貝膽酸(Obeticholic acid)具有以單劑阻礙包括NASH之各種肝病之纖維化的效果，而期待其用於NASH及PBC等之治療(專利文獻1～3)。奧貝膽酸係作為3 α ,7 α -二羥基-6 α -乙基-5 β -膽烷-24-酸、6 α -乙基-3 α ,7 α -二羥基-5 β -膽烷-24-酸、6 α -乙基-鵝去氧膽酸、6-乙基-CDCA、6ECDCA、膽烷-24-酸、6-乙基-3,7-二羥基-(3 α ,5 β ,6 α ,7 α)-、OCA、DSP-1747、及INT-747而為人所知。

[化1]



奧貝膽酸(Obeticholic acid)

(INT-747; DSP-1747)

ARB係與升壓物質血管收縮素II拮抗，且藉由阻礙該升壓物質結合於血管收縮素II受體而顯示出降血壓作用的藥物，氯沙坦(Losartan)、坎地沙坦(Candesartan)、替米沙坦(Telmisartan)、巹沙坦(Valsartan)、奧美沙坦(Olmesartan)、厄貝沙坦(Irbesartan)、阿齊沙坦(Azilsartan)等以降血壓劑之形式而於臨床中使用。ARB不單單有降血壓作用，亦有抗炎作用、內皮功能改善作用、心血管重構抑制作用、氧化壓力抑制作用、生長因子抑制作用、胰島素抗性改善作用等各種作用，因此對心血管疾病、腎

病、動脈硬化等亦有用，該情況於臨床或者非臨床試驗中有大量報告(非專利文獻1～2)。

又，關於ARB，報告其能夠減少肝纖維化、及血管收縮素II受體與肝纖維化相關，而期待ARB抑制肝病中之肝纖維化(非專利文獻3～5)。

如此，儘管已知有若干可期待抑制肝病中之肝纖維化的藥劑，但對肝病中之肝纖維化之有效之預防及治療劑仍幾乎未見，而迫切期望其之開發。

迄今為止，本發明者等人報告出藉由熊去氧膽酸與ARB之組合而抑制肝纖維化進展(非專利文獻6)，但至今尚未報告將FXR促效劑(尤其奧貝膽酸)與ARB之組合用於肝病(尤其NASH)中之肝纖維化的例。熊去氧膽酸不具有FXR促效劑作用(非專利文獻7)。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

[專利文獻1]日本專利第4021327號

[專利文獻2]日本專利第5094384號

[專利文獻3]日本專利特表第2015-52162號公報

[非專利文獻]

[非專利文獻1]AMER. J. Hypertension, 18, 720-730 (2005)

[非專利文獻2]Current Hypertension Report, 10, 261-267 (2008)

[非專利文獻3]BMC Res Notes; 2 : 70 (2009)

[非專利文獻4]Hepatology, 34, 745-750 (2001)

[非專利文獻5]Hepatol Res, 27, 51-56 (2003)

[非專利文獻6]Journal of Gastroenterology, DOI : 10.1007/s00535-

015-1104-x, pp1-11, First online : 21 July 2015

[非專利文獻7]Journal of Lipid Research, 45, 132-138 (2004)

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

本發明之目的在於提供一種以**FXR**促效劑或其藥學上所容許之鹽、及**ARB**或其藥學上所容許之鹽作為有效成分的**NASH**之預防及/或治療劑，尤其對**NASH**中之肝纖維化之預防、抑制及/或改善有用之治療劑。

[解決問題之技術手段]

本發明者等人為了解決上述課題，尤其出於**NASH**係各種因素複雜地相互作用而形成病態之想法，嘗試藉由將具有不同機制之複數種藥劑組合而尋求有效之治療並進行各種研究，經過銳意研究，結果發現，於將**FXR**促效劑或其藥學上所容許之鹽、尤其奧貝膽酸或其藥學上所容許之鹽與**ARB**或其藥學上所容許之鹽組合而進行投予之情形時，於大鼠之非酒精性脂肪肝炎(**NASH**)模型中顯著地抑制肝纖維化，以至完成本發明。尤其，本發明者等人發現，藉由將該等藥劑組合，與先前之奧貝膽酸或**ARB**之單獨投予相比，治療效果可協同且顯著地增強。

即，本發明提供以下態樣之發明。

[1]一種組合醫藥，其含有法尼酯衍生物**X**受體促效劑(**FXR**促效劑)或其藥學上所容許之鹽、及血管收縮素**II**受體拮抗劑(**ARB**)或其藥學上所容許之鹽作為有效成分。

[2]如[1]記載之醫藥，其中**FXR**促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、**INT-767**、**LY-2562175**、**Px-104**或**LJN-452**。

[3]如[1]或[2]記載之醫藥，其中**FXR**促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽

酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

[4]如[1]至[3]中任一項記載之醫藥，其中FXR促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

[5]如[1]至[4]中任一項記載之醫藥，其中FXR促效劑為奧貝膽酸。

[6]如[1]至[4]中任一項記載之醫藥，其中FXR促效劑為INT-767。

[7]如[1]至[6]中任一項記載之醫藥，其中ARB為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、巰沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

[8]如[1]至[7]中任一項記載之醫藥，其中ARB為氯沙坦。

[9]如[1]至[7]中任一項記載之醫藥，其中ARB為坎地沙坦。

[10]如[1]至[7]中任一項記載之醫藥，其中ARB為替米沙坦。

[11]如[1]至[7]中任一項記載之醫藥，其中ARB為巰沙坦。

[12]如[1]至[7]中任一項記載之醫藥，其中ARB為奧美沙坦。

[13]如[1]至[7]中任一項記載之醫藥，其中ARB為厄貝沙坦。

[14]如[1]至[7]中任一項記載之醫藥，其中ARB為阿齊沙坦。

[15]一種非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療劑，其包含如[1]至[14]中任一項記載之組合醫藥。

[16]如[15]記載之治療劑，其特徵在於：將法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽與血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽併用。

[17]如[16]記載之治療劑，其特徵在於：將FXR促效劑或其藥學上所容許之鹽與ARB或其藥學上所容許之鹽同時投予或改變時間分別投予。

[18]一種非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療劑，其包含法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽，其特徵在於：與血管

收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽併用。

[19]一種非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療劑，其包含血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽，其特徵在於：與法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽併用。

[20]如[18]或[19]記載之治療劑，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452。

[21]如[18]至[20]中任一項記載之治療劑，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

[22]如[18]至[21]中任一項記載之治療劑，其中FXR促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

[23]如[18]至[22]中任一項記載之治療劑，其中FXR促效劑為奧貝膽酸。

[24]如[18]至[22]中任一項記載之治療劑，其中FXR促效劑為INT-767。

[25]如[18]至[24]中任一項記載之治療劑，其中ARB為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、缬沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

[26]如[18]至[25]中任一項記載之治療劑，其中ARB為氯沙坦。

[27]如[18]至[25]中任一項記載之治療劑，其中ARB為坎地沙坦。

[28]如[18]至[25]中任一項記載之治療劑，其中ARB為替米沙坦。

[29]如[18]至[25]中任一項記載之治療劑，其中ARB為缬沙坦。

[30]如[18]至[25]中任一項記載之治療劑，其中ARB為奧美沙坦。

[31]如[18]至[25]中任一項記載之治療劑，其中ARB為厄貝沙坦。

[32]如[18]至[25]中任一項記載之治療劑，其中ARB為阿齊沙坦。

[33]如[15]至[32]中任一項記載之治療劑，其中上述NASH之治療為NASH中之肝纖維化之抑制。

[34]一種如[1]至[14]中任一項記載之組合醫藥之用途，其係用以製造非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療劑。

[35]一種如[1]至[14]中任一項記載之組合醫藥之用途，其係用以製造NASH中之肝纖維化抑制劑。

[36]一種非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療方法，其特徵在於：將治療上有效量之法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽與血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽組合而對患者進行投予。

[37]如[36]記載之治療方法，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452。

[38]如[36]或[37]記載之治療方法，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

[39]如[36]至[38]中任一項記載之治療方法，其中FXR促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

[40]如[36]至[39]中任一項記載之治療方法，其中FXR促效劑為奧貝膽酸。

[41]如[36]至[39]中任一項記載之治療方法，其中FXR促效劑為INT-767。

[42]如[36]至[41]中任一項記載之治療方法，其中ARB為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、巰沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

[43]如[36]至[42]中任一項記載之治療方法，其中ARB為氯沙坦。

[44]如[36]至[42]中任一項記載之治療方法，其中ARB為坎地沙坦。

[45]如[36]至[42]中任一項記載之治療方法，其中ARB為替米沙坦。

[46]如[36]至[42]中任一項記載之治療方法，其中ARB為巰沙坦。

[47]如[36]至[42]中任一項記載之治療方法，其中ARB為奧美沙坦。

[48]如[36]至[42]中任一項記載之治療方法，其中ARB為厄貝沙坦。

[49]如[36]至[42]中任一項記載之治療方法，其中ARB為阿齊沙坦。

[50]如[36]至[49]中任一項記載之治療方法，其中上述NASH之治療為NASH中之肝纖維化之抑制。

[51]一種法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽與血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽之組合，其係用於非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療。

[52]如[51]記載之組合，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452。

[53]如[51]或[52]記載之組合，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

[54]如[51]至[53]中任一項記載之組合，其中FXR促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

[55]如[51]至[54]中任一項記載之組合，其中FXR促效劑為奧貝膽酸。

[56]如[51]至[54]中任一項記載之組合，其中FXR促效劑為INT-767。

[57]如[51]至[56]中任一項記載之組合，其中ARB為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、巰沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

[58]如[51]至[57]中任一項記載之組合，其中ARB為氯沙坦。

[59]如[51]至[57]中任一項記載之組合，其中ARB為坎地沙坦。

[60]如[51]至[57]中任一項記載之組合，其中ARB為替米沙坦。

[61]如[51]至[57]中任一項記載之組合，其中ARB為巰沙坦。

[62]如[51]至[57]中任一項記載之組合，其中ARB為奧美沙坦。

[63]如[51]至[57]中任一項記載之組合，其中ARB為厄貝沙坦。

[64]如[51]至[57]中任一項記載之組合，其中ARB為阿齊沙坦。

[65]如[51]至[64]中任一項記載之組合，其中上述NASH之治療為NASH中之肝纖維化之抑制。

[66]一種套組，其係用於治療非酒精性脂肪肝炎(NASH)者，且其包括：

1)包含法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽的醫藥；

2)包含血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽的醫藥；及

3)用以將上述1)及2)組合而投予之使用說明書。

[67]如[66]記載之套組，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452。

[68]如[66]或[67]記載之套組，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

[69]如[66]至[68]中任一項記載之套組，其中FXR促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

[70]如[66]至[69]中任一項記載之套組，其中FXR促效劑為奧貝膽

酸。

[71]如[66]至[69]中任一項記載之套組，其中FXR促效劑為INT-767。

[72]如[66]至[71]中任一項記載之套組，其中ARB為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、巰沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

[73]如[66]至[72]中任一項記載之套組，其中ARB為氯沙坦。

[74]如[66]至[72]中任一項記載之套組，其中ARB為坎地沙坦。

[75]如[66]至[72]中任一項記載之套組，其中ARB為替米沙坦。

[76]如[66]至[72]中任一項記載之套組，其中ARB為巰沙坦。

[77]如[66]至[72]中任一項記載之套組，其中ARB為奧美沙坦。

[78]如[66]至[72]中任一項記載之套組，其中ARB為厄貝沙坦。

[79]如[66]至[72]中任一項記載之套組，其中ARB為阿齊沙坦。

[80]如[66]至[79]中任一項記載之套組，其中上述NASH之治療為NASH中之肝纖維化之抑制。

[81]一種肝病中之肝纖維化抑制劑，其包含如[1]至[14]中任一項記載之組合醫藥。

[82]如[81]記載之肝纖維化抑制劑，其中肝病選自B型肝炎；C型肝炎；寄生蟲性肝病；移植後之細菌感染、移植後之病毒感染、或者移植後之真菌感染；酒精性肝病(ALD)；非酒精性脂肪肝病(NAFLD)；由甲胺喋呤誘發之肝病、由異煙肼誘發之肝病、由酚汀(oxyphenisatine)誘發之肝病、由甲基多巴誘發之肝病、由氯丙吡誘發之肝病、由甲苯磺丁脲誘發之肝病、或者由胺碘酮誘發之肝病；自體免疫肝炎；類肉瘤病；威爾遜氏(Wilson)病；血色素沈積病；高雪氏病；III型肝醣蓄積病、IV型肝醣蓄積

病、VI型肝醣蓄積病、IX型肝醣蓄積病、或者X型肝醣蓄積病； α 1抗胰蛋白酶缺損症；齊威格氏症候群；酪胺酸血症；果糖血症；半乳糖血症；布加氏症候群(Budd-Chiari Syndrome)相關之脈管損傷、靜脈阻塞相關之脈管損傷、或者門靜脈血栓症相關之脈管損傷；或先天性肝纖維化症。

[83]如[81]或[82]記載之肝纖維化抑制劑，其中肝病為ALD或NAFLD中之任一者。

[84]如[81]至[83]中任一項記載之肝纖維化抑制劑，其中肝病為NAFLD。

[發明之效果]

根據本發明，藉由將FXR促效劑或其藥學上所容許之鹽、尤其奧貝膽酸或其藥學上所容許之鹽、與ARB或其藥學上所容許之鹽併用或製成合劑進行投予，而與該等單獨投予相比治療效果飛躍性增加，可期待發揮對於NASH之治療及/或預防效果、尤其NASH中之肝纖維化之預防、抑制及/或改善效果。又，根據本發明，上述2種藥劑(活性成分)之併用或以合劑之形式投予時治療效果增強，藉此與各藥劑之單獨投予相比，可減少投予量，而可期待降低各藥劑所具有之副作用。

又，根據本發明，除了NASH，亦可期待對於B型肝炎；C型肝炎；寄生蟲性肝病；移植後之細菌感染、移植後之病毒感染、及移植後之真菌感染；酒精性肝病(ALD)；非酒精性脂肪肝病(NAFLD)；由甲胺喋呤誘發之肝病、由異煙肼誘發之肝病、酚汀誘發之肝病、由甲基多巴誘發之肝病、由氯丙吡誘發之肝病、由甲苯磺丁脲誘發之肝病、或由胺碘酮誘發之肝病；自體免疫肝炎；類肉瘤病；威爾遜氏病；血色素沈積病；高雪氏病；III型肝醣蓄積病、IV型肝醣蓄積病、VI型肝醣蓄積病、IX型肝醣蓄

積病、及X型肝醣蓄積病； $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺損症；齊威格氏症候群；酪胺酸血症；果糖血症；半乳糖血症；布加氏症候群相關之脈管損傷、靜脈阻塞相關之脈管損傷、及門靜脈血栓症相關之脈管損傷；及先天性肝纖維化症等全部肝病中之肝纖維化發揮治療效果。

【圖式簡單說明】

圖1係實施例1中之各群(G1~G5)之天狼星紅染色肝切片之顯微鏡照片之典型例。

圖2係關於實施例1中之各群之纖維化進展之組織學特徵的半定量解析之結果。再者，圖中，長條圖表示各群之纖維化區域之平均面積指數。星號(*)表示於所指示之各群間之於統計學上顯著差異($p < 0.01$ ；學生t檢定)。

圖3係實施例2中之各群(G1~G5)之 α -平滑肌肌動蛋白(α -smooth muscle actin： α -SMA)免疫組織染色肝切片之顯微鏡照片之典型例。

圖4係關於實施例2中之各群之免疫組織學化學特徵的半定量解析之結果。再者，圖中，長條圖表示各群之 α -SMA染色區域之平均面積指數。星號(*)表示於所指示之各群間之於統計學上顯著差異($p < 0.01$ ；學生t檢定)。

圖5係實施例2中之各群之TGF- $\beta 1$ 及 $\alpha 1(I)$ -原膠原之mRNA表現利用RT-PCR獲得之定量結果。再者，圖中，長條圖表示mRNA表現量。星號(*；**)表示於所指示之各群間之於統計學上顯著差異(*： $p < 0.05$ ；**： $p < 0.01$)。

圖6係於使用氯沙坦作為ARB之情形時實施例3中之各群(G1、G2L、G2A、G2AL、G3、G4、G5)之人肝星細胞之增殖能力抑制效果之研究結

果。

圖7係於使用巰沙坦作為ARB之情形時實施例3中之各群(G1、G2AL、G3、G4、G5)之人肝星細胞之增殖能力抑制效果之研究結果。

圖8係於使用坎地沙坦作為ARB之情形時實施例3中之各群(G1、G2AL、G3、G4、G5)之人肝星細胞之增殖能力抑制效果之研究結果。

圖9係於使用氯沙坦作為ARB之情形時實施例3中之各群(G1、G2L、G2A、G2AL、G3、G4、G5)之纖維化標記基因TGF- β 1之表現抑制效果之研究結果。

圖10係於使用巰沙坦作為ARB之情形時實施例3中之各群(G1、G2AL、G3、G4、G5)之纖維化標記基因TGF- β 1之表現抑制效果之研究結果。

圖11係於使用坎地沙坦作為ARB之情形時實施例3中之各群(G1、G2AL、G3、G4、G5)之纖維化標記基因TGF- β 1之表現抑制效果之研究結果。

圖12係於使用氯沙坦作為ARB之情形時實施例3中之各群(G1、G2L、G2A、G2AL、G3、G4、G5)之纖維化標記基因 α 1(I)-原膠原之表現抑制效果之研究結果。

圖13係於使用巰沙坦作為ARB之情形時實施例3中之各群(G1、G2AL、G3、G4、G5)之纖維化標記基因 α 1(I)-原膠原之表現抑制效果之研究結果。

圖14係於使用坎地沙坦作為ARB之情形時實施例3中之各群(G1、G2AL、G3、G4、G5)之纖維化標記基因 α 1(I)-原膠原之表現抑制效果之研究結果。

圖15係實施例7中之各藥物投予群(G3、G4、G5)之肝細胞腫大改善效果之研究結果。再者，圖中，長條圖表示肝細胞腫大改善率。

圖16係實施例8中之各藥物投予群(G3、G4、G5)之ALT活性改善效果之研究結果。再者，圖中，長條圖表示ALT活性之變化值。

【實施方式】

於本發明中，所謂「法尼酯衍生物X受體促效劑」或「FXR促效劑」，係對於法尼酯衍生物X受體(FXR)具有特異性之配體，係指具有藉由結合於FXR而(與不存在任何配體之狀態下測定之基準線等級不同)特異性地刺激配體依賴性FXR轉錄活性之作用的化合物(該化合物包含天然化合物、源自天然化合物之半合成化合物及合成化合物)。該作用亦簡稱為FXR刺激作用或FXR活化作用。又，「FXR促效劑」亦使用「FXR激動劑」、「FXR刺激劑」、「FXR活化配體」、「FXR特異性配體」、或僅使用「FXR配體」作為同義語。

已知，FXR(法尼酯衍生物X受體)係以膽汁酸作為配體之核內受體，參與膽汁酸代謝、膽固醇代謝及脂質代謝等，業界期待FXR促效劑對於肝病或代謝性疾病或者器官之纖維化等表現出效果。

作為天然膽汁酸之鵝去氧膽酸於天然FXR配體中以活性最高之分子之形式被單離，此後，於半合成化合物之烷基化膽汁酸中，作為FXR刺激作用最強之分子而發現奧貝膽酸。

作為FXR促效劑之例，並無特別限定，可列舉下表所示之奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104、LJN-452等。本發明中之FXR促效劑較佳為奧貝膽酸或INT-767，更佳為奧貝膽酸。

本發明中之FXR促效劑亦可包含2種以上之FXR促效劑。

[表1]

藥物名	結構式	[CAS編號]及/或文獻
奧貝膽酸 (INT-747或DSP-1747)		[459789-99-2] WO2002/072598
鵝去氧膽酸		[474-25-9]
INT-767		WO2008/002573
LY-2562175		WO2009/012125
Px-104		[1268244-88-7] WO2011/020615

FXR促效劑、尤其上述之化合物均為公知之化合物，可藉由公知之方法進行製造。例如，奧貝膽酸可藉由日本專利特表第2015-52162號公報中記載之方法進行製造。

作為本發明中之「血管收縮素II受體拮抗劑」或「ARB」之例，並無特別限定，可列舉下表所示之氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、巰沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦、阿齊沙坦等。本發明中之ARB較佳為氯沙坦、巰沙坦或厄貝沙坦，更佳為氯沙坦或厄貝沙坦，進而較佳為氯沙坦。

於另一態樣中，較佳為坎地沙坦、替米沙坦、奧美沙坦或阿齊沙坦，更佳為替米沙坦、奧美沙坦或阿齊沙坦，進而較佳為替米沙坦或奧美沙坦，最佳為奧美沙坦。

又，於另一態樣中，亦可更佳為坎地沙坦、替米沙坦或阿齊沙坦，進而較佳為替米沙坦或阿齊沙坦，最佳為替米沙坦。或者於另一態樣中，亦可更佳為坎地沙坦、奧美沙坦或阿齊沙坦，進而較佳為奧美沙坦或阿齊沙坦，最佳為阿齊沙坦。進而於另一態樣中，亦可更佳為坎地沙坦、替米沙坦或奧美沙坦，進而較佳為坎地沙坦或奧美沙坦，最佳為坎地沙坦。或者於另一態樣中，亦可更佳為氯沙坦、巰沙坦或坎地沙坦。

本發明中之ARB亦可包含2種以上之ARB。

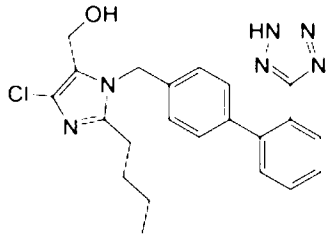
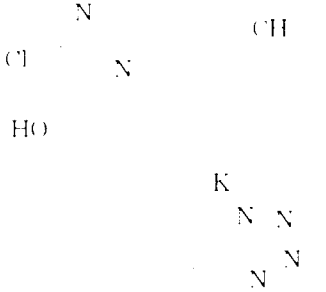
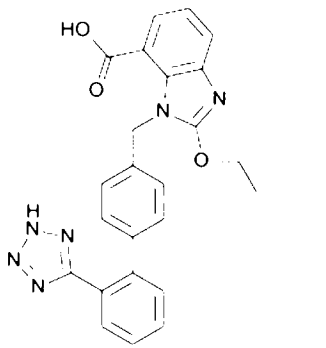
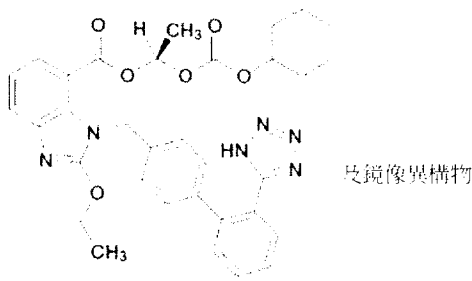
本發明中之「氯沙坦」之用語係指下表中結構式所表示之氯沙坦及被用作市售藥之氯沙坦之鉀鹽(氯沙坦鉀)兩者。較佳為氯沙坦鉀。

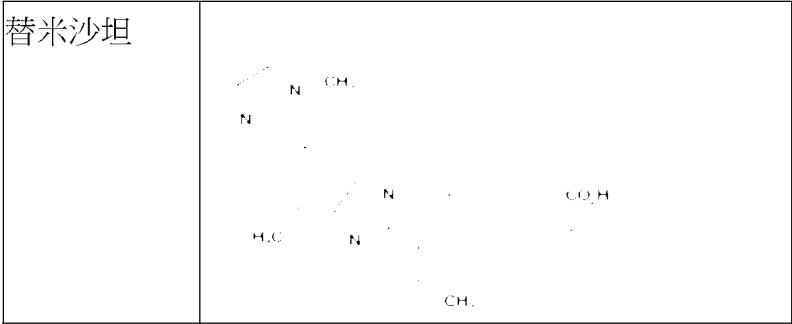
本發明中之「坎地沙坦」之用語係指下表中結構式所表示之坎地沙坦及被用作市售藥之坎地沙坦酯(Candesartan Cilexetil)兩者。較佳為坎地沙坦酯。

本發明中之「奧美沙坦」之用語係指下表中結構式所表示之奧美沙

坦及被用作市售藥之奧美沙坦酯(Olmesartan medoxomil)兩者。較佳為奧美沙坦酯。

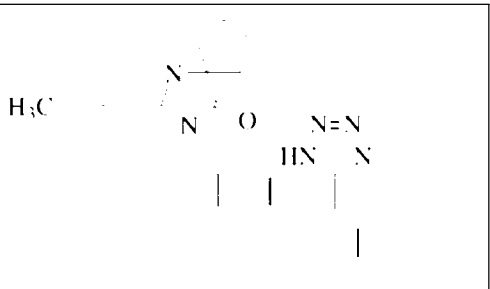
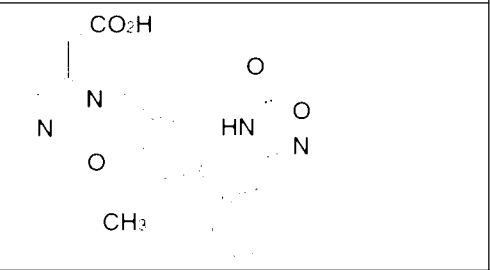
[表2-1]

藥物名	結構式
氯沙坦	
氯沙坦鉀	
坎地沙坦	
坎地沙坦酯	



[表2-2]

顯沙坦	The chemical structure of Lisinopril is shown. It features a central proline ring substituted with a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group and a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group. The proline ring is also substituted with a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group and a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group.
奧美沙坦	The chemical structure of Omeprazole is shown. It features a central pyrazole ring substituted with a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group and a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group. The pyrazole ring is also substituted with a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group and a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group.
奧美沙坦酯	The chemical structure of Omeprazole Ester is shown. It features a central pyrazole ring substituted with a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group and a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group. The pyrazole ring is also substituted with a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group and a 2-methyl-2-(1,3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzodiazepin-3-yl)ethyl group.

厄貝沙坦	
阿齊沙坦	

ARB或其藥學上所容許之鹽可藉由公知之方法進行製造。又，亦可使用市售之ARB。

本發明中之FXR促效劑及ARB亦可以藥學上所容許之鹽之形態使用。所謂「藥學上所容許之鹽」，只要為藥學上所容許、且形成不對FXR促效劑或ARB自身之活性造成影響之鹽者，則可為任何鹽，例如可列舉與無機酸之鹽、與有機酸之鹽、與無機鹽之鹽、與有機鹽之鹽等。

於該等藥劑為鹼性化合物之情形時，作為該鹽，可列舉與無機酸(例如，鹽酸、氫溴酸、氫碘酸、硫酸、硝酸、磷酸等)或有機酸(例如，甲酸、乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、反丁烯二酸、順丁烯二酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、甲磺酸、乙磺酸、對甲苯磺酸、天冬胺酸、麩胺酸等)之酸加成鹽。

於該等藥劑為酸性化合物之情形時，作為該鹽，可列舉與無機鹽(例如，鈉鹽、鉀鹽、鋰鹽、銨鹽、鈣鹽、鎂鹽等)或有機鹽(例如，吡啶鎘鹽、甲基吡啶鎘鹽、三乙基銨鹽等)之鹼加成鹽。

本發明中之「藥學上所容許之鹽」中，包括水合物及溶劑合物。作

為形成該等之溶劑，可列舉水、生理學上容許之有機溶劑、例如乙醇、丙酮等，但並不限定於該等。

又，於將複數種FXR促效劑及/或ARB組合之情形時，各種化合物之鹽或溶劑合物之種類可相同亦可不同。

本發明中之「藥學上容許」之用語，係指於妥當之醫學判斷之範圍內並無過量之毒性、刺激、過敏應答、以及其他問題及併發症，且於針對合理風險之效果比上取得平衡，適合與人及動物之組織接觸而使用之化合物、物質、組合物、載體及/或劑型之性質。

又，FXR促效劑及ARB之前驅藥或其藥學上所容許之鹽亦包含於本發明之範圍。本發明中之所謂「前驅藥」，係於到達體內或目標部位後轉化為具有藥理活性之化合物，且經化學修飾以發揮藥理效果的本發明之化合物之功能性衍生物。

本發明之前驅藥可列舉以下類型，但並不限定於該等。

- (1)本發明之化合物之羥基或胺基之磷酸酯前驅藥；
- (2)本發明之化合物之羧基、羥基或胺基之碳酸酯或胺基甲酸酯前驅藥；
- (3)本發明之化合物之羧酸或胺基之醯胺前驅藥；
- (4)本發明之化合物之羧酸或胺基之胺基酸結合前驅藥；及
- (5)本發明之化合物之酮、脘或胍之脰前驅藥。

本發明之前驅藥例如可利用Nature Reviews Drug Discovery 7; 255 - 270 (2008)、或Journal of Medicinal Chemistry 2005, 48 (16), 5305-5320中記載之方法進行製造。

又，本發明中之FXR促效劑亦可以胺基酸共軛物之形式使用。本說

明書中之「胺基酸共軛物」之用語係指化合物(例如，奧貝膽酸、鵝去氧膽酸等)與任意適合之胺基酸之共軛物。

於活體內，天然膽汁酸絕大部分以藉由生物合成而主要與甘胺酸或牛磺酸之類的胺基酸進行縮合反應結合而成之胺基酸共軛物(亦稱為共軛膽汁酸)的形式存在。例如，人體中，膽酸與甘胺酸及牛磺酸分別結合而形成甘胺膽酸(glycocholic acid)及牛磺膽酸(taurocholic acid)等共軛膽汁酸。

本發明之FXR促效劑、例如天然膽汁酸之鵝去氧膽酸及半合成烷基化膽汁酸之奧貝膽酸亦同樣地形成胺基酸共軛物。較佳為，上述化合物之胺基酸共軛物可具有於膽液或腸液中穩定性提高之追加優點。任意適當之胺基酸中較佳為包括甘胺酸及牛磺酸，但並不限定於該等。尤其，奧貝膽酸亦可以其胺基酸共軛物之形式使用，作為該胺基酸共軛物，包括甘胺酸及牛磺酸共軛物。

本發明中之所謂「非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療劑」係用以對診斷為NASH之患者及疑似NASH之患者進行治療及/或預防的劑。日本消化系統學會NASH/NAFLD診療指南等指出，作為包含NASH之上位概念疾病，有非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease：NAFLD)，NAFLD係組織診斷或圖像診斷中可見脂肪肝、且可排除酒精性肝損傷等其他肝病的病態。再者，所謂脂肪性肝病，係中性脂肪(TG)沈積於肝細胞而造成肝損傷之疾病之總稱。NAFLD絕大部分係以肥胖、糖尿病、脂質異常症、高血壓等為基礎而發病，因此被當作新陳代謝症候群之肝病變。NAFLD於組織學上以大脂滴性之肝脂肪變性為基礎而發病，該疾病被分類為非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver：NAFL)與NASH。

NAFL亦被稱為單純性脂肪肝，可認為病態幾乎無進展，且預後良好。NASH之特徵在於脂肪變性、炎症、肝細胞毒殺(氣球狀變性)，進而NASH之嚴重化伴有肝組織之纖維化(肝纖維化)之進行。業界認為NASH之預後由肝纖維化之進行度所決定，預後不良之病例有可能轉變為肝硬化或肝癌。

本發明中之「NASH之治療劑」能夠實現NAFLD之預防及/或治療、以及自NAFL進展為NASH之預防。

本說明書中之「肝纖維化抑制劑」係用以預防、抑制及/或改善肝纖維化的劑。本發明中之「纖維化」包含纖維化症之狀態、轉變為該狀態、及纖維化症發病、進展或惡化。所謂「纖維化症」，係指包括組織或器官中產生過量纖維性結締組織(例如，瘢痕組織)之狀態。此種瘢痕組織之產生有可能係對因疾病、外傷、化學毒性等引起之器官感染、炎症或損傷進行應答而發生。纖維化症可於各種組織及器官(肝臟、腎臟、腸、肺、心臟等)中發病。

本發明中之「肝纖維化」意味著肝臟中之肝組織之纖維化，包括肝纖維化症之狀態、轉變為該狀態、及肝纖維化症之發病、進展或惡化。

又，本發明中之肝纖維化及肝纖維化症並無特別限定，為B型肝炎；C型肝炎；寄生蟲性肝病；移植後之細菌感染、移植後之病毒感染、或者移植後之真菌感染；酒精性肝病(ALD)；包括非酒精性脂肪肝炎(NASH)之非酒精性脂肪肝病(NAFLD)；由甲胺喋呤誘發之肝病、由異煙肼誘發之肝病、由酚汀誘發之肝病、由甲基多巴誘發之肝病、由氯丙吡誘發之肝病、由甲苯磺丁脲誘發之肝病、或由胺碘酮誘發之肝病；自體免疫肝炎；類肉瘤病；威爾遜氏病；血色素沈積病；高雪氏病；III型肝醣蓄積病、

IV型肝醣蓄積病、VI型肝醣蓄積病、IX型肝醣蓄積病、或者X型肝醣蓄積病； $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺損症；齊威格氏症候群；酪胺酸血症；果糖血症；半乳糖血症；布加氏症候群相關之脈管損傷、靜脈阻塞相關之脈管損傷、或者門靜脈血栓症相關之脈管損傷；或先天性肝纖維化症等全部肝病相關者，本發明可期待對該等任一種病之肝纖維化之治療均有效果。

本發明可應用於較佳為酒精性肝病(ALD)或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)(包括非酒精性脂肪肝炎(NASH))相關之肝纖維化、更佳為NAFLD(包括NASH)相關之肝纖維化、尤佳為NASH相關之肝纖維化。

又，本發明對於由如肥胖或II型糖尿病(T2DM)之代謝性疾病引起之NASH之患者可顯示出優異之治療效果。本發明可尤佳地使用於由代謝性疾病引起之NASH之治療。又，亦可較佳地使用於伴有高血壓之NASH之治療。

所謂「治療」，包括疾病及其症狀之所有治療(例如改善、減輕、進行之抑制等)。又，亦可包括阻止疾病之發病及/或進行。又，所謂「治療」或「進行治療」，包括帶來任意疾病狀態改善之任意效果(例如減少、降低、抑制進行、緩和、阻礙、調節、或排除等)。例如，作為對疾病狀態「進行治療」或疾病狀態之「治療」，可列舉：阻礙疾病狀態，即，阻止疾病狀態或其臨床症狀之進展、或者減輕疾病狀態，即，將疾病狀態或其臨床症狀暫時或永久地、另外部分或完全地去除等。

本發明中之所謂「治療」，係指患者、例如哺乳動物、尤其人類之NASH之治療及/或預防、以及肝纖維化之預防、抑制及/或改善。例如，NASH之治療亦包括NASH產生之預防、NASH進展之抑制、NASH之治療、NASH治療後之再發之抑制等。又，亦包括NAFLD之預防及/或治

療、及自NAFL進展為NASH之預防。

所謂「患者」，係指人類及其他動物，例如犬、貓、馬等。較佳為哺乳動物，其中，較佳為人類。

所謂「治療上有效量」，係指於組織、系統、動物或人類中誘發研究者或醫生所要求之生物學或醫藥應答的藥物或醫藥之量。又，所謂「治療上有效量」，包含如下含義：於對哺乳動物進行投予以治療疾病之情形時，為充分用於該疾病之上述治療之藥物(FXR促效劑、ARB等)的量。

「治療上有效量」應依據藥物、疾病及其嚴重度、以及應治療之哺乳動物之年齡、體重等進行變化。

進而，所謂「有效量」，包含於以適當之用量進行投予時產生急性或慢性之治療效果之藥物(FXR促效劑、ARB等)之量的含義。作為該治療效果，可列舉疾病/狀態(例如，肝纖維化症)及相關之併發症之症狀、徵兆及基礎方面之病理上達到可檢測之程度之預防、矯正、阻礙、或逆轉。

作為該有效量，可列舉本發明之FXR促效劑或ARB單獨之量、本發明之FXR促效劑與ARB之組合之量及/或與其他NASH治療劑組合的本發明之組合醫藥之量。

本發明中，FXR促效劑或其藥學上所容許之鹽與ARB或其藥學上所容許之鹽的組合比率並無特別限定，可以達成所需之NASH之預防及/或治療效果進行適當選擇。該組合比率並無特別限定，例如可於1：100～100：1、1：10～10：1或1：3～3：1之範圍進行適當選擇。

於本發明之FXR促效劑或其藥學上所容許之鹽與ARB或其藥學上所容許之鹽之組合中，兩劑可分別投予，又，亦可製成單一製劑而一起投予。又，可將本發明之組合之一成分相對於另一成分先投予、同時投予、

或後投予。該等成分可製備成單一製劑型或經分離之製劑型之醫藥製劑。

作為本發明之**FXR**促效劑或其藥學上所容許之鹽與**ARB**或其藥學上所容許之鹽之組合形態之例，並無特別限定，可列舉以下之(I)及(II)形態：

(I)一併含有**FXR**促效劑或其藥學上所容許之鹽、及**ARB**或其藥學上所容許之鹽兩成分之單一製劑(1種醫藥組合物、調配劑)之形態；及

(II)以各自不同之製劑之形式具有含有**FXR**促效劑或其藥學上所容許之鹽之製劑(醫藥組合物)、與含有**ARB**或其藥學上所容許之鹽之製劑(醫藥組合物)的形態。

於該(II)之形態之情形時，可將各製劑同時投予，或可空出適當之時間間隔分別投予，亦可採用適當之投予計劃以達成所需之**NASH**之預防及/或治療效果。又，於該(II)之形態之情形時，亦可以於單一包裝中包含兩製劑之組合之套組製劑之形式提供。

作為本發明之投予路徑，並無限定，可列舉經口、舌下、口腔、非經口(例如，皮下、肌肉內或靜脈內)、直腸、局部、鼻腔內投予等。較佳為經口投予或非經口投予之任一者，更佳為經口投予。於上述(II)之形態中，亦可將一者製成經口投予製劑，將另一者製成非經口投予製劑。

作為經口投予製劑，例如可列舉：片劑、膠囊劑、顆粒劑、散劑、糖漿劑等。作為非經口投予製劑，例如可列舉：注射劑、栓劑、吸入藥、經皮吸收劑、皮膚外用劑、滴眼劑、滴鼻劑等。

於包含適合各投予路徑之通常之無毒性之藥學上容許之載體、輔助劑、媒劑的適當製劑中，本發明之活性成分可單獨或者一起被製劑化。於該等投予形態之中，較佳之投予形態為經口投予製劑，尤佳為片劑、膠囊

劑、顆粒劑、散劑、糖漿劑等。上述經口投予製劑及非經口投予製劑可使用公知之製劑添加物，基於例如日本藥典第十六修訂版製劑總則等中記載之公知之方法進行製造。

本發明之醫藥進而亦可含有藥學上容許之載體、賦形劑、結合劑、穩定劑及其他成分。例如，於本發明之醫藥劑型為注射劑之情形時，亦可添加被容許之緩衝劑、溶解輔助劑、等張劑、pH值調整劑。藥學上所容許之成分係業者周知，業者可於通常之實施能力之範圍內由例如日本藥典第十六修訂版及其他規格書中所記載之成分根據製劑形態適當選擇而使用。

本發明之組合之活性成分(FXR促效劑或其藥學上所容許之鹽與ARB或其藥學上所容許之鹽)之用量並無特別限定，可根據患者之年齡、體重、症狀、投予形態、投予次數等各種條件而適當增減。又，可將本發明之組合之一成分與另一成分獨立開來並適當增減其用量。

又，於本發明之組合之活性成分(作為2種藥劑，為FXR促效劑或其藥學上所容許之鹽與ARB或其藥學上所容許之鹽)之併用或製成合劑之投予時，治療效果增強，藉此，可實現與各藥劑單獨投予時相比減少用量(或投予量)，結果可期待降低各藥劑所具有之副作用。例如，FXR促效劑(例如，奧貝膽酸)有時會產生瘙癢等副作用，例如，藉由本發明之奧貝膽酸與ARB之組合，而於併用或製成合劑之投予時，與單獨投予時相比可減少用量，結果可於頻度及/或嚴重度方面降低例如瘙癢之副作用。

FXR促效劑或其藥學上所容許之鹽可以每天0.1 mg～1 g、較佳為1 mg～500 mg之量使用。例如，於FXR促效劑為奧貝膽酸之情形時，對於成人，可將奧貝膽酸以按游離體計每天0.1 mg～1 g、較佳為1 mg～500

mg、進而較佳為2 mg～100 mg、尤佳為5 mg～50 mg之量使用，較佳為投予1 mg、2 mg、2.5 mg、5 mg、10 mg、12.5 mg、20 mg、25 mg、40 mg、50 mg或100 mg。

又，例如，於FXR促效劑為INT-767之情形時，對於成人，可將INT-767以按游離體計每天0.1 mg～1 g、較佳為1 mg～500 mg、進而較佳為2 mg～100 mg、尤佳為5 mg～50 mg之量使用，較佳為投予1 mg、2 mg、2.5 mg、5 mg、10 mg、12.5 mg、20 mg、25 mg、40 mg、50 mg或100 mg。

ARB或其藥學上所容許之鹽可以每天0.1 mg～200 mg、較佳為1 mg～100 mg之量使用。例如，於ARB為氯沙坦、或者尤其氯沙坦鉀之情形時，對於成人，可以每天1 mg～100 mg、較佳為2 mg～100 mg、進而較佳為5 mg～100 mg、尤佳為10 mg～50 mg之量使用，較佳為投予1 mg、2 mg、2.5 mg、5 mg、10 mg、12.5 mg、20 mg、25 mg、40 mg、50 mg或100 mg。

又，例如，於ARB為厄貝沙坦之情形時，對於成人，可以每天1 mg～200 mg、較佳為2 mg～200 mg、進而較佳為5 mg～200 mg、尤佳為10 mg～100 mg之量使用，較佳為投予1 mg、2 mg、2.5 mg、5 mg、10 mg、12.5 mg、20 mg、25 mg、40 mg、50 mg、100 mg或200 mg。

又，例如，於ARB為奧美沙坦、或者尤其奧美沙坦酯之情形時，對於成人，可以每天1 mg～40 mg、較佳為2 mg～40 mg、進而較佳為5 mg～40 mg、尤佳為10 mg～20 mg之量使用，較佳為投予1 mg、2 mg、2.5 mg、5 mg、10 mg、12.5 mg、20 mg、25 mg或40 mg。

又，例如，於ARB為替米沙坦之情形時，對於成人，可以每天1 mg

～80 mg、較佳為2 mg～80 mg、進而較佳為5 mg～80 mg、尤佳為10 mg～40 mg之量使用，較佳為投予1 mg、2 mg、2.5 mg、5 mg、10 mg、12.5 mg、20 mg、25 mg、40 mg、50 mg或80 mg。

又，例如，於ARB為坎地沙坦、或者尤其坎地沙坦酯之情形時，對於成人，可以每天0.2 mg～12 mg、較佳為0.5 mg～12 mg、進而較佳為1 mg～12 mg、尤佳為2 mg～8 mg之量使用，較佳為投予0.2 mg、0.5 mg、1 mg、2 mg、2.5 mg、4 mg、5 mg、8 mg、10 mg或12 mg。

又，例如，於ARB為巰沙坦之情形時，對於成人，可以每天1 mg～160 mg、較佳為2 mg～160 mg、進而較佳為5 mg～160 mg、尤佳為10 mg～80 mg之量使用，較佳為投予1 mg、2 mg、2.5 mg、5 mg、10 mg、12.5 mg、20 mg、25 mg、40 mg、50 mg、80 mg或160 mg。

又，例如，於ARB為阿齊沙坦之情形時，對於成人，可以每天1 mg～40 mg、較佳為2 mg～40 mg、進而較佳為5 mg～40 mg、尤佳為10 mg～20 mg之量使用，較佳為投予1 mg、2 mg、2.5 mg、5 mg、10 mg、12.5 mg、20 mg、25 mg或40 mg。

作為投予間隔，可將上述用量按1天1次或分為1天2次～數次而投予。

於該等活性成分以單一製劑之形式進行調配之情形時，並無特別限定，例如，以相對於FXR促效劑或其藥學上所容許之鹽1重量份，ARB或其藥學上所容許之鹽為0.01～100重量份、較佳為0.1～10重量份、更佳為0.3～3重量份的比率進行混合。又，於單一製劑中，並無特別限定，例如該活性成分之和相對於該製劑之組合物含有0.1～70重量%。

[實施例]

以下，列舉實施例對本發明進行詳細說明，但本發明並不受該等任何限定。

實施例1

(方法)

作為大鼠NASH模型，使用對已知為肥胖性II型糖尿病自然發病大鼠的大塚LE德島肥胖(Otsuka Long-Evans Tokushima fatty：OLETF)大鼠投予豬血清(pig serum：PS)，於試驗中使肝纖維化症發病者，藉由以下方法對蒸餾水(媒劑投予群)、奧貝膽酸(FXR促效劑)及氯沙坦(ARB)(各投予群、併用投予群)之治療效果進行評價。

[使用動物]

雄性、OLETF大鼠(n=40)及LE德島大塚(On g-Evans Tokushima Otsuka：LETO)大鼠(n=10；作為非糖尿病性之陰性對照群)

[使用藥物]

使用奧貝膽酸(自Intercept公司經由大日本住友製藥獲得)作為FXR促效劑，使用市售之氯沙坦(使用氯沙坦之鉀鹽；於本實施例中簡稱為「氯沙坦」)作為ARB。

[投予量、投予時間]

將奧貝膽酸(30 mg/kg/天)及/或氯沙坦(30 mg/kg/天)強制經口投予；總投予時間為8週

[實驗方法]

將12週齡之OLETF大鼠隨機分為4群(G2、G3、G4、G5)(各實驗群n=10)，並將豬血清(PS)1.0 ml/kg按每週2次腹腔內投予8週。將同樣12週齡之LETO大鼠(n=10)作為G1群，以同樣方式投予PS。對G3群及G4群之

大鼠自與PS投予之開始日同日起，將奧貝膽酸(30 mg/kg/天)及氯沙坦(30 mg/kg/天)分別每天強制經口投予，連續8週。對G5群之大鼠每天併用投予奧貝膽酸(30 mg/kg/天)與氯沙坦(30 mg/kg/天)，同樣地進行8週。對G1群(LETO)及G2群(OLETF)之大鼠投予作為媒劑之蒸餾水代替藥物，分別作為陰性對照群及陽性對照群(投予方法與藥物之情形相同)。

[組織學解析]

為了評價肝纖維化之進展，自完成上述試驗之大鼠採取福馬林固定石蠟包埋標本之肝切片(5 μ m寬度)，利用天狼星紅(Sirius Red)進行染色。對該染色切片之顯微鏡照片進行拍攝、收集(以全部大鼠為對象，每個標本收集共計10個視野之顯微鏡圖像)，並將各群間之照片進行比較。為了對各群中之纖維化進展之程度進行定量化，使用NIH(National Institution of Health，國家衛生研究所)Image J軟體，關於所收集之染色切片圖像之組織學特徵進行半定量解析。

(結果)

將對大鼠NASH模型進行藥物投予之結果示於圖1及圖2。

圖1係表示各群中之天狼星紅染色肝切片之顯微鏡照片之典型例。根據陰性對照(G1)與陽性對照(G2)之比較，藉由PS投予，而LETO大鼠(G1)未見肝纖維化之進展，相對於此，僅OLETF大鼠(G2)肝纖維化顯著進展。而且，應如僅進行媒劑投予時之陽性對照(G2)般顯著進展之纖維化於奧貝膽酸單獨投予(G3)及氯沙坦單獨投予(G4)時分別受中等程度抑制，而令人驚奇的是，奧貝膽酸與氯沙坦兩者之併用投予(G5)時，肝纖維化被完全抑制，與陰性對照(G1)為同等程度。該併用之效果(G5)與各者單獨投予(G3、G4)相比極其顯著，可認為是預期之外之協同效果。

圖2係顯示關於各群之纖維化進展之組織學特徵的半定量解析結果。

圖中，圖之縱軸、纖維化指數(fibrosis index, FI)表示按各群之大鼠分別採取、收集之染色肝切片圖像之電腦解析所獲得的纖維化區域之平均面積指數。本結果定量地支持了根據圖1之顯微鏡照片所見之組織學特徵結果。

FI值於各群間可見於統計學上顯著差異($p < 0.01$ ；學生t檢定)。與陰性對照(G1)相比，陽性對照(G2)為約20倍之極高FI值。奧貝膽酸(G3)及氯沙坦(G4)之單獨投予時，中等程度且顯著地降低至各自之陽性對照之6/10及7/10程度。而且，於奧貝膽酸與氯沙坦兩者之併用投予(G5)時，顯示出FI值顯著且特別大地降低至陽性對照之約1/20、即與陰性對照(G1)同等程度。其結果，定量且統計學上顯著地顯示：併用投予完全地抑制肝纖維化，與各自之單獨投予相比具有極其顯著之協同效果。

實施例2

使用實施例1中所獲得之各群大鼠之肝切片，利用使用 α -平滑肌肌動蛋白(α -smooth muscle actin: α -SMA)之抗體之免疫組織染色進行免疫組織化學研究，及進行轉化生長因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)與膠原蛋白($\alpha 1$ (I)-原膠原)之mRNA之定量解析。已知 α -SMA為肝星細胞(亦稱為肝星狀細胞)(hepatic stellate cell: HSC)之活化指標(標記)。而且，一般認為，肝星細胞(HSC)之活化及伴隨該活化之TGF- $\beta 1$ (促進纖維化之細胞激素)之過量產生、及膠原蛋白等細胞外基質之過量產生對NASH之肝纖維化進展之機制實現中心效果。因此，TGF- $\beta 1$ 及膠原蛋白($\alpha 1$ (I)-原膠原)之mRNA表現可成為纖維化之指標(標記)。

(1)利用使用 α -SMA抗體之免疫組織染色的免疫組織化學研究

(方法)

利用使用 α -SMA抗體之免疫組織染色代替使用天狼星紅之染色，除此以外，依據與上述實施例1之[組織學解析]相同之方法，進行各群間之照片比較及關於所收集之染色切片圖像之免疫組織學化學特徵之半定量解析，並對奧貝膽酸及氯沙坦(各投予群、併用投予群)對於肝纖維化進展時之HSC活化的阻礙效果進行評價。

(結果)

將結果示於圖3及圖4。

圖3係表示各群中之 α -SMA免疫組織染色切片之顯微鏡照片之典型例。與實施例1之組織學解析結果(即肝纖維化之抑制)同樣地，根據陰性對照(G1)及陽性對照(G2)之比較，LETO大鼠(G1)幾乎未見活化HSC(activated hepatic stellate cell, Activated-HSC: Ac-HSC)，相對於此，僅OLETF大鼠(G2)可見Ac-HSC之顯著增加。而且，Ac-HSC之增加藉由奧貝膽酸單獨投予(G3)及氯沙坦單獨投予(G4)分別受中等程度抑制，於奧貝膽酸與氯沙坦兩者之併用投予(G5)時，被完全抑制，與陰性對照(G1)為同等程度(即，大致完全阻礙HSC之活化)。

圖4係顯示關於各群之免疫組織學化學特徵的半定量解析結果。圖中，圖之縱軸、 α -SMA指數(α -SI)表示按各群之大鼠分別採取、收集之染色肝切片圖像之電腦解析所獲得的 α -SMA染色區域之平均面積指數。本結果定量地支持了根據圖3之顯微鏡照片所見之免疫組織學化學特徵結果。

α -SI值於各群間可見於統計學上顯著差異($p < 0.01$ ；學生t檢定)。與陰性對照(G1)相比，陽性對照(G2)為極高 α -SI值。奧貝膽酸(G3)及氯沙坦

(G4)之單獨投予時，與各自之陽性對照相比中等程度且顯著降低。而且，奧貝膽酸與氯沙坦兩者之併用投予(G5)時，顯示出 α -SI值顯著且特別大地降低至與陰性對照(G1)同等程度。該結果與實施例1之組織學解析結果(即肝纖維化抑制)同樣，定量且統計學上顯著地顯示：併用投予完全抑制Ac-HSC之增加，與各者之單獨投予相比具有極其顯著之協同效果。

(2)TGF- β 1及膠原蛋白之mRNA之定量解析

(方法)

將實施例1中所獲得之各群大鼠之肝臟中之TGF- β 1及膠原蛋白(α 1(I)-原膠原)之mRNA表現使用定量即時聚合酶鏈反應(Quantitative real-time polymerase chain reaction : RT-PCR)進行定量，並進行比較研究。該mRNA表現水準利用RT-PCR進行之定量係使用螢光色素SYBR(註冊商標)Green於StepOne PlusTM系統(Applied Biosystems(註冊商標)公司製造)上進行。

(結果)

將結果示於圖5。

圖5係表示各群之TGF- β 1及 α 1(I)-原膠原之mRNA表現以RT-PCR獲得之定量結果。圖中，圖之縱軸表示mRNA表現量。與陰性對照(G1)相比，TGF- β 1、 α 1(I)-原膠原均為陽性對照(G2)為極高mRNA表現量。奧貝膽酸(G3)及氯沙坦(G4)之單獨投予中，與各者之陽性對照相比可見中等程度之降低傾向。而且，奧貝膽酸與氯沙坦兩者之併用投予(G5)時，顯示出mRNA表現量之顯著且特別大之降低。該結果與實施例1之組織學解析之結果(即肝纖維化之抑制)同樣，定量且統計學上顯著地顯示：併用投予特別大地抑制TGF- β 1及 α 1(I)-原膠原兩者之mRNA表現量之增加，與各自之

單獨投予相比具有極其顯著之協同效果。

又，對於Toll樣受體4(Toll-like receptor 4：TLR4)之mRNA表現，亦藉由相同方法進行定量。與實施例1之組織學解析之結果(即肝纖維化之抑制)同樣，併用投予特別大地抑制TLR4之mRNA表現量之增加(本說明書中並未揭示資料)。已知，經由肝TLR4之細胞內訊號傳遞路徑(傳遞內毒素LPS之訊號)於肝纖維化進展機制中產生巨大助益。

實施例3

(方法)

將奧貝膽酸與3種ARB(氯沙坦、缬沙坦、坎地沙坦)各者之併用效果於活體外(in vitro)細胞系實驗中進行確認。具體而言，使用有助於NASH肝纖維化進展之主要機制的人肝星細胞(human hepatic stellate cell：HHSC)，藉由奧貝膽酸與3種ARB各者之併用獲得HHSC之增殖能力抑制效果及纖維化標記表現抑制效果，並利用以下之方法對上述效果進行評價。

[使用細胞]

人肝星細胞(HHSC)(亦稱為人肝星狀細胞)

[使用藥劑]

使用奧貝膽酸(自Intercept公司經由大日本住友製藥獲得)作為FXR促效劑，分別使用市售之氯沙坦(使用氯沙坦之鉀鹽；於本實施例中簡稱為「氯沙坦」、缬沙坦及坎地沙坦(使用坎地沙坦酯；於本實施例中簡稱為「坎地沙坦」)作為ARB。

[使用試劑]

使用血管收縮素II(angiotensin-II：AT-II)及/或脂多糖

(lipopolysaccharide : LPS)(一般認為，經由AT1受體之AT-II訊號及經由TLR4受體之LPS訊號均對HSC之活化及肝纖維化進展發揮重要作用)。

[實驗方法]

(1)人肝星細胞(HHSC)之增殖能力抑制效果之研究

關於HHSC之增殖能力抑制效果，藉由使用WST-1試劑之細胞增殖檢定而直接對作用進行評價。

1)將HHSC以平均每孔(well)3000個/200 μ L播種於96孔板，並於1%FBS DMEM培養液中培養24小時而使之著生。

2)於24小時之時，分為以下7個群，並更換至添加有以下之藥劑及/或試劑之細胞培養液中。ARB使用氯沙坦。

陰性對照(G1)：未添加藥劑(對照組)

陽性對照A(G2A)：AT-II(10^{-6} M)

陽性對照L(G2L)：LPS(10^{-5} M)

陽性對照AL(G2AL)：AT-II(10^{-6} M) + LPS(10^{-5} M)

奧貝膽酸投予(G3)：AT-II(10^{-6} M) + LPS(10^{-5} M) + 奧貝膽酸(5×10^{-6} M)

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

奧貝膽酸 + ARB併用投予(G5)：AT-II(10^{-6} M) + LPS(10^{-5} M) + 奧貝膽酸(5×10^{-6} M) + ARB(10^{-6} M)

3)將上述各群(G1、G2A、G2L、G2AL、G3、G4、G5)培養24小時後，分別進行WST-1細胞增殖檢定，直接對藥物之細胞增殖抑制效果進行評價。

又，巰沙坦及坎地沙坦亦依據上述1)~3)評價HHSC之增殖能力抑制

效果。再者，亦於G1、G2AL、G3、G4、G5此5個群中進行評價。

(2)纖維化標記基因表現抑制效果之研究

關於纖維化標記基因表現抑制效果，利用RT-PCR法對於膠原蛋白產生能力、及TGF- β 產生能力進行評價。

1)將HHSC以平均每孔(well)30萬個/2mL播種於6孔(well)板，並於1%FBS DMEM培養液中培養24小時而使之著生。

2)於24小時之時，分為以下各群(7個群)，並更換至添加有以下之藥劑及/或試劑之細胞培養液中。ARB使用氯沙坦。

陰性對照(G1)：未添加藥劑(對照組)

陽性對照A(G2A)：AT-II(10^{-6} M)

陽性對照L(G2L)：LPS(10^{-5} M)

陽性對照AL(G2AL)：AT-II(10^{-6} M) + LPS(10^{-5} M)

奧貝膽酸投予(G3)：AT-II(10^{-6} M) + LPS(10^{-5} M) + 奧貝膽酸(5×10^{-6} M)

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

奧貝膽酸 + ARB併用投予(G5)：AT-II(10^{-6} M) + LPS(10^{-5} M) + 奧貝膽酸(5×10^{-6} M) + ARB(10^{-6} M)

3)將上述各群(G1、G2A、G2L、G2AL、G3、G4、G5)培養24小時後，自各群之培養細胞提取mRNA。根據所提取之mRNA藉由逆轉錄獲得cDNA，並利用RT-PCR法對纖維化標記基因(TGF- β 1及 α 1(I)-原膠原)之表現進行評價。

又，巰沙坦及坎地沙坦亦依據上述1)~3)對纖維化標記基因表現抑制效果進行評價。再者，於G1、G2AL、G3、G4、G5此5個群中進行評

價。

(結果)

將人肝星細胞(HHSC)之增殖能力抑制效果之研究結果示於圖6～圖8，並將纖維化標記基因表現抑制效果之研究結果示於圖9～圖14。各圖中，各圖之條狀部分表示平均值 $\pm$ 標準偏差($n=8$)。星號表示所指示之實驗群間之於統計學上顯著差異(* $p<0.05$ ，** $p<0.01$)。

圖6、圖7及圖8分別表示於使用氯沙坦、缬沙坦及坎地沙坦作為ARB之情形時各群之HHSC之增殖能力抑制效果的研究結果。各圖中，圖之縱軸為吸光度(Absorption，OD)，與活細胞數強相關。藉由測定吸光度，可對具有代謝活性之細胞因WST-1試劑而產生之甲臍色素進行定量。甲臍色素與培養基中具有代謝活性之細胞之數量顯示線性正相關，因此可看出細胞增殖能力或細胞生存能力。

AT-II及LPS兩試劑之添加(G2AL)與各者單獨添加相比(G2A及G2L)，統計學上顯著地促進經活化之HHSC之增殖(圖6)。

與陽性對照AL(G2AL)相比，ARB單劑(氯沙坦、缬沙坦或坎地沙坦)之添加(G4)、或者奧貝膽酸與ARB(氯沙坦、缬沙坦或坎地沙坦)兩劑併用之添加(G5)於統計學上顯著地抑制由AT-II及LPS兩試劑引起之經活化之HHSC之增殖促進(圖6、圖7及圖8)。

圖9、圖10及圖11分別為於使用氯沙坦、缬沙坦及坎地沙坦作為ARB之情形時各群之纖維化標記基因TGF- β 1之表現抑制效果的研究結果，圖12、圖13及圖14分別為於使用氯沙坦、缬沙坦及坎地沙坦作為ARB之情形時各群之纖維化標記基因 α 1(I)-原膠原之表現抑制效果的研究結果。各圖中，圖之縱軸表示mRNA之相對表現量。

陽性對照 AL(G2AL)所顯示之由 AT-II 及 LPS 所誘導之 TGF- β 1 及 α 1(I)-原膠原(TLR4)的 mRNA 表現均統計學上顯著地受奧貝膽酸單劑(G3)或者 ARB(氯沙坦、巰沙坦或坎地沙坦)單劑(G4)之添加的抑制。進而，奧貝膽酸與 ARB(氯沙坦、巰沙坦或坎地沙坦)兩劑併用之添加(G5)與任一者單劑之添加(G3、G4)相比亦發揮特別大且統計學上顯著的 TGF- β 1 及 α 1(I)-原膠原之 mRNA 表現抑制效果。

根據以上結果判明，藉由將奧貝膽酸與 ARB(氯沙坦、巰沙坦或坎地沙坦)組合，而發揮優異之 NASH 之預防及治療效果。尤其，關於 NASH 中之肝纖維化之預防、抑制及改善可期待顯著之效果。進而可期待：藉由將奧貝膽酸與 ARB、或者 FXR 促效劑與 ARB 組合，而發揮優異之 NASH 之預防及治療效果。

實施例4

依據與實施例1相同之方法，其中，於對動物投予豬血清(PS)後間隔一定時間(例如4週等)而使肝纖維化進行後，開始藥劑等之投予，藉此，對媒劑投予群(蒸餾水)、各投予群及併用投予群之治療效果進行評價。

於纖維化進一步進展之病態，亦期待與實施例1同樣地發揮優異之 NASH 之預防及治療效果。

實施例5

依據與實施例1相同之方法，其中，使用膽鹼缺乏 L-胺基酸取代食料(CDAA)誘導大鼠代替 OLETF 大鼠作為大鼠 NASH 模型動物，又，使用膽鹼添加 L-胺基酸取代食料(CSAA)大鼠代替 LETO 大鼠作為陰性對照群，並對媒劑投予群(蒸餾水)、各投予群及併用投予群之治療效果進行評價。

於其他 NASH 模型，亦期待與實施例1同樣地發揮優異之 NASH 之預

防及治療效果。

實施例6

(方法)

使用甲硫胺酸/膽鹼缺乏食料(MCD)飼喂負荷小鼠作為小鼠NASH模型，並藉由以下之方法對0.5%羧甲基纖維素(CMC)溶液(媒劑投予群)、奧貝膽酸(FXR促效劑)及氯沙坦(ARB)(各投予群、併用投予群)之治療效果進行評價。

[使用動物]

雄性、C57Bl/6J小鼠(n = 50 ~ 70)

[使用藥物]

使用奧貝膽酸(自Intercept公司經由大日本住友製藥獲得)作為FXR促效劑，使用市售之氯沙坦(使用氯沙坦之鉀鹽；於本實施例中簡稱為「氯沙坦」)作為ARB。

[投予量、投予時間]

將奧貝膽酸(3-30 mg/kg/天)及/或氯沙坦(0.1-30 mg/kg/天)強制經口投予；總投予時間為1~6週

[實驗方法]

對6~12週齡之C57Bl/6J小鼠投喂MCD 0~5週後，隨機分為4個群(G2、G3、G4、G5)(各實驗群n = 10)。對同樣6週齡~12週齡之C57Bl/6J小鼠(n = 10)投喂普通飼料並作為G1群。對G3群及G4群之小鼠自與MCD飼喂之開始日同日或3~5週後，將奧貝膽酸(3-30 mg/kg/天)及氯沙坦(0.1-30 mg/kg/天)分別每天強制經口投予，連續1~3週。對G5群之小鼠每天併用投予奧貝膽酸(3-30 mg/kg/天)與氯沙坦(0.1-30 mg/kg/天)，同樣

地進行1～6週。對G1群(普通飼料群)及G2群(MCD負荷群)之小鼠投予作為媒劑之0.5% CMC液代替藥物，分別作為陰性對照群及陽性對照群(投予方法與藥物之情形相同)。

[組織學解析]

為了評價肝纖維化之進展，自完成上述試驗之小鼠採取福馬林固定石蠟包埋標本之肝切片(5 μm 寬度)，利用天狼星紅(Sirius Red)進行染色。對該染色切片之顯微鏡照片進行拍攝、收集(以全部小鼠為對象，每個標本收集複數個視野之顯微鏡圖像)，並將各群間之照片進行比較。為了對各群中之纖維化進展之程度進行定量化，使用解析用軟體，關於所收集之染色切片圖像之組織學特徵進行半定量解析。或者，將肝切片(5 μm 寬度)以油紅O(Oil-Red O)進行染色，並同樣地對該染色切片之顯微鏡照片進行拍攝、收集，將各群間之照片進行比較。為了對各群中之肝脂肪化進展之程度進行定量化，使用解析用軟體，關於所收集之染色切片圖像之組織學特徵進行半定量解析。或者，使用自肝臟提取之mRNA，利用半定量聚合酶鏈反應(RT-PCR)法測定纖維化因子。

於其他NASH模型中，亦期待與實施例1、4及5同樣發揮優異之NASH之預防及治療效果。

實施例7

一般將「除了肝細胞之大脂滴性脂肪化，亦可見伴有炎症之肝細胞之氣球狀變性」作為用以診斷為NASH的病理學診斷基準。Matteoni等人將NAFLD病例根據病理觀察結果分為4種類型(TYPE1：僅脂肪肝，TYPE2：脂肪變性加炎症細胞浸潤，TYPE3：脂肪變性加肝細胞氣球狀變性，TYPE4：脂肪變性、肝細胞氣球狀變性加Mallory-Denk體或纖維

化)並報告長期跟蹤之結果。結果，相比於TYPE1、2，TYPE3、4被證明向肝硬化之進展及肝病相關死亡顯著較多，一般認為病理分類於臨床上極為重要。Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network(非酒精性脂肪肝炎臨床研究網路)為了降低觀察者之判斷差異或設施間差異，而提倡藉由將脂肪化、炎症、肝細胞氣球狀變性之程度進行得分化而將病理診斷得分化(NAS：NAFLD Activity Score)(Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ: Nonalcoholic fatty liver disease : A spectrum of clinical and pathological severity. Gastroenterology, 116; 1413-1419, 1999.)。因此，利用使用以下動物模型之方法對構成NAS得分之病理學診斷基準進行評價，而研究FXR促效劑(奧貝膽酸)及ARB(氯沙坦)單獨及併用投予的效果。

(方法)

使用膽鹼缺乏高脂肪飼料甲硫胺酸減量(CDAHFD)飼喂負荷小鼠作為小鼠NASH模型，藉由以下之方法對0.5%甲基纖維素(MC)溶液(媒劑投予群)、奧貝膽酸(FXR促效劑)及氯沙坦(ARB)(各投予群、併用投予群)之治療效果進行評價。

[使用動物]

雄性、C57Bl/6J小鼠(n=49)

[使用藥物]

使用奧貝膽酸(自Intercept公司經由大日本住友製藥獲得)作為FXR促效劑，使用市售之氯沙坦(使用氯沙坦之鉀鹽；於本實施例中簡稱為「氯沙坦」)作為ARB。

[投予量、投予時間]

將奧貝膽酸(30 mg/kg/天)及/或氯沙坦(30 mg/kg/天)強制經口投予；
總投予時間為3週

[實驗方法]

對6週齡之C57Bl/6J小鼠投喂CDAHFD 0~2.5週後，隨機分為4個群(G2、G3、G4、G5)(各實驗群n=9)。對同樣6週齡之C57Bl/6J小鼠(n=13)投喂普通飼料而作為G1群。對G3群及G4群之小鼠自CDAHFD飼喂開始2.5週後將奧貝膽酸(30 mg/kg/天)及氯沙坦(30 mg/kg/天)分別每天強制經口投予，連續3週。對G5群之小鼠每天併用投予奧貝膽酸(30 mg/kg/天)與氯沙坦(30 mg/kg/天)，同樣地進行3週。對G1群(普通飼料群)及G2群(CDAHFD負荷群)之小鼠投予作為媒劑之0.5% MC液代替藥物，分別作為陰性對照群及陽性對照群(投予方法與藥物之情形相同)。

[組織學解析]

為了評價肝纖維化之進展，自完成上述試驗之小鼠採取福馬林固定石蠟包埋標本之肝切片(3 μm寬度)，利用蘇木素伊紅(Hematoxylin-Eosin)進行染色。對該染色切片之顯微鏡照片進行拍攝、收集(以全部小鼠為對象，每個標本收集複數個視野之顯微鏡圖像)，並將各群間之照片進行比較。為了對各群中之NAS之程度進行定量化，使用解析用軟體，關於所收集之染色切片圖像之組織學特徵進行半定量解析。針對肝細胞之脂肪化、與氣球狀變性類似之指標即肝細胞腫大(直徑為正常肝細胞之約1.5倍以上)，對該病變所占之面積比率進行分級。針對炎症，按每單位面積之炎症細胞5個以上之集簇病灶之數量進行分級。將該等分級之總和定義為NAS。

(結果)

將對CDAHFD負荷NASH模型進行藥物投予所獲得之肝細胞腫大改善效果的研究結果示於圖15。圖中，圖之縱軸表示於將陰性對照(G1)與陽性對照(G2)之差設為100%之情形時各藥物投予群(G3、G4、G5)中之肝細胞腫大的陽性面積率(肝細胞腫大改善率：%)。陽性對照(G2)中顯著增加之肝細胞腫大與奧貝膽酸單獨投予(G3)相比可見抑制傾向。氯沙坦單獨投予(G4)時，完全未見改善傾向。而且令人驚奇的是，奧貝膽酸與氯沙坦兩者之併用投予(G5)以統計學上顯著差異而改善肝細胞腫大。由該併用獲得之效果(G5)與各者之單獨投予(G3、G4)相比極其顯著，可謂為預期之外之協同效果。

肝細胞腫大之陽性面積率中之改善率僅於G5群中可見於統計學上顯著差異($P < 0.01$ ；the nonparametric Dunnett test(非參量型Dunnett檢驗))。該結果定量且於統計學上顯著地顯示：併用投予改善肝細胞腫大，與各者之單獨投予相比具有極其顯著之協同效果。

針對肝細胞之脂肪化或NAS，亦與細胞腫大之評價同樣、尤其於G5群中可見改善作用。

實施例8

NASH・NAFLD之診療指南2015(日本肝臟學會編，NASH・NAFLD之診療指南2015，東京：文光堂；2015.)指出，作為NASH診斷篩查，利用腹部超音波檢查之脂肪肝之診斷及ALT(丙胺酸轉胺酶，Alanine aminotransferase)值異常較為重要。NASH之確診需肝活檢，但作為其實施基準之一，可應用於即便進行肥胖、高血壓、脂質異常之控制但轉胺酶仍持續為高值之病例中。又，一般認為，ALT為高值之病例中，NASH之病態容易進展。另一方面，根據以NASH患者為對象而研究維生

素E之有效性及安全性的PIVENS試驗報告，於將降低至ALT 40 IU/L以下、或自基準線降低ALT 30%以上作為ALT有效例之情形時，維生素E投予群中，相比於ALT無效例，ALT有效例中NAS顯著改善，安慰劑投予群中，不僅NAS改善，而且纖維化亦顯著改善(Hoofnagle JH, Van Natta ML, Kleiner DE, Clark JM, Kowdley KV, Loomba R, et al. Vitamin E and changes in serum alanine aminotransferase levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. Aliment Pharmacol Ther. 2013 Jul; 38(2) : 134-43.)。根據以上情況，期待ALT為NASH進展預後相關之重要因素，因此，期待藉由治療而ALT改善會帶來NASH病態之改善。因此，利用使用以下之動物模型之方法對ALT進行評價，研究FXR促效劑(奧貝膽酸)及ARB(氯沙坦)單獨及併用投予之效果。

(方法)

實施與實施例7(之方法)相同之方法。

[使用動物]

雄性、C57Bl/6J小鼠(n=50)

[使用藥物]

使用與實施例7相同之藥物。

[投予量、投予時間]

將奧貝膽酸(10 mg/kg/天)及/或氯沙坦(30 mg/kg/天)強制經口投予；

總投予時間為3週

[實驗方法]

對6週齡之C57Bl/6J小鼠投喂CDAHFD 0~6週後，隨機分為4個群(G2、G3、G4、G5)(各實驗群n=10)。對同樣6週齡之C57Bl/6J小鼠(n=

10)投喂普通飼料而作為G1群。對G3群及G4群之小鼠自CDAHFD飼喂開始6週後將奧貝膽酸(10 mg/kg/天)及氯沙坦(30 mg/kg/天)分別每天強制經口投予，連續3週。對G5群之小鼠每天併用投予奧貝膽酸(10 mg/kg/天)與氯沙坦(30 mg/kg/天)，同樣地進行3週。對G1群(普通飼料群)及G2群(CDAHFD負荷群)之小鼠投予作為媒劑之0.5% CMC液代替藥物，分別作為陰性對照群及陽性對照群(投予方法與藥物之情形相同)。

[生物化學檢查]

為了對血清中之丙胺酸轉胺酶(ALT)活性進行評價，自完成上述試驗之小鼠採血並分離血清。使用體外診斷用醫藥品，對血清試樣中之ALT活性使用酶學方法進行測定。

[結果]

將對CDAHFD負荷NASH模型進行藥物投予所獲得之ALT活性改善效果的研究結果示於圖16。

圖16表示於以陽性對照(G2)之ALT活性之平均值為基準之情形時各藥物投予群(G3、G4、G5)中之ALT活性之變化值(Δ U/L；負值表示改善)。相比於陰性對照(G1)，陽性對照(G2)中於統計學上顯著地增加之ALT活性於奧貝膽酸單獨投予(G3)以及氯沙坦單獨投予(G4)中僅有改善傾向，未見於統計學上顯著之改善。而且令人驚奇的是，奧貝膽酸與氯沙坦兩者之併用投予(G5)以統計學上顯著差異而改善ALT活性。該併用之效果(G5)與各者之單獨投予(G3、G4)相比極其顯著，可謂為預期之外之協同效果。

ALT活性之改善僅於G5群中可見於統計學上顯著差異($p < 0.01$ ；the nonparametric Dunnett test)。該結果定量且於統計學上顯著地顯示：併

用投予改善肝損傷，與各者之單獨投予相比具有極其顯著之協同效果。

實施例9

作為使用藥物，使用奧貝膽酸作為**FXR**促效劑，使用坎地沙坦、替米沙坦、纈沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦代替氯沙坦作為**ARB**，依據與實施例1、2及4～8相同之方法，對媒劑投予群(蒸餾水)、各投予群及併用投予群之治療效果進行評價。進而，作為使用藥物，使用奧貝膽酸作為**FXR**促效劑，使用替米沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦代替氯沙坦、纈沙坦或坎地沙坦作為**ARB**，依據與實施例3相同之方法，對**FXR**促效劑與**ARB**之併用效果進行確認。

於奧貝膽酸與其他**ARB**之組合中，亦期待與奧貝膽酸與氯沙坦之組合同樣地發揮優異之**NASH**之預防及治療效果。

實施例10

作為使用藥物，使用鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452代替奧貝膽酸作為**FXR**促效劑，使用氯沙坦作為**ARB**，依據與實施例1、2及4～8相同之方法，對媒劑投予群(蒸餾水)、各投予群及併用投予群之治療效果進行評價。進而，作為使用藥物，使用鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452代替奧貝膽酸作為**FXR**促效劑，使用氯沙坦作為**ARB**，依據與實施例3相同之方法，對**FXR**促效劑與**ARB**之併用效果進行確認。

於其他**FXR**促效劑與氯沙坦之組合中，亦期待與奧貝膽酸與氯沙坦之組合同樣地發揮優異之**NASH**之預防及治療效果。

實施例11

作為使用藥物，使用鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104

或LJN-452代替奧貝膽酸作為FXR促效劑，使用坎地沙坦、替米沙坦、巰沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦代替氯沙坦作為ARB，依據與實施例1、2及4～8相同之方法，對媒劑投予群(蒸餾水)、各投予群及併用投予群之治療效果進行評價。進而，作為使用藥物，使用鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452代替奧貝膽酸作為FXR促效劑，使用替米沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦代替氯沙坦、巰沙坦或坎地沙坦作為ARB，依據與實施例3相同之方法，對FXR促效劑與ARB之併用效果進行確認。

於其他FXR促效劑與ARB之組合中，亦期待與奧貝膽酸與氯沙坦之組合同樣地發揮優異之NASH之預防及治療效果。

[產業上之可利用性]

本發明之組合醫藥對肝病、尤其NASH之預防及/或治療有用。又，於全部肝病、尤其NASH中之肝纖維化之預防、抑制及/或改善中亦有用。



201733582

申請日: 106/03/27

【發明摘要】

IPC分類: **A61K 31/454** (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

【中文發明名稱】

FXR促效劑及ARB之組合醫藥

【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMBINATION COMPRISING FXR AGONIST AND
ARB

【中文】

本發明提供一種包含FXR促效劑、較佳為奧貝膽酸或其藥學上所容許之鹽及ARB或其藥學上所容許之鹽的NASH之治療劑。

【英文】

The present invention provides a medicament for treating NASH, comprising a FXR agonist, preferably obeticholic acid, or a pharmaceut ically acceptable salt thereof, and an ARB or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種組合醫藥，其包含法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽、及血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽作為有效成分。

【第2項】

如請求項1之醫藥，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452。

【第3項】

如請求項1或2之醫藥，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

【第4項】

如請求項1至3中任一項之醫藥，其中FXR促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

【第5項】

如請求項1至4中任一項之醫藥，其中FXR促效劑為奧貝膽酸。

【第6項】

如請求項1至5中任一項之醫藥，其中ARB為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、缬沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

【第7項】

如請求項1至6中任一項之醫藥，其中ARB為氯沙坦。

【第8項】

一種非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療劑，其包含如請求項1至7中任

一項之組合醫藥。

【第9項】

如請求項8之治療劑，其中將法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽與血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽併用。

【第10項】

如請求項9之治療劑，其中將FXR促效劑或其藥學上所容許之鹽與ARB或其藥學上所容許之鹽同時投予或改變時間分別投予。

【第11項】

一種非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療劑，其包含法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽，其特徵在於：與血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽併用。

【第12項】

一種非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療劑，其包含血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽，其特徵在於：與法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽併用。

【第13項】

如請求項11或12之治療劑，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452。

【第14項】

如請求項11至13中任一項之治療劑，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

【第15項】

如請求項11至14中任一項之治療劑，其中**FXR**促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

【第16項】

如請求項11至15中任一項之治療劑，其中**FXR**促效劑為奧貝膽酸。

【第17項】

如請求項11至16中任一項之治療劑，其中**ARB**為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、巰沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

【第18項】

如請求項11至17中任一項之治療劑，其中**ARB**為氯沙坦。

【第19項】

如請求項8至18中任一項之治療劑，其中上述**NASH**之治療為**NASH**中之肝纖維化之抑制。

【第20項】

一種如請求項1至7中任一項之組合醫藥之用途，其係用以製造非酒精性脂肪肝炎(**NASH**)之治療劑。

【第21項】

一種如請求項1至7中任一項之組合醫藥之用途，其係用以製造**NASH**中之肝纖維化抑制劑。

【第22項】

一種非酒精性脂肪肝炎(**NASH**)之治療方法，其特徵在於：將治療上有效量之**FXR**促效劑或其藥學上所容許之鹽與血管收縮素II受體拮抗劑(**ARB**)或其藥學上所容許之鹽組合而對患者進行投予。

【第23項】

如請求項22之治療方法，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452。

【第24項】

如請求項22或23之治療方法，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

【第25項】

如請求項22至24中任一項之治療方法，其中FXR促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

【第26項】

如請求項22至25中任一項之治療方法，其中FXR促效劑為奧貝膽酸。

【第27項】

如請求項22至26中任一項之治療方法，其中ARB為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、巰沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

【第28項】

如請求項22至27中任一項之治療方法，其中ARB為氯沙坦。

【第29項】

如請求項22至28中任一項之治療方法，其中上述NASH之治療為NASH中之肝纖維化之抑制。

【第30項】

一種法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽與血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽之組合，其係用於治療非酒精性脂肪肝炎(NASH)。

【第31項】

如請求項30之組合，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452。

【第32項】

如請求項30或31之組合，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

【第33項】

如請求項30至32中任一項之組合，其中FXR促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

【第34項】

如請求項30至33中任一項之組合，其中FXR促效劑為奧貝膽酸。

【第35項】

如請求項30至34中任一項之組合，其中ARB為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、縴沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

【第36項】

如請求項30至35中任一項之組合，其中ARB為氯沙坦。

【第37項】

如請求項30至36中任一項之組合，其中上述NASH之治療為NASH中之肝纖維化之抑制。

【第38項】

一種套組，其係用以治療非酒精性脂肪肝炎(NASH)者，且其包括

1)包含法尼酯衍生物X受體促效劑(FXR促效劑)或其藥學上所容許之鹽的醫藥；

2)包含血管收縮素II受體拮抗劑(ARB)或其藥學上所容許之鹽的醫藥；及

3)用以將上述1)及2)組合而投予之使用說明書。

【第39項】

如請求項38之套組，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175、Px-104或LJN-452。

【第40項】

如請求項38或39之套組，其中FXR促效劑為奧貝膽酸、鵝去氧膽酸、INT-767、LY-2562175或Px-104。

【第41項】

如請求項38至40中任一項之套組，其中FXR促效劑為奧貝膽酸或INT-767。

【第42項】

如請求項38至41中任一項之套組，其中FXR促效劑為奧貝膽酸。

【第43項】

如請求項38至42中任一項之套組，其中ARB為氯沙坦、坎地沙坦、替米沙坦、巰沙坦、奧美沙坦、厄貝沙坦或阿齊沙坦。

【第44項】

如請求項38至43中任一項之套組，其中ARB為氯沙坦。

【第45項】

如請求項38至44中任一項之套組，其中上述NASH之治療為NASH中之肝纖維化之抑制。

【第46項】

一種肝病中之肝纖維化抑制劑，其包含如請求項1至7中任一項之組合醫藥。

【第47項】

如請求項46之肝纖維化抑制劑，其中肝病選自B型肝炎；C型肝炎；寄生蟲性肝病；移植後之細菌感染、移植後之病毒感染、或者移植後之真菌感染；酒精性肝病(ALD)；非酒精性脂肪肝病(NAFLD)；由甲胺喋呤誘發之肝病、由異煙肼誘發之肝病、由酚汀誘發之肝病、由甲基多巴誘發之肝病、由氯丙吡誘發之肝病、由甲苯磺丁脲誘發之肝病、或者由胺碘酮誘發之肝病；自體免疫肝炎；類肉瘤病；威爾遜氏病；血色素沈積病；高雪氏病；III型肝醣蓄積病、IV型肝醣蓄積病、VI型肝醣蓄積病、IX型肝醣蓄積病、或者X型肝醣蓄積病； $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺損症；齊威格氏症候群；酪胺酸血症；果糖血症；半乳糖血症；布加氏症候群相關之脈管損傷、靜脈阻塞相關之脈管損傷、或者門靜脈血栓症相關之脈管損傷；或先天性肝纖維化症。

【第48項】

如請求項46或47之肝纖維化抑制劑，其中肝病為ALD或NAFLD中之任一者。

【第49項】

如請求項46至48中任一項之肝纖維化抑制劑，其中肝病為NAFLD。

