



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0015939  
(43) 공개일자 2023년01월31일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 31/575 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)  
A61P 1/16 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61K 31/575 (2013.01)  
A61K 45/06 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7043976
- (22) 출원일자(국제) 2021년05월21일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년12월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2021/033743
- (87) 국제공개번호 WO 2021/237143  
국제공개일자 2021년11월25일
- (30) 우선권주장  
63/029,361 2020년05월22일 미국(US)  
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인  
듀렉트 코퍼레이션  
미국 캘리포니아주 95014 쿠퍼티노 버브 로드 10260
- (72) 발명자  
린 웨이치  
미국 94062 캘리포니아주 에메랄드 힐즈 캘리포니아 웨이 590
- (74) 대리인  
특허법인코리아나

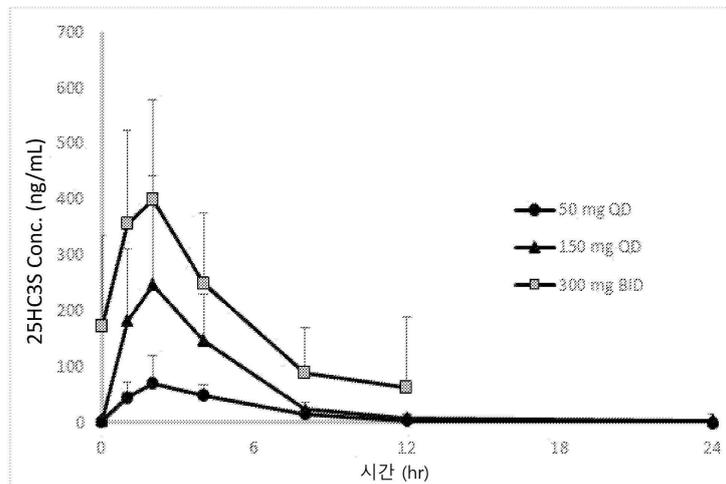
전체 청구항 수 : 총 46 항

(54) 발명의 명칭 비알콜성 지방간염 (NASH) 의 치료

(57) 요약

비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하기 위한 방법이 제공된다. 예를 들어, 방법은 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 그의 염을 투여하는 것을 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류

*A61P 1/16* (2018.01)  
*A61K 2300/00* (2013.01)

(30) 우선권주장

63/030,207	2020년05월26일	미국(US)
63/113,116	2020년11월12일	미국(US)
63/146,555	2021년02월05일	미국(US)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법으로서, 방법은 대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계를 포함하는 방법.

#### 청구항 2

대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계

를 포함하는, 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 가진 인간 대상체에서 혈청 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 수준을 저하시키는 방법.

#### 청구항 3

대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계

를 포함하는, 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 가진 인간 대상체에서 간 경직도를 저하시키는 방법.

#### 청구항 4

대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계

를 포함하는, 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 가진 인간 대상체에서 혈청 트리글리세라이드를 저하시키는 방법.

#### 청구항 5

대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계

를 포함하는, 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 갖고 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 인간 대상체에서 혈청 트리글리세라이드를 저하시키는 방법.

#### 청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 경구 투여가 약 10 mg/일 내지 약 80 mg/일 범위의 25HC3S 또는 이의 염을 경구 투여하는 것을 포함하는 방법.

#### 청구항 7

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 경구 투여가 약 30 mg/일 내지 약 70 mg/일 범위의 25HC3S 또는 이의 염을 경구 투여하는 것을 포함하는 방법.

#### 청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 경구 투여되는 25HC3S 또는 이의 염의 kg 당 총량은 약 0.1 mg/kg/일 내지 약 5 mg/kg/일 범위인 방법.

#### 청구항 9

제 8 항에 있어서, kg 당 총량은 약 0.2 mg/kg/일 내지 약 4 mg/kg/일 범위인 방법.

#### 청구항 10

제 8 항에 있어서, kg 당 총량은 약 0.3 mg/kg/일 내지 약 3 mg/kg/일 범위인 방법.

**청구항 11**

제 8 항에 있어서, kg 당 총량은 약 0.4 mg/kg/일 내지 약 2 mg/kg/일 범위인 방법.

**청구항 12**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 경구 투여가 복수의 투여량의 25HC3S 또는 이의 염을 경구 투여하는 것을 포함하는 방법.

**청구항 13**

제 12 항에 있어서, 투여량은 매주 1 회 내지 하루에 3 회 범위의 빈도로 경구 투여되는 방법.

**청구항 14**

제 13 항에 있어서, 투여량은 하루에 1 회 경구 투여되는 방법.

**청구항 15**

제 13 항에 있어서, 투여량은 하루에 2 회 경구 투여되는 방법.

**청구항 16**

제 12 항 내지 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 경구 투여가 적어도 7 일, 예컨대 적어도 14 일, 적어도 28 일, 적어도 3 개월, 적어도 6 개월, 또는 적어도 1 년의 투약 기간 동안 경구 투여하는 것을 포함하는 방법.

**청구항 17**

제 1 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서, 25HC3S 또는 이의 염은 25HC3S 또는 이의 염 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 제형으로 경구 투여되는 방법.

**청구항 18**

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, 25HC3S 또는 이의 염은 25HC3S 의 염을 포함하는 방법.

**청구항 19**

제 18 항에 있어서, 25HC3S 의 염이 나트륨 염인 방법.

**청구항 20**

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 대상체가 적어도 5% 의 치료 전 자기 공명 영상-양성자 밀도 지방 분획 (MRI-PDF) 을 갖는 방법.

**청구항 21**

제 1 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 대상체는  $\geq 2.75$  kPa 의 치료 전 자기 공명 탄성영상 (MRE) 을 갖는 방법.

**청구항 22**

제 1 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 약 1 시간 내지 약 5 시간 또는 약 1.5 시간 내지 약 4 시간 범위의 투여 후 혈장 중 25HC3S 의 반감기 ( $T_{1/2}$ ) 를 나타내는 방법.

**청구항 23**

제 1 항 내지 제 22 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 약 25 ng/mL 내지 약 200 ng/mL, 약 50 ng/mL 내지 약 150 ng/mL, 또는 약 75 ng/mL 내지 약 125 ng/mL 범위의 25HC3S 의  $C_{max}$  를 나타내는 방법.

**청구항 24**

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 경구 투여된 25HC3S 또는 이의 염의 100 mg 당, 약 100 ng/mL 내지 약 300 ng/mL, 약 120 ng/mL 내지 약 250 ng/mL, 또는 약 150 ng/mL 내지 약 200 ng/mL 범위의 25HC3S 의  $C_{max}$  를 나타내는 방법.

**청구항 25**

제 1 항 내지 제 24 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 약 300 ng\*h/mL 내지 약 1,000 ng\*h/mL, 약 400 ng\*h/mL 내지 약 900 ng\*h/mL, 또는 약 500 ng\*h/mL 내지 약 800 ng\*h/mL 범위의 25HC3S 의  $AUC_{inf}$  를 나타내는 방법.

**청구항 26**

제 1 항 내지 제 25 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 경구 투여된 25HC3S 또는 이의 염의 100 mg 당, 약 600 ng\*h/mL 내지 약 1000 ng\*h/mL, 약 700 ng\*h/mL 내지 약 900 ng\*h/mL, 또는 약 800 ng\*h/mL 내지 약 900 ng\*h/mL 범위의 25HC3S 의  $AUC_{inf}$  를 나타내는 방법.

**청구항 27**

제 1 항 내지 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 약 300 L 내지 약 1000 L, 약 400 L 내지 약 900 L, 또는 약 500 L 내지 약 800 L 범위의 25HC3S 의 겉보기 부피 분포 ( $V_z/F$ ) 를 나타내는 방법.

**청구항 28**

제 1 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 약 100 L 내지 약 200 L/h, 약 110 L/h 내지 약 180 L/h, 또는 약 120 L/h 내지 약 160 L/h 범위의 25HC3S 의 겉보기 제거율 ( $CL/F$ ) 을 나타내는 방법.

**청구항 29**

제 1 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 스타틴, 페노피브레이트, 오메가-3 지방산, 이코사펜트 에틸, 및 어유 중 적어도 하나와 같은 지질 저하 약물을 복용하거나, 또는 대상체에 스타틴, 페노피브레이트, 오메가-3 지방산, 이코사펜트 에틸, 및 어유 중 적어도 하나와 같은 지질 저하 약물을 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

**청구항 30**

제 1 항 내지 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴, 및 심바스타틴 중 적어도 하나를 복용하거나, 대상체에 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나를 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

**청구항 31**

치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법 (방법은 제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음) 에서의 사용을 위한 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.

**청구항 32**

치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 인간 대상체인, 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법 (방법은 제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음) 에서의 사용을 위한 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.

**청구항 33**

치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법 (방법은 제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음) 에서의 사용을 위한 의약의 제조 방법에서의 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염의 용도.

**청구항 34**

치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 인간 대상체인, 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법 (방법은 제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음) 에서의 사용을 위한 의약의 제조 방법에서의 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염의 용도.

**청구항 35**

스타틴 요법을 받고 있는 인간 대상체인, 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법에서의 사용을 위한 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.

**청구항 36**

제 35 항에 있어서, 상기 스타틴 요법은 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나의 투여를 포함하는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.

**청구항 37**

제 35 항 또는 제 36 항에 있어서, 상기 방법은 제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 방법이고, 임의로 인간 대상체는 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.

**청구항 38**

적어도 하나의 스타틴과 공동-투여하여 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법에서의 사용을 위한 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염으로서, 임의로 상기 적어도 하나의 스타틴은 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나를 포함하는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.

**청구항 39**

제 38 항에 있어서, 상기 인간 대상체는 상기 방법을 개시하기 전에 스타틴 요법을 받는 대상체이고, 임의로 상기 스타틴 요법은 상기 방법에서 상기 25HC3S 또는 이의 염과 동시-투여되는 동일한 스타틴 또는 스타틴들의 투여를 포함하는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.

**청구항 40**

제 38 항 또는 제 39 항에 있어서, 상기 방법은 제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 방법이고, 임의로 인간 대상체는 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.

**청구항 41**

치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법에서의 사용을 위한 의약의 제조를 위한 방법에서의 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염의 용도로서, 상기 인간 대상체는 스타틴 요법을 받고 있는 용도.

**청구항 42**

제 41 항에 있어서, 상기 스타틴 요법은 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나의 투여를 포함하는 용도.

**청구항 43**

제 41 항 또는 제 42 항에 있어서, 상기 치료 방법은 제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 방법이고, 임의로 인간 대상체는 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 용도.

**청구항 44**

적어도 하나의 스타틴과 공동-투여하여 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료 하는 방법에서의 사용을 위한 의약의 제조를 위한 방법에서의 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염의 용도로서, 임의로 상기 적어도 하나의 스타틴은 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나를 포함하는 용도.

**청구항 45**

제 44 항에 있어서, 상기 인간 대상체는 상기 방법을 개시하기 전에 스타틴 요법을 받는 대상체이고, 임의로 상기 스타틴 요법은 상기 방법에서 상기 25HC3S 또는 이의 염과 동시-투여되는 동일한 스타틴 또는 스타틴들의 투여를 포함하는 용도.

**청구항 46**

제 44 항 또는 제 45 항에 있어서, 상기 치료 방법은 제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 방법이고, 임의로 인간 대상체는 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 용도.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 이 출원은, 2020년 5월 22일에 출원된 미국 가특허출원 제 63/029,361 호; 2020년 5월 26일에 출원된 미국 가특허출원 제 63/030,207 호; 2020년 11월 12일에 출원된 미국 가특허출원 제 63/113,116 호; 및 2021년 2월 5일에 출원된 미국 가특허출원 제 63/146,555 호에 대해 우선권의 혜택을 주장하고, 이들 각각의 전체 내용들은 참조에 의해 본원에 통합된다.

**배경 기술**

[0003] 배경기술

[0004] 비알콜성 지방간염 (NASH) 은 비알콜성 지방간 질환 (NAFLD) 의 극단적이고 진행적인 형태로, 알코올 섭취와 관련이 없고 추가로 염증 (간염) 을 동반한다. NASH 는 간세포의 팽창 퇴화를 동반하며 (본 명세서에서 "간세포 팽창"이라고도 함), 이는 세포자멸사의 한 형태로 간주되는 이러한 과정 동안 세포의 크기의 증가 (즉, 팽창) 를 지칭한다. 팽창된 세포는 전형적으로 인접한 간세포의 크기의 2배 내지 3배이며, H&E 염색된 섹션 상의 넓적하고 깨끗한 세포질을 특징으로 한다. 간세포 사멸과 염증 반응은 간 섬유화에 중추적인 역할을 하는 정상 세포의 활성화를 유도한다. 더 이상의 질환 진행은 간경변 및 간세포 암종 (HCC) 을 초래하여 간 부전 및, 궁극적으로 사망을 초래한다.

[0005] NASH 의 초기 단계로 고통받는 환자의 경우, 유의한 체중 감소와 같은 라이프스타일 개입은 지방증의 과정을 느리게 하거나 심지어 역전시킬 수 있다. 그러나, 진행성 NASH 환자의 경우, 현재 이용 가능한 요법은 없다. 지방간 질환 (FLD) 과 NASH 의 중증도와 충족되지 못한 임상적 필요성을 감안할 때, 효과적인 치료적 치료가 시급하다.

[0006] 본 명세서에 참조로 인용되는 미국 특허 제 8,399,441 호는 높은 콜레스테롤 및/또는 높은 트리글리세라이드 및/또는 염증과 연관된 병태 (예를 들어, 고콜레스테롤혈증, 고트리글리세라이드혈증, 비알콜성 지방간 질환 (예를 들어, NASH), 아테롬성 동맥 경화증 등) 의 치료를 위한 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 및 이의 염의 용도를 개시한다.

[0007] 본 명세서에 참조로 편입되는, 미국 특허 제 9,034,859 호는 간 손상 또는 질환 (예를 들어, NASH) 의 예방 및 치료를 위한 25HC3S 및 이의 염의 용도를 개시한다.

[0008] KEMP et al., "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) 은 생검-확인된 NASH 환자 및 매칭된 대조군 대상체 (MCS) 에서 경구-투여된 DUR-928 의 1b 상 단일 용량 범위 (50 mg 및 200 mg) 안전성/PK 연구를 개시한다.

[0009] SHAH et al., "Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Response in Individual NASH Patients Receiving Two

Dose Levels of DUR-928," NASH Summit - 2019 (April 22-25, 2019) 는 NASH 환자에게 5-콜레스텐-3 $\beta$ ,25-디올 3-술페이트 (25HC3S) 의 경구 투여를 개시한다. 환자는 약 2 개월 간격으로 투여되는 50 mg 및 200 mg 투여량을 모두 받았다. SHAH 등은 50 mg 내지 200 mg 용량 수준 사이의 생물학적 반응의 용량 의존적 변화가 없다고 결론 내린다.

[0010] NASH 를 치료하기 위한 개선된 방법에 대한 시급한 요구가 존재한다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0011] **요약**

[0012] 본 개시는 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 다양한 방법을 제공한다. 방법은 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 예에서, 방법은 25HC3S 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 투여하는 것을 포함한다.

[0013] 본 개시의 결과는 놀랍다. 그 결과는 적어도 인용된 용량이 더 높은 용량과 비교하여 감소된 간 지방 (예를 들어, MRI-PDFF 에 의해 측정됨) 을 초래하였기 때문에 놀랍다. 본 발명의 특이적 투여 섭생은, 예를 들어, 본 명세서에서 더 논의되고 증명되는 바와 같이, 개선된 임상 결과를 초래할 수 있다는 것이 예기치 않게 밝혀졌다.

**과제의 해결 수단**

[0014] 본 개시의 추가 양태는 다음과 같다:

[0015] 1. 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법으로서, 방법은 대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계를 포함하는 방법.

[0016] 2. 대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계

[0017] 를 포함하는, 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 가진 인간 대상체에서 혈청 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 수준을 저하시키는 방법.

[0018] 3. 대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계

[0019] 를 포함하는, 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 가진 인간 대상체에서 간 경직도를 저하시키는 방법.

[0020] 4. 대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계

[0021] 를 포함하는, 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 가진 인간 대상체에서 혈청 트리글리세라이드를 저하시키는 방법.

[0022] 5. 대상체에게 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 경구 투여하는 단계

[0023] 를 포함하는, 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 갖고 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 인간 대상체에서 혈청 트리글리세라이드를 저하시키는 방법.

[0024] 6. 제 1 내지 제 5 양상 중 어느 하나에 있어서, 경구 투여가 약 10 mg/일 내지 약 80 mg/일 범위의 25HC3S 또는 이의 염을 경구 투여하는 것을 포함하는 방법.

[0025] 7. 제 1 내지 제 5 양상 중 어느 하나에 있어서, 경구 투여가 약 30 mg/일 내지 약 70 mg/일 범위의 25HC3S 또는 이의 염을 경구 투여하는 것을 포함하는 방법.

[0026] 8. 제 1 내지 제 7 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체에게 경구 투여되는 25HC3S 또는 이의 염의 kg 당 총량은 약 0.1 mg/kg/일 내지 약 5 mg/kg/일 범위인 방법.

[0027] 9. 제 8 양상에 있어서, kg 당 총량은 약 0.2 mg/kg/일 내지 약 4 mg/kg/일 범위인 방법.

- [0028] 10. 제 8 양상에 있어서, kg 당 총량은 약 0.3 mg/kg/일 내지 약 3 mg/kg/일 범위인 방법.
- [0029] 11. 제 8 양상에 있어서, kg 당 총량은 약 0.4 mg/kg/일 내지 약 2 mg/kg/일 범위인 방법.
- [0030] 12. 제 1 내지 제 11 양상 중 어느 하나에 있어서, 경구 투여가 복수의 투여량의 25HC3S 또는 이의 염을 경구 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0031] 13. 제 12 양상에 있어서, 투여량은 매주 1 회 내지 하루에 3 회 범위의 빈도로 경구 투여되는 방법.
- [0032] 14. 제 13 양상에 있어서, 투여량은 하루에 1 회 경구 투여되는 방법.
- [0033] 15. 제 13 양상에 있어서, 투여량은 하루에 2 회 경구 투여되는 방법.
- [0034] 16. 제 12 내지 제 15 양상 중 어느 하나에 있어서, 경구 투여가 적어도 7 일, 예컨대 적어도 14 일, 적어도 28 일, 적어도 3 개월, 적어도 6 개월, 또는 적어도 1 년의 투약 기간 동안 경구 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0035] 17. 제 1 내지 제 16 양상 중 어느 하나에 있어서, 25HC3S 또는 이의 염은 25HC3S 또는 이의 염 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 제형으로 경구 투여되는 방법.
- [0036] 18. 제 1 내지 제 17 양상 중 어느 하나에 있어서, 25HC3S 또는 이의 염은 25HC3S 의 염을 포함하는 방법.
- [0037] 19. 제 18 양상에 있어서, 25HC3S 의 염이 나트륨 염인 방법.
- [0038] 20. 제 1 내지 제 19 양상 중 어느 하나에 있어서, 인간 대상체가 적어도 5% 의 치료 전 자기 공명 영상-양성자 밀도 지방 분획 (MRI-PDFF) 을 갖는 방법.
- [0039] 21. 제 1 내지 제 20 양상 중 어느 하나에 있어서, 인간 대상체는  $\geq 2.75$  kPa 의 치료 전 자기 공명 탄성영상 (MRE) 을 갖는 방법.
- [0040] 22. 제 1 내지 제 21 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 약 1 시간 내지 약 5 시간 또는 약 1.5 시간 내지 약 4 시간 범위의 투여 후 혈장 중 25HC3S 의 반감기 ( $T_{1/2}$ ) 를 나타내는 방법.
- [0041] 23. 제 1 내지 제 22 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 약 25 ng/mL 내지 약 200 ng/mL, 약 50 ng/mL 내지 약 150 ng/mL, 또는 약 75 ng/mL 내지 약 125 ng/mL 범위의 25HC3S 의  $C_{max}$  를 나타내는 방법.
- [0042] 24. 제 1 내지 제 23 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 경구 투여된 25HC3S 또는 이의 염의 100 mg 당, 약 100 ng/mL 내지 약 300 ng/mL, 약 120 ng/mL 내지 약 250 ng/mL, 또는 약 150 ng/mL 내지 약 200 ng/mL 범위의 25HC3S 의  $C_{max}$  를 나타내는 방법.
- [0043] 25. 제 1 내지 제 24 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 약 300 ng\*h/mL 내지 약 1,000 ng\*h/mL, 약 400 ng\*h/mL 내지 약 900 ng\*h/mL, 또는 약 500 ng\*h/mL 내지 약 800 ng\*h/mL 범위의 25HC3S 의  $AUC_{inf}$  를 나타내는 방법.
- [0044] 26. 제 1 내지 제 25 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 경구 투여된 25HC3S 또는 이의 염의 100 mg 당, 약 600 ng\*h/mL 내지 약 1000 ng\*h/mL, 약 700 ng\*h/mL 내지 약 900 ng\*h/mL, 또는 약 800 ng\*h/mL 내지 약 900 ng\*h/mL 범위의 25HC3S 의  $AUC_{inf}$  를 나타내는 방법.
- [0045] 27. 제 1 내지 제 29 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 약 300 L 내지 약 1000 L, 약 400 L 내지 약 900 L, 또는 약 500 L 내지 약 800 L 범위의 25HC3S 의 겉보기 부피 분포 ( $V_z/F$ ) 를 나타내는 방법.
- [0046] 28. 제 1 내지 제 27 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체는 약 100 L 내지 약 200 L/h, 약 110 L/h 내지 약 180 L/h, 또는 약 120 L/h 내지 약 160 L/h 범위의 25HC3S 의 겉보기 제거율 ( $CL/F$ ) 을 나타내는 방법.
- [0047] 29. 제 1 내지 제 28 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 스타틴, 페노피브레이트, 오메가-3 지방산, 이코사펜트 에틸, 및 어유 중 적어도 하나와 같은 지질 저하 약물을 복용하거나, 또는 대상체에 스타틴, 페노피브레이트, 오메가-3 지방산, 이코사펜트 에틸, 및 어유 중 적어도 하나와 같은 지질 저하 약물을 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.
- [0048] 30. 제 1 내지 제 29 양상 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴, 및 심바스타틴 중 적어도 하나를 복용하거나, 대상체에 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어

도 하나를 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

- [0049] 31. 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법 (방법은 제 1 내지 제 30 양상 중 어느 하나에 정의된 바와 같음) 에서의 사용을 위한 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.
- [0050] 32. 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 인간 대상체인, 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법 (방법은 제 1 내지 제 30 양상 중 어느 하나에 정의된 바와 같음) 에서의 사용을 위한 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.
- [0051] 33. 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법 (방법은 제 1 내지 제 30 양상 중 어느 하나에 정의된 바와 같음) 에서의 사용을 위한 의약의 제조 방법에서의 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염의 용도.
- [0052] 34. 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 인간 대상체인, 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법 (방법은 제 1 내지 제 30 양상 중 어느 하나에 정의된 바와 같음) 에서의 사용을 위한 의약의 제조 방법에서의 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염의 용도.
- [0053] 35. 스타틴 요법을 받고 있는 인간 대상체인, 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법에서의 사용을 위한 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.
- [0054] 36. 제 35 양상에 있어서, 상기 스타틴 요법은 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나의 투여를 포함하는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.
- [0055] 37. 제 35 또는 제 36 양상에 있어서, 상기 방법은 제 1 내지 제 30 양상 중 어느 하나에 정의된 바와 같은 방법이고, 임의로 인간 대상체는 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.
- [0056] 38. 적어도 하나의 스타틴과 공동-투여하여 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법에서의 사용을 위한 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염으로서, 임의로 상기 적어도 하나의 스타틴은 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나를 포함하는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.
- [0057] 39. 제 38 양상에 있어서, 상기 인간 대상체는 상기 방법을 개시하기 전에 스타틴 요법을 받는 대상체이고, 임의로 상기 스타틴 요법은 상기 방법에서 상기 25HC3S 또는 이의 염과 동시-투여되는 동일한 스타틴 또는 스타틴들의 투여를 포함하는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.
- [0058] 40. 제 38 또는 제 39 양상에 있어서, 상기 방법은 제 1 내지 제 30 양상 중 어느 하나에 정의된 바와 같은 방법이고, 임의로 인간 대상체는 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염.
- [0059] 41. 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법에서의 사용을 위한 의약의 제조를 위한 방법에서의 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염의 용도로서, 상기 인간 대상체는 스타틴 요법을 받고 있는 용도.
- [0060] 42. 제 41 양상에 있어서, 상기 스타틴 요법은 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나의 투여를 포함하는 용도.
- [0061] 43. 제 41 또는 제 42 양상에 있어서, 상기 치료 방법은 제 1 내지 제 30 양상 중 어느 하나에 정의된 바와 같은 방법이고, 임의로 인간 대상체는 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 용도.
- [0062] 44. 적어도 하나의 스타틴과 공동-투여하여 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하는 방법에서의 사용을 위한 의약의 제조를 위한 방법에서의 5-콜레스텐-3,25-디올, 3-술페이트 (25HC3S) 또는 이의 염의 용도로서, 임의로 상기 적어도 하나의 스타틴은 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나를 포함하는 용도.
- [0063] 45. 제 44 양상에 있어서, 상기 인간 대상체는 상기 방법을 개시하기 전에 스타틴 요법을 받는 대상체이고, 임의로 상기 스타틴 요법은 상기 방법에서 상기 25HC3S 또는 이의 염과 동시-투여되는 동일한 스타틴 또는 스타

틴들의 투여를 포함하는 용도.

[0064] 46. 제 44 또는 제 45 양상에 있어서, 상기 치료 방법은 제 1 내지 제 30 양상 중 어느 하나에 정의된 바와 같은 방법이고, 임의로 인간 대상체는 치료 전  $\geq 200$  mg/dL 트리글리세라이드를 갖는 용도.

**도면의 간단한 설명**

[0065] 도 1 은 특정 구현예에 따른 25HC3S 를 투여한 대상체의 평균 약동학적 (PK) 파라미터를 도시한다.

도 2 는 특정 구현예에 따른 50 mg 의 25HC3S 의 투여 후 건강한 및 NASH 대상체에 대한 25HC3S 의 약동학적 (PK) 혈장 농도를 도시한다.

도 3 은 특정 구현예에 따른 200 mg 의 25HC3S 의 투여 후 건강한 및 NASH 대상체에 대한 25HC3S 의 약동학적 (PK) 혈장 농도를 도시한다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0066] 비알콜성 지방간염 (NASH) 을 치료하기 위한 방법이 본 명세서에서 기술된다. 방법은 간을 25HC3S 또는 이의 염과 접촉시키는 단계를 포함한다. 접촉은 일반적으로 인간 환자에게 25HC3S 또는 이의 염을 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 투여하는 것을 포함한다.

[0067] 상기 논의된 바와 같이, 본 개시의 결과는 놀랍다. 그 결과는 적어도 인용된 용량이 더 높은 용량과 비교하여 감소된 간 지방 (예를 들어, MRI-PDFF 에 의해 측정됨) 을 초래하였기 때문에 놀랍다.

**[0068] 정의**

[0069] 하기 정의가 본 명세서 전반에서 사용된다:

[0070] 본 명세서에서 사용되는 "치료하다" (치료, 치료 단계 등)는 (1) NASH 의 적어도 하나의 증상을 이미 나타내고/나타내거나; (2) 예컨대 숙련된 임상 전문가가 NASH 를 갖는다고 진단하고/하거나; (3) 하나 이상의 체액, 예컨대 혈액의 실험실 (예를 들어, 분자 지시자) 또는 임상 시험을 기반으로 NASH 를 갖는 것으로 결정된, 인간 대상체에게 25HC3S 또는 이의 염을 투여하는 것을 의미한다. 특정 구현예에서, 대상체는 간 조직 생검을 통해서 NASH 를 갖는 것으로 진단된다. 다른 말로, NASH 와 연관된 것으로 알려진 적어도 하나의 파라미터가 대상체에서 측정되었거나, 검출되었거나, 또는 관찰되었다. NASH 의 "치료"는 25HC3S 또는 이의 염의 투여 시점 또는 그 이전에 존재한 NASH 의 적어도 하나의 증상의 감소 또는 약화, 또는 일부 예에서, 완전한 근절을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시에 따른 NASH 의 치료는 하기에 더욱 상술되는 바와 같이 대상체에서 NASH 의 실험실 또는 임상적 지시자를 개선시키는데 충분하다. 특정 예에서, 대상체에서 NASH 의 실험실 또는 임상적 지시자의 개선은 대상체가 더 이상 NASH 를 갖지 않는다고 간주되는 것이다.

[0071] "간 기능이상" 은 간이 이의 기대되는 기능을 수행하지 않는 건강 상태 또는 병태, 예컨대 일정 생물학적 또는 분자적 지시자가 정상 생리적 범위 밖에서 측정되는 경우를 의미한다. 간 기능은 생리적 범위 내에서 간의 기대되는 기능을 의미한다. 당업자는 건강 검사 동안 간의 각각의 기능을 알고 있다. 간 기능이상은 전형적으로 임의로 해부학적 손상의 부재 하에서, 간의 진행성 및 잠재적으로 가역적 생리적 기능 이상이 발생한 임상 증후군을 포함한다.

[0072] "간 부전" 은 정상 항상성이 외부의 임상적 중재술 없이 유지될 수 없는 정도의 간 기능 이상을 의미한다.

[0073] "CK-18" 은 NASH 에 대한 비침습성 바이오마커로서 확인된 사이토케라틴-18 단편을 지칭하는데, 이는 조직학에 의해 측정된 바와 같이 NASH 를 갖는 환자에서 현저히 증가되고, 단편의 더 높은 혈장 수준은 간 생검에 대한 섬유증을 가질 가능성과 상관된다는 점에서 그러하다. 본원에 참고로 포함된 Feldstein et al., Hepatology, 50:1072-1078 (2009) 을 참조한다.

[0074] "약학적으로 허용가능한"은 활성 성분의 생물학적 활성의 유효성을 방해하지 않고 투여되는 숙주에게 무독성인 물질을 의미한다.

**[0075] NASH 의 치료 방법**

[0076] 본 개시내용은 25HC3S 또는 이의 염을 치료가 필요한 환자에게 1 mg/일 내지 100 mg/일 범위의 양으로 투여하는 것을 포함하는 NASH 의 치료를 위한 요법을 제공한다. 일부 구현예에서, 치료가 필요한 환자는 NASH 로 진단된 환자이다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 25HC3S 또는 이의 염으로의 치료는 NASH 를 둔

화, 중단, 또는 개선시킨다.

**[0077] 환자 집단**

**[0078]** 본 개시내용의 요법으로부터 이익을 얻을 가능성이 있는 환자는 본 명세서에서 논의되거나 당업자에게 공지된 다양한 수단에 의해 용이하게 식별될 수 있다. 추가로, 환자가 이러한 요법에 반응하고 있는지 여부를 결정하기 위한 방법이 또한 제공된다. 일부 구현예에서, 초음파 검사, 컴퓨터화된 단층촬영 (CT), 및/또는 자기 공명 영상 (MRI) 을 포함하는 복부 영상 검사가 상기 질환을 갖는 환자들을 진단하기 위해, 예를 들어, 상기 질환이 존재하는지 여부 및 그 중증도를 평가하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 비침습성 진단은 원하는 경우 간 생검에 의해 보다 확실하게 확인될 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 바이오마커가 NASH 를 진단하기 위해 사용된다. 일부 구현예에서, 본 개시내용에 따라 치료될 환자는 NASH 의 1차 진단을 받았고, 현재 임상 개발 중인 임의의 다른 상태 (예를 들어, 알콜성 간염 (AH) 또는 COVID-19) 에 대해 25HC3S 또는 이의 염으로 치료되지 않고 있다.

**[0079]** 일부 경우에, 치료될 환자는 자기 공명 영상-양성자 밀도 지방 분율 (MRI-PDFF) > 5%, 예컨대 > 10%, > 15%, > 20%, > 25%, 또는 > 30% 를 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 4% 내지 60%, 예컨대 5% 내지 50%, 10% 내지 40%, 또는 15% 내지 30% 범위의 MRI-PDFF 를 갖는다.

**[0080]** 일부 경우에, 치료될 환자는  $\geq 2$  kPa, 예컨대  $\geq 2.5$  kPa,  $\geq 3$  kPa,  $\geq 3.5$  kPa,  $\geq 4.0$  kPa, 또는  $\geq 4.5$  kPa 의 자기 공명 탄성영상 (MRE) 을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 약 2 kPa 내지 약 10 kPa, 예컨대 약 3 kPa 내지 약 8 kPa, 또는 약 3.5 kPa 내지 약 6 kPa 범위의 MRE 를 갖는다.

**[0081]** 일부 경우에, 치료될 환자는  $\geq 5$  kPa, 예컨대  $\geq 7$  kPa,  $\geq 7.5$  kPa,  $\geq 12.5$  kPa, 또는  $\geq 14$  kPa 의 Fibroscan® 값을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 약 7 kPa 내지 약 75 kPa, 예컨대 약 7.5 kPa 내지 약 60 kPa, 약 8 kPa 내지 약 50 kPa, 또는 약 10 kPa 내지 약 40 kPa 범위의 Fibroscan® 값을 갖는다.

**[0082]** 일부 경우에, 치료될 환자는 > 200 dB/m, 예컨대 > 250 dB/m, 또는 > 300 dB/m 의 CAP 점수를 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 약 200 dB/m 내지 약 400 dB/m, 예컨대 약 250 dB/m 내지 약 300 dB/m 범위의 CAP 점수를 갖는다.

**[0083]** 일부 구현예에서, 환자는, 예를 들어 상승된 혈청 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (ALT), 감마 글루타밀 트랜스펩티다제 (GGT), 총 빌리루빈 (TBL), 및/또는 알칼리 포스파타제 (ALP) 수준의 존재에 의해 결정되는 바와 같이 비정상적인 간 기능을 나타낸다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 상승된 ALT 수준, 상승된 감마 글루타밀 트랜스펩티다제, 및/또는 상승된 알칼리 포스파타제 수준 (예를 들어, 정상 상한치보다 약 1.5 내지 4 배 높은 수준) 을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 정상 상한치 (ULN) 의 >1 및 <5 배의 ALT 농도를 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 < 30 U/L, 예컨대 < 20 U/L 의 ALT 농도를 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 정상 상한치 (ULN) 의 < 5x 의 ALT 농도를 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 GGT > 15 U/L, 예컨대 GGT > 30 U/L 을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 5 U/L 내지 500 U/L, 예컨대 15 U/L 내지 400 U/L, 20 U/L 내지 350 U/L, 또는 30 U/L 내지 300 U/L 범위의 GGT 를 갖는다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 정상 상한치 내에 있는 ALT 수준, 감마 글루타밀 트랜스펩티다제 수준, 및/또는 알칼리 포스파타제 수준을 갖는다.

**[0084]** 일부 경우에, 치료될 환자는 상승된 지질 수준, 특히 상승된 혈청 트리글리세라이드 수준을 갖는다. 일부 경우에, 환자는 저밀도 지단백질 콜레스테롤 (LDL-C) 및 트리글리세라이드 (TG) 를 포함하는 상승된 혈청 콜레스테롤을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 낮은 수준의 HDL 콜레스테롤을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 고혈압을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 심혈관 질환을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD) 을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 만성 신장 질환 (CKD) 을 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 당뇨를 갖는다.

**[0085]** 일부 구현예에서, NASH 는 영상화 시험을 사용하여 진단된다. 일부 구현예에서, NASH 는, 이에 제한되지는 않지만, 지방간 지수, NAFLD 간 지방 점수, NAFLD 활성 점수, 또는 간 지방증 지수와 같은 점수 시스템을 이용하여 진단된다. 일부 구현예에서, NASH 는 NAFLD 활성 점수 (NAS) 를 사용하여 진단되고, 이는 지방증 (0-3), 소염성 염증 (0-3), 및 간세포 팽창 (0-2) 의 정도에 기초하여 복합 점수를 제공한다. Kleiner et al., Hepatology, 41:1313-1321 (2005); 및 Bugianesi et al., J Hepatology, 65:643-644 (2016) 을 참고한다. 일부 경우에, 치료될 환자는 1기, 2기, 또는 3기 섬유증 및 NAS  $\geq 4$  를 가지며, 각각의 지방증, 간세포 팽창 및 소염 염증에 대해 적어도 1점을 갖는다.

- [0086] NASH 는 병리학적으로 제 1 형과 제 2 형으로 분류되는데, 그 중 제 1 형은 성인 환자에서 더욱 흔히 발견되는 반면, 제 2 형은 소아에서 더욱 흔히 발견된다. 제 1 형 NASH 는 전형적으로 지방증, 간세포 팽창, 및 혈관 주위 (perisinusoidal) 섬유증을 특징으로 한다. 제 2 형 NASH 는 전형적으로 지방증, 문맥, 및 문맥 섬유증을 특징으로 한다. 예를 들어 Schwimmer et al., *Hepatology*, 42:641-649 (2005) 를 참고한다. NASH 의 추가 진행은 중증 섬유증, 간경변, 및 말기 간 질환을 초래할 수 있다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 제 1 형 NASH 를 갖는다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 제 2 형 NASH 를 갖는다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 초기 NASH 를 갖는다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 중기 NASH 를 갖는다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 말기 NASH 를 갖는다 (예를 들어, 심한 간의 섬유증 및/또는 경화증을 갖는다).
- [0087] 일부 구현예에서, NASH 는 영상화 시험을 사용하여 진단된다. 일부 구현예에서, NASH 는 NAFLD 활성 점수 (예를 들어, > 5 의 점수) 또는 지방증, 활성 및 섬유증 (SAF) 점수, 또는 NAFLD 섬유증 점수; 혈청 바이오마커 (예를 들어, 사이토케라틴-18); 또는 그의 조합과 같은 그러나 이에 제한되지 않는 점수 시스템을 사용하여 진단된다. Bedossa et al., *Hepatology*, 56:1751-1759 (2012); Arab et al., *Gastroenterol Hepatol*, 40:388-394 (2017) 을 참고한다. 일부 구현예에서, 섬유증은 탄성영상 (예를 들어, Fibroscan®) 을 사용하여 검출 및/또는 측정된다.
- [0088] 일부 구현예에서, 치료될 환자는 CK-18 과 같은 하나 이상의 바이오마커의 사용에 의해 확인된다. CK-18 수준은 면역조직화학, 간 생검으로부터의 조직학에 의해 측정되든, 또는 질환에 대한 위험이 있는 것으로 의심되는 환자 또는 개체에서 혈장 수준의 측정을 통해 측정되든, 치료를 필요로 하는 대상체에서 건강한 개체에서 측정된 수준에 비해 전형적으로 상승될 것이다. 본 발명이 특정한 또는 임의의 제안된 작용 기작에 제한되는 것은 아니지만, NASH 환자에서 감소된 CK-18 수준은 감소된 간 세포 세포자멸사와 상관될 것으로 예상될 것이다. 일부 구현예에서, 본 개시내용에 따라 25HC3S 또는 이의 염으로 치료되는 NASH 환자는 치료 또는 표준 관리를 받지 않은 것과 비교하여 감소된 간 세포 세포자멸사를 나타낸다.
- [0089] 일부 경우에, 치료될 환자는 아디포넥틴, 고감도 C-반응성 단백질 (hsCRP), 사이토카인 (예컨대 인터류킨 (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-17, IL-18, 및 종양 괴사 인자 알파 (TNF  $\alpha$ )), 사이토케라틴-18 (M30 및 M65 둘 다), N-말단 유형 III 콜라겐 프로펩티드 (pro-C3), 플라스미노겐 활성화제 억제제-1 (PAI1), 혈청 담즙산, 매트릭스 메탈로프로테이나제-1 의 조직 억제제 (TIMP1), 및/또는 히알루론산 (HA) 에 의해 측정되는 바와 같은, 염증성, 세포 사멸, 및 섬유증 마커를 포함하는 혈장 또는 혈청 바이오마커에 의해 확인된다.
- [0090] 구현예에서, 치료될 환자는 신생아, 영유아, 어린이 및 성인을 포함하는 인간 대상체일 수 있다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 인간 성인이다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 어린이이다. 일부 구현예에서, 환자는 17 세 이하, 예컨대 15 세 이하, 예컨대 10 세 이하, 예컨대 9 세 이하, 예컨대 8 세 이하, 예컨대 7 세 이하, 예컨대 6 세 이하, 예컨대 5 세 이하, 예컨대 4 세 이하, 예컨대 3 세 이하, 예컨대 2 세 이하, 예컨대 1 세 이하, 예컨대 6 개월 이하, 예컨대 1 개월 이하의 인간 대상체이고, 신생아 인간 대상체를 포함한다. 일부 구현예에서, 환자는 18 세 내지 44 세, 예컨대 20 세 내지 40 세, 예컨대 25 세 내지 35 세의 인간 대상체이다. 일부 구현예에서, 환자는 45 세 내지 65 세, 예컨대 50 세 내지 60 세의 인간 대상체이다. 특정 구현예에서, 환자는 65 세 이상, 예컨대 70 세 이상, 예컨대 75 세 이상, 예컨대 80 세 이상, 예컨대 85 세 이상, 예컨대 90 세 이상, 예컨대 95 세 이상의 인간 대상체이고, 100 세 이상의 인간 대상체를 포함한다.
- [0091] 일부 경우에, 치료될 환자는 > 20 kg/m<sup>2</sup>, 예컨대 > 25 kg/m<sup>2</sup>, > 30 kg/m<sup>2</sup>, 또는 > 35 kg/m<sup>2</sup> 의 BMI 를 갖는다. 일부 경우에, 치료될 환자는 약 20 kg/m<sup>2</sup> 내지 약 60 kg/m<sup>2</sup>, 예컨대 약 25 kg/m<sup>2</sup> 내지 약 50 kg/m<sup>2</sup>, 또는 약 30 kg/m<sup>2</sup> 내지 약 40 kg/m<sup>2</sup> 의 범위의 BMI 를 갖는다.
- [0092] 일부 구현예에서, 치료될 환자는 알콜성 간염 (AH) 을 갖지 않는다. 일부 구현예에서, 치료될 환자는 COVID-19 를 갖지 않는다.
- [0093] 의혹을 피하기 위해, 치료될 환자는 상기 특징 중 복수의 2 개 이상을 가질 수 있고 본 개시내용은 이들 특징의 임의의 조합을 갖는 환자에 대해 수행되는 치료 방법을 명시적으로 포함한다. 이러한 진단 특징의 하나의 엄격하게 비제한적인 조합은 본 명세서의 실시예 섹션에서 포함 기준 (특히 포함 기준 4, 그러나 또한 다른 번호의 기준 또는 이들 번호의 기준의 임의의 조합) 으로서 정의된 특징이다.
- [0094] **투약 섭생**
- [0095] 방법의 구현은 일반적으로 적절한 경로로 허용가능한 형태의 NASH 를 앓는 환자를 식별하는 단계 및 25HC3S 또

는 이의 염을 투여하는 단계를 포함한다.

- [0096] 일부 구현예에서, 투여된 25HC3S 또는 이의 염의 총량은 1 mg/일 내지 100 mg/일, 예컨대 약 10 mg/일 내지 약 80 mg/일 또는 약 30 mg/일 내지 약 70 mg/일 (예를 들어, 약 40 내지 약 60 mg/일 또는 약 50 mg/일) 의 범위이다.
- [0097] 일부 경우에, 대상체에게 투여되는 25HC3S 또는 이의 염의 체중 kg 당 총량은 약 0.1 mg/kg/일 내지 약 5 mg/kg/일, 예컨대 약 0.2 mg/kg/일 내지 약 4 mg/kg/일, 약 0.3 mg/kg/일 내지 약 3 mg/kg/일, 또는 약 0.4 mg/kg/일 내지 약 2 mg/kg/일의 범위이다.
- [0098] 방법에서 투여하려는 25HC3S 또는 이의 염은 일정 시간 기간 (또한 본원에서 "투약 기간" 으로서 언급됨) 동안 하나의 투여량으로 또는 다수의 별도 투여량으로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 투여는 복수의 투여량의 25HC3S 또는 이의 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0099] 일부 경우에, 투여량은 매주 1 회 내지 하루에 3 회 범위의 빈도로 투여된다. 일부 경우에, 투여량은 1 일 1 회 투여된다. 일부 경우에, 투여량은 1 일 2 회 투여된다.
- [0100] 본 개시의 화합물의 투여는 간헐적일 수 있거나, 또는 점진적이거나 또는 연속적이거나, 일정하거나 또는 제어된 속도일 수 있다. 투여는 임의 경로, 예컨대, 경구, 경피 또는 정맥내, 근육내, 및/또는 피하 주사를 포함하여, 비경구를 통할 수 있다. 경구 투여가 전형적으로 바람직하다.
- [0101] 본 발명에서 25HC3S 또는 이의 염은 mg/일로 정의된 특정 양으로 투여된다. 그러나, 당업자에게 명백한 바와 같이, 본 개시내용은 투여가 25HC3S 또는 이의 염의 복수의 용량을 투여하는 것을 포함하고 투여 빈도가 하루에 복수 회 또는 하루에 1 회 미만일 수 있는 투약 섭생을 포함한다. 따라서, 의심을 피하기 위해, mg/일로 명시된 양은 투약 기간 (여기서, 투약 기간은 전형적으로 mg/일로 인용된 일일 용량의 투여 첫날에 시작되고, 따라서 선택적으로 용량 증대의 임의의 예비 기간을 제외함) 에서 하루에 투여되는 25HC3S 또는 이의 염의 평균 총량을 지칭한다는 것이 인지될 것이다. 예를 들어, 투여량이 하루에 2 회 투여되는 경우, mg/일로 정의된 특정 양은 두 투여량의 mg 으로의 총량과 동일하다. 추가의 예로서, 투여량이 매주 한 번 투여되는 경우, mg/일로 정의된 특정 양은 매주 한 번 투여되는 투여량의 1/7 과 동일하다. 투약 기간은 전형적으로 mg/일 단위의 인용된 일일 용량의 투여 최종일에 종료된다. 따라서, 일반적으로, 인용된 일일 투여량 (mg/일) 은 투약 기간에 투여된 25HC3S 또는 이의 염의 총량을 투약 기간의 일수로 나눈 것이다.
- [0102] 본 발명의 구현예에서, 경구 투여는 적어도 7 일, 예컨대 적어도 14 일, 또는 적어도 28 일의, 적어도 56 일, 적어도 3 개월, 적어도 6 개월, 또는 적어도 1 년을 포함하는 투약 기간 동안 상기 양을 투여하는 것을 포함한다. 구현예에서, 투약 기간은, 본원에서 추가로 논의되는 바와 같이, 치료가 하나 이상의 파라미터에서의 개선, 예컨대 개선된 ALT 효소 수준, 감소된 염증, 감소된 지방증, NASH 증상의 감소된 중증도, CK-18 과 같은 NASH 바이오마커의 감소된 수준, 또는 간 섬유증의 둔화, 중단, 또는 개선을 초래한 것으로 결정될 때까지 계속된다.
- [0103] 일부 경우에, 대상체가 스타틴, 페노피브레이트, 오메가-3 지방산, 이코사펜트 에틸, 및 어유 중 적어도 하나와 같은 지질 저하 약물을 복용하거나, 또는 방법은 대상체에 스타틴, 페노피브레이트, 오메가-3 지방산, 이코사펜트 에틸, 및 어유 중 적어도 하나와 같은 지질 저하 약물을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 예를 들어, 방법은 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴, 및 심바스타틴 중 적어도 하나를 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 25HC3S 또는 이의 염 및 스타틴을 둘 다 투여한 결과는 감소된 트리글리세라이드 및 비-HDL 콜레스테롤의 정도와 관련하여 놀랍다.
- [0104] 스타틴 요법을 받는 대상체에게 25HC3S 또는 이의 염을 투여한 결과는 예를 들어, 감소된 유해한 증상, 예를 들어, 감소된 트리글리세라이드 및 비-HDL 콜레스테롤의 정도와 관련하여 놀랍다. 스타틴 요법은 적어도 하나의 스타틴, 예컨대 제한 없이, 아토르바스타틴, 플루바스타틴, 로바스타틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 및 심바스타틴 중 적어도 하나의 투여를 포함한다. 의심의 여지를 피하기 위해, 본 발명에 따라 치료될 대상체를 정의할 때, 용어 "스타틴 요법을 받(고있)는 인간 대상체" 는 전형적으로 본 발명의 방법을 시작하기 전에, 예를 들어 25HC3S 또는 이의 염의 투여를 시작하기 전에 스타틴 요법을 받고 있는/받은 인간 대상체를 지칭한다. 인간 대상체는 25HC3S 또는 이의 염으로 치료되는 기간 동안 스타틴 요법을 계속 받을 수 있거나 받지 않을 수 있으며, 임의의 연속된 스타틴 요법은 25HC3S 또는 이의 염으로 치료되는 기간을 시작하기 전 스타틴 요법과 동일하거나 상이할 수 있다. 당업자에게 잘 알려진 바와 같이, 스타틴 요법은 널리 처방된 의료 요법이고, 따라서 본 개시내용의 주제가 유익하게 실시될 수 있는 인간 대상체 (즉, 특정 환자 군) 의 쉽게 인식

가능하고 모호하지 않게 정의된 그룹화를 식별한다.

- [0105] 일부 경우에, 25HC3S 또는 이의 염의 투여 후 최대 약물 농도에 이르는 시간 ( $T_{max}$ ) 은 1 시간 내지 5 시간, 예컨대 1.5 시간 내지 4 시간 또는 2 시간 내지 3.5 시간의 범위이다.
- [0106] 일부 경우에, 대상체는 약 25 ng/mL 내지 약 200 ng/mL, 약 50 ng/mL 내지 약 150 ng/mL, 또는 약 75 ng/mL 내지 약 125 ng/mL 범위의 25HC3S 의  $C_{max}$  를 나타낸다. 대상체는 경구 투여된 25HC3S 또는 이의 염의 100 mg 당, 약 100 ng/mL 내지 약 300 ng/mL, 약 120 ng/mL 내지 약 250 ng/mL, 또는 약 150 ng/mL 내지 약 200 ng/mL 범위의 25HC3S 의  $C_{max}$  를 나타낼 수 있다.
- [0107] 일부 경우에, 대상체는 약 300 ng\*h/mL 내지 약 1000 ng\*h/mL, 약 400 ng\*h/mL 내지 약 900 ng\*h/mL, 또는 약 500 ng\*h/mL 내지 약 800 ng\*h/mL 범위의 25HC3S 의  $AUC_{inf}$  를 나타낸다. 대상체는 경구 투여된 25HC3S 또는 이의 염의 100 mg 당, 약 600 ng\*h/mL 내지 약 1000 ng\*h/mL, 약 700 ng\*h/mL 내지 약 900 ng\*h/mL, 또는 약 800 ng\*h/mL 내지 약 900 ng\*h/mL 범위의 25HC3S 의  $AUC_{inf}$  를 나타낼 수 있다.
- [0108] 일부 경우에, 대상체는 약 300 L 내지 약 1000 L, 약 400 L 내지 약 900 L, 또는 약 500 L 내지 약 800 L 범위의 25HC3S 의 겔보기 부피 분포 ( $V_z/F$ ) 를 나타낸다.
- [0109] 일부 경우에, 대상체는 약 100 L 내지 약 200 L/h, 약 110 L/h 내지 약 180 L/h, 또는 약 120 L/h 내지 약 160 L/h 범위의 25HC3S 의 겔보기 제거율 ( $CL/F$ ) 을 나타낸다.
- [0110] 일부 구현예에서, 치료는 하나 이상의 파라미터에서의 개선, 예컨대 개선된 ALT 효소 수준, 감소된 염증, 감소된 지방증, NASH 증상의 감소된 중증도, CK-18 과 같은 NASH 바이오마커의 감소된 수준, 또는 간 섬유증의 둔화, 중단, 또는 개선을 초래한다.
- [0111] 일부 구현예에서, 치료는 대상체에서 간세포 팽창의 감소를 초래한다. 일부 구현예에서, 치료는 NASH 환자에서 감소된 염증 및/또는 섬유증을 초래한다. 일부 구현예에서, 치료는 대상체에서 혈장 CK-18 수준의 감소를 초래한다.
- [0112] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 따른 치료는 하나 이상의 파라미터에 있어서의 개선, 예컨대 제한 없이, NAS (팽창 및 염증) 및/또는 섬유증의 개선; SAF (지방증, 활성 및 섬유증) 점수의 개선; 지방간염의 완전한 해결; 섬유증의 악화 없음; 지방간염의 악화 없는 섬유증의 개선; 또는 간경화증, 사망, 간 이식, 간세포 암종으로의 진행 및 간성 뇌병증, 입원을 필요로 하는 정맥류 출혈, 개입을 필요로 하는 복수 및 자발성 박테리아 복막염과 같은 대상장애 사건에 대한 조직병리학적 평가에 의해 측정되는 바와 같은 질환 진행까지의 증가된 시간을 초래한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 따른 치료는 간세포 팽창의 개선 (즉, 감소) 을 초래한다. 일부 구현예에서, 간세포 팽창은 헤마톡실린 및 에오신 염색을 이용하여 가시화된다.
- [0113] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법에 따른 치료는 NASH 의 하나 이상의 바이오마커, 예컨대 제한 없이 세포자멸사의 마커 (예를 들어, CK-18 단편), 아디포카인 (예를 들어, 아디포넥틴, 렙틴, 레지스틴, 또는 비스파틴), 염증성 마커 (예를 들어, TNF- $\alpha$ , IL-6, 화학-유인 단백질- 1, 또는 고감도 C-반응성 단백질) 의 개선을 초래한다. 예를 들어, Neuman et al., Can J Gastroenterol Hepatol, 28:607-618 (2014); Castera et al., Nat Rev Gastroenterol Hepatol., 10:666-675 (2013) 을 참고한다. 일부 구현예에서, 바이오마커 값은 유체, 예를 들어 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 또는 뇌척수액을 포함하는 샘플을 사용하여 측정된다. 일부 구현예에서, 바이오마커 값은 세포 및/또는 조직, 예를 들어 간세포 또는 간 조직을 포함하는 샘플을 사용하여 측정된다. 일부 구현예에서, 치료는 바이오마커 CK-18 의 개선을 초래한다. 일부 구현예에서, 치료는 대상체에서 혈장 CK-18 수준의 감소를 초래한다.
- [0114] 일부 구현예에서, 환자는 본원에 기재된 바와 같은 진단 시험을 사용하여 (예를 들어, 복부 영상화 시험을 사용하여) 25HC3S 또는 이의 염 요법의 과정 동안 모니터링된다. 일부 구현예에서, 방법은 요법 과정 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 25HC3S 또는 이의 염의 투여량) 을 계속하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 진단이 보증하는 경우, 예를 들어, 치료가 실시될 때, 더 낮은 투여량이 더 높은 투여량으로서 더 안전하거나 동등하게 효과적인 것으로 나타나거나, 또는 지속적인 치료 효과가 예상되지 않는 경우, 25HC3S 또는 이의 염의 투여된 양을 테이퍼링, 감소 또는 중단시키는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 효능이 없는 것으로 결정된 경우 25HC3S 또는 이의 염의 투여된 양을 증가시키는 것, 뿐만 아니라 용량 증가 또는 임의의 용량에서의 지속적인 투여가 효능이 없을 것으로 결정된 경우 요법을 중단하는 것을 포

함할 수 있다.

- [0115] 환자가 본 개시에 따른 치료를 받고 있는 일부 구현예에서, 복부 영상, 초음파 검사, 자기 공명 영상, CT 스캔 및/또는 생검에 의한 NASH 의 징후는 치료 전에 환자에서 측정된 것보다 작을 수 있으며, 이는 환자가 요법에 긍정적으로 반응하고 있음을 나타낸다. 환자가 본 발명의 요법에 긍정적으로 반응하는 경우, 병태의 존재가 정상 대조군 수준에 필적하는 수준으로 감소될 때까지 요법을 계속한다. 임의로, 요법은 NASH 증상의 완화를 유지하기 위해 계속된다. 대안적으로, 요법은 원하는 수준의 지방증이 환자에서 달성될 때까지 (지방증의 부재를 포함함) 계속된다. 복부 영상, 초음파 검사, 자기 공명 영상, CT 스캔 및/또는 생검에 의한 평가를 사용하여 효과가 있다고 판단되는 한, 치료를 계속할 수 있다. 치료는 지방증, 팽창, 및 괴사염증 중 하나 이상의 측정된 개선을 통해 효능이 있는 것으로 결정될 수 있다. 하나의 구현예에서, 치료는 팽창의 유도 감소에 의해 나타내지는 측정된 개선을 통해 효과적인 것으로 결정된다. 하나의 구현예에서, 치료는 염증의 감소에 의해 나타내지는 측정된 개선을 통해 효과적인 것으로 결정된다. 하나의 구현예에서, 치료는 감소된 혈청 ALT 수준, 개선된 인슐린 민감성 (예를 들어, 감소된 인슐린 저항성), 감소된 지방증, 감소된 염증, 및 감소된 섬유증 중 적어도 하나에 의해 나타내지는 측정된 개선을 통해 효과적인 것으로 결정된다. 하나의 구현예에서, 치료는 섬유증 및/또는 경화증의 유도된 퇴화 또는 역전에 의해 나타내지는 측정된 개선을 통해 효과적인 것으로 결정된다.
- [0116] 일부 구현예에서, 치료는 대조군 값과 비교하여 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 의 하나 이상의 파라미터의 개선 (예를 들어, NAS 또는 SAF 점수의 감소, 간세포 팽창의 감소, 섬유증의 감소, 또는 CK-18 수준의 감소) 을 초래한다. 일부 구현예에서, 치료는 대조군 값과 비교하여 적어도 2 배, 적어도 3 배, 적어도 4 배, 적어도 5 배, 적어도 6 배, 적어도 7 배, 적어도 8 배, 적어도 9 배, 또는 적어도 10 배의 하나 이상의 파라미터의 개선을 초래한다. 일부 구현예에서, 대조군 값은 치료 개시 전에 결정되는 대상체에 대한 기준선 값이다. 일부 경우에, 치료는 MRI-PDFF 에 의해 측정된 바와 같이 기준선으로부터  $\geq 10\%$  간 지방 감소를 나타냈다.
- [0117] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 (a) NASH 의 수준 및 중증도를 치료가 필요한 대상체에서 복부 영상, 초음파 검사, 자기 공명 영상, CT 스캔 및/또는 간 생검을 통해 측정하며, NASH 의 수준 및 중증도는 치료를 시작한 후에 측정됨, (b) 단계 (a) 에서 측정된 NASH 의 수준 및 중증도를 NASH 의 기준선 수준 및 중증도와 비교하며, 기준선 수준 및 중증도는 치료가 시작되기 전에 동일한 대상체에서 측정됨, 및 (c) 비교 단계에 기초하여 NASH 치료의 효능을 결정함으로써, 치료를 필요로 하는 대상체에서 NASH 치료의 효능을 결정하는 방법을 제공한다.
- [0118] 또한, 일부 구현예에서, 본 개시내용은 (a) 치료가 시작된 후 치료를 필요로 하는 대상체에서 NASH 의 수준 및 중증도를 측정함, (b) NASH 의 수준 및 중증도를 참조 값과 비교하며, 참조 값은 NASH 를 앓고 있는 환자의 집단으로부터 결정된 평균 값임, 및 (c) 비교 단계를 기초로 NASH 치료의 효능을 결정함으로써, 치료를 필요로 하는 대상체에서 NASH 치료의 효능을 결정하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 치료의 효능은 간 생검 및 NAFLD 활성 점수 (NAS) 및 섬유증을 평가하기 위한 분석에 의해 결정되고; 경정맥 간 생검 방법이 이러한 목적을 위해 사용될 수 있다. 적합한 환자는 생검 입증된 NASH 를 갖는 환자, NASH 에 대한 높은 위험이 있는 환자, 4 이상의 NAS 를 갖는 환자, 간 섬유증을 갖는 NASH 환자, 및 2기 이상의 간 섬유증을 갖는 NASH 환자를 포함한다.
- [0119] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 요법에 반응하는 환자는 요법이 계속됨에 따라 CK-18 수준의 임의의 증가의 적어도 둔화를 나타낼 것으로 예상된다. 일부 구현예에서, 요법에 가장 유리하게 반응하는 환자는 완전한 치료 이점이 실현됨에 따라 시간이 지남에 따라 안정화되고 감소하는 CK-18 수준을 가질 것이다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시내용은 (a) 대상체로부터의 샘플 (예를 들어, 혈액, 혈장 또는 조직 샘플) 로부터의 샘플에서 바이오마커 CK-18 의 수준을 측정함을 통해 NASH 의 수준 및 중증도를 측정하며, NASH 의 수준 및 중증도는 치료를 시작한 후에 측정됨, (b) (a) 에서 측정된 NASH 의 수준 및 중증도를 치료가 시작되기 전 동일한 대상체에서 측정된 대상체 중의 NASH 의 기준선 수준 및 중증도와 비교함, 및 (c) 비교 단계에 기초하여 NASH 치료의 효능을 결정함 (여기서 CK-18 수준의 정체 또는 감소는 NASH 치료의 효능의 지표임) 에 의한, 치료를 필요로 하는 대상체에서 NASH 치료의 효능을 결정하는 방법을 제공한다.
- [0120] 일부 구현예에서, 본 발명에 따라 치료되는 환자는 완전한 치료 이점이 실현됨에 따라 시간이 지남에 따라 감소하는 하나 이상의 바이오마커의 수준을 나타낸다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시내용은 (a) C-반응성 단백질, 플라스미노겐 활성화 억제제-1, 인터류킨-1 베타, 인터류킨-6, 인터류킨-12, 인터류킨-17, 인터류킨-18, 종양 괴사 인자, 담즙산, 아디포넥틴 및 아디포넥틴, HMW 로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바

이오마커의 수준을 측정함을 통해 NASH 의 수준 및 중증도를 측정함, (b) (a) 에서 측정된 NASH 의 수준 및 중증도를 치료가 시작되기 전 동일한 대상체에서 측정된 대상체 중의 NASH 의 기준선 수준 및 중증도와 비교함, 및 (c) 비교 단계에 기초하여 NASH 치료의 효능을 결정함 (여기서 바이오마커 수준(들) 의 정체 또는 감소는 NASH 치료의 효능의 지표임) 에 의한, 치료를 필요로 하는 대상체에서 NASH 치료의 효능을 결정하는 방법을 제공한다.

- [0121] 일부 예에서, 방법은 CK-18, M30 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.
- [0122] 일부 예에서, 방법은 CK-18, M65 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.
- [0123] 일부 예에서, 방법은 C-반응성 단백질 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.
- [0124] 일부 예에서, 방법은 플라스미노겐 활성화자 억제제-1 의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.
- [0125] 일부 예에서, 방법은 인터류킨-1 베타 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.
- [0126] 일부 예에서, 방법은 인터류킨-6 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.
- [0127] 일부 예에서, 방법은 인터류킨-12 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.
- [0128] 일부 예에서, 방법은 인터류킨-17 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예

컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.

[0129] 일부 예에서, 방법은 인터류킨-18 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.

[0130] 일부 예에서, 방법은 종양 괴사 인자 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.

[0131] 일부 예에서, 방법은 담즙산 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.

[0132] 일부 예에서, 방법은 아디포넥틴 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.

[0133] 일부 예에서, 방법은 아디포넥틴, HMW 바이오마커의 수준을, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 및 40% 이상 만큼 감소시키기에 충분한 방식으로 대상체를 치료하는 것을 포함한다.

[0134] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 방법 및 조성물은 하나 이상의 상승된 혈청 간 효소의 양을 감소시키기에 충분하다. 일부 예에서, 대상 방법 및 조성물은 혈청 알라닌 아미노트랜스페라제 (ALT) 를, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 만큼 및 40% 이상 만큼 혈청 ALT 의 존재의 감소를 포함하여 감소시키기에 충분하다. 특정 예에서, 25HC3S 를 투여하는 것은 혈청 ALT 의 양을 정상 수준의 ALT 의 상한 미만인 양으로 감소시키기에 충분하다.

[0135] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 방법 및 조성물은 하나 이상의 상승된 혈청 간 효소의 양을 감소시키기에 충분하다. 일부 예에서, 대상 방법 및 조성물은 혈청 아스파테이트 아미노트랜스페라제 (AST) 를, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대

20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 만큼 및 40% 이상 만큼 혈청 AST 의 존재의 감소를 포함하여 감소시키기에 충분하다. 특정 예에서, 25HC3S 를 투여하는 것은 혈청 AST 의 양을 정상 수준의 AST 의 상한 미만인 양으로 감소시키기에 충분하다.

[0136] 일부 예에서, 대상 방법 및 조성물은 혈청 감마 글루타밀 트랜스펩티다제 (GGT) 를, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상, 예컨대 16% 이상, 예컨대 17% 이상, 예컨대 18% 이상, 예컨대 19% 이상, 예컨대 20% 이상, 예컨대 25% 이상, 예컨대 30% 이상, 예컨대 35% 이상 만큼 및 40% 이상 만큼 혈청 GGT 의 존재의 감소를 포함하여 감소시키기에 충분하다. 특정 예에서, 25HC3S 를 투여하는 것은 혈청 GGT 의 양을 정상 수준의 GGT 의 상한 미만인 양으로 감소시키기에 충분하다.

[0137] 일부 예에서, 대상 방법 및 조성물은 간 조직의 경직도를 측정하는 초음파 기계인 FibroScan 에 의해 측정되는 바와 같은, 간 경직도를, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상 만큼 감소시키기에 충분하다. 특정 예에서, 25HC3S 를 투여하는 것은 간 경직도의 양을 정상 수준의 간 경직도의 상한 미만인 양으로 감소시키기에 충분하다.

[0138] 일부 예에서, 대상 방법 및 조성물은 혈청 트리글리세라이드 (TG) 를, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상 만큼 감소시키기에 충분하다. 특정 예에서, 25HC3S 를 투여하는 것은 혈청 TG 의 양을 정상 수준의 TG 의 상한 미만인 양으로 감소시키기에 충분하다.

[0139] 일부 예에서, 대상 방법 및 조성물은 혈청 저밀도 지단백질 - 콜레스테롤 (LDL-C) 를, 예컨대 1% 이상, 예컨대 2% 이상, 예컨대 3% 이상, 예컨대 4% 이상, 예컨대 5% 이상, 예컨대 6% 이상, 예컨대 7% 이상, 예컨대 8% 이상, 예컨대 9% 이상, 예컨대 10% 이상, 예컨대 11% 이상, 예컨대 12% 이상, 예컨대 13% 이상, 예컨대 14% 이상, 예컨대 15% 이상 만큼 감소시키기에 충분하다. 특정 예에서, 25HC3S 를 투여하는 것은 혈청 LDL-C 의 양을 정상 수준의 LDL-C 의 상한 미만인 양으로 감소시키기에 충분하다.

[0140] **조성물, 단위 투약 형태, 및 키트**

[0141] 25HC3S 는 순수한 형태로 또는 적합한 엘릭시르 등 (일반적으로, "담체"라고 함) 또는 약학적으로 허용가능한 염 (예를 들어, 알칼리 금속 염 예컨대 나트륨, 칼륨, 칼슘 또는 리튬 염, 암모늄 등) 또는 다른 착체를 포함하는 약학적으로 허용가능한 제형으로 투여될 수 있다. 일부 예에서, 25HC3S 는 25HC3S 의 나트륨 염과 같은 25HC3S 의 염으로서 투여된다. 25HC3S 또는 이의 염은 전형적으로 경구, 주사 및/또는 정맥내 투여에 적합한 조성물로서 투여된다.

[0142] 활성 성분은 약학적으로 허용가능하고 활성 성분과 상용성인 부형제, 예를 들어 약학적으로 그리고 생리적으로 허용가능한 담체와 혼합될 수 있다. 적합한 부형제는, 예를 들어, 물, 식염수 (염화나트륨), 시클릭 올리고사카라이드 (예컨대, 시클로덱스트린, 예를 들어, 그의 개시내용이 본원에 참고로 포함되는 미국 특허 공개 제 2019/0269695 호에 기재된 것들, 예를 들어, 히드록시프로필-베타-시클로덱스트린), 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올 등, 또는 이의 조합을 포함한다. 또한, 조성물은 소량의 보조 물질 예컨대 습윤제 또는 유화제, pH 완충제 (예를 들어, 포스페이트 완충제) 등을 함유할 수 있다. 물은 또한 조성물을 등장성이게 만드는 통상의 완충제 및 작용제를 포함할 수 있는, 조성물 (예를 들어, 주사용 조성물) 의 제조를 위한 담체로서 사용될 수 있다. 다른 가능한 첨가제 및 다른 물질 (바람직하게, 일반적으로 안정하다고 간주되는 것들 [GRAS])은 계면활성제 (TWEEN®, 올레산 등); 용매, 안정화제, 엘릭시르, 및 캡슐화제 (락토스, 리포솜 등)를 포함한다. 보존제 예컨대 메틸 파라벤 또는 벤즈알코늄 클로라이드가 또한 사용될 수 있다. 본 개시의 조성물은 의도하는 투여 경로에 적합한 형태로 조성물을 제공하도록 임의의 이러한 추가 성분을 함유할 수 있다. 또한, 화합물은 수성 또는 오일 기반 비히클과 제제화될 수 있다.

[0143] 제형에 따라, 25HC3S 또는 이의 염은 조성물의 약 1 wt% 내지 약 99 wt% 로 존재할 것이고, 비히클 "담체"는 조성물의 약 1 wt% 내지 약 99 wt% 를 구성할 것으로 예상된다. 본 개시의 약학 조성물은 25HC3S 또는 이의 염의 치료적 효과를 방해하거나 또는 간섭하지 않는 정도로 임의의 적합한 약학적으로 허용가능한 첨가제 또는

보조제를 포함할 수 있다.

- [0144] 하나의 양상에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 25HC3S 또는 이의 염을 포함하는 조성물, 단위 투약 형태, 약학 패키지, 및 키트가 제공된다. 일부 구현예에서, 제형, 단위 투약 형태, 약학 패키지 및/또는 키트는 NASH 를 치료하는 데 사용하기 위한 것이다.
- [0145] 일부 구현예에서, 경구 25HC3S 또는 이의 염 제형은 즉시 방출 제제로서 제형화되고, 예를 들어 알약, 캡슐 또는 정제의 형태로의 단위 투약 형태로 편리하게 포장되며, 이는 차례로 알약 병 또는 블리스터 패키지에 있을 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 투여량 및 원하는 약물 농도는 예상되는 특정한 용도에 따라 달라질 수 있다. 적절한 투여량 또는 투여 경로의 결정은 당업자의 기술 범위 내에서 충분하다.
- [0146] 일부 구현예에서, 제형은 지속 방출 제제로서 제형화되고, 예를 들어, 바이알, 앰플, 주사기, 병 또는 다른 액체 상용성 용기의 형태로의 단위 투약 제형으로 편리하게 포장된다.
- [0147] 일부 구현예에서, 약학 패키지 또는 키트는 NASH 를 치료하는 데 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 약학 패키지 또는 키트는 본원에 개시된 방법에 따라 사용하기 위한 지침 자료를 추가로 포함한다. 지침 자료는 전형적으로 서면 자료 또는 인쇄 자료를 포함하지만 이들로만 한정되지 않는다. 그와 같은 지침을 저장할 수 있고 최종 사용자에게 이들을 전할 수 있는 임의의 매체는 본 발명에 의해 고려된다. 그와 같은 매체는 전자 저장 매체 (예를 들어, 자기 디스크, 테이프, 카트리지, 칩), 광학 매체 (예를 들어, CD-ROM), 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 그와 같은 매체는 그러한 지침 자료를 제공하는 인터넷 사이트의 주소를 포함할 수 있다.
- [0148] 본 발명은 하기 실시예를 통해서 더욱 예시될 것이다. 이들 실시예는 비제한적이고 본 발명의 범주를 제한하지 않는다. 달리 명시하지 않으면, 실시예에 표시되는 모든 백분율, 부분 등은 중량 기준이다.

[0149] **실시예 1**

[0150] **개관**

[0151] 본 실시예는 병기 1-3 의 섬유증을 갖는 NASH 환자에서 25HC3S 의 4 주 투여의 안전성, 약동학 및 생물학적 활성의 신호를 평가하기 위한 무작위, 공개 라벨, 다중 센터 US 연구였다. 총 63 명의 환자가 투여량 그룹 당 21 명의 환자로 연구를 완료하였다 (MRI-PDFF 측정의 완료). 25HC3S 나트륨을 매일 50 mg, 150 mg, 또는 600 mg (300 mg BID) 으로 경구 투여하였다. 본 실험의 환자를 2 주 (14 일) 동안 모니터링하고, 4 주 (28 일) 동안 투약하고, 이어서 추가로 4 주 (28 일) 동안 추적하였다.

[0152] **실험의 명칭:** 비알콜성 지방간염 (NASH) 환자에서 25HC3S 의 안전성, 약동학적 및 약력학적 신호를 평가하기 위한 무작위, 공개-라벨, 1b 상 연구

[0153] **개발 상:** 1b 상

[0154] **중요점:** · NASH 가 있는 대상체에서 25HC3S 의 4 주 일일 경구 투여의 안전성 및 약동학 (PK) 을 결정하기 위한

[0155] · NASH 가 있는 대상체에서 약력학적 (PD) 신호에 대한 25HC3S 의 효과를 결정하기 위한

[0156] · 자기 공명 영상-양성자 밀도 지방 분획 (MRI-PDFF) 에 의해 측정된 바와 같은 간 지방 함량의 기준선\* 으로부터 투여 종료 (6 주 종료) 까지의 변화

[0157] · 일시적 탄성영상 (TE) 에 의해 측정된 바와 같은 기준선으로부터 투여 종료 (6 주 종료) 까지의 간 경직도의 변화

[0158] · 혈장 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT), 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST), 및 감마-글루타미드 트랜스펩티다제 (GGT) 에 의해 기준선으로부터 투여 종료까지 (6 주 종료), 4 주 동안 매주, 및 연구 종료까지 (10 주 종료) 측정된 간 기능 파라미터; 패널은 실험실 안전성 시험의 일부일 것이다

[0159] · 기준선으로부터 투여 종료까지 (6 주 종료), 투여 4 주 동안 매주, 및 연구 종료까지 (10 주 종료) 혈청 콜레스테롤, 저밀도 지단백질 콜레스테롤 (LDL-C), 고밀도 지단백질 콜레스테롤 (HDL) 및 트리글리세라이드 (TG) 에 의해 측정된 대사 패널

[0160] \* : 기준선은 연구 약물의 첫 번째 투여량 이전의 비-결측값으로 정의된다

[0161] **안전성 평가:** · 부작용 (AE) 은 사전 동의서에 서명한 시점부터 연구 종료 또는 조기 종료 방문까지 각각 기록

되었다:

- [0162] · 활력 징후, 신체 검사 및 12-리드 ECG 소견
- [0163] · 안전성 실험실 시험 (화학, 혈액학, 응고 및 소변 검사)
- [0164] **시험 집단:** NASH 로 진단받은 또는 NASH 로 의심되는 총 65 명의 대상체 (남성 및 여성 둘 다 포함) 를 연구에 등록하였다. 하기 투여 그룹의 각각은 적어도 20 명의 환자를 포함하였다.
- [0165] · 그룹 1: 50 mg 25HC3S 나트륨, 경구 QD
- [0166] · 그룹 2: 150 mg 25HC3S 나트륨, 경구 QD
- [0167] · 그룹 3: 300 mg 25HC3S 나트륨, 경구 BID
- [0168] **포함 기준:** 1. 대상체는 연구에 참여하기 위해 서면으로 통지된 동의를 제공하였다
- [0169] 2. 남성 또는 여성 대상체는 통지된 동의 서명 당시, 18 세 이상이었다
- [0170] 3. BMI 20-45 kg/m<sup>2</sup>
- [0171] 4. 대상체는 NASH 의 역사적인 조직학적 진단을 받았고, 스크리닝 방문 전 12 개월 동안 확인되었으며, 3 가지 성분 (지방증, 간세포 팽창 및 염증성 염증) 각각에 대해 적어도 1 점을 갖는, 병기 1-3 섬유증 및 NAS  $\geq$  4 둘 모두의 존재를 나타내거나, 또는 지방증 (불균질 간에서 Fibroscan® 에 대한 MRI-PDFF > 10% 및 CAP 점수 > 238 dB/m 를 포함함) 및 섬유증의 임상 진단\*, 실험실 결과 및 영상 평가의 조합을 사용하여 '의심되는 NASH' 의 진단을 보유하고 있으며, 후자는 다음과 같이 본 임상 시험에서 정의된다:
  - [0172] a. Fibroscan® 의 값  $\geq$  7 kPa
  - [0173] 또는
  - [0174] b. MRE  $\geq$  2.75 kPa
- [0175] \*NASH 의 임상 진단은 본 임상 시험에서 NASH 에 대한 다음 위험 인자 중 하나 이상의 존재로 정의되었다, 즉:
  - [0176] a. 제 2 형 당뇨병 또는 상승된 공복 혈당
  - [0177] b. 복부 비만
  - [0178] c. 상승된 지질 수준, 특히 상승된 혈청 트리글리세라이드 수준
  - [0179] d. 고혈압, 또는
  - [0180] e. 낮은 수준의 HDL 콜레스테롤
- [0181] 5. 혈청 트랜스아미나아제의 경우, 스크리닝 시 모든 환자에 대한 ALT 농도는 간 질환의 또다른 원인이 없는 중앙 실험실의 정상 상한치 (ULN) 의 > 1 및 < 5 배였다. 환자가 지난 6 개월 동안 실험실 기록을 갖는 경우, ALT 농도는 < 20 U/L 여성 및 < 30 U/L 남성이었다. 스크리닝 당시 모든 환자에 대한 AST 농도는 < 5x ULN 이었다
- [0182] 6. 혈청 ALT, AST, ALP, 및 TBL 농도는 스크리닝 기간 동안 >30 % 로 변동하지 않았다
- [0183] 7. 혈소판 계수  $\geq$  120,000/mm<sup>3</sup>
- [0184] 8. 여성 대상체는 다음 기준을 충족하면 연구에 적격이었다:
  - [0185] o 임신이나 수유 중이 아님
  - [0186] o 출산 가능성이 있는 여성 (외과적으로 불임되지 않거나 52 세 이상 및 12 개월 이상 무월경 아닌 여성으로 정의됨) 은 연구 기간 동안 적절한 피임을 이용해야 한다. 사용될 수 있는 허용가능한 방법은 금욕, 피임약 ("The Pill") 또는 패치, 다이어프램 (diaphragm), IUD (코일), 질 링, 콘돔, 외과적 불임 또는 프로게스틴 임플란트 또는 주사, 또는 불임 (예를 들어, 정관수술) 남성 파트너에 제한된 성행위이다
- [0187] 9. 남성 참가자들은 연구 약물의 최종 복용 후 30 일까지 상기 피임 방법 중 하나와 조합하여 콘돔을 일관되 고 정확하게 사용하는데 동의하였다

[0188] 10. 참가자들은 투약을 준수할 수 있었고 평가의 연구 일정을 완료할 수 있었다

[0189] **결과**

[0190] 25HC3S 는 약물 관련 심각한 부작용이 관찰되지 않으면서 3 회 투여량 모두에서 잘 용인되었다. 반복 투여 후의 PK 파라미터는 단일 투여 후의 것과 유사하였고, 용량 의존적이었다.

[0191] 저용량 및 고용량 군은 각각 -16% 및 -17% 에서 혈청 ALT 수준의 기준선으로부터 통계적으로 유의한 중앙값 감소를 나타내었다. 고용량 군은 또한 혈청 AST (-18%) 및 GGT (-8%) 수준의 기준선으로부터 통계적으로 유의한 중앙값 감소뿐만 아니라 FIB-4 (-15%) 및 APRI (-26%) 점수를 나타내었다. 저용량 군은 Fibroscan 으로 측정된 간 경직도의 기준선으로부터 제 28 일에 통계적으로 유의한 감소를 나타냈다 (-10%).

[0192] 저용량 및 중용량 군의 환자는 또한 혈청 트리글리세라이드 (50 mg 군에서 -13%) 또는 LDL-C (150 mg 군에서 -11%) 의 기준선으로부터 제 28 일에 통계적으로 유의한 중앙값 감소를 가졌다. 모든 투여군에 걸쳐 상승된 기준선 트리글리세라이드 ( $\geq 200$  mg/dL; n=16) 를 갖는 환자는 기준선으로부터 제 28 일에 -24% ( $p < 0.01$ ) 의 중앙값 감소를 가졌다.

[0193] 각 투여군에서, MRI-PDFF 를 받은 환자의 43% 는 4 주 투여 후, MRI-PDFF 에 의해 측정된 바와 같이 기준선으로부터  $\geq 10\%$  간 지방 감소를 나타내었다. 각 하위 군에서 이들 환자의 간 지방 기준선으로부터의 중앙값 감소율, 각각 -18%, -19% 및 -23% 는 통계적으로 유의하였다. 각 투여군의 간 지방 함량의 감소도 혈청 ALT 수준의 유의한 감소를 수반하였다. 각각의 하위 군은 각각 -21%, -19% 및 -32% 에서 혈청 ALT 수준의 기준선으로부터 통계적으로 유의한 중앙값 감소를 나타내었다.

[0194] 기준선 ( $p < 0.01$ ) 으로부터 제 28 일에 모든 용량 군에 걸쳐 상승된 기준선 트리글리세라이드 ( $\geq 200$  mg/dL; n=16) 를 갖는 환자에서 혈청 트리글리세라이드가 24% 감소하였다.

[0195] PDFF 에 의한  $\geq 10\%$  간 지방 감소를 갖는 환자의 43% 에서, 저용량 및 고용량 4 주 25HC3S 치료된 환자 들 모두는 또한 AST (-24% 및 -39%), FIB-4 점수 (-19% 및 -21%) 및 APRI 점수 (-27% 및 -36%) 의 통계적으로 유의한 중앙값 감소를 가졌지만, 저용량 치료된 환자는 또한 GGT (-13%) 수준의 통계적으로 유의한 중앙값 감소를 가졌다.

[0196] 또한, 모든 3 용량 군에서 PDFF 에 의한  $\geq 10\%$  간 지방 감소(각각 -7%, -9%, 및 -9%) 가 있는 43% 환자에서 Fibroscan® 에 의해 측정된 간 경직도의 경향이 있거나 통계적으로 유의한 감소가 있었다.

[0197] 결과를 추가로 하기 표에 요약한다:

[0198] **상위 라인 데이터 요약 (제 28 일 대 기준선)**

[0199] 아래의 모든 표에서, \* 는  $p$ -값  $< 0.05$  를 나타내고; \*\* 는  $p < 0.01$  을 나타내고; \*\*\* 는  $p < 0.001$  을 나타낸다

중양값	<u>50 mg QD</u> (n=21-23)	<u>150 mg QD</u> (n=20-21)	<u>300 mg BID</u> (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)
비-HDL-C	-8% (n=23)	-5% (n=20)	-1% (n=21)
트리글리세라이드	-13%* (n=23)	-3% (n=20)	-2% (n=21)
혈소판	+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%

[0200]

[0201]

ALT = 알라닌 아미노트랜스퍼라제; AST = 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제; GGT = 감마-글루타미드 트랜스퍼라제; LDL-C (저밀도 지단백질 - 콜레스테롤); 비-HDL-C (고밀도 지단백질 - 콜레스테롤을 제외한 총 콜레스테롤); QD (하루에 1 회); BID (하루에 2 회)

비침습성 섬유증 점수			
중양값	<u>50 mg QD</u>	<u>150 mg QD</u>	<u>300 mg BID</u>
FIB-4	-6%	-4%	-15%**
APRI	-14%	-7%	-26%***

[0202]

[0203]

FIB 4 점수는 환자 연령, 혈소판 수, AST 및 ALT 값에 기초한 비침습성 간 섬유증 평가이다.

[0204]

APRI (아스파테이트 아미노트랜스퍼라제 대 혈소판 비율 지수) 는 섬유증의 수준 및 간경화를 측정하기 위해 사용되는 많은 다른 종류의 검사 중 하나이다.

비침습성 영상화			
중양값	<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)

[0205]

[0206]

MRI-PDFF 는 자기 공명 영상 - 양성자 밀도 지방 분획이고 지방으로 구성된 간 조직의 비율의 비침습적 측정이다.

[0207]

FibroScan 은 간 조직의 경직도를 측정하는 전문화된 초음파 기계이다.

[0208] 하기 표는 MRI-PDFE 에서  $\geq 10\%$  감소가 있는 환자에서 제 28 일 대 기준선 데이터를 보여준다

임상 화학			
MRI-PDFE 에서 $\geq 10\%$ 감소가 있는 환자			
중앙값	<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%*
비-HDL-C	-10%	-8%*	-12%*
트리글리세라이드	-9%	0%	-8%
혈소판	+6%*	-2%	+2%
CK18, M30	-22.8%***	-3.8%	-42.1%*
CK18, M65	-28.1%***	-8.7%	-55.8%*

[0209]

비침습성 섬유증 점수			
MRI-PDFE 에서 $\geq 10\%$ 감소가 있는 환자			
중앙값	<u>50 mg QD</u>	<u>150 mg QD</u>	<u>300 mg BID</u>
FIB-4	-19%**	-6%	-21%***
APRI	-27%***	-16%	-36%***

[0210]

비침습성 영상화			
MRI-PDFE 에서 $\geq 10\%$ 감소가 있는 환자			
중앙값	<u>50 mg QD</u> (n=9)	<u>150 mg QD</u> (n=9)	<u>300 mg BID</u> (n=9)
MRI-PDFE	-18%***	-19%***	-23%***
Fibroscan	-7%	-9%**	-9%

[0211]

바이오마커			
투여 종료시 기저선으로부터의 % 변화 (제 28 일에서의 중앙값)			
바이오마커	50 mg QD	150 mg QD	300 mg BID
사이토케라틴 18, M30	-14.6	-8.6	-16.1
사이토케라틴 18, M65	-18.1	-9.9	-35.0
C 반응성 단백질	-13.9	-11.8	1.7
플라스미노겐 활성화자 억제제-1	-13.5	-13.7	-8.2
인터류킨-1 베타	-0.1	-0.6	-0.2
인터류킨-6	-6.0	1.7	5.4
인터류킨-12	0.0	0.0	0.0
인터류킨-17	-1.3	-16.4	-0.8
인터류킨-18	-8.9	-5.0	-2.1
중양 괴사 인자	-3.2	-2.9	-7.9
담즙산	0.0	0.0	1.6
아디포넥틴	-1.6	-3.8	3.9
아디포넥틴, HMW	0.0	1.0	1.0

[0212]

[0213] **약동학**

[0214] 투여된 25HC3S 의 약동학을 결정하였다. 평균 (표준 편차) 약동학적 파라미터를 도 1 과 하기 표에 요약하였다.

[0215] **약동학적 파라미터의 참조**

[0216] 혈장 농도 데이터로부터 25HC3S 에 대해 하기 PK 파라미터를 추정하였다.

[0217]  $C_{max}$  25HC3S 의 최대 관찰 혈장 농도

[0218]  $T_{max}$   $C_{max}$  의 시간 (관찰된 시점)

[0219]  $C_{last}$  혈장 내 25HC3S 의 마지막 관찰된 정량가능 농도

[0220]  $T_{last}$   $C_{last}$  의 마지막 관찰된 시점

[0221]  $AUC_{0-12}$  0 내지 투여-후 12 시간까지의 혈장 농도 대 시간 곡선 하 면적. 선형/로그 사다리꼴 규칙에 의해 계산됨.

[0222]  $AUC_{0-last}$  시간 0 으로부터 정량화의 한계를 초과하는 최종 측정된 농도까지의 혈장 농도 대 시간 곡선 하 면적 (선형/로그 사다리꼴 규칙).

[0223]  $C_{min}$  25HC3S 의 최소 관찰 농도

[0224]  $T_{last}$   $C_{last}$  의 마지막 (관찰된 시점)

[0225]  $AUC_{inf}$  무한한 시간으로 외삽된 농도 대 시간 곡선 하 면적 (선형/로그 사다리꼴 규칙),  $AUC_{0-last} + (C_{last}/\lambda)$  으로서 계산됨

[0226]  $\%AUC_{exp}$   $AUC_{0-last}$  및  $AUC_{inf}$  사이에 외삽된 AUC 의 백분율

[0227]  $T_{1/2}$  혈장 중 약물의 최종 제거 반감기의 추정치, 2 의 자연 로그를 최종 제거 속도 상수 ( $\lambda$ ) 로 나눔으로써 계산됨

[0228]  $\lambda$  혈장 농도 대 시간 곡선의 말단 로그-선형 부분과 연관된 일차 속도 상수.

[0229] CL/F 약물 투여 후 겔보기 소거율:  $CL = \text{투여량} / AUC_{inf}$ , 여기서 '투여량' 은 약물의 투여량이다.

[0230]  $V_z/F$  25HC3S 의 겔보기 부피 분포.

약동학			
파라미터	50 mg OD (n=22)	150 mg OD (n=21)	300 mg BID (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)
대사물/약물 비율	0.04 (0.04)	0.11 (0.03)	0.12 (0.04)

[0231]

[0232] 연구 전에 및 연구 중에, 대상체의 일부는 스타틴 (아토르바스타틴, 프라바스타틴, 로수바스타틴 또는 심바스타틴) 을 투여받았다. 25HC3 및 스타틴을 둘 다 투여받은 대상체는 하기 표에 나타난 바와 같이 투여 후 제 28 일에 트리글리세라이드 및 비-HDL 이 감소되었다:

환자	평균 TG 에서 기준선 평균	평균 비-HDL 에서 기준선 평균	증양값 TG 에서 기준선 평균	증양값 비- HDL 에서 기준선 평균
스타틴에 대해 모두 (n = 20)	-2%	-9%	-6%	-9%
1명의 열외자를 제외한 스타틴에 대해 모두 (n = 19)	-10%	-11%	-9%	-10%

[0233]

[0234] 결론

[0235] 본 실시예는 낮은 투여량이 더 높은 투여량과 비교하여 감소된 간 지방 (예를 들어, MRI-PDFF 에 의해 측정됨) 을 초래하였음을 보여주었다. 본 실시예는 중간 투여량이 개선된 저밀도 지단백질 콜레스테롤 (LDL-C) 수준을 초래하였음을 보여주었다. 본 실시예는 높은 투여량이 개선된 간 기능을 시사하는 개선된 효소 수준 (예를 들어, ALT, AST, GGT) 을 초래하였음을 보여주었다.

[0236] 실시예 2

[0237] 개관

[0238] 본 실시예는 NASH 가 있는 대상체 및 대조 건강한 대상체에 투여된 25HC3S 의 무작위, 용량 범위, 단일 용량 안전성 및 약동학적 연구였다. 본 연구는 경구 25HC3S 의 2 개의 단일-용량 수준을 평가하는 2 개의 연속적인 코호트에서 수행되었다. 각 코호트에 대해, NASH 를 갖는 10 명의 대상체를 등록시켰고, 이들은 간경변과 비간경변으로 추가로 분류되었다. 각 대상체는 오직 1 회 용량의 연구 치료를 받았다. 두 번째 코호트는 코호트 1로부터의 안전성 및 내약성 데이터의 검토 후에 투약되었다. 코호트 1 은 50 mg 의 25HC3S 나트륨을 투여받았고 코호트 2 는 200 mg 의 25HC3S 나트륨을 투여받았다.

[0239] 결과

[0240] 25HC3S 의 약동학적 (PK) 혈장 농도는 하기 표 2.1 (50 mg 투여량) 및 표 2.2 (200 mg 투여량) 에 요약된다. 혈장 25HC3S 수준은 코호트 1 건강한 대상체에 대해 투여 후 12 시간까지 및 코호트 2 건강한 대상체에 대해 투여 후 16 시간까지 검출가능하였다 (표 2.1). 혈장 프로파일은 50 mg 25HC3S (도 2) 및 200 mg 25HC3S (도 3) 의 투여 후 건강한 대상체와 NASH 대상체 둘 다에 대해 유사하였다. 건강한 대상체에 대해, 투여량

의 4 배 증가는 평균  $C_{max}$  (50 mg 투여량:  $93.967 \pm 27.343$  ng/mL 및 200 mg 투여량:  $260.500 \pm 54.779$  ng/mL) 에서 대략 3 배 증가를 초래하였다. 이는 AUC 파라미터에 대해서도 관찰되었다 (표 2.1 및 2.2).

유사하게, NASH 대상체는 또한 투여량에서 4 배 증가에 대해  $C_{max}$  및 AUC 파라미터 모두에서 대략적인 3 배 증가를 나타냈다 (표 2.1 및 2.2). 평균  $\%AUC_{exp}$  는 낮았으며, 이는 혈액 샘플링 스케줄이 계산이 가능한 AUC 의 대부분을 포착하기에 적절하였음을 시사한다.

[0241] 개별 혈장 오버레이 플롯은 건강한 (n=6) 대상체와 NASH (n=10) 대상체에 대한 상이한 대상체 수에도 불구하고, NASH 대상체는  $C_{max}$  및 AUC 파라미터에 대해 더 큰 가변성을 나타내는 경향이 있음을 나타내었다. NASH 대상체에서, 기하 평균  $C_{max}$  는 코호트 1 및 2 에 대해 건강한 대상체에 비해 18-24% 만큼 증가하였고, 이는 NASH 대상체에서 25-50% 더 높은 CV% 기하 평균을 동반하였다 (표 2.1). 기하 평균  $AUC_{0-12}$  및  $AUC_{0-last}$  은 코호트 1 에서 NASH 와 건강한 대상체 사이에서 유사하였지만, 코호트 2 에서 대략 30% 더 높은 경향이 있었고, 여기서 %CV 는 NASH 대상체에서 50% 더 높았다.  $AUC_{0-inf}$  (코호트 2) 는 NASH 대상체에서 대략 20% 더 높았다. 따라서, 더 높은 %CV 를 고려하였을 때,  $C_{max}$  및 AUC 의 측면에서 건강한 대상체와 NASH 대상체 사이의 명확한 차이가 없음으로 결론지어졌다 (표 2.1).

[0242] 표 2.1 코호트 1 (50 mg 25HC3S 나트륨): 약동학적 파라미터

건강 상태	대상체 번호	$T_{1/2}$ (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)
건강한	N	2	6	6	4	6	2	2	2
	평균	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
	기하학적 평균	1.889	2.834	90.946	496.7	450.0	423.3	321.95	118.11
	CV% 기하학적 평균	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
	평균	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
	기하학적 평균	1.670	2.305	107.627	597.8	476.1	608.3	198.01	82.19
	CV% 기하학적 평균	8.03	29.81	35.26	31.66	42.20	32.82	27.09	32.82

[0243]

[0244] 표 2.2 코호트 1 (200 mg 25HC3S 나트륨): 약동학적 파라미터

건강 상태	대상체 번호	T <sub>1/2</sub> (h)	T <sub>max</sub> (h)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC <sub>0-12</sub> (h*ng/mL)	AUC <sub>0-last</sub> (h*ng/mL)	AUC <sub>inf</sub> (h*ng/mL)	V <sub>d</sub> /F (L)	CL/F (L/h)
건강한	N	6	6	6	6	6	6	6	6
	평균	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
	기하학적 평균	1.719	2.528	255.698	1162.8	1172.5	1181.2	419.93	169.32
	CV% 기하학적 평균	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
	평균	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
	기하학적 평균	2.196	2.647	318.582	1495.2	1539.2	1411.8	448.71	141.66
	CV% 기하학적 평균	53.22	51.05	32.61	25.82	24.23	16.28	62.39	16.28

[0245]

[0246]

투여 전후에 측정된 일시적 탄성영상 (TE) 및 자기 공명 탄성영상 (MRE) 에 의한 간 경직도는 50 mg 에서 -11%(TE) 또는 -6% (MRE), 150 mg 에서 -7% (TE) 또는 4% (MRE), 600 mg 군에서 -2% (TE) 또는 0% (MRE) 로 변화하였다.

[0247]

4 주 투여 종료시에, 간 섬유증 마커인 pro-C3 의 혈장 수준은 각각 50 mg, 150 mg 및 600 mg 투여군에서 기준선으로부터 -8%, -1% 및 -5% 감소하였다. 투여 후 2 주째 팔로업에서, pro-C3 수준은 각각 50 mg, 150 mg 및 600 mg 을 투여한 군에서 기준선으로부터 -7%, 8% 및 1% 였다.

[0248]

전반적인 개선은 또한 4 주 25HC3S 처리 후 인슐린 저항성 (HOMA-IR) 에 대한 항상성 모델 평가에 의해 인슐린 저항성에서 관찰되었다. 투여 종료시에, HOMA-IR 은 각각 50 mg, 150 mg 및 600 mg 을 투여한 군에서 기준선으로부터 -22%, -18% 및 1% 였다. 투여 후 2 주째 팔로업에서, 이것은 50 mg 을 투여한 군에서 기준선으로부터 -10%, 150 mg 및 600 mg 을 투여한 군에서 각각 17% 및 3% 였다.

[0249]

**결론**

[0250]

이 보고서는 50 mg (코호트 1) 내지 200 mg (코호트 2) 의 투여량에서 정상적인 건강한 대상체 및 NASH 대상체에게 경구 투여 후 25HC3S 의 약동학을 제시한다. 코호트 2 의 건강한 대상체는 CL/F 가 171.25 ± 28.60 L/h 및 V<sub>d</sub>/F 434.05 ± 128.07 L 로 결정될 수 있도록 충분한 데이터를 제공하였다. 이는 건강한 대상체 군 및 NASH 대상체 군 둘 다에 걸쳐 1.674 시간 내지 2.511 시간 범위의 평균 값으로 비교적 일정하게 유지되는 T<sub>1/2</sub> 결과에 의해 뒷받침되었다. AUC<sub>0-last</sub> 및 AUC<sub>inf</sub> 는 코호트 내에서 일관되었고, C<sub>max</sub> 와 함께 25HC3S 투여량 증가에 따른 비례적 방식보다 덜 증가하는 경향이 있었다.

[0251]

건강한 대상에 대한 NASH 에 대해 C<sub>max</sub> (기하 평균) 의 18-24% 증가가 관찰되었다. 그러나, NASH 대상체에 대한 더 큰 CV% 기하 평균은 이러한 관찰을 결정적이지 않게 하였다. 유사하게, 노출 (AUC 파라미터) 을 고려하였을 때, NASH 대상체에서 잠재적인 증가 경향 (31% 까지) 은 더 높은 CV% 기하 평균에 의해 대응되었다. 따라서, 25HC3S 가 건강한 대상체 또는 NASH 환자에게 투여되었든 간에 약동학에 있어서 명백한 차이가 발생하지 않은 것으로 결론내렸다.

[0252]

**실시예 3**

[0253]

**목적**

[0254]

본 연구의 목적은 수컷 Sprague Dawley 래트에서 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S-유래 방사능의 혈장 약동학을 결정하고, 수컷 Sprague Dawley 래트에서 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S-유래 방사능의 제거 및 배출 질량 균형의 경로를 결정하고, 단일 정맥 내 (볼루스) 투여 후 수컷 Sprague Dawley 및 Long Evans 래트에서 정량적 전신 자가방사능법을 사용하여 [4-

<sup>14</sup>C]-25HC3S-유래 방사능의 조직 분포 및 조직 약동학을 결정하고, [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S-유래 방사능의 대사물 프로파일링을 위한 혈장, 소변 및 대변 균질물 샘플을 제공하는 것이었다.

[0255] 연구 디자인

[0256] 9 마리의 수컷 Sprague Dawley 래트 (그룹 1) 를 약동학적 상으로, 3 마리의 수컷 Sprague Dawley 래트 (그룹 2) 를 배설 질량 균형 상으로, 7 마리의 수컷 Sprague Dawley 래트 (그룹 3) 및 9 마리의 수컷 Long Evans 래트 (그룹 4) 를 조직 분포 상으로 지정하였다. 모든 동물은 10 mg/kg 의 [<sup>14</sup>C]-25HC3S 의 단일 정맥내 용량 및 225 µCi/kg 의 표적 방사능을 받았다. 대략 투여 후 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 및 72 시간에 모든 그룹 1 동물로부터 혈액 샘플을 수집하였다. 투여 후 168 시간 동안 주기적으로 모든 그룹 2 동물로부터 소변 및 대변을 수집하였다. 그룹 3 에 대해 대략 투여 후 0.083, 0.5, 1, 4, 8, 24, 및 168 시간 및 그룹 4 에 대해 대략 투여 후 0.083, 0.5, 1, 4, 8, 24, 168, 336, 및 504 시간 후, 1 동물/그룹/시점을 이소플루란으로 마취시키고 혈액 샘플을 수집하였다. 혈액 수집 후, 동물을 CO<sub>2</sub> 흡입에 의해 안락사시키고, 정량적 전신 자가방사능법에 의한 처리를 위해 사체를 드라이아이스/헥산 배스에서 냉동시켰다. 전혈, 혈장, 소변, 대변, 케이지 린스액, 및 케이지 세척액은 액체 섬광 계수에 의해 총 방사능에 대해 분석되었다.

[0257] 결과 및 주요 결과

[0258] 10 mg/kg 으로 래트에 투여된 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 의 단일 정맥내 (볼루스) 투여 후, 평균 혈장 C<sub>0</sub> 은 25,900 ng-equiv./g 이었고, AUC<sub>last</sub> 은 27,900 h\*ng-equiv./g 이었다. 최종 제거 상 T<sub>1/2</sub> 은 26.6 시간이었다.

[0259] 배설 데이터에 기초하여, 투여된 용량의 대략 100.2% 가 10 mg/kg 의 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 의 단일 정맥내 (볼루스) 투여량에 이어 래트로부터 소변, 대변 및 케이지 린스액에서 168 시간에 걸쳐 회수되었다. 회수된 방사능의 대부분은 대변 (83.0%) 에 있었으며, 이는 담도 배출이 쥐에서 1 차 배출 경로임을 나타낸다.

[0260] 그룹 3 의 수컷 Sprague Dawley 래트에 10 mg/kg 으로 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 를 단일 정맥내 (볼루스) 투여한 후, [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 및/또는 그의 대사물을 광범위하게 분포시키고, 눈 (렌즈) 을 제외한 모든 조직에서 정량적 전신 자가방사능법으로 검출하였다. 혈장 농도는 약동학 상에서 측정된 것과 유사하였다. 전혈 C<sub>max</sub> 는 8530 ng-equiv/g 이었고, AUC<sub>last</sub> 는 25,200 h\*ng-equiv./g 이었다. 0.79 의 혈장:전혈 AUC<sub>last</sub> 비로 측정된 바와 같이, 혈장 및 전혈 노출에서 무시할만한 차이가 있었으며, 이는 25HC3S 가 혈장 및 혈액 세포로 동등하게 분할 되었음을 나타낸다. T<sub>1/2</sub> 은 혈장에서 44.3 시간이었고, 전혈에서 52.2 시간이었으며; PK 상과 QWBA 상 사이의 혈장 T<sub>1/2</sub> 의 차이는 혈액 수집 시점의 차이로 인한 것이다.

[0261] [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S-유래 방사능에 대한 C<sub>max</sub> 및 AUC<sub>last</sub> 는 간에서 가장 높았다: 각각 최대 87,900 ng-equiv./g 및 364,000 h·ng/g. 신장 (모든 섹션), 소장 (벽), 폐, 및 부신 농도는 12,400 ng-equiv./g 의 최대 혈장 농도 보다 높은, 43,200 ng-equiv./g 내지 13,600 ng-equiv./g 의 범위였다. 흉선, 뼈 (대퇴골), 포도막, 지방, 고환 및 뇌 농도는 다른 조직에 비해 가장 낮았다: < 5000 ng-equiv./g (약 1500 ng-equiv./g). 나머지 조직은 5000 내지 10,800 ng-equiv./g 의 농도를 가졌다. T<sub>max</sub> 는 가장 종종 투여 후 0.083 내지 0.5 시간 이었다. 투여 후 168 시간까지 부신, 하르더샘 (harderian gland), 간 및 소장을 제외한 모든 조직에서 농도는 정량 한계 미만이었다. AUC<sub>last</sub> 을 사용하여 계산한 바와 같이, 조직:혈장 비는 간 및 소장 (벽) 에 대해 각각 11.4 및 7.44 로 높았다. 높은 간 및 소장 농도는 정맥내 투여에 따른 광범위한 담즙 (대변) 배출 과 일치한다. 다른 모든 조직:혈장 비율은 나머지 조직 유형에 대해 제한된 친화성을 나타냈다.

[0262] 10 mg/kg 으로 수컷 Long Evans 래트에 [4-<sup>14</sup>C]-25HC3S 의 단일 정맥내 투여량의 투여는 Sprague Dawley 래트에 비해 투여 후 첫 168 시간에 걸쳐 혈장 또는 전혈 농도의 실질적인 차이를 나타내지 않았다; 혈장 및 전혈 농도는 색소침착된 동물에서 투여 후 336 시간까지 혈장 및 전혈에서 정량 한계 미만이었다. 색소침착된 또는 비-색소침착된 피부 또는 포도막에 대한 결합에서 차이가 없는 것으로 나타났고; 모든 조직에 대해, 농도는 투여 후 168 시간까지 정량 한계 미만이었다.

[0263] 래트로부터의 혈장, 소변 및 대변을 분석하여 25HC3S 관련 방사성표지된 물질을 결정하였다. 방사능검출이

있는 고성능 액체 크로마토그래피를 사용하여 샘플을 프로파일링하고, 질량 분광법 및 탠덤 질량 분광법 분석을 사용하여 대사 특성화를 수행하였다.

[0264] 혈장 풀은 0.083, 0.25, 0.5, 및 1-시간 수집 시점에서 그룹 1 래트로부터 만들었다. 이들 그룹 1 샘플 풀 및 그룹 3 0.083-시간 혈장 샘플로부터, 0.083- 및 0.25-시간 수집에 존재하는 가장 큰 성분은 방사능의 약 58% 내지 92% 를 나타내는 모체 25HC3S 에 기인하였다. 0.5- 및 1-시간 수집물에서 방사능의 > 10% 에 존재하는 3 개의 대사물은 M14 (최대 15% 상대 관찰 강도), M24 (최대 13% 상대 관찰 강도), 및 M28 (최대 83% 상대 관찰 강도) 이었다. 대사물 프로파일링 및 특성화에 적합한 방사능을 갖는 시점 (투여 후 1 시간까지) 중에서, 25HC3S 에 대한 노출 (AUC) 의 대략 54% 는 25HC3S 에 기인하고, 대략 34% 는 M28 에 기인하고, 나머지는 소수 대사물에 기인한다.

[0265] 소변 풀을 투여 후 0 내지 6 및 6 내지 12 시간에 그룹 2 에 대해 제조하였다. 존재하는 가장 큰 성분은 방사능의 약 78% 내지 93% 를 나타내는 모체 25HC3S 에 기인하였다. 총 4 개의 대사물이 확인되었지만, 투여량의 > 1.2% 또는 > 10% 의 상대 관찰된 강도에서 대사물이 존재하지 않았다. 적어도 1 개의 샘플에서 < 10% 의 상대 관찰 강도로 존재하는 4 개의 대사물은 M7 (< 5% 상대 관찰 강도), M16 (< 3% 상대 관찰 강도), M19 (< 6% 상대 관찰 강도), 및 M25 (< 5% 상대 관찰 강도) 였다.

[0266] 대변 풀을 투여 후 0 내지 12, 12 내지 24, 및 24 내지 48 시간에 그룹 2 에 대해 제조하였다.

[0267] 총 14 개의 대사물이 확인되었다. 투여량의  $\geq 5\%$  에 존재하는 4 개의 대사물은 M1 (투여량의 21% 및 23% 내지 30% 상대 관찰 강도), M2 (투여량의 7% 및 4% 내지 12% 상대 관찰 강도), M3 (투여량의 15% 및 13% 내지 23% 상대 관찰 강도), 및 M4 (투여량의 8% 및 6% 내지 12% 상대 관찰 강도) 였다. 모체 25HC3S 는 투여량의 2% (1% 내지 5% 상대 관찰 강도) 로 존재하였다.

[0268] 1 차 대사 경로는 25HC3S 의 산화를 수반하여 술페이트 기의 히드록실 기로의 전환을 초래하고, 이어서 추가로 산화시켜 테옥시콜산 및 콜산 또는 이들의 이성질체와 관련된 담즙산 구조를 형성하는 것을 수반하였다. 또한, 테옥시콜산 (또는 테옥시콜산의 이성질체) 의 글루타티온 컨쥬게이션은 그 구조에 상응하는 분자량을 갖는 대사물의 존재에 의해 제안되었다. 데스모스테롤 술페이트 또는 25-히드록시콜레스테롤도 혈장, 소변 또는 대변 샘플 중 어느 것에서도 검출되지 않았다.

[0269] **실시예 4**

[0270] 75 mg/kg 으로 래트에 투여된 [<sup>14</sup>C]-25HC3S 의 단일 경구 (위관영양) 투여 후, 혈장 C<sub>max</sub> 는 3800 ng-equiv./g 이었고, AUC<sub>last</sub> 은 96,400 h\*ng-equiv./g 이었다. 최종 제거 상 T<sub>1/2</sub> 은 27.3 시간이었다.

[0271] 배출 데이터에 기초하여, 투여된 용량의 대략 94.5% 가 75 mg/kg 의 [<sup>14</sup>C]-25HC3S 의 단일 경구 (위관영양) 투여량에 이어 래트로부터 소변, 대변 및 케이지 린스액에서 회수되었다. 회수된 방사능의 대부분은 대변 (94.2%) 에 있었으며, 이는 담도 배출이 쥐에서 흡수된 25HC3S 에 대한 1 차 배출 경로임을 나타낸다.

[0272] 수컷 Sprague Dawley 래트에 75 mg/kg 으로 [<sup>14</sup>C]-25HC3S 를 단일 경구 (위관영양) 투여한 후, [<sup>14</sup>C]-25HC3S 및/또는 그의 대사물을 광범위하게 분포시키고, 눈 (렌즈) 을 제외한 모든 조직에서 정량적 전신 자가방사능법으로 검출하였다. 눈 (렌즈) 에서 [<sup>14</sup>C]-25HC3S-유래 방사능은 검출되지 않았다. 혈장 농도는 약동학 상에서 측정된 것과 유사하였고, 정량 한계 미만을 넘었다. 전혈 C<sub>max</sub> 는 2850 ng equiv/g 이었고, AUC<sub>last</sub> 는 127,000 h · ng-equiv./g 이었다. 1.12 의 혈장:전혈 AUC<sub>last</sub> 비율로 측정된 바와 같이, 혈장 및 전혈 노출에서 무시할만한 차이가 있었으며, 이는 25HC3S 가 혈장 및 혈액 세포로 대략 동등하게 분할되었음을 나타낸다.

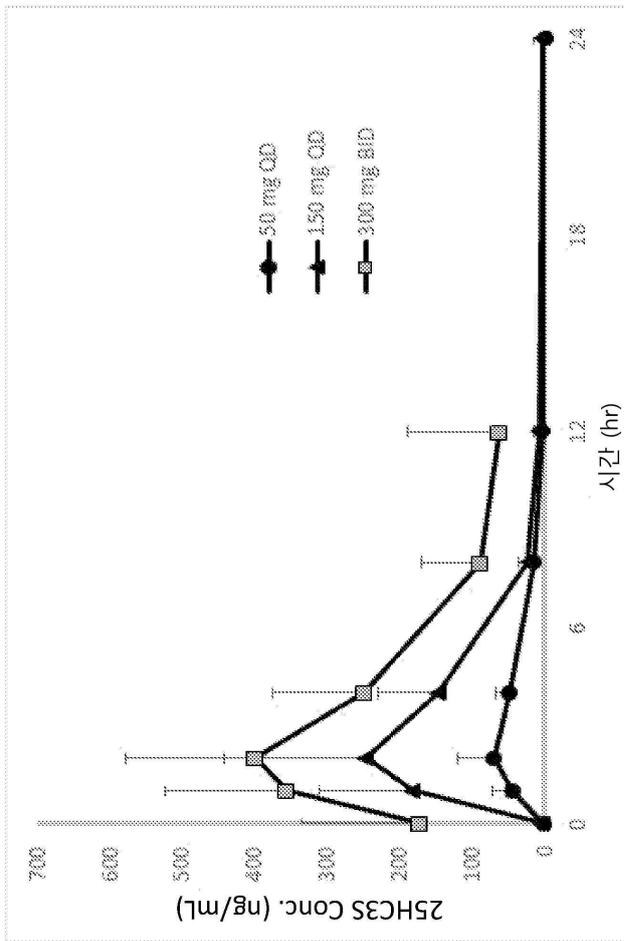
[0273] 정량적 전신 자가방사능법에 의해 분석된 조직에 대해, [<sup>14</sup>C]-25HC3S-유래 방사능에 대한 C<sub>max</sub> (여기서 측정가능함) 는 소장 (벽) 에서 가장 높았고, 그 다음 위 (벽) 이었다: 각각 424,000 ng equiv./g 및 204,000 ng equiv./g. 췌장 및 간 농도는 23,500 ng equiv./g 내지 28,100 ng equiv./g 의 범위였다. 포도막 및 뇌 농도는 다른 조직에 비해 가장 낮았고, 대략 1000 ng equiv./g 이었다. 피부, 흉선, 전립선 및 뇌하수체 조직 농도는 < 3000 ng equiv./g 이었다. 나머지 조직은 3600 ng-equiv./g 내지 10,700 ng equiv./g 의 농도를 가졌다. T<sub>max</sub> 는 투여 후 6 시간 이하였다. 투여 후 168 시간까지, 부신과 간을 제외한 모든 조직에서 조직 농도는 정량 한계 근처 또는 미만이었다. AUC<sub>last</sub> 를 사용하여 계산한 바와 같이, 조직:혈장 비

울은 소장 (벽, 15.4) 에 대해 가장 높았고, 이어서 간 및 부신에 대해 각각 6.96 및 6.64 로 나타났다. 높은 간 및 소장 농도는 경구 투여 및 담도 (대변) 배출과 일치한다. 다른 모든 조직:혈장 비율은 나머지 조직 유형에 대해 제한된 친화성을 나타냈다.

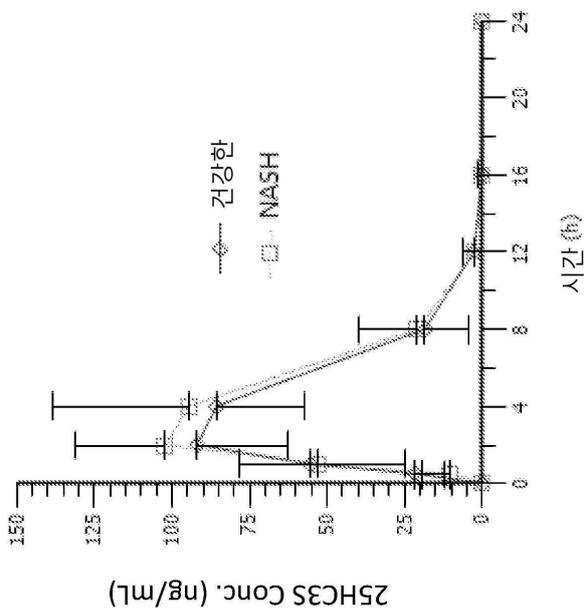
- [0274] 혈장 및 대변 추출물 중 방사성표지된 성분을 프로파일링하고, 방사성 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 및 고성능 액체 크로마토그래피/질량 분광법 (HPLC/MS) 을 사용하여 확인하였다.
- [0275] 대사체 프로파일링 및 식별을 필요로 하는 충분한 방사능을 함유하는 소변 샘플은 없었다.
- [0276] 투여 후 2, 4 및 6 시간에 수집된 그룹 1 (75 mg/kg, [<sup>14</sup>C]-25HC3S) 샘플에 대해 혈장 풀을 제조하였다. 투여 후 2 시간 혈장에서, 1 차 방사성표지된 성분은 63% 상대 관찰 강도 (ROI) 및 2090 ng-equiv./g 의 농도로 존재하는 모체 25HC3S 였다. 하나의 대사물 M29 는 37% ROI 및 1233 ng-equiv./g 의 농도를 갖는 25-히드록시콜레스테롤로서 확인되었다. 투여 후 4 및 6 시간에서의 혈장 수집은 방사선프로파일링을 위한 충분한 농도를 포함하지 않았다.
- [0277] 투여 후 0 내지 24, 24 내지 48, 48 내지 72, 72 내지 96, 96 내지 120, 120 내지 144, 및 144 내지 168 시간 으로부터 수집된 그룹 2 (75 mg/kg, [<sup>14</sup>C]-25HC3S) 샘플을 위해 대변 풀을 제조하였다. 총 11 개의 대사물이 확인되었다. 대사물들 중 어느 것도 투여량의  $\geq 5\%$  로 존재하지 않았다. 투여량의 2 내지 5% 에서 존재하는 대사물은 M1 (총 투여량의 4.5% 및 1% 내지 69% ROI), M3 (총 투여량의 4.6% 및 1% 내지 44% ROI), M4 (총 투여량의 2.0% 및 0% 내지 10% ROI), M8 (총 투여량의 3.1% 및 1% 내지 46% ROI), M29 (총 투여량의 1.9% 및 0% 내지 2% ROI), 및 M30 (총 투여량의 3.3% 및 0% 내지 5% ROI) 이었다. 1 차 방사성표지된 성분 은 모체 25HC3S 였고, 이는 총 투여량의 71.1% (0% - 88% ROI) 로 존재하였다.
- [0278] 방사성표지된 테스모스테롤 술페이트는 혈장 또는 대변 샘플 중 어느 것에서도 발견되지 않았다.
- [0279] 1 차 대사 경로는 25HC3S 의 산화를 수반하여 술페이트 기의 히드록실 기로의 전환을 초래하고, 이어서 추가로 산화시켜 테옥시콜산 및 콜산 또는 이들의 이성질체와 관련된 담즙산 구조 및 25-히드록시콜레스테롤을 형성하는 것을 수반하였다.

도면

도면1



도면2



도면3

