



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115803061 A

(43) 申请公布日 2023.03.14

(21) 申请号 202180049250.2

(72) 发明人 林伟琦 J·E·布朗

(22) 申请日 2021.05.21

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038

(30) 优先权数据

63/029,364 2020.05.22 US

63/030,213 2020.05.26 US

63/113,119 2020.11.12 US

63/146,556 2021.02.05 US

专利代理师 袁志明

(51) Int.Cl.

A61K 47/10 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.01.10

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/033746 2021.05.21

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/237146 EN 2021.11.25

(71) 申请人 度勒科特公司

地址 美国加利福尼亚

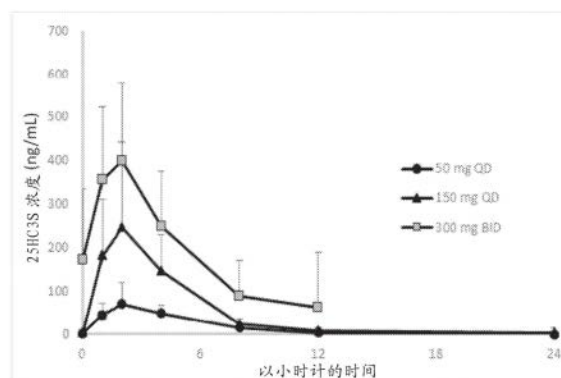
权利要求书3页 说明书29页 附图2页

(54) 发明名称

非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的治疗

(57) 摘要

提供了治疗非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法。例如,该方法包括施用5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐。



1. 治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法, 该方法包括以100毫克/天至300毫克/天的量向所述受试者口服施用5-胆甾烯-3, 25-二醇, 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐。

2. 降低患有非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的人受试者的低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C) 的方法, 其包括:

以100毫克/天至300毫克/天的量向所述受试者口服施用5-胆甾烯-3, 25-二醇, 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐。

3. 降低患有非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 并且在治疗前具有甘油三酯 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的人受试者的血清甘油三酯的方法, 其包括:

以100毫克/天至300毫克/天的量向所述受试者口服施用5-胆甾烯-3, 25-二醇, 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的方法, 其中口服施用包括口服施用约110毫克/天至约250毫克/天的25HC3S或其盐。

5. 根据权利要求1-3任一项所述的方法, 其中口服施用包括口服施用约120毫克/天至约200毫克/天的25HC3S或其盐。

6. 根据权利要求1-5任一项所述的方法, 其中向受试者施用的25HC3S或其盐的每千克总量为约0.51毫克/千克/天至约6毫克/千克/天。

7. 权利要求6的方法, 其中每千克总量为约0.6毫克/千克/天至约5毫克/千克/天。

8. 权利要求6的方法, 其中每千克总量为约0.8毫克/千克/天至约4毫克/千克/天。

9. 权利要求6的方法, 其中每千克总量为约1毫克/千克/天至约3毫克/千克/天。

10. 权利要求1-9任一项的方法, 其中口服施用包括口服施用多个剂量的25HC3S或其盐。

11. 权利要求10的方法, 其中以每周一次至每日三次的频率口服所述剂量。

12. 权利要求11的方法, 其中每日一次口服施用所述剂量。

13. 权利要求11的方法, 其中每日两次口服施用所述剂量。

14. 权利要求10-13任一项的方法, 其中口服施用包括口服施用至少7天, 例如至少14天、至少28天、至少3个月、至少6个月或至少1年的给药期限。

15. 权利要求1-14任一项的方法, 其中以包含25HC3S或其盐和药学上可接受的载体的制剂形式口服施用25HC3S或其盐。

16. 权利要求1-15任一项的方法, 其中25HC3S或其盐包含25HC3S的盐。

17. 权利要求16的方法, 其中25HC3S的盐为钠盐。

18. 权利要求1-17任一项的方法, 其中所述人受试者在治疗前具有至少5%的磁共振成像-质子密度脂肪分数 (MRI-PDF)。

19. 权利要求1-18任一项的方法, 其中所述人受试者在治疗前具有 $\geq 2.75\text{kPa}$ 的磁共振弹性成像 (MRE)。

20. 权利要求1-19任一项的方法, 其中所述受试者表现出约1小时至约5小时或约1.5小时至约4小时的施用后血浆中25HC3S的半衰期 ($T_{1/2}$)。

21. 权利要求1-20任一项的方法, 其中所述受试者表现出约100ng/mL至约500ng/mL、约150ng/mL至约400ng/mL或约200ng/mL至约300ng/mL的25HC3S的 C_{max} 。

22. 权利要求1-21任一项的方法,其中每100mg口服的25HC3S或其盐,所述受试者表现出约100ng/mL至约300ng/mL、约120ng/mL至约250ng/mL或约150ng/mL至约200ng/mL的25HC3S的C_{max}。

23. 权利要求1-22任一项的方法,其中所述受试者表现出约900ng*h/mL至约3000ng*h/mL、约1000ng*h/mL至约2500ng*h/mL或约1100ng*h/mL至约2000ng*h/mL的25HC3S的AUC_{inf}。

24. 权利要求1-23任一项的方法,其中每100mg口服的25HC3S或其盐,所述受试者表现出约600ng*h/mL至约1000ng*h/mL、约700ng*h/mL至约900ng*h/mL或约800ng*h/mL至约900ng*h/mL的25HC3S的AUC_{inf}。

25. 权利要求1-23任一项的方法,其中所述受试者表现出约300L至约1000L、约400L至约900L或约500L至约800L的25HC3S的表现分布容积 (V_z/F)。

26. 权利要求1-25任一项的方法,其中所述受试者表现出约100L至约200L/h、约110L/h至约180L/h或约120L/h至约160L/h的25HC3S的表现清除率 (CL/F)。

27. 权利要求1-26任一项的方法,其中所述受试者正在服用降脂药物,例如他汀类、非诺贝特、 ω -3脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯和鱼油中的至少一种,或者还包括向所述受试者施用降脂药物,例如他汀类、非诺贝特、 ω -3脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯和鱼油中的至少一种。

28. 权利要求1-27任一项的方法,其中所述受试者正在服用阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种,或进一步包括向所述受试者施用阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

29. 5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐,其用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法,其中所述方法如权利要求1-28任一项中所定义。

30. 5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐,其用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法中,所述人受试者在治疗前具有 ≥ 200 mg/dL的甘油三酯,其中所述方法如权利要求1-28任一项中所定义。

31. 5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐在制备用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法的药物的方法中的用途,其中所述方法如权利要求1-28任一项中所定义。

32. 5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐在制备用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法的药物的方法中的用途,所述人受试者在治疗前具有 ≥ 200 mg/dL的甘油三酯,其中所述方法如权利要求1-28任一项中所定义。

33. 5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐,其用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法中,其中所述人受试者正在接受他汀类疗法。

34. 根据权利要求35应用的5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐,其中所述他汀类疗法包括施用阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

35. 根据权利要求33或34应用的5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐,其中所述方法是权利要求1-28任一项中所定义的方法,并且任选地其中所述人受试者在治疗前具有 ≥ 200 mg/dL的甘油三酯。

36. 5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐,其用于通过与至少一种他汀类共同施用来治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法中,任选地其中所述至少一种他汀类包含阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

37. 根据权利要求36应用的5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐,其中所述人受试者是在开始所述方法之前接受他汀类疗法的人受试者,并且任选地其中所述他汀类疗法包括施用在所述方法中与所述25HC3S或其盐共同施用的相同的一种或多种他汀类。

38. 根据权利要求36或37应用的5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐,其中所述方法是权利要求1-28任一项中所定义的方法,并且任选地其中所述人受试者在治疗前具有 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的甘油三酯。

39. 5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐在制备用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法中的药物的方法中的用途,其中所述人受试者正在接受他汀类疗法。

40. 根据权利要求39的用途,其中所述他汀类疗法包括施用阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

41. 根据权利要求39或40的用途,其中所述治疗方法是权利要求1-28任一项中所定义的方法,并且任选地其中所述人受试者在治疗前具有 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的甘油三酯。

42. 5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐在制备药物的方法中的用途,所述药物用于通过与至少一种他汀类共同施用来治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法中,任选地其中所述至少一种他汀类包括阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

43. 根据权利要求42的用途,其中所述人受试者是在开始所述方法之前接受他汀类疗法的人受试者,并且任选地其中所述他汀类疗法包括施用在所述方法中与所述25HC3S或其盐共同施用的相同的一种或多种他汀类。

44. 根据权利要求42或43的用途,其中所述治疗方法是权利要求1-28任一项中所定义的方法,并且任选地其中所述人受试者在治疗前具有 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的甘油三酯。

非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的治疗

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求享有2020年5月22日提交的美国临时专利申请序列号No.63/029,364; 2020年5月26日提交的美国临时专利申请序列号No.63/030,213; 2020年11月12日提交的美国临时专利申请序列号No.63/113,119; 以及2021年2月5日提交的美国临时专利申请序列号No.63/146,556的优先权权益, 这些申请的公开内容通过引用并入本申请。

[0003] 背景

[0004] 非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 是非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 的极端和进行性形式, 其与酒精消耗无关, 并且进一步伴有炎症 (肝炎)。NASH伴随着肝细胞的气胀性变性 (在本申请中也称作“肝细胞气胀”), 这是指在该过程期间细胞大小的增加 (即气胀), 其被认为是细胞凋亡的一种形式。气胀的细胞典型地为相邻肝细胞大小的2-3倍, 其特征在于在H&E染色切片上的纤细透明胞质。肝细胞死亡和炎症反应导致星形细胞的活化, 其在肝纤维化中起关键作用。进一步的疾病进展导致肝硬化和肝细胞癌 (HCC), 这导致肝功能衰竭并最终死亡。

[0005] 对于患有早期NASH的患者, 生活方式干预, 例如显著的体重减轻, 可以减缓甚或逆转脂肪变性的过程。然而, 对于晚期NASH患者, 目前没有可利用的疗法。鉴于脂肪肝病 (FLD) 和NASH的严重程度以及未满足的临床需求, 迫切需要有效的治疗性治疗。

[0006] 美国专利No.8,399,441 (其通过引用并入本申请) 公开了5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 及其盐用于治疗与高胆固醇和/或高甘油三酯和/或炎症 (例如高胆固醇血症、高甘油三酯血症、非酒精性脂肪肝病 (例如NASH)、动脉粥样硬化等) 相关的病症的用途。

[0007] 美国专利No.9,034,859 (其通过引用并入本申请) 公开了25HC3S及其盐用于预防和/或治疗肝损伤或疾病 (例如NASH) 的用途。

[0008] KEMP等人在国际肝脏大会 (2017) 上张贴的海报, “Safety and pharmacokinetics of DUR-928 in patients with non-alcoholic steatohepatitis-A Phase 1b study,” 公开了在活检证实的NASH患者和匹配的对照受试者 (MCS) 中口服的DUR-928的1b期单剂量范围 (50mg和200mg) 安全性/PK研究。

[0009] SHAH等人, “Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Response in Individual NASH Patients Receiving Two Dose Levels of DUR-928,” NASH Summit-2019 (2019年4月22-25日) 公开了向NASH患者口服5-胆甾烯-3 β ,25-二醇3-硫酸酯 (25HC3S)。患者接受间隔约两个月施用的50mg和200mg剂量。Shah等人得出结论, 在50mg与200mg剂量水平之间, 生物反应无剂量依赖性变化。

[0010] 对治疗NASH的改进方法存在迫切需求。

[0011] 概述

[0012] 本公开提供了治疗非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的多种方法。所述方法包括施用有效量的5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐。在某些情况下, 所述方法包括以100毫克/天至300毫克/天的量施用25HC3S或其盐。

[0013] 本公开的结果是令人惊讶的。结果是令人惊讶的, 至少因为所述剂量导致改善的

低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平。现已意外地发现,本发明的特定剂量方案可以导致改善的临床结局,如例如本申请中进一步所讨论和证明的。

[0014] 本公开的其他方面:

[0015] 1. 治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的方法,该方法包括以 100毫克/天至300毫克/天的量向所述受试者口服5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐。

[0016] 2. 降低患有非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的人受试者的低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C) 的方法,其包括:

[0017] 以100毫克/天至300毫克/天的量向所述受试者口服5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐。

[0018] 3. 降低患有非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 并且在治疗前具有甘油三酯 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的人受试者的血清甘油三酯的方法,其包括:

[0019] 以100毫克/天至300毫克/天的量向所述受试者口服5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯 (25HC3S) 或其盐。

[0020] 4. 根据方面1至方面3任一方面所述的方法,其中口服包括口服约110毫克/天至约250毫克/天的25HC3S或其盐。

[0021] 5. 根据方面1至方面3任一方面所述的方法,其中口服包括口服约120毫克/天至约200毫克/天的25HC3S或其盐。

[0022] 6. 根据方面1至方面5任一方面所述的方法,其中向受试者施用的25HC3S或其盐的每千克总量为约0.5毫克/千克/天至约6毫克/千克/天。

[0023] 7. 根据方面6所述的方法,其中每千克总量为约0.6毫克/千克/天至约5毫克/千克/天。

[0024] 8. 根据方面6所述的方法,其中每千克总量为约0.8毫克/千克/天至约4毫克/千克/天。

[0025] 9. 根据方面6所述的方法,其中每千克总量为约1毫克/千克/天至约3毫克/千克/天。

[0026] 10. 根据方面1至方面9任一方面所述的方法,其中口服包括口服多个剂量的25HC3S或其盐。

[0027] 11. 根据方面10所述的方法,其中以每周一次至每日三次的频率口服所述剂量。

[0028] 12. 根据方面11所述的方法,其中每日一次口服所述剂量。

[0029] 13. 根据方面11所述的方法,其中每日两次口服所述剂量。

[0030] 14. 根据方面10至方面13任一方面所述的方法,其中口服包括口服至少7天,例如至少14天、至少28天、至少3个月、至少6个月或至少1年的给药期限。

[0031] 15. 根据方面1至方面14任一方面所述的方法,其中以包含25HC3S或其盐和药学上可接受的载体的制剂形式口服25HC3S或其盐。

[0032] 16. 根据方面1至方面15任一方面所述的方法,其中25HC3S或其盐包含25HC3S的盐。

[0033] 17. 根据方面16所述的方法,其中25HC3S的盐为钠盐。

[0034] 18. 根据方面1至方面17任一方面所述的方法,其中所述人受试者在治疗前具有至

少5%的磁共振成像-质子密度脂肪分数(MRI-PDFF)。

[0035] 19.根据方面1至方面18任一方面所述的方法,其中所述人受试者在治疗前具有 $\geq 2.75\text{kPa}$ 的磁共振弹性成像(MRE)。

[0036] 20.根据方面1至方面19任一方面所述的方法,其中所述受试者表现出约1小时至约5小时或约1.5小时至约4小时的25HC3S施用后血浆半衰期($T_{1/2}$)。

[0037] 21.根据方面1至方面20任一方面所述的方法,其中所述受试者表现出约100ng/mL至约500ng/mL、约150ng/mL至约400ng/mL或约200ng/mL至约300ng/mL的25HC3S的 C_{max} 。

[0038] 22.根据方面1至方面23任一方面所述的方法,其中每100mg口服的25HC3S或其盐,所述受试者表现出约100ng/mL至约300ng/mL、约120ng/mL至约250ng/mL或约150ng/mL至约200ng/mL的25HC3S的 C_{max} 。

[0039] 23.根据方面1至方面22任一方面所述的方法,其中所述受试者表现出约900ng*h/mL至约3000ng*h/mL、约1000ng*h/mL至约2500ng*h/mL或约1100ng*h/mL至约2000ng*h/mL的25HC3S的 AUC_{inf} 。

[0040] 24.根据方面1至方面23任一方面所述的方法,其中每100mg口服的25HC3S或其盐,所述受试者表现出约600ng*h/mL至约1000ng*h/mL、约700ng*h/mL至约900ng*h/mL或约800ng*h/mL至约900ng*h/mL的25HC3S的 AUC_{inf} 。

[0041] 25.根据方面1至方面24任一方面所述的方法,其中所述受试者表现出约300L至约1000L、约400L至约900L或约500L至约800L的25HC3S的表观分布容积(V_z/F)。

[0042] 26.根据方面1至方面25任一方面所述的方法,其中所述受试者表现出约100L/h至约200L/h、约110L/h至约180L/h或约120L/h至约160L/h的25HC3S的表观清除率(CL/F)。

[0043] 27.根据方面1至方面26任一方面所述的方法,其中所述受试者正在服用降脂药物,例如他汀类、非诺贝特、 ω -3脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯和鱼油中的至少一种,或者还包括向所述受试者施用降脂药物,例如他汀类、非诺贝特、 ω -3脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯和鱼油中的至少一种。

[0044] 28.根据方面1至方面27任一方面所述的方法,其中所述受试者正在服用阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种,或进一步包括向所述受试者施用阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

[0045] 29.5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐,其用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的方法中,其中所述方法如方面1至方面28任一方面中所定义。

[0046] 30.5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐,其用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的方法中,所述人受试者在治疗前具有 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的甘油三酯,其中所述方法如方面1至方面28任一方面中所定义。

[0047] 31.5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐在制备用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的方法的药物的方法中的用途,其中所述方法如方面1至方面28任一方面中所定义。

[0048] 32.5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐在制备用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的方法的药物的方法中的用途,所述人受试者在治疗

前具有 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的甘油三酯,其中所述方法如方面1至方面28任一方面中所定义。

[0049] 33.5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐,其用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的方法中,其中所述人受试者正在接受他汀类疗法。

[0050] 34.根据方面33应用的5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐,其中所述他汀类疗法包括施用阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

[0051] 35.根据方面33或34应用的5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐,其中所述方法是如方面1至方面28任一方面中所定义的方法,并且任选地其中所述人受试者在治疗前具有 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的甘油三酯。

[0052] 36.5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐,其用于通过与至少一种他汀类共同施用来治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的方法中,任选地其中所述至少一种他汀类包括阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

[0053] 37.根据方面36应用的5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐,其中所述人受试者是在开始所述方法之前接受他汀类疗法的人受试者,并且任选地其中所述他汀类疗法包括施用在所述方法中与所述25HC3S或其盐共同施用的相同的一种或多种他汀类。

[0054] 38.根据方面36或方面37应用的5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐,其中所述方法是如方面1至方面28任一方面中所定义的方法,并且任选地其中所述人受试者在治疗前具有 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的甘油三酯。

[0055] 39.5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐在制备用于治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的方法中的药物的方法中的用途,其中所述人受试者正在接受他汀类疗法。

[0056] 40.根据方面39的用途,其中所述他汀类疗法包括施用阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

[0057] 41.根据方面39或方面40的用途,其中所述治疗方法是如方面1至方面28任一方面中所定义的方法,并且任选地其中所述人受试者在治疗前具有 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的甘油三酯。

[0058] 42.5-胆甾烯-3,25-二醇,3-硫酸酯(25HC3S)或其盐在制备药物的方法中的用途,所述药物用于通过与至少一种他汀类共同施用来治疗有需要的人受试者的非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的方法中,任选地其中所述至少一种他汀类包括阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。

[0059] 43.根据方面42的用途,其中所述人受试者是在开始所述方法之前接受他汀类疗法的人受试者,并且任选地其中所述他汀类疗法包括施用在所述方法中与所述25HC3S或其盐共同施用的相同的一种或多种他汀类。

[0060] 44.根据方面42或方面43的用途,其中所述治疗方法是如方面1至方面28任一方面中所定义的方法,并且任选地其中所述人受试者在治疗前具有 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的甘油三酯。

[0061] 附图简要说明

[0062] 图1描绘了根据某些实施方案施用25HC3S的受试者的平均药物动力学(PK)参数。

[0063] 图2描绘了根据某些实施方案施用50mg 25HC3S后健康受试者和NASH受试者的25HC3S的药物动力学(PK)血浆浓度。

[0064] 图3描绘了根据某些实施方案施用200mg 25HC3S后健康受试者和NASH受试者的25HC3S的药物动力学(PK)血浆浓度。

[0065] 发明详述

[0066] 本申请中描述了用于治疗非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的方法。该方法包括使肝脏与25HC3S或其盐接触。接触一般包括以100毫克/天至300毫克/天的量向人类患者施用25HC3S或其盐。

[0067] 如上文所讨论的,本公开的结果是令人惊讶的。结果是令人惊讶的,至少因为所述剂量导致改善的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平。

[0068] 定义

[0069] 通篇使用以下定义:

[0070] 本申请中所用的“治疗(treat)”(治疗(treatment)、(treating)等)是指向人受试者施用25HC3S或其盐,所述人受试者:(1)已经表现出NASH的至少一种症状;和/或(2)被诊断为患有NASH,例如由受过训练的临床专业人员;和/或(3)基于一种或多种体液(例如血液)的实验室(例如,分子指标)或临床测试被确定患有NASH。在某些实施方案中,通过肝组织活检将受试者诊断为患有NASH。换句话说,已经在受试者中测量、检测或观察到已知与NASH相关的至少一个参数。NASH的“治疗”包括减轻或减弱或在一些情况下完全根除在施用25HC3S或其盐之前或之时存在的NASH的至少一种症状。在一些实施方案中,根据本公开治疗NASH足以改善如下文更详细描述受试者中NASH的实验室或临床指标。在某些情况下,受试者中NASH的实验室或临床指标的改善使得该受试者被视为不再患有NASH。

[0071] “肝功能障碍”表示肝脏不执行其预期功能的健康状况或状态,例如其中某些生物或分子指标被测量为在正常生理范围之外。肝功能代表肝脏在生理范围内的预期功能。本领域技术人员知晓在医学检查期间肝脏的相应功能。肝功能障碍典型地包括一种临床综合征,其中肝脏中,任选地在没有解剖损伤的情况下,发生进行性和潜在可逆的生理功能障碍。

[0072] “肝衰竭”表示肝功能障碍到如此程度,使得在没有外部临床干预的情况下不能维持正常的稳态。

[0073] “CK-18”是指细胞角蛋白-18片段,其已被鉴定为NASH的非侵入性生物标记,因为通过组织学确定,其在NASH患者中显著增加,并且该片段的较高血浆水平与肝活检中具有纤维化的几率相关联。参见Feldstein等人,Hepatology,50:1072-1078(2009),通过引用将该文献并入本申请。

[0074] “药学上可接受的”是指不干扰活性成分的生物活性的有效性并且对其施用的宿主无毒性的物质。

[0075] 治疗NASH的方法

[0076] 本公开提供了用于治疗NASH的疗法,其包括向需要治疗的患者施用100毫克/天至300毫克/天的量的25HC3S或其盐。在一些实施方案中,需要治疗的患者是已被诊断患有NASH的患者。在一些实施方案中,用本申请中所述的25HC3S或其盐治疗减缓、停止或改善NASH。

[0077] 患者群体

[0078] 通过本申请中所讨论的或本领域技术人员已知的各种方式可以便利地鉴定可能

受益于本公开的疗法的患者。此外,还提供了用于确定患者是否对所述疗法有反应的方法。在一些实施方案中,腹部成像测试(包括超声检查、计算机体层扫描(CT)和/或磁共振成像(MRI))可以用于诊断患有该疾病的患者,例如,评估疾病是否存在及其严重程度。如果需要,可以通过肝活检更明确地确认这种非侵入性诊断。在一些实施方案中,一种或多种生物标记用于诊断NASH。在一些实施方案中,根据本公开被治疗的患者已接受NASH的初步诊断,并且未用25HC3S或其盐治疗其当前处于临床发展中的任何其他病症(例如,酒精性肝炎(AH)或COVID-19)。

[0079] 在一些情况下,被治疗的患者具有 $>5\%$,例如 $>10\%$ 、 $>15\%$ 、 $>20\%$ 、 $>25\%$ 或 $>30\%$ 的磁共振成像-质子密度脂肪分数(MRI-PDFF)。在一些情况下,被治疗的患者具有 4% 至 60% ,例如 5% 至 50% 、 10% 至 40% 或 15% 至 30% 的MRI-PDFF。

[0080] 在一些情况下,被治疗的患者具有 $\geq 2\text{kPa}$,例如 $\geq 2.5\text{kPa}$ 、 $\geq 3\text{kPa}$ 、 $\geq 3.5\text{kPa}$ 、 $\geq 4.0\text{kPa}$ 或 $\geq 4.5\text{kPa}$ 的磁共振弹性成像(MRE)。在一些情况下,被治疗的患者具有约 2kPa 至约 10kPa ,例如约 3kPa 至约 8kPa 或约 3.5kPa 至约 6kPa 的MRE。

[0081] 在一些情况下,被治疗的患者具有 $\geq 5\text{kPa}$,例如 $\geq 7\text{kPa}$ 、 $\geq 7.5\text{kPa}$ 、 $\geq 12.5\text{kPa}$ 或 $\geq 14\text{kPa}$ 的Fibroscan®值。在一些情况下,被治疗的患者具有约 7kPa 至约 75kPa ,例如约 7.5kPa 至约 60kPa 、约 8kPa 至约 50kPa 或 10kPa 至约 40kPa 的Fibroscan®值。

[0082] 在一些情况下,被治疗的患者具有 $>200\text{dB/m}$,例如 $>250\text{dB/m}$ 或 $>300\text{dB/m}$ 的CAP评分。在一些情况下,被治疗的患者具有约 200dB/m 至约 400dB/m ,例如约 250dB/m 至约 300dB/m 的CAP评分。

[0083] 在一些实施方案中,患者表现出异常肝功能,例如,如通过存在升高的血清门冬氨酸转氨酶(ALT)、 γ 谷氨酰转肽酶(GGT)、总胆红素(TBL)和/或碱性磷酸酶(ALP)水平的所确定的。在一些实施方案中,被治疗的患者具有升高的ALT水平、升高的 γ 谷氨酰转肽酶和/或升高的碱性磷酸酶水平(例如,高于正常值上限约 1.5 倍至 4 倍的水平)。在一些情况下,被治疗的患者具有 >1 且 <5 倍正常值上限(ULN)的ALT浓度。在一些情况下,被治疗的患者具有 $<30\text{U/L}$,例如 $<20\text{U/L}$ 的ALT浓度。在一些情况下,被治疗的患者具有 $<5\times$ 正常值上限(ULN)的AST浓度。在一些情况下,被治疗的患者具有 $\text{GGT}>15\text{U/L}$,例如 $\text{GGT}>30\text{U/L}$ 。在一些情况下,被治疗的患者具有 $\text{GGT } 5\text{U/L}-500\text{U/L}$,例如 15U/L 至 400U/L 、 20U/L 至 350U/L 或 30U/L 至 300U/L 。在一些实施方案中,被治疗的患者具有在正常值上限内的ALT水平、 γ 谷氨酰转肽酶水平和/或碱性磷酸酶水平。

[0084] 在一些情况下,被治疗的患者具有升高的脂质水平,特别是升高的血清甘油三酯水平。在一些情况下,患者具有升高的血清胆固醇,包括低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和甘油三酯(TG)。在一些情况下,被治疗的患者具有低水平的HDL胆固醇。在一些情况下,被治疗的患者具有高血压。在一些情况下,被治疗的患者具有心血管疾病。在一些情况下,被治疗的患者具有慢性阻塞性肺病(COPD)。在一些情况下,被治疗的患者具有慢性肾疾病(CKD)。在一些情况下,被治疗的患者具有糖尿病。

[0085] 在一些实施方案中,使用成像测试诊断NASH。在一些实施方案中,使用评分系统诊断NASH,所述评分系统例如但不限于脂肪肝指数、NAFLD肝脏脂肪评分、NAFLD活动评分或脂肪肝指数。在一些实施方案中,使用NAFLD活动评分(NAS)诊断NASH,其提供基于脂肪变性(0-3)、小叶炎症(0-3)和肝细胞气胀(0-2)的程度的复合评分。参见Kleiner等人,

Hepatology, 41:1313-1321 (2005); 和Bugianesi等人, J Hepatology, 65:643-644 (2016)。在一些情况下, 被治疗的患者具有1、2或3期纤维化和NAS \geq 4, 脂肪变性、肝细胞气胀和小叶炎症中的每一种至少1个点。

[0086] NASH在病理学上被分类为1型和2型形式, 其中1型形式更常见于成人患者中, 而2型形式更常见于儿童中。1型NASH典型地以脂肪变性、肝细胞气胀和窦周纤维化为特征。2型NASH典型地以脂肪变性、门静脉炎症和门静脉纤维化为特征。参见, 例如Schwimmer等人, Hepatology, 42:641-649 (2005)。NASH的进一步进展可导致严重的纤维化、肝硬化和末端期肝病。在一些实施方案中, 被治疗的患者患有1型NASH。在一些实施方案中, 被治疗的患者患有2型NASH。在一些实施方案中, 被治疗的患者患有早期NASH。在一些实施方案中, 被治疗的患者患有中期NASH。在一些实施方案中, 被治疗的患者患有晚期NASH (例如, 患有肝脏的严重纤维化和/或肝硬化)。

[0087] 在一些实施方案中, 使用成像测试诊断NASH。在一些实施方案中, 使用评分系统诊断NASH, 所述评分系统例如但不限于NAFLD活动评分 (例如, >5 的评分) 或脂肪变性、活动和纤维化 (SAF) 评分或NAFLD纤维化评分; 血清生物标记 (例如细胞角蛋白-18); 或其组合。参见Bedossa等人, Hepatology, 56:1751-1759 (2012); Arab等人, Gastroenterol Hepatol, 40:388-394 (2017)。在一些实施方案中, 使用弹性成像 (例如Fibroscan®) 检测和/或测量纤维化。

[0088] 在一些实施方案中, 通过使用一种或多种生物标记如CK-18鉴定被治疗的患者。相对于在健康个体中测量的水平, 无论是通过免疫组织化学、来自肝活组织检查的组织学测量, 还是通过测量血浆水平, 患者或疑似处于该疾病风险中的个体中的CK-18水平典型地将升高。尽管本公开不限于特定或任何提出的作用机制, 但预期NASH患者中CK-18水平降低与肝细胞凋亡降低相关。在一些实施方案中, 与未接受治疗或标准护理相比, 根据本公开用25HC3S或其盐治疗的NASH患者表现出减少的肝细胞凋亡。

[0089] 在一些情况下, 通过血浆或血清生物标记, 包括炎性、细胞死亡和纤维化标记鉴定被治疗的患者, 如通过脂连蛋白、高敏感性C反应蛋白 (hsCRP)、细胞因子 (如白细胞介素 (IL) -1 β 、IL-6、IL-12、IL-17、IL-18和肿瘤坏死因子 α (TNF α))、细胞角蛋白-18 (M30和M65两者)、N-末端III型胶原蛋白前肽 (pro-C3)、纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI1)、血清胆汁酸、基质金属蛋白酶组织抑制剂-1 (TIMP1) 和/或透明质酸 (HA) 进行测定。

[0090] 在实施方案中, 被治疗的患者可以为人受试者, 包括新生儿、婴儿、儿童和成人。在一些实施方案中, 被治疗的患者为成人。在一些实施方案中, 被治疗的患者为儿童。在一些实施方案中, 患者为年龄在17岁或更小年龄的人受试者, 例如15岁或更小年龄, 例如10岁或更小年龄, 例如9岁或更小年龄, 例如8岁或更小年龄, 例如7岁或更小年龄, 例如6岁或更小年龄, 例如5岁或更小年龄, 例如4岁或更小年龄, 例如3岁或更小年龄, 例如2岁或更小年龄, 例如1岁或更小年龄, 例如6个月或更小年龄, 例如1个月或更小年龄, 且包括新生儿人受试者。在一些实施方案中, 患者为年龄在18-44岁的人受试者, 例如20-40岁, 例如年龄在25-35岁。在一些实施方案中, 患者为年龄在45-65岁的人受试者, 例如年龄在50-60岁。在某些实施方案中, 患者为年龄65岁或更大年龄的人受试者, 例如年龄在70岁或更大年龄, 例如年龄在75岁或更大年龄, 例如年龄在80岁或更大年龄, 例如年龄在85岁或更大年龄, 例如年龄在90岁或更大年龄, 例如年龄在95岁或更大年龄, 并且包括年龄在100岁或更大年龄的人受试

者。

[0091] 在一些情况下,被治疗的患者具有BMI $>20\text{kg}/\text{m}^2$,例如 $>25\text{kg}/\text{m}^2$, $>30\text{kg}/\text{m}^2$ 或 $>35\text{kg}/\text{m}^2$ 。在一些情况下,被治疗的患者具有BMI约 $20\text{kg}/\text{m}^2$ 至约 $60\text{kg}/\text{m}^2$,例如约 $25\text{kg}/\text{m}^2$ 至约 $50\text{kg}/\text{m}^2$ 或约 $30\text{kg}/\text{m}^2$ 至约 $40\text{kg}/\text{m}^2$ 。

[0092] 在一些实施方案中,被治疗的患者没有酒精性肝炎(AH)。在一些实施方案中,被治疗的患者没有COVID-19。

[0093] 为了避免疑义,被治疗的患者可以具有上述特征中的两个或更多个中的多个,并且本公开明确地包括对具有这些特征的任何组合的患者进行的治疗方法。这类诊断特征的一个严格非限制性组合是在本说明书的实施例部分中定义为入组标准的特征的组合(特别是入组标准4,以及其他编号的标准或这些编号标准的任何组合)。

[0094] 给药方案

[0095] 所述方法的实施一般包括鉴定患有NASH的患者,并且通过适当途径以可接受的形式施用25HC3S或其盐。

[0096] 在一些实施方案中,所施用的25HC3S或其盐的总量为100毫克/天至300毫克/天,例如约110毫克/天至约250毫克/天或约120毫克/天至约200毫克/天(例如约130至约170毫克/天或约150毫克/天)。优选地,所施用的25HC3S或其盐的总量大于100毫克/天(例如至少约105毫克/天,且更通常地至少约为110毫克/天)。

[0097] 在一些情况下,向受试者施用的25HC3S或其盐的每千克体重总量为约0.5毫克/千克/天至约6毫克/千克/天,例如约0.6毫克/千克/天至约5毫克/千克/天,约0.8mg/kg天至约4毫克/千克/天,或约1毫克/千克/天至约3毫克/千克/天。

[0098] 在所述方法中倍施用的25HC3S或其盐可以在一段时间期限(也本申请也称作“给药期”)内以一个剂量或以多个分开的剂量施用。在一些情况下,施用包括施用多个剂量的25HC3S或其盐。

[0099] 在一些情况下,所述剂量以每周一次至每天三次的频率施用。在一些情况下,剂量以每日一次施用。在一些情况下,剂量以每日两次施用。

[0100] 本公开的化合物的施用可以是间歇性的,或者以递增或连续、恒定或受控的速率施用。施用可以通过任何途径进行,例如口服、透皮或肠胃外,包括静脉内、肌肉和/或皮下注射。典型地优选口服。

[0101] 在本公开中,25HC3S或其盐以毫克/天定义的指定量施用。然而,本领域普通技术人员清楚,本公开包括剂量方案,其中施用包括施用多个剂量的25HC3S或其盐,并且其中施用频率可以为每天多次或少于每天一次。因此,为了避免疑义,应当理解,以毫克/天计的指定量是指在给药期中每天施用的25HC3S或其盐的平均总量(其中给药期典型在施用以毫克/天计的所述日剂量的第一天开始,因此任选地排除剂量递增的任何初步期)。例如,如果剂量每天施用两次,则以毫克/天定义的指定量等于以毫克计的两个剂量的总量。作为另一个实例,如果剂量每周一次施用,则以毫克/天定义的指定量等于每周一次施用的剂量的七分之一。给药期典型地在施用以毫克/天计的所述日剂量的最后一天终止。因此,通常,以毫克/天计的所述日剂量是在给药期中施用的25HC3S或其盐的总量除以给药期中的天数。

[0102] 在本公开的实施方案中,口服包括施用所述量持续至少7天,例如至少14天或至少28天,包括至少56天、至少3个月、至少6个月或至少1年的给药期。在实施方案中,给药期持

续直至确定治疗已导致一个或多个参数的改善,例如,改善的ALT酶水平、减少的炎症、减少的脂肪变性、降低的NASH症状的严重程度、降低的NASH生物标记如CK-18的水平,或减缓、停止或改善肝纤维化,如本申请中进一步所讨论的。

[0103] 在一些情况下,受试者正在服用降脂药物,例如他汀类、非诺贝特、 ω -3脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯和鱼油中的至少一种,或者该方法还包括向受试者施用降脂药物,例如他汀类、非诺贝特、 ω -3脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯和鱼油中的至少一种。例如,所述方法可以进一步包括施用阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。就降低的甘油三酯和非HDL胆固醇的程度而言,施用25HC3S或其盐和他汀类的结果是令人惊讶的。

[0104] 在接受他汀类疗法的受试者中施用25HC3S或其盐的结果是令人惊讶的,例如关于降低的有害症状的程度,例如降低的甘油三酯和非HDL胆固醇。他汀类药物疗法包括施用至少一种他汀类药物,例如但不限于阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀和辛伐他汀中的至少一种。为避免疑义,当定义根据本公开治疗的受试者时,术语“接受他汀类疗法的人受试者”通常是指在开始本公开的方法之前,例如在开始施用25HC3S或其盐之前,正在接受/已经接受他汀类疗法的人受试者。在用25HC3S或其盐治疗期间,人受试者可以或不继续接受他汀类疗法,并且任何继续的他汀类疗法可以与开始用25HC3S或其盐治疗之前的他汀类疗法相同或不同。正如本领域技术人员所熟知的,他汀类疗法是被广泛处方的医学疗法,因此鉴定了可容易识别和毫无歧义的人受试者分类(即,特定患者群),对该患者群可以有益地实施本公开的主题。

[0105] 在一些情况下,在施用25HC3S或其盐后达到最大药物浓度的时间(T_{max})为1小时至5小时,例如1.5小时至4小时或2小时至3.5小时。

[0106] 在一些情况下,受试者表现出约100ng/mL至约500ng/mL、约150ng/mL至约400ng/mL或约200ng/mL至约300ng/mL的25HC3S的 C_{max} 。每100mg口服的25HC3S或其盐,受试者可以表现出约100ng/mL至约300ng/mL、约120ng/mL至约250ng/mL或约150ng/mL至约200ng/mL的25HC3S的 C_{max} 。

[0107] 在一些情况下,受试者表现出约900ng*h/mL至约3000ng*h/mL、约1000ng*h/mL至约2500ng*h/mL或约1100ng*h/mL至约2000ng*h/mL的25HC3S的 AUC_{inf} 。每100mg口服的25HC3S或其盐,受试者可以表现出约600ng*h/mL至约1000ng*h/mL、约700ng*h/mL至约900ng*h/mL或约800ng*h/mL至约900ng*h/mL的25HC3S的 AUC_{inf} 。

[0108] 在一些情况下,受试者表现出约300L至约1000L、约400L至约900L或约500L至约800L的25HC3S的表观分布容积(V_z/F)。

[0109] 在一些情况下,受试者表现出约100L/h至约200L/h、约110L/h至约180L/h或约120L/h至约160L/h的25HC3S的表观清除率(CL/F)。

[0110] 在一些实施方案中,治疗导致一个或多个参数的改善,例如改善的ALT酶水平、减少的炎症、减少的脂肪变性、降低的NASH症状的严重程度、降低的NASH生物标记例如CK-18的水平,或减缓、停止或改善肝纤维化。

[0111] 在一些实施方案中,治疗导致受试者中肝细胞气胀减轻。在一些实施方案中,治疗导致NASH患者的炎症和/或纤维化减少。在一些实施方案中,治疗导致受试者中血浆CK-18水平降低。

[0112] 在一些实施方案中,根据本申请中所述方法的治疗导致一个或多个参数的改善,例如但不限于NAS(气胀和炎症)和/或纤维化的改善;SAF(脂肪变性、活动和纤维化)评分的改善;脂肪性肝炎的完全消退;纤维化无恶化;纤维化改善而脂肪性肝炎无恶化;或至疾病进展的时间增加,如通过进展为肝硬化、死亡、肝移植、肝细胞癌和失代偿事件如肝性脑病、需要住院治疗的静脉曲张破裂出血、需要干预的腹水和自发性细菌性腹膜炎的组织病理学评估所测量的。在一些实施方案中,根据本申请中所述方法的治疗导致肝细胞气胀的改善(即,减轻)。在一些实施方案中,使用苏木精和伊红染色使肝细胞气胀可视化。

[0113] 在一些实施方案中,根据本申请中所述方法的治疗导致NASH的一种或多种生物标记的改善,所述生物标记例如但不限于细胞凋亡标记(例如,CK-18片段)、脂肪因子(例如,脂连蛋白、苗条蛋白、抵抗素或内脂素)、炎性标记(例如,TNF- α 、IL-6、化学引诱物-1或高敏感性C反应蛋白)。参见,例如Neuman等人,Can J Gastroenterol Hepatol,28:607-618 (2014);Castera等人,Nat Rev Gastroenterol Hepatol.,10:666-675 (2013)。在一些实施方案中,使用包含流体(例如血液、血浆、血清、尿液或脑脊髓液)的样品测量生物标记值。在一些实施方案中,使用包含细胞和/或组织(例如肝细胞或肝组织)的样品测量生物标记值。在一些实施方案中,治疗导致生物标记CK-18的改善。在一些实施方案中,治疗导致受试者中血浆CK-18水平降低。

[0114] 在一些实施方案中,在25HC3S或其盐疗法的过程期间使用本申请中所述的诊断测试(例如,使用腹部成像测试)监测患者。在一些实施方案中,所述方法进一步包括继续疗程(例如,本申请中所述的25HC3S或其盐的剂量)。在一些实施方案中,所述方法还包括如果诊断恰当,例如当实现治愈,较低剂量看起来与较高剂量相比更安全或同等有效,或预期没有持续的治疗效果时,则逐渐降低、减少或停止25HC3S或其盐的施用量。在一些实施方案中,所述方法可以包括如果确定无效,则增加25HC3S或其盐的施用量,以及如果确定剂量递增或以任何剂量继续给药不太可能是有效的,则停止疗法。

[0115] 在其中患者正在经历根据本公开的治疗的一些实施方案中,通过腹部成像、超声检查、磁共振成像、CT扫描和/或活组织检查的NASH显示可以少于在治疗前在患者中测量的NASH显示,这表明患者对疗法有积极响应。在患者对本公开的疗法有积极反应的情况下,继续该疗法直至病症的存在降低至与正常对照水平相当的水平。任选地,继续疗法以维持NASH症状的缓解。或者,继续疗法直至在患者中达到所需水平的脂肪变性(包括不存在脂肪变性)。只要使用通过腹部成像、超声检查、磁共振成像、CT扫描和/或活组织检查的评估确定治疗是有效的,则可以继续治疗。可以通过测量脂肪变性、气胀和坏死性炎症中的一种或多种的改善来确定治疗是有效的。在一个实施方案中,通过由诱导的气胀减轻显示的测量改善来确定治疗是有效的。在一个实施方案中,通过由炎症减少显示的测量改善来确定治疗是有效的。在一个实施方案中,通过由降低的血清ALT水平、改善的胰岛素敏感性(例如,降低的胰岛素抵抗)、减少的脂肪变性、减少的炎症和减少的纤维化中的至少一种显示的测量改善来确定治疗是有效的。在一个实施方案中,通过由诱导的纤维化和/或肝硬化消退或逆转显示的测量改善来确定治疗是有效的。

[0116] 在一些实施方案中,与对照值相比,治疗导致一个或多个参数(例如,NAS或SAF评分降低、肝细胞气胀减轻、纤维化减少或CK-18水平降低)改善至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%。在一些实施方案中,

与对照值相比,治疗导致一个或多个参数改善至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍。在一些实施方案中,对照值是在治疗开始之前确定的受试者的基线值。

[0117] 在一些实施方案中,本公开提供了通过下列步骤确定NASH治疗在有需要的受试者中的功效的方法:(a)在有需要的受试者中经由腹部成像、超声检查、磁共振成像、CT扫描和/或肝活检测量NASH的水平和严重程度,其中在治疗开始后测量NASH的水平和严重程度,(b)将如步骤(a)中测量的NASH的水平和严重程度与NASH的基线水平和严重程度进行比较,其中在治疗开始前在同一受试者中测量基线水平和严重程度,以及(c)基于比较步骤确定所述NASH治疗的功效。

[0118] 此外,在一些实施方案中,本公开提供了通过下列步骤确定NASH治疗在有需要的受试者中的功效的方法:(a)在治疗开始后测量有需要的受试者中NASH的水平和严重程度,(b)将NASH的水平和严重程度与参考值进行比较,其中参考值表示从患有NASH的患者群体确定的平均值,以及(c)基于比较步骤确定NASH治疗的功效。在一些实施方案中,通过肝脏活组织检查和分析以评估NAFLD活动评分(NAS)和纤维化来确定疗法的功效;经颈静脉肝活组织检查方法可用于此目的。合适的患者包括具有活检证实的NASH的患者、处于NASH高风险中的患者、NAS大于或等于4的患者、具有肝纤维化的NASH患者和具有2期或更高的肝纤维化的NASH患者。

[0119] 在一些实施方案中,预期响应于根据本发明的疗法的患者随着疗法继续显示至少减慢CK-18水平的任何增加。在一些实施方案中,当实现完全的治疗益处时,对所述疗法最有利响应的那些患者将具有随时间稳定和下降的CK-18水平。因此,在一些实施方案中,本公开提供了通过下列步骤确定NASH治疗在有需要的受试者中的功效的方法:(a)通过测量来自受试者的样品(例如,血液、血浆或组织样品)的样品中生物标记CK-18的水平来确定NASH的水平和严重程度,其中在治疗开始后测量NASH的水平和严重程度,(b)将(a)中测量的NASH的水平和严重程度与在治疗开始前在同一受试者中测量的受试者中NASH的基线水平和严重程度进行比较,和(c)基于比较步骤确定NASH治疗的功效;其中CK-18水平的平台期或降低表示NASH治疗的功效。

[0120] 在一些实施方案中,当实现完全治疗益处时,根据本发明治疗的患者表现出随时间下降的一种或多种生物标记的水平。因此,在一些实施方案中,本公开内容提供了通过下列步骤确定NASH治疗在有需要的受试者中的功效的方法:(a)通过测量选自C反应蛋白、纤溶酶原激活物抑制剂-1、白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6、白细胞介素-12、白细胞介素-17、白细胞介素-18、肿瘤坏死因子、胆汁酸、脂连蛋白和脂连蛋白HMW的一种或多种生物标记的水平来测量NASH的水平和严重程度;(b)将(a)中测量的NASH的水平和严重程度与在治疗开始之前在同一受试者中测量的所述受试者中NASH的基线水平和严重程度进行比较,和(c)基于比较步骤确定所述NASH治疗的功效;其中所述生物标记水平的平台期或降低表示所述NASH治疗的功效。

[0121] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低CK-18即M30生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例

如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0122] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低CK-18即M65生物标记的水平的方式治疗受试者,使其降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%以上,并且包括降低40%或更多。

[0123] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低C反应蛋白的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%以上,并且包括降低40%或更多。

[0124] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低纤溶酶原激活物抑制剂-1生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0125] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低白细胞介素-1 β 生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0126] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低白细胞介素-6生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0127] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低白细胞介素-12生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0128] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低白细胞介素-17生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0129] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低白细胞介素-18生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0130] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低肿瘤坏死因子生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0131] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低胆汁酸生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0132] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低脂连蛋白生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0133] 在一些情况下,所述方法包括以足以降低脂连蛋白HMW生物标记的水平的方式治疗受试者,例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括降低40%或更多。

[0134] 在某些实施方案中,本公开的方法和组合物足以减少一种或多种升高的血清肝酶的量。在一些情况下,本主题方法和组合物足以降低血清丙氨酸转氨酶(ALT),例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,

例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括将存在的血清ALT降低40%或更多。在某些情况下,施用25HC3S足以将血清ALT的量降至低于ALT正常水平上限的量。

[0135] 在某些实施方案中,本公开的方法和组合物足以减少一种或多种升高的血清肝酶的量。在一些情况下,本主题方法和组合物足以降低血清门冬氨酸转氨酶 (AST), 例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括将存在的血清AST降低40%或更多。在某些情况下,施用25HC3S足以将血清AST的量降至低于AST正常水平上限的量。

[0136] 在某些情况下,本主题方法和组合物足以降低 γ 谷氨酰转肽酶 (GGT), 例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多,例如16%或更多,例如17%或更多,例如18%或更多,例如19%或更多,例如20%或更多,例如25%或更多,例如30%或更多,例如35%或更多,并且包括将存在的血清GGT降低40%或更多。在某些情况下,施用25HC3S足以将血清GGT的量降至低于GGT正常水平上限的量。

[0137] 在某些情况下,通过Fibroscan (测量肝脏组织硬化的超声机器) 测量,本主题方法和组合物足以减轻肝硬化,例如减轻1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多。在某些情况下,施用25HC3S足以将肝硬化的量降至低于肝硬化正常水平上限的量。

[0138] 在一些情况下,本主题方法和组合物足以降低血清甘油三酯 (TG), 例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多。在某些情况下,施用25HC3S足以将血清TG的量降至低于TG正常水平上限的量。

[0139] 在一些情况下,本主题方法和组合物足以降低血清低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C), 例如降低1%或更多,例如2%或更多,例如3%或更多,例如4%或更多,例如5%或更多,例如6%或更多,例如7%或更多,例如8%或更多,例如9%或更多,例如10%或更多,例如11%或更多,例如12%或更多,例如13%或更多,例如14%或更多,例如15%或更多。在某些情况下,施用25HC3S足以将血清LDL-C的量降至低于LDL-C正常水平上限的量。

[0140] 组合物、单位剂型和成套盒装药物产品

[0141] 25HC3S可以以纯形式或以药学上可接受的制剂(包括合适的赋剂等(通常称作“载体”))或以药学上可接受的盐(例如碱金属盐,例如钠、钾、钙或锂盐、铵等)或其他复合物形

式施用。在一些情况下,25HC3S以25HC3S的盐,例如25HC3S的钠盐形式施用。25HC3S或其盐典型地以适合于口服、注射和/或静脉内施用的组合物形式施用。

[0142] 可以将活性成分与赋形剂混合,所述赋形剂是药学上可接受的并且与活性成分相容,例如药学上和生理学上可接受的载体。合适的赋形剂包括例如水、盐水(氯化钠)、环状寡糖(例如环糊精,例如美国专利公开号No.2019/0269695中所述的那些,其公开内容通过引用并入本申请,例如羟丙基- β -环糊精)、右旋糖、甘油、乙醇等,或其组合。此外,组合物可以包含少量辅助物质,例如润湿剂或乳化剂、pH缓冲剂(例如磷酸盐缓冲液)等。水可以用作制备组合物(例如,可注射组合物)的载体,其也可以包括常规缓冲剂和试剂以使组合物等渗。其他潜在的添加剂和其他材料(优选通常被视为安全的那些[GRAS])包括:表面活性剂(吐温®、油酸等);溶剂、稳定剂、酞剂和包封剂(乳糖、脂质体等)。也可以使用防腐剂,例如对羟基苯甲酸甲酯或苯扎氯铵。本公开的组合物可以包含任何这类另外的成分,以便提供呈适合于预期施用途径的形式的组合物。此外,可以用基于水或基于油的介质配制所述化合物。

[0143] 根据制剂的不同,预期25HC3S或其盐以占组合物的约1wt%至约99wt%存在,并且介质“载体”构成组合物的约1wt%至约99wt%。本公开的药物组合物可以包含任何合适的药学上可接受的添加剂或助剂,其程度为它们不阻碍或干扰25HC3S或其盐的治疗效果。

[0144] 在一方面,提供了用于本申请中所述方法的包含25HC3S或其盐的组合物、单位剂型、药物包装和成套盒装药物产品。在一些实施方案中,所述制剂、单位剂型、药物包装和/或成套盒装药物产品用于治疗NASH。

[0145] 在一些实施方案中,口服25HC3S或其盐配制品被配制成直接释放制剂,并且方便被包装,例如以丸剂、胶囊或片剂形式的单位剂型,该单位剂型又可以在药瓶或泡罩包装中。本公开的药物组合物的剂量和期望的药物浓度可以根据预期的特定用途的不同而变化。适当剂量或施用途径的确定完全在本领域技术人员的技能范围内。

[0146] 在一些实施方案中,将制剂配制为持续释放制剂,并且方便地包装,例如,以小瓶、安瓿、注射器、瓶或其他液体相容性容器形式的单位剂型。

[0147] 在一些实施方案中,药物包装或成套盒装药物产品用于治疗NASH。在一些实施方案中,药物包装或成套盒装药物产品还包含根据本申请中公开方法使用的用法说明材料。尽管用法说明材料典型地包括书面或印刷材料,但它们不限于书面或印刷材料。本发明考虑了能够存储这类说明书并将其传达给最终用户的任何介质。这样的介质包括但不限于电子存储介质(例如,磁盘、磁带、盒式磁带、芯片)、光学介质(例如,CD-ROM)等。这样的介质可以包括提供这样的用法说明材料的互联网站的地址。

[0148] 通过以下实施例进一步举例说明本发明。这些实施例为非限制性的,且并不限制本发明的范围。除非另有说明,否则实施例中呈现的所有百分比、份数等均按重量计。

[0149] 实施例1

[0150] 概述

[0151] 本实施例是随机、开放标签、多中心美国研究,以评估在具有1-3期纤维化的NASH患者中4周施用25HC3S的安全性、药物动力学和生物活性信号。总计63名患者完成了本研究,每个剂量组21名患者(完成了MRI-PDFF测量)。以50mg、150mg或600mg (300mg BID) 每天口服25HC3S钠。监测该试验中的患者2周(14天),给药4周(28天),并再随访4周(28天)。

[0152]

试验标题:	评估 25HC3S 在患有非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的患者中的安全性、药物动力学和药效学信号的随机化、开放标签、1b 期研究
发展阶段:	1b 期
终点:	<ul style="list-style-type: none">• 确定患有 NASH 的受试者中 25HC3S 4 周每日口服给药的安全性和药物动力学(PK)• 确定患有 NASH 的受试者中 25HC3S 对药效学信号(PD)的影响<ul style="list-style-type: none">• 通过磁共振成像质子密度脂肪分数(MRI-PDFF)测量肝脏脂肪含量从基线*到给药结束(第 6 周结束)的变化• 通过瞬时弹性成像(TE)测量肝硬度从基线到给药结束(第 6 周结束)的变化

[0153]

	<ul style="list-style-type: none"> • 从基线到给药结束(第 6 周结束)、在 4 周给药期间的每周和本研究结束(第 10 周结束)时由血浆丙氨酸转氨酶(ALT)、门冬氨酸转氨酶(AST)和γ-谷氨酰转肽酶(GGT)测量的肝功能参数; 检测组合为实验室安全性测试的一部分 • 从基线到给药结束(第 6 周结束)、在 4 周给药期间的每周和本研究结束(第 10 周结束)时由血清胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇(HDL)和甘油三酯(TG)测量的代谢检测组合 <p>*: 将基线定义为研究药物首次剂量前的最后未缺失值</p>
安全性评估:	<ul style="list-style-type: none"> • 分别从签署知情同意书的时间到研究结束或早期终止随访记录不良事件(AE): • 生命体征、身体检查和 12 导联 ECG 发现 • 安全性实验室测试(化学、血液学、凝血和尿分析)
试验人群:	<p>在本研究中招募了总计 65 名被诊断为 NASH 或疑似 NASH 的受试者(包括男性和女性)。下列剂量组的每个组包括至少 20 名患者。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 第 1 组: 50 mg 25HC3S 钠, 口服 QD • 第 2 组: 150 mg 25HC3S 钠, 口服 QD • 第 3 组: 300 mg 25HC3S 钠, 口服 BID
入组标准:	<ol style="list-style-type: none"> 1. 受试者提供参与本研究的知情同意书 2. 男性或女性受试者在签署知情同意书时 18 岁或更大年龄 3. BMI 20-45 kg/m² 4. 受试者具有 NASH 的病史组织学诊断, 在筛

[0154]

查访问前 12 个月期间被确认, 表明存在 1-3 阶段纤维化和 $NAS \geq 4$, 三个组分(脂肪变性、肝细胞气胀和小叶炎症)的每一个至少 1 点, 或使用临床诊断*、实验室结果以及脂肪变性(包括 MRI-PDFF $> 10\%$ 和对于异源性肝使用 Fibroscan®的 CAP 评分 > 238 dB/m)和纤维化的成像评估的组合, 具有‘疑似 NASH’的诊断, 纤维化在本临床试验中定义为:

a. Fibroscan®值 ≥ 7 kPa

或

b. MRE ≥ 2.75 kPa

* NASH 的临床诊断在本临床试验中定义为存在下列 NASH 的风险因素的一个或多个, 即:

a. 2 型糖尿病或升高的空腹血糖

b. 腹部型肥胖症

c. 升高的脂质水平, 尤其是升高的血清甘油三酯水平

d. 高血压, 或

e. 低水平 HDL 胆固醇

5. 对于血清转氨酶, 在没有肝病的另一种原因的情况下, 在筛查时全部患者的 ALT 浓度为中心实验室正常值上限(ULN)的 > 1 和 < 5 倍。如果患者在过去 6 个月中具有实验室记录, 则女性 ALT 浓度 < 20 U/L 且男性 < 30 U/L。筛查时全部患者的 AST 浓度为 $< 5x$ ULN

6. 在筛查期间血清 ALT、AST、ALP 和 TBL 浓度未浮动 $>30\%$

[0155]

7. 血小板计数 $\geq 120,000/\text{mm}^3$
8. 女性受试者如果满足下列标准, 则她们对于本研究时适格的:
 - 未妊娠或哺乳
 - 存在生育可能性的女性(定义为未经手术不育或年龄不超过52岁且闭经至少12个月)在整个研究期间必须使用适当的生育控制。可以使用的可接受的方法为禁欲、避孕药(“避孕药”)或贴片、子宫帽、IUD(环圈)、阴道环、避孕套、手术节育或黄体酮植入或注射, 或限于节育(例如切除输精管)男性配偶的性活动
9. 男性参与者同意从入组到在研究药物的最后剂量后 30 天一贯地和正确地使用避孕套与上述生育控制方法之一的组合
10. 参与者能够依从给药并且能够完成本研究的评估方案

[0156] 结果

[0157] 25HC3S在所有三种剂量下耐受良好, 没有观察到药物相关的严重不良事件。重复给药后的PK参数与单剂量后的PK参数相当, 并且是剂量依赖性的。

[0158] 低剂量组和高剂量组显示血清ALT水平相对于基线的统计学显著的中位值降低, 分别为-16%和-17%。高剂量组还显示血清AST(-18%)和GGT(-8%)水平以及FIB-4(-15%)和APRI(-26%)评分相对于基线的统计学显著的中位值降低。通过Fibroscan测量, 低剂量组在第28天具有肝脏硬度相对于基线的统计学显著降低(-10%)。

[0159] 低剂量组和中剂量组中的患者在第28天也具有血清甘油三酯(在50mg组中为-13%)或LDL-C(在150mg组中为-11%)相对于基线的统计学显著的中位值降低。在全部剂量组中具有升高的基线甘油三酯($\geq 200\text{mg/dL}$; $n=16$)的患者在第28天相对于基线具有-24% ($p<0.01$)的中位值降低。

[0160] 在每个剂量组中, 43%的经历MRI-PDFP的患者在4周给药后显示通过MRI-PDFP测量的相对于基线 $\geq 10\%$ 的肝脏脂肪减少。在每个亚组中, 这些患者的肝脏脂肪相对于基线的中位值减少分别为-18%、-19%和-23%, 具有统计学显著性。每个剂量组的肝脏脂肪含量的降低也伴随着血清ALT水平的显著降低。每个亚组显示血清ALT水平相对于基线统计学显著的中位值, 分别降低-21%、-19%和-32%。

[0161] 在第28天, 在所有剂量组中具有甘油三酯升高($\geq 200\text{mg/dL}$; $n=16$)的患者中, 存在血清甘油三酯相对于基线降低24% ($p<0.01$)。

[0162] 在43%的通过PDF测量具有 $\geq 10\%$ 肝脏脂肪减少的患者中,低剂量和高剂量4周25HC3S治疗的患者也具有统计学显著的AST (-24%和-39%)、FIB-4评分 (-19%和-21%)和APRI评分 (-27%和-36%)的中位值降低,而低剂量治疗的患者还具有统计学显著的GGT水平的中位值降低 (-13%)。

[0163] 此外,在所有3个剂量组中,在通过PDF测量肝脏脂肪减少 $\geq 10\%$ (分别为-7%、-9%和-9%)的43%患者中,通过Fibroscan®测量存在肝脏硬度趋势性或统计学显著性降低。

[0164] 将所述结果进一步概括在下表中:

[0165] 顶线数据概述 (第28天相对于基线)

[0166] 对以下全部表,*表示 p -值 <0.05 ;**表示 $p<0.01$;***表示 $p<0.001$

中位值	50 mg QD	150 mg QD	300 mg BID
	(n=21-23)	(n=20-21)	(n=20-21)
ALT	-16%* (n=22)	-10% (n=20)	-17%*** (n=20)
AST	-14% (n=22)	-9% (n=20)	-18%** (n=20)
GGT	-6% (n=23)	-1% (n=20)	-8%* (n=21)
LDL-C	-6% (n=22)	-11%* (n=20)	-7% (n=21)
非-HDL-C	-8% (n=23)	-5% (n=20)	-1% (n=21)
甘油三酯	-13%* (n=23)	-3% (n=20)	-2% (n=21)
血小板	+2% (n=22)	+4% (n=20)	+7%* (n=19)
CK18, M30	-14.6%	-8.6%	-16.1%
CK18, M65	-18.1%	-9.9%	-35.0%

[0169] ALT=丙氨酸转氨酶;AST=门冬氨酸转氨酶;GGT= γ -谷氨酰转移酶;LDL-C(低密度脂蛋白-胆固醇);非-HDL-C(不包括高密度脂蛋白-胆固醇的总胆固醇);QD(每日1次);BID(每日2次)

[0170]	非侵入性纤维化评分			
	中位值	<u>50 mg QD</u>	<u>150 mg QD</u>	<u>300 mg BID</u>
	FIB-4	-6%	-4%	-15%**
	APRI	-14%	-7%	-26%***

[0171] FIB 4评分为基于或者年龄、血小板计数、AST和ALT值的非侵入性肝纤维化评估。

[0172] APRI (门冬氨酸转氨酶与血小板比率指数) 为用于测量肝纤维化和依次肝硬化的水平的许多不同种类的测试之一。

[0173]	非侵入性成像			
	中位值	<u>50 mg QD</u>	<u>150 mg QD</u>	<u>300 mg BID</u>
	MRI-PDFF	-7% (n=21)	-7% (n=21)	-4% (n=21)
	Fibroscan	-10%** (n=22)	-9% (n=20)	-1% (n=21)

[0174] MRI-PDFF为磁共振成像-质子密度脂肪分数,其为由脂肪组成的肝组织的部分的非侵入性测量。

[0175] FibroScan为测量肝组织硬度的专用超声机器。

[0176] 下表显示在MRI-PDFF中具有 $\geq 10\%$ 减少的患者中第28天相对于基线的数据

[0177]

临床化学			
MRI-PDFF 中具有 $\geq 10\%$ 减少的患者			
中位值	<u>50 mg QD</u> (n=9)	<u>150 mg QD</u> (n=8)	<u>300 mg BID</u> (n=9)
ALT	-21%**	-19%*	-32%***
AST	-24%**	-21%	-39%***
GGT	-13%***	-16%*	-14%
LDL-C	-7%	-11%	-8%*
非-HDL-C	-10%	-8%*	-12%*
甘油三酯	-9%	0%	-8%
血小板	+6%*	-2%	+2%
CK18, M30	-22.8%***	-3.8%	-42.1%*
CK18, M65	-28.1%***	-8.7%	-55.8%*

[0178]

非侵入性纤维化评分			
MRI-PDFF 中具有 $\geq 10\%$ 减少的患者			
中位值	<u>50 mg QD</u>	<u>150 mg QD</u>	<u>300 mg BID</u>
FIB-4	-19%**	-6%	-21%***
APRI	-27%***	-16%	-36%***

[0179]

非侵入性成像			
MRI-PDFF 中具有 $\geq 10\%$ 的减少的患者			
中位值	<u>50 mg QD</u> (n=9)	<u>150 mg QD</u> (n=9)	<u>300 mg BID</u> (n=9)
MRI-PDFF	-18%***	-19%***	-23%***
Fibroscan	-7%	-9%**	-9%

生物标记			
给药结束时相对于基线的变化% (第 28 天中位值)			
生物标记	50 mg QD	150 mg QD	300 mg BID
[0180]	细胞角蛋白 18, M30	-14.6	-8.6
	细胞角蛋白 18, M65	-18.1	-9.9
	C 反应蛋白	-13.9	-11.8
	纤溶酶原激活物抑制剂-1	-13.5	-13.7
	白细胞介素-1 β	-0.1	-0.6
	白细胞介素-6	-6.0	1.7
	白细胞介素-12	0.0	0.0
	白细胞介素-17	-1.3	-16.4
	白细胞介素-18	-8.9	-5.0
	肿瘤坏死因子	-3.2	-2.9
[0181]	胆汁酸	0.0	0.0
	脂连蛋白	-1.6	-3.8
	脂连蛋白, HMW	0.0	1.0

[0182] 药物动力学

[0183] 测定了施用的25HC3S的药物动力学。将平均 (标准偏差) 药物动力学参数概括在图1和下表。

[0184] 药物动力学参数符号

[0185] 由血浆浓度数据评估了25HC3S的下列PK参数。

[0186] C_{\max} 最大观察到的25HC3S的血浆浓度

[0187] T_{\max} C_{\max} 的时间 (观察的时间点)

[0188] C_{last} 在血浆中最后观察到的25HC3S的可定量浓度

[0189] T_{last} 最后观察的 C_{last} 的时间点

[0190] AUC_{0-12} 从时间0到剂量后12h血浆浓度与时间曲线下面积。通过线性/log梯形规则计算

[0191] $AUC_{0-\text{last}}$ 从时间0到最后测定的高于定量限的浓度血浆浓度与时间曲线下面积 (线性/log梯形规则)

[0192] C_{\min} 最小观察到的25HC3S的浓度。

[0193] T_{last} C_{last} 的最后 (观察的时间点)

[0194] AUC_{inf} 外推至无穷大时间的浓度与时间曲线下面积 (线性/log梯形规则), 计算为 $AUC_{0-\text{last}} + (C_{\text{last}}/\lambda)$

[0195] $\%AUC_{exp}$ AUC_{0-last} 与 AUC_{inf} 之间外推的AUC百分比

[0196] $T_{1/2}$ 血浆中药物的末端消除半衰期的估计值,用2的自然对数除以末端消除速率常数(λ)计算

[0197] λ 与血浆浓度与时间曲线的末端log-线性部分相关的一级速率常数

[0198] CL/F 给药后的表观清除率: $CL = \text{剂量}/AUC_{inf}$,其中‘剂量’为药物剂量

[0199] V_z/F 25HC3S的表观分布容积

[0200]

药物动力学			
参数	<u>50 mg QD</u> (n=22)	<u>150 mg QD</u> (n=21)	<u>300 mg BID</u> (n=21)
C_{max} (ng/mL)	79.1 (45.1)	273.5 (187.7)	429.7 (167.7)
T_{max} (h)	2.4 (1.0)	2.0 (0.9)	2.3 (2.4)
$T_{1/2}$ (h)	2.7 (1.4)	2.7 (1.4)	2.4 (1.0)
$AUC_{(0-T)}$ (ng*h/mL)	339.9 (113.9)	1038.7 (542.5)	2138.1 (1014.9)
CL/F (L/h)	150.6 (51.5)	176.6 (80.5)	166.2 (60.4)
V_z/F (L)	582.8 (338.2)	669.1 (410.6)	567.7 (297.1)
代谢物/药物比	0.04 (0.04)	0.11 (0.03)	0.12 (0.04)

[0201] 在研究之前和研究期间,一些受试者接受他汀类药物(阿托伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀或辛伐他汀)。接受25HC3和他汀类二者的受试者在给药后第28天具有降低的甘油三酯和非HDL,如下表中所示:

[0202]

患者	TG平均值与基线平均值之比	非HDL平均值与基线平均值之比	TG中位值与基线平均值之比	非HDL中位值与基线平均值之比
全部使用他汀类(n=20)	-2%	-9%	-6%	-9%
全部使用他汀类,一个逸出值除外(n=19)	-10%	-11%	-9%	-10%

[0203] 结论

[0204] 本实施例表明,与较高剂量相比,低剂量导致肝脏脂肪减少(例如,如通过MRI-PDFF测量)。本实施例显示,中等剂量导致改善的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平。本实施例显示,高剂量导致改善的酶水平(例如,ALT、AST、GGT),这表明改善的肝功能。

[0205] 实施例2

[0206] 概述

[0207] 本实施例是向患有NASH的受试者和对照健康受试者施用的25HC3S的随机化、剂量

变化、单剂量安全性和药物动力学研究。该研究在2个连续群组中进行,评估口服25HC3S的2个单剂量水平。对于每个群组,招募10名患有NASH的受试者,将其进一步分类为肝硬化和非肝硬化。每个受试者仅接受一个剂量的研究治疗。在审查来自群组1的安全性和耐受性数据后对第二个群组给药。群组1接受50mg的25HC3S钠,且群组2接受200mg的25HC3S钠。

[0208] 结果

[0209] 将25HC3S的药物动力学(PK)血浆浓度概括在下表2.1(50mg剂量)和表2.2(200mg剂量)中。对于群组1健康受试者,血浆25HC3S水平直到给药后12小时是可检测的,且在群组2健康受试者中直到在给药后16小时是可检测的(表2.1)。在施用50mg 25HC3S(图2)和200mg 25HC3S(图3)后,健康受试者和NASH受试者二者的血浆曲线是相似的。对于健康受试者,剂量增加四倍导致平均 C_{max} 增加约三倍(50mg剂量: 93.967 ± 27.343 ng/mL和200mg剂量: 260.500 ± 54.779 ng/mL)。对于AUC参数也观察到这一结果(表2.1和2.2)。类似地,对于剂量增加4倍,NASH受试者也展示出约3倍的 C_{max} 参数和AUC参数二者的增加(表2.1和2.2)。平均 $\%AUC_{exp}$ 低,这表明血液采样方案足以捕获大部分其中可能计算的AUC。

[0210] 个体血浆叠加图表明,尽管健康受试者($n=6$)和NASH($n=10$)受试者的受试者数量不同,但NASH受试者倾向于显示出 C_{max} 参数和AUC参数的更大变异性。对于群组1和群组2,相对于健康受试者,在NASH受试者中,几何平均 C_{max} 增加18-24%,其伴随着NASH受试者的CV%几何平均值高25-50%(表2.1)。在群组1中NASH受试者与健康受试者之间的几何平均 AUC_{0-12} 和 AUC_{0-last} 类似,但在群组2中倾向于高约30%,其中在NASH受试者中%CV高50%。在NASH受试者中 AUC_{0-inf} (群组2)高约20%。因此,当考虑到较高%CV时,得出结论:健康受试者与NASH受试者之间在 C_{max} 和AUC方面无明显差异(表2.1)。

[0211] 表2.1群组1(50mg 25HC3S钠):药物动力学参数

健康状态	受试者编号	$T_{1/2}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-12} (h*ng/mL)	AUC_{0-last} (h*ng/mL)	AUC_{inf} (h*ng/mL)	V_z/F (L)	CL/F (L/h)
健康	N	2	6	6	4	6	2	2	2
	平均值	1.906	3.008	93.967	528.0	477.1	438.6	324.96	122.35
	SD	0.350	1.105	27.347	217.6	190.7	161.9	62.41	45.16
	几何平均值	1.889	2.834	90.946	496.7	450.0	423.3	321.95	118.11
	CV% 几何平均值	18.62	39.63	28.03	41.67	37.58	39.18	19.51	39.18
NASH	N	5	10	10	5	10	5	5	5
	平均值	1.674	2.408	113.170	623.1	513.3	636.1	203.28	85.29
	SD	0.136	0.844	36.261	217.5	219.3	231.5	48.28	23.57
	几何平均值	1.670	2.305	107.627	597.8	476.1	608.3	198.01	82.19
	CV% 几何平均值	8.03	29.81	35.26	31.66	42.20	32.82	27.09	32.82

[0213] 表2.2群组1(200mg 25HC3S钠):药物动力学参数

[0214]

健康状态	受试者编号	$T_{1/2}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-12} (h*ng/mL)	AUC_{0-last} (h*ng/mL)	AUC_{inf} (h*ng/mL)	V_z/F (L)	CL/F (L/h)
健康	N	6	6	6	6	6	6	6	6
	平均值	1.753	2.673	260.500	1175.9	1185.7	1194.3	434.05	171.25
	SD	0.388	1.028	54.779	189.4	192.4	192.1	128.07	28.60
	几何平均值	1.719	2.528	255.698	1162.8	1172.5	1181.2	419.93	169.32
	CV% 几何平均值	21.50	36.69	21.46	16.66	16.61	16.50	28.05	16.50
NASH	N	7	10	10	10	10	7	7	7
	平均值	2.511	2.906	332.700	1541.0	1581.6	1428.5	540.23	143.19
	SD	1.751	1.198	99.454	417.9	413.9	247.0	457.19	21.67
	几何平均值	2.196	2.647	318.582	1495.2	1539.2	1411.8	448.71	141.66
	CV% 几何平均值	53.22	51.05	32.61	25.82	24.23	16.28	62.39	16.28

[0215] 在给药前和给药后测定的通过瞬时弹性成像 (TE) 和磁共振弹性成像 (MRE) 测量的肝脏硬度在50mg组中改变-11% (TE) 或-6% (MRE), 在150mg组中改变-7% (TE) 或4% (MRE), 并且在600mg组中改变-2% (TE) 或0% (MRE)。

[0216] 在4周给药结束时, 在施用50mg、150mg和600mg的组中肝纤维化标记pro-C3的血浆水平相对于基线分别下降-8%、-1%和-5%。在给药后2周随访时, 在施用50mg、150mg和600mg的组中pro-C3水平相对于基线分别为-7%、8%和1%。

[0217] 在4周25HC3S治疗后, 通过胰岛素抵抗的稳态模型评估 (HOMA-IR) 还观察到胰岛素抵抗的总体改善。在给药结束时, 在施用50mg、150mg和600mg的组中, HOMA-IR相对于基线分别为-22%、-18%和1%。在给药后2周随访时, 在施用50mg的组中其相对于基线为-10%, 并且在施用150mg和600mg的组中其分别为17%和3%。

[0218] 结论

[0219] 本报告呈现了在以50mg (群组1) 至200mg (群组2) 的剂量向正常健康受试者和NASH受试者口服后25HC3S的药物动力学。群组2中的健康受试者提供了足够的数据以使得CL/F被测定为 171.25 ± 28.60 L/h以及 V_z/F 被测定为 434.05 ± 128.07 L。这一结果得到了 $T_{1/2}$ 结果支持, 而 $T_{1/2}$ 结果在健康受试者组和NASH受试者组中结果保持相对恒定, 其平均值为1.674小时至2.511小时。 AUC_{0-last} 和 AUC_{inf} 在群组内是一致的, 并且连同 C_{max} 趋向以小于成比例的方式随着25HC3S剂量增加而增加。

[0220] 相对于健康受试者对NASH观察到 C_{max} 增加18-24% (几何平均值)。然而, NASH受试者的更大CV%几何平均值使得该观察结果没有定论。类似地, 当考虑暴露 (AUC参数) 时, NASH受试者中的潜在增加趋势 (至多31%) 被更高的CV%几何平均值抵消。因此, 得出结论: 无论将25HC3S钠施用于健康受试者还是施用于NASH患者, 发生的药物动力学没有明显差异。

[0221] 实施例3

[0222] 目的

[0223] 本研究的目的在于测定 $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 产生的放射性在雄性Sprague Dawley大鼠中的血浆药物动力学、测定 $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 产生的放射性在雄性Sprague Dawley大鼠中的消除途径和排泄质量平衡、在单次静脉内(推注)剂量后使用定量全身放射自显影方法在雄性Sprague Dawley和Long Evans大鼠中测定 $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 产生的放射性的组织分布和组织药物动力学、以及提供血浆、尿液和粪便匀化物样品的 $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 产生的放射性的代谢物分析。

[0224] 研究设计

[0225] 9只雄性Sprague Dawley大鼠(第1组)被指定用于药物动力学阶段,3只雄性Sprague Dawley大鼠(第2组)被指定用于排泄质量平衡阶段,且7只雄性Sprague Dawley大鼠(第3组)和9只雄性Long Evans大鼠(第4组)被指定用于组织分布阶段。全部动物接受10mg/kg和225 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ 的目标放射性的单次静脉内剂量的 $[^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 。在剂量后约0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、48和72小时从所有第1组动物中采集血样。到剂量后168小时定期从所有第2组动物采集尿液和粪便。对于第3组在剂量后约0.083、0.5、1、4、8、24和168小时和对于第4组在剂量后约0.083、0.5、1、4、8、24、168、336和504小时,用异氟烷麻醉1只动物/组/时间点并采集血样。在采血后,用 CO_2 吸入对动物实施安乐死,并且在干冰/己烷浴中冷冻动物尸体,用于通过定量全身放射自显影进行处理。通过液体闪烁计数分析了全血、血浆、尿液、粪便、笼冲洗液和笼洗涤液的总放射性。

[0226] 结果和关键发现

[0227] 在以10mg/kg向大鼠施用单次静脉内(推注)剂量的 $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 后,平均血浆 C_0 为25,900ng-equiv./g,并且 AUC_{last} 为27,900h*ng-equiv./g。末端消除期 $T_{1/2}$ 为26.6小时。

[0228] 基于排泄数据,在以10mg/kg单次静脉内(推注)剂量的 $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 后,在168小时内从大鼠的尿液、粪便和笼冲洗液中回收了约100.2%的施用剂量。大部分所回收的放射性在粪便中(83.0%),表明胆汁排泄为大鼠中排泄的主要途径。

[0229] 在第3组中在以10mg/kg向雄性Sprague Dawley大鼠单次静脉内(推注)剂量的 $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 后, $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 和/或其代谢物在除眼(晶状体)外的所有组织中分布广泛,并且通过定量全身放射自显影术检测它们。血浆浓度与药物动力学阶段中测定的血浆浓度类似。全血 C_{max} 为8530ng-equiv./g,且 AUC_{last} 为25,200h*ng-equiv./g。通过血浆:全血 AUC_{last} 之比0.79确定,在血浆和全血暴露中存在的差异可以忽略不计,表明25HC3S等同地分配在血浆和血细胞中。在血浆中 $T_{1/2}$ 为44.3小时,而在全血中为52.2小时;PK期与QWBA期之间的血浆 $T_{1/2}$ 差异归因于采血时间点的差异。

[0230] $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 产生的放射性的 C_{max} 和 AUC_{last} 在肝中最高:分别为至多87,900ng-equiv./g和364,000h*ng/g。肾(所有切面)、小肠(壁)、肺和肾上腺浓度为43,200ng-equiv./g至13,600ng-equiv./g,高于12,400ng-equiv./g的最大血浆浓度。胸腺、骨(股骨)、葡萄膜束、脂肪、睾丸和脑浓度相对于其他组织最低:<5000ng-equiv./g(约1500ng-equiv./g)。剩余组织具有5000至10,800ng-equiv./g的浓度。 T_{max} 最通常是剂量后0.083至0.5小时。到剂量后168小时,除了肾上腺、副泪腺、肝脏和小肠之外的所有组织中的浓度低于定量限。正如使用 AUC_{last} 计算的,肝脏和小肠(壁)的组织:血浆比率高,分别为11.4和

7.44。高肝脏浓度和小肠浓度与静脉内剂量后大量胆汁(粪便)排泄一致。所有其他组织:血浆比率证实了对剩余组织类型的亲和力有限。

[0231] 以10mg/kg向雄性Long Evans大鼠单次静脉内剂量的 $[4-^{14}\text{C}]$ -25HC3S的施用揭示,与雄性Sprague Dawley大鼠相比,在剂量后的前148小时内血浆或全血浓度无实质性差异;在色素沉着的动物中,到剂量后336小时,血浆和全血浓度低于血浆和全血中的定量限。与色素沉着或未色素沉着的皮肤或葡萄膜束的结合看起来无差异;对于所有组织,到剂量后168小时浓度低于定量限。

[0232] 分析来自大鼠的血浆、尿液和粪便以测定25HC3S相关的放射性标记物质。使用带有放射性检测的高效液相色谱法对样品进行了分析,并且使用质谱法和串联质谱分析进行了代谢表征。

[0233] 在0.083、0.25、0.5和1小时采集时间点制备了来自第1组大鼠的血浆混合物。从这些第1组样品混合物和第3组0.083小时血浆样品中,0.083-和0.25小时采集物中存在的最大组分归因于代表约58%至92%放射性的母体25HC3S。在0.5小时和1小时收集物中以>10%的放射性存在的三种代谢物为M14(至多15%的相对观察强度)、M24(至多13%的相对观察强度)和M28(至多83%的相对观察强度)。在具有用于代谢物分析和表征的合适放射性的时间点(直到剂量后1小时)中,对25HC3S相关放射性的暴露(AUC)的约54%可归因于25HC3S,约34%归因于M28,并且其余部分归因于次要代谢物。

[0234] 在剂量后0至6小时和6至12小时制备了第2组的尿液混合物。存在的最大组分归因于代表约78%至93%的放射性的母体25HC3S。鉴定了总计4种代谢物,尽管没有代谢物以>1.2%的剂量或>10%的相对观察强度存在。在至少1个样品中以<10%相对观察强度存在的四种代谢物为M7(<5%相对观察强度)、M16(<3%相对观察强度)、M19(<6%相对观察强度)和M25(<5%相对观察强度)。

[0235] 在剂量后0至12、12至24和24至48小时制备了第2组的粪便混合物。

[0236] 总计鉴定了十四种代谢物。以 $\geq 5\%$ 的剂量存在的四种代谢物为M1(21%的剂量和23%至30%的相对观察强度)、M2(7%的剂量和4%至12%的相对观察强度)、M3(15%的剂量和13%至23%的相对观察强度)和M4(8%的剂量和6%至12%的相对观察强度)。母体25HC3S以2%的剂量(1%至5%相对观察强度)存在。

[0237] 主要代谢途径包括25HC3S的氧化,其导致硫酸酯基转化为羟基,然后进一步氧化形成与脱氧胆酸和胆酸或其异构体相关的胆汁酸结构。此外,具有该结构的相应分子量的代谢物的存在表明脱氧胆酸(或脱氧胆酸的异构体)的谷胱甘肽缀合。在血浆、尿液或粪便样品中均未检测到24-脱氢胆甾醇硫酸酯和25-羟基胆固醇。

[0238] 实施例4

[0239] 在以75mg/kg向大鼠施用单次口服(管饲)剂量的 $[^{14}\text{C}]$ -25HC3S后,血浆 C_{max} 为3800ng equiv./g,并且 AUC_{last} 为96,400h·ng equiv./g。末端消除期 $T_{1/2}$ 为27.3小时。

[0240] 基于排泄数据,在以75mg/kg单次口服(管饲)剂量的 $[^{14}\text{C}]$ -25HC3S后,来自大鼠的尿、粪便和笼冲洗液中回收了约94.5%的施用剂量。回收的放射性大部分在粪便中(94.2%)。表明胆汁排泄是大鼠中吸收的25HC3S的主要排泄途径。

[0241] 在以75mg/kg向大鼠单次口服(管饲)剂量 $[^{14}\text{C}]$ -25HC3S后, $[^{14}\text{C}]$ -25HC3S和/或其代谢物在除眼(晶状体)之外的所有组织中广泛分布并通过定量全身放射自显影检测到它

们。在眼(晶状体)中未检测到 $[^{14}\text{C}]$ -25HC3S产生的放射性。血浆浓度与药物动力学期中测定的血浆浓度类似,并且高于定量下限。全血 C_{max} 为2850ng equiv./g,且 AUC_{las} 为127,000h·ng equiv.。血浆和全血暴露中的差异可以忽略不计。正如根据血浆:全血 AUC_{last} 比率1.12所确定的,表明25HC3S近似同等地分配在血浆和血细胞中。

[0242] 对于通过定量全身放射自显影术分析的组织,在测定时, $[^{14}\text{C}]$ -25HC3S产生的放射性的 C_{max} 在小肠(壁)中最高,随后是胃(壁):分别为424,000ng equiv./g和204,000ng equiv./g。胰腺和肝浓度为23,500ng equiv./g至28,100ng equiv./g。葡萄膜束和脑浓度相对于其他组织最低,并且为约1000ng equiv./g。皮肤、胸腺、前列腺和垂体组织浓度为<3000ng equiv./g。其余组织具有3600ng-equiv./g至10,700ng equiv./g的浓度。 T_{max} 为剂量后6小时或更少。到剂量后168小时,在除肾上腺和肝脏之外的所有组织中,组织浓度接近或低于定量限。如使用 AUC_{last} 计算的,小肠(壁,15.4)的组织:血浆比率最高,随后肝脏和肾上腺,其分别为6.96和6.64。高肝脏和小肠浓度与口服和胆汁(粪便)排泄一致。所有其他组织:血浆比率证实了对剩余组织类型的亲和力有限。

[0243] 使用放射性高效液相色谱法(HPLC)和高效液相色谱/质谱(HPLC/MS)方法分析和鉴定了血浆和粪便提取物中的放射性标记组分。

[0244] 没有包含足够的放射性以需要代谢物分析和鉴定的尿液样品。

[0245] 制备了第1组(75mg/kg, $[^{14}\text{C}]$ -25HC3S)在剂量后2、4和6小时采集的样品的血浆混合物。在剂量后2小时血浆中,主要放射性标记的组分为母体25HC3S,其以63%相对观察强度(ROI)和2090ng-equiv./g的浓度存在。一种代谢物M29被鉴定为25-羟基胆固醇,其具有37% ROI和1233ng-equiv./g的浓度。剂量后4和6小时的血浆采集物不含足够的用于放射性分析的浓度。

[0246] 制备了第2组(75mg/kg, $[^{14}\text{C}]$ -25HC3S)在剂量后0至24、24至48、48至72、72至96、96至120、120至144和144至168小时采集的样品的粪便混合物。鉴定了总计11种代谢物。这些代谢物中没有一种以>5%的剂量存在。以剂量的2-5%存在的代谢物为M1(总剂量的4.5%和1%-69% ROI)、M3(总剂量的4.6%和1%-44% ROI)、M4(总剂量的2.0%和0%-10% ROI)、M8(总剂量的3.1%和1%-46% ROI)、M29(总剂量的1.9%和0%-2% ROI)和M30(总剂量的3.3%和0%-5% ROI)。主要放射性标记的组分为母体25HC3S,其以总剂量的71.1%存在(0%-88% ROI)。

[0247] 在任何血浆或粪便样品中均未发现放射性标记的硫酸24-脱氢胆甾醇。

[0248] 主要代谢途径包括25HC3S的氧化,其导致硫酸酯基团转化为羟基,然后进一步氧化形成与脱氧胆酸和胆酸或其异构体相关的胆汁酸结构和25-羟基胆固醇。

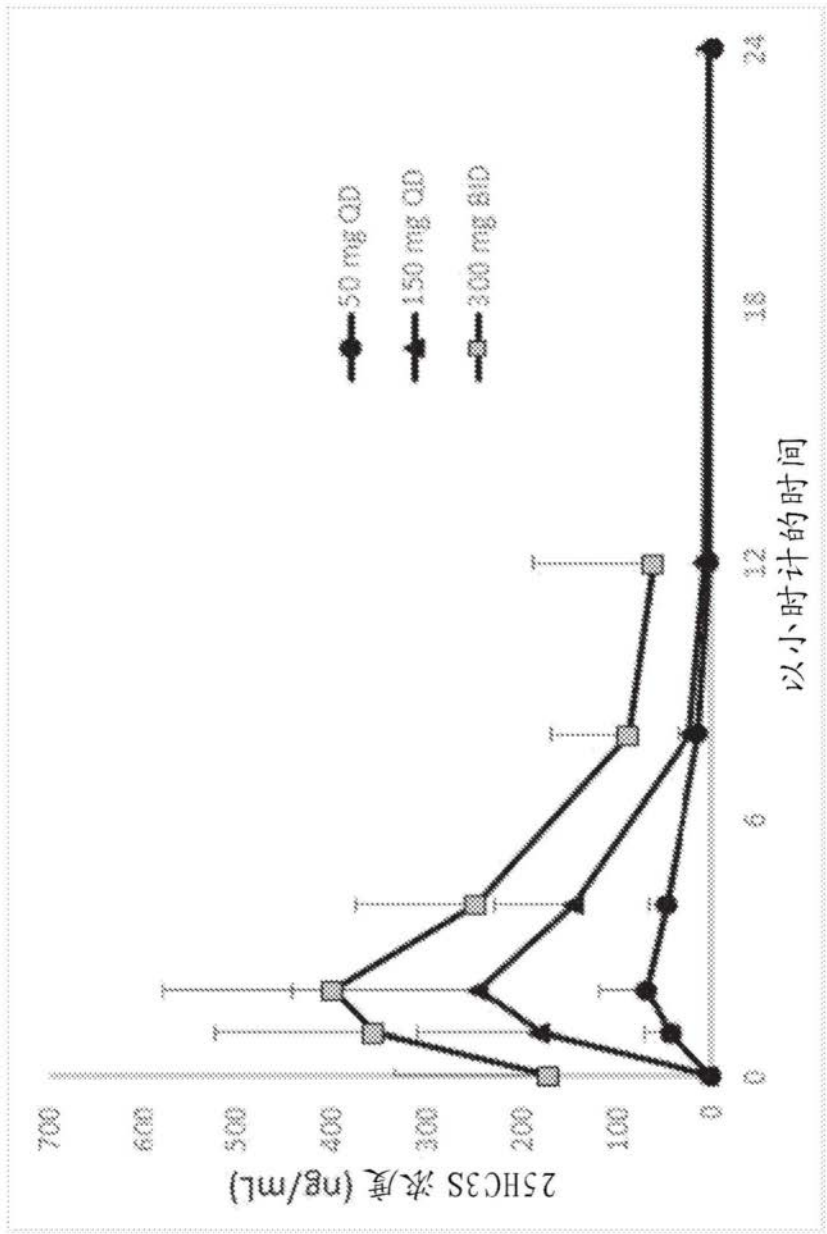


图1

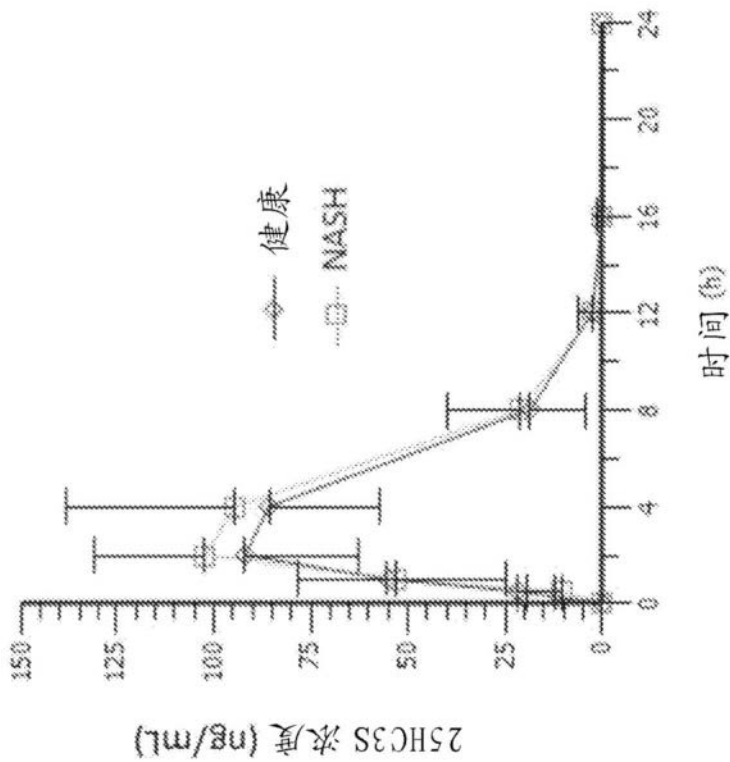


图2

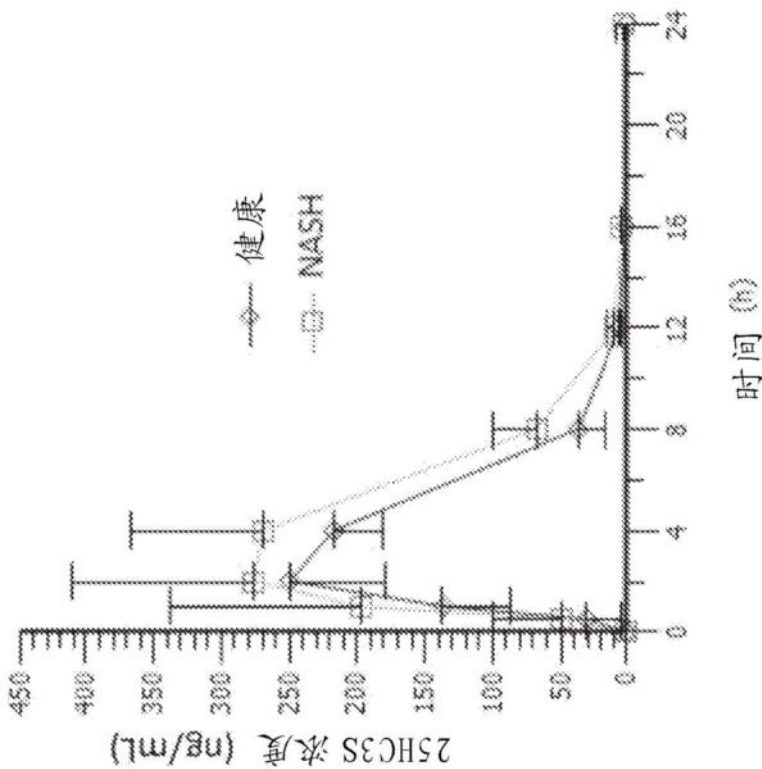


图3