



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202210081 A

(43)公開日：中華民國 111 (2022) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：110118457

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 05 月 21 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/575 (2006.01)*

*A61P1/16 (2006.01)*

(30)優先權：2020/05/22 美國

63/029,361

2020/05/26 美國

63/030,207

2020/11/12 美國

63/113,116

2021/02/05 美國

63/146,555

(71)申請人：美商杜瑞克公司 (美國) DURECT CORPORATION (US)

美國

(72)發明人：林 偉琦 LIN, WEIQI (US)；布朗 詹姆士 BROWN, JAMES E. (US)；布萊斯克

泰倫斯 BLASCHKE, TERRENCE (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：46 項 圖式數：3 共 73 頁

(54)名稱

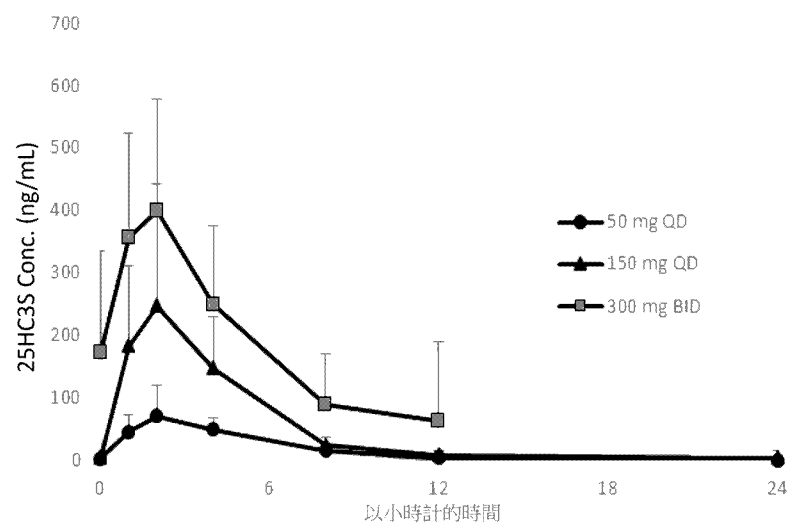
非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之治療

(57)摘要

本發明提供治療非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法。例如，該方法包含投予 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽。

Methods of treating non-alcoholic steatohepatitis (NASH) are provided. For instance, the methods comprise administering 5-cholesten-3,25-diol, 3-sulfate (25HC3S) or a salt thereof.

指定代表圖：



【圖 1】

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

非酒精性脂肪肝炎（NASH）之治療

### 【英文發明名稱】

TREATMENT OF NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS (NASH)

### 【中文】

本發明提供治療非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法。例如，該方法包含投予5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽。

### 【英文】

Methods of treating non-alcoholic steatohepatitis (NASH) are provided. For instance, the methods comprise administering 5-cholesten-3,25-diol, 3-sulfate (25HC3S) or a salt thereof.

【指定代表圖】圖 1

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

# 【發明說明書】

## 【中文發明名稱】

非酒精性脂肪肝炎（NASH）之治療

## 【英文發明名稱】

TREATMENT OF NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS (NASH)

## 【技術領域】

本發明關於非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療。

## 相關申請案之交叉參考

本申請主張在2020年5月22日提交之美國臨時專利申請序列號63/029,361；在2020年5月26日提交之美國臨時專利申請序列號63/030,207；在2020年11月12日提交之美國臨時專利申請序列號63/113,116；及在2021年2月5日提交之美國臨時專利申請序列號63/146,555的優先權，將該等申請案之揭示內容以引用併入本文。

## 【先前技術】

非酒精性脂肪肝炎(NASH)為非酒精性脂肪肝疾病(NAFLD)的極端及進展形式，其與飲酒量無關聯且進一步伴隨發炎(肝炎)。NASH伴隨肝細胞之腫脹變性(在本文亦稱為「肝細胞腫脹變性」)，其係指細胞大小在此過程期間增加(亦即腫脹變性)，這被認為是細胞凋亡的形式。腫

脹變性細胞通常為相鄰的肝細胞大小的二至三倍且以H&E染色切片上的一束透明化細胞質為特徵。肝細胞死亡及發炎反應導致星狀細胞活化，其在肝纖維變性中扮演關鍵角色。進一步的疾病進展導致肝硬化及肝細胞癌(HCC)，導致肝衰竭及最終死亡。

對患有早期NASH的患者，以生活形態介入(諸如顯著的體重減輕)可能減緩或甚至逆轉脂肪變性的過程。然而，目前對晚期NASH的患者沒有可用的治療法。鑑於脂肪肝疾病(FLD)和NASH的嚴重性及不滿足的臨床需求，因此對有效的治療法治療有迫切需求。

以引用併入本文之美國專利第8,399,441號揭示5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)及其鹽用於治療與高膽固醇及/或高三酸甘油酯及/或發炎(例如高膽固醇血症、高三酸甘油酯血症、非酒精性脂肪肝疾病(例如NASH)、動脈粥樣硬化等)相關聯的病症之用途。

以引用併入本文之美國專利第9,034,859號揭示25HC3S及其鹽用於預防及治療肝損傷或疾病(例如NASH)之用途。

KEMP等人之“Safety and pharmacokinetics of DUR-928 in patients with non-alcoholic steatohepatitis – A Phase 1b study,” Poster session presented at The International Liver Congress (2017)揭示在經生檢確認之NASH患者及匹配之對照個體(MCS)中經口投予之DUR-928的1b期單劑量範圍(50mg和200mg)安全性/PK研究。

SHAH等人之“Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Response in Individual NASH Patients Receiving Two Dose Levels of DUR-928,” NASH Summit – 2019 (April 22-25, 2019)揭示對NASH患者經口投予5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)。患者接受兩個以約兩個月間隔投予之50mg和200mg劑量。SHAH等人結論出在50mg與200mg劑量水平之間沒有劑量依賴性生物反應變化。

對治療NASH之改進方法有迫切需求。

### 【發明內容】

本揭示提供多種治療非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法。該方法涉及投予有效量的5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽。在特定的情況下，該方法涉及投予範圍介於1mg/天至100mg/天的量之25HC3S或其鹽。

本揭示的結果是令人驚訝的。至少因為所引述之劑量與較高劑量相比而導致肝脂肪降低(例如如以MRI-PDFF所測量)的結果是令人驚訝的。現已出乎意料地發現本發明之特定的劑量方案可導致改善的臨床結果，如例如本文進一步的討論及證明。

本揭示之其他態樣：

1. 一種治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法，該方法包含對個體經口投予範圍介於1mg/天至100mg/天的量之5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽。

2. 一種降低患有非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的人類個體之血清丙胺酸轉胺酶 (ALT) 含量之方法，其包含：

對個體經口投予範圍介於 1mg/天至 100mg/天的量之 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽。

3. 一種降低患有非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的人類個體之肝硬度之方法，其包含：

對個體經口投予範圍介於 1mg/天至 100mg/天的量之 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽。

4. 一種降低患有非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的人類個體之血清三酸甘油酯之方法，其包含：

對個體經口投予範圍介於 1mg/天至 100mg/天的量之 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽。

5. 一種降低患有非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 及在治療前具有三酸甘油酯  $\geq 200\text{mg/dL}$  的人類個體之血清三酸甘油酯之方法，其包含：

對個體經口投予範圍介於 1mg/天至 100mg/天的量之 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽。

6. 根據態樣 1 至 5 中任一者之方法，其中經口投予包含經口投予範圍介於約 10mg/天至約 80mg/天之 25HC3S 或其鹽。

7. 根據態樣 1 至 5 中任一者之方法，其中經口投予包含經口投予範圍介於約 30mg/天至約 70mg/天之 25HC3S 或其鹽。

8. 根據態樣 1 至 7 中任一者之方法，其中經口投予個體之

25HC3S或其鹽以每kg計的總量係範圍介於約0.1mg/kg/天至約5mg/kg/天。

9. 根據態樣8之方法，其中以每kg計的總量係範圍介於約0.2mg/kg/天至約4mg/kg/天。

10. 根據態樣8之方法，其中以每kg計的總量係範圍介於約0.3mg/kg/天至約3mg/kg/天。

11. 根據態樣8之方法，其中以每kg計的總量係範圍介於約0.4mg/kg/天至約2mg/kg/天。

12. 根據態樣1至11中任一者之方法，其中經口投予包含經口投予25HC3S或其鹽的複數個劑量。

13. 根據態樣12之方法，其中劑量係以範圍介於每週一次至一天三次的頻率經口投予。

14. 根據態樣13之方法，其中劑量係以一天一次經口投予。

15. 根據態樣13之方法，其中劑量係以一天兩次經口投予。

16. 根據態樣12至15中任一者之方法，其中經口投予包含經口投予至少7天的給藥期，諸如至少14天、至少28天、至少3個月、至少6個月或至少1年的給藥期。

17. 根據態樣1至16中任一者之方法，其中25HC3S或其鹽係以包含25HC3S或其鹽及醫藥上可接受的載劑之調配物經口投予。

18. 根據態樣1至17中任一者之方法，其中25HC3S或其鹽包含25HC3S的鹽。

19. 根據態樣 18 之方法，其中 25HC3S 的鹽為鈉鹽。
20. 根據態樣 1 至 19 中任一者之方法，其中人類個體在治療前具有至少 5% 之磁共振造影質子密度脂肪分數 (MRI-PDFF)。
21. 根據態樣 1 至 20 中任一者之方法，其中人類個體在治療前具有  $\geq 2.75\text{kPa}$  之磁共振彈性造影 (MRE)。
22. 根據態樣 1 至 21 中任一者之方法，其中個體在投予後於血漿中展現範圍介於約 1 小時至約 5 小時或約 1.5 小時至約 4 小時之 25HC3S 的半衰期 ( $T_{1/2}$ )。
23. 根據態樣 1 至 22 中任一者之方法，其中個體展現範圍介於約 25ng/mL 至約 200ng/mL、約 50ng/mL 至約 150ng/mL 或約 75ng/mL 至約 125ng/mL 之 25HC3S 的  $C_{\max}$ 。
24. 根據態樣 1 至 23 中任一者之方法，其中個體對每 100mg 經口投予之 25HC3S 或其鹽展現範圍介於約 100ng/mL 至約 300ng/mL、約 120ng/mL 至約 250ng/mL 或約 150ng/mL 至約 200ng/mL 之 25HC3S 的  $C_{\max}$ 。
25. 根據態樣 1 至 24 中任一者之方法，其中個體展現範圍介於約 300ng\*h/mL 至約 1000ng\*h/mL、約 400ng\*h/mL 至約 900ng\*h/mL 或約 500ng\*h/mL 至約 800ng\*h/mL 之 25HC3S 的  $AUC_{\text{inf}}$ 。
26. 根據態樣 1 至 25 中任一者之方法，其中個體對每 100mg 經口投予之 25HC3S 或其鹽展現範圍介於約 600ng\*h/mL 至約 1000ng\*h/mL、約 700ng\*h/mL 至約 900ng\*h/mL 或約 800ng\*h/mL 至約 900ng\*h/mL 之 25HC3S 的  $AUC_{\text{inf}}$ 。

27. 根據態樣 1 至 26 中任一者之方法，其中個體展現範圍介於約 300 L 至約 1000 L、約 400 L 至約 900 L 或約 500 L 至約 800 L 之 25HC3S 的擬分布體積 ( $V_z/F$ )。

28. 根據態樣 1 至 27 中任一者之方法，其中個體展現範圍介於約 100 L/h 至約 200 L/h、約 110 L/h 至約 180 L/h 或約 120 L/h 至約 160 L/h 之 25HC3S 的擬清除率 ( $CL/F$ )。

29. 根據態樣 1 至 28 中任一者之方法，其中個體正服用降血脂藥，諸如斯他汀 (statin)、非諾貝特 (fenofibrate)、 $\omega$ -3 脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯 (icosapent ethyl) 及魚油中至少一者，或該方法進一步包含對個體投予降血脂藥，諸如斯他汀、非諾貝特、 $\omega$ -3 脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯及魚油中至少一者。

30. 根據態樣 1 至 29 中任一者之方法，其中個體正服用阿托伐斯他汀 (atorvastatin)、氟伐斯他汀 (fluvastatin)、洛伐斯他汀 (lovastatin)、匹伐斯他汀 (pitavastatin)、普伐斯他汀 (pravastatin)、羅蘇伐斯他汀 (rosuvastatin) 及辛伐斯他汀 (simvastatin) 中至少一者，或該方法進一步包含對個體投予阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

31. 一種用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中的 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，其中該方法係如態樣 1 至 30 中任一者所定義。

32. 一種用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中的 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，該人類個體在治療前具有三酸甘油酯  $\geq 200\text{mg/dL}$ ，其中該方法係如態樣 1 至 30 中任一者所定義。

33. 一種 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽在用於製造藥劑之方法中之用途，該藥劑係用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中，其中該方法係如態樣 1 至 30 中任一者所定義。

34. 一種 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽在用於製造藥劑之方法中之用途，該藥劑係用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中，該人類個體在治療前具有三酸甘油酯  $\geq 200\text{mg/dL}$ ，其中該方法係如態樣 1 至 30 中任一者所定義。

35. 一種用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中的 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，其中該人類個體正接受斯他汀療法。

36. 根據態樣 35 使用之 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，其中該斯他汀療法包含投予阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

37. 根據態樣 35 或 36 使用之 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，其中該方法為如態樣 1 至 30 中任一者所定義之方法，且視需要地其中人類個體在治療前具有三酸甘油酯  $\geq 200\text{mg/dL}$ 。

38. 一種用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中的 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，其係與至少一種斯他汀共同投予，視需要地其中該至少一種斯他汀包含阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

39. 根據態樣 38 使用之 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，其中在開始該方法前，該人類個體正接受斯他汀療法，且視需要地其中該斯他汀療法包含投予在該方法中與該 25HC3S 或其鹽共同投予之相同的斯他汀或斯他汀類。

40. 根據態樣 38 或 39 使用之 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，其中該方法為如態樣 1 至 30 中任一者所定義之方法，且視需要地其中人類個體在治療前具有三酸甘油酯  $\geq 200\text{mg/dL}$ 。

41. 一種 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽在用於製造藥劑之方法中之用途，該藥劑係用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中，其中該人類個體正接受斯他汀療法。

42. 根據態樣 41 之用途，其中該斯他汀療法包含投予阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

43. 根據態樣 41 或 42 之用途，其中該治療方法為如態樣 1 至 30 中任一者所定義之方法，且視需要地其中人類個體在

治療前具有三酸甘油酯 $\geq 200\text{mg/dL}$ 。

44. 一種5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽在用於製造藥劑之方法中之用途，該藥劑係藉由與至少一種斯他汀共同投予而用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法中，視需要地其中該至少一種斯他汀包含阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

45. 根據態樣44之用途，其中在開始該方法前，該人類個體正接受斯他汀療法，且視需要地其中該斯他汀療法包含投予在該方法中與該25HC3S或其鹽共同投予之相同的斯他汀或斯他汀類。

46. 根據態樣44或45之用途，其中該治療方法為如態樣1至30中任一者所定義之方法，且視需要地其中人類個體在治療前具有三酸甘油酯 $\geq 200\text{mg/dL}$ 。

### 【圖式簡單說明】

[圖1]描述根據特定的實施態樣投予25HC3S的個體之平均藥物動力學(PK)參數。

[圖2]描述在根據特定的實施態樣投予50mg之25HC3S後的健康個體及NASH個體之25HC3S的藥物動力學(PK)血漿濃度。

[圖3]描述在根據特定的實施態樣投予200mg之25HC3S後的健康個體及NASH個體之25HC3S的藥物動力

學(PK)血漿濃度。

## 【實施方式】

### 發明詳細說明

本文說明治療非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法。該方法包括令肝與25HC3S或其鹽接觸。該接觸通常涉及對人類患者投予範圍介於1mg/天至100mg/天的量之25HC3S或其鹽。

如上文所討論，本揭示的結果是令人驚訝的。至少因為所引述之劑量與較高劑量相比而導致肝脂肪降低(例如如以MRI-PDFF所測量)的結果是令人驚訝的。

### 定義

整篇使用以下定義：

如本文所使用之「治療(Treat)」(治療(treatment)、治療(treating)等)係指對人類個體投予25HC3S或其鹽，該個體：(1)已展現NASH之至少一種症狀；及/或(2)經諸如受訓的臨床專業人員診斷為患有NASH；及/或(3)基於一或多種體液(諸如血液)的實驗室(例如分子指標)或臨床試驗而確定患有NASH。在特定的實施態樣中，個體係經肝組織生檢診斷為患有NASH。換言之，已於個體中測量、檢測或觀察到至少一種已知與NASH相關聯的參數。NASH之「治療」涉及減輕或減弱或在一些情況下完全根除在投予25HC3S或其鹽前或時存在的NASH之至少一種症狀。在一

些實施態樣中，根據本揭示治療NASH足以改善個體中的NASH之實驗室或臨床指標，如下文更詳細的說明。在特定的情況下，在個體中的NASH之實驗室或臨床指標的改善使得個體被認為不再患有NASH。

「肝功能異常」表示其中肝臟不執行其預期功能的病症或健康狀態，諸如其中測量出特定的生物學或分子指標超出正常的生理範圍。肝功能代表肝臟在生理範圍內的預期功能。熟習本技術領域者係在醫學檢查期間察覺肝臟的個別功能。肝功能異常通常涉及其中視需要地在解剖學損傷不存在下於肝臟中發展的進行性及潛在的可逆性生理功能異常之臨床症候群。

「肝衰竭」表示肝功能異常至沒有外部臨床干預下無法維持正常體內平衡的程度。

「CK-18」係指細胞角蛋白-18片段，已鑑定其為NASH的非侵入性生物標誌物，因為其在患有NASH的患者中顯著增加，如以組織學所測定，且較高的血漿片段含量與肝生檢上具有纖維變性的機率互相關聯。參見Feldstein等人之Hepatology, 50:1072-1078 (2009)，以引用併入本文。

「醫藥上可接受的」係指不干擾活性成分之生物學活性的有效性且對其投予之宿主無毒的物質。

## 治療NASH之方法

本揭示提供用於治療NASH之治療法，其包含對需要

治療的患者投予範圍介於1mg/天至100mg/天的量之25HC3S或其鹽。在一些實施態樣中，需要治療的患者為經診斷患有NASH的患者。在一些實施態樣中，如本文所述以25HC3S或其鹽治療減緩、停止或改善NASH。

## 患者群體

有可能受益於本揭示之治療法的患者可由本文所討論或那些熟習本技術領域者已知的多種方式輕易地鑑定。另外，亦提供測定患者對此治療法是否有反應之方法。在一些實施態樣中，腹部造影試驗(包括超音波檢查、電腦斷層掃描(CT)及/或磁共振造影(MRI))可用於診斷患有疾病的患者，例如評估疾病是否存在及其嚴重性。若必要時，此非侵入性診斷可以肝生檢更明確地確認。在一些實施態樣中，使用一或多種生物標誌物診斷NASH。在一些實施態樣中，欲依照本揭示治療之患者已接受NASH的初步診斷且其未以25HC3S或其鹽正治療目前於臨床發展的任何其他病症(例如酒精性肝炎(AH)或COVID-19)。

在一些例子中，欲治療之患者具有>5%之磁共振造影質子密度脂肪分數(MRI-PDFF)，諸如>10%、>15%、>20%、>25%或>30%。在一些例子中，欲治療之患者具有範圍介於4%至60%之MRI-PDFF，諸如5%至50%、10%至40%或15%至30%。

在一些例子中，欲治療之患者具有 $\geq 2\text{kPa}$ 之磁共振彈性造影(MRE)，諸如 $\geq 2.5\text{kPa}$ 、 $\geq 3\text{kPa}$ 、 $\geq 3.5\text{kPa}$ 、 $\geq 4.0$

kPa或 $\geq 4.5$  kPa。在一些例子中，欲治療之患者具有範圍介於約2 kPa至約10 kPa之MRE，諸如約3 kPa至約8 kPa或約3.5 kPa至約6 kPa。

在一些例子中，欲治療之患者具有 $\geq 5$  kPa之肝纖維化掃描®(Fibroscan®)值，諸如 $\geq 7$  kPa、 $\geq 7.5$  kPa、 $\geq 12.5$  kPa或 $\geq 14$  kPa。在一些例子中，欲治療之患者具有範圍介於約7 kPa至約75 kPa之肝纖維化掃描®(Fibroscan®)值，諸如約7.5 kPa至約60 kPa、約8 kPa至約50 kPa或10 kPa至約40 kPa。

在一些例子中，欲治療之患者具有 $>200$  dB/m之CAP計分，諸如 $>250$  dB/m或 $>300$  dB/m。在一些例子中，欲治療之患者具有範圍介於約200 dB/m至約400 dB/m之CAP計分，諸如約250 dB/m至約300 dB/m。

在一些實施態樣中，患者展現異常的肝功能，例如以出現升高的血清天門冬胺酸轉胺酶(ALT)、 $\gamma$ 麩胺醯基轉胺酶(GGT)、總膽紅素(TBL)及/或鹼性磷酸酶(ALP)含量來確定。在一些實施態樣中，欲治療之患者具有升高的ALT含量、升高的 $\gamma$ 麩胺醯基轉胺酶及/或升高的鹼性磷酸酶含量(例如比正常值上限高約1.5至4倍的含量)。在一些例子中，欲治療之患者具有 $>1$ 及 $<5$ 倍正常值上限(ULN)之ALT濃度。在一些例子中，欲治療之患者具有 $< 30$  U/L之ALT濃度，諸如 $< 20$  U/L。在一些例子中，欲治療之患者具有 $<5$  x正常值上限(ULN)之AST濃度。在一些例子中，欲治療之患者具有 $GGT > 15$  U/L，諸如 $GGT > 30$  U/L。在一些例子中，欲治療之患者具有範圍介於5 U/L至500 U/L之GGT，

諸如 15 U/L至 400 U/L、20 U/L至 350 U/L或 30 U/L至 300 U/L。在一些實施態樣中，欲治療之患者具有在正常值上限範圍內之 ALT含量、 $\gamma$ 麩胺醯基轉胺酶含量及/或鹼性磷酸酶含量。

在一些例子中，欲治療之患者具有升高的脂質含量，尤其為升高的血清三酸甘油酯含量。在一些例子中，患者具有升高的血清膽固醇(包括低密度脂蛋白膽固醇(LDL-C))及三酸甘油酯(TG)。在一些例子中，欲治療之患者具有低的HDL膽固醇含量。在一些例子中，欲治療之患者患有高血壓。在一些例子中，欲治療之患者患有心血管疾病。在一些例子中，欲治療之患者患有慢性阻塞性肺疾病(COPD)。在一些例子中，欲治療之患者患有慢性腎病(CKD)。在一些例子中，欲治療之患者患有糖尿病。

在一些實施態樣中，NASH係使用造影試驗診斷。在一些實施態樣中，NASH係使用計分系統診斷，諸如但不限於脂肪肝指數、NAFLD肝脂肪計分、NAFLD活性計分或肝脂肪變性指數。在一些實施態樣中，NASH係使用NAFLD活性計分(NAS)診斷，其提供基於脂肪變性(0-3)、肝小葉發炎(0-3)及肝細胞腫脹變性(0-2)的程度之綜合計分。參見Kleiner等人之Hepatology, 41:1313-1321 (2005)；及Bugianesi等人之J Hepatology, 65:643-644 (2016)。在一些例子中，欲治療之患者患有1、2或3期纖維變性及NAS  $\geq$  4，以脂肪變性、肝細胞腫脹變性及肝小葉發炎之各者具有至少1分。

NASH在病理上分類成第1型和第2型形式，其中第1型形式更常見於成人患者，而第2型形式更常見於兒童。第1型NASH通常以脂肪變性、肝細胞腫脹變性及竇狀隙周圍纖維變性為特徵。第2型NASH通常以脂肪變性、門脈區發炎及門脈區纖維變性為特徵。參見例如Schwimmer等人之Hepatology, 42:641-649 (2005)。NASH的進一步進展可導致嚴重的纖維變性、肝硬化及末期肝病。在一些實施態樣中，欲治療之患者患有第1型NASH。在一些實施態樣中，欲治療之患者患有第2型NASH。在一些實施態樣中，欲治療之患者患有初期NASH。在一些實施態樣中，欲治療之患者患有中期NASH。在一些實施態樣中，欲治療之患者患有晚期NASH（例如患有嚴重的肝纖維變性及/或肝硬化）。

在一些實施態樣中，NASH係使用造影試驗診斷。在一些實施態樣中，NASH係使用計分系統診斷，諸如但不限於NAFLD活性計分（例如>5的計分）或脂肪變性、活性和纖維變性(SAF)計分，或NAFLD纖維變性計分；血清生物標誌物（例如細胞角蛋白-18）；或其組合。參見Bedossa等人之Hepatology, 56:1751-1759 (2012)；Arab等人之Gastroenterol Hepatol, 40:388-394 (2017)。在一些實施態樣中，纖維變性係使用彈性造影（例如肝纖維化掃描®(Fibroscan®)）檢測及/或測量。

在一些實施態樣中，欲治療之患者係使用一或多種生物標誌物（諸如CK-18）鑑定。無論是藉由來自肝生檢之免

疫組織化學、組織學或經由測量患者或疑似處於疾病風險之個人的血漿含量所測量之CK-18含量通常在需要治療的個體中會升高，其係相對於健康的個人中所測量的含量。儘管本揭示不受限於特定或任何提出之作用機制，但預期在NASH患者中降低的CK-18含量與降低的肝細胞凋亡互相關聯。在一些實施態樣中，與未接受治療或標準護理相比，依照本揭示以25HC3S或其鹽治療之患有NASH的患者展現降低的肝細胞凋亡。

在一些例子中，欲治療之患者係以血漿或血清生物標誌物鑑定，包括發炎、細胞死亡及纖維變性標誌物，如以脂聯素、高敏感度C-反應性蛋白(hsCRP)、細胞激素(諸如介白素(IL)-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12、IL-17、IL-18和腫瘤壞死因子 $\alpha$ (TNF $\alpha$ ))、細胞角蛋白-18 (M30和M65兩者)、N端第III型膠原蛋白原肽(pro-C3)、血漿蛋白原活化因子抑制物-1 (PAI1)、血清膽汁酸、基質金屬蛋白酶-1之組織抑制物(TIMP1)及/或玻尿酸(HA)所測量。

在實施態樣中，欲治療之患者可為人類個體，包括新生兒、嬰兒、兒童和成人。在一些實施態樣中，欲治療之患者為成人。在一些實施態樣中，欲治療之患者為兒童。在一些實施態樣中，患者為年齡17歲或更年輕的人類個體，諸如15歲或更年輕，諸如10歲或更年輕，諸如9歲或更年輕，諸如8歲或更年輕，諸如7歲或更年輕，諸如6歲或更年輕，諸如5歲或更年輕，諸如4歲或更年輕，諸如3歲或更年輕，諸如2歲或更年輕，諸如1歲或更年輕，諸如

6個月或更年輕，諸如1個月或更年輕，且包括新生人類個體。在一些實施態樣中，患者為18至44歲的人類個體，諸如20至40歲，諸如25至35歲。在一些實施態樣中，患者為45至65歲的人類個體，諸如50至60歲。在特定的實施態樣中，患者為65歲或更年長的人類個體，諸如70歲或更年長，諸如75歲或更年長，諸如80歲或更年長，諸如85歲或更年長，諸如90歲或更年長，諸如95歲或更年長，且包括100歲或更年長的人類個體。

在一些例子中，欲治療之患者具有BMI $>20\text{kg/m}^2$ ，諸如 $>25\text{kg/m}^2$ 、 $>30\text{kg/m}^2$ 或 $>35\text{kg/m}^2$ 。在一些例子中，欲治療之患者具有範圍介於約 $20\text{kg/m}^2$ 至約 $60\text{kg/m}^2$ 之BMI，諸如約 $25\text{kg/m}^2$ 至約 $50\text{kg/m}^2$ 或約 $30\text{kg/m}^2$ 至約 $40\text{kg/m}^2$ 。

在一些實施態樣中，欲治療之患者未患有酒精性肝炎(AH)。在一些實施態樣中，欲治療之患者未患有COVID-19。

為了避免疑惑，欲治療之患者可具有複數個上述特性中之二或更多個，且本揭示明確地包括對具有該等特性之任何組合的患者進行之治療方法。此等診斷特性之一個嚴格的非限制性組合為如本說明書之實施例章節中的納入準則所定義之特性的組合(特別為納入準則4，但亦為其他編號之準則或該等編號之準則的任何組合)。

## 給藥方案

該方法的實施通常涉及鑑定患有NASH的患者且以適

當的途徑投予可接受的形式之25HC3S或其鹽。

在一些實施態樣中，所投予之25HC3S或其鹽的總量係範圍介於1mg/天至100mg/天，諸如約10mg/天至約80mg/天或約30mg/天至約70mg/天(例如約40至約60mg/天或約50mg/天)。

在一些例子中，投予個體之25HC3S或其鹽以每kg計的總量係範圍介於約0.1mg/kg/天至約5mg/kg/天，諸如約0.2mg/kg/天至約4mg/kg/天、約0.3mg/kg/天至約3mg/kg/天或約0.4mg/kg/天至約2mg/kg/天。

在該方法中欲投予之25HC3S或其鹽可在整個期間內(在本文亦稱為「給藥期」)以一個劑量或複數個個別劑量投予。在一些例子中，投予包含投予25HC3S或其鹽的複數個劑量。

在一些例子中，劑量係以範圍介於每週一次至一天三次的頻率投予。在一些例子中，劑量係以一天投予一次。在一些例子中，劑量係以一天投予兩次。

本揭示之化合物的投予可為間歇的或以逐漸或連續、恆定或控制的速率。投予可通過任何途徑，諸如經口、透皮或腸胃外，包括靜脈內、肌肉內及/或皮下注射。通常以經口投予較佳。

在本揭示中，25HC3S或其鹽係以mg/天定義之指定量投予。然而，如那些熟習本技術領域的普通技能者所明白，本揭示包含劑量方案，其中投予包含投予25HC3S或其鹽的複數個劑量及其中投予頻率可為一天複數次或一天

少於一次。為了避免疑惑，因此應當理解以 mg/天計的指定量係指在給藥期內每天所投予之 25HC3S 或其鹽的平均總量(其中給藥期通常在投予以 mg/天計所引述之日劑量的第一天開始，且因此視需要地排除劑量遞增的任何初步時期)。例如，若劑量係以一天投予兩次，則以 mg/天定義之指定量等於兩個以 mg 計之劑量的總量。作為另一實例，若劑量係以每週投予一次，則以 mg/天定義之指定量等於每週投予一次之劑量的七分之一。給藥期通常在投予以 mg/天計所引述之日劑量的最後一天結束。因此，通常以 mg/天計所引述之日劑量為給藥期所投予之 25HC3S 或其鹽的總量除以給藥期的天數。

在本揭示之實施態樣中，經口投予包含在至少 7 天的給藥期內投予該量，諸如至少 14 天或至少 28 天，包括至少 56 天、至少 3 個月、至少 6 個月或至少 1 年的給藥期。在實施態樣中，持續給藥期，直到確定治療已導致一或多個參數的改善，諸如改善的 ALT 酵素含量、降低發炎、降低的脂肪變性、降低的 NASH 症狀嚴重性、降低的 NASH 生物標誌物(諸如 CK-18)含量或減緩、停止或改善的肝纖維變性，如本文進一步的討論。

在一些例子中，個體正服用降血脂藥，諸如斯他汀、非諾貝特、 $\omega$ -3 脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯及魚油中至少一者，或該方法進一步包含對個體投予降血脂藥，諸如斯他汀、非諾貝特、 $\omega$ -3 脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯及魚油中至少一者。例如，該方法可進一步包含投予阿托伐斯他

汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。關於三酸甘油酯及非HDL膽固醇降低的程度，投予25HC3S或其鹽及斯他汀兩者的結果就三酸甘油酯及非HDL膽固醇的降低程度而言是令人驚訝的。

在接受斯他汀療法的個體中投予25HC3S或其鹽的結果是令人驚訝的，例如就有害症狀的降低程度而言，例如降低的三酸甘油酯及非HDL膽固醇。斯他汀療法包含投予至少一種斯他汀，諸如但不限於阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。為了避免疑惑，當定義根據本揭示欲治療之個體時，術語「[正]接受斯他汀療法的人類個體」通常係指在開始本揭示之方法前(例如在開始投予25HC3S或其鹽前)正接受/已接受斯他汀療法的人類個體。人類個體在以25HCS3或其鹽之治療期間可持續或可不持續接受斯他汀療法，且任何持續的斯他汀療法可與開始以25HCS3或其鹽之治療期前的斯他汀療法相同或不同。如那些熟習本技術領域者所熟知，斯他汀療法為廣泛的處方醫學療法，且因此鑑定出可輕易地識別且明確限定的一組可有利地實行本揭示之主題的人類個體(亦即特定的患者群組)。

在一些例子中，在投予25HC3S或其鹽後達到最大藥物濃度的時間( $T_{max}$ )係範圍介於1小時至5小時，諸如1.5小時至4小時或2小時至3.5小時。

在一些例子中，個體展現範圍介於約25ng/mL至約200 ng/mL、約50ng/mL至約150ng/mL或約75ng/mL至約125 ng/mL之25HC3S的C<sub>max</sub>。個體可對每100mg經口投予之25HC3S或其鹽展現範圍介於約100ng/mL至約300ng/mL、約120ng/mL至約250ng/mL或約150ng/mL至約200ng/mL之25HC3S的C<sub>max</sub>。

在一些例子中，個體展現範圍介於約300ng\*h/mL至約1000ng\*h/mL、約400ng\*h/mL至約900ng\*h/mL或約500 ng\*h/mL至約800ng\*h/mL之25HC3S的AUC<sub>inf</sub>。個體可對每100mg經口投予之25HC3S或其鹽展現範圍介於約600 ng\*h/mL至約1000ng\*h/mL、約700ng\*h/mL至約900 ng\*h/mL或約800ng\*h/mL至約900ng\*h/mL之25HC3S的AUC<sub>inf</sub>。

在一些例子中，個體展現範圍介於約300 L至約1000 L、約400 L至約900 L或約500 L至約800 L之25HC3S的擬分布體積(V<sub>z</sub>/F)。

在一些例子中，個體展現範圍介於約100 L/h至約200 L/h、約110 L/h至約180 L/h或約120 L/h至約160 L/h之25HC3S的擬清除率(CL/F)。

在一些實施態樣中，治療導致一或多個參數的改善，諸如改善的ALT酵素含量、降低發炎、降低的脂肪變性、降低的NASH症狀嚴重性、降低的NASH生物標誌物(諸如CK-18)含量或減緩、停止或改善的肝纖維變性。

在一些實施態樣中，治療導致個體的肝細胞腫脹變性

降低。在一些實施態樣中，治療導致NASH患者的發炎及/或纖維變性降低。在一些實施態樣中，治療導致個體的血漿CK-18含量降低。

在一些實施態樣中，根據本文所述之方法的治療導致一或多個參數的改善，諸如但不限於改善的NAS (腫脹變性與發炎)及/或纖維變性；改善的SAF (脂肪變性、活性與纖維變性)計分；完全消除的脂肪性肝炎；沒有惡化的纖維變性；改善的纖維變性而沒有惡化的脂肪性肝炎；或疾病進展的時間增加，如以進展至肝硬化、死亡、肝移植、肝細胞癌及代償不全事件，諸如肝腦病變、需要住院的靜脈瘤出血、需要干預的腹水和自發性細菌性腹膜炎之組織病理學評定所測量。在一些實施態樣中，根據本文所述之方法的治療導致改善(亦即降低)的肝細胞腫脹變性。在一些實施態樣中，肝細胞腫脹變性係使用蘇木精及曙紅染色視覺化。

在一些實施態樣中，根據本文所述之方法的治療導致NASH之一或多個生物標誌物的改善，諸如但不限於細胞凋亡標誌物(例如CK-18片段)、脂肪細胞素(adipokine)(例如脂聯素、瘦素、阻抗素(resistin)或內臟脂肪素(visfatin))、發炎性標誌物(例如TNF-a、IL-6、趨化蛋白-1或高敏感度C-反應性蛋白)。參見例如Neuman等人之Can J Gastroenterol Hepatol, 28:607-618 (2014)；Castera等人之Nat Rev Gastroenterol Hepatol., 10:666-675 (2013)。在一些實施態樣中，生物標誌物值係使用包含體液(例如血液、血漿、血清、尿液或

腦脊髓液)的樣品來測量。在一些實施態樣中，生物標誌物值係使用包含細胞及/或組織(例如肝細胞或肝組織)的樣品來測量。在一些實施態樣中，治療導致改善的生物標誌物 CK-18。在一些實施態樣中，治療導致個體中的血漿 CK-18含量降低。

在一些實施態樣中，患者係在 25HC3S 或其鹽治療法的過程期間使用如本文所述之診斷試驗(例如使用腹部造影試驗)來監測。在一些實施態樣中，該方法進一步包含持續治療過程(例如如本文所述之 25HC3S 或其鹽的劑量)。在一些實施態樣中，若診斷保證(例如當達成痊癒時)較低的劑量似乎更安全或與較高的劑量同樣有效或預期沒有持續的療效，則該方法進一步包含遞減、減少或停止所投予之 25HC3S 或其鹽的量。在一些實施態樣中，若測定無效，則該方法可包含增加所投予之 25HC3S 或其鹽的量，以及若確定劑量遞增或以任何劑量持續給藥不可能有效，則該方法可包含停止治療。

在其中患者正經歷依照本揭示之治療的一些實施態樣中，藉由腹部造影、超音波檢查、磁振造影、CT掃描及/或生檢之 NASH 的徵兆可能少於治療前在患者中所測量的那些徵兆，其表明患者對治療法有積極的反應。在其中患者對本揭示之治療法有積極的反應之例子中，持續此治療法，直到存在的病症減少至與正常的對照水平可相比的水平。視需要地持續此治療法以維持 NASH 症狀的緩解。另一選擇地，持續此治療法，直到在患者中達成所欲脂肪變

性水平(包括沒有脂肪變性存在)。只要使用藉由腹部造影、超音波檢查、磁振造影、CT掃描及/或生檢之評定而確定為有效的治療，則可持續此治療。治療可通過測量出脂肪變性、腫脹變性及壞死性發炎中之一或多者的改善來確定為有效的。在一個實施態樣中，治療係通過測量出以經誘發降低之腫脹變性所表明的改善來確定為有效的。在一個實施態樣中，治療係通過測量出以降低發炎所表明的改善來確定為有效的。在一個實施態樣中，治療係通過測量出以降低的血清ALT含量、改善的胰島素敏感性(例如降低的胰島素抗性)、降低的脂肪變性、降低的發炎及降低的纖維變性中至少一者所表明的改善來確定為有效的。在一個實施態樣中，治療係通過測量出以經誘發消退或逆轉之纖維變性及/或肝硬化所表明的改善來確定為有效的。

在一些實施態樣中，治療導致一或多個參數與對照值相比而改善至少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%(例如降低的NAS或SAF計分、降低的肝細胞腫脹變性、降低的纖維變性或降低地CK-18含量)。在一些實施態樣中，治療導致一或多個參數與對照值相比而改善至少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。在一些實施態樣中，對照值為治療開始前對個體測定的基線值。在一些例子中，治療顯示自基線降低 $\geq 10\%$ 之肝脂肪，如以MRI-PDFF所測量。

在一些實施態樣中，本揭示提供確定NASH治療在有其需要的個體中的功效之方法，其係藉由(a)經由腹部造影、超音波檢查、磁振造影、CT掃描及/或肝生檢來測量在有其需要的個體中的NASH之水平及嚴重性，其中NASH之水平及嚴重性係在開始治療後測量，(b)將步驟(a)中所測量的NASH之水平及嚴重性與NASH之基線水平及嚴重性相比，其中基線水平及嚴重性係在開始治療前於相同的個體中測量，及(c)基於比較步驟來確定NASH治療的功效。

此外，在一些實施態樣中，本揭示提供確定NASH治療在有其需要的個體中的功效之方法，其係藉由(a)在開始治療後測量有其需要的個體中的NASH之水平及嚴重性，(b)將NASH之水平及嚴重性與參考值相比，其中參考值代表自患有NASH的患者群體所測定的平均值，及(c)基於比較步驟來確定NASH治療的功效。在一些實施態樣中，治療功效係藉由肝生檢及分析來確定以評估NAFLD活性計分(NAS)及纖維變性；頸靜脈肝生檢方法可用於此目的。適合的患者包括患有經生檢證實之NASH的患者、NASH之高風險患者、具有NAS大於或等於4的患者、患有肝纖維變性的NASH患者和患有2期或以上之肝纖維變性的NASH患者。

在一些實施態樣中，預期對依照本發明之治療法有反應的患者在持續該治療法時顯示至少減緩任何的CK-18含量增加。在一些實施態樣中，對治療法有最好反應的那些患者在實現完全的治療效益時具有隨時間而穩定及減少的

CK-18含量。因此，在一些實施態樣中，本揭示提供確定NASH治療在有其需要的個體中的功效之方法，其係藉由(a)經由測量來自個體之樣品(例如血液、血漿或組織樣品)中的生物標誌物CK-18含量來測量NASH之水平及嚴重性，其中NASH之水平及嚴重性係在開始治療後測量，(b)將(a)中所測量的NASH之水平及嚴重性與開始治療前於相同的個體中所測量之個體中的NASH之基線水平及嚴重性相比，及(c)基於比較步驟來確定NASH治療的功效，其中CK-18含量的平穩或降低為NASH治療功效的象徵。

在一些實施態樣中，依照本發明治療之患者在實現完全的治療效益時展現一或多種隨時間而減少的生物標誌物含量。因此，在一些實施態樣中，本揭示提供確定NASH治療在有其需要的個體中的功效之方法，其係藉由(a)經由測量一或多種選自由下列所組成之群組的生物標誌物含量來測量NASH之水平及嚴重性：C反應性蛋白、血漿蛋白原活化因子抑制物-1、介白素-1 $\beta$ 、介白素-6、介白素-12、介白素-17、介白素-18、腫瘤壞死因子、膽汁酸、脂聯素和脂聯素，HMW；(b)將(a)中所測量的NASH之水平及嚴重性與開始治療前於相同的個體中所測量之個體中的NASH之基線水平及嚴重性相比，及(c)基於比較步驟來確定NASH治療的功效，其中生物標誌物含量的平穩或降低為NASH治療功效的象徵。

在一些情況下，該方法包括以足以降低CK-18，M30生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低1%或更多，

諸如 2% 或更多，諸如 3% 或更多，諸如 4% 或更多，諸如 5% 或更多，諸如 6% 或更多，諸如 7% 或更多，諸如 8% 或更多，諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25% 或更多，諸如 30% 或更多，諸如 35% 或更多，且及包括 40% 或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低 CK-18，M65 生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低 1% 或更多，諸如 2% 或更多，諸如 3% 或更多，諸如 4% 或更多，諸如 5% 或更多，諸如 6% 或更多，諸如 7% 或更多，諸如 8% 或更多，諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25% 或更多，諸如 30% 或更多，諸如 35% 或更多，且包括 40% 或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低 C 反應性蛋白生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低 1% 或更多，諸如 2% 或更多，諸如 3% 或更多，諸如 4% 或更多，諸如 5% 或更多，諸如 6% 或更多，諸如 7% 或更多，諸如 8% 或更多，諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸

如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25% 或更多，諸如 30% 或更多，諸如 35% 或更多，且包括 40% 或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低血漿蛋白原活化因子抑制物-1 生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低 1% 或更多，諸如 2% 或更多，諸如 3% 或更多，諸如 4% 或更多，諸如 5% 或更多，諸如 6% 或更多，諸如 7% 或更多，諸如 8% 或更多，諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25% 或更多，諸如 30% 或更多，諸如 35% 或更多，且包括 40% 或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低介白素-1 $\beta$  生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低 1% 或更多，諸如 2% 或更多，諸如 3% 或更多，諸如 4% 或更多，諸如 5% 或更多，諸如 6% 或更多，諸如 7% 或更多，諸如 8% 或更多，諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25% 或更多，諸如 30% 或更多，諸如 35% 或更多，且包括 40% 或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低介白素-6生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低1%或更多，諸如2%或更多，諸如3%或更多，諸如4%或更多，諸如5%或更多，諸如6%或更多，諸如7%或更多，諸如8%或更多，諸如9%或更多，諸如10%或更多，諸如11%或更多，諸如12%或更多，諸如13%或更多，諸如14%或更多，諸如15%或更多，諸如16%或更多，諸如17%或更多，諸如18%或更多，諸如19%或更多，諸如20%或更多，諸如25%或更多，諸如30%或更多，諸如35%或更多，且包括40%或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低介白素-12生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低1%或更多，諸如2%或更多，諸如3%或更多，諸如4%或更多，諸如5%或更多，諸如6%或更多，諸如7%或更多，諸如8%或更多，諸如9%或更多，諸如10%或更多，諸如11%或更多，諸如12%或更多，諸如13%或更多，諸如14%或更多，諸如15%或更多，諸如16%或更多，諸如17%或更多，諸如18%或更多，諸如19%或更多，諸如20%或更多，諸如25%或更多，諸如30%或更多，諸如35%或更多，且包括40%或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低介白素-17生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低1%或更多，諸如2%或更多，諸如3%或更多，諸如4%或更多，諸如5%或更多，諸如6%或更多，諸如7%或更多，諸如8%或更多，

諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25% 或更多，諸如 30% 或更多，諸如 35% 或更多，且包括 40% 或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低介白素-18 生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低 1% 或更多，諸如 2% 或更多，諸如 3% 或更多，諸如 4% 或更多，諸如 5% 或更多，諸如 6% 或更多，諸如 7% 或更多，諸如 8% 或更多，諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25% 或更多，諸如 30% 或更多，諸如 35% 或更多，且包括 40% 或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低腫瘤壞死因子生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低 1% 或更多，諸如 2% 或更多，諸如 3% 或更多，諸如 4% 或更多，諸如 5% 或更多，諸如 6% 或更多，諸如 7% 或更多，諸如 8% 或更多，諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25%

或更多，諸如 30%或更多，諸如 35%或更多，且包括 40%或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低膽汁酸生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低 1%或更多，諸如 2%或更多，諸如 3%或更多，諸如 4%或更多，諸如 5%或更多，諸如 6%或更多，諸如 7%或更多，諸如 8%或更多，諸如 9%或更多，諸如 10%或更多，諸如 11%或更多，諸如 12%或更多，諸如 13%或更多，諸如 14%或更多，諸如 15%或更多，諸如 16%或更多，諸如 17%或更多，諸如 18%或更多，諸如 19%或更多，諸如 20%或更多，諸如 25%或更多，諸如 30%或更多，諸如 35%或更多，且包括 40%或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低脂聯素生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低 1%或更多，諸如 2%或更多，諸如 3%或更多，諸如 4%或更多，諸如 5%或更多，諸如 6%或更多，諸如 7%或更多，諸如 8%或更多，諸如 9%或更多，諸如 10%或更多，諸如 11%或更多，諸如 12%或更多，諸如 13%或更多，諸如 14%或更多，諸如 15%或更多，諸如 16%或更多，諸如 17%或更多，諸如 18%或更多，諸如 19%或更多，諸如 20%或更多，諸如 25%或更多，諸如 30%或更多，諸如 35%或更多，且包括 40%或更多。

在一些情況下，該方法包括以足以降低脂聯素，HMW生物標誌物含量的方式治療個體，諸如降低 1%或更

多，諸如 2% 或更多，諸如 3% 或更多，諸如 4% 或更多，諸如 5% 或更多，諸如 6% 或更多，諸如 7% 或更多，諸如 8% 或更多，諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25% 或更多，諸如 30% 或更多，諸如 35% 或更多，且包括 40% 或更多。

在特定的實施態樣中，本揭示之方法及組成物足以降低一或多種升高的血清肝酵素量。在一些情況下，主題方法及組成物足以降低血清丙胺酸轉胺酶 (ALT)，諸如降低 1% 或更多，諸如 2% 或更多，諸如 3% 或更多，諸如 4% 或更多，諸如 5% 或更多，諸如 6% 或更多，諸如 7% 或更多，諸如 8% 或更多，諸如 9% 或更多，諸如 10% 或更多，諸如 11% 或更多，諸如 12% 或更多，諸如 13% 或更多，諸如 14% 或更多，諸如 15% 或更多，諸如 16% 或更多，諸如 17% 或更多，諸如 18% 或更多，諸如 19% 或更多，諸如 20% 或更多，諸如 25% 或更多，諸如 30% 或更多，諸如 35% 或更多，且包括降低 40% 或更多存在的血清 ALT。在特定的情況下，投予 25HC3S 足以降低血清 ALT 的量至低於 ALT 之正常水平上限的量。

在特定的實施態樣中，本揭示之方法及組成物足以降低一或多種升高的血清肝酵素量。在一些情況下，主題方法及組成物足以降低血清天門冬胺酸轉胺酶 (AST)，諸如

降低1%或更多，諸如2%或更多，諸如3%或更多，諸如4%或更多，諸如5%或更多，諸如6%或更多，諸如7%或更多，諸如8%或更多，諸如9%或更多，諸如10%或更多，諸如11%或更多，諸如12%或更多，諸如13%或更多，諸如14%或更多，諸如15%或更多，諸如16%或更多，諸如17%或更多，諸如18%或更多，諸如19%或更多，諸如20%或更多，諸如25%或更多，諸如30%或更多，諸如35%或更多，且包括降低40%或更多存在的血清AST。在特定的情況下，投予25HC3S足以降低血清AST的量至低於AST之正常水平上限的量。

在一些情況下，主題方法及組成物足以降低血清 $\gamma$ 麩胺醯基轉胺酶(GGT)，諸如降低1%或更多，諸如2%或更多，諸如3%或更多，諸如4%或更多，諸如5%或更多，諸如6%或更多，諸如7%或更多，諸如8%或更多，諸如9%或更多，諸如10%或更多，諸如11%或更多，諸如12%或更多，諸如13%或更多，諸如14%或更多，諸如15%或更多，諸如16%或更多，諸如17%或更多，諸如18%或更多，諸如19%或更多，諸如20%或更多，諸如25%或更多，諸如30%或更多，諸如35%或更多，且包括降低40%或更多存在的血清GGT。在特定的情況下，投予25HC3S足以降低血清GGT的量至低於GGT之正常水平上限的量。

在一些情況下，主題方法及組成物足以降低肝硬度，如以肝纖維化掃描®(Fibroscan®)(測量肝組織硬度之超音波機器)所測量，諸如降低1%或更多，諸如2%或更多，諸

如 3%或更多，諸如 4%或更多，諸如 5%或更多，諸如 6%或更多，諸如 7%或更多，諸如 8%或更多，諸如 9%或更多，諸如 10%或更多，諸如 11%或更多，諸如 12%或更多，諸如 13%或更多，諸如 14%或更多，諸如 15%或更多。在特定的情況下，投予 25HC3S 足以降低肝硬度的量至低於肝硬度之正常水平上限的量。

在一些情況下，主題方法及組成物足以降低血清三酸甘油酯 (TG)，諸如降低 1%或更多，諸如 2%或更多，諸如 3%或更多，諸如 4%或更多，諸如 5%或更多，諸如 6%或更多，諸如 7%或更多，諸如 8%或更多，諸如 9%或更多，諸如 10%或更多，諸如 11%或更多，諸如 12%或更多，諸如 13%或更多，諸如 14%或更多，諸如 15%或更多。在特定的情況下，投予 25HC3S 足以降低血清 TG 的量至低於 TG 之正常水平上限的量。

在一些情況下，主題方法及組成物足以降低血清低密度脂蛋白-膽固醇 (LDL-C)，諸如降低 1%或更多，諸如 2%或更多，諸如 3%或更多，諸如 4%或更多，諸如 5%或更多，諸如 6%或更多，諸如 7%或更多，諸如 8%或更多，諸如 9%或更多，諸如 10%或更多，諸如 11%或更多，諸如 12%或更多，諸如 13%或更多，諸如 14%或更多，諸如 15%或更多。在特定的情況下，投予 25HC3S 足以降低血清 LDL-C 的量至低於 LDL-C 之正常水平上限的量。

組成物、單位劑型及套組

25HC3S可以純形式或包括適合的醃劑及類似者(通常稱為「載劑」)之醫藥上可接受的調配物或作為醫藥上可接受的鹽(例如鹼金屬鹽，諸如鈉、鉀、鈣或鋰鹽、銨等)或其他複合物投予。在一些情況下，25HC3S係作為25HC3S的鹽投予，諸如25HC3S的鈉鹽。25HC3S或其鹽通常作為適合於經口、注射及/或靜脈內投予之組成物投予。

可將活性成分與賦形劑混合，該賦形劑為醫藥上可接受且與活性成分可相容，例如醫藥上及生理上可接受的載劑。適合的賦形劑包括例如水、鹽水(氯化鈉)、環寡醣(諸如環糊精，例如那些說明於美國專利公開案第2019/0269695號中，將其揭示內容以引用併入本文，例如經丙基- $\beta$ -環糊精)、右旋糖、甘油、乙醇及類似者或其組合。另外，組成物可含有少量的輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、pH緩衝劑(例如磷酸鹽緩衝液)及類似者。水可用作為製備組成物(例如可注射組合物)之載劑，該組成物亦可包括習知的緩衝劑及使組成物成為等滲之劑。其他可能的添加劑及其他材料(較佳為那些通常被視為安全[GRAS]的材料)包括：界面活性劑(TWEEN®、油酸等)；溶劑、穩定劑、醃劑和封裝劑(乳糖、脂質體等)。亦可使用防腐劑，諸如對羥苯甲酸甲酯或氯化苄二甲烴銨(benzalkium chloride)。本揭示之組成物可含有任何此等附加成分，以便提供適合於意欲投予途徑的形式之組成物。另外，可將化合物以水系或油系媒劑調配。

取決於調配物而定，預期 25HC3S 或其鹽係以組成物的約 1 wt% 至約 99 wt% 存在及作為媒介的「載劑」係構成組成物的約 1 wt% 至約 99 wt%。本揭示之醫藥組成物可包括不妨礙或干擾 25HC3S 或其鹽之療效的程度之任何適合的醫藥上可接受的添加劑或佐劑。

在一個態樣中，其提供用於本文所述之方法的包含 25HC3S 或其鹽之組成物、單位劑型、醫藥包裝及套組。在一些實施態樣中，調配物、單位劑型、醫藥包裝及/或套組係用於治療 NASH。

在一些實施態樣中，25HC3S 或其鹽之經口調配物經調配成直接釋放型製劑且方便地包裝成例如丸劑、膠囊或錠劑形式之單位劑型，其依次可於藥瓶或泡殼包裝中。本揭示之醫藥組成物的劑量及所欲藥物濃度可取決於設想的特定用途而改變。適當的劑量或投予途徑之確定完全在熟習本技術領域者的技術範圍內。

在一些實施態樣中，調配物經調配成持續釋放型製劑且方便地包裝成例如小瓶、安瓿、注射器、瓶子或其他液體可相容的容器形式之單位劑型。

在一些實施態樣中，醫藥包裝或套組係用於治療 NASH。在一些實施態樣中，醫藥包裝或套組進一步包含使用根據本文所揭示之方法的用法資料。儘管用法資料通常包含書面或印刷資料，但彼等不限於此。本發明涵蓋能夠儲存此等用法資料且將其傳遞至最終使用者的任何媒體。此等媒體包括但不限於電子儲存媒體(例如磁盤、磁

帶、卡匣、晶片)、光學媒體(例如CD-ROM)及類似者。此等媒體可包括提供此等用法資料之網際網路地址。

本發明將以下列的實施例方式進一步例證。該等實施例為非限制性且不限制本發明之範圍。除非另有其他陳述，否則實施例中所呈現之所有百分比、份數等皆以重量計。

## 實施例 1

### 綜述

本發明實施例為隨機、開放標籤、多中心美國研究以評估患有 1 至 3 期纖維變性的 NASH 患者中投予 4 週之 25HC3S 的安全性、藥物動力學及生物學活性訊號。總共 63 位患者完成研究，每一劑量組有 21 位患者(完成 MRI-PDFF 測量)。將 25HC3S 鈉以每天 50mg、150mg 或 600mg (300mg BID)經口投予。在此試驗中的患者被監測 2 週(14 天)、給藥 4 週(28 天)及隨訪另外 4 週(28 天)。

試驗名稱： 評估 25HC3S 在患有非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的患者中的安全性、藥物動力學及藥效學訊號之隨機、開放標籤、第 1b 期研究

發展期： 第 1b 期

終點： • 測定在患有 NASH 的個體中以 25HC3S 每天經口給藥 4 週的安全性及藥物動力學

(PK)

- 測定 25HC3S 在患有 NASH 的個體中對藥效學 (PD) 訊號的效應
  - 自基線\*至給藥結束 (第 6 週結束) 之肝脂肪含量的變化，如以磁共振造影質子密度脂肪分數 (MRI-PDFF) 所測量
  - 自基線至給藥結束 (第 6 週結束) 之肝硬度的變化，如以瞬時彈性造影 (TE) 所測量
  - 自基線至給藥結束 (第 6 週結束)、在 4 週給藥期間於每週及研究結束 (第 10 週結束) 之肝功能參數，如以血漿丙胺酸轉胺酶 (ALT)、天門冬胺酸轉胺酶 (AST) 及  $\gamma$  麩胺醯基轉肽酶 (GGT) 所測量；篩查 (panel) 為實驗室安全性試驗的一部分
  - 自基線至給藥結束 (第 6 週結束)、在 4 週給藥期間於每週及研究結束 (第 10 週結束) 之代謝篩查 (metabolic panel)，如以血清膽固醇、低密度脂蛋白膽固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白膽固醇 (HDL) 及三酸甘油酯 (TG) 所測量
- \*：基線經定義為研究藥物的第一劑量前的最後一個非遺漏值 (non-missing value)

安全性評定：• 不良事件(AE)之紀錄係分別自簽署知情同意書至研究結束或提前終止訪視：

- 生命體徵、身體格檢查及12導程ECG測定
- 安全性實驗室試驗(化學、血液學、凝血及尿液分析)

試驗群體：總共65位經診斷患有NASH或疑似NASH的個體(同時包括男性和女性)入選於研究中。每一下列劑量組包括至少20位患者。

- 第1組：50mg之25HC3S鈉，經口QD
- 第2組：150mg之25HC3S鈉，經口QD
- 第3組：300mg之25HC3S鈉，經口BID

納入準則：

1. 個體提供參與研究的書面知情同意書
2. 男性或女性個體在簽署知情同意書時為18歲或更年長
3. 20至45kg/m<sup>2</sup>之BMI
4. 個體具有在篩選訪視前12個月期間證實的NASH之病史組織學診斷，證明同時出現1至3期纖維變性及NAS ≥ 4，以三種組分中之各者具有至少1分(脂肪變性、肝細胞腫脹變性及肝小葉發

炎)，或使用脂肪變性(包括基於異源性肝臟之肝纖維化掃描®(Fibroscan®)之 MRI-PDFF>10% 及 CAP 計分 >238 dB/m)及纖維變性之臨床診斷\*、實驗室結果與造影評定的組合而具有「疑似NASH」之診斷，纖維變性於此臨床試驗中經定義為：

- a. 肝纖維化掃描®(Fibroscan®)值 $\geq 7$  kPa，  
或
- b. MRE  $\geq 2.75$  kPa

\* NASH之臨床診斷於此臨床試驗中經定義為：下列的NASH風險因子中一或多者的存在，亦即：

- a. 第2型糖尿病或升高的空腹血糖
- b. 腹部肥胖
- c. 升高的脂質含量，尤其為升高的血清三酸甘油酯含量
- d. 高血壓，或
- e. 低的HDL膽固醇含量

5. 關於血清轉胺酶，所有患者在篩選時的ALT濃度在沒有另外的肝病病因存在下為>1及< 5倍的中央實驗室之正常值上限(ULN)。若患者在過去6個月內有實驗室記錄，則ALT濃度以女性為

- < 20 U/L及以男性為< 30 U/L。所有患者在篩選時的AST濃度為< 5x ULN
6. 血清ALT、AST、ALP和TBL濃度在篩選期間的波動不>30%
7. 血小板數 $\geq 120,000/\text{mm}^3$
8. 若女性個體符合下列準則，則其有資格參加研究：
- 沒有懷孕或哺乳
  - 有生育可能性的女性(經定義為未以手術不育或未超過52歲且未停經至少12個月的女性)必須在整個研究持續期間利用適當的生育控制。可使用之可接受的方法為禁慾、避孕藥丸(「避孕藥丸(The Pill)」)或貼片、子宮帽、IUD(線圈)、陰道環、保險套、手術絕育或助孕素植入或注射，或僅限於不孕(例如輸精管切除術)男性伴侶之性活動
9. 男性參與者同意自入選至研究藥物的最後一劑後30天始終地且正確地使用保險套與上述生育控制方法中之一者組合
10. 參與者能夠遵守給藥且能夠完成評定的研究時程

## 結果

25HC3S在所有三個劑量下皆具有良好的耐受性，未觀察到與藥物有關的嚴重不良事件。在重複給藥後的PK參數與單次劑量後的PK參數是可相比的且具有劑量依賴性。

低及高劑量組分別顯示自基線以-16%及-17%之統計學顯著的中位數降低之血清ALT含量。高劑量組亦顯示自基線之統計學顯著的中位數降低之血清AST (-18%)和GGT (-8%)含量以及FIB-4 (-15%)和APRI (-26%)計分。低劑量組在第28天具有自基線之統計學顯著降低之肝硬度，如以肝纖維化掃描®(Fibroscan®)所測量(-10%)。

在低及中劑量組的患者亦在第28天具有自基線之統計學顯著的中位數降低之血清三酸甘油酯(-13%，在50mg組中)或LDL-C (-11%，在150mg組中)。在跨所有的劑量組中，具有升高的基線三酸甘油酯( $\geq 200\text{mg/dL}$ ； $n=16$ )的患者在第28天具有自基線以-24% ( $p < 0.01$ )之中位數降低。

在各劑量組中，在經歷MRI-PDFF的患者中之43%在給藥4週後顯示自基線降低 $\geq 10\%$ 之肝脂肪，如以MRI-PDFF所測量。在各亞組中的該等患者之肝脂肪自基線分別以-18%、-19%和-23%之中位數降低為統計學顯著的。各劑量組之肝脂肪含量的降低亦伴隨著血清ALT含量的顯著降低。各亞組顯示自基線分別以-21%、-19%和-32%之統計學顯著的中位數降低之血清ALT含量。

在跨所有的劑量組中，具有升高的基線三酸甘油酯( $\geq 200\text{mg/dL}$ ； $n=16$ )的患者在第28天具有自基線降低24% ( $p < 0.01$ )之血清三酸甘油酯。

在以PDFF而具有 $\geq 10\%$ 之肝脂肪降低的患者中之43%中，以低和高劑量的25HC3S兩者治療4週的患者亦具有統計學顯著的中位數降低之AST (-24%和-39%)、FIB-4計分 (-19%和-21%)及APRI計分 (-27%和-36%)，而以低劑量治療的患者亦具有統計學顯著的中位數降低之GGT (-13%)含量。

另外，在所有3個劑量組中，在以PDFF而具有 $\geq 10\%$ 之肝脂肪降低的43%之患者中如以肝纖維化掃描®(Fibroscan®)所測量有趨向或統計學顯著降低的肝硬度(分別為-7%、-9%和-9%)。

將結果進一步總結在下表中：

頂線數據結論(第 28 天相對於基線)

關於以下所有的表格，\*表示 $p$ 值 $<0.05$ ；\*\*表示 $p < 0.01$ ；

\*\*\*表示 $p < 0.001$

| 中位數       | 50 mg QD<br>(n=21至23) | 150 mg QD<br>(n=20至21) | 300 mg BID<br>(n=20至21) |
|-----------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| ALT       | -16%*<br>(n=22)       | -10%<br>(n=20)         | -17%***<br>(n=20)       |
| AST       | -14%<br>(n=22)        | -9%<br>(n=20)          | -18%**<br>(n=20)        |
| GGT       | -6%<br>(n=23)         | -1%<br>(n=20)          | -8%*<br>(n=21)          |
| LDL-C     | -6%<br>(n=22)         | -11%*<br>(n=20)        | -7%<br>(n=21)           |
| Non-HDL-C | -8%<br>(n=23)         | -5%<br>(n=20)          | -1%<br>(n=21)           |
| 三酸甘油酯     | -13%*<br>(n=23)       | -3%<br>(n=20)          | -2%<br>(n=21)           |
| 血小板       | +2%<br>(n=22)         | +4%<br>(n=20)          | +7%*<br>(n=19)          |
| CK18, M30 | -14.6%                | -8.6%                  | -16.1%                  |
| CK18, M65 | -18.1%                | -9.9%                  | -35.0%                  |

ALT=丙胺酸轉胺酶；AST=天門冬胺酸轉胺酶；GGT=γ-麩胺醯基轉移酶；LDL-C(低密度脂蛋白-膽固醇)；Non-HDL-C(排除高密度脂蛋白-膽固醇之總膽固醇)；QD(一天一次)；BID(一天兩次)

| 非侵入性纖維變性計分 |          |           |            |
|------------|----------|-----------|------------|
| 中位數        | 50 mg QD | 150 mg QD | 300 mg BID |
| FIB-4      | -6%      | -4%       | -15%**     |
| APRI       | -14%     | -7%       | -26%***    |

FIB 4計分為基於患者年齡、血小板計數、AST和ALT值的非侵入性肝纖維變性評定。  
APRI (天門冬胺酸轉胺酶對血小板之比率指數)為用於測量肝纖維變性及依次測量肝硬化水平之許多不同種類的試驗之一。

| 非侵入性造影          |                  |               |               |
|-----------------|------------------|---------------|---------------|
| 中位數             | 50 mg QD         | 150 mg QD     | 300 mg BID    |
| <b>MRI-PDFF</b> | -7%<br>(n=21)    | -7%<br>(n=21) | -4%<br>(n=21) |
| 肝纖維化掃描          | -10%**<br>(n=22) | -9%<br>(n=20) | -1%<br>(n=21) |

MRI-PDFF為磁共振造影-質子密度脂肪分數，其為非侵入性測量由脂肪組成之肝組織的比例。

肝纖維化掃描®(Fibroscan®)為測量肝組織硬度之專用超音波機器。

下表顯示在具有≥10%之MRI-PDFF降低的患者中以第28天相對於基線的數據

| 臨床化學<br>具有≥ 10%之MRI-PDFF降低的患者 |                   |                    |                     |
|-------------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| 中位數                           | 50 mg QD<br>(n=9) | 150 mg QD<br>(n=8) | 300 mg BID<br>(n=9) |
| <b>ALT</b>                    | -21%**            | -19%*              | -32%***             |
| <b>AST</b>                    | -24%**            | -21%               | -39%***             |
| <b>GGT</b>                    | -13%***           | -16%*              | -14%                |
| <b>LDL-C</b>                  | -7%               | -11%               | -8%*                |
| <b>Non-HDL-C</b>              | -10%              | -8%*               | -12%*               |
| 三酸甘油酯                         | -9%               | 0%                 | -8%                 |
| 血小板                           | +6%*              | -2%                | +2%                 |
| <b>CK18, M30</b>              | -22.8%***         | -3.8%              | -42.1%*             |
| <b>CK18, M65</b>              | -28.1%***         | -8.7%              | -55.8%*             |

| 非侵入性纖維變性計分            |          |           |            |
|-----------------------|----------|-----------|------------|
| 具有≥ 10%之MRI-PDFF降低的患者 |          |           |            |
| 中位數                   | 50 mg QD | 150 mg QD | 300 mg BID |
| FIB-4                 | -19%**   | -6%       | -21%***    |
| APRI                  | -27%***  | -16%      | -36%***    |

| 非侵入性造影                |                   |                    |                     |
|-----------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| 具有≥ 10%之MRI-PDFF降低的患者 |                   |                    |                     |
| 中位數                   | 50 mg QD<br>(n=9) | 150 mg QD<br>(n=9) | 300 mg BID<br>(n=9) |
| MRI-PDFF              | -18%***           | -19%***            | -23%***             |
| 肝纖維化掃描                | -7%               | -9%**              | -9%                 |

| 生物標誌物                     |          |           |            |
|---------------------------|----------|-----------|------------|
| 在給藥結束時自基線之變化% (在第28天的中位數) |          |           |            |
| 生物標誌物                     | 50 mg QD | 150 mg QD | 300 mg BID |
| 細胞角蛋白 18, M30             | -14.6    | -8.6      | -16.1      |
| 細胞角蛋白 18, M65             | -18.1    | -9.9      | -35.0      |
| C反應性蛋白                    | -13.9    | -11.8     | 1.7        |
| 血漿蛋白原活化因子<br>抑制物-1        | -13.5    | -13.7     | -8.2       |
| 介白素-1β                    | -0.1     | -0.6      | -0.2       |
| 介白素-6                     | -6.0     | 1.7       | 5.4        |
| 介白素-12                    | 0.0      | 0.0       | 0.0        |
| 介白素-17                    | -1.3     | -16.4     | -0.8       |
| 介白素-18                    | -8.9     | -5.0      | -2.1       |
| 腫瘤壞死因子                    | -3.2     | -2.9      | -7.9       |
| 膽汁酸                       | 0.0      | 0.0       | 1.6        |
| 脂聯素                       | -1.6     | -3.8      | 3.9        |
| 脂聯素，HMW                   | 0.0      | 1.0       | 1.0        |

藥物動力學

測定所投予之 25HC3S 的藥物動力學。將平均(標準偏差)藥物動力學參數總結於圖 1 及下表中。

藥物動力學參數參考

以下的 PK 參數係自血漿濃度數據對 25HC3S 進行評估。

|                |                                                                            |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------|
| $C_{max}$      | 觀察到的 25HC3S 之最大血漿濃度                                                        |
| $T_{max}$      | $C_{max}$ 之時間 (觀察到的時間點)                                                    |
| $C_{last}$     | 最後觀察到的血漿中可量化的 25HC3S 濃度                                                    |
| $T_{last}$     | $C_{last}$ 之最後觀察到的時間點                                                      |
| $AUC_{0-12}$   | 自時間 0 至劑量後 12 h 之血漿濃度對時間曲線下的面積。以線性 / 對數梯形法則計算。                             |
| $AUC_{0-last}$ | 自時間 0 至大於定量極限的最後測量濃度之血漿濃度對時間曲線下的面積 (線性 / 對數梯形法則)。                          |
| $C_{min}$      | 觀察到的 25HC3S 之最小濃度                                                          |
| $T_{last}$     | $C_{last}$ 之最後 (觀察到的時間點)                                                   |
| $AUC_{inf}$    | 外推至無限時間之濃度對時間曲線下的面積 (線性 / 對數梯形法則)，以 $AUC_{0-last} + (C_{last}/\lambda)$ 計算 |
| $\%AUC_{exp}$  | 在 $AUC_{0-last}$ 與 $AUC_{inf}$ 之間外推的 AUC 之百分比                              |
| $T_{1/2}$      | 在血漿中的藥物之末端排除半生期的估計值，其係藉由 2 的自然對數除以末端排除速率常數 ( $\lambda$ ) 來計算               |
| $\lambda$      | 與血漿濃度對時間曲線之末端對數線性部分相關聯的一級速率常數。                                             |
| $CL/F$         | 在投予藥物後的擬清除率： $CL = \text{劑量} / AUC_{inf}$ ，其中「劑量」為藥物劑量。                    |

$V_z/F$  25HC3S之擬分布體積。

| 藥物動力學                                |                    |                     |                      |
|--------------------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|
| 參數                                   | 50 mg QD<br>(n=22) | 150 mg QD<br>(n=21) | 300 mg BID<br>(n=21) |
| <b>C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>       | 79.1 (45.1)        | 273.5 (187.7)       | 429.7 (167.7)        |
| <b>T<sub>max</sub> (h)</b>           | 2.4 (1.0)          | 2.0 (0.9)           | 2.3 (2.4)            |
| <b>T<sub>1/2</sub> (h)</b>           | 2.7 (1.4)          | 2.7 (1.4)           | 2.4 (1.0)            |
| <b>AUC<sub>(0-T)</sub> (ng*h/mL)</b> | 339.9 (113.9)      | 1038.7 (542.5)      | 2138.1 (1014.9)      |
| <b>CL/F (L/h)</b>                    | 150.6 (51.5)       | 176.6 (80.5)        | 166.2 (60.4)         |
| <b>V<sub>z</sub>/F (L)</b>           | 582.8 (338.2)      | 669.1 (410.6)       | 567.7 (297.1)        |
| 代謝物/藥物比率                             | 0.04 (0.04)        | 0.11 (0.03)         | 0.12 (0.04)          |

一些個體在研究前及研究期間接受斯他汀(阿托伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀或辛伐斯他汀)。接受25HC3S及斯他汀兩者的個體在給藥後第28天具有降低的三酸甘油酯及non-HDL，如下表中所示：

| 患者                                | 平均TG<br>至基線<br>平均值 | 平均Non-<br>HDL至基<br>線平均值 | 中位數<br>TG至基<br>線平均值 | 中位數<br>Non-HDL<br>至基線平均值 |
|-----------------------------------|--------------------|-------------------------|---------------------|--------------------------|
| 全部服用斯他汀<br>(n = 20)               | -2%                | -9%                     | -6%                 | -9%                      |
| 全部服用斯他汀<br>，除了一個離群<br>值以外(n = 19) | -10%               | -11%                    | -9%                 | -10%                     |

結 論

本發明實施例顯示低劑量與較高劑量相比而導致肝脂肪降低(例如如以MRI-PDFF所測量)。本發明實施例顯示中劑量導致改善的低密度脂蛋白膽固醇(LDL-C)含量。本發明實施例顯示高劑量導致改善的酵素含量(例如ALT、AST、GGT)，示意改善的肝功能。

## 實施例 2

### 綜述

本發明實施例為對患有 NASH 的個體及對照的健康個體所投予之 25HC3S 的隨機、劑量範圍、單一劑量安全性及藥物動力學研究。此研究係在 2 個連續的分組中進行以評估經口 25HC3S 的 2 個單一劑量水平。每一分組入選 10 位患有 NASH 的個體，其進一步分類成肝硬化和非肝硬化。每一個體僅接受一個研究治療劑量。第二分組係在審查分組 1 的安全性及耐受性數據後給藥。分組 1 接受 50mg 之 25HC3S 鈉及分組 2 接受 200mg 之 25HC3S 鈉。

### 結果

將 25HC3S 之藥物動力學 (PK) 血漿濃度總結於以下表 2.1 (50mg 劑量) 及表 2.2 (200mg 劑量) 中。分組 1 的健康個體以劑量後最多 12 小時及分組 2 的健康個體以劑量後最多 16 小時可檢測到血漿 25HC3S 含量 (表 2.1)。在投予 50mg 之 25HC3S 後 (圖 2) 及 200mg 之 25HC3S 後 (圖 3)，健康個體及 NASH 個體兩者的血漿輪廓類似。對健康個體的劑量增加四倍導致平均  $C_{max}$  增加約三倍 (50mg 劑量： $93.967 \pm 27.343$  ng/mL 及 200mg 劑量： $260.500 \pm 54.779$  ng/mL)。這亦於 AUC 參數觀察到 (表 2.1 和 2.2)。同樣地，對 NASH 個體的劑量增加四倍亦表現於  $C_{max}$  及 AUC 參數兩者增加約三倍 (表 2.1 和 2.2)。具有低的平均 %  $AUC_{exp}$ ，示意採血時程足以擷取大部分有可能進行計算的 AUC。

個別的血漿疊圖表明儘管健康個體 (n=6) 及 NASH 個體 (n=10) 的個體數目不同，但是 NASH 個體對  $C_{max}$  及 AUC 參數傾向表現出更大的變異性。在 NASH 個體中，分組 1 和 2 的  $C_{max}$  幾何平均值比健康個體增加 18 至 24%，其伴隨使 NASH 個體的 CV% 幾何平均值高 25 至 50% (表 2.1)。在分組 1 中的 NASH 與健康個體之間的  $AUC_{0-12}$  及  $AUC_{0-last}$  幾何平均值類似，但是傾向比分組 2 高約 30%，其中 % CV 在 NASH 個體中高 50%。 $AUC_{0-inf}$  (分組 2) 在 NASH 個體中高約 20%。因此，當考慮較高的 % CV 時，則結論出健康個體與 NASH 個體之間在  $C_{max}$  及 AUC 方面沒有明顯的差異 (表 2.1)。

表2.1：分組1 (50 mg之25HC3S鈉)：藥物動力學參數

| 健康狀態 | 個體數目      | $T_{1/2}$<br>(h) | $T_{max}$<br>(h) | $C_{max}$<br>(ng/mL) | $AUC_{0-12}$<br>(h*ng/mL) | $AUC_{0-last}$<br>(h*ng/mL) | $AUC_{inf}$<br>(h*ng/mL) | $V_z/F$<br>(L) | $CL/F$<br>(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           |
|      | 幾何平均值     | 1.889            | 2.834            | 90.946               | 496.7                     | 450.0                       | 423.3                    | 321.95         | 118.11          |
|      | CV% 幾何平均值 | 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           |
|      | 幾何平均值     | 1.670            | 2.305            | 107.627              | 597.8                     | 476.1                       | 608.3                    | 198.01         | 82.19           |
|      | CV% 幾何平均值 | 8.03             | 29.81            | 35.26                | 31.66                     | 42.20                       | 32.82                    | 27.09          | 32.82           |

表2.2：分組1 (200 mg之25HC3S鈉)：藥物動力學參數

| 健康<br>狀態 | 個體數目             | T <sub>1/2</sub><br>(h) | T <sub>max</sub><br>(h) | C <sub>max</sub><br>(ng/mL) | AUC <sub>0-12</sub><br>(h*ng/mL) | AUC <sub>0-last</sub><br>(h*ng/mL) | AUC <sub>inf</sub><br>(h*ng/mL) | V <sub>z</sub> /F<br>(L) | CL/F<br>(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         |
|          | 幾何<br>平均值        | 1.719                   | 2.528                   | 255.698                     | 1162.8                           | 1172.5                             | 1181.2                          | 419.93                   | 169.32        |
|          | CV%<br>幾何<br>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         |
|          | 幾何<br>平均值        | 2.196                   | 2.647                   | 318.582                     | 1495.2                           | 1539.2                             | 1411.8                          | 448.71                   | 141.66        |
|          | CV%<br>幾何<br>平均值 | 53.22                   | 51.05                   | 32.61                       | 25.82                            | 24.23                              | 16.28                           | 62.39                    | 16.28         |

在給藥前及後以瞬時彈性造影(TE)及磁共振彈性造影(MRE)所測量之肝硬度在50mg組中改變-11% (TE)或-6% (MRE)、在150mg組中改變-7% (TE)或4% (MRE)及在600mg組中改變-2% (TE)或0% (MRE)。

在4週給藥結束時，在投予50mg、150mg和600mg之組中的pro-C3，肝纖維變性標誌物之血漿含量係自基線分別降低-8%、-1%和-5%。在劑量後2週隨訪，在投予50mg、150mg和600mg之組中的pro-C3含量係自基線分別為-7%、8%和1%。

在25HC3S治療4週後，以用於胰島素抗性之穩態模式評定(HOMA-IR)亦觀察到總體改善的胰島素抗性。在給藥結束時，在投予50mg、150mg和600mg之組中的HOMA-IR係自基線分別為-22%、-18%和1%。在劑量後2週隨訪，在投予50mg之組中的HOMA-IR係自基線為-10%，及在投予150mg和600mg之組中的HOMA-IR係自基線分別為17%和

3%。

## 結論

此報告呈現在以劑量 50mg(分組 1)至 200mg(分組 2)之 25HC3S 經口投予正常的健康個體及 NASH 個體後的藥物動力學。在分組 2 中的健康個體提供足夠的數據，能夠測定出  $171.25 \pm 28.60$  L/h 之 CL/F 及  $434.05 \pm 128.07$  L 之  $V_z/F$ 。此係以跨健康個體及 NASH 個體兩組中維持相對恆定之  $T_{1/2}$  結果支持，其具有範圍介於 1.674 小時至 2.511 小時之平均值。AUC<sub>0-last</sub> 及 AUC<sub>inf</sub> 在分組內為一致的且趨向與  $C_{max}$  一起隨著增加的 25HC3S 劑量而以不成比例的方式增加。

以 NASH 個體觀察到增加 18 至 24% 之  $C_{max}$  (幾何平均值)，超越健康個體。然而，以 NASH 個體更大的 CV% 幾何平均值使得此觀察無定論。同樣地，當考慮暴露量 (AUC 參數) 時，NASH 個體之潛在增加的趨勢 (高達 31%) 被更高的 CV% 幾何平均值抵消。因此，總結出無論是將 25HC3S 投予健康個體或 NASH 患者，皆沒有明顯的藥物動力學差異。

## 實施例 3

### 目標

本研究的目標為測定在雄性 Sprague Dawley 大鼠中經 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 衍生之放射性的血漿藥物動力學、測定在雄性 Sprague Dawley 大鼠中經 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 衍生之放射

性的排除途徑和排泄質量平衡、在單一靜脈內(推注)劑量後使用定量性全身自動放射照像方法測定在雄性 Sprague Dawley 和 Long Evans 大鼠中經 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 衍生之放射性的組織分布和組織藥物動力學、及提供用於經 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 衍生之放射性的代謝物剖析的血漿、尿液和糞便勻質樣品。

## 研究設計

九隻雄性 Sprague Dawley 大鼠(第1組)被指定用於藥物動力學階段，3隻雄性 Sprague Dawley 大鼠(第2組)被指定用於排泄質量平衡階段，及7隻雄性 Sprague Dawley 大鼠(第3組)與9隻雄性 Long Evans 大鼠(第4組)被指定用於組織分布階段。所有的動物接受 10mg/kg 之 [<sup>14</sup>C]-25HC3S 的單一靜脈內劑量及 225 μCi/kg 之標的放射性。在劑量後約 0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、48 和 72 小時收集來自所有第1組動物的血液樣品。在劑量後 168 小時內定期收集來自所有第2組動物的尿液和糞便。第3組在劑量後約 0.083、0.5、1、4、8、24 和 168 小時與第4組在劑量後約 0.083、0.5、1、4、8、24、168、336 和 504 小時，將 1 隻動物/組/時間點以異氟醚(isoflurane)麻醉且收集血液樣品。在血液收集後，將動物以吸入 CO<sub>2</sub> 安樂死且將屍體冷凍在乾冰/己烷浴中，以定量性全身自動放射照像術處理。將全血、血漿、尿液、糞便、籠沖洗液和洗籠液以液體閃爍計數進行總放射性分析。

## 結果及關鍵發現

在以 10mg/kg 之 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 的單一靜脈內(推注)劑量投予大鼠後，平均血漿  $C_0$  為 25,900 ng-equiv./g 及  $AUC_{last}$  為 27,900 h\*ng-equiv./g。末端排除階段  $T_{1/2}$  為 26.6 小時。

基於排泄數據，在以 10mg/kg 之 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 的單一靜脈內(推注)劑量後 168 小時內自大鼠的尿液、糞便和籠子沖洗液回收所投予之劑量的約 100.2%。大部分回收之放射性係在糞便中 (83.0%)，表明膽汁排泄為大鼠中的主要排泄途徑。

在對第 3 組的雄性 Sprague Dawley 大鼠以 10mg/kg 之 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 的單一靜脈內(推注)劑量後，[4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 及/或其代謝物廣泛地分布於除了眼睛(水晶體)以外的所有組織中且以定量性全身自動放射照像術檢測。血漿濃度類似於藥物動力學階段所測定的那些濃度。全血  $C_{max}$  為 8530 ng-equiv/g 及  $AUC_{last}$  為 25,200 h\*ng-equiv./g。可忽略血漿與全血暴露量的差異，如以 0.79 之血漿：全血的  $AUC_{last}$  比率所測量，表明 25HC3S 平均地分配至血漿及血細胞中。 $T_{1/2}$  在血漿中為 44.3 小時及在血細胞中為 52.2 小時；在 PK 階段與 QWBA 階段之間的血漿  $T_{1/2}$  差異係由於血液收集時間點的差異。

經 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 衍生之放射性的  $C_{max}$  及  $AUC_{last}$  係在肝中最高，分別高達 87,900 ng-equiv./g 及 364,000 h·ng/g。腎(所有切片)、小腸(壁)、肺及腎上腺濃度係範圍介於 43,200 ng-equiv./g 至 13,600 ng-equiv./g，比 12,400 ng-

equiv./g之最大血漿濃度高。胸腺、骨(股骨)、葡萄膜、脂肪、睪丸和腦的濃度相對於其他組織為最低： $< 5000 \text{ ng-equiv./g}$  (約 $1500 \text{ ng-equiv./g}$ )。其餘的組織具有介於 $5000$ 與 $10,800 \text{ ng-equiv./g}$ 之間的濃度。 $T_{\max}$ 最常為劑量後 $0.083$ 至 $0.5$ 小時。在劑量後 $168$ 小時，在除了腎上腺、哈得氏腺、肝和小腸以外的所有組織中之濃度係低於可定量極限。如使用 $AUC_{\text{last}}$ 所計算，肝和小腸(壁)的組織：血漿之比率分別為 $11.4$ 和 $7.44$ 之高比率。在靜脈內劑量後，肝和小腸的高濃度係與大量的膽汁(糞便)排泄一致。所有其他的組織：血漿之比率證明對其餘組織類型的親和性有限。

以 $10\text{mg/kg}$ 之 $[4-^{14}\text{C}]-25\text{HC3S}$ 的單一靜脈內劑量投予雄性Long Evans大鼠揭露在劑量後的前 $168$ 小時內之血漿或全血濃度相對於Sprague Dawley大鼠沒有顯著差異；在色素沉著之動物中於劑量後 $336$ 小時之血漿和全血中的血漿和全血濃度低於可定量極限。與色素沉著或非色素沉著之皮膚或葡萄膜的結合似乎沒有差異；所有組織在劑量後 $168$ 小時的濃度皆低於可定量極限。

分析來自大鼠的血漿、尿液和糞便以測定 $25\text{HC3S}$ 相關之放射性標記材料。樣品係使用具有放射檢測之高性能液相層析術剖析且代謝特徵係使用質譜術及串聯質譜術分析來執行。

血漿池係在 $0.083$ 、 $0.25$ 、 $0.5$ 和 $1$ 小時收集時間點自第1組大鼠製得。來自該等第1組的樣品池及第3組的 $0.083$ 小時血漿樣品中，在 $0.083$ 和 $0.25$ 小時收集液中存在的最大組

分係歸因於母體 25HC3S，代表約 58%至 92%之放射性。在 0.5 和 1 小時收集液中，以 >10%之放射性存在的三種代謝物為 M14(高達 15%之相對觀察強度)、M24(高達 13%之相對觀察強度)及 M28(高達 83%之相對觀察強度)。在具有適合於代謝物剖析及特徵化的放射性之時間點(劑量後最多 1 小時)中，對 25HC3S 相關放射性的約 54%之暴露量(AUC)可歸因於 25HC3S，約 34%可歸因於 M28，且其餘可歸因於少量代謝物。

尿液池係在劑量後 0 至 6 及 6 至 12 小時以第 2 組製得。存在的最大組分係歸因於母體 25HC3S，代表約 78%至 93%之放射性。共鑑定出 4 種代謝物，儘管在 >1.2%之劑量或 >10%之相對觀察強度下沒有代謝物存在。在至少 1 個樣品中以 < 10%之相對觀察強度存在的四種代謝物為 M7 (< 5%之相對觀察強度)、M16(< 3%之相對觀察強度)、M19 (< 6%之相對觀察強度)及 M25 (< 5%之相對觀察強度)。

糞便池係在劑量後 0 至 12、12 至 24 及 24 至 48 小時以第 2 組製得。

共鑑定出十四種代謝物。以  $\geq 5\%$  之劑量存在的四種代謝物為 M1 (21%之劑量及 23%至 30%之相對觀察強度)、M2 (7%之劑量及 4%至 12%之相對觀察強度)、M3 (15%之劑量及 13%至 23%之相對觀察強度)及 M4 (8%之劑量及 6%至 12%之相對觀察強度)。母體 25HC3S 係以 2%之劑量存在(1%至 5%之相對觀察強度)。

主要的代謝路徑涉及 25HC3S 之氧化，導致硫酸酯基

團轉化成羥基，隨後進一步氧化以形成與去氧膽酸和膽酸或其異構物有關的膽汁酸結構。另外，去氧膽酸(或去氧膽酸的異構物)之麩胱甘肽共軛係以具有相應於該結構之分子量的代謝物存在而提出。在血漿、尿液或糞便樣品之任一者中既未檢測出硫酸鏈甾醇(desmosterol sulfate)，亦未檢測出25-羥基膽固醇。

#### 實施例 4

在以 75mg/kg 之 [ $^{14}\text{C}$ ]-25HC3S 的單一經口(胃管灌食法)劑量投予大鼠後，血漿  $C_{\max}$  為 3800 ng equiv./g 及  $\text{AUC}_{\text{last}}$  為 96,400 h·ng equiv./g。末端排除階段  $T_{1/2}$  為 27.3 小時。

基於排泄數據，在以 75mg/kg 之 [ $^{14}\text{C}$ ]-25HC3S 的單一經口(胃管灌食法)劑量後自大鼠的尿液、糞便和籠子沖洗液回收所投予之劑量的約 94.5%。大部分回收之放射性係在糞便中(94.2%)，表明膽汁排泄為大鼠中的經吸收之 25HC3S 的主要排泄途徑。

在以 75mg/kg 之 [ $^{14}\text{C}$ ]-25HC3S 的單一經口(胃管灌食法)劑量投予雄性 Sprague Dawley 大鼠後，[ $^{14}\text{C}$ ]-25HC3S 及/或其代謝物廣泛地分布於除了眼睛(水晶體)以外的所有組織中且以定量性全身自動放射照像術檢測。未於眼睛(水晶體)中檢測出經 [ $^{14}\text{C}$ ]-25HC3S 衍生之放射性。血漿濃度類似於藥物動力學階段所測定的那些濃度且大於可定量下限。全血  $C_{\max}$  為 2850 ng equiv/g 及  $\text{AUC}_{\text{last}}$  為 127,000 h·ng equiv./g。可忽略血漿與全血暴露量的差異，如以 1.12 之血

漿：全血的  $AUC_{last}$  比率所測量，表明 25HC3S 平均地分配至血漿及血細胞中。

關於以定量性全身自動放射照像術分析之組織，在可測量的情況下，經  $[4-^{14}C]$ -25HC3S 衍生之放射性的  $C_{max}$  係在小腸(壁)中最高，隨後為胃(壁)：分別為 424,000 ng equiv./g 及 204,000 ng equiv./g。胰臟及肝濃度係範圍介於 23,500 ng equiv./g 至 28,100 ng equiv./g。葡萄膜及腦濃度相對於其他組織為最低且為約 1000 ng equiv./g。皮膚、胸腺、前列腺和腦下垂體組織濃度為 <3000 ng equiv./g。其餘組織具有介於 3600 ng-equiv./g 與 10,700 ng equiv./g 之間的濃度。 $T_{max}$  為劑量後 6 小時或更短。在劑量後 168 小時，在除了腎上腺和肝以外的所有組織中之組織濃度係接近或低於可定量極限。如使用  $AUC_{last}$  所計算，組織：血漿之比率係以小腸(壁，15.4)最高，隨後為肝和腎上腺，分別為 6.96 和 6.64。肝和小腸的高濃度係與經口投予及膽汁(糞便)排泄一致。所有其他的組織：血漿之比率證明對其餘組織類型的親和性有限。

在血漿及糞便提取物中的經放射性標記之組分係使用放射性高性能液相層析術(HPLC)及高性能液相層析術/質譜術(HPLC/MS)方法剖析及鑑定。

沒有含有需要代謝物剖析及鑑定之足夠放射性的尿液樣品。

血漿池係在劑量後 2、4 和 6 小時收集之第 1 組(75mg/kg， $[^{14}C]$ -25HC3S)樣品製得。在劑量後 2 小時的血漿中，主要

的經放射性標記之組分為母體 25HC3S，其係以 63% 之相對觀察強度 (ROI) 及 2090 ng-equiv./g 之濃度存在。一種代謝物 M29 經鑑定為具有 37% 之 ROI 及 1233 ng-equiv./g 之濃度的 25-羥基膽固醇。在劑量後 4 和 6 小時的血漿收集液不含足有以進行放射性剖析之濃度。

糞便池係在劑量後 0 至 24、24 至 48、48 至 72、72 至 96、96 至 120、120 至 144 和 144 至 168 小時收集之第 2 組 (75mg/kg, [ $^{14}\text{C}$ ]-25HC3S) 樣品製得。共鑑定 11 種代謝物。沒有任一代謝物以  $\geq 5\%$  之劑量存在。以 2 至 5% 之劑量存在的代謝物為 M1 (4.5% 之總劑量及 1% 至 69% 之 ROI)、M3 (4.6% 之總劑量及 1% 至 44% 之 ROI)、M4 (2.0% 之總劑量及 0% 至 10% 之 ROI)、M8 (3.1% 之總劑量及 1% 至 46% 之 ROI)、M29 (1.9% 之總劑量及 0% 至 2% 之 ROI) 及 M30 (3.3% 之總劑量及 0% 至 5% 之 ROI)。主要的經放射性標記之組分為母體 25HC3S，其以 71.1% 之總劑量 (0% 至 88% 之 ROI) 存在。

未在血漿或糞便樣品之任一者中發現經放射性標記之硫酸鏈甾醇。

主要的代謝路徑涉及 25HC3S 之氧化，導致硫酸酯基團轉化成羥基，隨後進一步氧化以形成與去氧膽酸和膽酸或其異構物及 25-羥基膽固醇有關的膽汁酸結構。

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法，該方法包含對該個體經口投予範圍介於1mg/天至100mg/天的量之5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽。

【請求項2】一種降低患有非酒精性脂肪肝炎(NASH)的人類個體之血清丙胺酸轉胺酶(ALT)含量之方法，其包含對該個體經口投予範圍介於1mg/天至100mg/天的量之5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽。

【請求項3】一種降低患有非酒精性脂肪肝炎(NASH)的人類個體之肝硬度之方法，其包含對該個體經口投予範圍介於1mg/天至100mg/天的量之5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽。

【請求項4】一種降低患有非酒精性脂肪肝炎(NASH)的人類個體之血清三酸甘油酯之方法，其包含對該個體經口投予範圍介於1mg/天至100mg/天的量之5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽。

【請求項5】一種降低患有非酒精性脂肪肝炎(NASH)及在治療前具有三酸甘油酯 $\geq 200\text{mg/dL}$ 的人類個體之血清三酸甘油酯之方法，其包含對該個體經口投予範圍介於1mg/天至100mg/天的量之5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽。

【請求項6】如請求項1至5中任一項之方法，其中該經口投予包含經口投予範圍介於約10mg/天至約80mg/天之

25HC3S或其鹽。

【請求項7】如請求項1至5中任一項之方法，其中該經口投予包含經口投予範圍介於約30mg/天至約70mg/天之25HC3S或其鹽。

【請求項8】如請求項1至7中任一項之方法，其中經口投予該個體之25HC3S或其鹽以每kg計的總量係範圍介於約0.1mg/kg/天至約5mg/kg/天。

【請求項9】如請求項8之方法，其中以每kg計的該總量係範圍介於約0.2mg/kg/天至約4mg/kg/天。

【請求項10】如請求項8之方法，其中以每kg計的該總量係範圍介於約0.3mg/kg/天至約3mg/kg/天。

【請求項11】如請求項8之方法，其中以每kg計的該總量係範圍介於約0.4mg/kg/天至約2mg/kg/天。

【請求項12】如請求項1至11中任一項之方法，其中該經口投予包含經口投予25HC3S或其鹽的複數個劑量。

【請求項13】如請求項12之方法，其中該劑量係以範圍介於每週一次至一天三次的頻率經口投予。

【請求項14】如請求項13之方法，其中該劑量係以一天一次經口投予。

【請求項15】如請求項13之方法，其中該劑量係以一天兩次經口投予。

【請求項16】如請求項12至15中任一項之方法，其中該經口投予包含經口投予至少7天的給藥期，諸如至少14天、至少28天、至少3個月、至少6個月或至少1年的給藥

期。

【請求項 17】如請求項 1 至 16 中任一項之方法，其中該 25HC3S 或其鹽係以包含該 25HC3S 或其鹽及醫藥上可接受的載劑之調配物經口投予。

【請求項 18】如請求項 1 至 17 中任一項之方法，其中該 25HC3S 或其鹽包含 25HC3S 的鹽。

【請求項 19】如請求項 18 之方法，其中該 25HC3S 的鹽為鈉鹽。

【請求項 20】如請求項 1 至 19 中任一項之方法，其中該人類個體在治療前具有至少 5% 之磁共振造影質子密度脂肪分數 (MRI-PDFF)。

【請求項 21】如請求項 1 至 20 中任一項之方法，其中該人類個體在治療前具有  $\geq 2.75$  kPa 之磁共振彈性造影 (MRE)。

【請求項 22】如請求項 1 至 21 中任一項之方法，其中該個體在投予後於血漿中展現範圍介於約 1 小時至約 5 小時或約 1.5 小時至約 4 小時之 25HC3S 的半生期 ( $T_{1/2}$ )。

【請求項 23】如請求項 1 至 22 中任一項之方法，其中該個體展現範圍介於約 25ng/mL 至約 200ng/mL、約 50 ng/mL 至約 150ng/mL 或約 75ng/mL 至約 125ng/mL 之 25HC3S 的  $C_{max}$ 。

【請求項 24】如請求項 1 至 23 中任一項之方法，其中該個體對每 100mg 經口投予之 25HC3S 或其鹽展現範圍介於約 100ng/mL 至約 300ng/mL、約 120ng/mL 至約 250ng/mL 或

約 150ng/mL 至約 200ng/mL 之 25HC3S 的  $C_{max}$ 。

【請求項 25】如請求項 1 至 24 中任一項之方法，其中該個體展現範圍介於約 300ng\*h/mL 至約 1000ng\*h/mL、約 400ng\*h/mL 至約 900ng\*h/mL 或約 500ng\*h/mL 至約 800ng\*h/mL 之 25HC3S 的  $AUC_{inf}$ 。

【請求項 26】如請求項 1 至 25 中任一項之方法，其中該個體對每 100mg 經口投予之 25HC3S 或其鹽展現範圍介於約 600ng\*h/mL 至約 1000ng\*h/mL、約 700ng\*h/mL 至約 900ng\*h/mL 或約 800ng\*h/mL 至約 900ng\*h/mL 之 25HC3S 的  $AUC_{inf}$ 。

【請求項 27】如請求項 1 至 26 中任一項之方法，其中該個體展現範圍介於約 300L 至約 1000L、約 400L 至約 900 L 或約 500L 至約 800L 之 25HC3S 的擬分布體積 ( $V_z/F$ )。

【請求項 28】如請求項 1 至 27 中任一項之方法，其中該個體展現範圍介於約 100 L/h 至約 200 L/h、約 110 L/h 至約 180 L/h 或約 120 L/h 至約 160 L/h 之 25HC3S 的擬清除率 ( $CL/F$ )。

【請求項 29】如請求項 1 至 28 中任一項之方法，其中該個體正服用降血脂藥，諸如斯他汀 (statin)、非諾貝特 (fenofibrate)、 $\omega$ -3 脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯 (icosapent ethyl) 及魚油中至少一者，或該方法進一步包含對該個體投予降血脂藥，諸如斯他汀、非諾貝特、 $\omega$ -3 脂肪酸、二十碳五烯酸乙酯及魚油中至少一者。

【請求項 30】如請求項 1 至 29 中任一項之方法，其中

該個體正服用阿托伐斯他汀 (atorvastatin)、氟伐斯他汀 (fluvastatin)、洛伐斯他汀 (lovastatin)、匹伐斯他汀 (pitavastatin)、普伐斯他汀 (pravastatin)、羅蘇伐斯他汀 (rosuvastatin) 及辛伐斯他汀 (simvastatin) 中至少一者，或該方法進一步包含對該個體投予阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

【請求項 31】一種用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中的 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，其中該方法係如請求項 1 至 30 中任一項所定義。

【請求項 32】一種用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中的 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，該人類個體在治療前具有三酸甘油酯  $\geq 200\text{mg/dL}$ ，其中該方法係如請求項 1 至 30 中任一項所定義。

【請求項 33】一種 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽在用於製造藥劑之方法中之用途，該藥劑係用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中，其中該方法係如請求項 1 至 30 中任一項所定義。

【請求項 34】一種 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽在用於製造藥劑之方法中之用途，該藥劑係用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎

(NASH)之方法中，該人類個體在治療前具有三酸甘油酯 $\geq 200\text{mg/dL}$ ，其中該方法係如請求項1至30中任一項所定義。

【請求項35】一種用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法中的5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽，其中該人類個體正接受斯他汀療法。

【請求項36】如請求項35使用之5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽，其中該斯他汀療法包含投予阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

【請求項37】如請求項35或36使用之5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽，其中該方法為如請求項1至30中任一項所定義之方法，且視需要地其中該人類個體在治療前具有三酸甘油酯 $\geq 200\text{mg/dL}$ 。

【請求項38】一種用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法中的5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽，其係與至少一種斯他汀共同投予，視需要地其中該至少一種斯他汀包含阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

【請求項39】如請求項38使用之5-膽甾烯-3,25-二醇3-硫酸酯(25HC3S)或其鹽，其中在開始該方法前，該人類個體正接受斯他汀療法，且視需要地其中該斯他汀療法包

含投予在該方法中與該 25HC3S 或其鹽共同投予之相同的斯他汀或斯他汀類。

【請求項 40】如請求項 38 或 39 使用之 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽，其中該方法為如請求項 1 至 30 中任一項所定義之方法，且視需要地其中該人類個體在治療前具有三酸甘油酯  $\geq 200\text{mg/dL}$ 。

【請求項 41】一種 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽在用於製造藥劑之方法中之用途，該藥劑係用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中，其中該人類個體正接受斯他汀療法。

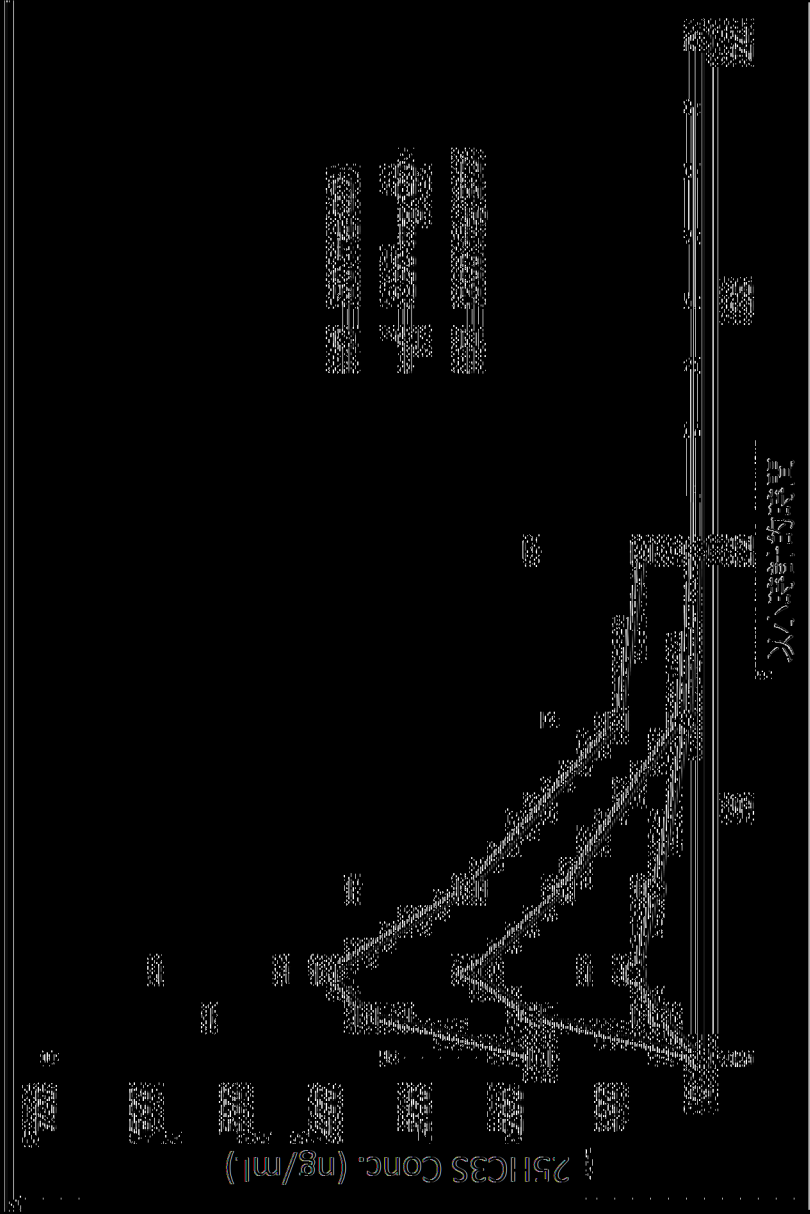
【請求項 42】如請求項 41 之用途，其中該斯他汀療法包含投予阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

【請求項 43】如請求項 41 或 42 之用途，其中該治療方法為如請求項 1 至 30 中任一項所定義之方法，且視需要地其中該人類個體在治療前具有三酸甘油酯  $\geq 200\text{mg/dL}$ 。

【請求項 44】一種 5-膽甾烯-3,25-二醇 3-硫酸酯 (25HC3S) 或其鹽在用於製造藥劑之方法中之用途，該藥劑係藉由與至少一種斯他汀共同投予而用於治療有其需要的人類個體之非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法中，視需要地其中該至少一種斯他汀包含阿托伐斯他汀、氟伐斯他汀、洛伐斯他汀、匹伐斯他汀、普伐斯他汀、羅蘇伐斯他汀及辛伐斯他汀中至少一者。

【請求項45】如請求項44之用途，其中在開始該方法前，該人類個體正接受斯他汀療法，且視需要地其中該斯他汀療法包含投予在該方法中與該 25HC3S或其鹽共同投予之相同的斯他汀或斯他汀類。

【請求項46】如請求項44或45之用途，其中該治療方法為如請求項1至30中任一項所定義之方法，且視需要地其中該人類個體在治療前具有三酸甘油酯 $\geq 200\text{mg/dL}$ 。



(圖 1)

