(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114667142 A
(43)申请公布日 2022.06.24

(21)申请号 202080077929.8
(22)申请日 2020.11.06
(30)优先权数据
62/933,277 2019.11.08 US
63/004,403 2020.04.02 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.05.06
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/059522 2020.11.06
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/092474 EN 2021.05.14
(71)申请人 拓臻制药公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 M·费诺 王宇锦 W·钟
K·克鲁谢尔
(74)专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限责任公司 11287
专利代理师 蒋林清
(51)Int.Cl.
A61K 31/42(2006.01)

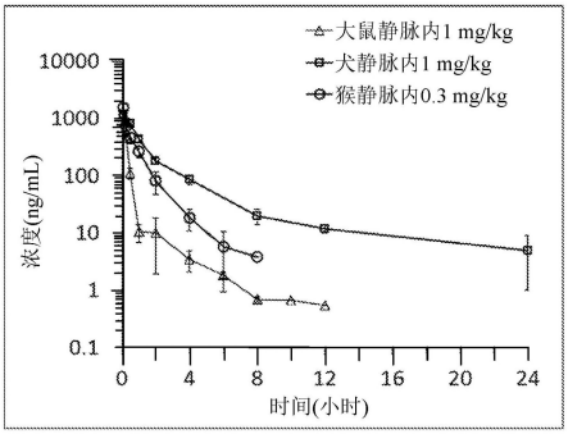
权利要求书3页 说明书23页 附图29页

(54)发明名称

治疗肝脏病症

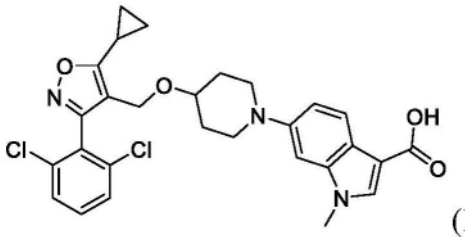
(57)摘要

本文提供用于治疗患者的肝脏病症,包括但不限于非酒精性脂肪性肝炎,和其症状和表现的方法和组合物。



CN 114667142 A

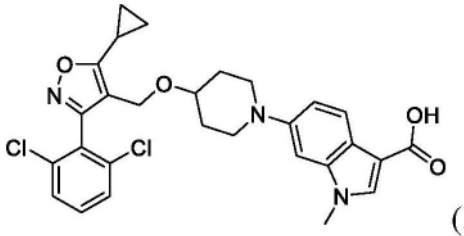
1.一种治疗有需要的患者的肝脏病症的方法,其包含施用治疗有效量的式(I)化合物



(I)

或其药学上可接受的盐,其中所述肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

2.一种用类法尼醇X受体(FXR)激动剂治疗有需要的患者的肝脏病症的方法,其包含施用治疗有效量的所述FXR激动剂,其中所述FXR激动剂是式(I)化合物

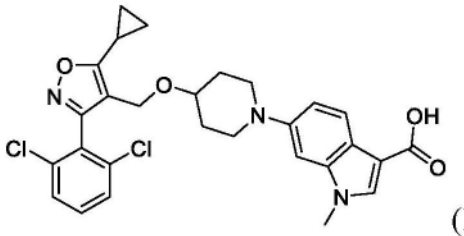


(I)

或其药学上可接受的盐,并且其中所述患者已中断一种或多种使用除式(I)化合物或其药学上可接受的盐以外的另一FXR激动剂的先前疗法,其中所述肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

3.根据权利要求2所述的方法,其中所述患者在所述一种或多种先前疗法期间遭受瘙痒。

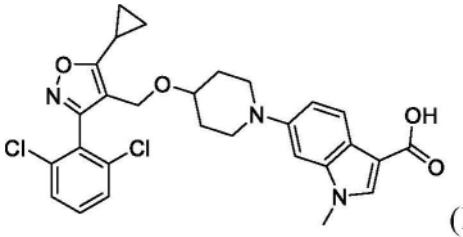
4.一种在有需要的患者中阻碍或减缓非酒精性脂肪肝病(NAFLD)向非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的进展的方法,其包含施用治疗有效量的式(I)化合物



(I)

或其药学上可接受的盐。

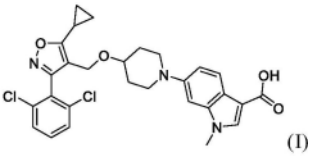
5.一种在有需要的患者中阻碍或减缓NASH的进展的方法,其包含施用治疗有效量的式(I)化合物



(I)

或其药学上可接受的盐。

6.一种用类法尼醇X受体(FXR)激动剂治疗有需要的患者的肝脏病症的方法,所述激动剂相比于肾脏、肺、心脏和皮肤组织中的一或多者优先集中于肝脏组织中,所述方法包含施

用治疗有效量的所述FXR激动剂，其中所述FXR激动剂是式(I)化合物
(I)

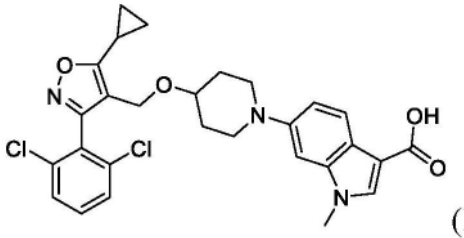
或其药学上可接受的盐，其中所述肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

7.根据权利要求1至6中任一权利要求所述的方法，其中所述施用不导致所述患者的瘙痒严重程度超过2级。

8.根据权利要求1至7中任一权利要求所述的方法，其中所述施用不导致所述患者的瘙痒严重程度超过1级。

9.根据权利要求1至8中任一权利要求所述的方法，其中所述施用不在所述患者中导致瘙痒。

10.一种在有需要的患者中用不导致可检测到的瘙痒的FXR激动剂治疗肝脏病症的方法，所述方法包含施用治疗有效量的所述FXR激动剂，其中所述FXR激动剂是式(I)化合物


(I)

或其药学上可接受的盐，其中所述肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

11.根据权利要求1至3或6至10中任一权利要求所述的方法，其中所述肝脏病症是NAFLD。

12.根据权利要求1至3或6至10中任一权利要求所述的方法，其中所述肝脏病症是NASH。

13.根据权利要求1至3或6至10中任一权利要求所述的方法，其中所述肝脏病症是PSC。

14.根据权利要求1至3或6至10中任一权利要求所述的方法，其中所述肝脏病症是PBC。

15.根据权利要求1至14中任一权利要求所述的方法，其中所述施用使得所述式(I)化合物的肝脏浓度与血浆浓度比率为10或更大。

16.根据权利要求1至15中任一权利要求所述的方法，其中所述治疗有效量是0.5μg/天-600mg/天。

17.根据权利要求1至16中任一权利要求所述的方法，其中所述治疗有效量是0.5μg/天-20mg/天。

18.根据权利要求1至17中任一权利要求所述的方法，其中所述治疗有效量是0.5μg/天-4mg/天。

19.根据权利要求1至18中任一权利要求所述的方法，其中所述施用包含每日施用所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐持续一周或多周的治疗时间段。

20.根据权利要求19所述的方法,其中所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐每日施用一次或每日施用两次。

21.根据权利要求19或20所述的方法,其中在所述治疗时间段的第1天施用的所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量大于或等于在所述治疗时间段的所有后续数天施用的量。

22.根据权利要求19至21中任一权利要求所述的方法,其中在所述治疗时间段的第1天施用的所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量等于在所述治疗时间段的所有后续数天施用的所述量。

23.根据权利要求1至22中任一权利要求所述的方法,其中所述治疗时间段是一或多个月。

24.根据权利要求1至23中任一权利要求所述的方法,其中所述治疗时间段是所述患者的剩余寿命。

25.根据权利要求1至24中任一权利要求所述的方法,其中所述患者为肥胖的。

26.根据权利要求1至24中任一权利要求所述的方法,其中所述患者不肥胖。

27.根据权利要求1至26中任一权利要求所述的方法,其中所述患者还患有糖尿病和/或心血管病症。

28.根据权利要求1至27中任一权利要求所述的方法,其中所述患者处于产生影响所述肾脏、肺、心脏和皮肤中的一或多者的有害作用的风险。

29.根据权利要求1至28中任一权利要求所述的方法,其中所述患者为2-17岁。

30.根据权利要求1至28中任一权利要求所述的方法,其中所述患者为18-54岁。

31.根据权利要求1至28中任一权利要求所述的方法,其中所述患者为65岁或更大。

32.根据权利要求1至31中任一权利要求所述的方法,其中所述患者已经进行了肝脏移植。

33.根据权利要求1至32中任一权利要求所述的方法,其中所述患者的碱性磷酸酶、γ-谷氨酰转移酶(GGT)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和/或天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平升高。

34.根据权利要求1至33中任一权利要求所述的方法,其中所述方法不包含施用抗组胺剂、免疫抑制剂、类固醇、利福平、阿片类拮抗剂或选择性血清素重摄取抑制剂(SSRI)。

35.根据权利要求1至34中任一权利要求所述的方法,其中所述患者的NAS评分降低。

36.根据权利要求1至35中任一权利要求所述的方法,其中TGR5信号传导未活化。

37.根据权利要求1至36中任一权利要求所述的方法,其中纤维化标记物的表达水平降低。

38.根据权利要求1至37中任一权利要求所述的方法,其中Ccr2、Col1a1、Col1a2、Col1a3、Cxcr3、Dcn、Hgf、Il1a、Inhbe、Lox、Loxl1、Loxl2、Loxl3、Mmp2、Pdgfb、Plau、Serpine1、Perpinh1、Snai、Tgfb1、Tgfb3、Thbs1、Thbs2、Timp2和/或Timp3的表达水平降低。

39.根据权利要求1至38中任一权利要求所述的方法,其中肝脏炎症标记物的表达水平降低。

40.根据权利要求1至39中任一权利要求所述的方法,其中Adgre1、Ccr2、Ccr5、Il1A和/或Tlr4的水平降低。

治疗肝脏病症

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求于2019年11月8日提交的美国临时申请第62/933,277号和2020年4月2日提交的美国临时申请第63/004,403号的优先权,以上申请中的每一者的内容以全文引用的方式并入本文中。

技术领域

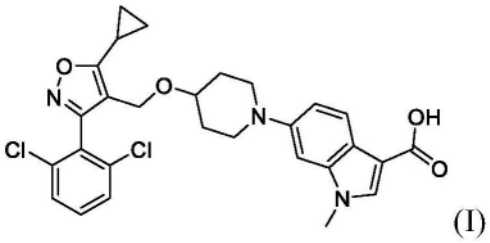
[0003] 本发明涉及用于治疗患者的肝脏病症的方法和组合物。

背景技术

[0004] 脂肪肝病(FLD)涵盖一系列疾病状态,其特征为脂肪在肝脏中过量积累,常常伴有炎症。FLD可引起特征可为胰岛素抗性的非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。如果不经治疗,NAFLD可能发展为持续性发炎性反应或非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、进行性肝纤维化并最终发展为肝硬化。在欧洲和美国,NAFLD是肝脏移植的第二大常见原因。因此,迫切需要治疗,但由于患者没有明显的症状,患者可能缺乏维持治疗方案的动力,尤其是繁重的治疗方案,如注射药品、一天多次施用的药物或产生危险或刺激副作用的任何治疗方案。目前还没有经批准的NASH疗法。

发明内容

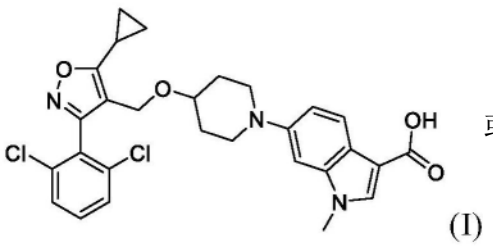
[0005] 本文提供治疗有需要的患者的肝脏病症的方法,其包含施用治疗有效量的式(I)化合物

[0006] 

(I)

[0007] 或其药学上可接受的盐,其中肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

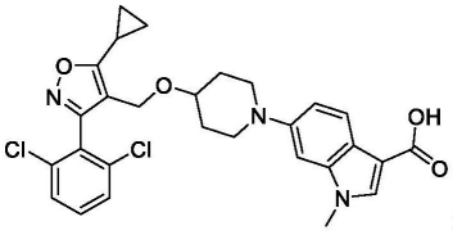
[0008] 本文还提供用类法尼醇X受体(FXR)激动剂治疗有需要的患者的肝脏病症的方法,其包含施用治疗有效量的FXR激动剂,其中FXR激动剂是式(I)化合物

[0009] 

(I) 或其药学上可接受的盐,并且其中患者已中断

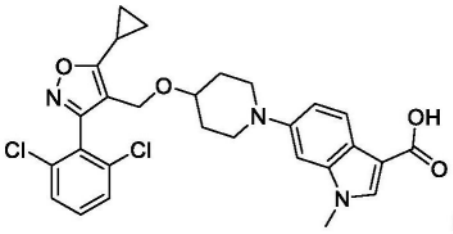
一种或多种使用除式(I)化合物或其药学上可接受的盐以外的另一FXR激动剂的先前疗法，其中肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。在一些实施例中，患者在一种或多种先前疗法期间遭受瘙痒。

[0010] 本文还提供在有需要的患者中阻碍或减缓非酒精性脂肪肝病(NAFLD)向非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的进展的方法，其包含施用治疗有效量的式(I)化合物

[0011]  或其药学上可接受的盐。

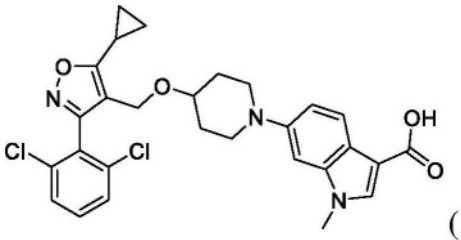
(I)

[0012] 本文还提供在有需要的患者中阻碍或减缓NASH的进展的方法，其包含施用治疗有效量的式(I)化合物

[0013]  或其药学上可接受的盐。

(I)

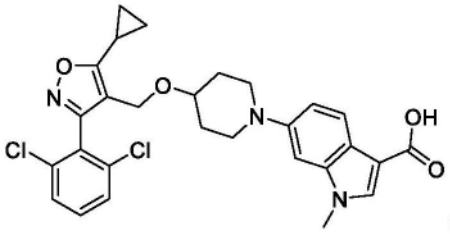
[0014] 本文还提供用类法尼醇X受体(FXR)激动剂治疗有需要的患者的肝脏病症的方法，所述激动剂相比于肾脏、肺、心脏和皮肤组织中的一或多者优先集中于肝脏组织中，所述方法包含施用治疗有效量的FXR激动剂，其中FXR激动剂是式(I)化合物

[0015]  或其药学上可接受的盐，其中肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

(I)

[0016] 在一些实施例中，施用不导致患者的瘙痒严重程度超过2级。在一些实施例中，施用不导致患者的瘙痒严重程度超过1级。在一些实施例中，施用不在患者中导致瘙痒。

[0017] 本文还提供在有需要的患者中用不导致可检测到的瘙痒的FXR激动剂治疗肝脏病症的方法，所述方法包含施用治疗有效量的FXR激动剂，其中FXR激动剂是式(I)化合物

[0018]  (I) 或其药学上可接受的盐，其中肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0019] 在一些实施例中，肝脏病症是NAFLD。在一些实施例中，肝脏病症是NASH。在一些实施例中，肝脏病症是PSC。在一些实施例中，肝脏病症是PBC。

[0020] 在一些实施例中，施用使得式(I)化合物的肝脏浓度与血浆浓度比为10或更大。

[0021] 在一些实施例中，治疗有效量是0.5μg/天-600mg/天。在一些实施例中，治疗有效量是0.5μg/天-20mg/天。在一些实施例中，治疗有效量是0.5μg/天-4mg/天。

[0022] 在一些实施例中，施用包含每日施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐持续一周或多周的治疗时间段。在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐每日施用一次或每日施用两次。在一些实施例中，在治疗时间段的第1天施用的式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量大于或等于在治疗时间段的所有后续数天施用的量。在一些实施例中，在治疗时间段的第1天施用的式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量等于在治疗时间段的所有后续数天施用的量。在一些实施例中，治疗时间段是一个或多个月。在一些实施例中，治疗时间段是患者的剩余寿命。

[0023] 在一些实施例中，患者为肥胖的。在一些实施例中，患者不为肥胖的。在一些实施例中，患者还患有糖尿病和/或心血管病症。在一些实施例中，患者处于产生影响肾脏、肺、心脏和皮肤中的一或多者的有害作用的风险。在一些实施例中，患者为2-17岁。在一些实施例中，患者为18-54岁。在一些实施例中，患者为65岁或更大。在一些实施例中，患者已经进行了肝脏移植。在一些实施例中，患者的碱性磷酸酶、γ-谷氨酰转移酶(GGT)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和/或天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平升高。

[0024] 在一些实施例中，所述方法不包含施用抗组胺剂、免疫抑制剂、类固醇、利福平(rifampicin)、阿片类拮抗剂或选择性血清素重摄取抑制剂(SSRI)。

[0025] 在一些实施例中，患者的NAS评分在施用后降低。在一些实施例中，TGR5信号传导在施用后未活化。

[0026] 在一些实施例中，施用引起纤维化标记物的表达水平降低。在一些实施例中，Ccr2、Col1a1、Col1a2、Col1a3、Cxcr3、Dcn、Hgf、Il1a、Inhbe、Lox、Loxl1、Loxl2、Loxl3、Mmp2、Pdgfb、Plau、Serpine1、Perpinh1、Snai、Tgfb1、Tgfb3、Thbs1、Thbs2、Timp2和/或Timp3的表达水平降低。

[0027] 在一些实施例中，施用引起肝脏炎症标记物的表达水平降低。在一些实施例中，Adgre1、Ccr2、Ccr5、Il1A和/或Tlr4的水平降低。

附图说明

[0028] 图1A展示在向大鼠(1mg/kg)、犬(1mg/kg)和猴(0.3mg/kg)静脉内(IV)施用之后的

各个时间点的化合物I的血浆浓度。

[0029] 图1B展示在向小鼠(10mg/kg)、大鼠(10mg/kg)、犬(3mg/kg)和猴(5mg/kg)经口施用之后的各个时间点的化合物I的血浆浓度。

[0030] 图2A展示在向史泊格-多利(Sprague-Dawley;SD)大鼠静脉内施用2mg/kg之后化合物I、奥贝胆酸(OCA)、西洛非索(cilofexor)或卓匹非索(tropifexor)浓度的肝脏与血浆比率。

[0031] 图2B展示在具有或不具有共施用利福平情况下向SD大鼠静脉内施用2mg/kg之后，对于肾脏、肺和肝脏，化合物I浓度的组织与血浆比。

[0032] 图3展示在向长埃文斯(Long-Evans)大鼠经口施用5mg/kg化合物I之后经放射性标记的化合物I在血浆、肝脏、小肠、盲肠、肾脏、肺、心脏和皮肤中的组织分布。

[0033] 图4展示在向食蟹猴(cynomolgus monkey)施用0.3mg/kg、1mg/kg或5mg/kg口服剂量之后化合物I施用的药效动力学，如根据7-α-羟基-4-胆甾烯-3-酮(7α-C4)所测量。

[0034] 图5A展示在向食蟹猴施用1mg/kg口服剂量持续一天或7个连续每日剂量之后化合物I施用的药代动力学。

[0035] 图5B展示在向食蟹猴施用1mg/kg口服剂量持续一天或7个连续每日剂量之后化合物I施用的药效动力学，如根据7-α-羟基-4-胆甾烯-3-酮(7α-C4)所测量。

[0036] 图6展示在向C5BL/6小鼠施用10mg/kg化合物I、30mg/kg OCA或媒剂对照之后测量肝脏SHP1、肝脏OSTb、回肠SHP1和回肠FGF15 RNA表达的RT-qPCR结果。

[0037] 图7A展示通过向C5BL/6小鼠施用10mg/kg化合物I(500个总基因经调节)或30mg/kg OCA(44个总基因经调节)调节的差异表达基因的数目(相对于经媒剂处理的:倍数变化>1.5倍;$p<0.05$)，以及由两种化合物调节的共有数目个差异表达基因(37个总基因)。

[0038] 图7B展示在用10mg/kg化合物I或30mg/kg OCA或媒剂对照处理的C5BL/6小鼠中所选FXR相关基因的平均表达水平(如由CPM值所示)。

[0039] 图7C展示通过向C5BL/6小鼠施用10mg/kg化合物I(32个路径)或30mg/kg OCA(6个路径)富集的路径的数目($p<0.05$)，以及通过任一化合物(2个路径)富集的路径的数目。

[0040] 图7D展示在向C57BL/6小鼠施用10mg/kg化合物I后统计学上最富集的25个路径，且将那些路径的富集与施用30mg/kg OCA后的富集进行比较。

[0041] 图8展示测试化合物I对NASH小鼠模型的功效的研究的设计。

[0042] 图9展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的小鼠的NAFLD活动性评分(NAS)。

[0043] 图10A展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的脂肪变性评分。

[0044] 图10B展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的炎症评分。

[0045] 图10C展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的气球样变性评分。

[0046] 图11A展示对照小鼠和用100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠中的纤维化的组织切片。

[0047] 图11B展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠中的纤维化的量。

[0048] 图12A展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平。

[0049] 图12B展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的天冬氨酸氨基转移酶(AST)。

[0050] 图12C展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的血清甘油三酯水平。

[0051] 图12D展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的血清总胆固醇水平。

[0052] 图13A展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的活体甘油三酯水平。

[0053] 图13B展示对照小鼠和用100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的脂肪变性评估的代表性组织学。

[0054] 图14A展示对照小鼠和用10、30和100mg/kg化合物I处理的NASH小鼠的肝脏中的COL1A表达。

[0055] 图14B展示对照小鼠和用30mg/kg化合物I处理的NASH小鼠中的炎症基因的表达水平。

[0056] 图14C展示对照小鼠和用30mg/kg化合物I处理的NASH小鼠中的纤维化基因的表达。

[0057] 图15A和15B分别展示在施用化合物I之后第1天和第7天在不同给药组中的化合物I的平均血清浓度。

[0058] 图16A和16B分别展示在施用化合物I或安慰剂之后第1天和第7天在不同给药组中的7α-C4相对于给药前基线的平均血清水平的变化。

[0059] 图17A和17B分别展示在施用化合物I或安慰剂之后第1天和第7天在不同给药组中的FGF-19相对于给药前基线的平均血清水平的变化。

[0060] 图18展示在施用化合物I或安慰剂之后,在不同给药组中低密度脂蛋白(LDL)相对于给药前基线的平均血清水平的变化。

具体实施方式

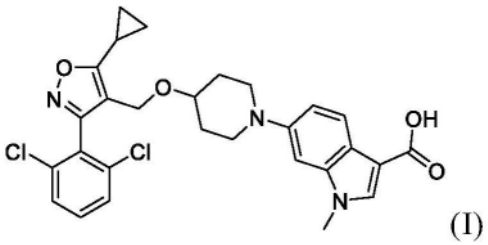
[0061] 脂肪肝病(FLD)涵盖一系列疾病病况,其特征为脂肪在肝脏中过量积累,常常伴有炎症。FLD可引起特征可为胰岛素抗性的非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。如果不经治疗,NAFLD可能发展为持续性发炎性反应或非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、进行性肝纤维化并最终发展为肝硬化。

[0062] 脂肪肝病(如NAFLD和NASH)通常是无症状的或症状可能是不明确的且难以由患者定义。然而,在欧洲和美国,NAFLD是肝脏移植的第二最常见原因。因此,迫切需要治疗,但由于缺乏对于患者显而易见的症状,患者可能缺乏维持治疗方案的动机,尤其繁重的治疗方案,如注射药品、一天多次施用的药物或产生危险或刺激副作用的任何治疗方案。

[0063] 类法尼醇X受体(FXR)是控制胆固醇向胆酸转化并且维持多种代谢路径的内稳定的核激素受体,并且因此被视为NASH的重要临床目标。然而,FXR激动剂,如西洛非索、卓匹非索、奥贝胆酸(OCALIVA®)和ED-305(Enanta)均已报告瘙痒作为副作用。瘙痒可以引起

患者不适、降低患者生活质量并且影响对治疗方案的遵从性，这对于需要长期药物施用的病状可能尤其成问题。

[0064] 本文提供用于治疗有需要的患者的肝脏病症的方法和组合物。在一些实施例中，治疗不产生瘙痒。在一些实施例中，所述治疗与使用选自由奥贝胆酸(OCA)、西洛非索或卓匹非索组成的群组的FXR激动剂的相应治疗相关的瘙痒相比，产生的瘙痒较少。在一些实施例中，所述方法包含向患者施用治疗有效量的式(I)化合物：

[0065] 

(I)

[0066] 或其药学上可接受的盐或对映异构体。在一些实施例中，所述方法包含向患者施用治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐或对映异构体以及治疗有效量的另一种药剂。式(I)化合物公开于US 2010/0152166中，其内容以全文引用的方式并入，并且确切地说，关于式(I)化合物或其药学上可接受的盐或对映异构体，以及制备和使用前述的方法。

[0067] 在某些实施例中，肝脏病症为肝脏炎症、纤维化或脂肪性肝炎。在某些实施例中，肝脏病症选自：肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、NAFLD和NASH。在一些实施例中，肝脏病症是NASH。在一些实施例中，肝脏病症是肝脏炎症。在一些实施例中，肝脏病症是肝纤维化。在一些实施例中，肝脏病症是酒精诱导的纤维化。在一些实施例中，肝脏病症是脂肪变性。在一些实施例中，肝脏病症是酒精性脂肪变性。在一些实施例中，肝脏病症是NAFLD。在一些实施例中，肝脏病症是原发性硬化性胆管炎(PSC)。在一些实施例中，肝脏病症是原发性胆汁性肝硬化(PBC)。

[0068] 本文还提供阻碍或减缓NAFLD向NASH的进展的方法。在一些实施例中，本文提供阻碍或减缓NASH的进展的方法。NASH可能例如发展为肝硬化、肝癌等中的一或多者。

[0069] 定义

[0070] 如本文中所用，除非另外指示，否则以下定义应适用。此外，如果本文中所用的任何术语或符号不如下文所阐述被定义，那么其在所属领域中将具有其普通含义。

[0071] “包含”打算意指组合物和方法包括所叙述的要素，但不排除其它要素。“基本上由……组成”在用于定义组合物和方法时应当意味着排除对组合具有任何重要意义的其它要素。举例来说，基本上由如本文中所定义的要素组成的组合物不排除不会对要求保护的发明的一个或多个基本特征和新颖特征产生显著影响的其它要素。“由……组成”应当意味着排除超过痕量的例如其它成分和所叙述的大量方法步骤。由这些过渡术语中的每一个限定的实施例处于本发明的范围内。

[0072] “组合疗法”或“组合治疗”是指在治疗中使用两种或更多种药物或药剂，例如使用式(I)化合物以及可用于治疗肝脏病症如NAFLD、NASH以及其各自的症状和表现的第二药剂为组合疗法。以“组合”施用是指以两种药剂的药理学作用同时在患者中显现的任何方式施用两种药剂(例如式(I)化合物和第二药剂)。因此，以组合施用不需要使用单一药物组合

物、相同剂型或甚至相同施用途径用于施用两种药剂，也不需要两种药剂精确地同时施用。两种药剂还可调配于单一药学上可接受的组合物中。此类单一组合物的非限制性实例为口服组合物或口服剂型。举例来说，并且不限于，经考虑式(I)化合物可以与根据本公开的第二药剂的组合疗法施用。

[0073] 如本文所使用，“第二药剂”是指除式(I)化合物之外并且可用于本文所描述的方法中的药剂。术语第二意指将所述药剂与式(I)化合物或其药学上可接受的盐或对映异构体区分的术语，并且不打算表示施用顺序。

[0074] 如本文所使用，术语“赋形剂”意指可以用于药物或药品生产的惰性或非活跃物质，如含有本发明化合物作为活性成分的片剂。术语赋形剂可以涵盖各种物质，包括但不限于用作粘合剂、崩解剂、包衣剂、压缩/包囊助剂、乳膏或洗剂、润滑剂、肠胃外施用溶液、用于咀嚼片剂的材料、甜味剂或调味剂、悬浮剂/胶凝剂或湿式造粒剂等的任何物质。粘合剂包括例如卡波姆(carbomers)、聚维酮、黄原胶等；包衣包括例如邻苯二甲酸乙酸纤维素、乙基纤维素、结冷胶、麦芽糊精、肠溶包衣等；压缩/囊封助剂包括例如碳酸钙、右旋糖、果糖dc(dc＝“直接可压缩”)、蜂蜜dc、乳糖(无水或单水合物；任选地与阿斯巴甜糖(aspartame)、纤维素或微晶纤维素组合)、淀粉dc、蔗糖等；崩解剂包括例如交联羧甲基纤维素钠、结冷胶、羟基乙酸淀粉钠等；乳膏或洗剂包括例如麦芽糊精、角叉菜胶等；润滑剂包括例如硬脂酸镁、硬脂酸、硬脂酰富马酸钠等；用于咀嚼片剂的材料包括例如右旋糖、果糖dc、乳糖(单水合物，任选地与阿斯巴甜糖或纤维素组合)等；悬浮剂/胶凝剂包括例如角叉菜胶、羟基乙酸淀粉钠、黄原胶等；甜味剂包括例如阿斯巴甜糖、右旋糖、果糖dc、山梨糖醇、蔗糖dc等；以及湿式造粒剂包括例如碳酸钙、麦芽糊精、微晶纤维素等。

[0075] “患者”是指哺乳动物并且包括人类和非人类哺乳动物。患者实例包括但不限于小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠、猪、兔、猫、犬、山羊、绵羊、母牛和人类。在一些实施例中，患者是指人类。

[0076] “药学上可接受的”是指安全并且无毒，优选地用于体内，更优选地用于人类施用。

[0077] “药学上可接受的盐”是指盐为药学上可接受的。本文所述的化合物可以作为药学上可接受的盐施用。

[0078] “盐”是指在酸与碱之间形成的离子化合物。当本文所提供的化合物含有酸性官能团时，此类盐包括但不限于碱金属盐、碱土金属盐和铵盐。如本文所用，铵盐包括含有质子化氮碱和烷基化氮碱的盐。适用于药学上可接受的盐的示范性和非限制性阳离子包括Na、K、Rb、Cs、NH_4、Ca、Ba、咪唑鎓和基于天然存在的氨基酸的铵阳离子。当本文所利用的化合物含有碱性官能团时，此类盐包括但不限于有机酸(如羧酸和磺酸)的盐以及无机酸(如卤化氢、硫酸、磷酸等)的盐。适用于药学上可接受的盐的示范性和非限制性阴离子包括草酸盐、马来酸盐、乙酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、氯化物、硫酸盐、硫酸氢盐、单碱式磷酸盐、二碱式磷酸盐和三碱式磷酸盐、甲磺酸盐、甲苯磺酸盐等。

[0079] 化合物或组合物的“治疗有效量”或剂量是指引起症状减轻或抑制症状或延长患者存活期的化合物或组合物的量。结果可能需要多次剂量的化合物或组合物。

[0080] “治疗”患者的疾病或患者疾病的“治疗”是指1)预防易患所述疾病或尚未显示所述疾病的症状的患者发生疾病；2)抑制疾病或阻止其发展；或3)缓解疾病或促使疾病消退。

[0081] 如整个说明书中所用的术语“任选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情况可

能但未必会发生，并且描述包括其中事件或情况发生的情形和不发生的情形。举例来说，“氮原子经任选氧化以提供N-氧化物(N→O)部分”意指氮原子可但不需要经氧化，且所述描述包括氮原子未经氧化的情形和氮原子经氧化的情形。

[0082] 使用方法和用途

[0083] 本文提供治疗有需要的患者(例如人类患者)的肝脏病症的方法，其包含施用治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐，其中肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。本文还提供在有需要的患者(例如人类患者)中用FXR激动剂治疗肝脏病症的方法，其包含施用治疗有效量的FXR激动剂，其中FXR激动剂是式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0084] 在一些实施例中，肝脏病症是NAFLD或NASH。在一些实施例中，肝脏病症是NAFLD。在一些实施例中，肝脏病症是NASH。在一些实施例中，患者已经进行了肝脏活检。在一些实施例中，方法进一步包含获得肝脏活检的结果。

[0085] 本文还提供在有需要的患者(例如人类患者)中阻碍或减缓非酒精性脂肪肝病(NAFLD)向非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的进展的方法，其包含施用治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。本文还提供在有需要的患者(例如人类患者)中阻碍或减缓NASH的进展的方法，其包含施用治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0086] 如本文所描述的实例中所展现的式(I)化合物优选地分布到肝脏中，在不受理论束缚的情况下，其将允许所述化合物在较少脱靶有害作用情况下在肝脏中到达其FXR目标。举例来说，本文中的实例展示式(I)化合物在肝脏中的浓度比在血浆、肾脏、肺、心脏和皮肤中的浓度高大致20倍。此特性将可能对弱势群体(如儿童、老年人和具有并存病的人)尤其有益。

[0087] 此外，瘙痒是经充分证实的若干FXR激动剂的有害作用且可能导致患者不适、患者生活质量的降低和停止治疗的可能性的增加。瘙痒对于可能长期施用药物的适应症(如本文所描述的那些适应症，包括NASH)尤其烦累。式(I)化合物的组织特异性、尤其对肝脏超过皮肤组织的偏好是惊人且不可预测的观测结果，其使得所述化合物将更有可能不会在皮肤中引起瘙痒，这一理论迄今已被人体试验证实。

[0088] 因此，本文提供用类法尼醇X受体(FXR)激动剂治疗有需要的患者(例如人类患者)的肝脏病症的方法，所述激动剂相比于肾脏、肺、心脏和皮肤组织中的一或多者优先分布于肝脏组织中，所述方法包含施用治疗有效量的FXR激动剂，其中FXR激动剂是式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0089] 在一些实施例中，本文提供用类法尼醇X受体(FXR)激动剂(如式(I)化合物或其药学上可接受的盐)治疗有需要的患者的肝脏病症的方法，其中FXR激动剂不活化TGR5信号传导。在一些实施例中，FXR调节基因的水平增加。在一些实施例中，小异二聚体搭配物(SHP)、胆盐输出泵(BSEP)和成纤维细胞生长因子19(FGF-19)的水平增加。在一些实施例中，肝脏病症是NASH。

[0090] 在一些实施例中，本文提供一种减少肝损伤的方法，其包含向有需要的个体施用FXR激动剂(如式(I)化合物或其药学上可接受的盐)。在一些实施例中，纤维化减少。在一些实施例中，纤维化的一个或多个标记物的表达水平降低。在一些实施例中，Ccr2、Col1a1、

Col1a2、Col1a3、Cxcr3、Dcn、Hgf、Il1a、Inhbe、Lox、Loxl1、Loxl2、Loxl3、Mmp2、pdgfb、Plau、Serpine1、Perpinh1、Snai、Tgfb1、Tgfb3、Thbs1、Thbs2、Timp2和/或Timp3表达的水平降低。在一些实施例中，胶原蛋白的水平降低。在一些实施例中，胶原蛋白片段的水平降低。在一些实施例中，纤维化标记物的表达水平降低至少2倍、至少3倍、至少4倍或至少5倍。在一些实施例中，纤维化标记物的表达水平降低约2倍、约3倍、约4倍或约5倍。

[0091] 在一些实施例中，本文提供一种减少肝损伤的方法，其包含向有需要的个体施用FXR激动剂(如式(I)化合物或其药学上可接受的盐)。在一些实施例中，炎症减少。在一些实施例中，炎症的一个或多个标记物减少。在一些实施例中，Adgre1、Ccr2、Ccr5、Il1A和/或Tlr4的表达水平降低。在一些实施例中，炎症标记物的表达水平降低至少2倍、至少3倍、至少4倍或至少5倍。在一些实施例中，纤维化标记物的表达水平降低约2倍、约3倍、约4倍或约5倍。

[0092] 在一些实施例中，施用使得式(I)化合物的肝脏浓度与血浆浓度比为10或更大，如11或更大、12或更大、13或更大、14或更大或15或更大。

[0093] 在一些实施例中，施用不导致患者的瘙痒严重程度超过2级。在一些实施例中，施用不导致患者的瘙痒严重程度超过1级。在一些实施例中，施用不在患者中导致瘙痒。有害作用的分级是已知的。根据《不良事件通用术语标准(Common Terminology Criteria for Adverse Events)》第5版(2017年11月27日出版)，1级瘙痒的特征为“轻度或局部;指定局部干预。”2级瘙痒的特征为“广泛且间歇性;抓挠引起的皮肤变化(例如，水肿、丘疹、表皮脱落、苔藓样变、渗泌/结痂);指定口服干预;限制工具性ADL。”3级瘙痒的特征为“广泛且持续;限制自身护理ADL或睡眠;指定全身性皮质类固醇或免疫抑制疗法。”日常生活活动(ADL)划分为两个类别:“工具性ADL是指准备食物、购买杂货或衣服、使用电话、理财等”和“自身护理ADL是指洗澡、穿衣和脱衣、自我进食、如厕、服药和不卧床不起。”

[0094] 因此，本文还提供在有需要的患者(例如人类患者)中用在有需要的患者中不导致可检测到的瘙痒的FXR激动剂治疗肝脏病症的方法，所述方法包含向有需要的患者施用治疗有效量的FXR激动剂，其中FXR激动剂是式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0095] 在一些实施例中，患者是人类。肥胖症与NAFLD和NASH高度相关，但偏瘦的人也可能受NAFLD和NASH影响。因此，在一些实施例中，患者为肥胖的。在一些实施例中，患者不为肥胖的。肥胖症还可与其它疾病相关或还引起其它疾病，如糖尿病或心血管病症。因此，在一些实施例中，患者还患有糖尿病和/或心血管病症。在不受理论束缚的情况下，认为并存病，如肥胖症、糖尿病和心血管病症可能使NAFLD和NASH更难以治疗。相反，目前唯一公认的解决NAFLD和NASH的方法是减肥，这可能对偏瘦患者几乎没有影响。

[0096] NAFLD和NASH的风险随着年龄增加而增加，但儿童也可能罹患NAFLD和NASH，其中文献报告年龄为2岁的儿童(施维默(Schwimmer)等人，《儿科(Pediatrics)》，2006，118:1388-1393)。在一些实施例中，患者为2-17岁，如2-10岁、2-6岁、2-4岁、4-15岁、4-8岁、6-15岁、6-10岁、8-17岁、8-15岁、8-12岁、10-17岁或13-17岁。在一些实施例中，患者为18-64岁，如18-55岁、18-40岁、18-30岁、18-26岁、18-21岁、21-64岁、21-55岁、21-40岁、21-30岁、21-26岁、26-64岁、26-55岁、26-40岁、26-30岁、30-64岁、30-55岁、30-40岁、40-64岁、40-55岁或55-64岁。在一些实施例中，患者为65岁或更大，如70岁或更大、80岁或更大或90岁或更大。

[0097] NAFLD和NASH为肝脏移植的常见原因，但已经接受一次肝脏移植的患者通常再次出现NAFLD和/或NASH。因此，在一些实施例中，患者已经进行了肝脏移植。

[0098] 在一些实施例中，患者的碱性磷酸酶、γ-谷氨酰转移酶(GGT)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和/或天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平升高。在一些实施例中，GGT、ALT和/或AST水平在用式(I)化合物或其药学上可接受的盐处理之前升高。在一些实施例中，患者的ALT水平超过正常水平上限的约2-4倍。在一些实施例中，患者的AST水平超过正常水平上限的约2-4倍。在一些实施例中，患者的GGT水平超过正常水平上限的约1.5-3倍。在一些实施例中，患者的碱性磷酸酶水平超过正常水平上限的约1.5-3倍。测定这些分子的水平的方法为众所周知的。血液中ALT的正常水平在约7-56单位/升范围内。血液中的AST的正常水平在约10-40单位/升范围内。血液中GGT的正常水平在约9-48单位/升范围内。对于20岁到50岁的男性来说，血液中碱性磷酸酶的正常水平在约53-128单位/升范围内，而对于20岁到50岁的女性来说，血液中碱性磷酸酶的正常水平在约42-98单位/升范围内。

[0099] 因此，在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐在具有升高的AST、ALT和/或GGT水平的个体中降低AST、ALT和/或GGT的水平。在一些实施例中，ALT的水平降低至少2倍、至少3倍、至少4倍或至少5倍。在一些实施例中，ALT的水平降低约2倍至约5倍。在一些实施例中，AST的水平降低至少2倍、至少3倍、至少4倍或至少5倍。在一些实施例中，AST的水平降低约1.5倍至约3倍。在一些实施例中，GGT的水平降低至少2倍、至少3倍、至少4倍或至少5倍。在一些实施例中，GGT的水平降低约1.5倍至约3倍。

[0100] 在一些实施例中，向个体施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐不显著改变个体中低密度脂蛋白(LDL)的水平(例如LDL的血清水平)。

[0101] 在一些实施例中，向个体施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐导致NAFLD活动性(NAS)评分降低。例如，在一些实施例中，在治疗后脂肪变性、炎症和/或气球样变性减少。在一些实施例中，本文所公开的化合物减少肝纤维化。在一些实施例中，化合物减少血清甘油三酯。在一些实施例中，化合物减少肝脏甘油三酯。

[0102] 在一些实施例中，在施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐之前，患者处于产生有害作用的风险。在一些实施例中，有害作用为影响肾脏、肺、心脏和/或皮肤的有害作用。在一些实施例中，有害作用为瘙痒。

[0103] 在一些实施例中，患者已经接受了一种或多种先前疗法。在一些实施例中，肝脏病症在疗法期间有进展。在一些实施例中，患者已经接受了一种或多种使用除式(I)化合物或其药学上可接受的盐以外的另一FXR激动剂的先前疗法。在一些实施例中，患者在一种或多种先前疗法中的至少一种期间遭受瘙痒。

[0104] 在一些实施例中，治疗有效量低于诱导患者的有害作用的水平，如低于诱导瘙痒的水平，如2级或3级瘙痒。

[0105] 在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为500μg/天-600mg/天。在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为500μg/天-300mg/天。在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为500μg/天-150mg/天。在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为500μg/天-100mg/天。在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为500μg/天-20mg/天。在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为

1mg/天-600mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为1mg/天-300mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为1mg/天-150mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为1mg/天-100mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为1mg/天-20mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为5mg/天-300mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为5mg/天-150mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为5mg/天-100mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为5mg/天-20mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为5mg/天-15mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为25mg/天-300mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为25mg/天-150mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为25mg/天-100mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为500μg/天-5mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为500μg/天-4mg/天。在一些实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为5mg/天-600mg/天。在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为75mg/天-600mg/天。

[0106] 在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为约1mg/天。在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为约2mg/天。在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为约5mg/天。在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为约10mg/天。在另一实施例中,治疗有效量为约15mg/天。在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为约25mg/天。在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为约75mg/天。在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为约200mg/天。在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为约400mg/天。在另一实施例中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为约600mg/天。

[0107] 在一些实施例中,施用包含每日施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐持续一周或多周的治疗时间段。在一些实施例中,施用包含每日两次施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐持续一周或多周的治疗时间段。在一些实施例中,施用包含每隔一天施用式(I)化合物或其药学上可接受的盐持续一周或多周的治疗时间段。

[0108] 在一些实施例中,在治疗时间段的第1天施用的式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量大于或等于在治疗时间段的所有后续数天施用的量。在一些实施例中,在治疗时间段的第1天施用的式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量等于在治疗时间段的所有后续数天施用的量。

[0109] 在一些实施例中,治疗时间段为至少1周、2周、3周、4周、5周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、1年、2年、3年、4年或更长时间。在一些实施例中,治疗时间段为约一周至约一个月、约一个月至约一年、约一年至约若干年。在一些实施例中,治疗时间段为约1周、2周、3周、4周、5周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、1年、2年、3年、4年或更长

时间中的至少任一者。在一些实施例中，治疗时间段是患者的剩余寿命。

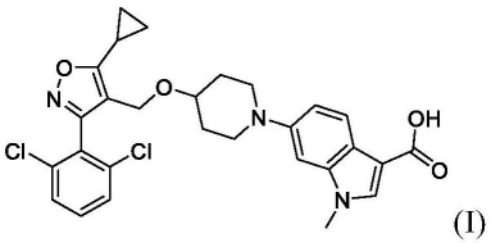
[0110] 在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐与利福平一起施用。在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐作为单一疗法施用，即在不存在另一药剂的情况下施用，所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐：在有需要的患者中可用于治疗或基本上治疗肝脏病症、阻碍或减缓非酒精性脂肪肝病(NAFLD)向非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的进展；或阻碍或减缓NASH的进展。在一些实施例中，所述方法不包含治疗患者的瘙痒。在一些实施例中，所述方法不包含施用抗组胺剂、免疫抑制剂、类固醇(如皮质类固醇)、利福平、阿片类拮抗剂或选择性血清素重摄取抑制剂(SSRI)。

[0111] 在一些实施例中，治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐每日施用一次。在一些实施例中，治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐每日施用两次。在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量为每患者每日两次75mg-200mg。在一些实施例中，式(I)化合物或其药学上可接受的盐作为包含至少一种药学上可接受的赋形剂、载剂或稀释剂的药学上可接受的组合物施用。

[0112] 在一些实施例中，施用调节以下中的一或多者：代谢路径、胆汁分泌、视黄醇代谢、药物代谢-细胞色素P450、脂肪消化和吸收、甘油脂质代谢、化学致癌作用、甘油磷脂代谢、烟碱成瘾、亚油酸代谢、ABC转运蛋白、通过细胞色素P450的异种代谢、鞘脂代谢、谷胱甘肽代谢、叶酸生物合成、吗啡成瘾、鞘糖脂生物合成-乳糖和新乳糖系列、花生四烯酸代谢、酪氨酸代谢、年轻人成年型糖尿病、DNA复制、胆固醇代谢、药物代谢-其它酶和醚脂质代谢。在一些实施例中，施用调节以下中的一或多者：代谢路径、视黄醇代谢、脂肪消化和吸收、甘油脂质代谢、化学致癌作用、甘油磷脂代谢、ABC转运蛋白、通过细胞色素P450的异种代谢、鞘脂代谢、谷胱甘肽代谢、叶酸生物合成和吗啡成瘾。在一些实施例中，施用调节以下中的一或多者的表达：Abcb4、Apoa5、Cyp7a1、Cyp8b1、Nr0b2和Sic51b。

[0113] 化合物

[0114] 在一些实施例中，本文所利用的化合物具有式(I)：

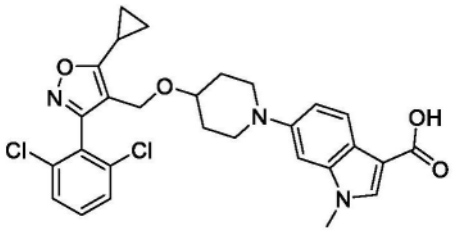
[0115] 

(I)

[0116] 或其互变异构体，或其各自的同位素体，或前述的对映异构体或非对映异构体，或以上中的每一者的药学上可接受的盐。在一些实施例中，本文所利用的化合物是式(I)化合物。在一些实施例中，本文所利用的化合物是式(I)化合物的药学上可接受的盐。

[0117] 本文所利用的化合物可以通过本领域中已知的多种逐步程序的组合来制备，所述逐步程序如例如US 2010/0152166(以引用的方式并入本文中)中已知。

[0118] 在一些实施例中，式(I)化合物是6-{4-[5-环丙基-3-(2,6-二氯-苯基)-异噁唑-4-基甲氧基]-哌啶-1-基}-1-甲基-1H-吲哚-3-羧酸：

[0119] 

[0120] 或其药学上可接受的盐或对映异构体。

[0121] 组合物

[0122] 如本文中详述的化合物在一些方面可呈纯化形式，并且本文中详述包含呈纯化形式的化合物的组合物。提供包含如本文中详述的化合物或其盐的组合物，如含基本上纯的化合物的组合物。在一些实施例中，含有如本文中详述的化合物或其盐的组合物呈基本上纯的形式。在一种变化形式中，“基本上纯”意在指一种组合物不含超过35％的杂质，其中所述杂质表示除占所述组合物相当大比例的化合物或其盐以外的化合物。举例来说，基本上纯的化合物的组合物意在指一种组合物不含超过35％的杂质，其中所述杂质表示除化合物或其盐以外的化合物。在一种变化形式中，提供了基本上纯化合物或其盐的组合物，其中所述组合物所含杂质不超过25％。在另一变化形式中，提供了基本上纯化合物或其盐的组合物，其中所述组合物所含杂质不超过20％。在又另一变化形式中，提供了基本上纯的化合物或其盐的组合物，其中所述组合物所含杂质不超过10％。在另一变化形式中，提供了基本上纯的化合物或其盐的组合物，其中所述组合物所含杂质不超过5％。在另一变化形式中，提供了基本上纯的化合物或其盐的组合物，其中所述组合物所含杂质不超过3％。在又另一变化形式中，提供了基本上纯的化合物或其盐的组合物，其中所述组合物所含杂质不超过1％。在另一变化形式中，提供了基本上纯化合物或其盐的组合物，其中所述组合物所含杂质不超过0.5％。在又其它变化形式中，基本上纯化合物的组合物意指所述组合物所含杂质不超过15％，如不超过10％、不超过5％、不超过3％或不超过1％，所述杂质可以是呈不同立体化学形式的化合物。举例来说，并且不限于，基本上纯的(S)化合物的组合物意指所述组合物含有不超过15％或不超过10％或不超过5％或不超过3％或不超过1％的(R)形式化合物。

[0123] 在一个变化形式中，本文的化合物是制备用于向个体(如人)施用的合成化合物。在另一变化形式中，提供了含有基本上纯的形式的化合物的组合物。在另一变化形式中，本公开涵盖包含本文中详述的化合物和药学上可接受的载剂或赋形剂的药物组合物。在另一变化形式中，本文提供适用于本文所提供的方法中的任一种的组合物或药物组合物。纯化形式、药物组合物和施用化合物的方法适用于本文详述的任何化合物或其形式。

[0124] 本公开涵盖本文中详述的任何化合物的药物组合物。因此，本公开包括包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载剂或赋形剂的药物组合物。在一个方面，药学上可接受的盐为酸加成盐，如与无机酸或有机酸形成的盐。根据本发明的药物组合物可以采取适合于口服、颊、肠胃外、鼻、局部或直肠施用的形式或适合于通过吸入施用的形式。

[0125] 所述化合物或药物组合物可被调配成用于任何可用的递送途径，包括口服、粘膜(例如鼻、舌下、阴道、颊内或直肠)、肠胃外(例如肌肉内、皮下或静脉内)、体表或透皮递送形式。化合物或药物组合物可与适合载剂一起调配以提供包括(但不限于)以下的递送形

式:片剂、囊片、胶囊(例如硬明胶胶囊或软弹性明胶胶囊)、扁囊剂、糖衣片、口含片、软糖、分散液、栓剂、软膏、巴布剂(泥罨剂)、糊剂、散剂、敷料、乳膏、溶液、贴片、气雾剂(例如鼻喷雾剂或吸入剂)、凝胶剂、悬浮液(例如水性或非水性液体悬浮液、水包油乳液或油包水液体乳液)、溶液和酏剂。

[0126] 本文所述的化合物可以用于制备组合物,如药物组合物,通过将所述化合物作为活性成分与药学上可接受的载剂(如上文所提及的那些载剂)组合来制备。根据系统的治疗形式(例如透皮贴片相对于口服片剂),载剂可呈不同形式。另外,药物组合物可含有防腐剂、增溶剂、稳定剂、再湿润剂、乳化剂、甜味剂、染料、调节剂以及用于调节渗透压的盐、缓冲剂、包衣剂或抗氧化剂。

[0127] 包含化合物的组合物还可含有其它物质,这些物质具有有价值的治疗特性。药物组合物可通过已知药学方法制备。适合的调配物可以发现于例如《雷明顿:制药科学和实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy)》,利平科特威廉姆斯和维尔金斯出版社(Lippincott Williams&Wilkins),第21版(2005),所述文献以引用的方式并入本文中。

[0128] 如本文所述的化合物可以以通常接受的口服组合物的形式(如片剂、包衣片剂和硬壳或软壳凝胶胶囊、乳剂或悬浮剂)形式施用至个体(例如,人)。可用于制备此类组合物的载剂的实例为乳糖、玉米淀粉或其衍生物、滑石、硬脂酸酯或其盐等。用于软壳凝胶胶囊的可接受的载剂是例如植物油、蜡、油脂、半固体和液体多元醇等。另外,药物调配物可以含有防腐剂、增溶剂、稳定剂、再湿润剂、乳化剂、甜味剂、染料、调节剂和用于调节渗透压的盐、缓冲剂、包衣剂或抗氧化剂。

[0129] 本文所述的任一种化合物可以所述的任何剂型调配成片剂。

[0130] 还描述了包含本文所提供的化合物的组合物。在一个变化形式中,组合物包含化合物和药学上可接受的载剂或赋形剂。在另一变化形式中,提供了基本上纯的化合物的组合物。

[0131] 在一些实施例中,本文提供药学上可接受的组合物,其包含式(I)化合物或其互变异构体,或其每一者的同位素体,或前述的对映异构体或非对映异构体,或以上中的每一者的药学上可接受的盐,和至少一种药学上可接受的赋形剂、载剂或稀释剂,用于在有需要的患者中治疗肝脏病症;用于阻碍或减缓非酒精性脂肪肝病(NAFLD)向非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的进展;或用于阻碍或减缓NASH的进展,其中肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、NAFLD和NASH。

[0132] 在一些实施例中,本文提供了本文所提供的药学上可接受的调配物的单位剂型。在一些实施例中,单位剂型包含治疗有效量的式(I)化合物。在一些实施例中,单位剂型包含治疗有效量的式(I)化合物和治疗有效量的另一药剂。在一些实施例中,单位剂型用于在有需要的患者中治疗肝脏病症;用于阻碍或减缓非酒精性脂肪肝病(NAFLD)向非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的进展;或用于阻碍或减缓NASH的进展,其中肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、NAFLD和NASH。

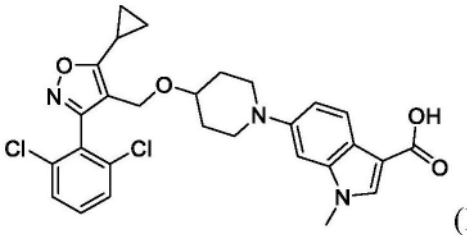
[0133] 本文还提供式(I)化合物或其药学上可接受的盐在制造药剂中的用途。在一些实

施例中，药剂的制造用于治疗选自由以下组成的群组的肝脏病症：肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。在一些实施例中，药剂的制造用于治疗非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0134] 示例性实施例

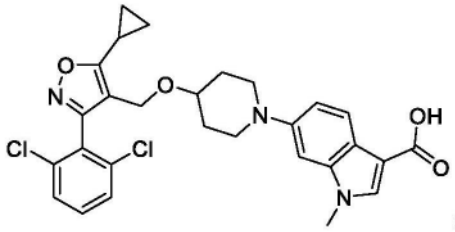
[0135] 所提供的实施例为：

[0136] 1.一种治疗有需要的患者的肝脏病症的方法，其包含施用治疗有效量的式(I)化合物

[0137] 
(I)

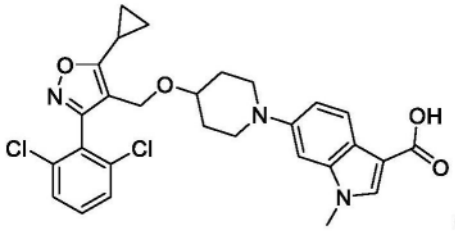
[0138] 或其药学上可接受的盐，其中所述肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0139] 2.一种用类法尼醇X受体(FXR)激动剂治疗有需要的患者的肝脏病症的方法，其包含施用治疗有效量的所述FXR激动剂，其中所述FXR激动剂是式(I)化合物

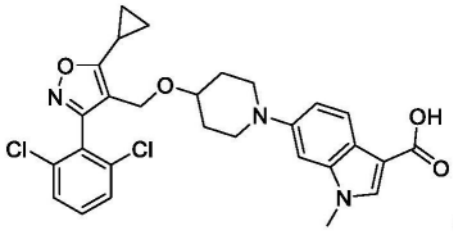
[0140] 
(I)
或其药学上可接受的盐，并且其中所述患者已中断一种或多种使用除式(I)化合物或其药学上可接受的盐以外的另一FXR激动剂的先前疗法，其中所述肝脏病症选自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0141] 3.根据实施例2所述的方法，其中所述患者在所述一种或多种先前疗法期间遭受瘙痒。

[0142] 4.一种在有需要的患者中阻碍或减缓非酒精性脂肪肝病(NAFLD)向非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的进展的方法，其包含施用治疗有效量的式(I)化合物

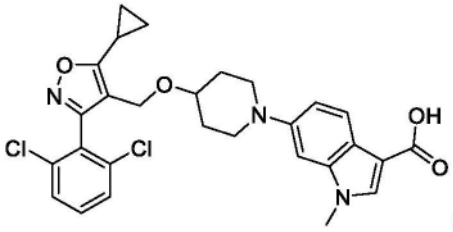
[0143] 
(I)
或其药学上可接受的盐。

[0144] 5.一种在有需要的患者中阻碍或减缓NASH的所述进展的方法，其包含施用治疗有效量的式(I)化合物

[0145]  或其药学上可接受的盐。

(I)

[0146] 6.一种用类法尼醇X受体(FXR)激动剂治疗有需要的患者的肝脏病症的方法,所述激动剂相比于肾脏、肺、心脏和皮肤组织中的一或多者优先集中于肝脏组织中,所述方法包含施用治疗有效量的所述FXR激动剂,其中所述FXR激动剂是式(I)化合物

[0147]  或其药学上可接受的盐,其中所述肝脏病症选

(I)

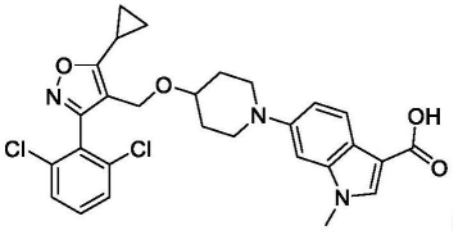
自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0148] 7.根据实施例1至6中任一项所述的方法,其中所述施用不导致所述患者的瘙痒严重程度超过2级。

[0149] 8.根据实施例1至7中任一项所述的方法,其中所述施用不导致所述患者的瘙痒严重程度超过1级。

[0150] 9.根据实施例1至8中任一项所述的方法,其中所述施用不在所述患者中导致瘙痒。

[0151] 10.一种在有需要的患者中用不导致可检测到的瘙痒的FXR激动剂治疗肝脏病症的方法,所述方法包含施用治疗有效量的所述FXR激动剂,其中所述FXR激动剂是式(I)化合物

[0152]  或其药学上可接受的盐,其中所述肝脏病症选

(I)

自肝脏炎症、肝纤维化、酒精诱导的纤维化、脂肪变性、酒精性脂肪变性、原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。

[0153] 11.根据实施例1至3或6至10中任一项所述的方法,其中所述肝脏病症是NAFLD。

[0154] 12.根据实施例1至3或6至10中任一项所述的方法,其中所述肝脏病症是NASH。

[0155] 13.根据实施例1至3或6至10中任一项所述的方法,其中所述肝脏病症是PSC。

[0156] 14.根据实施例1至3或6至10中任一项所述的方法,其中所述肝脏病症是PBC。

[0157] 15.根据实施例1至14中任一项所述的方法,其中所述施用使得所述式(I)化合物

的肝脏浓度与血浆浓度比为10或更大。

[0158] 16.根据实施例1至15中任一项所述的方法,其中所述治疗有效量是0.5μg/天-600mg/天。

[0159] 17.根据实施例1至16中任一项所述的方法,其中所述治疗有效量是0.5μg/天-20mg/天。

[0160] 18.根据实施例1至17中任一项所述的方法,其中所述治疗有效量是0.5μg/天-4mg/天。

[0161] 19.根据实施例1至18中任一项所述的方法,其中所述施用包含每日施用所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐持续一周或多周的治疗时间段。

[0162] 20.根据实施例19所述的方法,其中所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐每日施用一次或每日施用两次。

[0163] 21.根据实施例19或20所述的方法,其中在所述治疗时间段的第1天施用的所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量大于或等于在所述治疗时间段的所有后续数天施用的量。

[0164] 22.根据实施例19至21中任一项所述的方法,其中在所述治疗时间段的第1天施用的所述式(I)化合物或其药学上可接受的盐的量等于在所述治疗时间段的所有后续数天施用的所述量。

[0165] 23.根据实施例1至22中任一项所述的方法,其中所述治疗时间段是一个或多个月。

[0166] 24.根据实施例1至23中任一项所述的方法,其中所述治疗时间段是所述患者的剩余寿命。

[0167] 25.根据实施例1至24中任一项所述的方法,其中所述患者为肥胖的。

[0168] 26.根据实施例1至24中任一项所述的方法,其中所述患者不为肥胖的。

[0169] 27.根据实施例1至26中任一项所述的方法,其中所述患者还患有糖尿病和/或心血管病症。

[0170] 28.根据实施例1至27中任一项所述的方法,其中所述患者处于产生影响所述肾脏、肺、心脏和皮肤中的一或多者的有害作用的风险。

[0171] 29.根据实施例1至28中任一项所述的方法,其中所述患者为2-17岁。

[0172] 30.根据实施例1至28中任一项所述的方法,其中所述患者为18-54岁。

[0173] 31.根据实施例1至28中任一项所述的方法,其中所述患者为65岁或更大。

[0174] 32.根据实施例1至31中任一项所述的方法,其中所述患者已经进行了肝脏移植。

[0175] 33.根据实施例1至32中任一项所述的方法,其中所述患者的碱性磷酸酶、γ-谷氨酰转移酶(GGT)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和/或天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平升高。

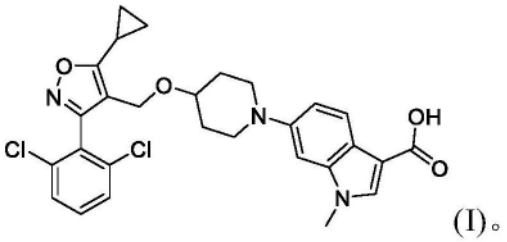
[0176] 34.根据实施例1至33中任一项所述的方法,其中所述方法不包含施用抗组胺剂、免疫抑制剂、类固醇、利福平(rifampicin)、阿片类拮抗剂或选择性血清素重摄取抑制剂(SSRI)。

[0177] 实例

[0178] 通过参考以下非限制性实例可更好地理解本申请,所述实例作为本申请的示例性实施例提供。呈现以下实例以便更充分地说明实施例,且绝不应理解为限制本申请的范围。

虽然在本文中已经展示且描述了本申请的某些实施例，但将显而易见的是此类实施例是仅借助于实例而提供。本领域技术人员可以在不脱离本发明的精神和范围的情况下想到众多变型、变化和取代。应理解，本文所描述的实施例的各个替代方案都可用于实践本文描述的方法。

[0179] 如本文所用，“化合物I”是指式(I)化合物

[0180] 
(I)。

[0181] 实例1：体外代谢稳定性

[0182] 在低温保存的肝细胞中评估化合物I的肝代谢速率以确定化合物的体外半衰期。将1μM化合物I与经预调节的小鼠、大鼠、犬、猴或人类肝细胞(0.5×10^6个细胞/毫升)混合且使其在37℃下培育2小时，其中在若干时间点收集样品且针对化合物I加以分析。确定体外半衰期值且使用不针对血浆蛋白进行校正的充分搅拌肝模型按比例缩放以预测肝清除率(CL_{pred})和肝提取率，如阿巴赫(Obach)等人.,“根据临床前及体外代谢数据预测人类药代动力学参数(The Prediction of Human Pharmacokinetic Parameters from Preclinical and In Vitro Metabolism Data)”,《药理学与实验治疗学杂志(J.of Pharmacology and Experimental Therapeutics)》,第283卷,第1期,第46页-第58页(1997)中所描述。结果展示于表1中，其表明化合物I在所有测试物种的肝细胞中适度代谢。

[0183] 表1.化合物I的体外代谢稳定性

[0184]

物种	$t_{1/2}$ (min)	体外代谢 CL_{pred} (L/h/kg)	肝提取率(%)
小鼠	43.6 ± 2.83	4.36 ± 0.06	80.7 ±1.02
史泊格-多利大鼠	131 ± 4.11	1.57 ± 0.03	47.3 ± 0.78
比格犬(Beagle Dog)	126 ±15.5	1.32 ± 0.05	71.0 ±2.49
食蟹猴	63.4 ± 0.78	1.68 ± 0.01	64.4 ± 0.28
人	84.1 ± 6.48	0.83 ± 0.22	67.0 ± 1.73

[0185] 实例2：体外OATP转运分析

[0186] 在可渗透支架上生长的MDCK-II细胞的极化单层用于测试有机阴离子转运多肽(OATP)1B1或OATP 1B3跨越脂质双层转运化合物I并且转运到细胞中的能力。MDCK-II细胞经转染以下中的一种：(1)表达OATP 1B1的载体，(2)表达OATP 1B3的载体，或(3)对照载体。在细胞中诱导表达，随后在37℃下在5％CO_2气氛中培养细胞。在诱导表达之后，用1μM、3μM和10μM化合物I或3μM化合物I和100μM利福平处理细胞。接着测量化合物I的细胞摄取。来自此实验的结果表明化合物I不是OATP 1B1或OATP1B3底物。

[0187] 实例3：药代动力学分析

[0188] 将化合物I以1mg/kg(n＝3)经静脉内或以10mg/kg(n＝3)经口施用至史泊格-多利(SD)大鼠，以1mg/kg(n＝3)经静脉内或以3mg/kg(n＝3)经口施用至比格犬，以0.3mg/kg(n＝6)经静脉内或以5mg/kg(n＝6)经口施用至食蟹猴，并且以5mg/kg(n＝9)经口施用至小

鼠。将用于经口施用至SD大鼠的化合物I调配于含有10％DMSO、10％Cremophor-EL和80％水溶液(10％2-羟丙基-β-环糊精)的媒剂中。将用于经口施用至比格犬的化合物I与含有1％羧甲基纤维素、0.25％Tween-80和0.05％消泡剂的水溶液一起调配。将用于经口施用至食蟹猴的化合物I与10％Solutol、20％PEG400、0.5％Tween-80和69.5％去离子水一起调配。收集连续血液样品，并且测量化合物I的血浆浓度。结果展示于图1A(IV施用)和图1B(经口施用)，以及表2中。结果表明化合物I在体内的清除率为低到中等。化合物I的分布体积(V_{dss})大于大鼠和犬中身体总水分体积(0.70L/kg)。猴中的较小V_{dss}与较高血浆蛋白结合相关。

[0189] 表2.化合物I的药代动力学参数

[0190]

物种	CL (L/h/kg)	V_{dss} (L/kg)	IV 终末 $t_{1/2}$ (h)	口服生物利用度(%)
史泊格-多利大鼠	2.55	1.31	2.45	21
比格犬	0.54	1.92	5.67	82
食蟹猴	0.30	0.6	1.32	18

[0191] 实例5:化合物I的组织分布

[0192] 测定施用至大鼠的化合物I的组织分布并且将其与其它类法尼醇X受体(FXR)激动剂西洛非索、卓匹非索和奥贝胆酸(OCA)的分布相比较。所测试的化合物以2mg/kg以30分钟静脉内输注方式施用至SD大鼠(每种化合物n＝3)。从大鼠收集血液、肝脏、肾脏和肺组织样品以确定组织/血浆比。化合物的肝脏组织/血浆比展示于图2A中，其表明与其它测试化合物相比，化合物I基本上更多定位到肝脏组织。与100μM利福平一起共施用化合物I不会引起化合物I向肝脏的分布的显著变化(图2B)。这些结果共同地表明化合物I优先分布到肝脏且展现啮齿动物物种中的高肝脏/血浆比，比针对NASH的治疗正研究的其它FXR激动剂(西洛非索、卓匹非索和OCA)高大约3至20倍。

[0193] 还将经放射性标记(^{14}C)化合物I以5mg/kg(100μCi/kg)的口服剂量施用至长埃文斯大鼠。收集血浆、肝脏、小肠、盲肠、肾脏、肺、心脏和皮肤组织样品长达168小时，并且测量各个时间点的放射性物质的量。结果展示于图3中。肝脏、小肠和盲肠具有最多的放射性物质。

[0194] 实例6:化合物I的代谢

[0195] 将经放射性标记(^{14}C)的化合物I以5mg/kg经口施用或以2mg/kg经静脉内施用至胆管完整或插管的SD大鼠(对于四个群体中的每一个，n＝3)，总放射性剂量为100μCi/kg。从每个大鼠收集血液、胆汁、粪便和尿液样品长达168小时。化合物I在胆汁排泄之前代谢成酰基葡萄糖苷酸代谢物，其被确定为化合物的主要消除路径。

[0196] 实例7:药代动力学/药效动力学概况

[0197] 食蟹猴的药代动力学/药效动力学(PK/PD)概况通过以0(媒剂)、0.3、1或5mg/kg的剂量施用口服剂量的化合物I悬浮液并且收集血液样品长达24小时来确定。药效动力学测量为随7-α-羟基-4-胆甾烯-3-酮(7α-C4)减少而变化(图4)，如通过LC-MS/MS所定量。药代动力学数据呈现于表3中，并且通过非房室分析测定。

[0198] 表3.化合物I的药代动力学参数

[0199]

化合物 I 剂量	PK 参数		
	AUC_{0-24} (ng*hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)
0.3 mg/kg	196 ± 64	58.8 ± 30.2	2.17 ± 1.47
1 mg/kg	1000 ± 419	257 ± 124	1.83 ± 1.17
5 mg/kg	2720 ± 1500	709 ± 458	2.25 ± 1.47

[0200] 化合物I还以1mg/kg连续7天经口施用至食蟹猴(n＝6)以在多个剂量之后测定PK/PD概况。此研究的结果展示于图5A(PK概况)和图5B(PD概况)和表4中，并且表明化合物I的血浆暴露在第1天和第7天相当，并且在重复口服给药之后实现药效动力学生物标记物7α-C4的持续抑制。

[0201] 表4.化合物I的药代动力学参数

[0202]

PK参数	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng*hr/mL)	T_{max} (hr)
第1天	257±124	1000±419	1.83±1.17
第7天	221±121	858±425	1.25±0.61

[0203] 实例8:作用机制

[0204] 向C5BL/6小鼠施用单次口服剂量的10mg/kg化合物I(n＝6)、30mg/kg OCA(n＝6)或媒剂对照(n＝6)，且在剂量施用之后6小时收集组织RNA样品。通过RT-qPCR和RNAseq分析RNA。

[0205] 对于RT-qPCR，使用2-ddCT方法，使用基因特异性引物对肝脏和回肠中FXR调节基因表达进行定量。结果展示于图6中(呈现为平均值±SEM的数据；相对于媒剂，****指示p<0.0001且*指示p<0.05，其中统计资料由单向ANOVA接着Tukey测定)。此数据指示化合物I优先地在小鼠肝脏中诱导FXR特异性基因。

[0206] 对于RNAseq分析，将mRNA从总肝脏提取且使用标准伊路米那(Illumina)库制备和测序方案测序。使用RSEM和edgeR软件包测定差异表达基因(DEG)，并且使用Advaita Bio的iPathwayGuide软件分析。结果展示于图7A-7D中，其指示化合物I与OCA相比调节与NASH相关的显著较高数目的基因和代谢路径。图7A展示相对于媒剂对照(倍数变化≥1.5；q值<0.05)，化合物I的施用调节500个NASH相关基因的表达，OCA调节44个NASH相关基因(包括由化合物I和OCA两者调节的37个共同NAS相关基因)的表达。图7B展示媒剂、OCA和化合物I处理的小鼠中所选FXR相关基因的平均表达水平(如由CPM值所示)。图7C展示化合物I的施用引起32个全局路径的富集，且OCA的施用引起6个全局路径的富集，包括化合物I和OCA施用两者的2个共同全局路径。图7D展示在化合物I施用后在统计学上最富集的25个路径，且将那些路径的富集与OCA施用后的富集进行比较。总的来说，与OCA处理相比，对来自用化合物I处理的小鼠的肝脏的RNAseq分析展示对与非酒精性脂肪肝病相关的FXR相关基因和代谢路径的更稳固调节。

[0207] 实例9:临床研究

[0208] 第一研究.每天用5mg(n＝9)、75mg(n＝9)、200mg或400mg(n＝18)的化合物I经口给予健康人类志愿者个体，或使其接受安慰剂(n＝12)持续14天。在这一研究期间，未观察到瘙痒发生。

[0209] 第二研究.化合物I以25mg(n＝11)、75mg(n＝10)或150mg(n＝10)的口服剂量每日施用至人类个体持续7天，或使人类个体接受安慰剂(n＝5)。定期测量患者中的7-α-羟基-

4-胆甾烯-3-酮(7α-C4)水平,如表5中所示,其指示通过化合物I抑制的水平。在由独立组公布的单独研究中,据报告,以20mg、40mg、50mg、80mg、100mg或150mg的剂量向健康人类志愿者每日施用FXR激动剂MET409(美他克林(Metacrine)),并且如表5中所示测量7α-C4水平。参见陈(Chen)等人,"MET409,一种优化的持续FXR激动剂,在14天的健康个体1期研究中安全且耐受性良好(MET409,an Optimized Sustained FXR Agonist,Was Safe and Well-Tolerated in a 14-Day Phase 1 Study in Healthy Subjects)",《国际肝病大会(The International Liver Congress)》,奥地利维也纳(Vienna,Austria),2019年4月10-14日。虽然在接受100mg或更大的剂量的MET409的个体中观察到瘙痒,但对于服用最高剂量的化合物I的个体未观察到瘙痒。其它FXR激动剂,如西洛非索、卓匹非索、OCA、ED-305(埃南塔(Enanta))均已知在长期研究中产生瘙痒。

[0210] 表5.MET409与化合物I的比较

[0211]

参数	MET409			化合物 I		
	50mg MET409	80mg MET409	100mg MET409	25mg	75mg	150mg
AUC ng*h/ml	6404	12479	16519	645	1480	2164
最低点的 7α-C4 抑制%	85%	96%	99%	75%	82%	93%
AUC/7α-C4%比率	75	130	166	8.6	18	23
瘙痒	无	无	有	无	无	无

[0212] 实例10:NASH的小鼠模型

[0213] 使用小鼠模型评估化合物I对NASH的作用,其中NASH由高脂饮食与CCl_4施用组合诱导。

[0214] 向小鼠C57/BL6J小鼠喂食高脂饮食(D12492,研究饮食,脂肪/蛋白质/碳水化合物60/20/20Kcal%,10w)以诱导肥胖症(>36g小鼠),之后进行每日口服化合物I和两周一次腹膜内四氯化碳(CCl_4)处理持续四周。图8.以10、30和100mg/kg的剂量施用化合物I。

[0215] 在化合物I给予28天之后,分析血清脂质、血清转氨酶和肝脏脂质。对肝脏组织的苏木精&曙红(H&E)和天狼星红(Sirius Red)组织染色用于定量NAFLD活动性评分(NAS)、脂肪变性、气球样变性、炎症和纤维化。将血浆7-α-羟基-4-胆甾烯-3-酮(7α-C4)作为FXR活化的生物标记物测量。通过RT-qPCR和RNAseq分析RNA的基因表达。

[0216] 非酒精性脂肪肝病活动性评分(NAS)为用于评估NASH的综合评分。基于肝脏脂肪变性、炎症和气球样变性计算NAS,且通过使用H&E染色分析肝脏组织组织学来确定NAS。具体来说,基于H&E染色计算炎症分数:0分,无;1分,每200X视野<2个病灶;2分,每200X视野2-4个病灶;3分,每200X视野>4个病灶。通过H&E染色如下计算脂肪变性分数:0分,<5%;1分,5-33%;2分,>33-66%;3分,>66%)。肝细胞气球样变性是与细胞肿胀相关的肝脏细胞损伤的形式,并且还通过H&E染色肝脏切片测量。气球样变性分数如下计算:0-无肝细胞气球样变性;1-极少气球样变性肝细胞;2-许多具有显著气球样变性的肝细胞。

[0217] 如图9中所示,用10、30或100mg/kg化合物I处理的小鼠与未经处理的NASH小鼠相比具有显著较低的NAS评分。与未经处理的NASH小鼠相比,用化合物I处理还显著减少脂肪变性、炎症和气球样变性。图10A-C。

[0218] 通过组织学分析天狼星红阳性肝脏切片的百分比来定量肝脏纤维化。图11A展示健康小鼠、NASH小鼠和用100mg/kg的化合物I处理的NASH小鼠的代表性组织学。图11B展示

用化合物I处理的小鼠的纤维化面积的定量。与未经处理的NASH对照相比，用10、30或100mg/kg化合物I处理引起统计学上显著的纤维化减少。如图14A中所示，与对照NASH小鼠相比，以10、30或100mg/kg施用的化合物I引起肝脏中的胶原蛋白1型α1表达降低。

[0219] 在治疗之后，分析血清的丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、甘油三酯和总胆固醇水平。如图12A和图12B中所示，血清ALT和AST水平在用化合物I处理的小鼠中降低。图12C展示用100mg/kg化合物I处理的小鼠中血清甘油三酯浓度在统计学上显著降低。图12D展示用10、30和100mg/kg化合物I处理的小鼠中总胆固醇水平在统计学上显著降低。

[0220] 使用生物化学分析仪(日立(Hitachi)-700)从肝脏组织测量肝脏甘油三酯。图13A展示对照小鼠或用10、30或100mg/kg化合物I处理的小鼠中肝脏甘油三酯的浓度。用100mg/kg化合物I处理的小鼠展示统计学上显著降低的甘油三酯水平。图13B展示代表性组织切片。

[0221] 使用肝脏样品的RT-qPCR或RNA-seq分析化合物I对基因表达的影响(图14A-C和表6)。表6展示化合物I对肝脏中FXR调节的基因表达的影响。用化合物I处理之后每个指示基因的表达水平(如由每百万基因计数(CPM)值所定义)除以经媒剂处理的动物中的所述基因的表达水平以确定化合物I相对于媒剂的活性。

[0222] 表6.FXR-目标、炎症和纤维化基因的表达

[0223]

基因	相对于媒剂的化合物I(30mg/kg)
SHP	4.6
BSEP	5.1
OST-B	135.7
CYP7A1	0.02
CYP8B1	0.007

[0224] 通过基于荧光的FXR共活化分析测定化合物I对FXR的EC_{50}浓度。将化合物I或OCA(奥贝胆酸，已知FXR激动剂)的半对数连续稀释液(10μM-3nM)与Sf9昆虫细胞中产生的人类FXR配体结合结构域、经标记共活化因子SRC-1肽和TR-FRET共调节因子缓冲液G一起在25℃下培育1小时。使用基于细胞的cAMP分析测量TGR5活性。参见川俣(Kawamata)等人《生物化学杂志(JBC)》278(11)935-440(2003)。将化合物I或OCA的半对数连续稀释液(10μM-3nM)添加到表达重组人类TGR5的中国仓鼠卵巢细胞中。在室温下30分钟之后，使用HTRF读出器测量cAMP。使用基于细胞的RNA分析测定FXR调节的基因表达的EC_{50}值。将化合物I或OCA的半对数连续稀释液(3μM-3nM)添加到人类HuH7肝细胞瘤细胞中。在37℃下11小时之后，分离RNA并且使用以下FXR相关基因的引物通过RT-qPCR分析：小异二聚体搭配物(SHP)、胆盐输出泵(BSEP)和成纤维细胞生长因子19(FGF-19)。

[0225] 如表7中所示，化合物I为强力和选择性FXR激动剂。

[0226] 表7.化合物I的EC_{50}

[0227]

分析	化合物I的EC_{50}(nM)	OCA EC_{50}(nM)
FXR激动剂	57	73
TGR5激动剂	>10,000	770
SHP基因诱导/HuH7	50	200

BSEP基因诱导/HuH7	40	200
FGF-19基因诱导/HuH7	40	130

[0228] 综上所述，化合物I为强力和选择性FXR激动剂。化合物I减少发炎和纤维化相关基因的表达并且在NASH小鼠模型中强烈抑制肝脏脂肪变性、炎症、气球样变性和纤维化。

[0229] 实例11:药代动力学研究

[0230] 将36个健康个体随机分组到4个给药组，其中的每一组每天一次接受安慰剂、25mg、75mg或150mg化合物I持续7天。定期测量个体中的化合物I的血清水平。化合物I在第1天和第7天的平均血清浓度分别展示于图15A和15B中。

[0231] 定期测量个体中的7-α-羟基-4-胆甾烯-3-酮(7α-C4)血清水平。图16A和16B分别展示第1天和第7天在不同给药组中7α-C4相对于给药前基线的平均血清水平的变化。安慰剂组中的个体经历餐后7α-C4激增，其在给予化合物I的个体中受到抑制。在第1天单次给药之后，在所有给予化合物I的组中观察到血清7α-C4水平的部分抑制。在第7天，在给药之后六小时观察到血清7α-C4水平的最大抑制，分别在25、75和150mg给药组中对应于74％、82％和91％的降低。在每24小时给药时间段期间，所有给予化合物I的组中化合物I的平均血清水平一般不超过化合物I的EC_{50}。在不受理论束缚的情况下，由于化合物I在肝脏中的优先分布，认为7α-C4的降低与肝脏中更高浓度的化合物I相关联。

[0232] 定期测量个体中的FGF-19的血清水平。图17A和17B分别展示第1天和第7天在不同给药组中FGF-19相对于给药前基线的平均血清水平的变化。在第7天给药之后四小时，观察到血清FGF 19水平相对于基线的最大增加为718％、486％和454％。

[0233] 定期测量个体中的低密度脂蛋白(LDL)的血清水平。图18展示在不同给药组中低密度脂蛋白(LDL)相对于给药前基线的平均血清水平的变化。在给予化合物I的组中，高于基线的血清LDL变化最小，并且未超过在给予安慰剂的个体中观察到的LDL升高。

[0234] 在给药期间评估安全性并且持续给药之后的10(±1)天。在健康志愿者中，所有剂量的化合物I都是安全和耐受良好的，均未报告瘙痒。

[0235] 本文中的所有参考文献(如出版物、专利、专利申请和公开的专利申请)均通过全文引用的方式并入本文中。

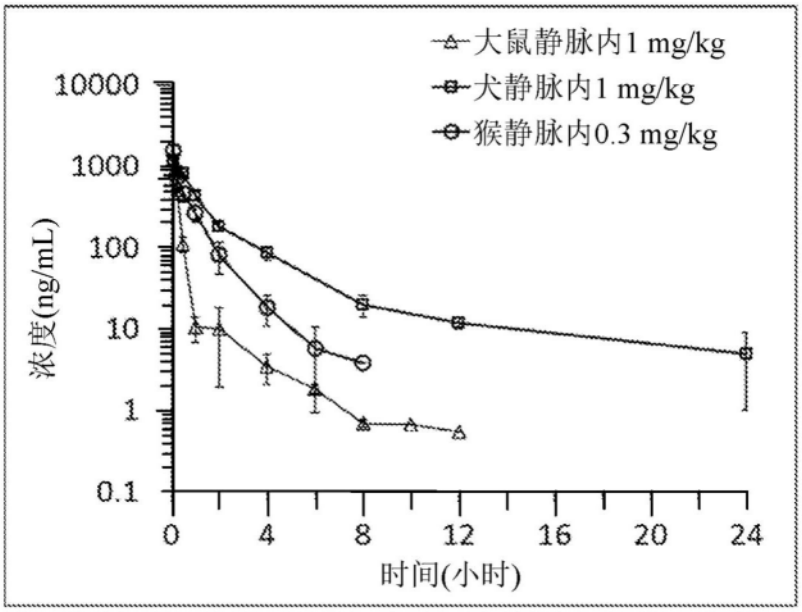

大鼠静脉内1 mg/kg
犬静脉内1 mg/kg
猴静脉内0.3 mg/kg
浓度(ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0.1
0
4
8
12
16
20
24
时间(小时)

图1A

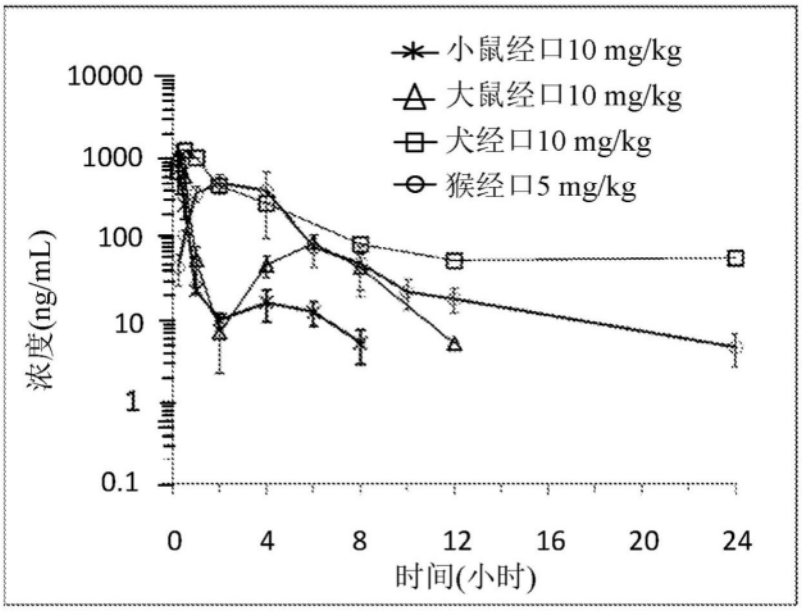

小鼠经口10 mg/kg
大鼠经口10 mg/kg
犬经口10 mg/kg
猴经口5 mg/kg
浓度(ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0.1
0
4
8
12
16
20
24
时间(小时)

图1B

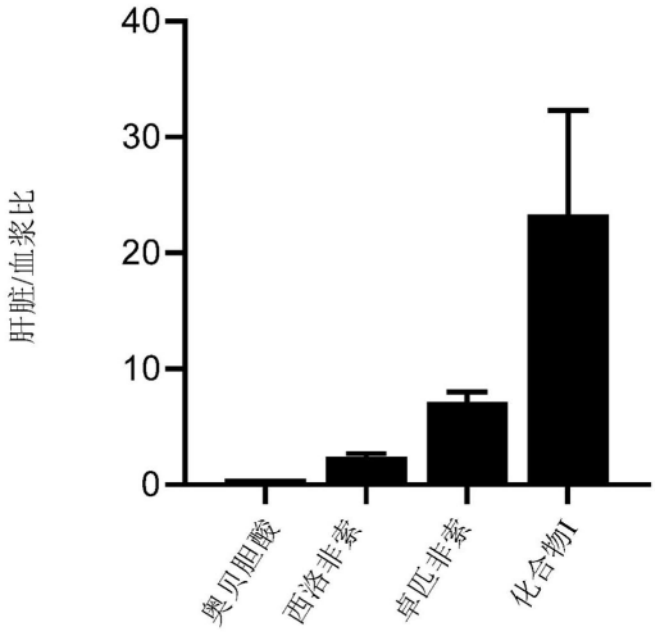

肝脏/血浆比
40
30
20
10
0
奥贝胆酸
西洛非索
卓匹非索
化合物I

图2A

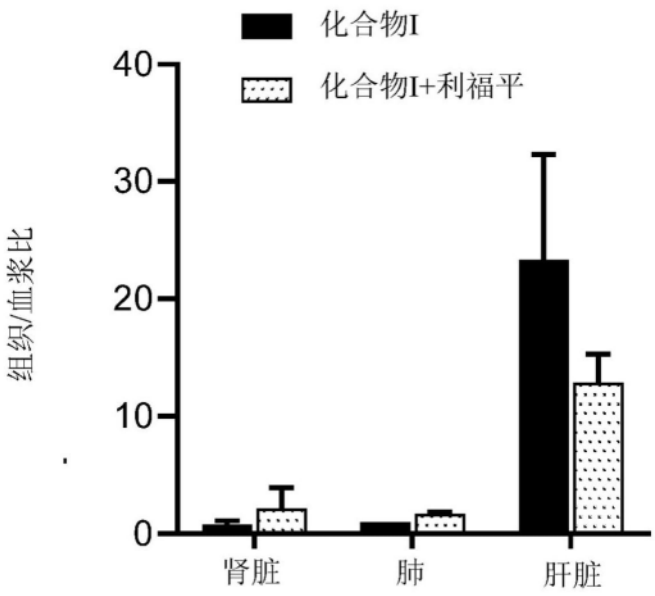

化合物I
化合物I+利福平
组织/血浆比
40
30
20
10
0
肾脏
肺
肝脏

图2B

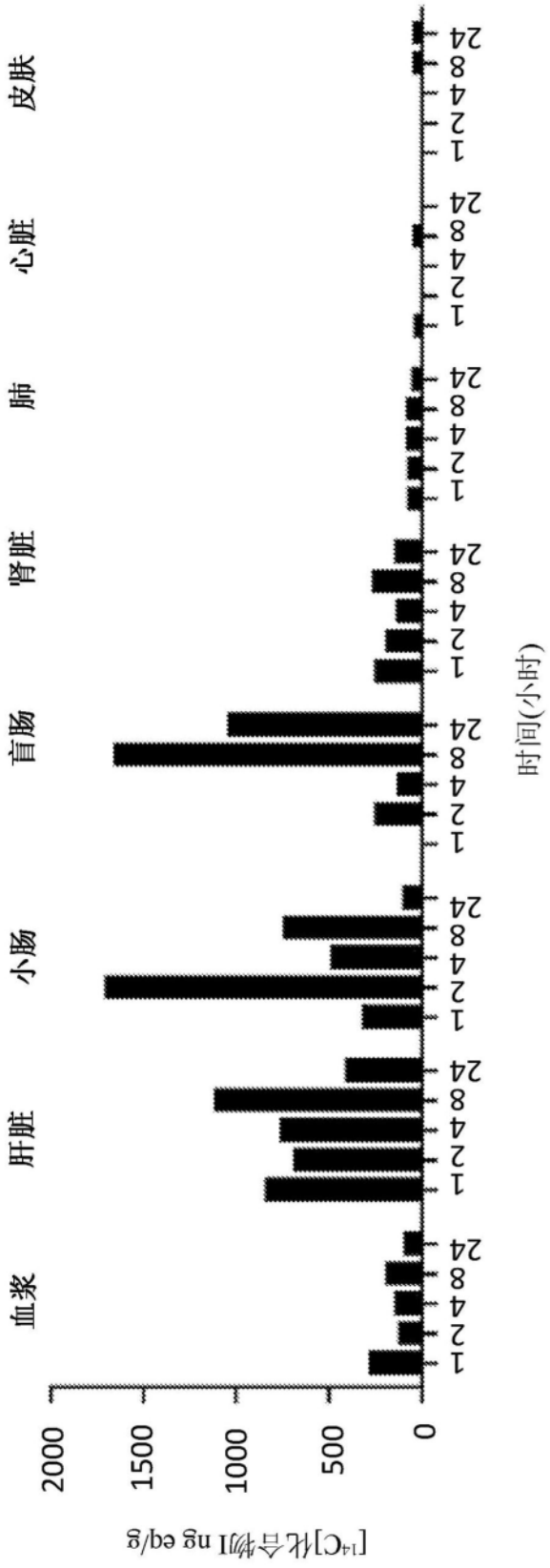

[14C]化合物I ng eq/g
2000
1500
1000
500
0
血浆
肝脏
小肠
盲肠
肾脏
肺
心脏
皮肤
1 2 4 8 24
时间(小时)

图3

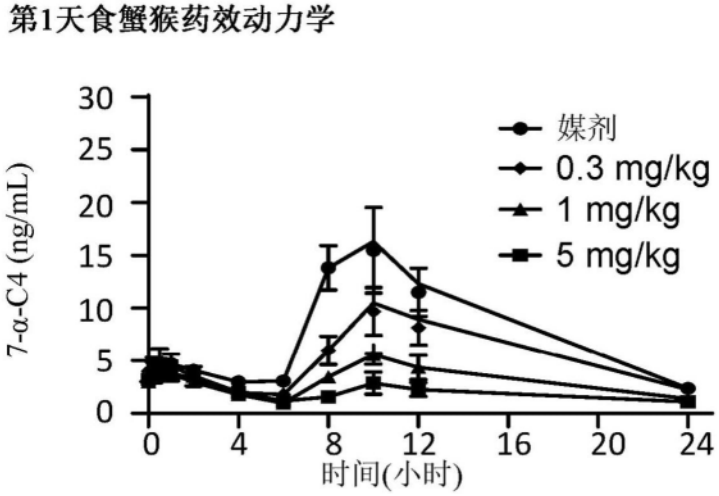

第1天食蟹猴药效动力学
7-α-C4 (ng/mL)
30
25
20
15
10
5
0
0
4
8
12
16
20
24
时间(小时)
媒剂
0.3 mg/kg
1 mg/kg
5 mg/kg

图4

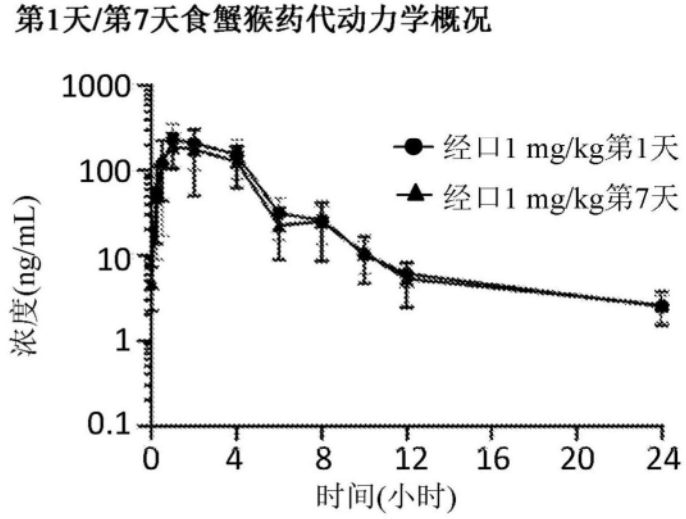

第1天/第7天食蟹猴药代动力学概况
浓度(ng/mL)
1000
100
10
1
0.1
0
4
8
12
16
20
24
时间(小时)
经口1 mg/kg第1天
经口1 mg/kg第7天

图5A

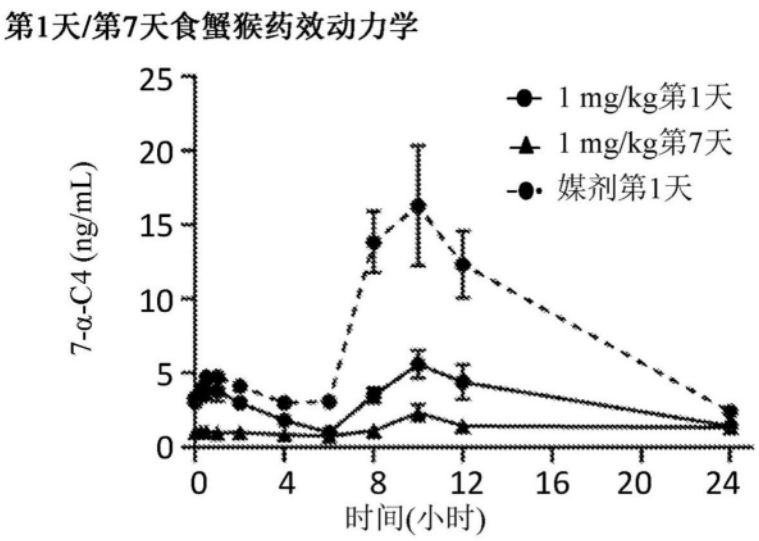

第1天/第7天食蟹猴药效动力学
7-α-C4 (ng/mL)
25
20
15
10
5
0
0
4
8
12
16
20
24
时间(小时)
1 mg/kg第1天
1 mg/kg第7天
媒剂第1天

图5B

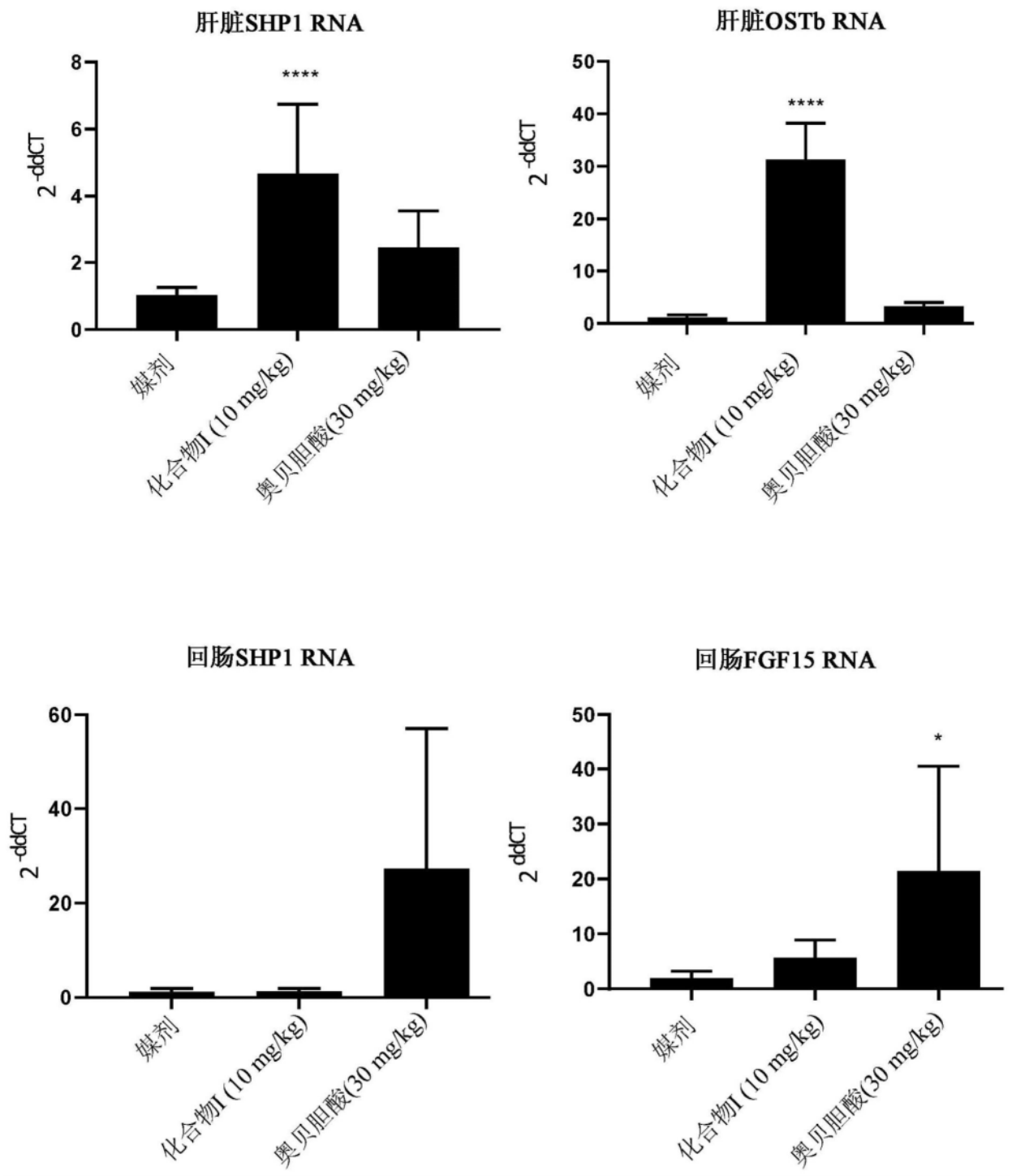

肝脏SHP1 RNA
2-ddCT
****
媒剂
化合物I (10 mg/kg)
奥贝胆酸(30 mg/kg)
肝脏OSTb RNA
2-ddCT
****
媒剂
化合物I (10 mg/kg)
奥贝胆酸(30 mg/kg)
回肠SHP1 RNA
2-ddCT
媒剂
化合物I (10 mg/kg)
奥贝胆酸(30 mg/kg)
回肠FGF15 RNA
2-ddCT
*
媒剂
化合物I (10 mg/kg)
奥贝胆酸(30 mg/kg)

图6

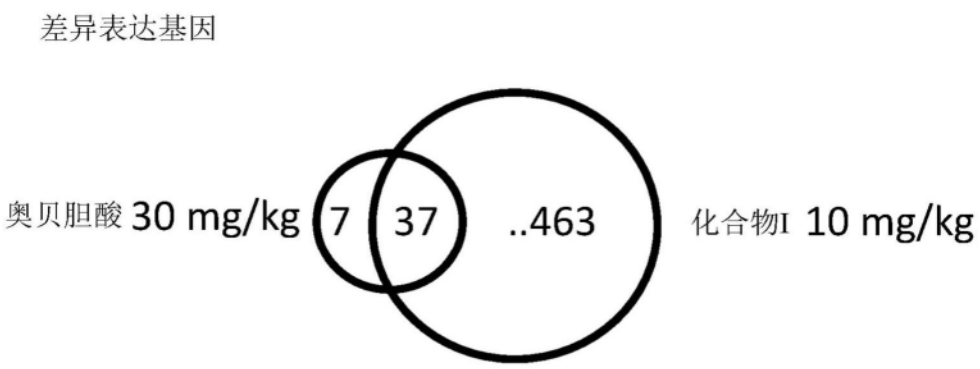


图7A

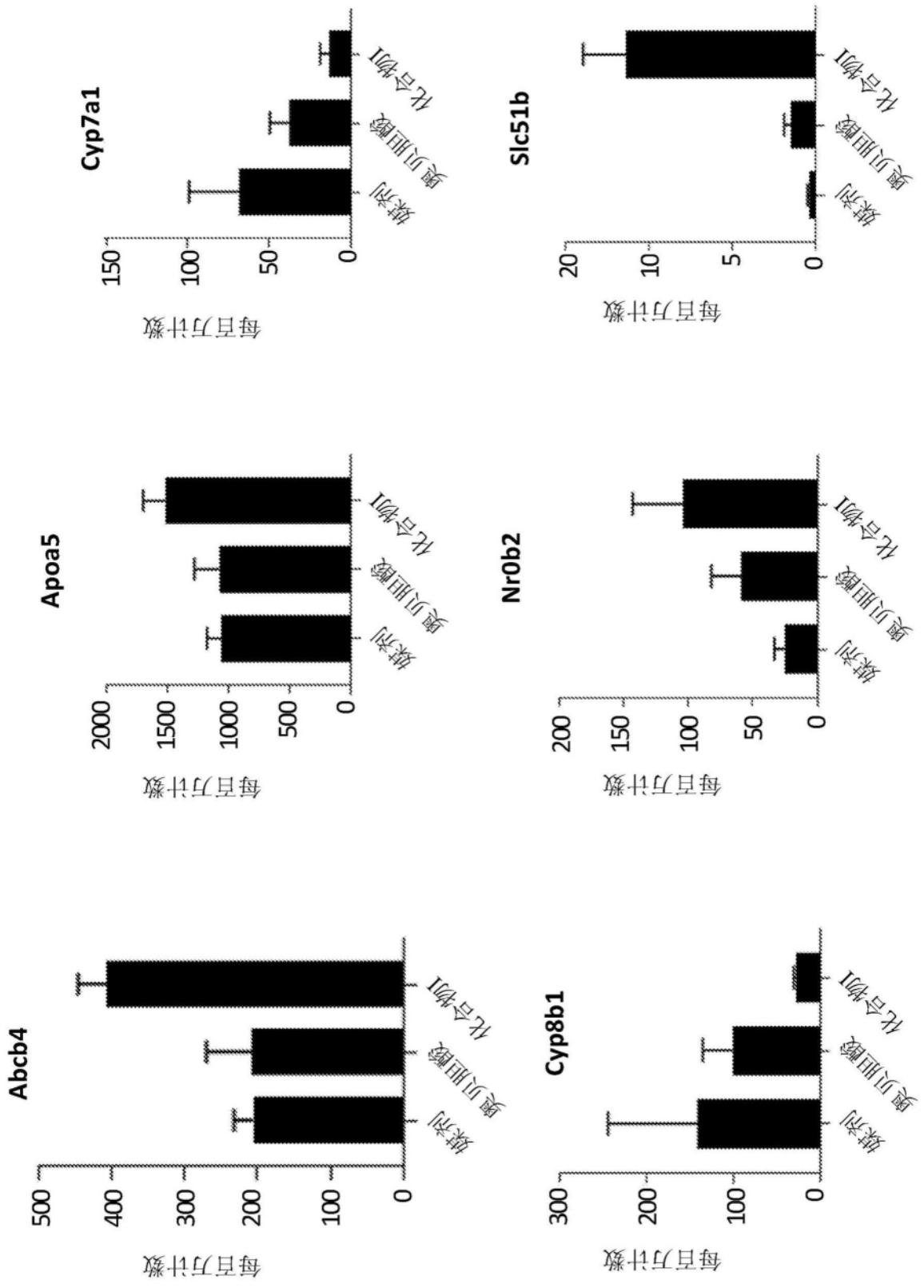


图7B

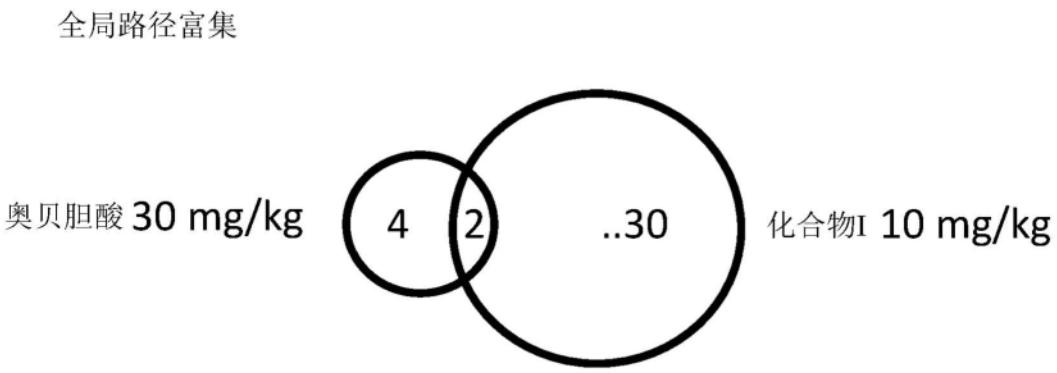


图7C

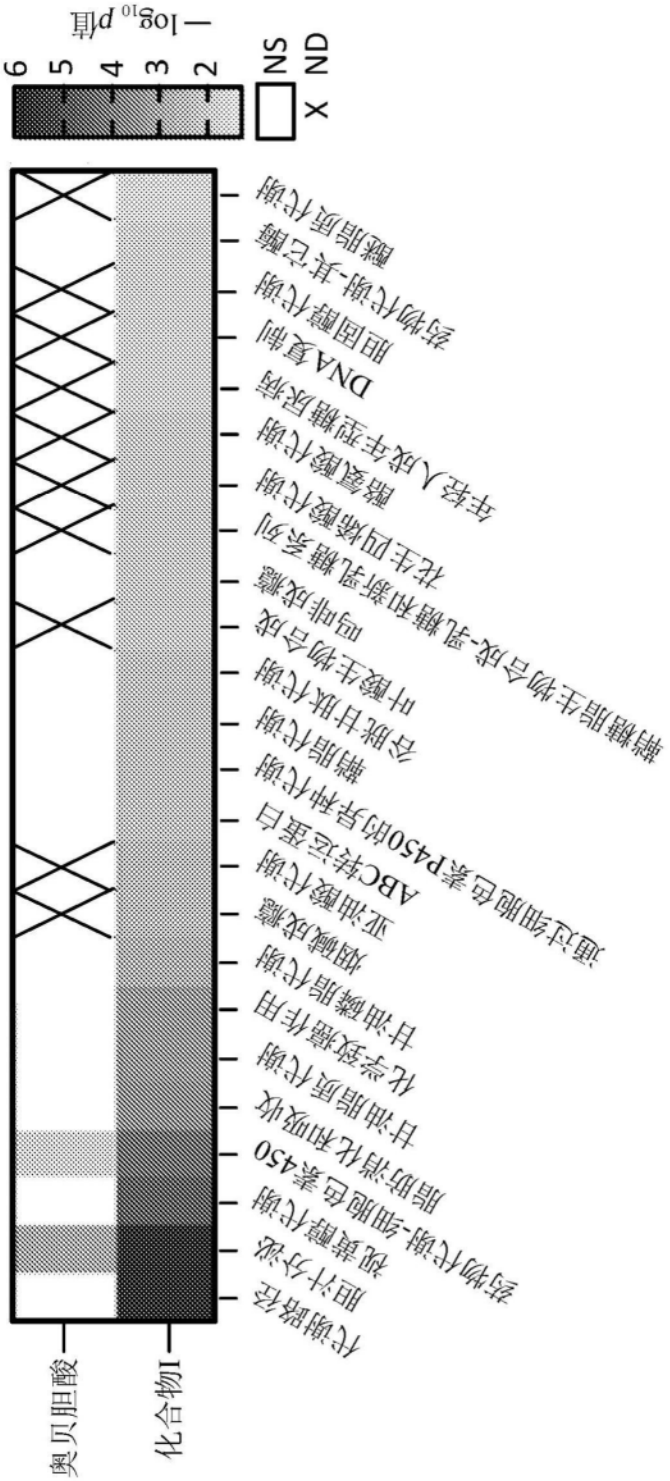

−log10 p值
6
5
4
3
2
NS
ND
X
代谢路径
胆汁分泌
视黄醇代谢
药物代谢-细胞色素450
脂肪消化和吸收
甘油脂质代谢
化学致癌作用
甘油磷脂代谢
烟碱成瘾
亚油酸代谢
ABC转运蛋白
通过细胞色素P450的异种代谢
糖脂代谢
谷胱甘肽代谢
叶酸生物合成
吗啡成瘾
糖精脂生物合成-乳糖和新乳糖系列
花生四烯酸代谢
酪氨酸代谢
牛轮入成年型糖尿病
DNA复制
胆固醇代谢
药物代谢-其它酶
酮脂质代谢
奥贝胆酸
化合物I

图7D

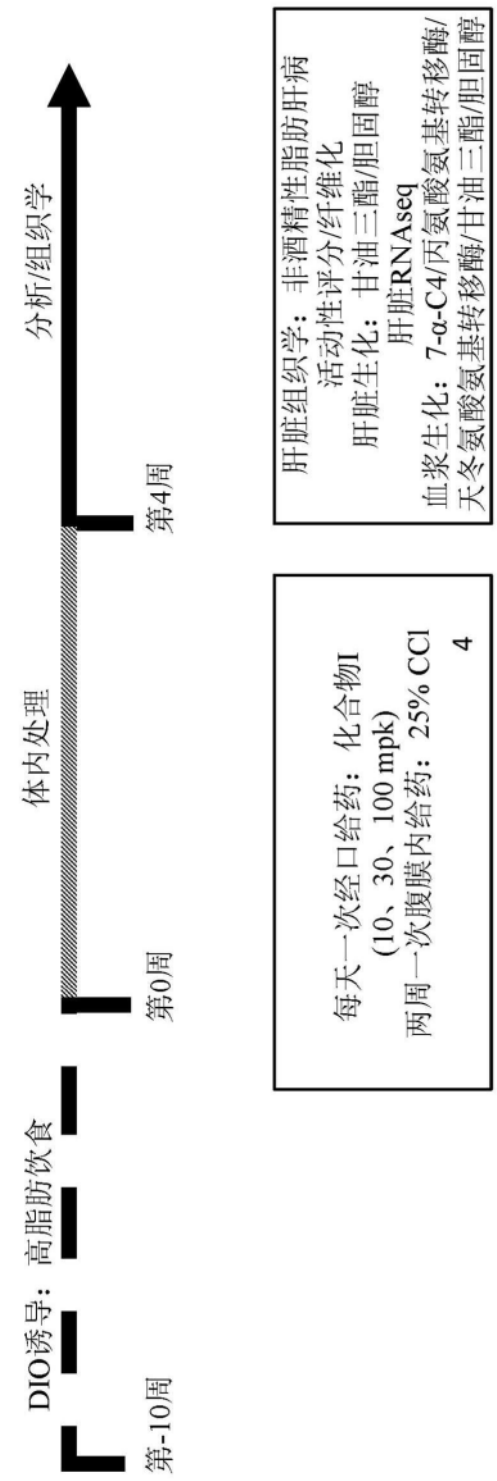

DIO诱导：高脂肪饮食
体内处理
分析/组织学
第-10周
第0周
第4周
每天一次经口给药：化合物I
(10、30、100 mpk)
两周一次腹膜内给药：25% CCl
4
肝脏组织学：非酒精性脂肪肝病
活动性评分/纤维化
肝脏生化：甘油三酯/胆固醇
肝脏RNAseq
血浆生化：7-α-C4/丙氨酸氨基转移酶/
天冬氨酸氨基转移酶/甘油三酯/胆固醇

图8

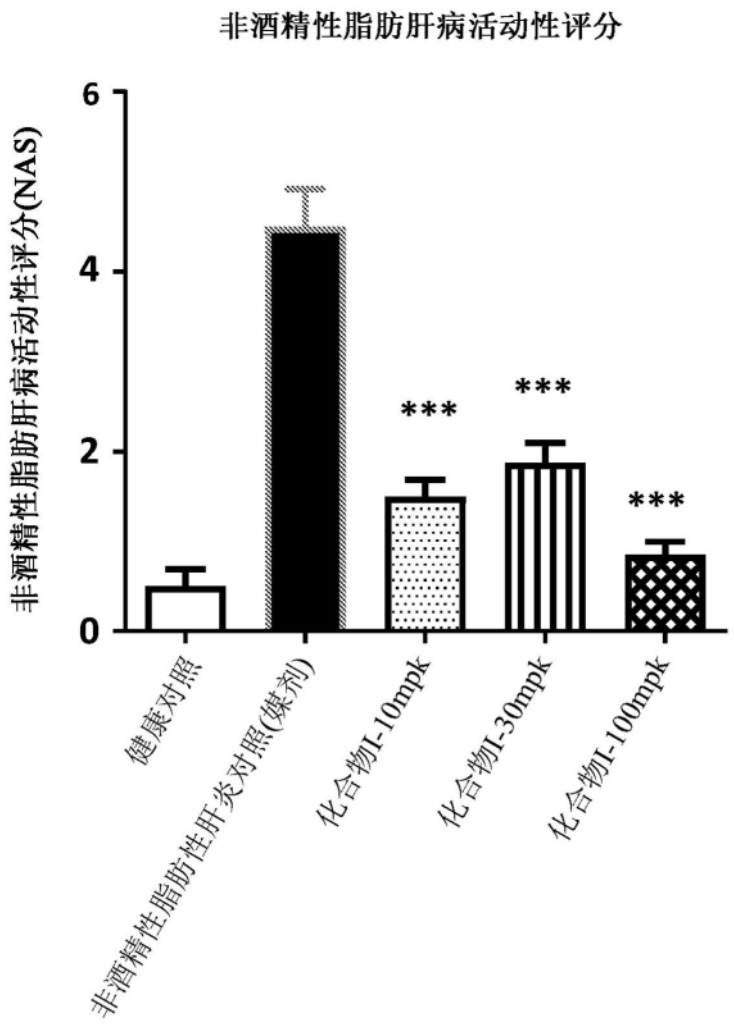

非酒精性脂肪肝病活动性评分
非酒精性脂肪肝病活动性评分(NAS)
6
4
2
0
***
***
***
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I-10mpk
化合物I-30mpk
化合物I-100mpk

图9

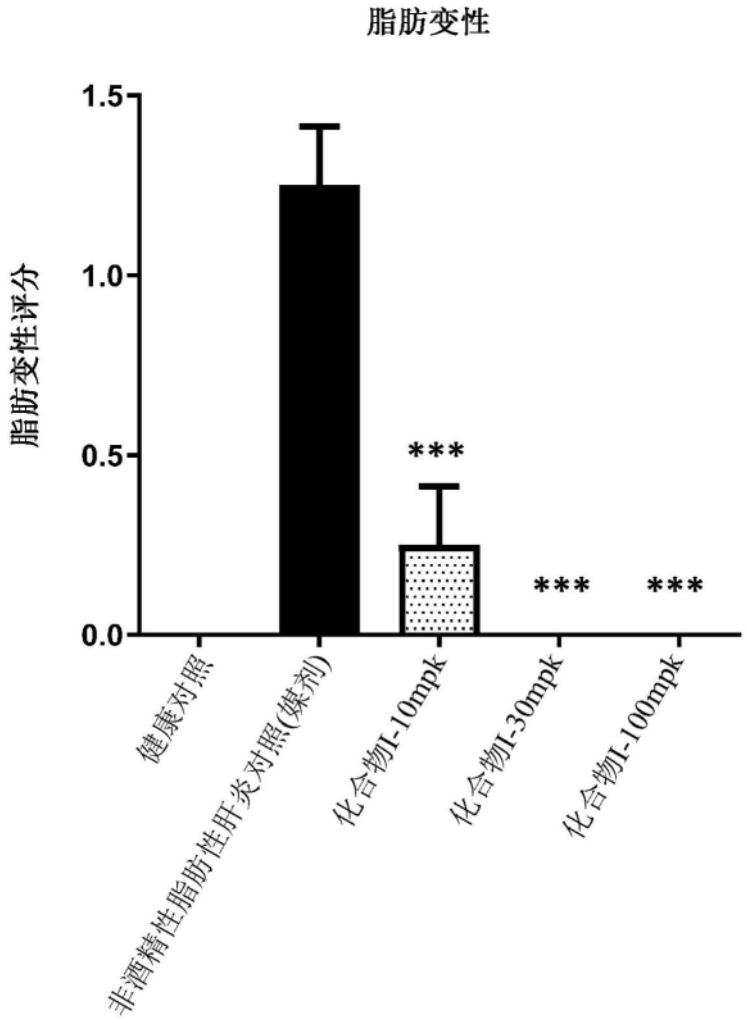

脂肪变性
脂肪变性评分
1.5
1.0
0.5
0.0
***
***
***
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I-10mpk
化合物I-30mpk
化合物I-100mpk

图10A

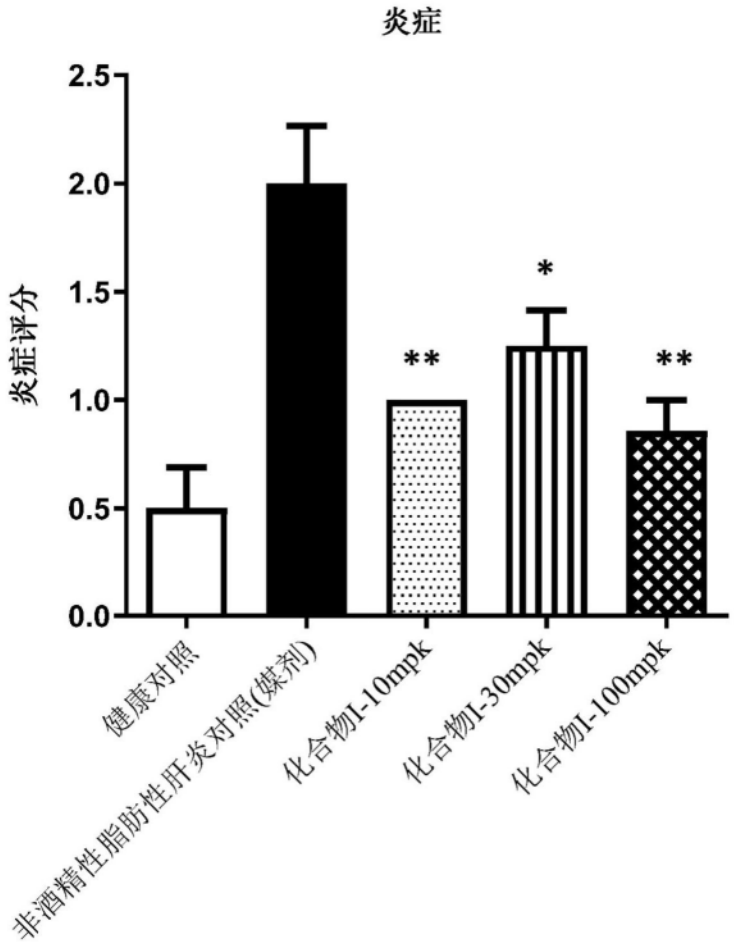

炎症
炎症评分
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
**
*
**
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I-10mpk
化合物I-30mpk
化合物I-100mpk

图10B

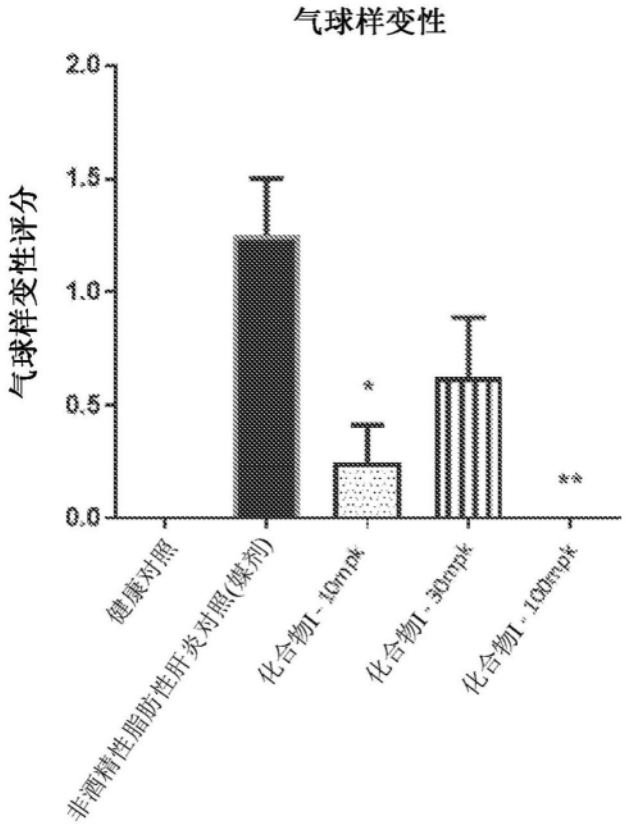

气球样变性
气球样变性评分
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
*
**
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I - 10mpk
化合物I - 30mpk
化合物I - 100mpk

图10C

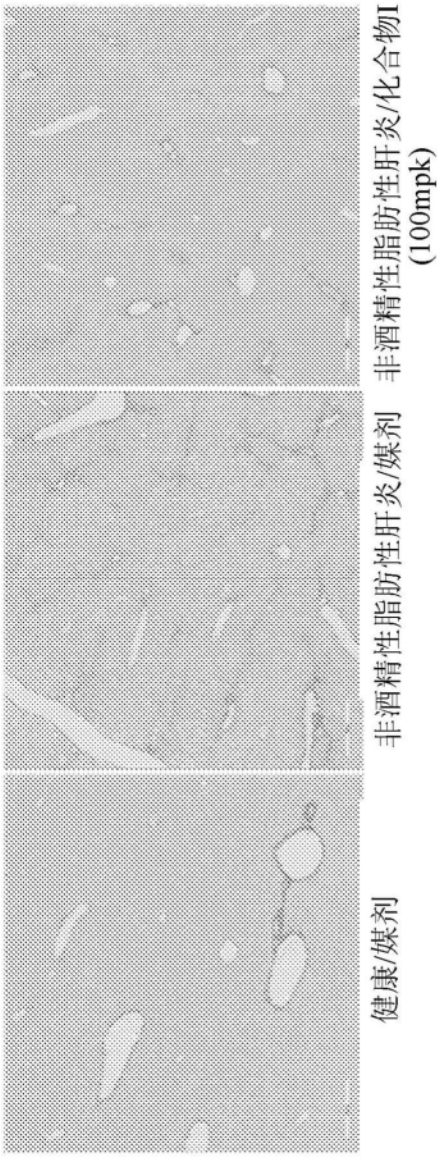


图11A

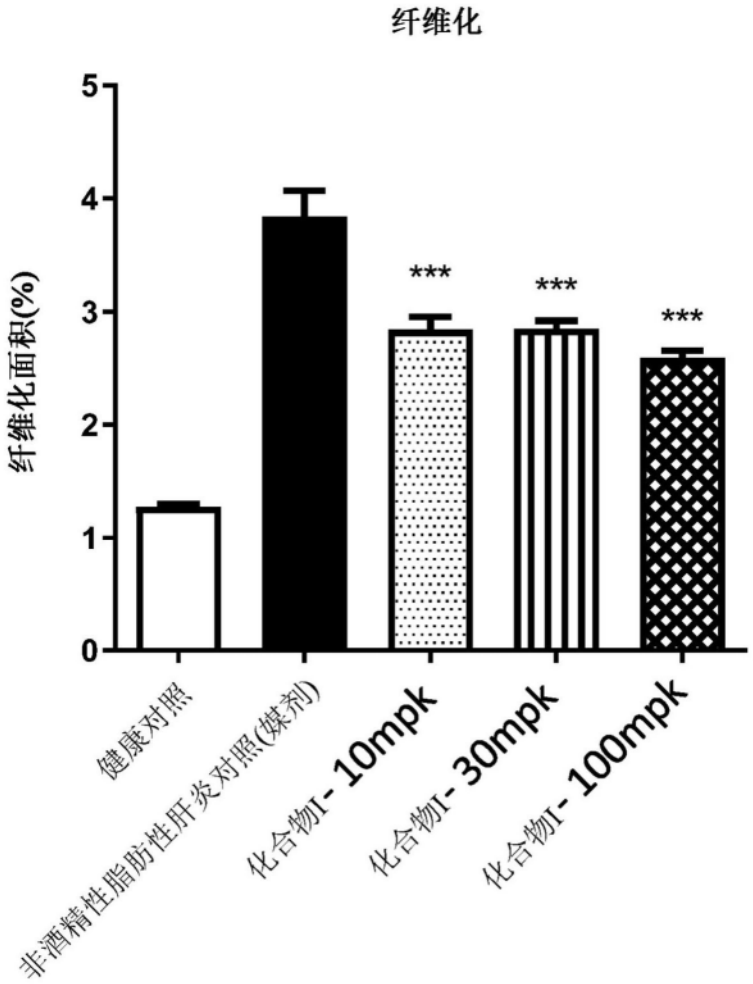

纤维化
纤维化面积(%)
5
4
3
2
1
0
***
***
***
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I- 10mpk
化合物I- 30mpk
化合物I- 100mpk

图11B

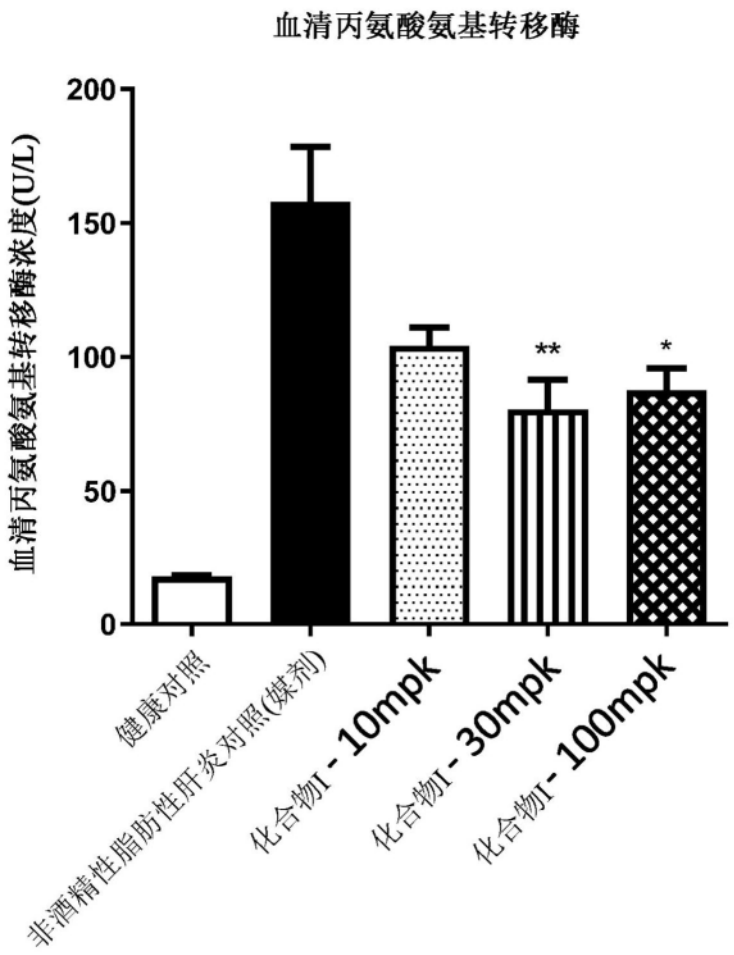

血清丙氨酸氨基转移酶
血清丙氨酸氨基转移酶浓度(U/L)
200
150
100
50
0
**
*
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I - 10mpk
化合物I - 30mpk
化合物I - 100mpk

图12A

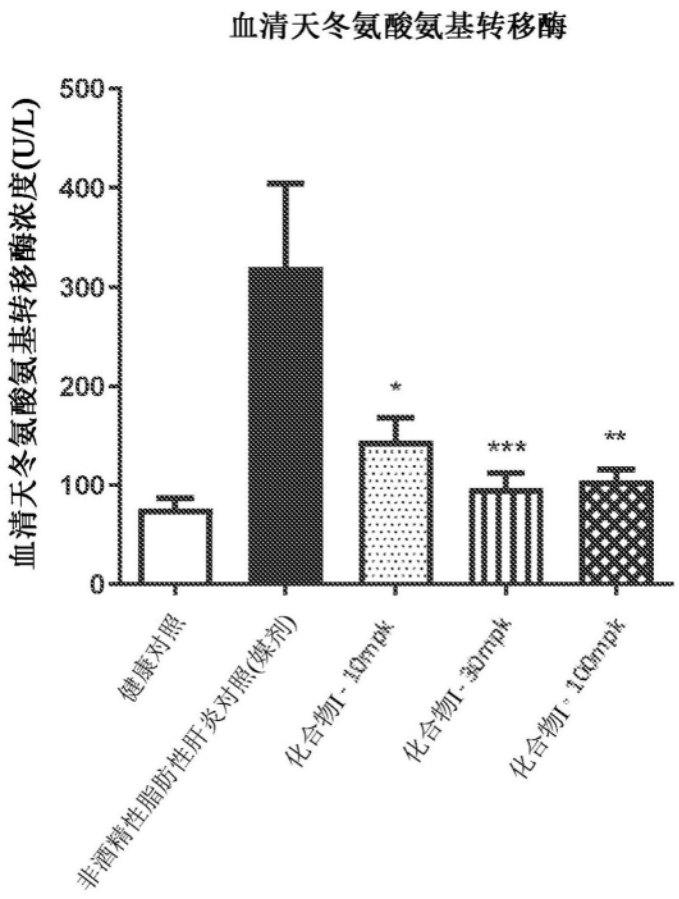

血清天冬氨酸氨基转移酶
血清天冬氨酸氨基转移酶浓度(U/L)
500
400
300
200
100
0
*
***
**
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I - 10mpk
化合物I - 30mpk
化合物I - 100mpk

图12B

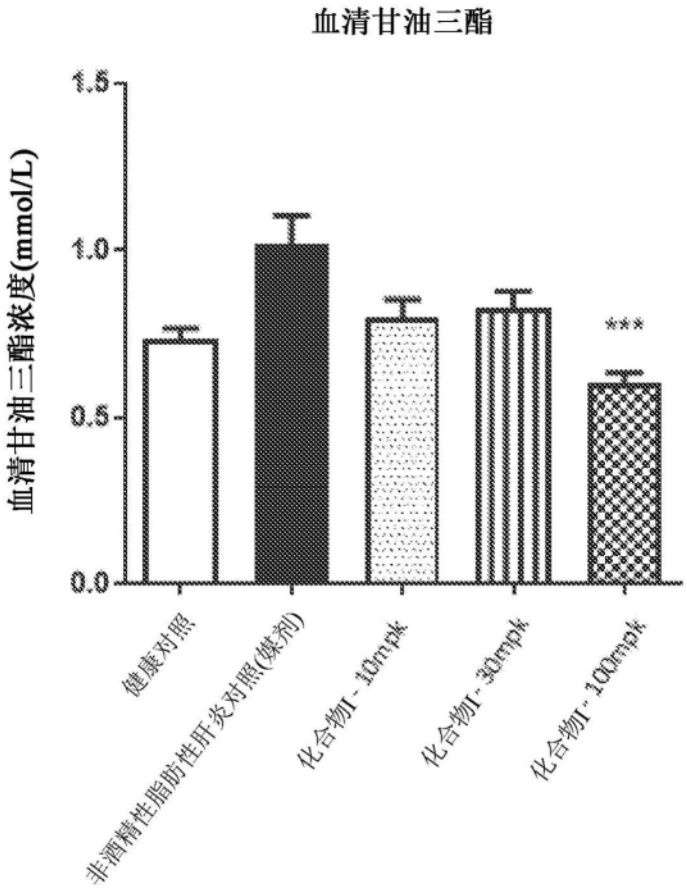

血清甘油三酯
血清甘油三酯浓度(mmol/L)
1.5
1.0
0.5
0.0
***
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I-10mpk
化合物I-30mpk
化合物I-100mpk

图12C

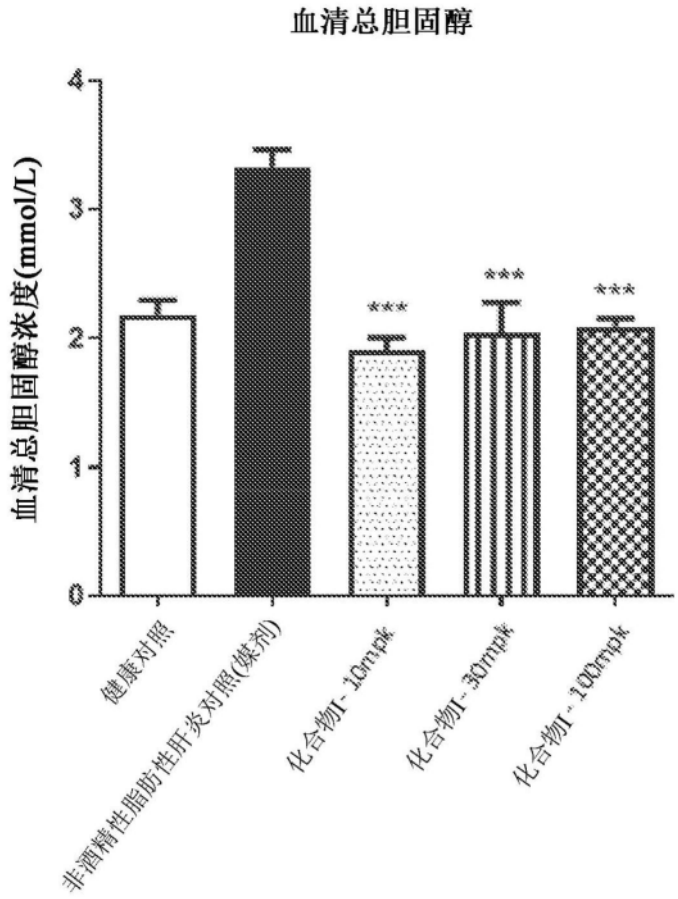

血清总胆固醇
血清总胆固醇浓度(mmol/L)
0
1
2
3
4
***
***
***
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I-10mpk
化合物I-30mpk
化合物I-100mpk

图12D

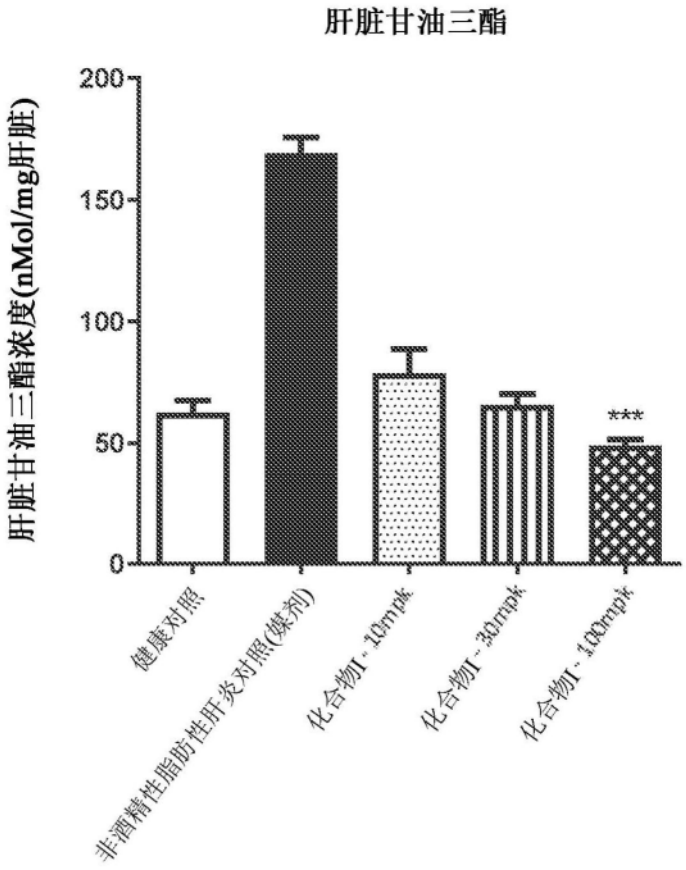

肝脏甘油三酯
肝脏甘油三酯浓度(nMol/mg肝脏)
200
150
100
50
0
***
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I - 10mpk
化合物I - 30mpk
化合物I - 100mpk

图13A

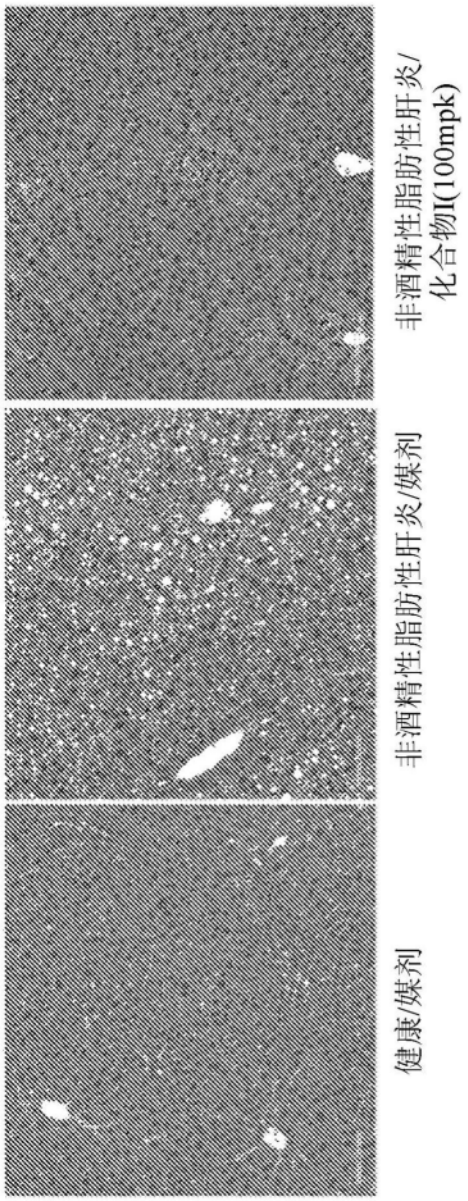


图13B

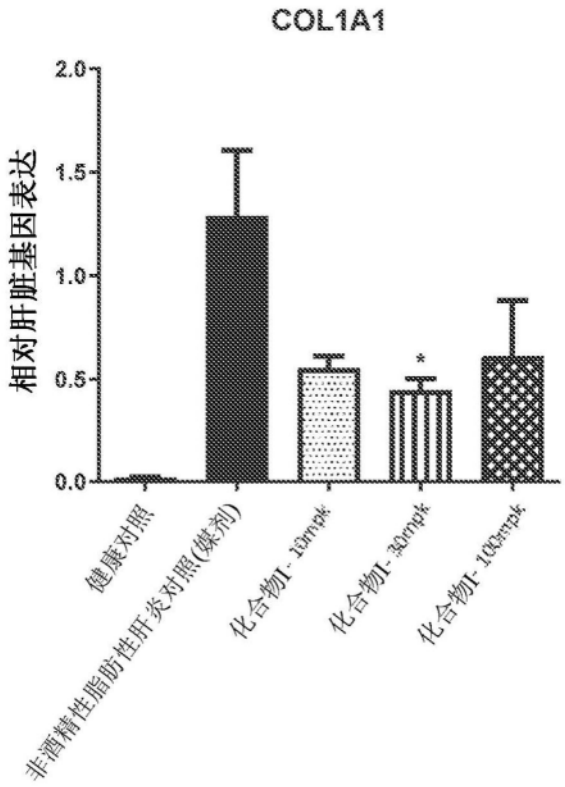

COL1A1
相对肝脏基因表达
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
*
健康对照
非酒精性脂肪性肝炎对照(媒剂)
化合物I- 10mpk
化合物I- 30mpk
化合物I- 100mpk

图14A

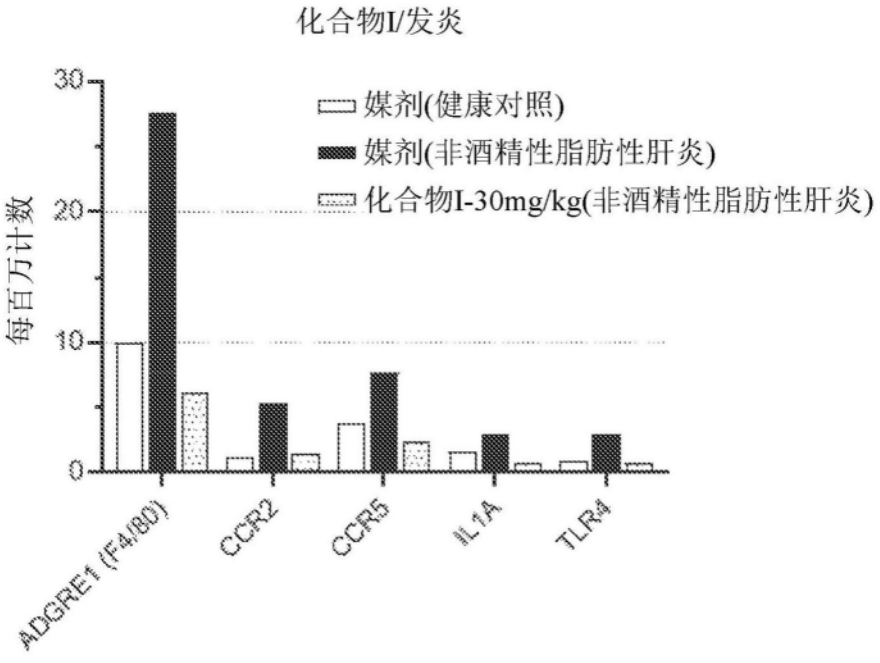

化合物I/发炎
每百万计数
30
20
10
0
媒剂(健康对照)
媒剂(非酒精性脂肪性肝炎)
化合物I-30mg/kg(非酒精性脂肪性肝炎)
ADGRE1 (F4/80)
CCR2
CCR5
IL1A
TLR4

图14B

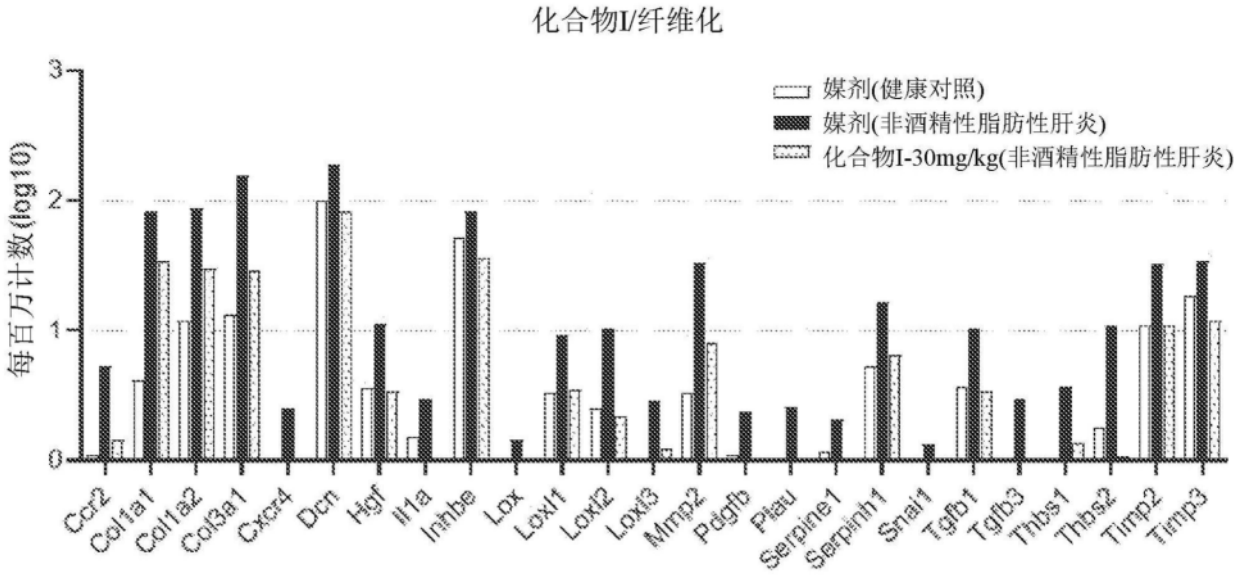
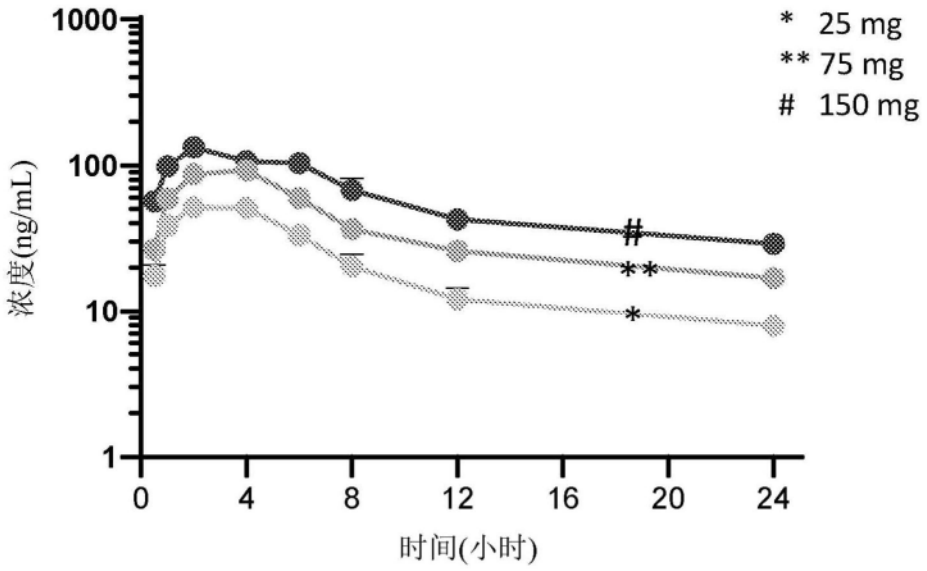


图14C

第1天



标绘：平均值和SEM

图15A

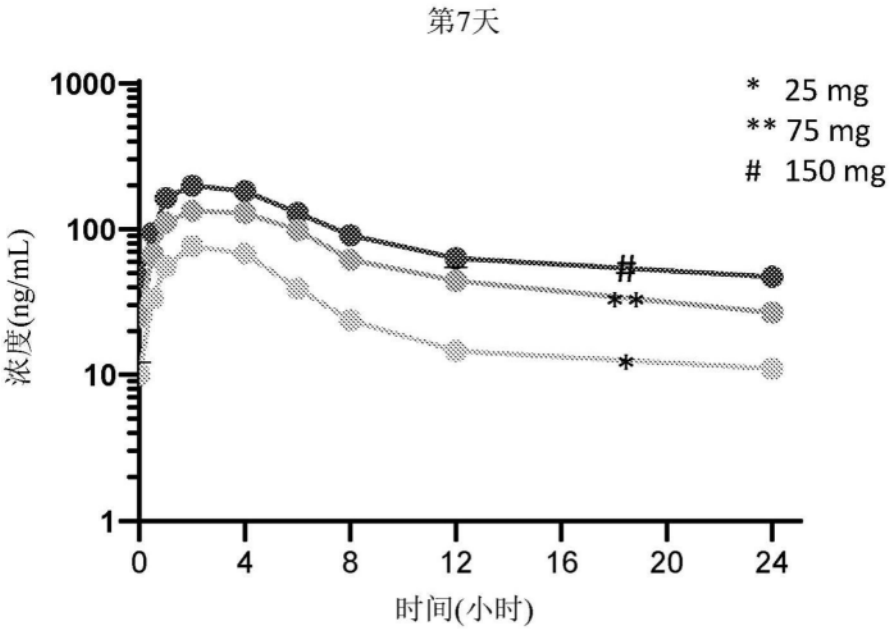

第7天
* 25 mg
** 75 mg
# 150 mg
浓度(ng/mL)
1000
100
10
1
0
4
8
12
16
20
24
时间(小时)

图15B

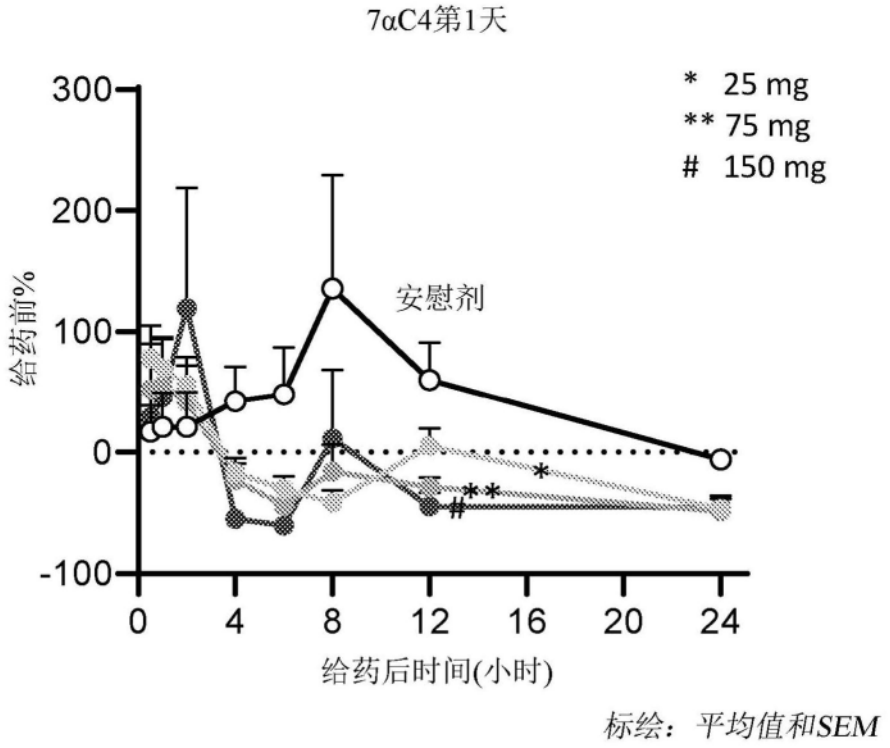

7αC4第1天
* 25 mg
** 75 mg
# 150 mg
安慰剂
给药前%
300
200
100
0
-100
0
4
8
12
16
20
24
给药后时间(小时)
标绘：平均值和SEM

图16A

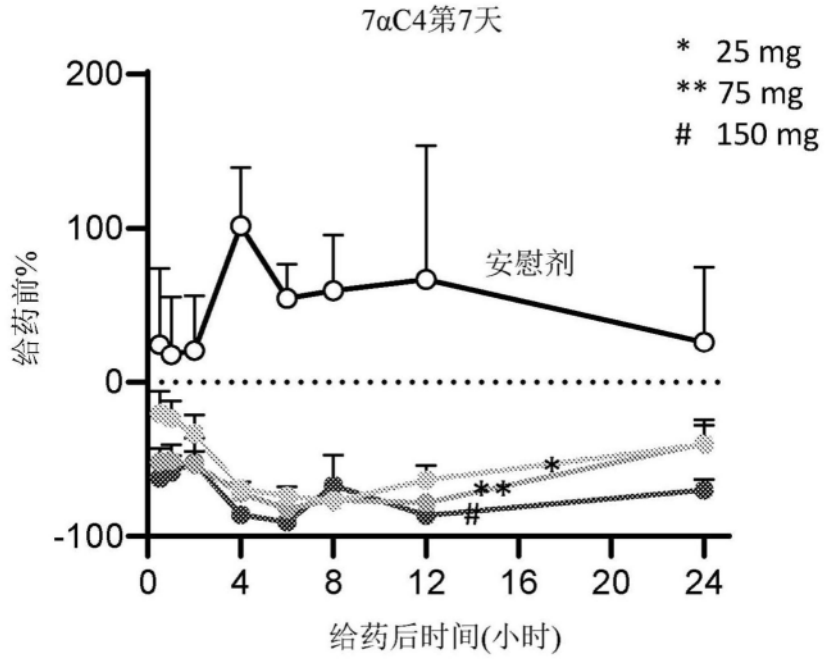

7αC4第7天
* 25 mg
** 75 mg
# 150 mg
200
100
0
-100
给药前%
安慰剂
*
**
#
0
4
8
12
16
20
24
给药后时间(小时)

图16B

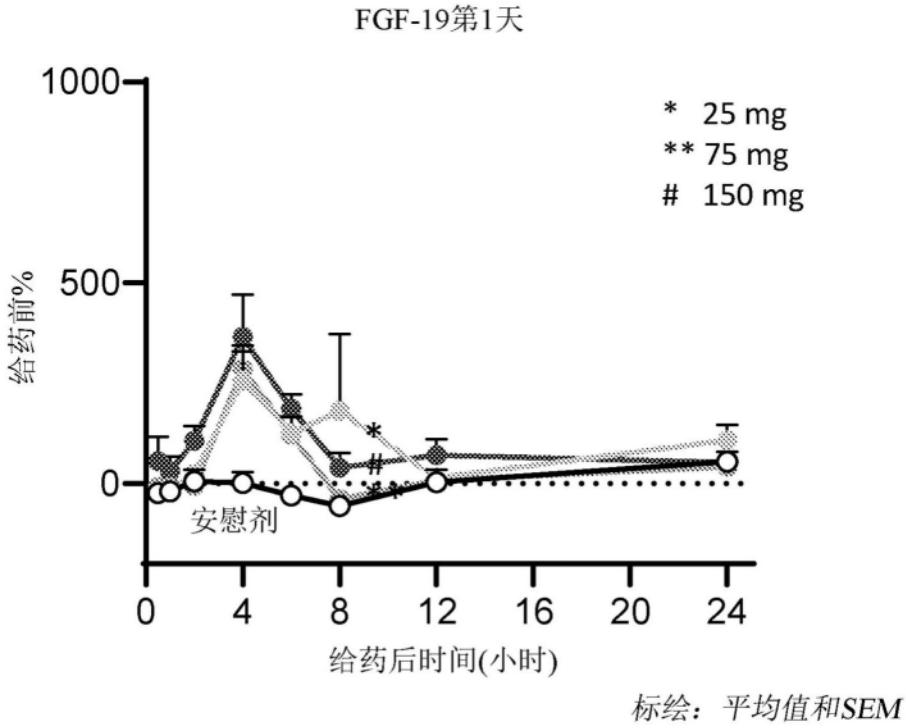

FGF-19第1天
1000
500
0
给药前%
* 25 mg
** 75 mg
# 150 mg
安慰剂
*
#
0
4
8
12
16
20
24
给药后时间(小时)
标绘：平均值和SEM

图17A

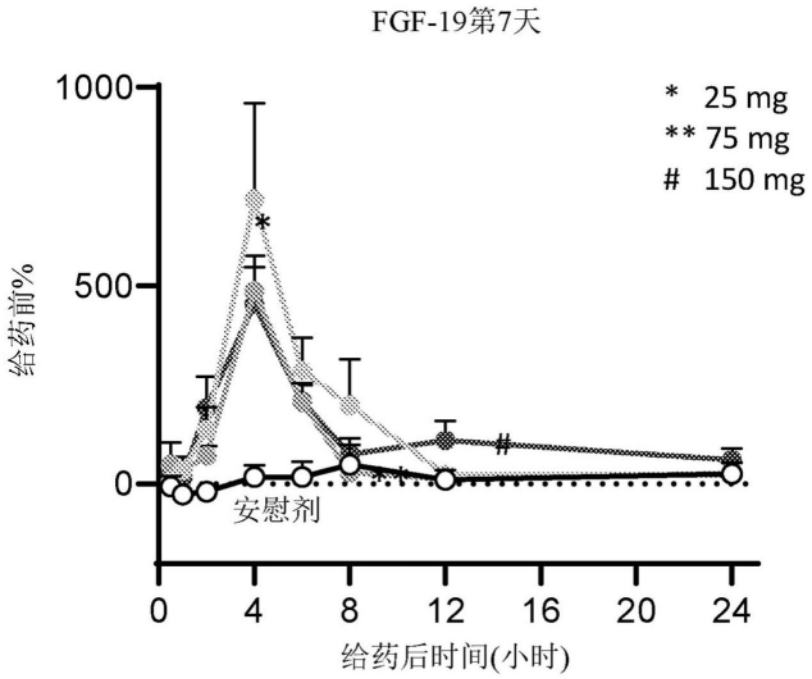

FGF-19第7天
1000
500
0
给药前%
* 25 mg
** 75 mg
# 150 mg
安慰剂
0
4
8
12
16
20
24
给药后时间(小时)

图17B

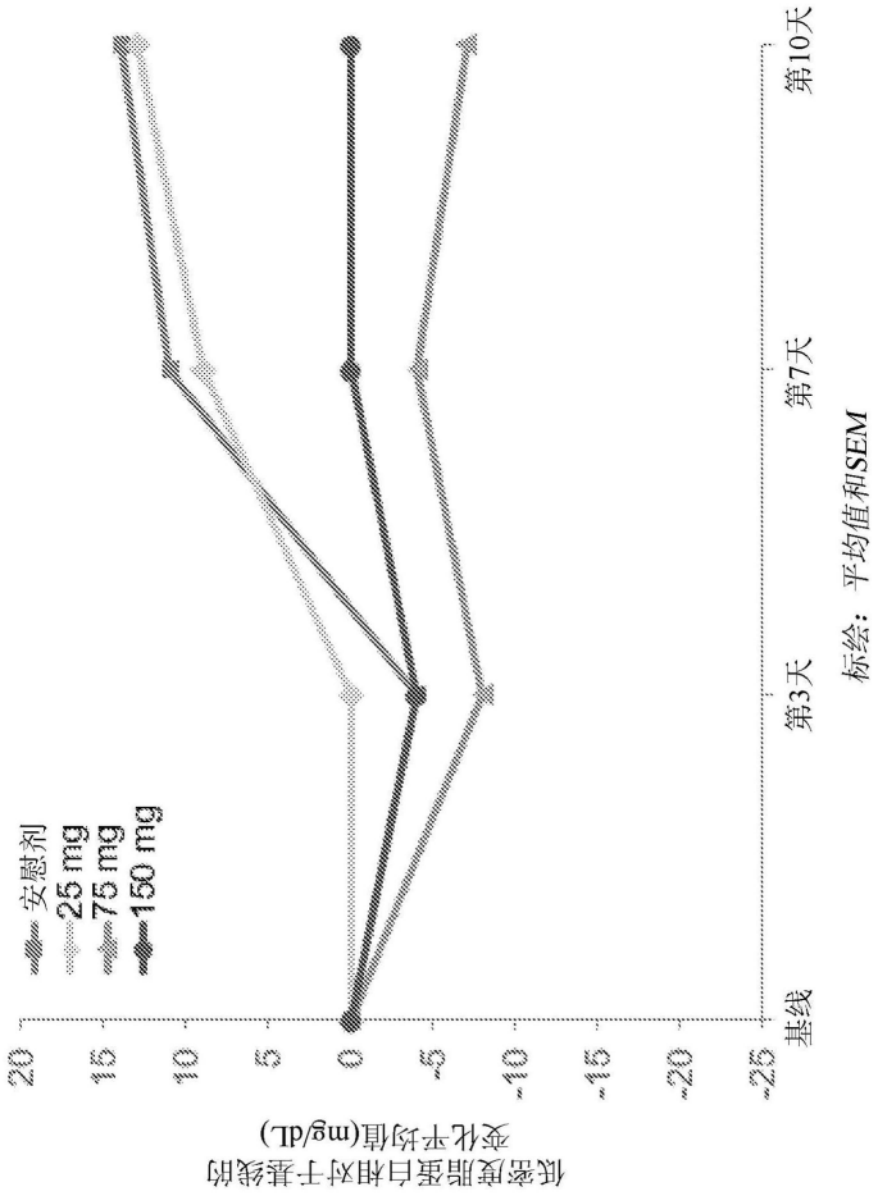

低密度脂蛋白相对于基线的
变化平均值(mg/dL)
20
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
基线
第3天
第7天
第10天
安慰剂
25 mg
75 mg
150 mg
标绘：平均值和SEM

图18