

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-536710

(P2018-536710A)

(43) 公表日 平成30年12月13日(2018.12.13)

| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|---------------------------------|----------------|-------------|
| A 6 1 K 31/22 (2006.01) | A 6 1 K 31/22 | 4 C 0 8 4 |
| A 6 1 K 31/194 (2006.01) | A 6 1 K 31/194 | 4 C 0 8 6 |
| A 6 1 K 31/40 (2006.01) | A 6 1 K 31/40 | 4 C 2 0 6 |
| A 6 1 K 31/505 (2006.01) | A 6 1 K 31/505 | |
| A 6 1 K 31/366 (2006.01) | A 6 1 K 31/366 | |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁) 最終頁に続く

| | | | |
|---------------|------------------------------|----------|---|
| (21) 出願番号 | 特願2018-543283 (P2018-543283) | (71) 出願人 | 518156509 |
| (86) (22) 出願日 | 平成28年11月7日 (2016.11.7) | | ジェンファイア・セラピューティクス・インコーポレイテッド |
| (85) 翻訳文提出日 | 平成30年5月10日 (2018.5.10) | | Gemphire Therapeutics Inc. |
| (86) 国際出願番号 | PCT/US2016/060837 | | アメリカ合衆国48152 ミシガン州リボニア、ノース・ローレル・パーク・ドライブ17199番、スウィート401 |
| (87) 国際公開番号 | W02017/079748 | (74) 代理人 | 100145403 |
| (87) 国際公開日 | 平成29年5月11日 (2017.5.11) | | 弁理士 山尾 憲人 |
| (31) 優先権主張番号 | 62/252, 147 | (74) 代理人 | 100150500 |
| (32) 優先日 | 平成27年11月6日 (2015.11.6) | | 弁理士 森本 靖 |
| (33) 優先権主張国 | 米国 (US) | (74) 代理人 | 100176474 |
| (31) 優先権主張番号 | 62/252, 195 | | 弁理士 秋山 信彦 |
| (32) 優先日 | 平成27年11月6日 (2015.11.6) | | |
| (33) 優先権主張国 | 米国 (US) | | |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 混合型脂質異常症の治療

(57) 【要約】

IIb型高脂血症を有する対象における高レベルの脂質及びアポリポタンパク質Bを減少させるための方法及び製剤。IIb型高脂血症、NAFLD、及びNASHを含めた脂質障害の合併症を防止する、遅らせる、または後退させるための方法。一次及び二次心血管イベントを防止するまたは遅らせるための方法。このような方法に有用なキット。肝線維症を軽減する方法。血漿フィブリノーゲンレベルを減少させる方法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

I I b 型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、前記対象に、ゲムカベンを低用量または中用量のスタチンと組み合わせて投与することを含む、前記方法。

【請求項 2】

投与される前記ゲムカベンの 1 日用量が約 50 mg ~ 約 900 mg であり、投与される前記スタチンの 1 日用量が約 1 mg ~ 約 60 mg である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記ゲムカベンの 1 日用量が 1 日当たり約 50 mg ~ 約 900 mg であり、かつ

- a . 前記スタチンがアトルバスタチンであり、アトルバスタチンの 1 日用量が約 10 mg ~ 約 60 mg である；
 - b . 前記スタチンがロスバスタチンであり、ロスバスタチンの 1 日用量が約 5 mg ~ 約 30 mg である；
 - c . 前記スタチンがシンバスタチンであり、シンバスタチンの 1 日用量が約 5 mg ~ 約 60 mg である；
 - d . 前記スタチンがプラバスタチンであり、プラバスタチンの 1 日用量が約 10 mg ~ 約 60 mg である；
 - e . 前記スタチンがロバスタチンであり、ロバスタチンの 1 日用量が約 20 mg ~ 約 60 mg である；
 - f . 前記スタチンがフルバスタチンであり、フルバスタチンの 1 日用量が約 20 mg ~ 約 40 mg である；または
 - g . 前記スタチンがピタバスタチンであり、ピタバスタチンの 1 日用量が約 1 mg ~ 約 4 mg である、
- 請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

ゲムカベンの 1 日用量が約 150 mg ~ 約 600 mg である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

ゲムカベンの 1 日用量が 150 mg、300 mg、450 mg、600 mg、または 900 mg である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】

アトルバスタチンの 1 日用量が約 10 mg ~ 約 40 mg である、請求項 3 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

ロスバスタチンの 1 日用量が約 10 ~ 約 20 mg である、請求項 3 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

シンバスタチンの 1 日用量が約 10 mg ~ 約 20 mg である、請求項 3 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

プラバスタチンの 1 日用量が約 10 mg ~ 約 40 mg である、請求項 3 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

ロバスタチンの 1 日用量が約 20 ~ 約 40 mg である、請求項 3 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

フルバスタチンの 1 日用量が約 40 mg である、請求項 3 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

ピタバスタチンの 1 日用量が約 1 mg ~ 約 3 mg である、請求項 3 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記対象が、家族性複合型高脂血症、代謝症候群、耐糖能障害、炎症性疾患、肥満、NASH、NAFLD、アルコール性肝疾患、または原発性胆汁性肝硬変のうちの1つ以上を有する、請求項1から12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 14】

前記スタチン及びゲムカベンが固定用量配合剤として投与される、請求項3から13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 15】

前記対象の血漿トリグリセリドレベルが、ゲムカベン及び前記スタチンの投与から8週間以内に150mg/dl未満に減少する、請求項1から14のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項 16】

前記対象の血漿LDLコレステロールレベルが、ゲムカベン及び前記スタチンの投与から8週間以内に130mg/dl未満に減少する、請求項1から15のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 17】

前記対象のアポBレベルが、ゲムカベン及び前記スタチンの投与から8週間以内に120mg/dl未満に減少する、請求項1から15のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 18】

前記対象のミオパシーのリスクが、前記スタチン単体を投与する場合のリスクより増加しない、請求項1から17のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項 19】

前記対象の筋炎のリスクが、前記スタチン単体を投与する場合のリスクより増加しない、請求項1から17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 20】

前記対象の横紋筋融解症のリスクが、前記スタチン単体を投与する場合のリスクより増加しない、請求項1から17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 21】

前記対象が、追加的な脂質降下剤、PCSK9阻害剤、コレステロール吸収阻害剤、ACC阻害剤、アポC-III阻害剤、ACL阻害剤、医療用魚油、またはCETP阻害剤を投与される、請求項1から20のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項 22】

前記追加的な脂質降下剤がエゼチミブである、請求項21に記載の方法。

【請求項 23】

前記対象の一次心血管イベントの発症リスクが減少する、請求項1から22のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 24】

前記対象の二次心血管イベントの発症リスクが減少する、請求項1から23のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 25】

約50mg～約900mgの量のゲムカベン及び約1mg～約60mgのスタチンを含む、固定用量配合剤。

40

【請求項 26】

前記スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンであり、かつ

- a. アトルバスタチンの量が約10mg～約60mgである；
- b. ロスバスタチンの量が約5mg～約30mgである；
- c. シンバスタチンの量が約10mg～約60mgである；
- d. プラバスタチンの量が約10mg～約60mgである；
- e. ロバスタチンの量が約20mg～約40mgである；

50

f . フルバスタチンの量が約 20 mg ~ 約 60 mg である ; または

g . ピタバスタチンの量が約 1 mg ~ 約 4 mg である、

請求項 25 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 27】

ゲムカベンの量が約 150 mg ~ 約 600 mg である、請求項 26 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 28】

ゲムカベンの量が約 150 ~ 約 300 である、請求項 27 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 29】

ゲムカベンの量が約 300 mg ~ 約 450 mg である、請求項 27 に記載の固定用量配合剤。 10

【請求項 30】

ゲムカベンの量が 150 mg、300 mg、450 mg、600 mg である、請求項 26 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 31】

h . アトルバスタチンの量が 10 mg、20 mg、または 40 mg である ;

i . ロスバスタチンの量が 10 mg または 20 mg である ;

j . シンバスタチンの量が 10 mg または 20 mg である ;

k . プラバスタチンの量が 10 mg または 20 mg である ;

l . ロスバスタチンの量が 20 mg または 40 mg である ; 20

m . フルバスタチンの量が 20 mg または 40 mg である ; または

n . ピタバスタチンの量が 1 mg、2 mg、または 3 mg である、

請求項 30 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 32】

150 mg のゲムカベン及び 10 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 30 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 33】

150 mg のゲムカベン及び 20 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 30 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 34】 30

150 mg のゲムカベン及び 40 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 30 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 35】

300 mg のゲムカベン及び 10 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 30 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 36】

300 mg のゲムカベン及び 20 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 30 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 37】

300 mg のゲムカベン及び 40 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 30 に記載の固定用量配合剤。 40

【請求項 38】

600 mg のゲムカベン及び 10 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 30 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 39】

600 mg のゲムカベン及び 20 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 30 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 40】

600 mg のゲムカベン及び 40 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 30 に記載の固定用量配合剤。 50

【請求項 4 1】

900 mg のゲムカベン及び 10 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 3 0 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 4 2】

900 mg のゲムカベン及び 20 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 3 0 に記載の固定用量配合剤。

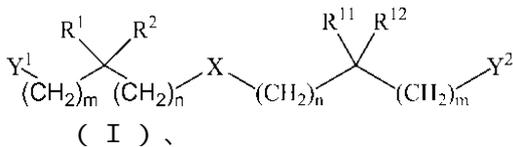
【請求項 4 3】

900 mg のゲムカベン及び 40 mg のアトルバスタチンを含む、請求項 3 0 に記載の固定用量配合剤。

【請求項 4 4】

肝脂肪症を治療または防止する方法であって、必要とする対象に有効量の式 (I) の化合物：

【化 1】

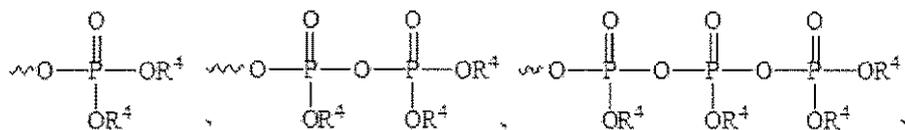


またはその医薬的に許容される塩、水和物、溶媒和物もしくはこれらの混合物を投与することを含む、前記方法

(式中、

- (a) m は、それぞれ独立して、0 ~ 5 を範囲とする整数であり、
- (b) n は、それぞれ独立して、3 ~ 7 を範囲とする整数であり、
- (c) X は、 $-(CH_2)_z-$ 、 $-O-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $CH(CH_2OH)-$ 、 $-NH-$ 、または $-S-$ (z は、0 ~ 4 の整数である) であり、
- (d) R^1 及び R^2 は、それぞれ独立して、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニル、フェニル、ベンジルであり、あるいは、 R^1 及び R^2 ならびにこれらの両方が結合する炭素は、一緒になって $(C_3 \sim C_7)$ シクロアキル基を形成し、
- (e) R^{11} 及び R^{12} ならびにこれらの両方が結合する炭素は、一緒になって、 $(C_3 \sim C_7)$ シクロアキル基を形成し、
- (f) Y^1 及び Y^2 は、それぞれ独立して、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、OH、COOH、COOR³、SO₃H、

【化 2】



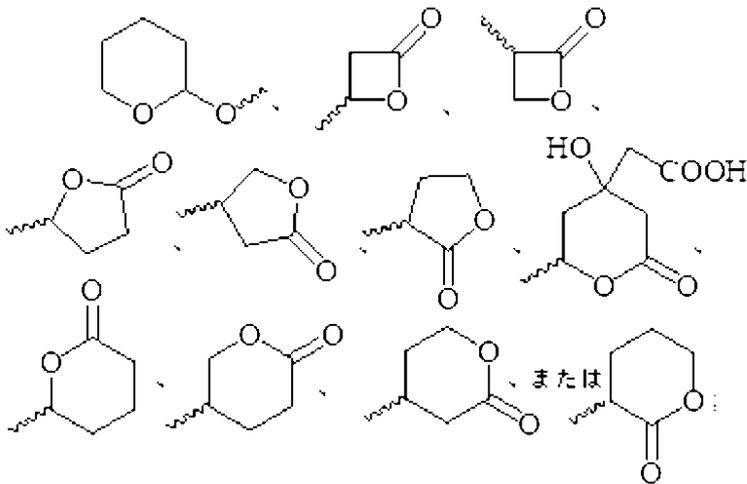
であり、

10

20

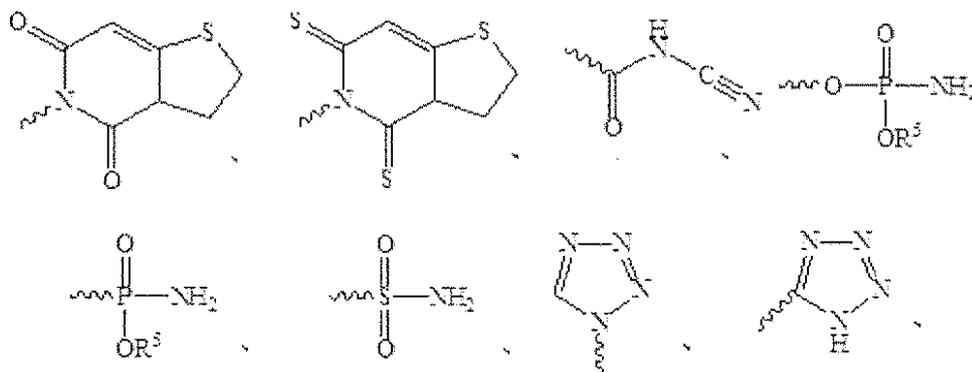
30

【化3】



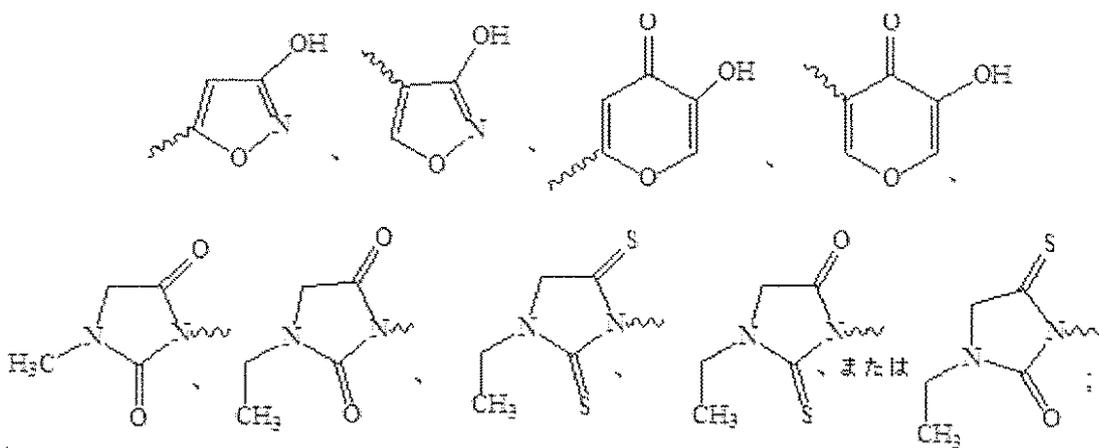
10

【化4】



20

【化5】



30

式中、

40

(i) R^3 は、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニル、フェニル、またはベンジルであり、かつ非置換であるか、または1つ以上のハロ、OH、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、もしくはフェニル基で置換され、

(ii) R^4 は、それぞれ独立して、H、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニルであり、かつ非置換であるか、または1つ以上のハロ、OH、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、もしくはフェニル基で置換され、

(iii) R^5 は、それぞれ独立して、H、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニルである)。

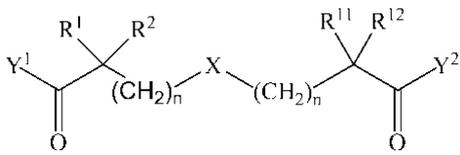
【請求項45】

肝脂肪症を治療または予防する方法であって、必要とする対象に有効量の式(I I)の

50

化合物：

【化6】



(I I)、

またはその医薬的に許容される塩、水和物、溶媒和物もしくはこれらの混合物を投与することを含む、前記方法

10

(式中、

(a) m は、それぞれ独立して、0 ~ 5 を範囲とする整数であり、

(b) n は、それぞれ独立して、3 ~ 7 を範囲とする整数であり、

(c) X は、 $-(CH_2)_z-$ 、 $-O-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $CH(CH_2OH)-$ 、 $-NH-$ 、または $-S-$ (z は、0 ~ 4 の整数である) であり、

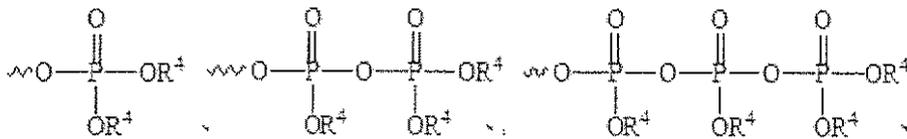
(d) R^1 及び R^2 は、それぞれ独立して、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニル、フェニル、ベンジルであり、あるいは、 R^1 及び R^2 ならびにこれらの両方が結合する炭素は、一緒になって $(C_3 \sim C_7)$ シクロアキル基を形成し、

(e) R^{11} 及び R^{12} ならびにこれらの両方が結合する炭素は、一緒になって、 $(C_3 \sim C_7)$ シクロアキル基を形成し、

20

(f) Y^1 及び Y^2 は、それぞれ独立して、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、OH、COOH、 $COOR^3$ 、 SO_3H 、

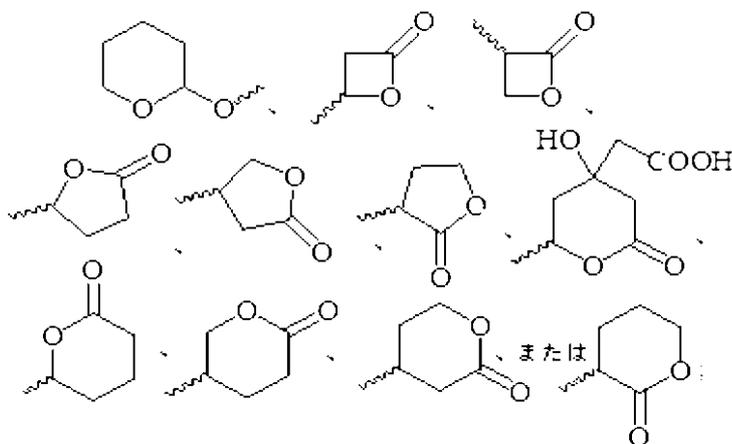
【化7】



であり、

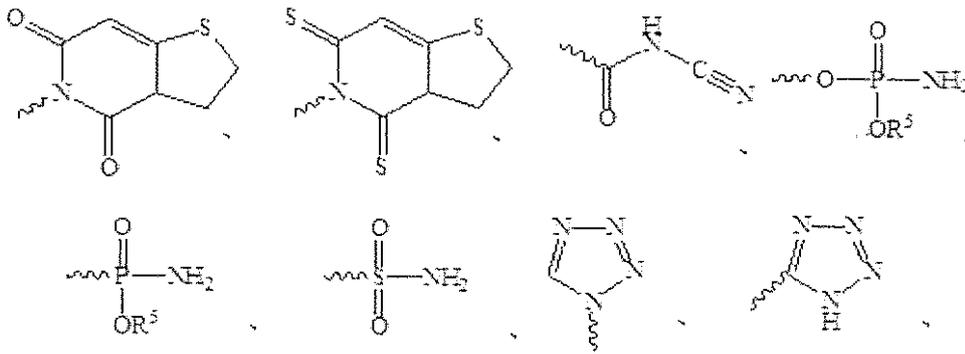
30

【化8】



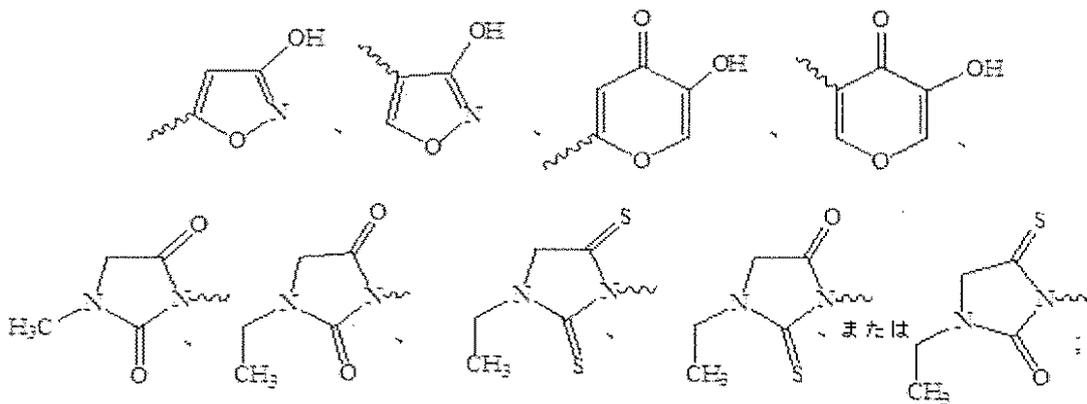
40

【化 9】



10

【化 10】



20

式中、

(i) R^3 は、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₂ ~ C₆)アルケニル、(C₂ ~ C₆)アルキニル、フェニル、またはベンジルであり、かつ非置換であるか、または1つ以上のハロ、OH、(C₁ ~ C₆)アルコキシ、もしくはフェニル基で置換され、

30

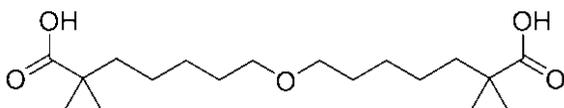
(ii) R^4 は、それぞれ独立して、H、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₂ ~ C₆)アルケニル、(C₂ ~ C₆)アルキニルであり、かつ非置換であるか、または1つ以上のハロ、OH、C₁ ~ C₆アルコキシ、もしくはフェニル基で置換され、

(iii) R^5 は、それぞれ独立して、H、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₂ ~ C₆)アルケニル、(C₂ ~ C₆)アルキニルである)。

【請求項 4 6】

前記化合物が、構造：

【化 1 1】



40

または前述のうちのいずれかの医薬的に許容される塩を有する、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

肝脂肪蓄積のリスクがある対象における肝脂肪の蓄積を減少させる方法であって、前記対象にゲムカベンを投与することを含む、前記方法。

【請求項 4 8】

前記対象が肝脂肪症を有する、請求項 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記対象が I I b 型高脂血症または家族性複合型高脂血症を有する、請求項 4 7 または

50

請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

投与される前記ゲムカベンの 1 日用量が約 50 mg ~ 約 900 mg である、請求項 47 から 49 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 51】

ゲムカベンの 1 日用量が約 150 mg ~ 約 600 mg である、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

ゲムカベンの 1 日用量が 150 mg、300 mg、450、または 600 mg である、請求項 51 に記載の方法。

10

【請求項 53】

ゲムカベンがスタチンと組み合わせて投与される、請求項 50 から 52 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 54】

前記スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンである、請求項 53 に記載の方法。

【請求項 55】

前記対象の肝疾患の発生リスクが減少する、請求項 50 から 54 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 56】

前記対象が肝疾患を有する、請求項 49 から 53 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 57】

前記肝疾患が、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)、または非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)、またはアルコール性肝脂肪症である、請求項 55 または 56 に記載の方法。

【請求項 58】

前記対象が追加的なコレステロール降下剤を投与される、請求項 47 から 57 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 59】

前記追加的な脂質降下剤が、コレステロール吸収阻害剤、PCSK9 阻害剤、ACC 阻害剤、アポ C - III 阻害剤、ACL 阻害剤、医療用魚油、または CETP 阻害剤である、請求項 58 に記載の方法。

30

【請求項 60】

前記コレステロール降下剤がコレステロール吸収阻害剤であり、前記コレステロール阻害剤がエゼチミブである、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 61】

前記肝脂肪症が NAFLD または NASH である、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 62】

対象における NAFLD 活性スコア (NAS) の安定化または減少の方法であって、前記対象にゲムカベンを投与することを含む、前記方法。

40

【請求項 63】

投与される前記ゲムカベンの 1 日用量が約 50 mg ~ 約 900 mg である、請求項 62 に記載の方法。

【請求項 64】

ゲムカベンの 1 日用量が約 150 mg ~ 約 600 mg である、請求項 63 に記載の方法。

【請求項 65】

ゲムカベンの 1 日用量が 150 mg、300 mg、450、または 600 mg である、請求項 64 に記載の方法。

50

- 【請求項 6 6】
ゲムカベンがスタチンと組み合わせて投与される、請求項 6 2 から 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。
- 【請求項 6 7】
前記スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンである、請求項 6 6 に記載の方法。
- 【請求項 6 8】
N A S における肝脂肪化コンポーネントに対し、進行を遅くすること、安定化すること、または軽減することを含む、請求項 6 2 から 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。 10
- 【請求項 6 9】
N A S における小葉内炎症コンポーネントに対し、進行を遅くすること、安定化すること、または軽減することを含む、請求項 6 2 から 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。
- 【請求項 7 0】
N A S における肝細胞の風船様変化コンポーネントに対し、進行を遅くすること、安定化すること、または軽減することを含む、請求項 6 2 から 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。
- 【請求項 7 1】
N A S が、ゲムカベンによる治療から 6 ヶ月後に 1 . 5 ポイント以上異なる、請求項 6 2 から 7 0 のいずれか 1 項に記載の方法。 20
- 【請求項 7 2】
必要とする対象における肝線維症を軽減する方法であって、前記対象にゲムカベンを投与することを含む、前記方法。
- 【請求項 7 3】
前記対象が N A S H を有する、請求項 7 2 に記載の方法。
- 【請求項 7 4】
前記対象が原発性胆汁性肝硬変を有する、請求項 7 2 に記載の方法。
- 【請求項 7 5】
投与される前記ゲムカベンの 1 日用量が約 5 0 m g ~ 約 9 0 0 m g である、請求項 7 4 に記載の方法。 30
- 【請求項 7 6】
ゲムカベンの 1 日用量が約 1 5 0 m g ~ 約 6 0 0 m g である、請求項 7 5 に記載の方法。
- 【請求項 7 7】
ゲムカベンの 1 日用量が 1 5 0 m g 、 3 0 0 m g 、 4 5 0 、 または 6 0 0 m g である、請求項 7 6 に記載の方法。
- 【請求項 7 8】
ゲムカベンがスタチンと組み合わせて投与される、請求項 7 2 から 7 7 のいずれか 1 項に記載の方法。
- 【請求項 7 9】
前記スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンである、請求項 7 8 に記載の方法。 40
- 【請求項 8 0】
必要とする対象における血漿フィブリノーゲンレベルを減少させる方法であって、前記対象にゲムカベンを投与することを含む、前記方法。
- 【請求項 8 1】
前記対象のフィブリノーゲンレベルが、前記対象にゲムカベンを投与することを含む 3 0 0 m g / d L より大きい、請求項 8 0 に記載の方法。
- 【請求項 8 2】 50

前記対象のフィブリノーゲンレベルが400mg/dLより大きい、請求項81に記載の方法。

【請求項83】

ゲムカベンの1日用量が50mg～900mgである、請求項79から81のいずれか1項に記載の方法。

【請求項84】

ゲムカベンがスタチンと組み合わせて投与される、請求項80から83のいずれ1項に記載の方法。

【請求項85】

前記スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンである、請求項84に記載の方法。

10

【請求項86】

スタチンの1日用量が1mg～80mgである、請求項85に記載の方法。

【請求項87】

ゲムカベンの1日用量が300mg、600mg、または900mgであり、前記スタチンが10mg、40mg、または80mgの1日用量で投与されるアトルバスタチンである、請求項86に記載の方法。

【請求項88】

ゲムカベンの1日用量が600mgであり、アトルバスタチンの1日用量が10mgである、請求項87に記載の方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2015年11月6日に提出された米国仮特許出願第62/252,195号及び2015年11月6日に提出された米国仮特許出願第62/252,147号の優先権による利益を主張する。これらの開示はいずれも、その全体が参照により本書に組み込まれている。

【0002】

本発明は、混合型脂質異常症の治療のための、ゲムカベンと組み合わせたスタチンの使用に関する。

30

【背景技術】

【0003】

高脂血症におけるフレドリックソンの分類体系は、血漿外観、総コレステロール値、及びトリグリセリド値を使用して、対象を高脂血症における5つの型のうちの1つに特徴づける。5つの型とは、I、II、III、IV、及びVである。II型は、さらにIIa型及びIIb型に細分され、いずれの型も総コレステロール及びLDL-Cが高く、IIb型はさらに高いトリグリセリドも示す。

【0004】

報告によると、人口におけるIIb型高脂血症（IIb型）の罹患率は、約10%と推定されている。IIb型は、LDL-C、トリグリセリド、及びアポリポタンパク質Bのレベル上昇、ならびに超低密度リポタンパク質コレステロール（VLDL-C）、中密度リポタンパク質コレステロール（IDL）、及び小型高密度LDLのレベル増加により特徴づけられる。

40

【0005】

IIb型高脂血症は、後天性複合型高脂血症及び家族性複合型高脂血症（FCHL）を含む。FCHLは1つの遺伝的状態であり、人口のおよそ0.3～2%で発生するが、人口の5.7%という高い推定値が報告されている。IIb型高脂血症を有する個体は心血管疾患の率が高く、FCHLを有する個体は、早期冠動脈疾患の出現率が高い。加えて、

50

II b型患者は、II a型（肝臓トリグリセリドの過剰産生及び蓄積に起因して発生する、脂肪肝の一形態）を有しない患者に比べて、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）及び非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）の出現率が高い。NAFLD、NASH、及び脂肪肝は、肝臓酵素の上昇、線維症、硬変、肝細胞がん、及び肝不全を含めた代謝性合併症につながり得る。肝不全は生命を脅かす危険があるため、脂肪肝に対する発生を遅らせる、形成を防止する、または状態を反転させる療法の開発が、緊急に必要とされている。

【0006】

現状、II b型高脂血症についての治療選択肢は限られている。スタチンは、LDL-Cの降下に非常に有効であるが、一般にトリグリセリドレベルの降下にはあまり有効ではない。高用量の一部のスタチン、例えば、80mgのアトルバスタチンは、顕著にトリグリセリドレベルを降下させる。しかし、高用量スタチン療法は、筋肉痛（筋痛症）を引き起こす場合があり、また患者の忍容性が良好でないことが多い。加えて、高用量スタチン療法は、横紋筋融解症のような深刻な筋毒性のリスク増加を伴う。

10

【0007】

さらに、あるいくつかのスタチンは、他の薬物の代謝も媒介するシトクロムP450酵素により代謝されるため、高用量スタチンの使用は、あるいくつかの薬物との使用が禁忌となり得る。本出願で開示する、ゲムカベン及び低～中用量のスタチンの組合せがトリグリセリド（TG）の降下に驚くべき相乗効果をもたらすという発見により、低用量のスタチンの使用が可能になり、そのためより良好な安全プロファイルがもたらされ得る。

20

【0008】

II b型高脂血症の治療は、LDL-Cレベル及びトリグリセリドレベルの降下に焦点が当てられる。治療は通常、スタチンのようなコレステロール降下剤と、フィブラート、ナイアシン、または魚油のようなトリグリセリド降下剤との組合せを投与することを含む。しかし、一般に使用されているトリグリセリド降下剤は、簡便ではない、または忍容性が良好ではない場合がある。例えばフィブラートは、筋痛症及び筋毒性のリスク増加を伴い、魚油は、毎日複数回摂取する必要があり、ナイアシンは、特にスタチンと組み合わせで投与した場合に、フラッシングを引き起こす。あるいくつかのフィブラートは、一部のスタチンが行うように、自らの異化プロセスの一部として、シトクロムP450の3A4アイソフォームを使用または活性化するため、これらの薬物を組み合わせると、筋痛症及び筋肉損傷のリスクが増加する恐れがある。医師は、この組合せにより筋肉損傷のリスクが高まることへの懸念から、スタチンをフィブラートと組み合わせることを回避することがある。

30

【0009】

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）は、全世界で、特に西洋諸国でますます一般的になっている。米国では最も一般的な形態の慢性肝疾患であり、推定で8000万～1億人の人々に影響を及ぼしている。非アルコール性脂肪性肝疾患は、アルコールをほとんどまたは全く飲まない人々に影響を及ぼす様々な肝臓状態についての包括的用語である。この名称が示唆するように、非アルコール性脂肪性肝疾患の主な特徴は、肝細胞に貯蔵された過剰な脂肪である。肝臓がいくらかの脂肪を含有することは正常である。しかし、肝臓の重量の5%～10%超が脂肪である場合、この状態は脂肪肝（肝脂肪化）と呼ばれる。NAFLDは、肥満、インスリン抵抗性、2型糖尿病、及び脂質異常症を含めた代謝症候群の特色と関連性が強く、この症候群の肝臓における徴候とみなされる。

40

【0010】

現在、小児NAFLDは、小児における主要な形態の肝疾患である。諸研究により、腹部肥満及びインスリン抵抗性は、NAFLD発生の主因と考えられることが実証されている。世界中で肥満がますます一般的な問題になっているため、同時発生的にNAFLDの罹患率も増加している。小児NAFLDで本当に有効であることが示されている唯一の治療は、減量である。

【0011】

50

より深刻な形態のNAFLDは、非アルコール性脂肪性肝炎（NAFH）と呼ばれる。NAFHは、肝臓の膨張及び損傷を引き起こす。NAFHは、体重過多もしくは肥満である、または糖尿病、高コレステロール、もしくは高トリグリセリド、もしくは炎症状態を有する人々に発生する傾向がある。潜在的に重篤な形態の疾患であるNAFHは、肝細胞の風船様変化及び肝臓の炎症によって特徴づけられるが、これらは瘢痕性かつ不可逆性の損傷に進行する恐れがある。この損傷は、大量のアルコール使用により引き起こされる損傷に類似している。マクロ及び顕微鏡的には、NAFHは、小葉及び/または門脈の炎症、様々な程度の線維症、肝細胞死、ならびに病理学的血管新生により特徴づけられる。最も重症の場合、NAFHは硬変、肝細胞がん、及び肝不全に進行する恐れがある。現状、NAFLD及びNAFHは、例えば、食事、インスリン抵抗性の治療、またはビタミンE

10

【0012】

NAFLD活性スコア（NAS）は、Kleinerの基準（Kleiner DE, et al., Hepatology, 2005; 41: 1313）に従って算出することができる。NASスコア0～2はNAFHとは診断されないとみなされ、NASスコア3～4は、NAFHとは診断されない、またはNAFHのボーダーラインもしくは陽性であるとみなされ、一方NASスコア5～8は、概ねNAFHと診断されるものとみなされる。NAFHの治療効果としては、後退、安定化、または疾患進行速度の減少が挙げられる。NAFHを有し得る患者からの経時的な肝臓生検は、NASスコアの変化の評価や、疾患状態変化の指標に使用することができる。スコアの増加は進行を示唆し、スコアの不変は安定化を示唆し、一方スコアの低下はNAFHの後退を示唆する。対照群を設定した臨床試験では、プラセボ群と試験物品治療群との間におけるNASスコアの相違は、通常6ヵ月から2年の持続期間にわたり評価され、例え両群で進行が見られる場合であっても治療効果の指標となり得る。通常、規制機関は、NAFHにおける意味のある変化を実証するため、定義されたポイントスプレッドを要求する。

20

【0013】

フィブリノーゲン（第I因子）は、血餅形成の役割を担う哺乳類の糖タンパク質である。フィブリノーゲンは、血餅形成中にトロンビンによりフィブリンに変換される。フィブリノーゲンは肝臓の肝細胞内で合成される。様々な疾患が高レベルのフィブリノーゲンに関連しており、疾患としては、以下に限定するものではないが、NAFH、微小血管疾患、末梢血管疾患、末梢動脈疾患、末梢動脈閉塞性疾患における重症下肢虚血、新規発症の冠状動脈粥状硬化症、がんにおける（例えば、乳がん、腎細胞がん、前立腺がん患者における）生存率低下が挙げられる。また、フィブリノーゲンレベルの増加は、陰性敗血症の転帰、糖尿病、代謝症候群、及び亜急性甲状腺炎、血漿トリグリセリド、肥満、超音波内臓脂肪、拡張期血圧、インスリン抵抗性、LDLコレステロール、及び喫煙にも関連している。閉塞性睡眠時無呼吸の重症度は、他の点では健康な患者における高い血漿フィブリノーゲンにも関連している。

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

40

【0014】

そのため、フィブリノーゲンは、多くの疾患の予後指標や血液マーカーとすることができ、また疾患状態の発症及び進行に効果を及ぼす役割も果たし得る。高レベルの対象におけるフィブリノーゲンの減少が医学的に必要とされている。

【0015】

IIb型高脂血症を有する患者の治療選択肢が限定されているため、そして現状の治療は、重篤な副作用のリスクを増加させる恐れがあるか、または忍容性が良好でないため、IIb型高脂血症にかかっている患者を治療する上で安全かつ効果的である、追加的な治療が必要とされている。加えて、現状のNAFLD及びNAFHの治療は限定されており、NAFLD及びNAFHに係っている患者を治療する上で安全かつ効果的である、より

50

多くの治療選択肢が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0016】

概要

本発明は、これらの必要性に対処するものである。発明者らは、I I b型高脂血症を有する患者を、ある用量のゲムカベンと低用量または中用量のスタチンとの組合せにより治療することで、各薬剤単体の効果との比較で、LDL-Cにおける減少と、トリグリセリド(TG)における加算性を上回る予想外の減少との両方が示されることを明らかにした。ゲムカベンは、医薬品の対処に關与する主なシトクロムP 4 5 0酵素の活性または発現に対し、顕著には影響を及ぼさない。そのため、ゲムカベンは、高用量のスタチンを使用する必要性を軽減することにより副作用のリスクを軽減し得る。

10

【0017】

本発明の第1の態様は、I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、ゲムカベンを低用量または中用量のスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。本発明の第1の態様における一部の実施形態では、ゲムカベン及びスタチンは、固定用量配合剤として投与される。

【0018】

本発明の第2の態様は、対象における肝脂肪蓄積を減少させる方法であって、ゲムカベンを単体で、またはスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。本発明の第2の態様における一部の実施形態では、当該方法は、非アルコール性脂肪性肝疾患(N A F L D)を治療または防止する方法である。第2の態様における別の実施形態では、肝脂肪化を治療または予防する方法である。一部の実施形態では、当該方法は、肝疾患を治療または予防する方法であって、当該肝疾患が非アルコール性脂肪性肝炎(N A S H)である方法である。

20

【0019】

本発明の第3の態様は、ゲムカベン及びスタチンにおける特定の固定用量配合剤を提供する。

【0020】

第4の態様は、I I b型高脂血症及び/またはN A S Hを有する対象を治療するためのキットであって、ゲムカベン、スタチン、及び使用説明書を含むキットを提供する。

30

【0021】

本発明の第5の態様は、対象における線維症を軽減する方法であって、ゲムカベンを単体で、またはスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。

【0022】

本発明の第6の態様は、高い血漿フィブリノーゲンレベルを有する対象の血漿レベルにおけるフィブリノーゲンレベルを減少する方法であって、ゲムカベンを単体で、またはスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。

【0023】

第1の態様における一実施形態は、I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、ゲムカベンを低用量または中用量のスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。

40

【0024】

第1の態様における別の実施形態は、I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、1日用量約50mg~約750mgのゲムカベン及び1日用量約1mg~約60mgのスタチンを投与することを含む方法である。

【0025】

第2の態様における一実施形態は、対象における肝脂肪の蓄積を減少させる方法であって、必要とする対象に、1日用量約50mg~約750mgのゲムカベンを投与することと、1日用量約1mg~約80mgのスタチンを投与することを含む方法である。

【0026】

50

本発明の第4の態様における一実施形態は、固定用量配合剤を含むキットであって、約1mg～約60mgのスタチン及び約300mg～約600mgのゲムカベンならびにその使用説明書を含むキットを提供する。一部の実施形態において、スタチンは、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、及びピタバスタチン、またはこれらの医薬的に許容される塩から選択される。一部の実施形態では、当該スタチンはアトルバスタチンである。

【0027】

第5の態様における一実施形態は、対象における線維症を軽減する方法であって、必要とする対象に、1日用量約50mg～約750mgのゲムカベンを投与することと、1日用量約1mg～約80mgのスタチンを投与することを含む方法である。

10

【0028】

本発明の第6の態様における一実施形態は、フィブリノーゲンレベルが300mg/dL超の対象におけるフィブリノーゲンの血漿レベルを減少させる方法であって、対象に、ゲムカベンを単体で、またはスタチンと組み合わせて投与することを含む方法である。当該対象は、高いLDL-Cレベルを有し得る。当該対象は、冠動脈性心疾患を発生するリスクがある、または既に1つ以上の心臓イベントを経験した可能性がある。

【0029】

以下の図面は、例として提供するものであり、本発明の請求範囲を限定するようには意図されていない。

【図面の簡単な説明】

20

【0030】

【図1A】ゲムカベンによるアトルバスタチンの濃度への効果を示すグラフであり、ヒト対象のクロスオーバー研究において、アトルバスタチンが80mg単体で（黒丸）、300mgのゲムカベンと組み合わせて（白丸）、または900mgのゲムカベンと組み合わせて（黒四角）投与された場合におけるものである。

【図1B】ゲムカベンによるアトルバスタチンラクトンの濃度への効果を示すグラフであり、ヒト対象のクロスオーバー研究において、アトルバスタチンが80mg単体で（黒丸）、300mgのゲムカベンと組み合わせて（白丸）、または900mgのゲムカベンと組み合わせて（黒四角）投与された場合におけるものである。

【図1C】ゲムカベンによるオルト-ヒドロキシアトルバスタチンの濃度への効果を示すグラフであり、ヒト対象のクロスオーバー研究において、アトルバスタチンが80mg単体で（黒丸）、300mgのゲムカベンと組み合わせて（白丸）、または900mgのゲムカベンと組み合わせて（黒四角）投与された場合におけるものである。

30

【図1D】ゲムカベンによるオルト-ヒドロキシアトルバスタチンラクトンの濃度への効果を示すグラフであり、ヒト対象のクロスオーバー研究において、アトルバスタチンが80mg単体で（黒丸）、300mgのゲムカベンと組み合わせて（白丸）、または900mgのゲムカベンと組み合わせて（黒四角）投与された場合におけるものである。

【図1E】ゲムカベンによるパラ-ヒドロキシアトルバスタチンの濃度への効果を示すグラフであり、ヒト対象のクロスオーバー研究において、アトルバスタチンが80mg単体で（黒丸）、300mgのゲムカベンと組み合わせて（白丸）、または900mgのゲムカベンと組み合わせて（黒四角）投与された場合におけるものである。

40

【図1F】ゲムカベンによるパラ-ヒドロキシアトルバスタチンラクトンの濃度への効果を示すグラフであり、ヒト対象のクロスオーバー研究において、アトルバスタチンが80mg単体で（黒丸）、300mgのゲムカベンと組み合わせて（白丸）、または900mgのゲムカベンと組み合わせて（黒四角）投与された場合におけるものである。

【図1G】ゲムカベンによるアトルバスタチンの薬物動態への効果を示すグラフであり、ヒト対象のクロスオーバー研究において、HMG-CoAレダクターゼ阻害剤濃度の活性により測定され、アトルバスタチンが80mg単体で（黒丸）、そして900mgのゲムカベンと組み合わせて（白丸）投与された場合におけるものである。

【図1H】ゲムカベンによるシンバスタチンの薬物動態への効果を示すグラフであり、ヒ

50

ト対象のクロスオーバー研究において、HMG-CoAレダクターゼ阻害剤濃度の活性により測定され、シンバスタチンが80mg単体で（黒丸）、そして900mgのゲムカベンと組み合わせて（白丸）投与された場合におけるものである。

【図2A】実施例4に記載の研究に従って、プラセボ；10mgアトルバスタチン（スタチン）；300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン（gem）；または10mgアトルバスタチン及び300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン、を投与したIIb型高脂血症患者における、LDLベースライン、ベースライントリグリセリド、及びベースラインアポBレベルからの中央値パーセントの変化を図示する棒グラフである。

【図2B】実施例4に記載の研究に従って、プラセボ；10mgアトルバスタチン（スタチン）；300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン（gem）；または10mgアトルバスタチン及び300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン、を投与したIIb型高脂血症患者における、LDLベースライン、ベースライントリグリセリド、及びベースラインアポBレベルからの平均パーセントの変化を図示する棒グラフである。

【図2C】実施例4に記載の研究に従って、プラセボ；40mgアトルバスタチン（スタチン）；300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン（gem）；または40mgアトルバスタチン及び300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン、を投与したIIb型高脂血症患者における、LDLベースライン、ベースライントリグリセリド、及びベースラインアポBレベルからの中央値パーセントの変化を図示する棒グラフである。

【図2D】実施例4に記載の研究に従って、プラセボ；40mgアトルバスタチン（スタチン）；300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン（gem）；または40mgアトルバスタチン及び300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン、を投与したIIb型高脂血症患者における、LDLベースライン、ベースライントリグリセリド、及びベースラインアポBレベルからの平均パーセントの変化を図示する棒グラフである。

【図2E】実施例4に記載の研究に従って、プラセボ；80mgアトルバスタチン（スタチン）；300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン（gem）；または80mgアトルバスタチン及び300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベンを投与したIIb型高脂血症患者における、LDLベースライン、ベースライントリグリセリド、及びベースラインアポBレベルからの中央値パーセントの変化を図示する棒グラフである。

【図2F】実施例4に記載の研究に従って、プラセボ；80mgアトルバスタチン（スタチン）；300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベン（gem）；または80mgアトルバスタチン及び300mg、600mg、もしくは900mgのゲムカベンを投与したIIb型高脂血症患者における、LDLベースライン、ベースライントリグリセリド、及びベースラインアポBレベルからの平均パーセントの変化を図示する棒グラフである。

【図3】ゲムカベン（Gem）100mg/kg及びシンバスタチン（Simva）3mg/kgによる血漿コレステロール、肝臓コレステロール、及び肝臓トリグリセリドへの効果を図示する棒グラフである。

【図4】糖尿病マウスNASHモデルの平均体重の変化を、治療開始からの日数及び投与用量の関数として示す棒グラフである。

【図5A】治療終了日における糖尿病マウスNASHモデルの体重を示すプロットである。

【図5B】治療終了日における糖尿病マウスNASHモデルの肝臓重量を示すプロットである。

【図5C】治療終了日における糖尿病マウスNASHモデルの肝臓：体重比を示すプロットである。

10

20

30

40

50

【図 6 A】終了日の 3 日前の 8 時間絶食後における糖尿病マウス N A S H モデルの空腹時全血グルコースレベルを示すプロットである。

【図 6 B】終了日の 3 日前の 8 時間絶食後における糖尿病マウス N A S H モデルの空腹時血漿グルコースレベルを示すプロットである。

【図 7 A】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの全血グルコースレベルを示すプロットである。

【図 7 B】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの血漿アラニンアミノトランスフェラーゼ (A L T) レベルを示すプロットである。

【図 7 C】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの血漿アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (A S T) レベルを示すプロットである。

【図 7 D】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの血漿アルファリポ酸 (A L P) レベルを示すプロットである。

【図 7 E】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの血漿ガンマグルトミルトランスフェラーゼ (G G T) レベルを示すプロットである。

【図 7 F】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの血中尿素窒素 (B U N) レベルを示すプロットである。

【図 7 G】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの血漿クレアチニンレベルを示すプロットである。

【図 7 H】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの血漿総ビリルビンレベルを示すプロットである。

【図 7 I】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの血漿ケトン体レベルを示すプロットである。

【図 7 J】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの肝臓トリグリセリドレベルを示すプロットである。

【図 8】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの非アルコール性脂肪性肝疾患 (N A F L D) スコアを示すプロットである。

【図 9 A】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの肝脂肪化スコアを示すプロットである。

【図 9 B】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの小葉内炎症スコアを示すプロットである。

【図 9 C】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの風船様変性スコアを示すプロットである。

【図 1 0】終了時における糖尿病マウス N A S H モデルの線維症領域 (% シリウスレッド陽性領域) を示すプロットである。

【図 1 1 A】雄スプラーグドローラットにおける、ゲムフィブロジルまたはゲムカベンによる治療後の肝臓トリグリセリドレベルを示す棒グラフである。

【図 1 1 B】雄スプラーグドローラットにおける、ゲムフィブロジルまたはゲムカベンによる治療後の肝臓非エステル化コレステロールのレベルを示す棒グラフである。

【図 1 2】雄スプラーグドローラットにおける、ゲムフィブロジルまたはゲムカベンによる治療後の血漿フィブリノーゲンレベルのレベルを示す棒グラフである。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 3 1 】

定義

「 A P I 」は、医薬品有効成分 (a c t i v e p h a r m a c e u t i c a l i n g r e d i e n t) の略である。

【 0 0 3 2 】

スタチンは、H M G - C o A レダクターゼ酵素を阻害する薬物のクラスであり、患者の L D L コレステロールを低下させることが一般に知られている。スタチンの例としては、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、及びピタバスタチンが挙げられる。

10

20

30

40

50

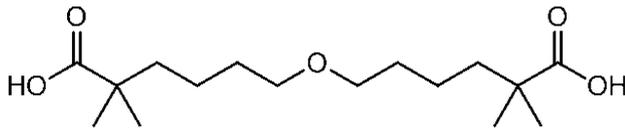
【0033】

本明細書において「I I b型高脂血症」または「I I b型」患者集団とは、空腹時LDLコレステロール血漿レベルが130mg/dlであり、かつ空腹時トリグリセリド血漿レベル150mg/dlである患者集団を意味する。LDL-C、トリグリセリド、またはアポBレベルへの言及は、別段の明確な指示がない限り、空腹時レベルのことである。I I b型高脂血症は、I I b型高リポタンパク血症の別名でも知られている。一部の参考文献では、I I b型高脂血症は、混合型脂質異常症と称されるか、または混合型脂質異常症のサブセットとして記載されている。

【0034】

本明細書において「ゲムカベン」という用語は、以下の構造を有する化合物6,6'-オキシピス(2,2-ジメチルヘキサン酸)を指す。

【化1】



【0035】

ゲムカベンカルシウムとは、ゲムカベンのモノカルシウム塩を指す。ゲムカベンカルシウムは、ゲムカベンと互換的に使用される。

【0036】

本明細書において「肝脂肪化 (steatosis)」は、「脂肪肝 (fatty liver)」と互換的に使用され、これは肝臓内の脂肪の蓄積である。

【0037】

投薬量 (dosage) 及び用量 (dose) に言及する場合、投薬量または用量は、APIの重量を元に算出される。一部の実施形態において、APIは、医薬的に許容される塩として投与され得る。APIが塩として投与される場合も、用量はやはりAPIに基づいて算出される。例えば、80mgの用量のアトルバスタチンに言及する場合、80mgのアトルバスタチンに相当するアトルバスタチンカルシウムの用量を意味し、300mgの用量のゲムカベンカルシウムに言及する場合、300mgのゲムカベンに相当するゲムカベンカルシウムの用量を意味する。

【0038】

本明細書において、「単回用量」または「固定用量配合剤」という用語は、2種以上のAPIの混合物及び1種以上の添加剤の混合物で製剤化され、成分ともパッケージともみなされないと考えられる他の任意選択の再利用不可能な材料(例えば、カプセルシェル)と共に使用する、市販形態の医薬組成物を指す。本明細書において「単回用量製剤」及び「固定用量配合剤」という用語は、互換的に使用される。一般的な単回用量製剤としては、ピル、タブレット、またはカプセルが挙げられる。

【0039】

本明細書において「対象」及び「患者」は、互換的に使用される。対象は哺乳類とすることができ、当該哺乳類は、例えばヒトとすることができ、ヒト対象には、成人、青年、及び小児の対象が含まれる。

【0040】

「肝脂肪化 (steatosis)」及び「肝脂肪症 (hepatic steatosis)」は、本明細書では互換的に使用される。

【0041】

「血漿 (blood plasma)」及び「血漿 (plasma)」は、本明細書では互換的に使用される。

【0042】

以下の表は、複数のスタチンについて本明細書で使用する用量カテゴリーを示す。

10

20

30

40

【表 1】

| 低～中用量 | 高用量 |
|------------------|-------------|
| アトルバスタチン 10～40mg | アトルバスタチン 80 |
| フルバスタチン 20～40mg | ロバスタチン 80 |
| ロバスタチン 20～60mg | ロスバスタチン 40 |
| ピタバスタチン 1～4mg | シンバスタチン80 |
| プラバスタチン 10～40mg | |
| ロスバスタチン 5～30 | |
| シンバスタチン 5～60mg | |

10

【0043】

本発明は、I I b型高脂血症を有する対象の治療のための方法を提供する。実施例3でさらに詳述するように、8週間の二重盲検ランダム化プラセボ対照の用量設定試験を行い、高コレステロール血症患者の治療におけるゲムカベンの有効性及び安全性を、単剤療法としてまたはアトルバスタチンとの組合せで評価した。第1の目的は、ゲムカベン300、600、及び900mg/日を単剤療法としてまたはアトルバスタチン10、40、及び80mg/日と組み合わせて高コレステロール血症患者（フレドリクソンのI I a型及びI I b型）に投与する場合における、低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）を下げるものの有効性及び用量反応性を評価することであった。第2の目的は、ゲムカベンによる、高感度c反応性タンパク質（hsCRP）、高密度リポタンパク質コレステロール（HDL）、及びトリグリセリド（TG）、及びアポリポタンパク質B（アポB）の調節を評価することであった。

20

【0044】

対象をランダム化して、プラセボ、単剤療法としての薬剤、または種々の用量レベルで配合された薬剤を、8週間投与した。治療期間の前及び最後に、安全性及び脂質変数（血漿トリグリセリド、LDL-C、及びアポBレベルを含む）を評価した。

【0045】

LDL-Cレベル 130mg/dl及びトリグリセリドレベル 150mg/dlを有する対象におけるLDL-C及びTGの下位群分析。（I I b型）最大用量（80mg）未満のアトルバスタチン及びゲムカベン（300、600、または900mg）を投与した患者において、予想外のトリグリセリド減少が明らかになった。試験を行った他の用量のアトルバスタチンでは、組合せ療法によるトリグリセリドの減少は、アトルバスタチンまたはゲムカベンの単剤療法によるいずれの減少よりもはるかに大きかった。加えて、これらの組合せはさらに、アトルバスタチンまたはゲムカベンを単体で投与した場合を上回るLDL-C及びアポBの減少ももたらした。

30

【0046】

この群の対象で低～中用量のスタチンをゲムカベンと組み合わせて使用した結果、驚くべきTG降下をもたらされたという発見は、潜在的に安全性の利点を提供するものである。

40

【0047】

シトクロムP450酵素は、ヒトの薬物代謝を媒介する。例えば、一部のスタチン及びフィブラートは、自らの異化プロセスの一部としてシトクロムP450の3A4アイソフォームを使用または活性化する。一緒に投与した場合、一部のスタチン及びフィブラートは、シトクロムP450の3A4アイソフォームに対し競合し、その結果薬物間の相互作用がもたらされ、血漿中の各薬剤レベルに影響が生じる。

【0048】

一例としては、Baycolとして市販されていたスタチンは、ゲムフィプロジル（フィブラートの1種）との深刻な薬物間相互作用（DDI）の結果、横紋筋融解症及び患者死亡が発生し、それから市場から回収された。

50

【 0 0 4 9 】

後述の実施例 1 でさらに説明されるように、1500 μM までの濃度で試験したシトクロム P 4 5 0 アイソフォームのいずれについても有意な阻害の根拠は観察されず、このことから、治療濃度のゲムカベンにおけるゲムカベンとスタチンとの間の代謝ベースの臨床的相互作用が起こる可能性は非常に低いことが示唆される。

【 0 0 5 0 】

加えて、ヒトに単回用量で 1500 mg まで、多回用量で 900 mg まで投与したゲムカベンの単剤療法では、筋骨格の有害事象数はプラセボに類似するかまたはそれ未満であったが、スタチンの単剤療法では、プラセボと比べて筋骨格の有害事象の増加が示された。表 2 に示すように、ゲムカベン及びスタチンの同時投与では、スタチン単体で見られた筋骨格の有害事象は増加しなかった。

10

【表 2】

| 患者のタイプ | 対照 | | | ゲムカベン | | | ゲムカベン+スタチン | | | スタチン | | |
|-----------------------|----|----|------|-------|----|-----|------------|----|------|------|----|------|
| | n | No | % | n | No | % | n | No | % | n | No | % |
| A414100 1(IIa+IIb) | 17 | 1 | 5.9 | 51 | 0 | 0.0 | 157 | 13 | 8.3 | 52 | 7 | 13.5 |
| A414100 1(IIa) | 10 | 0 | 0.0 | 19 | 0 | 0.0 | 79 | 5 | 6.3 | 22 | 2 | 9.1 |
| A414100 1(IIb) | 7 | 1 | 14.3 | 32 | 0 | 0.0 | 78 | 8 | 10.3 | 30 | 5 | 16.7 |

20

「n」= 群における患者数。

No = 筋骨格の有害事象の数、% = 特定の群において筋骨格の有害事象を経験した患者のパーセント。

【 0 0 5 1 】

実施形態

本発明の第 1 の態様は、IIb 型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、ゲムカベンを低用量または中用量のスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。本発明の一部の実施形態では、ゲムカベン及びスタチンは、固定用量配合剤として投与される。本発明の第 3 の態様は、ゲムカベン及びスタチンにおける特定の固定用量配合剤を提供する。第 4 の態様は、IIb 型高脂血症及び/または NASH を有する対象を治療するためのキットを提供する。本発明の第 5 の態様は、対象における線維症を軽減する方法であって、ゲムカベンを単体で、またはスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。

30

【 0 0 5 2 】

概してゲムカベンは、モノカルシウム塩（ゲムカベンカルシウム）として投与される。

【 0 0 5 3 】

第 1 の態様における一実施形態は、IIb 型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、ゲムカベンを低強度用量または中強度用量のスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。

40

【 0 0 5 4 】

別の実施形態は、IIb 型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、1 日用量約 50 mg ~ 約 750 mg のゲムカベン及び 1 日用量約 1 mg ~ 約 60 mg のスタチンを投与することを含む方法である。

【 0 0 5 5 】

また別の実施形態は、IIb 型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、1 日用量約 50 mg ~ 約 900 mg のゲムカベン及び 1 日用量のスタチンを投与することを含み、スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバス

50

タチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンである、方法である。別の実施形態は、I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、1日用量約150mg～約600mgのゲムカベン及び1日用量のスタチンを投与することを含み、スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチンである、方法である。さらに別の実施形態は、I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、1日用量約150mg～約450mgのゲムカベン及び1日用量のスタチンを投与することを含み、スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチンである、方法である。。

【0056】

10

さらに別の実施形態は、I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に1日用量のゲムカベンを投与することを含む方法である。

【0057】

さらに別の実施形態は、I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法であって、対象に、1日用量約50mg～約600mg、または150mg～約600、または約150mg～約450mg、または約150mg～約300mgのゲムカベン及び1日用量のスタチンを投与することを含み、スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンであり、かつ：

a．スタチンがアトルバスタチンであり、アトルバスタチンの1日用量が約10mg～約60mgまたは約5mg～約60mgである；

20

b．スタチンがロスバスタチンであり、ロスバスタチンの1日用量が約5mg～約20mgまたは約2.5mg～約30mgである；

c．スタチンがシンバスタチンであり、シンバスタチンの1日用量が約10mg～約40mgまたは約5mg～約60である；

d．スタチンがプラバスタチンであり、プラバスタチンの1日用量が約10mg～約80mgまたは約5mg～約60mgである；

e．スタチンがロバスタチンであり、ロバスタチンの1日用量が約20mg～約40mgまたは約10mg～約60mgである；

f．スタチンがフルバスタチンであり、フルバスタチンの1日用量が約20mg～約80mgまたは約1mg～約60mgである；または

30

g．前記スタチンがピタバスタチンであり、ピタバスタチンの1日用量が約1mg～約4mgである、

方法である。

【0058】

上記実施形態のいずれかでは、ゲムカベンの1日用量は、約50mg～約600mgである。上記の実施形態の一部では、ゲムカベンの1日用量は、50mg、75mg、100mg、150mg、300mg、400mg、450mg、500mg、または600mgである。

【0059】

40

I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、アトルバスタチンの1日用量は約10mg～約40mgである。

【0060】

I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、ロスバスタチンの1日用量は約10～約20mgである。

【0061】

I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、シンバスタチンの1日用量は約10mg～約20mgである。

【0062】

I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、プラバスタチン

50

の1日用量は約10mg～約40mgである。

【0063】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、ロバスタチンの1日用量は約40mgである。

【0064】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、フルバスタチンの1日用量は約20mg～約40mgである。

【0065】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、ピタバスタチンの1日用量は約1mg～約3mgである。

10

【0066】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態のいずれかでは、スタチン及びゲムカベンは固定用量配合剤として投与され得る。

【0067】

本発明の一部の実施形態では、対象は家族性複合型高脂血症(FCHL)を有する。

【0068】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、対象の血漿トリグリセリドレベルが、ゲムカベン及びスタチンの投与から8週間以内に150mg/dl未満に減少する。

【0069】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の別の実施形態では、対象の血漿LDLコレステロールレベルが、ゲムカベン及びスタチンの投与から8週間以内に130mg/dl未満に減少する。

20

【0070】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法のさらに別の実施形態では、ゲムカベン及びスタチンの投与から8週間以内に、対象の血漿トリグリセリドレベルが150mg/dl未満に減少し、対象のLDLコレステロールレベルが130mg/dl未満に減少する。

【0071】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、治療後に対象のHDLコレステロールレベルが増加する。

30

【0072】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、対象のミオパシーのリスクは、高用量のスタチンを単体で投与する場合のリスクより減少する。

【0073】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、対象の筋炎のリスクは、高用量のスタチンを単体で投与する場合のリスクより減少する。

【0074】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、対象の横紋筋融解症のリスクは、高用量のスタチンを単体で投与する場合のリスクより減少する。

40

【0075】

本発明の方法の実施形態のいずれかでは、対象は、追加的なコレステロール降下剤を投与され得る。一部の実施形態では、この追加的なコレステロール降下剤はコレステロール吸収阻害剤である。一部の実施形態では、このコレステロール吸収阻害剤はエゼチミブである。一部の実施形態では、この追加的なコレステロール降下剤はPCSK9阻害剤である。

【0076】

IIb型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、対象の一次心血管イベントを有するリスクが減少する。

【0077】

50

I I b型高脂血症を有する対象を治療する方法の実施形態の一部では、対象の二次心血管イベントを有するリスクが減少する。別の実施形態は、I I b型高脂血症を有する患者を治療する方法であって、対象に、1日用量約150mgのゲムカベンと、1日用量が10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、または60mgからなる群から選択されるアトルバスタチンとを投与することを含む方法である。

【0078】

また別の実施形態は、I I b型高脂血症を有する患者を治療する方法であって、対象に、1日用量約300mgのゲムカベンと、1日用量が10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、または60mgからなる群から選択されるアトルバスタチンとを投与することを含む方法である。

10

【0079】

また別の実施形態は、I I b型高脂血症を有する患者を治療する方法であって、対象に、1日用量約450mgのゲムカベンと、1日用量が10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、または60mgからなる群から選択されるアトルバスタチンとを投与することを含む方法である。

【0080】

別の実施形態は、I I b型高脂血症を有する患者を治療する方法であって、対象に、1日用量約600mgのゲムカベンと、1日用量が10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、または60mgからなる群から選択されるアトルバスタチンとを投与することを含む方法である。

20

【0081】

本発明の第2の態様は、対象における肝脂肪の量または肝脂肪蓄積を減少させる方法であって、ゲムカベンを単体で、またはスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。第2の態様における一部の実施形態では、当該方法は、肝脂肪化を減少させるまたは防止するように対象を治療する方法であって、ゲムカベンを単体で、またはスタチンと組み合わせて投与することを含む方法である。第2の態様における一実施形態は、対象における脂肪肝疾患を治療する方法であって、ゲムカベンを単体で、またはスタチンと組み合わせて投与することを含む方法である。別の実施形態は、肝疾患を治療する方法であって、当該肝疾患が非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）である、方法である。第2の態様における一部の実施形態では、当該方法は、肝疾患を防止するまたは肝疾患の進行速度を減少させるように対象を治療する方法である。一部の実施形態では、当該肝疾患は非アルコール性肝脂肪症（NAFH）である。一部の実施形態では、当該肝疾患はアルコール性肝脂肪症である。本発明の第2の態様における一部の実施形態では、当該対象はI I b型高脂血症を有する。一部の実施形態では、当該患者はFCHLを有する。第2の態様における実施形態のいずれかでは、対象は脂肪肝（肝脂肪化）を発生するリスク因子を有する可能性があり、当該リスク因子とは、対象が、代謝症候群、2型糖尿病、耐糖能障害、肥満、脂質異常症、B型肝炎、C型肝炎、HIV感染、または代謝障害（例えば、ウィルソン病、糖原貯蔵症、またはガラクトース血症）を有することである。一部の実施形態では、当該患者は糖尿病を有する。一部の実施形態では、当該患者は炎症状態を有する。一部の実施形態では、当該患者は、性別、年齢、及び身長に対する正常値を上回る高いボディーマス指数を有する。

30

40

【0082】

第2の態様における一部の実施形態では、当該方法は、単剤療法としてのゲムカベンを患者に投与することにより、患者の肝臓脂肪の蓄積を減少させる方法である。一部の実施形態では、ゲムカベンは1種以上の追加的な治療剤と共に投与される。一部の実施形態では、この1種以上の治療剤はスタチンである。一部の実施形態では、当該スタチンは、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンである。

【0083】

第2の態様における実施形態のいずれかでは、対象における肝臓脂肪の蓄積を防止す

50

るまたは減少させる方法は、必要とする対象に、1日用量約50mg～約900mgのゲムカベンを投与することを含む。

【0084】

第2の態様における別の実施形態は、対象における肝脂肪の蓄積を防止するまたは減少させる方法であって、必要とする対象に、1日用量約50mg～約900mgのゲムカベンを1日用量約1mg～約80mgのスタチンと組み合わせて投与することを含む方法である。

【0085】

第2の態様における別の実施形態は、対象における肝脂肪の蓄積を減少させる方法であって、必要とする対象にゲムカベンをスタチンと組み合わせて投与することを含み、対象に投与されるゲムカベンの1日用量が1日当たり約50mg～約900mgであり、スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンである、方法である。

【0086】

対象における肝脂肪の蓄積を防止するまたは減少させる方法における実施形態のいずれかでは、ゲムカベンの1日用量は約50mg～約900mgである。

【0087】

対象における肝脂肪の蓄積を減少させる方法におけるいずれかの実施形態では、ゲムカベンの1日用量は150mg、300mg、450mg、または600mgである。

【0088】

対象における肝脂肪の蓄積を減少させる方法における実施形態のいずれかでは、アトルバスタチンの1日用量は約10mg～約80mgである。

【0089】

対象における肝脂肪の蓄積を減少させる方法におけるいずれかの実施形態では、ロスバスタチンの1日用量は約5～約40mgである。

【0090】

肝脂肪の蓄積を減少させる方法におけるいずれかの実施形態では、シンバスタチンは約10mg～約20mgである。

【0091】

肝脂肪の蓄積を減少させる方法におけるいずれかの実施形態では、プラバスタチンの1日用量は約10mg～約40mgである。

【0092】

肝脂肪の蓄積を減少させる方法におけるいずれかの実施形態では、ロバスタチンの1日用量は約20～約40mgである。

【0093】

肝脂肪の蓄積を減少させる方法におけるいずれかの実施形態では、フルバスタチンの1日用量は約20mg～約40mgである。

【0094】

肝脂肪の蓄積を減少させる方法におけるいずれかの実施形態では、ピタバスタチンの1日用量は約1mg～約3mgである。

【0095】

肝脂肪の蓄積を減少させる方法におけるいずれかの実施形態では、スタチン及びゲムカベンは固定用量配合剤として投与され得る。

【0096】

肝脂肪の蓄積を減少させる方法における一部の実施形態では、対象の肝疾患の発生リスクが減少する。

【0097】

肝脂肪の蓄積を減少させる方法における一部の実施形態では、対象は肝疾患を有する。

【0098】

肝脂肪の蓄積を減少させる方法における一部の実施形態では、当該脂肪はトリグリセリ

10

20

30

40

50

ドである。

【0099】

一部の実施形態では、当該肝疾患は非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）である。

【0100】

一部の実施形態では、当該肝疾患は非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）である。

【0101】

一部の実施形態では、当該肝疾患は肝線維症である。

【0102】

一部の実施形態では、当該肝疾患は肝臓の炎症である。

10

【0103】

一部の実施形態では、当該肝疾患は肝硬変である。

【0104】

本発明の第2の態様における一実施形態では、対象は、1日用量約75mgのゲムカベン及び1~80mgの1日用量で1日用量のスタチンを投与される。

【0105】

第2の態様における特定の実施形態では、対象は、1日用量約150mgのゲムカベンと、1日用量が10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、または80からなる群から選択されるアトルバスタチンを投与される。

【0106】

第2の態様における別の実施形態では、対象は、1日用量約300mgのゲムカベンと、1日用量が10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、または60mgからなる群から選択されるアトルバスタチンを投与される。

20

【0107】

第2の態様における特定の実施形態では、対象は、1日用量約450mgのゲムカベンと、1日用量が10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、または60mgからなる群から選択されるアトルバスタチンを投与される。

【0108】

第2の態様における別の実施形態では、対象は、1日用量約600mgのゲムカベンと、1日用量が10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、または60mgからなる群から選択されるアトルバスタチンを投与される。

30

【0109】

第2の態様における別の実施形態では、対象は、1日用量約900mgのゲムカベンと、1日用量が10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、または60mgからなる群から選択されるアトルバスタチンを投与される。

【0110】

本発明の第2の態様における好ましい実施形態では、対象は、1日用量約450mgのゲムカベン及び10mgから選択される1日用量のスタチンを投与される。別の好ましい実施形態では、対象は、1日用量約450mgのゲムカベン及び20mgから選択される1日用量のスタチンを投与される。別の好ましい実施形態では、対象は、1日用量約450mgのゲムカベン及び40mgから選択される1日用量のスタチンを投与される。

40

【0111】

本発明の第2の態様における好ましい実施形態では、対象は、1日用量約300mgのゲムカベン及び10mgから選択される1日用量のスタチンを投与される。別の好ましい実施形態では、対象は、1日用量約300mgのゲムカベン及び20mgから選択される1日用量のスタチンを投与される。別の好ましい実施形態では、対象は、1日用量約300mgのゲムカベン及び40mgから選択される1日用量のスタチンを投与される。

【0112】

本発明の第2の態様における好ましい実施形態では、対象は、1日用量約150mgのゲムカベン及び10mgから選択される1日用量のスタチンを投与される。別の好ましい

50

実施形態では、対象は、1日用量約150mgのゲムカベン及び20mgから選択される1日用量のスタチンを投与される。別の好ましい実施形態では、対象は、1日用量約150mgのゲムカベン及び40mgから選択される1日用量のスタチンを投与される。

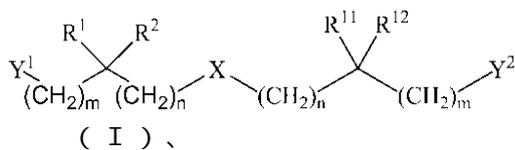
【0113】

第2の態様における一部の実施形態では、当該方法は、追加的な治療剤を投与することをさらに含み、当該追加的な治療剤は、NAFHを治療するための薬物である。一部の実施形態では、当該追加的な薬剤は、シムツズマブ、GS-4997、GS-974、GS-0976、INT-47オベチコール酸、またはセニクリピロックである。

【0114】

第2の態様における実施形態Aでは、本発明は、肝脂肪症、NAFLD、またはNAFHを治療または防止する方法を含み、当該方法は、必要とする対象に有効量の式(I)の化合物：

【化2】



または医薬的に許容される塩もしくは水和物を投与することを含む
(式中、

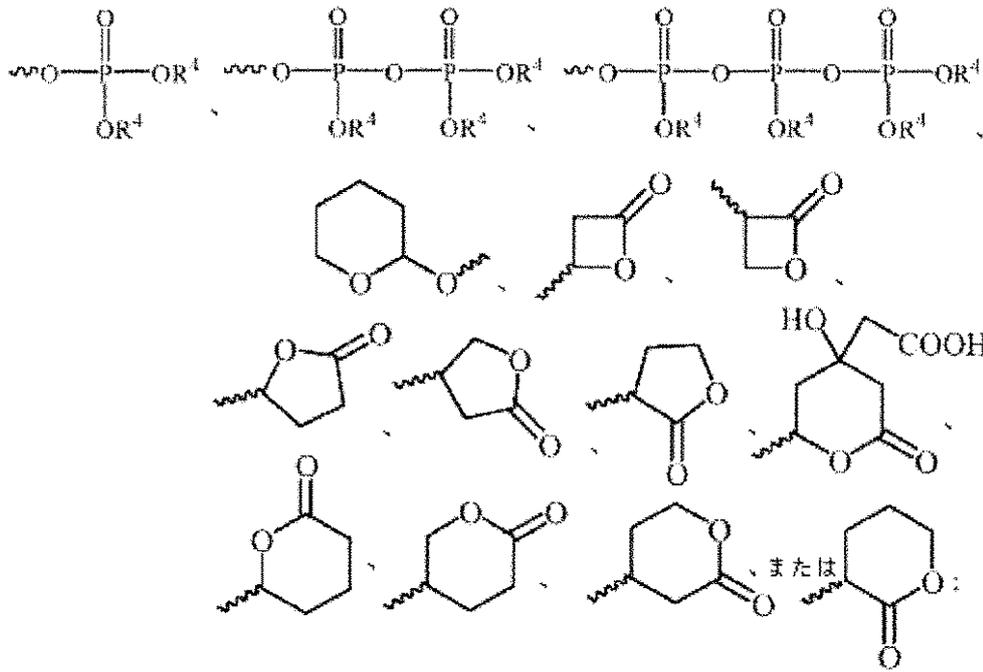
- (a) mは、それぞれ独立して、0~5を範囲とする整数であり、
- (b) nは、それぞれ独立して、3~7を範囲とする整数であり、
- (c) Xは、 $-(CH_2)_z-$ 、 $-O-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $CH(CH_2OH)-$ 、 $-NH-$ 、または $-S-$ (zは、0~4の整数である)であり、
- (d) R^1 及び R^2 は、それぞれ独立して、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニル、フェニル、ベンジルであり、あるいは、 R^1 及び R^2 ならびにこれらの両方が結合する炭素は、一緒になって $(C_3 \sim C_7)$ シクロアキル基を形成し、
- (e) R^{11} 及び R^{12} ならびにこれらの両方が結合する炭素は、一緒になって、 $(C_3 \sim C_7)$ シクロアキル基を形成し、
- (f) Y^1 及び Y^2 は、それぞれ独立して、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、OH、COOH、 $COOR^3$ 、 SO_3H 、

10

20

30

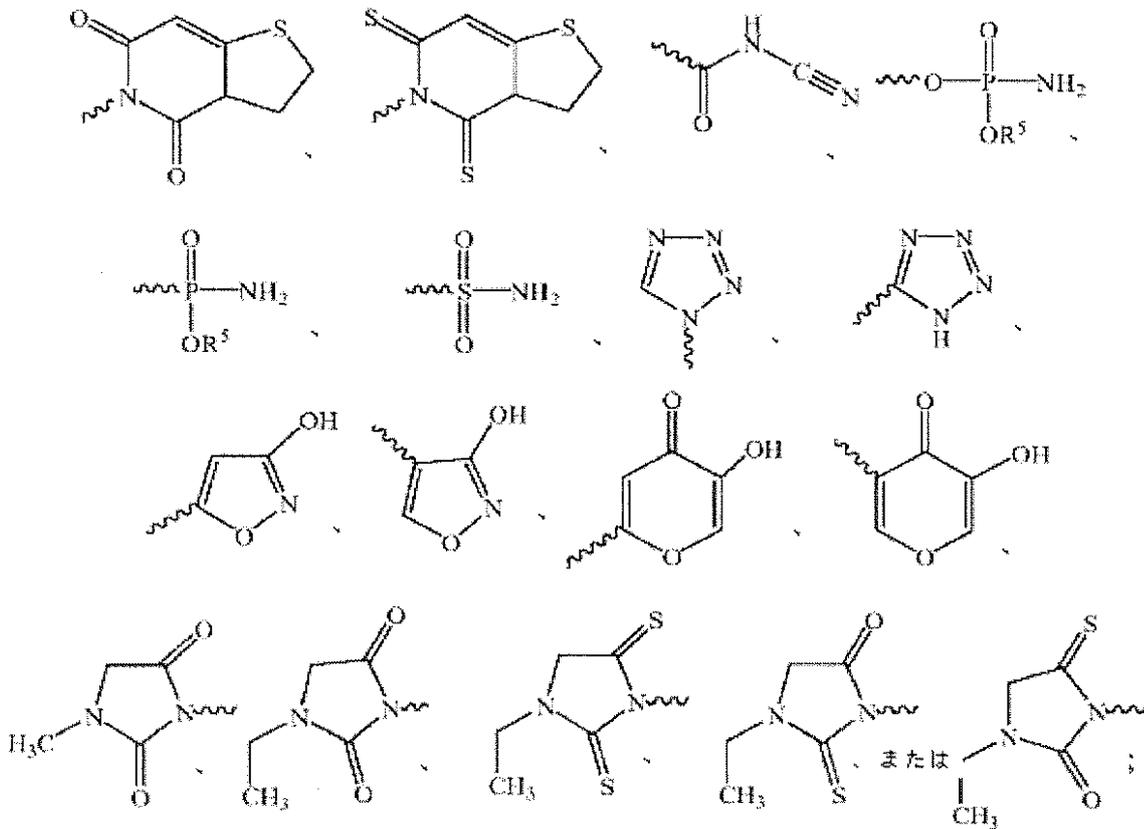
【化3】



10

20

【化4】



30

40

であり、
式中、

(i) R³ は、(C₁ ~ C₆) アルキル、(C₂ ~ C₆) アルケニル、(C₂ ~ C₆) アルキニル、フェニル、またはベンジルであり、かつ非置換であるか、または1つ以上

50

の八口、OH、(C₁ ~ C₆)アルコキシ、もしくはフェニル基で置換され、

(ii) R⁴は、それぞれ独立して、H、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₂ ~ C₆)アルケニル、(C₂ ~ C₆)アルキニルであり、かつ非置換であるか、または1つ以上の八口、OH、C₁ ~ C₆アルコキシ、もしくはフェニル基で置換され、

(iii) R⁵は、それぞれ独立して、H、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₂ ~ C₆)アルケニル、(C₂ ~ C₆)アルキニルである)。

【0115】

例示的な式(I)の化合物において、Yは、それぞれ独立して、OH、COOR³、またはCOOHである。

【0116】

他の式(I)の化合物は、mが0である化合物である。

【0117】

他の式(I)の化合物は、mが1である化合物である。

【0118】

他の式(I)の化合物は、nが4である化合物である。

【0119】

他の式(I)の化合物は、nが5である化合物である。

【0120】

他の式(I)の化合物は、zが0である化合物である。

【0121】

他の式(I)の化合物は、zが1である化合物である。

【0122】

他の式(I)の化合物は、Y¹及びY²がそれぞれ独立して(C₁ ~ C₆)アルキルである化合物である。

【0123】

他の式(I)の化合物は、Y¹及びY²がそれぞれメチルである化合物である。

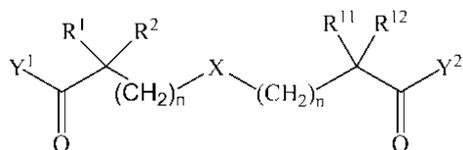
【0124】

他の式(I)の化合物は、R¹及びR²ならびにこれらの両方が結合する炭素がそれぞれ、一緒になって(C³ ~ C⁷)シクロアキル基を形成する化合物である。

【0125】

第2の態様における実施形態Bでは、本発明は、肝脂肪症、NAFLD、またはNASH治療または防止する方法であって、必要とする対象に有効量の式(II)の化合物：

【化5】



(II)、

または医薬的に許容される塩もしくは水和物を投与することを含む方法である

(式中、

(a) mは、それぞれ独立して、0 ~ 5を範囲とする整数であり、

(b) nは、それぞれ独立して、3 ~ 7を範囲とする整数であり、

(c) Xは、-(CH₂)_z-、-O-、-CH(OH)-、CH(CH₂OH)-、-NH-、または-S- (zは、0 ~ 4の整数である)であり、

(d) R¹及びR²は、それぞれ独立して、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₂ ~ C₆)アルケニル、(C₂ ~ C₆)アルキニル、フェニル、ベンジルであり、あるいは、R¹及びR²ならびにこれらの両方が結合する炭素は、一緒になって(C₃ ~ C₇)シクロアキル基を形成し、

(e) R¹¹及びR¹²ならびにこれらの両方が結合する炭素は、一緒になって、(C

10

20

30

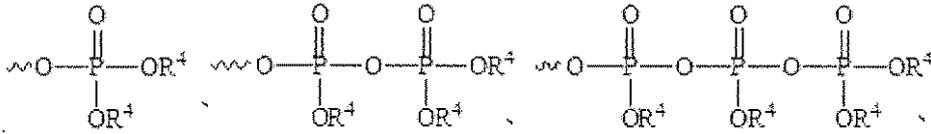
40

50

3 ~ C₇) シクロアルキル基を形成し、

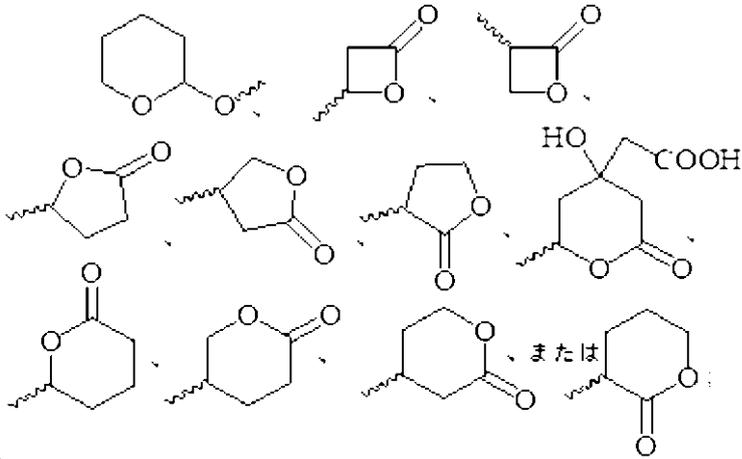
(f) Y¹ 及び Y² は、それぞれ独立して、(C₁ ~ C₆) アルキル、OH、COOH、COOR³、SO₃H、

【化6】



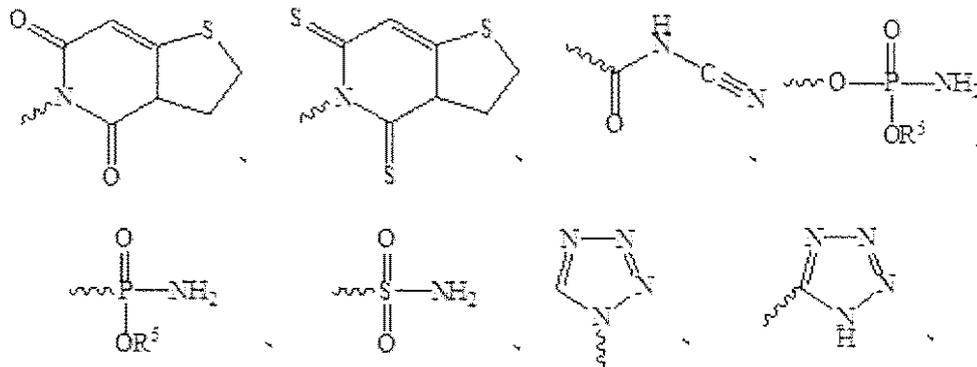
10

【化7】



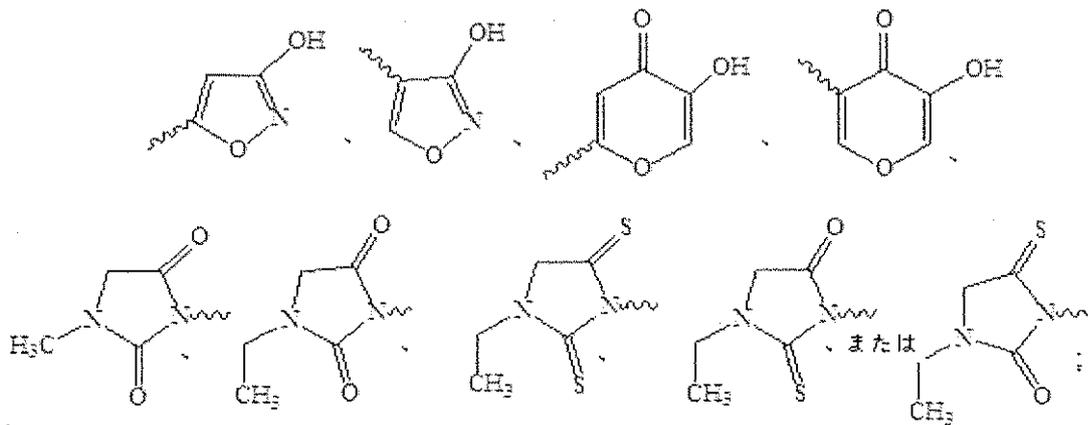
20

【化8】



30

【化9】



10

であり、

式中、

(i) R^3 は、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₂ ~ C₆)アルケニル、(C₂ ~ C₆)アルキニル、フェニル、またはベンジルであり、かつ非置換であるか、または1つ以上のハロ、OH、(C₁ ~ C₆)アルコキシ、もしくはフェニル基で置換され、

20

(ii) R^4 は、それぞれ独立して、H、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₂ ~ C₆)アルケニル、(C₂ ~ C₆)アルキニルであり、かつ非置換であるか、または1つ以上のハロ、OH、C₁ ~ C₆アルコキシ、もしくはフェニル基で置換され、

(iii) R^5 は、それぞれ独立して、H、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₂ ~ C₆)アルケニル、(C₂ ~ C₆)アルキニルである)。

【0126】

例示的な式(II)の化合物において、Yは、それぞれ独立して、OH、COOR³、またはCOOHである。

【0127】

他の式(II)の化合物は、nが4である化合物である。

30

【0128】

他の式(II)の化合物は、nが5である化合物である。

【0129】

他の式(II)の化合物は、zが0である化合物である。

【0130】

他の式(II)の化合物は、zが1である化合物である。

【0131】

他の式(II)の化合物は、Y¹及びY²がそれぞれ独立して(C₁ ~ C₆)アルキルである化合物である。

40

【0132】

他の式(II)の化合物は、Y¹及びY²がそれぞれメチルである化合物である。

【0133】

他の式(II)の化合物は、R¹及びR²ならびにこれらの両方が結合する炭素がそれぞれ、一緒になって(C³ ~ C⁷)シクロアキル基を形成する化合物である。

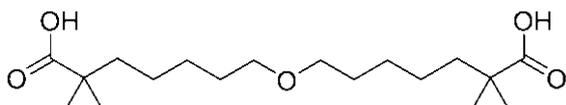
【0134】

実施形態Bによる一実施形態では、当該化合物はベンペド酸である。

【0135】

実施形態Bによる一実施形態では、当該化合物は以下の構造：

【化10】



またはその医薬的に許容される塩もしくは水和物を有する。

【0136】

実施形態Bによる別の実施形態では、当該化合物はゲムカベンまたはその医薬的に許容される塩である。

【0137】

実施形態Bによる一実施形態では、当該化合物はゲムカベンのモノカルシウム塩である。 10

【0138】

実施形態Bによるまた別の実施形態では、当該化合物はゲムカベンのモノカルシウム塩の水和物である。

【0139】

実施形態Bによる別の実施形態では、当該化合物またはその医薬的に許容される塩は、医薬的に許容されるビヒクルまたは担体をさらに含む組成物中に存在する。

【0140】

実施形態Bによるさらなる実施形態では、当該組成物は経口投与用に製剤化される。

【0141】

実施形態Bによるなおさらなる実施形態では、当該組成物はタブレットまたはカプセルの形態をとる。 20

【0142】

実施形態Bによる一実施形態では、当該化合物またはその医薬的に許容される塩は、約50mg～約900mgの量で組成物中に存在する。

【0143】

実施形態Bによる一実施形態では、当該化合物またはその医薬的に許容される塩は、約1mg～約1,000mgの量で組成物中に存在する。

【0144】

本発明の第3の態様は、ゲムカベン及びスタチンの固定用量配合剤である。 30

【0145】

スタチン及びゲムカベンの固定用量配合剤は、I Ib型高脂血症、高度な肝脂肪、NAFLD、またはNASH、さらにこれらの状態に関連する合併症、加えてLDL-C及び/またはトリグリセリドレベルの降下を要する他の状態、のうちの1つ以上を有する対象の防止及び治療に有用である。固定用量配合剤を使用することにより、用量における各構成成分の放出速度をコントロールすることができる。スタチン、特に高用量のスタチンは、安全性に関わる合併症につながり得るため、スタチンの制御された緩速な放出は有益であり、かつ高用量のスタチンに関連した骨格筋の安全性におけるリスクを緩和することができる。また固定用量配合剤は服用に好都合であり、かつ複数の薬剤を服用する場合における誤投与のリスクを減少させ、さらに遵守状況も向上させ得る。 40

【0146】

本開示の固定用量配合剤は、特定の量でゲムカベン及びスタチンを含む医薬組成物を含む。本開示の固定用量配合剤は、本明細書に記載される別々に投与される場合と同じ投薬量のAPIを提供する。

【0147】

本発明の第3の態様における一実施形態は、約50mg～約750mgの量のゲムカベン及び約1mg～約60mgのスタチンを含む固定用量配合剤である。

【0148】

一実施形態では、固定用量配合剤は、ゲムカベンの量が約150mg～約600mgであり、スタチンが、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチ 50

ン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンであり、かつ

- a . アトルバスタチンの量が約 1 0 m g ~ 約 6 0 m g である ;
- b . ロバスタチンの量が約 5 m g ~ 約 2 0 m g である ;
- c . シンバスタチンの量が約 1 0 m g ~ 約 4 0 m g である ;
- d . プラバスタチンの量が約 1 0 m g ~ 約 8 0 m g である ;
- e . ロバスタチンの量が約 2 0 m g ~ 約 4 0 m g である ;
- f . フルバスタチンの量が約 2 0 m g ~ 約 8 0 m g である ; または
- g . ピタバスタチンの量が約 1 m g ~ 約 4 m g である。

【 0 1 4 9 】

本発明の第 3 の態様における一部の実施形態では、ゲムカペンの量は約 3 0 0 m g ~ 約 6 0 0 m g である。 10

【 0 1 5 0 】

一部の実施形態では、ゲムカペンの量は 3 0 0 m g または 6 0 0 m g である。

【 0 1 5 1 】

一部の実施形態では、アトルバスタチンの量は約 1 0 m g ~ 約 4 0 m g である。

【 0 1 5 2 】

他の実施形態では、ロスバスタチンの量は約 1 0 ~ 約 2 0 m g である。

【 0 1 5 3 】

さらに他の実施形態では、シンバスタチンの量は約 1 0 m g ~ 約 2 0 m g である。

【 0 1 5 4 】

一部の実施形態では、プラバスタチンの量は約 1 0 m g ~ 約 2 0 m g である。 20

【 0 1 5 5 】

他の実施形態では、ロバスタチンの量は約 4 0 m g である。

【 0 1 5 6 】

他の実施形態では、フルバスタチンの量は約 2 0 m g ~ 約 4 0 m g である。

【 0 1 5 7 】

他の実施形態では、ピタバスタチンの量は約 1 m g ~ 約 3 m g である。

【 0 1 5 8 】

一部の実施形態では、固定用量配合剤は 3 0 0 m g のゲムカペン及び 1 0 m g のアトルバスタチンを含む。一部の実施形態では、固定用量配合剤は 3 0 0 m g のゲムカペン及び 2 0 m g のアトルバスタチンを含む。一部の実施形態では、固定用量配合剤は 3 0 0 m g のゲムカペン及び 4 0 m g のアトルバスタチンを含む。 30

【 0 1 5 9 】

一部の実施形態では、固定用量配合剤は 6 0 0 m g のゲムカペン及び 1 0 m g のアトルバスタチンを含む。一部の実施形態では、固定用量配合剤は 6 0 0 m g のゲムカペン及び 2 0 m g のアトルバスタチンを含む。一部の実施形態では、固定用量配合剤は 6 0 0 m g のゲムカペン及び 4 0 m g のアトルバスタチンを含む。

【 0 1 6 0 】

一部の実施形態では、固定用量配合剤は 9 0 0 m g のゲムカペン及び 1 0 m g のアトルバスタチンを含む。一部の実施形態では、固定用量配合剤は 9 0 0 m g のゲムカペン及び 2 0 m g のアトルバスタチンを含む。一部の実施形態では、固定用量配合剤は 9 0 0 m g のゲムカペン及び 4 0 m g のアトルバスタチンを含む。一部の実施形態では、固定用量配合剤はタブレットの形態をとる。 40

【 0 1 6 1 】

製剤化

本発明において有用な化合物は、医薬組成物として製剤化し、ヒト対象などの対象に、選択された投与経路(すなわち、経口、経皮、及び非経口)に適合した様々な形態で投与することができる。このような組成物及びこのような組成物を調製する方法は周知であり、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition (Mack Publishing Company, 19 50

95)に見いだすことができる。例えば、ゲムカペンの典型的な製剤法は米国特許第5,648,387号に記載されている。一実施形態では、ゲムカペンは、単体で、またはスタチンと組み合わせて、一般的な添加剤及び担体(例えば、デンプン、結合剤、希釈剤など)と共に製剤化され、好都合な経口投与用にタブレットに成形されるかまたはゼラチンカプセルに封入される。

【0162】

本発明の第4の態様は、固定用量配合剤を含むキットであって、約1mg~約60mgのスタチン及び約150mg~約900mgのゲムカペンならびにその使用説明書を含むキットを提供する。一部の実施形態において、スタチンは、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、及びピタバスタチン、またはこれらの医薬的に許容される塩から選択される。一部の実施形態では、当該スタチンはアトルバスタチンである。

10

【0163】

本発明の第5の態様は、対象における線維症を軽減する方法であって、ゲムカペンを単体で、またはスタチンと組み合わせて投与することを含む方法を提供する。第5の態様における一実施形態は、必要とする対象における肝線維症を軽減する方法であって、対象にゲムカペンを投与することを含む方法である。第5の態様における別の実施形態は、必要とする対象の肝線維症を軽減する方法であって、NASHを有する対象にゲムカペンを投与することを含む方法である。第5の態様における一部の形態では、投与されるゲムカペンの1日用量は約50mg~約900mgである。他の実施形態では、ゲムカペンの1日用量は約150mg~約600mgである。さらに別の実施形態では、ゲムカペンの1日用量は150mg、300mg、450、または600mgである。第5の態様における別の実施形態は、必要とする対象の肝線維症を軽減する方法であって、ゲムカペンをスタチンと組み合わせて投与することを含む方法である。様々な実施形態では、当該スタチンは、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンである。

20

【0164】

本発明の第6の態様は、対象における血漿フィブリノーゲンレベルを減少させる方法であって、対象にゲムカペンを投与することを含む方法を提供する。本発明の第6の態様における一実施形態は、フィブリノーゲンレベルが300mg/dL超である、必要としている対象における血漿フィブリノーゲンレベルを減少させる方法であって、対象にゲムカペンを投与することを含む方法である。本発明の第6の態様における別の実施形態は、フィブリノーゲンレベルが400mg/dL超である、必要としている対象における血漿フィブリノーゲンレベルを減少させる方法であって、対象にゲムカペンを投与することを含む方法である。第6の態様における一部の実施形態では、当該方法は、対象に50mg~900mgの用量のゲムカペンを投与することを含む。一部の実施形態では、ゲムカペンは150~600mgの用量で投与される。一部の実施形態では、ゲムカペンの用量は50、75、150、300、450、600、または900mgである。第6の態様における一実施形態は、必要とする対象における血漿フィブリノーゲンレベルを減少させる方法であって、対象にゲムカペンをスタチンと組み合わせて投与することを含む方法である。別の実施形態は、対照の血漿フィブリノーゲンレベルを減少させる方法であって、対象にゲムカペンをスタチンと組み合わせて投与することを含み、スタチンがアトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンである、方法である。第6の態様における別の実施形態は、必要とする対象における血漿フィブリノーゲンを減少させる方法であって、対象に50mg~900mgの1日用量のゲムカペン及び1mg~80mgの1日用量のスタチンを投与することを含む方法である。また別の実施形態は、必要とする対象における血漿フィブリノーゲンを減少させる方法であって、対象に300mg、600mg、または900mgの1日用量のゲムカペン及び10mg、40mg、または80mgの1日用量のアトルバスタチンを投与することを含む方法である。さらに別の実施形態では、必要とする対象における血漿フィブ

30

40

50

リノーゲンを減少させる方法であって、対象に600mgの1日用量のゲムカベン及び10mgの1日用量のアトルバスタチンを投与することを含む方法である。

【0165】

第6の態様における実施形態の一部では、対象における一次心血管イベントのリスクが減少する。第6の態様における他の実施形態では、対象の二次心血管イベントのリスクが減少する。第6の態様における実施形態のいずれかでは、対象は、追加的な治療剤を投与され得る。一部の実施形態では、この追加的な治療剤は、抗凝固剤または脂質制御剤である。一部の実施形態では、当該抗凝固剤は、アスピリン、ダビガトラン、リバーロキサパン、アピキサパン、クロピドグレル、チエノピリジン、ワルファリン(クマジン)、アセノクマロール、フェンプロクモモン、アトロメンチン、フェニンジオン、エドキサパン、ベトリキサパン、レタキサパン、エリバキサパン、ヒルジン、レピルジン、ピバリルジン、アルガトロパン、ダビガトラン、キシメラガトラン、パトロキソピン、ヘメンチン、ヘパリン(複数可)、及びビタミンEである。第6の態様における別の実施形態では、必要とする対象における血漿フィブリノーゲンレベルを減少させる方法であって、対象に、50mg~900mgの1日用量のゲムカベン及び1mg~80mgの1日用量のスタチンを投与して、糖尿病、耐糖能障害、代謝症候群、肥満、がん、敗血症、睡眠時無呼吸、心房細動、深部静脈血栓症、脳卒中、凝固亢進状態、心筋梗塞、肺塞栓症、再狭窄、高トリグリセリド血症、高血圧、NAFLD、NASH、または心血管疾患を有する対象における凝固合併症を予防的に減少させるまたは予防することを含む方法である。

10

【0166】

第6の態様における別の実施形態は、必要とする対象における凝血減少のために血漿フィブリノーゲンを減少させる方法であって、対象に50mg~900mgの1日用量のゲムカベンを投与することを含む方法である。第6の態様における別の実施形態は、必要とする対象における予防的凝血減少のために血漿フィブリノーゲンを減少させる方法であって、対象に50mg~900mgの1日用量のゲムカベンを投与することを含む方法である。一部の実施形態では、ゲムカベンと組み合わせて投与される。一部の実施形態では、当該スタチンは、アトルバスタチン、ロスバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、またはピタバスタチンであり、スタチンの1日用量は1mg~80mgである。第6の態様における一実施形態は、必要とする対象における血漿フィブリノーゲンを減少させる方法であって、対象に50mg~900mgの1日用量のゲムカベンを投与して末梢血管疾患、末梢動脈疾患、微小血管疾患、末梢動脈閉塞性疾患、または重症下肢虚血を治療することを含む方法である。

20

30

【実施例】

【0167】

実施例1

シトクロムP450酵素は、ヒトの薬物代謝及び異物代謝を媒介する。

例えば、一部のスタチン及びフィブラートは、自らの異化プロセスの一部としてシトクロムP450の3A4アイソフォームを使用または活性化する。一緒に投与した場合、スタチン及びフィブラートは、シトクロムP450の3A4アイソフォームに対し競合し、その結果薬物間の相互作用がもたらされ、血漿中の各薬剤レベルに影響が生じる。

40

【0168】

ゲムカベンが同様の薬物間相互作用を有し得るかどうかを検討するため、100、300、及び1500mMのゲムカベンが、ヒトの薬物代謝及び異物代謝を媒介する7種の主要なシトクロムP450酵素：CYP1A2、CYP2A6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、及びCYP3A4を阻害する能力を、アイソフォーム選択性マーカー基質及びヒト肝臓ミクロソーム調製物を用いて検討した。

【0169】

一連のプローブ基質を使用して、ゲムカベンの阻害活性を、このプローブ基質のシトクロムP450依存アイソフォーム選択性代謝経路について評価した。本研究のために、University of Washington Human Liver Bank

50

からヒト肝臓のHLM141、HLM143、及びHLM144を選択したマイクロソームを用意し、ゲムカベン(100、300、及び1500mM、すなわち30.2、90.7、及び453.6mg/mL)が、各プローブ基質の自らのKmにおける定義代謝経路を阻害する能力を定量した。唯一の例外はCYP1A2であり、Kmの約1.5mMを下回る0.5mMを濃度に使用した。他の各プローブに使用した実際の濃度は以下に明記する。実験的対照は、ゲムカベン不在下におけるプローブ基質による完全なマイクロソームインキュベーションからなるものであった。定量は、対照及び種々のゲムカベン濃度のそれぞれについて、3重反復で行った。初回検討用を選択するゲムカベンの諸濃度は、マイクロソーム濃度が等しく、かつin vivoで遭遇することが予想されるゲムカベンの濃度を顕著に超えると考えられる範囲を含むことを保証するように設計した。7種のアイソフォーム及び特定のアイソフォーム活性のモニターに使用した各プローブの代謝経路を、以下に収載する。

【0170】

CYP1A2：高濃度(0.5mM)の(R)-ワルファリンの6-ヒドロキシ化。反応のモニターは、定量ガスクロマトグラフィー/質量分析(GC/MS)により、内部標準として6-ヒドロキシワルファリン-(d5-フェニル)を用いて行う。

【0171】

CYP2A6：クマリン(4µM)の7-ヒドロキシ化。反応のモニターは、HPLCにより、蛍光検出を用いて行う。

【0172】

CYP2C9：(S)-ワルファリン(4µM)の7-ヒドロキシ化。反応のモニターは、定量GC/MSにより、内部標準として7-ヒドロキシワルファリン-(d5-フェニル)を用いてモニターする。

【0173】

CYP2C19：(S)-メフェニトイン(50µM)の4'-ヒドロキシ化。反応のモニターは、定量GC/MSにより、内部標準としてメフェニトイン-(d3-メチル)を用いて行う。

【0174】

CYP2D6：デキストロメトルフアン(5µM)のO-脱メチル化。反応のモニターは、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により、蛍光検出を用いて行う。

【0175】

CYP2E1：p-ニトロフェノール(40µM)からのp-ニトロカテコール形成。形成された生成物の量は、HPLCによりモニターされる。

【0176】

CYP3A4：(R)-ワルファリン(0.5mM)の10-ヒドロキシ化。反応のモニターは、定量GC/MSにより、内部標準として10-ヒドロキシワルファリン-(d5-フェニル)を用いてモニターする。

【0177】

7種のヒトシトクロムP450アイソフォームに対し3種の濃度(100、300、及び1500µM、すなわちそれぞれ30.2、90.7、及び453.6µg/mL)で試験したが、ゲムカベンはいずれのアイソフォームに対しても顕著には阻害していないように思われた。血漿-タンパク質結合は、ヒトの場合非線形であるが、本研究で使用した濃度のゲムカベンは、結合の研究で使用されるものより4倍上回る。最も高い使用濃度(1500µM)では、CYP2A6、CYP2D6、及びCYP2C9に対する境界的(10%~20%)阻害活性が存在するように思われた。これに対し、CYP2E1は、わずかに(約20%)強化されているように思われた。これらの結果が示唆することは、ゲムカベンと、試験したシトクロムP450アイソフォームの1つにクリアランスを依存する他の薬物との間で代謝ベースの臨床的相互作用が起こる可能性は、治療濃度のゲムカベンの場合、非常に低いということである。

【0178】

10
20
30
40
50

表 3 に示すように、主要なヒト肝臓シトクロム P 4 5 0 アイソフォームの IC 5 0 値は、1 5 0 0 μ M (4 5 3 . 6 μ g / m l) よりも大きい。

【表 3】

| CYP450 | IC ₅₀ 概算値 |
|---------|----------------------|
| CYP1A2 | >1.5mM |
| CYP2A6 | >1.5mM |
| CYP2C9 | >1.5mM |
| CYP2C19 | >1.5mM |
| CYP2D6 | >1.5mM |
| CYP2E1 | >1.5mM |
| CYP3A4 | >1.5mM |

10

【 0 1 7 9 】

実施例 2

放射標識ゲムカベンの雄ラット組織内分布

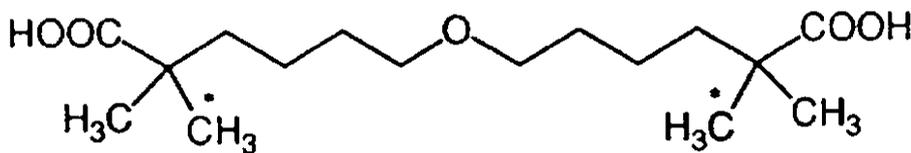
放射標識ゲムカベンを投与したラットにおける吸収、分布、及び除去の研究により、ほとんど全ての薬物が、ゲムカベンの代謝及び除去に関与する臓器である肝臓及び腎臓内に分布し、筋肉には、ほとんどまたは全く分布がないことが実証された。

【 0 1 8 0 】

本研究は、比放射能が 4 7 . 3 μ Ci / mg の [¹⁴C] ゲムカベンをを用いて実施した。標識の位置 (*) を示した [¹⁴C] ゲムカベンの構造を以下に示す。

20

【化 1 1】



【 0 1 8 1 】

0 . 4 5 m l のエタノール及び 4 . 0 5 m l の水中 0 . 5 % メチルセルロースに標識薬物を溶解することにより、用量溶液を調整した。非標識ゲムカベンを添加して 1 0 m g / k g 溶液を得た。用量溶液の最終比放射能は、1 0 . 3 7 μ Ci / mg であった。

30

【 0 1 8 2 】

平均体重 2 0 2 g の雄ウイスターラットを終夜絶食させてから投与を行った。動物に単回経口 (P O) 用量の 1 0 . 0 m g / k g の [¹⁴C] ゲムカベンを投与し (およそ 2 1 μ Ci / ラット) 、投与後 1 、 4 、 8 、 2 4 、 4 8 、 9 6 、または 1 9 2 時間時に 2 匹 / 時点をハロタン麻酔の過剰投与により屠殺した。死体をドライアイス / ヘキサン混合物で急速凍結させ、全身の薄切り及びオートラジオグラフィーのために用意した。5 0 μ m 厚さの薄切りを - 2 0 で風乾し、BioMaxサイエンティフィックイメージングフィルム (Eastman Kodak , Rochester , New York) またはオートラジオグラフィー露出用蛍光イメージングプレート (Molecular Dynamics , Sunnyvale , California) に適用した。アナライザーの校正用に、炭素 - 1 4 標準物質 (American Radiolabeled Chemicals , St . Louis) を代表的なフィルム及びプレート上に含ませた。処理済みフィルムをアナライザースキャナー (Loats INQUIRY 画像分析システム、Loats Associates , Westminster , Maryland) でデジタル化し、デジタルイメージの定量ビデオデンストメトリー分析により、組織中に残存する放射能を定量した。イメージングプレートは、1 週間露出した後にスキャンした。得られた電子的イメージを、分布の予備評価に使用した。

40

【 0 1 8 3 】

50

表4は、10 mg / kgの経口投与後、組織中に残存する[14C]ゲムカベン放射性当量 (radio equivalent) を示す。

【表4】

| 時間(時間) | μg 当量/g | | | | | | |
|--------|--------------------|-------|-------|-------|------|------|------|
| | 1 | 4 | 8 | 24 | 48 | 96 | 192 |
| 血液 | 15.46 | 13.65 | 9.75 | 4.69 | 0.44 | BLQ | BLQ |
| 肝臓 | 35.78 | 37.08 | 27.42 | 24.35 | 3.64 | 0.24 | BLQ |
| 腎臓 | 18.75 | 17.84 | 16.44 | 17.45 | 7.23 | 0.83 | 0.24 |
| 筋肉 | 1.35 | 1.40 | 0.99 | 0.45 | BLQ | BLQ | BLQ |
| 副腎 | 6.05 | 4.76 | 4.29 | 1.42 | 0.22 | BLQ | BLQ |
| 脳 | 0.41 | 0.47 | 0.43 | 0.24 | BLQ | BLQ | BLQ |
| 肺 | 11.69 | 10.15 | 7.59 | 3.58 | 0.36 | BLQ | BLQ |

10

定量化の下限 = 0.10 μg / g

BLQ : 定量化レベル未満

【0184】

実施例3

20

アトルバスタチンの薬物動態に及ぼすスタチンとゲムカベンとの間の潜在的相互作用

スタチンとゲムカベンとの間の潜在的相互作用をさらに検討するため、複数用量のゲムカベン(300及び900 mgを1日1回[QD])がアトルバスタチン(80 mg QD)の定常状態における薬物動態に及ぼす効果について研究した。

【0185】

本試験は、健康な対象における、非盲検・複数投与・1シーケンス、3回治療のクロスオーバー研究であった。

【0186】

20人の対象が以下の治療を受けた：(治療1)80 mgアトルバスタチンQDを5日間；(治療2)80 mgアトルバスタチンQD及び300 mgゲムカベンQDを11日間(6~16日目)；(治療3)80 mgアトルバスタチンQD及び900 mgゲムカベンQDを11日間(17~27日目)。薬剤は、各治療ごとに1日のうちのほぼ同じ時間に経口投与した。各用量は、8ozの水と共に投与した。

30

【0187】

5、16、及び27日目の用量(複数可)の後に、アトルバスタチン及びアトルバスタチン代謝アッセイ用の連続血液サンプルを24時間収集した。3ミリリットルの静脈血をヘパリンナトリウムを含有する採血管に採取した。血液サンプルの採取を、5、16、及び27日目の投薬前ならびに投薬後0.33、0.66、1、2、3、4、6、8、12、及び24時間時に行った。各収集後、できるだけ速やかに血液サンプルを遠心処理し、血漿を分離し、アトルバスタチン濃度のアッセイを行うまで70℃で凍結保管した。

40

【0188】

80 mgのアトルバスタチンを単体で、または300及び900 mgのゲムカベンと組み合わせ投与した場合は、健康なボランティアに対する忍容性が良好だった。アトルバスタチン及びアトルバスタチン代謝産物についてのCmax、tmax、AUC(0~24)、及びt1/2の値に基づけば、ゲムカベンはアトルバスタチンの薬物動態に重要な効果を及ぼさない。アトルバスタチンの薬物動態を表5に示し、アトルバスタチンの総分析対象物(アトルバスタチン及びその代謝産物)の薬物動態を表6に示す。

【表 5】

| パラメーター | 最小2乗平均値 | | 比 | 90%信頼区間 |
|----------------------|----------------|---------------------|------|----------|
| | アトルバスタチン単体(参照) | アトルバスタチン及びゲムカベン(試験) | | |
| 300mgゲムカベン、1日1回 | | | | |
| Cmax (ng/mL) | 26.5 | 24.6 | 92.8 | 78.2~100 |
| tmax (時間) | 1.03 | 0.752 | 72.7 | 適用不可能 |
| AUC(0~24) (ng・時間/mL) | 119 | 113 | 94.9 | 85.8~105 |
| t1/2* (時間) | 6.44 | 6.23 | 96.7 | 82.9~111 |
| 900mgゲムカベン、1日1回 | | | | |
| Cmax (ng/mL) | 26.5 | 24.7 | 93.3 | 78.3~111 |
| tmax (時間) | 1.03 | 1.07 | 103 | 適用不可能 |
| AUC(0~24) (ng・時間/mL) | 119 | 114 | 96.0 | 86.6~106 |
| t1/2* (時間) | 6.44 | 6.33 | 98.2 | 84.1~112 |

10

20

比=パーセンテージとして表される治療平均値の比(100%×試験/参照)。

90%信頼区間=参照平均のパーセンテージとして表される治療平均値の比(試験/参照)の90%信頼区間推定値。

*=t1/2の値は、0~24時間のデータのみに基づいており、真の終末相半減期よりも低く推定されている。そのため、これらの値は過去の研究の報告値よりも実質的に低い。

【0189】

ゲムカベンがアトルバスタチンの薬物動態に及ぼす効果の定量に加えて、ゲムカベンが代謝産物に及ぼす効果も定量した。AUC(0~24)値に基づけば、80mgのアトルバスタチンを300または900mgのゲムカベンと共に投与した後のアトルバスタチン総代謝産物への曝露は、80mgのアトルバスタチン単体への曝露に類似していた。平均AUC(0~24)値の差は7%未満であった。試験/参照治療AUC(0~24)値の比における90%信頼区間は、ログ変換に基づいて80%~125%の範囲内であり、これはゲムカベンと総代謝産物との相互作用が存在しなかったことを示すものである。総分析対象物濃度がMで表される場合、または活性分析対象物のアトルバスタチン、o-ヒドロキシアトルバスタチン、及びp-ヒドロキシアトルバスタチンのみが分析の前に配合された場合に、同様の結果が観察された。

30

【表 6】

| パラメーター | 最小 2 乗平均値 | | 比 | 90%信頼区間 |
|------------------------|----------------|---------------------|------|----------|
| | アトルバスタチン単体(参照) | アトルバスタチン及びゲムカベン(試験) | | |
| 300mg ゲムカベン、1日1回 | | | | |
| Cmax (ng/mL) | 83.5 | 74.3 | 89.0 | 76.7~103 |
| tmax (時間) | 1.92 | 1.77 | 92.2 | 適用不可能 |
| AUC(0 ~ 24) (ng・時間/mL) | 668 | 646 | 96.7 | 87.6~107 |
| t1/2*(時間) | 6.13 | 5.97 | 97.3 | 89.4~105 |
| 900mg ゲムカベン、1日1回 | | | | |
| Cmax (ng/mL) | 83.5 | 82.8 | 99.1 | 85.2~115 |
| tmax (時間) | 1.92 | 1.73 | 90.1 | 適用不可能 |
| AUC(0 ~ 24) (ng・時間/mL) | 668 | 713 | 107 | 96.5~118 |
| t1/2*(時間) | 6.13 | 6.20 | 101 | 93.0~109 |

10

20

比 = パーセンテージとして表される治療平均値の比 (100% 試験 / 参照)。

90% 信頼区間 = 参照平均のパーセンテージとして表される治療平均値の比 (試験 / 参照) の 90% 信頼区間推定値。

* = t1/2 の値は、0 ~ 24 時間のデータのみに基づいており、真の終末相半減期よりも低く推定されている。そのため、これらの値は過去の研究の報告値よりも実質的に低い。

30

【0190】

アトルバスタチン血漿濃度、アトルバスタチンラクトン濃度、オルト - ヒドロキシアトルバスタチン、オルト - ヒドロキシアトルバスタチンラクトン、パラ - ヒドロキシアトルバスタチン、及びパラ - ヒドロキシアトルバスタチンラクトンについての平均定常状態アトルバスタチン血漿の濃度 - 時間プロファイル、図 1 A ~ 1 E にグラフ形式で示す。平均定常状態におけるアトルバスタチン及び代謝産物の血漿の濃度 - 時間プロファイル、グラフ形式で図 1 G に示す。(80 mg アトルバスタチン単体(黒丸)、80 mg アトルバスタチン及び300 mg ゲムカベン(白丸)、及び80 mg アトルバスタチン及び900 mg ゲムカベン(黒四角))

40

【0191】

ゲムカベンがシンバスタチンの薬物動態に及ぼす効果

【0192】

健康な成人男女対象に対し、1日1回の経口によるシンバスタチン用量を15日間、1日1回の経口によるシンバスタチン及びゲムカベンの用量を15日間、間に4週間の休薬期間を入れて投与した。

【0193】

採血(シンバスタチン) : 10ミリリットルの静脈血を、15日目及び57日目のシンバスタチン用量の前及びその後の0.5、1、2、3、4、6、8、12、及び24時間に、EDTAを含有する真空採血管に収集した。各時点において、血漿を回収し、2ア

50

リコートに分離し、一方をLC/MS/MSアッセイに、もう一方をEIAアッセイに用いた。採血後、サンプルを遠心処理し、血漿を分離し、薬物濃度の分析を行うまで-80で凍結保管した。

【0194】

採血（ゲムカベン）：5ミリリットルの静脈血を、15日目または57日目のゲムカベン用量の前及びその後の0.5、1、2、3、4、8、12、及び24時間時に、72USP単位のヘパリンナトリウムを含有するガラス製の真空採血管に採取した。採血後、サンプルを遠心処理し、血漿を分離し、分析を行うまで-20で凍結保管した。

【0195】

表7は、80mgシンバスタチン単体（参照）、及び900mgゲムカベン（CI-1027）（試験）の投与後におけるHMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤の薬物動態パラメーター値の概要を示す。

【表7】

| パラメーター | 最小2乗平均値 | | | |
|--------------------------|-------------------|------------------|------|-----------|
| | シンバスタチン 単体(参照) | シンバスタ チン及びCI- | 比 | 90%信頼区間 |
| Cmax(ng当量/mL) | 37.6 | 29.3 | 77.9 | 66.9~90.6 |
| tmax(時間) | 1.55 | 1.95 | 126 | 適用不可能 |
| AUC(0~24)(ng当量時間 /mL) | 211 | 219 | 104 | 93.9~116 |
| t1/2(時間) | 8.15 | 8.73 | 107 | 96.6~118 |
| Cmin(ng当量/mL) | 1.69 | 2.13 | 126 | 97.1~162 |

パラメーターは表4に記載。

比 = パーcentageとして表される治療平均値の比 (100% × 試験 / 参照)。

90%信頼区間 = 参照平均のpercentageとして表される治療平均値の比 (試験 / 参照) の90%信頼区間推定値。

【0196】

図1Hは、シンバスタチン（80mg）を単体で（黒い印）、またはゲムカベン（600mg）と組み合わせて（白い印）投与した後の平均の活性HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤濃度を示す。この結果は、ゲムカベンがCmaxを降下させ、ただしAUCには効果を及ぼさないことを示すものである。高強度用量のシンバスタチンの場合に、シンバスタチンまたはシンバスタチン代謝産物の異化作用に対するわずかな効果が観察された。（活性HMG-Co-Aレダクターゼ阻害剤の濃度及びパラメーター値は、本アッセイで使用した標準物質のシンバスタチン酸に対するng当量/mLとして報告している）

【0197】

実施例4

ゲムカベン及びスタチンの組合せが血漿のLDL-C、TG、及びApoBのレベル降下に及ぼす効果。

8週間の二重盲検ランダム化プラセボ対照用量設定試験を行い、高コレステロール血症患者の治療におけるゲムカベンの有効性及び安全性を、単剤療法としてまたはアトルバスタチンとの組合せで評価した。第1の目的は、ゲムカベン300、600、及び900mg/日を単剤療法としてまたはアトルバスタチン10、40、及び80mg/日と組み合わせて高コレステロール血症患者（フレドリックソンのIIa型及びIIb型）に投与する場合における、低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）を下げることの有効性及び用量反応性を評価することであった。第2の目的は、ゲムカベンによる、高感度c反応性タンパク質（hsCRP）、高密度リポタンパク質コレステロール（HDL）、及

10

20

30

40

50

びトリグリセリド (TG)、及びアポリポタンパク質 B (アポ B) の調節を評価することであった。

【0198】

対象をランダム化して、プラセボ、単剤療法としての薬剤、または種々の用量レベルとして配合された薬剤を、8週間投与した。治療期間の前及び最後に、安全性及び脂質変数 (血漿トリグリセリド、LDL-C、及びアポ B レベルを含む) を評価した。

【0199】

LDL-C レベル 130 mg/dL 及びトリグリセリドレベル 150 mg/dL を有する対象における LDL-C 及び TG の下位群分析。(IIb型) 80 mg 未満のアトルバスタチン及びゲムカベン (300、600、または900 mg) を投与した患者において、加算性を上回るトリグリセリドの減少が明らかになった。組合せ療法によるトリグリセリドの減少は、アトルバスタチンまたはゲムカベンの単剤療法によるいずれの減少よりもはるかに大きかった。加えて、これらの組合せはさらに、LDL-C 及びアポ B の減少ももたらした。

10

【0200】

本研究は、高コレステロール血症患者における、並行群間比較、4×4 要因計画、ランダム化、二重盲検、プラセボ対照の多施設試験であった。以下の表は、IIb型高脂血症を有するとして分類された対象のサブセットを反映している。

【0201】

表 8 は、8週間、二重盲検治療期間に使用された 4×4 要因計画を示す。

20

【表 8】

| | | | |
|----------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| プラセボ n=10 | ゲムカベン300mg n=7 | ゲムカベン600mg n=14 | ゲムカベン900mg n=13 |
| アトルバスタチン10mg n=9 | ゲムカベン300mg アトルバスタチン10mg n=11 | ゲムカベン600mg アトルバスタチン10mg n=9 | ゲムカベン900mg アトルバスタチン10mg n=11 |
| アトルバスタチン40mg n=12 | ゲムカベン300mg/ アトルバスタチン40mg n=9 | ゲムカベン600mg アトルバスタチン40mg n=8 | ゲムカベン600mg アトルバスタチン40mg n=9 |
| アトルバスタチン80mg n=8 | ゲムカベン300mg アトルバスタチン80mg n=10 | ゲムカベン600mg アトルバスタチン80mg n=8 | ゲムカベン900mg アトルバスタチン80mg n=13 |

30

【0202】

本研究には、3つの期間：(1) 必要な場合は脂質薬剤休薬の受診、(2) 認定期間、(3) 8週間二重盲検治療期間が存在した。患者を等しい確率でランダム化して、上述 (表 6) のような様々な用量のゲムカベン及び/またはアトルバスタチン及び/またはプラセボを含む 16 種の薬物治療のうちの 1 種を受けさせた。試験薬剤を、1日1回 (QD) 午前中に経口摂取させた。患者、現場の職員、及びスポンサーには、8週間の治療期間中、治療及び血漿脂質レベルを知らせないようにした。上表の「n」は、本研究における、ベースラインが LDL-C 130 mg/dL 及び TG > 150 mg/dL の患者 (IIb型患者) の数を表す。

40

【0203】

研究用薬剤を、4週間間隔で、1日分量が別々になった 7 日用トレーに分配した。患者は、適切な 1 日分量に対応する全てのタブレットを午前中に摂取するように指示を受けた。ゲムカベン及び対応プラセボは、300 mg タブレットとして提供した。アトルバスタ

50

チン及び対応プラセボは、10mgまたは40mgタブレットとして提供した。研究用薬剤を、1日当たり6個のタブレットを含む1日分量が別々になった、7日分のブリスター包装でパッケージ化した。

【0204】

各受診時に収集した血液サンプルに基本的な脂質評価を実施した。総コレステロール、LDL-C、HDL-C、及びトリグリセリドについて、ベースライン及びベースラインからのパーセント変化をクロスオーバーANOVAモデルを用いて分析した。期間的効果の可能性を考慮して、第1及び第2の期間データについては、治療の効果のみが一貫したANOVAモデルを用いて別々に分析も行った。

【0205】

結果を図2A～2Fに示す。

【0206】

10mgのアトルバスタチンと300、600mgのゲムカベンとの組合せは、アトルバスタチン単体の場合よりもそれぞれ10.5%、17.3%さらにTGレベルを低下させた。(中央値%変化)300、600、及び900の用量のゲムカベンは、10mgのアトルバスタチン単体に比べてLDL-C及びアポBをさらに低下させた。

【0207】

40mgのアトルバスタチンと300、600、及び900mgのゲムカベンとの組合せは、アトルバスタチン単体の場合よりも、それぞれ42.6%、31.7%、21.8%さらにTGレベルを低下させた。(中央値%変化)

【0208】

実施例5

初代ラット肝細胞培養物におけるゲムカベン、アトルバスタチン、及びアセチル-CoAカルボキシラーゼ(ACC)阻害剤がコレステロール及びトリグリセリド合成に及ぼす効果

全ての実験で、Ramharack R., et al., J Lipid Res 1995; 36: 1294-304に基づいて単離及び培養した初代ラット肝細胞培養物(スプラッグ-ドーリー)を使用した。プレティングから1日後、細胞のインキュベートを3重反復で、ウシ胎児血清を引いた実質細胞培地において指示濃度の化合物と共に、6ウェルプレートのウェル当たり1.0mLで、DMSOを1%の最終濃度にして行った。細胞を37°Cで2時間、95% O₂ / 5% CO₂ 組織培養インキュベーター内でインキュベートした。インキュベーション期間の最後に、培地を、ウシ胎児血清を引いた実質細胞培地において指示濃度の化合物及び30µCiの1-[¹⁴C]アセテート(Amersham)からなる標識培地、ウェル当たり1.0mLに変え、37°Cで4時間組織培養インキュベーター内でインキュベートした。標識期間の最後に、細胞を室温のD-PBS、ウェル当たり2.0mLで洗浄し、1.0mLの0.75N HClで反応を停止させた。細胞を搔爬し、15x45mmのガラス製バイアル(1ドラムサイズ)に移した。ウェルを1.0mLのメタノールで洗浄し、搔爬した細胞を添加し、次に2.0mLのクロロホルムを添加した。バイアルにキャップをして5秒間ボルテックスし、Beckman GS 6KR遠心機内で3,600rpm、15分間、室温で遠心処理して相を分離した。底のクロロホルム相を新たな15x45mmのガラス製バイアルに移し、37°CのReactiVapエバポレーター内で窒素ガス下で乾燥させた。バイアルを室温に冷却し、5秒間のボルテックスにより、サンプルを130µLのn-ヘプタン:クロロホルム、4:1に再懸濁させた。サンプルを20x20cmのWhatman LK6Dシリカゲル60 ATLCプレートにスポットし、80°Cの重力対流オープン内で15~20分乾燥させた。プレートを室温に冷却し、クロマトグラフィーを室温で60分間、イソオクタン:ジエチルエーテル:氷酢酸、75:25:2で行った。プレートを80°Cの重力対流オープン内で30分間乾燥させ、室温に冷却し、サラン(商標)ラップに包んだ。プレートを終夜ホスホイメジャープレートに露出し、Typhoonホスホイメジャー(Molecular Dynamics)でスキャンし、Imagequantソフトウ

10

20

30

40

50

エア (Molecular Dynamics) を用いて分析した。

【0209】

結果

初代ラット肝細胞のゲムカベンによる治療は、有意にかつ濃度依存的に、10 μM、30 μMの濃度においてそれぞれ、コレステロール合成を61.5 ± 1.8 (SEM) % (p < 1.8 × 10⁻⁸)、90.0 ± 0.8 % (p < 1.0 × 10⁻¹⁰) 低下させた (表7)。トリグリセリド合成についても、用量依存的に、10 μM、30 μMの濃度においてそれぞれ、8.9 ± 4.5 % (p < 0.12)、72.1 ± 2.9 % (p < 4.1 × 10⁻⁸) 減少したが、統計的に有意に達したのは30 μMの用量のみであった。これらの細胞において、HMG-CoAレダクターゼ阻害剤であるアトルバスタチンは、1 μMの用量で、トリグリセリド合成をもたらすことなく、有意にコレステロール合成を93.7 ± 0.4 % (p < 3.0 × 10⁻¹⁰) 減少させた。アセチルCoAカルボキシラーゼ (ACC) 阻害剤であるCE156860は、3 μMにおいて、有意にコレステロール合成を阻害しなかったが、有意にトリグリセリド合成を87.6 ± 0.6 % (p < 0.0031) 低下させた。(表7)

10

【0210】

このデータは、ゲムカベンが、初代ラット肝細胞培養物におけるコレステロール及びトリグリセリド両方の合成阻害に有効であることを示すものである。ゲムカベンのこの効果は、スタチン、すなわちコレステロール合成を阻害するアトルバスタチン、及びトリグリセリド合成を阻害するACC阻害剤のCE156860とは異なる。ゲムカベンの阻害プロファイルからは、ゲムカベンがコレステロール合成経路及びトリグリセリド合成経路に対し個々に効果を及ぼしているか、または両方の合成経路に効果を及ぼす共通の経路に効果を及ぼしている可能性が示唆される。

20

【表9】

| 化合物 | 用量(μM) | 合成における%変化 | |
|----------|--------|---------------|-------------------------|
| | | コレステロール±SEM | トリグリセリド±SEM |
| ゲムカベン | 10 | -61.5±1.8%* | -8.9±4.5% ^{ns} |
| ゲムカベン | 30 | -90.0±0.8%** | -72.1±2.9%† |
| アトルバスタチン | 1 | -93.7±0.4%*** | 8.4±4.0% ^{ns} |
| CE156860 | 3 | -17.0±2.8% | -87.6±0.6%†† |

30

%変化はビヒクル細胞との比較で算出され、各nは、個々の動物から単離した肝細胞を用いて3重反復で行われた別々の実験を表す。p値は両側t検定から算出されている。

* (p < 1.8 × 10⁻⁸)、n = 3; ** (p < 1.0 × 10⁻¹⁰)、n = 3; *** (p < 3.0 × 10⁻¹⁰)、n = 3; † (P < 4.1 × 10⁻⁸)、n = 3; †† (p < 0.0031)、n = 1; ns = 有意性なし

40

【0211】

実施例6

C57/BL6、アポB100/Lp(a)マウスにおける、血漿及び肝臓のコレステロール及びトリグリセリドの合成阻害。

8~12週齢の雄マウスを全ての研究に使用した。Charles RiverからアポB100/Lp(a) (ヒトアポB100のトランスジェニックマウスとヒトアポ(a)マウスとの交雑種)を取得した。治療群当たり8匹の動物が存在した。

【0212】

本研究では、ゲムカベンを30及び/または100 mg/kg投薬した。シンバスタチンを3 mg/kg投薬した。薬物を、ポリトロンにより(ボルテックスは用いず(vor

50

tex missing))、ビヒクル(1.5%カルボキシメチルセルロース、0.15% Tween 20(商標)、水中で平衡)内で調製し、0.1 mL / 10 g 体重の用量ボリュームを用いて経口投与した。

【0213】

マウスを最低7日間、逆転した12時間明期 / 12時間暗期の周期に順応させてから、試験薬物またはビヒクルの初回用量の投与を行った。試験薬物及びビヒクルを、暗期の中間時点の約2時間前に強制経口投与した。試験薬物及びビヒクルは1日1回投与した。8回目の用量の30分後に、12.5 μ Ciの $[^{14}\text{C}]$ 酢酸ナトリウムを投与した。 $[^{14}\text{C}]$ 酢酸ナトリウム投与後4時間時に、マウスを血漿収集のため、心臓穿刺により安楽死させ失血させた。全血サンプルをEDTAが装填された遠心管に入れ遠心処理することにより、個々の血漿サンプルを得た。血漿を新たな管に移し、 $[^{14}\text{C}]$ 標識コレステロールのアッセイを行うまで-20 で保管した。

10

【0214】

肝臓サンプルを液体窒素中で瞬間冷凍し、 $[^{14}\text{C}]$ 標識コレステロール及びトリグリセリドのアッセイを行うまで-80 で保管した。

【0215】

血漿 $[^{14}\text{C}]$ 標識コレステロールのアッセイ凍結した血漿サンプル(体積0.2~0.4 mL)を解凍し、生理的食塩水で全体積1 mLになるように調整した。加えて、0.025 μ Ciの $[^{14}\text{H}]$ コレステロール(Perkin Elmer Life Sciences Inc. Boston, Massachusetts)を各サンプルに添加し、抽出内部標準としての7 mLシンチレーションバイアル中の2種または3種のスパイク対照にも添加した。次に、調製したばかりの10% KOH溶液をサンプル当たり2.5 mL添加した。サンプルをボルテックスし、75 で1時間鹼化した。サンプルを冷却した後、サンプル当たり2.5 mLの石油エーテルで μ Ci $[^{14}\text{C}]$ 標識コレステロールを抽出し、10分間振とうしてから0 で10分間遠心処理した。次に有機相をシンチレーションバイアルに移し、窒素ガス下37 のヒートブロックで蒸発させた。次に、各サンプルを超音波処理により0.25 mLのメタノール当たり1部:クロロホルム2部に溶解した。5 mLのシンチレーション液を各サンプル及びスパイク対照に添加し、Packard 2500 TR Tri-Carb液体シンチレーションアナライザーを用いて直接 $[^3\text{H}]$ 及び $[^{14}\text{C}]$ の壊変率(DPM)を記録した。各サンプルにおける $[^3\text{H}]$ コレステロールの回収率をスパイク対照における平均合計と比較して、 $[^{14}\text{C}]$ カウント抽出分散(counts extraction variance)のパーセント補正を決定した。

20

30

【0216】

肝臓 $[^{14}\text{C}]$ 標識コレステロール及びトリグリセリドのアッセイ 凍結した肝臓サンプルは、サンプル秤量手順及びアッセイ準備の間、ドライアイス上にとどめた。各サンプルを、氷冷メタノール; 0.5 N酢酸の溶液中で均質化した。均質化したサンプルをガラス製バイアルに移し、合計 1×10^5 DPMのエタノール中 $[^3\text{H}]$ 50 μ L及びクロロホルム15 mLを各サンプルに添加した。次にサンプルをボルテックスし、室温、3000 rpmで20分間遠心処理して相を分離した。下方のクロロホルム層を新たなバイアルに移した。残存する上方の水相を15 mLのクロロホルムを用いてさらに2回、同様の方法で抽出した。クロロホルム相を各サンプルごとにプールし、次に15 mLの0.88% KCLで2回洗浄し、20秒ボルテックスし、20分間遠心処理した。水相を廃棄し、クロロホルム相を同様の方法で15 mLのメタノール1部:水1部で2回洗浄し、水相を廃棄した。クロロホルムサンプルを窒素ガス下で蒸発させ、600 μ Lのクロロホルムに再懸濁させ、30 μ Lをシンチレーションカウント用に取り出した。サンプルボリュームを、総肝臓重量に基づいた補正パーセント回収率及び装填する算出ボリュームに応じて調整した。算出ボリュームを TLCプレートにスポットし、80 のオープン内で乾燥させた。プレートが室温まで冷めてから、102 mLのイソオクタン:ジエチルエーテル:氷酢酸、それぞれ75:25:2にプレートを展開した。プレートを80 のオープン内

40

50

で乾燥させ、室温まで冷却し、プラスチックラップに包み、ホスホイメージャースクリーンに露出した。ImageQuantソフトウェアを使用してコレステロール及びトリグリセリドのバンドを定量化した。

【0217】

血漿中の測定で、100 mg/kgのゲムカベンは無意にコレステロール合成を60%阻害し、3 mg/kgのシンバスタチンはコレステロール合成を59%阻害した(図3)。この結果は、肝臓組織内で、100 mg/kgのゲムカベンが、新たに合成されるコレステロールを65%、トリグリセリドを66%阻害し、一方3 mg/kgに過ぎないシンバスタチンがコレステロール合成を82%低下させたことを示すものである(図3及び表10)。

10

【0218】

図3に示される値は平均±SEMであり、群当たりn=8である。Veh=ビヒクル対照、Gem=100 mg/kgのゲムカベン、simva=3 mg/kgのシンバスタチン。+p値<0.05は、%変化の1要因ANOVAの中での両側学生t検定に基づき、*p値<0.05は、 $[^{14}C]$ コレステロールについてのビヒクルに対する両側学生t検定に基づく。ゲムカベン及びシンバスタチンが、アポB100/Lp(a)マウスにおける肝臓トリグリセリド及びコレステロール合成($[^{14}C]$ 酢酸ナトリウム)に及ぼす効果を示すデータを、表10に示す。

【表10】

| 治療 | パラメーター | ビヒクルからの%変化 | p値 |
|---------------|---------|------------|--------|
| ゲムカベン100mg/kg | トリグリセリド | -66±6* | <0.040 |
| ゲムカベン100mg/kg | コレステロール | -65±11* | <0.006 |
| シンバスタチン3mg/kg | トリグリセリド | 4.0±15 | ns |
| シンバスタチン3mg/kg | コレステロール | -82±8* | <0.004 |

20

* p値<0.05は、 $[^{14}C]$ コレステロールについてのビヒクルに対する両側学生t検定に基づく。

群当たりn=8マウス、ns=有意性なし。

30

【0219】

肝臓脂質の減少、特に肝臓TGの減少は、NASHの治療または防止に有用である。加えて、ゲムカベンは脂肪酸の酸化を増大させるので、脂肪肝発生の傾向がさらに減少する。

【0220】

実施例7

非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)のSTAMモデルにおける、ゲムカベンのin vivo有効性の研究

材料及び方法

試験物質：ゲムカベンはGemphire Therapeutics Inc.が提供した。投薬溶液を調製するため、製剤指示に従って、ゲムカベンを秤量しビヒクル[純水]で溶解した。テルミサルタン(Micardis(登録商標))をBoehringer Ingelheim GmbH(Germany)から購入し、純水に溶解した。

40

【0221】

NASHの誘発

40匹の雄マウスにおいて、生後2日に200 µgのストレプトゾトシン(STZ, Sigma-Aldrich, USA)溶液の単回皮下注射を行い、4週齢から後に高脂肪食(HFD、57 kcal%脂肪、Cat#HFD32, CLEA Japan, Japan)を与えることにより、NASHを誘発した。

【0222】

50

薬物投与の経路

ビヒクル（対照）を10 mL / kgのボリュームで経口投与した。

【0223】

ゲムカベンを10 mL / kgのボリュームで経口投与した。

【0224】

テルミサルタンを10 mL / kgのボリュームで経口投与した。

【0225】

治療用量

ゲムカベンを30、100、及び300 mg / kgの用量で1日1回投与した。

【0226】

テルミサルタンを10 mg / kgの用量で1日1回投与した。

【0227】

動物：C57BL / 6マウス（妊娠14日のメス）をJapan SLC, Inc. (Japan) から取得した。本研究で使用する全ての動物を、Japanese Pharmacological Society Guidelines for Animal Useに従って収容及び飼育した。

【0228】

環境：動物を、温度（ 23 ± 2 ）、湿度（ $45 \pm 10\%$ ）、採光（12時間の人工照明及び暗周期；照明は8：00～20：00）の制御条件及び室内空気の交換により、SPF施設内で維持した。実験室を加圧して施設の汚染を防止した。

【0229】

動物飼育：動物をTPXケージ（CLEA Japan）内に収容し、ケージ当たり最大4匹とした。滅菌済みPaper-Clean（Japan SLC）を床敷に使用し、週に1回取り替えた。

【0230】

食料及び飲料：滅菌済みの固形高脂肪食（HFD）を、ケージの上面にある金属蓋の中に入れ、自由に与えた。ゴムのストッパー及びシッパチューブを装備した給水瓶から純水を自由に与えた。給水瓶は週に1回取り替え、清掃してオートクレーブ内で滅菌し、再使用した。

【0231】

動物及びケージの識別：マウスは耳パンチで識別した。各ケージは特定の識別コードで標識した。

【0232】

全血及び血漿の生化学検査の測定：終了の3日前に、顔面静脈から8時間絶食血液サンプルを収集した。

【0233】

8時間絶食血中グルコースを、Life Check（EIDIA Co. Ltd., Japan）を用いて全血で測定した。血漿生化学検査用に、抗凝固剤（Novo-Heparin, Mochida Pharmaceutical, Japan）を含むポリプロピレンチューブに8時間絶食血液を収集し、 4°C 、 $1,000 \times g$ で15分間遠心処理した。上清を収集し、使用するまで -80°C で保管した。超高感度マウスインスリンELISAキット（Morinaga Institute of Biological Science, Inc., Japan）より、血漿インスリンレベルを定量化した。

【0234】

終了日に、非空腹時血中グルコースをLife Checkを用いて全血で測定した。血漿生化学検査用に、抗凝固剤（Novo-Heparin）を含むポリプロピレンチューブに非空腹時血液を収集し、 4°C 、 $1,000 \times g$ で15分間遠心処理した。上清を収集し、使用するまで -80°C で保管した。血漿ALT、AST、ALP、GGT、BUN、クレアチニン、及び総ビリルビンレベルをFUJI DRI-CHEM 7000（Fuji film Corporation, Japan）により測定した。血漿ケトン体

10

20

30

40

50

レベルをEnzyChrom(商標)ケトン体アッセイキット(BioAssay Systems, USA)により定量化した。

【0235】

肝臓生化学検査の測定

肝臓トリグリセリド含量の測定：肝臓の全脂質抽出物をフォルチ法(Folch J. et al., J. Biol. Chem. 1957; 226: 497)により取得した。肝臓サンプルをクロロホルム-メタノール(2:1、v/v)中で均質化し、終夜室温でインキュベートした。クロロホルム-メタノール-水(8:4:3、v/v/v)で洗浄後、抽出物を蒸発乾固させ、イソプロパノールに溶解した。肝臓トリグリセリド含量をTriglyceride E-test(Wako Pure Chemical Industries)により測定した。

10

【0236】

肝臓ヒドロキシプロリン含量の測定：肝臓ヒドロキシプロリン含量を定量化するため、凍結した肝臓サンプルを、アルカリ-酸加水分解法により以下のようにして処理した。肝臓サンプルを100%のアセトンで脱脂し、風乾し、65℃の2N NaOHに溶解し、121℃で20分間オートクレーブした。溶解サンプル(400μL)を400μLの6N HClを用いて121℃で20分間酸加水分解し、10mg/mLの活性炭素を含有する400μLの4N NaOHで中和した。ACバッファー(2.2M酢酸/0.48Mクエン酸、400μL)をサンプルに添加し、次に遠心処理にかけて上清を収集した。トランス-4-ヒドロキシ-L-プロリン(Sigma-Aldrich)を16μg/mLから段階希釈することにより、ヒドロキシプロリンの標準曲線を構築した。調製したサンプル及び標準物質(各400μL)を400μLのクロラミンT溶液(Wako Pure Chemical Industries)と混合し、室温で25分間インキュベートした。次にサンプルをエールリッヒ液(400μL)と混合し、65℃で20分間加熱して呈色させた。サンプルを氷上で冷却し、遠心処理して沈殿物を除去した後、各上清の光学密度を560nmで測定した。ヒドロキシプロリン標準曲線からヒドロキシプロリンの濃度を算出した。肝臓サンプルのタンパク質濃度を、BCAタンパク質アッセイキット(Thermo Fisher Scientific, USA)を用いて定量し、算出ヒドロキシプロリン値の正規化に使用した。肝臓ヒドロキシプロリンレベルを、mg当たりのμgとして表した。

20

30

【0237】

組織学的分析：HE染色のため、ブアン液で予め固定した肝臓組織のパラフィンブロックから切片を切断し、Lillie-Mayer's Hematoxylin(Muto Pure Chemicals Co., Ltd., Japan)及びエオジン液(Wako Pure Chemical Industries)で染色した。Kleinerの基準(Kleiner DE. et al., Hepatology, 2005; 41: 1313)に従ってNAFLD活性スコア(NAS)を算出した。コラーゲン沈着を可視化するため、ブアン液で固定した肝臓切片をピクロシリウスレッド液(Waldeck, Germany)を用いて染色した。

【0238】

40

線維症領域の定量分析のため、シリウスレッドで染色された切片の明視野像を、倍率200のデジタルカメラ(DFC295; Leica, Germany)を用いて中心静脈周辺でキャプチャーし、5視野/切片における陽性領域をImageJソフトウェア(National Institute of Health, USA)を用いて測定した。

【0239】

GraphPad Prism 6(GraphPad Software Inc., USA)上でボンフェローニ多重比較検定を用いて統計分析を実施した。p値<0.05を統計的に有意とみなした。結果を平均±SDとして表した。

【0240】

50

実験計画及び治療

研究群

群 1：ビヒクル（正常）

8匹の正常なマウス（ストレプトゾトシンを投与していない）に対し、6週齢から9週齢にかけて、ビヒクル〔純水〕を10 mL / kgのボリュームで1日1回経口投与した。

【0241】

群 2：ビヒクル（NASHのストレプトゾトシン誘発モデル）

8匹のNASHマウスに対し、6週齢から9週齢にかけて、ビヒクルを10 mL / kgのボリュームで1日1回経口投与した。

【0242】

群 3：ゲムカベン30 mg / kg（NASHのストレプトゾトシン誘発モデル）

8匹のNASHマウスに対し、6週齢から9週齢にかけて、30 mg / kgの用量のゲムカベンを追加したビヒクルを1日1回経口投与した。

【0243】

群 4：ゲムカベン100 mg / kg（NASHのストレプトゾトシン誘発モデル）

8匹のNASHマウスに対し、6週齢から9週齢にかけて、100 mg / kgの用量のゲムカベンを追加したビヒクルを1日1回経口投与した。

【0244】

群 5：ゲムカベン300 mg / kg（NASHのストレプトゾトシン誘発モデル）

8匹のNASHマウスに対し、6週齢から9週齢にかけて、300 mg / kgの用量のゲムカベンを追加したビヒクルを1日1回経口投与した。

【0245】

群 6：テルミサルタン10 mg / kg（NASHのストレプトゾトシン誘発モデル）

8匹のNASHマウスに対し、6週齢から9週齢にかけて、10 mg / kgの用量のテルミサルタンを追加した純水を1日1回経口投与した。

【0246】

以下の表11に治療スケジュールを概括する。

【表11】

| 群 | マウスの数 | マウス | 試験物質 | 用量 (mg/kg) | ボリューム (mL/kg) | レジメン | 屠殺 (週) |
|---|-------|------|---------|---------------|------------------|-----------------|-----------|
| 1 | 8 | 正常 | ビヒクル | - | 10 | PO、QD、 6週～9週 | 9 |
| 2 | 8 | STAM | ビヒクル | - | 10 | PO、QD、 6週～9週 | 9 |
| 3 | 8 | STAM | ゲムカベン | 30 | 10 | PO、QD、 6週～9週 | 9 |
| 4 | 8 | STAM | ゲムカベン | 100 | 10 | PO、QD、 6週～9週 | 9 |
| 5 | 8 | STAM | ゲムカベン | 300 | 10 | PO、QD、 6週～9週 | 9 |
| 6 | 8 | STAM | テルミサルタン | 10 | 10 | PO、QD、 6週～9週 | 9 |

【0247】

動物のモニター及び屠殺

生存状況、臨床徴候、及び行動を毎日モニターした。治療の前に体重を記録した。各投与からおよそ60分、マウスにおける毒性、瀕死、及び死亡という顕著な臨床徴候を観察した。動物は9週齢時に、イソフルラン麻酔（Pfizer Inc.）下、直接的な心臓穿刺を通じた失血により屠殺した。

【0248】

結果

体重変化及び全身状態

治療期間中、ビヒクル（NASH）群の平均体重はビヒクル（正常）群の平均体重よりも有意に低かった。10日目から21日目にかけて、テルミサルタン群の平均体重は、ビヒクル（NASH）群の平均体重よりも有意に低かった。ビヒクル（NASH）群とゲムカベン治療群との間では、治療期間中、平均体重の有意な変化が見られなかった（図4）。治療期間中、テルミサルタン群で、21日目に達する前に1匹のマウスが死亡した状態で見つかった。

10

【0249】

終了日における体重

終了日におけるビヒクル（NASH）群の平均体重は、ビヒクル（正常）群に対し有意な低下を示した。終了日におけるテルミサルタン群の平均体重は、ビヒクル（NASH）群に対し有意な低下を示した。ビヒクル（NASH）群とゲムカベン治療群との間では、終了日における平均体重に有意な差が見られなかった（図5A及び表13）。

20

【0250】

肝臓重量及び肝臓：体重比

ビヒクル（NASH）群の平均肝臓重量は、ビヒクル（正常）群に対し有意な増加を示した。ゲムカベン100及び300mg/kg群の平均肝臓重量は、ビヒクル（NASH）群に対し有意な増加を示した。テルミサルタン群の平均肝臓重量は、ビヒクル（NASH）群に対し有意な低下を示した。ビヒクル（NASH）群とゲムカベン30mg/kg群との間では、平均肝臓重量に有意な差が見られなかった（図5B及び表13）。

【0251】

ビヒクル（NASH）群の平均の肝臓：体重比は、ビヒクル（正常）群に対し有意な増加を示した。ゲムカベン100及び300mg/kg群の平均の肝臓：体重比は、ビヒクル（NASH）群に対し有意な増加を示した。ビヒクル（NASH）群と他の任意の治療群との間では、平均の肝臓：体重比に有意な差が見られなかった（図5C及び表12）。

30

体重及び肝臓重量

【表12】

| パラメーター (平均±SD) | ビヒクル (正常) (n=8) | ビヒクル(NASH) (n=8) | ゲムカベン 30mg/kg (n=8) | ゲムカベン 100mg/kg (n=8) | ゲムカベン 300mg/kg (n=8) | テルミサルタン 10mg/kg (n=7) |
|-------------------|-----------------------|---------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 体重(g) | 24.5±1.7 | 19.5±1.2 | 19.0±1.6 | 19.6±1.0 | 19.0±1.1 | 16.6±1.4 |
| 肝臓重量 (g) | 1240±133 | 1503±122 | 1512±82 | 1859±189 | 1906±0334 | 1094±126 |
| 肝臓：体重比(%) | 5.1±0.2 | 7.8±1.0 | 8.0±0.6 | 9.5±0.9 | 10.0±1.4 | 6.6±0.6 |

40

【0252】

生化学検査

終了の3日前、絶食から8時間後

【0253】

空腹時全血グルコース：ビヒクル（NASH）群の空腹時全血グルコースレベルは、ビ

50

ヒクル（正常）群に対し有意な増加を示した。テルミサルタン群の空腹時全血グルコースレベルは、ビヒクル（NASH）群に対し有意な増加を示した。ビヒクル（NASH）群とゲムカベン治療群との間では、空腹時全血グルコースレベルに有意な差が見られなかった（図6A及び表13）。

【0254】

空腹時血漿インスリン：ビヒクル（NASH）群の空腹時血漿インスリンレベルは、ビヒクル（正常）群に対し有意な低下を示した。ビヒクル（NASH）群と他の任意の治療群との間では、空腹時血漿インスリンレベルに有意な差が見られなかった（図6B及び表13）。

【0255】

終了時

全血グルコース：ビヒクル（NASH）群の全血グルコースレベルは、ビヒクル（正常）群に対し有意な増加を示した。テルミサルタン群の全血グルコースレベルは、ビヒクル（NASH）群に対し有意な増加を示した。ビヒクル（NASH）群とゲムカベン治療群との間では、全血グルコースレベルに有意な差が見られなかった（図7A及び表13）。

【0256】

血漿ALT：ビヒクル（NASH）群の血漿ALTレベルは、ビヒクル（正常）群に対し有意な増加を示した。ゲムカベン100mg/kg群の血漿ALTレベルは、ビヒクル（NASH）群に対し有意な低下を示した。ビヒクル（NASH）群と他の任意の治療群との間では、血漿ALTレベルに有意な差が見られなかった（図7B及び表13）。

【0257】

血漿AST：ビヒクル（NASH）群と任意の治療群との間では、血漿ASTレベルに有意な差が見られなかった（図7C及び表13）。

【0258】

血漿ALP：ゲムカベン100及び300mg/kg群ならびにテルミサルタン群の血漿ALPレベルは、ビヒクル（NASH）群に対し有意な増加を示した。ビヒクル（NASH）群と他の任意の治療群との間では、血漿ALPレベルに有意な差が見られなかった（図7D及び表13）。

【0259】

血漿GGT：ビヒクル（NASH）群と任意の治療群との間では、血漿GGTレベルに有意な差が見られなかった（図7E及び表13）。

【0260】

血漿BUN：テルミサルタン群の血漿BUNレベルは、ビヒクル（NASH）群に対し有意な増加を示した。ビヒクル（NASH）群と他の任意の治療群との間では、血漿BUNレベルに有意な差が見られなかった（図7F及び表13）。

【0261】

血漿クレアチニン：ビヒクル（NASH）群の血漿クレアチニンレベルは、ビヒクル（正常）群に対し有意な低下を示した。ゲムカベン300mg/kg群の血漿クレアチニンレベルは、ビヒクル（NASH）群に対し有意な増加を示した。ビヒクル（NASH）群と他の任意の治療群との間では、血漿クレアチニンレベルに有意な差が見られなかった（図7G及び表13）。

【0262】

血漿総ビリルビン：ビヒクル（NASH）群と任意の治療群との間では、血漿総ビリルビンレベルに有意な差が見られなかった（図7H及び表13）。

【0263】

血漿ケトン体：ビヒクル（NASH）群の血漿ケトン体レベルは、ビヒクル（正常）群に対し有意な増加を示した。ビヒクル（NASH）群と他の任意の治療群との間では、血漿ケトン体レベルに有意な差が見られなかった（図7I及び表13）。

【0264】

肝臓トリグリセリド：ビヒクル（NASH）群の肝臓トリグリセリド含量は、ビヒクル

10

20

30

40

50

(正常)群に対し有意な増加を示した。テルミサルタン群の肝臓トリグリセリド含量は、ビヒクル(NASH)群に対し有意な低下を示した。ビヒクル(NASH)群とゲムカベン治療群との間では、肝臓トリグリセリド含量に有意な差が見られなかった(図7J及び表13)。

【0265】

肝臓ヒドロキシプロリン：ビヒクル(NASH)群と任意の治療群との間では、肝臓ヒドロキシプロリン含量に有意な差が見られなかった(図7K及び表13)。

生化学検査

【表13】

| パラメーター | ビヒクル(正常) | ビヒクル(NASH) | ゲムカベン 30mg/kg | ゲムカベン 100mg/kg | ゲムカベン 300mg/kg | テルミサルタン 10mg/kg |
|---------|--------------|--------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| (平均±SD) | 18日目:n =8 | 18日目:n =8 | 18日目:n =8 | 18日目:n =8 | 18日目:n =8 | 18日目:n =8 |
| | 21日目:n =8 | 21日目:n =8 | 21日目:n =8 | 21日目:n =8 | 21日目:n =8 | 21日目:n =7 |

10

終了の3日前、絶食から8時間後(18日目)

| | | | | | | |
|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 空腹時血中グルコース(mg/dL) | 117±27 | 440±53 | 437±42 | 441±46 | 407±15 | 742±90 |
| 血漿インスリン(ng/mL) | 0.89±0.44 | 0.12±0.04 | 0.13±0.04 | 0.17±0.06 | 0.13±0.04 | 0.16±0.04 |

20

終了時 (21日目)

| | | | | | | |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 非空腹時血中 グルコース (mg/dL) | 168±11 | 584±60 | 607±48 | 653±53 | 638±63 | 856±62 |
| 血漿ALT (U/L) | 18±3 | 50±23 | 41±15 | 27±7 | 32±14 | 39±15 |
| 血漿AST (U/L) | 61±13 | 116±48 | 100±44 | 88±32 | 147±122 | 121±38 |
| 血漿ALP (U/L) | 313±35 | 394±68 | 382±78 | 642±167 | 794±57 | 567±104 |
| 血漿GGT (U/L) | 1±0 | 1±0 | 1±0 | 1±0 | 1±0 | 1±0 |
| 血漿BUN (mg/dL) | 30.2±2.6 | 28.5±5.7 | 25.0±3.9 | 29.8±4.3 | 30.1±5.8 | 85.0±17.4 |
| 血漿クレアチニン (mg/dL) | 0.2±0.1 | 0.1±0.0 | 0.1±0.0 | 0.1±0.1 | 0.2±0.1 | 0.1±0.0 |
| 血漿総ビリルビン (mg/dL) | 0.3±0.0 | 0.2±0.1 | 0.2±0.1 | 0.3±0.2 | 0.3±0.1 | 0.3±0.1 |
| 血漿ケトン体 (mM) | 0.44±0.21 | 9.28±2.77 | 9.43±2.35 | 5.75±3.24 | 5.68±3.08 | 8.11±3.27 |
| 肝臓トリグリセリド (mg/g肝臓) | 5.1±1.4 | 49.1±9.8 | 49.2±8.6 | 58.4±14.5 | 56.0±13.9 | 31.7±6.4 |
| 肝臓ヒドロキシループロリン (μg/mg総タンパク質) | 0.71±0.11 | 0.74±0.10 | 0.66±0.12 | 0.74±0.38 | 0.70±0.10 | 0.91±0.21 |

10

20

30

40

50

【0266】

組織学的解析

HE染色及びNAFLD活性スコア

NAASHは、肝臓生検における特定の組織学的異常の存在及びパターンにより定義される。NAFLD活性スコア(NAS)は、治療試験中のNAFLDにおける変化を測定するツールとして開発された複合スコアである。NASは、肝脂肪化、小葉内炎症、及び肝細胞の風船様変化を含む、3つの構成要素からなる複合スコアである(表14)。NASスコアは、肝脂肪化、小葉内炎症、及び肝細胞の風船様変化のスコアの重み付けなしの合計として定義された。肝脂肪化グレードは、脂肪滴を含有する肝細胞のパーセンテージとして定量化される。肝臓の線維症ステージの評価は、NASとは別個に、肝臓小葉の中心周囲領域におけるコラーゲンのシリウスレッド染色強度を組織学的に評価することにより行われる。

【0267】

ビヒクル(NASH)群からの肝臓切片は、ビヒクル(正常)群と比べて、微小血管及び大血管の脂肪沈着、肝細胞の風船様変化、ならびに炎症性細胞浸潤を示した。ビヒクル(NASH)群のNASは、ビヒクル(正常)群に対し有意な増加を示した。ゲムカベン30及び300mg/kg群及びテルミサルタン群のNASは、ビヒクル(NASH)群に対し有意な減少を示した(図8及び9A~9Cならびに表14)。

N A F L D 活性スコア

【表 1 4】

| 群 | n | スコア | | | | | | | | | | | NAS (平均±SD) |
|----------------|---|------|---|---|---|-------|---|---|---|-----------|---|---|----------------|
| | | 肝脂肪化 | | | | 小葉内炎症 | | | | 肝細胞の風船様変化 | | | |
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 1 | 2 | |
| ビヒクル (正常) | 8 | 8 | - | - | - | 8 | - | - | - | 8 | - | - | 0.0±0.0 |
| ビヒクル (NASH) | 8 | - | 8 | - | - | - | - | 7 | 1 | - | 3 | 5 | 4.8±0.5 |
| ゲムカベン30mg/kg | 8 | - | 8 | - | - | 1 | 2 | 4 | 1 | 4 | 2 | 2 | 3.4±1.1 |
| ゲムカベン100mg/kg | 8 | - | 8 | - | - | 2 | 1 | 5 | - | 1 | 4 | 3 | 3.6±1.4 |
| ゲムカベン300mg/kg | 8 | 3 | 5 | - | - | 2 | 2 | 4 | - | 4 | 3 | 1 | 2.5±0.8 |
| テルミサルタン10mg/kg | 7 | 1 | 6 | - | - | 2 | 4 | 1 | - | 2 | 4 | 1 | 2.6±1.0 |

10

| 項目 | スコア | 程度 |
|-----------|-----|------------------------|
| 肝脂肪化 | 0 | < 5% |
| | 1 | 5 ~ 33% |
| | 2 | > 33 ~ 66% |
| | 3 | > 66% |
| 小葉内炎症 | 0 | 病巣なし |
| | 1 | < 2病巣 / 200x |
| | 2 | 2 ~ 4病巣 / 200x |
| | 3 | > 4病巣 / 200x |
| 肝細胞の風船様変化 | 0 | なし |
| | 1 | 少数の風船様細胞 |
| | 2 | 多数の細胞の風船様変化 / 著明な風船様変化 |

20

30

【 0 2 6 8 】

肝線維症

シリウスレッド染色

シリウスレッド染色した肝臓切片を評価して肝線維症を判定した。ビヒクル (N A S H) 群からの肝臓切片は、ビヒクル (正常) 群と比べて、肝臓小葉の中心周囲領域におけるコラーゲンの沈着増加を示した。全ての群の線維症領域は、ビヒクル (N A S H) 群と比べて、有意な低下を示した (図 1 0 及び表 1 5) 。

組織学的分析

40

【表 15】

| パラメーター (平均±SD) | ビヒクル (正常) (n = 8) | ビヒクル (NASH) (n = 8) | ゲムカベン 30mg/kg (n = 8) | ゲムカベン 100mg/kg (n = 8) | ゲムカベン 300mg/kg (n = 8) | テルミサルタン 10mg/kg (n = 7) |
|-------------------------|----------------------|------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| シリウス レッド陽 性領域 (%) | 0.19±0.03 | 0.84±0.12 | 0.56±0.18 | 0.53±0.18 | 0.59±0.16 | 0.48±0.09 |

10

【0269】

概要及び考察

テルミサルタンは、STAMマウスにおいて抗脂肪化性、抗炎症性、及び抗線維化性効果を有することが示されたため、本研究における陽性対照として使用した。テルミサルタンによる治療は、ビヒクル(NASH)群と比べて、肝臓トリグリセリド含量、NAS、及び線維症領域を有意に低下させた。これは、SMC Laboratoriesの過去のデータと一致している。

【0270】

ゲムカベンは、ビヒクル(NASH)群と比べて、線維症領域を有意に減少させており、本研究における抗線維症効果を実証している。中用量及び高用量のゲムカベンにより、ビヒクル(NASH)群と比べて、血漿ALPレベルが増加した。また高用量のゲムカベンにより、ビヒクル(NASH)群と比べて、血漿クレアチニンレベルも増加した。ゲムカベン治療群において血漿ALTレベルは低下しており、中用量のゲムカベン群では統計的有意性を伴って低下した。低用量及び高用量のゲムカベンにより、ビヒクル(NASH)群と比べて、NASが減少した。高用量のゲムカベンにより、NASの中でも肝脂肪化及び風船様変化のスコアがテルミサルタンに匹敵する程度に減少した。肝細胞の風船様変化は、酸化ストレスにより誘発される肝細胞の損傷に由来すると考えられており、かつNASHの疾患進行に関連している(Fujii H et al. J. Atheroscler. Thromb. 2009; 16: 893、Rangwala F et al. J. Pathol. 2011; 224: 401)ことから、ゲムカベンが、肝細胞損傷及び風船様変化細胞の形成を阻害することにより、NASHの病態を改善していることが示唆される。同時に、本研究においてゲムカベンは、全ての試験用量で抗線維化性効果を示し、さらにSTAMマウスの肝臓病態に対する抗NASH効果及び肝臓保護的効果を示した。これらのデータは、ゲムカベンが肝臓の改善をもたらし、かつ、肝臓の遺伝子発現分析または特定のターゲットに対する免疫組織化学検査により評価され得る炎症性及び/または代謝に関する分子に対し、正の影響を及ぼす可能性があることを示唆するものである。

20

30

【0271】

実施例 8

ゲムフィブロジルまたはゲムカベンで治療した雄スブラーグドローリーラットにおける肝臓脂質

Charles River Laboratoriesから56匹の雄スブラーグドローリーラットを取得した。温度制御された室内で、全ての動物に通常のラット用飼料(Ralston-Purina)及び水を自由に与え、12時間明期、12時間暗期の周期とし、照明を午前6時につけた。ラットを、群辺り8匹の7群に分けた。毎日午前6時から10時の間に、1.5%のカルボキシメチルセルロース及び0.2%のTween-20の懸濁ビヒクル(ビヒクル)を用いてラットに強制経口で投薬した。対照動物にはビヒクルを単体で投与した。投薬ビヒクルのボリュームは、体重の0.25%に相当した。PD72953はゲムカベンである。CI-719はゲムフィブロジルである。化合物は、

40

50

毎日7種の治療群に対し14日連続で投与した(表16に示す)。

【表16】

| 群 | 薬物 | 用量 |
|---|--------------|------------|
| 1 | 対照 | — |
| 2 | ゲムフィプロ ジル | 100mg/kg/日 |
| 3 | PD72953 | 1mg/kg/日 |
| 4 | PD72953 | 3mg/kg/日 |
| 5 | PD72953 | 10mg/kg/日 |
| 6 | PD72953 | 30mg/kg/日 |
| 7 | PD72953 | 100mg/kg/日 |

10

【0272】

20

最後の日に動物を屠殺し、肝臓脂質を抽出し、Homan and Anderson, Journal of Chromatography B, 708 (1998), 21-26の方法により、トリグリセリド及びコレステロールの含量を定量した。およそ500mgの肝臓片を脂質及び肝臓タンパク質の定量用に抽出した。

【0273】

データは、ビヒクル(対照)、または指示用量のゲムフィプロジルもしくはゲムカベンで治療したラットにおける、 μg 肝臓トリグリセリド/ mg 肝臓タンパク質の平均 \pm SEM(図11A)または μg 肝臓非エステル化コレステロール/ mg 肝臓タンパク質(図11B)の平均 \pm SEMとして示されている。統計的分析は、ANOVA及びフィッシャーのPLSD事後検定であった(* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。

30

【0274】

実施例9

ラットにおけるフィブリノーゲンレベル

実施例8におけるラットの屠殺時に、血漿を収集した。電気免疫アッセイにより血漿フィブリノーゲンレベルを定量した。100mg/kg/日のゲムフィプロジルならびに30mg/kg/日及び100mg/kg/日のPD72953は、対照と比べて、血漿フィブリノーゲンレベルをそれぞれ31、52、及び57パーセント有意に減少することを示した。データを、対照フィブリノーゲンレベルに対するパーセントの平均 \pm SEMとして図12に示す。* $p < 0.001$ 、両側独立t検定、対照との比較。

【0275】

40

実施例10

ヒトにおけるフィブリノーゲンレベル

高コレステロール血症患者の治療における、単剤療法またはアトルバスタチンと組み合わせたゲムカベン(CI-1027)の有効性及び安全性についての、8週間の二重盲検ランダム化プラセボ対照の用量設定試験(研究A4141001)からのフィブリノーゲンの事後分析において、フィブリノーゲンを測定するための血液サンプルを開始時(受診T5、0週目)及び終了時(受診T8、8週目)に収集した。

【0276】

元の研究A4141001で使用した共分散分析(ANCOVA)の方法を、これらの分析で再び利用した。フィブリノーゲンについては、ベースラインを最終治療前受診時の

50

ものとして定義し、エンドポイントを最終薬剤投薬日までにおける最終受診時のものとして定義した。フィブリノーゲンにおけるベースラインからの変化についての最小2乗平均及びp値を、ANCOVAモデルを用いて、ベースライン脂質値及び治療の効果について算出した。また、ベースラインからのパーセント変化についての中央値及びp値も算出した。

【0277】

フィブリノーゲン分析に含めた全ての患者をランダム化し、少なくとも1回用量の試験薬剤を投与した。さらに、これらの患者は、ベースライン及び少なくとも1つの評価可能なベースライン後測定値を有しなければならなかった。結果的に、これは修正された治療企図(MITT)集団に関する定義となった。

10

【0278】

ゲムカベン300、600、及び900mgの単剤療法により、ベースラインからエンドポイントにかけて、プラセボの37.2と比べてそれぞれ24.2、23.6、及び12.9の平均変化でフィブリノーゲンが上昇した。ランク変換データは、表17に示すように、ゲムカベンとプラセボとの間で有意差を示さなかった。

ゲムカベン単剤療法vsプラセボ：ベースラインからエンドポイントにかけてのフィブリノーゲンの変化(修正治療企図(Intent to Treat))

【表17】

| | Pbo N=14 | ゲムカベン単剤療法 | | |
|----------|-------------|---------------|---------------|---------------|
| | | 300mg N=13 | 600mg N=16 | 900mg N=16 |
| ベースライン | | | | |
| 平均 | 376.1 | 366.9 | 357.1 | 395.2 |
| 変化 | | | | |
| LS平均(SE) | 37.2(17.1) | 24.2(18.5) | 23.6(17.2) | 12.9(17.2) |
| 差 | | -13.0 | -13.6 | -24.3 |
| 95% CI | | (-62.8,36.7) | (-61.4,34.2) | (-72.1,23.5) |
| p値 | | 0.6059 | 0.5757 | 0.3172 |

20

30

Pbo = プラセボ ; 差 = Gゲムカベン x x mg - プラセボ ; SE = 標準誤差 ; CI = 信頼区間

【0279】

用量範囲にわたり統合された600mgのゲムカベンとアトルバスタチンとの同時投与は、表18に示すように、アトルバスタチン単剤療法に-31.6上回るフィブリノーゲンの低下を示した(p=0.0177)。300及び900mgゲムカベンとアトルバスタチンとの同時投与では、これより小幅な低下が観察された。

ゲムカベン+アトルバスタチンvsアトルバスタチン：ベースラインからエンドポイントにかけてのフィブリノーゲンの変化(修正治療企図)

40

【表 18】

| | Ator 10、40、または80mg単剤療法 N=48 | Gem 300mg+ Ator 10、40、または80mg N=51 | Gem 600mg Ator 10、40、または80mg N=47 | Gem 900mg+ Ator 10、40、または80mg N=47 |
|----------|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| ベースライン | | | | |
| 平均 | 368.3 | 379.7 | 387.1 | 368.0 |
| 変化 | | | | |
| LS平均(SE) | 32.9(9.3) | 12.3(9.0) | 1.3(9.4) | 8.8(9.4) |
| 差 | | -20.6 | -31.6 | -24.1 |
| 95% CI | | (-46.1,4.8) | (-57.6,-5.4) | (-50.1,1.9) |
| p値 | | 0.1120 | 0.0177 | 0.0689 |

10

Gem + Ator = ゲムカベン及びアトルバスタチンの組合せ； Ator = アトルバスタチン単剤療法； SE = 標準誤差； CI = 信頼区間； 差 = (Gem + Ator) - Ator

【0280】

20

フィブリノーゲンの正常範囲は、約 150 ~ 300 mg / d L である。フィブリノーゲンの正常範囲を上回るフィブラートレベルを有する対象におけるゲムカベン単剤療法またはアトルバスタチンと組み合わせたゲムカベンの効果を確認するため、フィブリノーゲンベースラインレベル > 400 mg / d L を有する対象の下位群のデータを検討した。表 19 は、様々な用量のゲムカベン単体、アトルバスタチン単体、または様々な用量の組合せのゲムカベン及びアトルバスタチンがベースラインフィブリノーゲンレベルの変化に及ぼす効果を示す。600 mg のゲムカベンを 10、40、または 80 mg のアトルバスタチンと組み合わせた組合せによる治療は、それぞれ 22.5、10.8、及び 16.8% の低下をもたらした。

【表 19】

| 治療 | n | 平均ベースラインFIBR | 平均最終FIBR | 平均変化FIBR | 平均%変化FIBR |
|-------------------------|----|--------------|----------|----------|-----------|
| プラセボ | 6 | 456.0 | 477.0 | 21.0 | 4.4 |
| ゲムカベン300mg | 5 | 427.8 | 454.4 | 26.6 | 6.7 |
| ゲムカベン600mg | 5 | 452.4 | 411.0 | -41.4 | -9.3 |
| ゲムカベン900mg | 8 | 448.8 | 435.9 | -12.9 | -3.2 |
| ゲムカベン300mg+アトルバスタチン10mg | 4 | 478.0 | 481.3 | 3.3 | 1.0 |
| ゲムカベン300mg+アトルバスタチン40mg | 5 | 449.8 | 460.8 | 11.0 | 2.3 |
| ゲムカベン300mg+アトルバスタチン80mg | 8 | 448.5 | 408.5 | -40.0 | -9.1 |
| ゲムカベン600mg+アトルバスタチン10mg | 6 | 495.8 | 386.7 | -109.2 | -22.5 |
| ゲムカベン600mg+アトルバスタチン40mg | 5 | 529.0 | 470.4 | -58.6 | -10.8 |
| ゲムカベン600mg+アトルバスタチン80mg | 5 | 450.2 | 375.6 | -74.6 | -16.8 |
| ゲムカベン900mg+アトルバスタチン10mg | 4 | 450.8 | 439.5 | -11.3 | -2.1 |
| ゲムカベン900mg+アトルバスタチン40mg | 3 | 426.3 | 413.0 | -13.3 | -3.1 |
| ゲムカベン900mg+アトルバスタチン80mg | 4 | 450.0 | 432.8 | -17.3 | -2.8 |
| アトルバスタチン10mg | 7 | 442.4 | 445.4 | 3.0 | 0.9 |
| アトルバスタチン40mg | 6 | 451.0 | 469.5 | 18.5 | 3.8 |
| アトルバスタチン80mg | 3 | 425.7 | 434.7 | 9.0 | 1.9 |
| 対象の合計 | 84 | | | | |

10

20

30

【0281】

表 20 は、各用量のゲムカベン及びアトルバスタチンのいずれかの用量におけるデータを示す。600mg のゲムカベンをアトルバスタチンと組み合わせた場合に、17.1% の低下が示されている。

【表 2 0】

| 治療 | n | 平均ベースライン FIBR | 平均最終F IBR | 平均変化 FIBR | 平均%変化 FIBR |
|---------------------|----|------------------|--------------|--------------|---------------|
| アトルバスタチン | 16 | 442.5 | 452.4 | 9.9 | 2.2 |
| ゲムカベン | 18 | 443.9 | 434.1 | -9.8 | -2.2 |
| ゲムカベン300mg+アトルバスタチン | 17 | 455.8 | 441.0 | -14.8 | -3.4 |
| ゲムカベン600mg+アトルバスタチン | 16 | 491.9 | 409.4 | -82.6 | -17.1 |
| ゲムカベン900mg+アトルバスタチン | 11 | 443.8 | 429.8 | -14.0 | -2.6 |
| プラセボ | 6 | 456.0 | 477.0 | 21.0 | 4.4 |
| 対象の合計 | 84 | 442.5 | 452.4 | 9.9 | 2.2 |

10

【0282】

表 2 1 は、ゲムカベン (Gem) の 3 0 0 、 6 0 0 、 及び 9 0 0 m g における単剤療法のデータを示す。

20

【表 2 1】

| | プラセボ n = 6 | Gem 300mg n = 5 | Gem 600mg n = 5 | Gem 900mg n = 8 |
|--------------------------|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| ベースライン | | | | |
| 平均ベースライン フィブリノー ゲン | 456.0 | 427.8 | 452.4 | 448.8 |
| 変化 | | | | |
| LS 平均 (SE) | 21.0(26.4) | 26.0(29.3) | -41.5(28.9) | -13.0(22.9) |
| 差 | | 5.0 | -62.5 | -34.0 |
| 95% CI | | (-73.8,83.8) | (-104.7,15.7) | (-103.8,35.7) |
| p 値 | | 0.9004 | 0.1155 | 0.3338 |

30

G em はゲムカベン、S E は標準誤差、C I は信頼区間、差は G em - プラセボである。

【0283】

表 2 2 は、プラセボ用にアマルガムにしたアトルバスタチン (A t o r) 用量及び各用量のゲムカベン (g e m) についてのデータを示す。アトルバスタチンと組み合わせたゲムカベンによる降下は、アトルバスタチン単体と比べると、91.7mg/dL の有意な低下を示した (p = 0 . 0 0 0 2) 。

40

【表 2 2】

| | Ator 10/40/80 N=16 | Gem 300mg+ Ator 10/40/80 N=17 | Gem 600mg+ Ator 10/40/80 N=16 | Gem 900mg+ Ator 10/40/80 N=11 |
|-----------|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| ベースライン | | | | |
| 平均 | 442.5 | 455.8 | 491.9 | 443.8 |
| 変化 | | | | |
| LS平均 (SE) | 9.7(16.0) | -14.8(15.4) | -82.0(16.0) | -14.2(19.2) |
| 差 | | -24.5 | -91.7 | -23.9 |
| 95% CI | | (-68.8,19.7) | (-139.0,-44.4) | (-73.4,25.6) |
| p値 | | 0.2725 | 0.0002 | 0.3338 |

10

Gem + A t o r は Gem カベン及びアトルバスタチンの組合せ、A t o r = アトルバスタチン単剤療法、S E は標準誤差、C I は信頼区間、差は (G e m + A t o r) - a t o r である。

【0284】

実施例 1 1

固定用量配合剤の代表例を表 1 6 に示す。

表 1 6

20

【表 2 3】

| 内部の成分 | 例 4 D (450/40mg G/A) | | 例 4 E (300/10mg G/A) | |
|------------------------|-------------------------|----------|-------------------------|----------|
| | % w/w | mg/タブレット | % w/w | mg/タブレット |
| ゲムカベンカルシウム塩 | 50.18 | 540.61 | 56.91 | 360.40 |
| アトルバスタチンカルシウム | 4.06 | 43.78 | 1.73 | 10.94 |
| 炭酸カルシウム | 12.19 | 131.32 | 0.00 | 0.00 |
| 微結晶性セルロース、N F (PH 101) | 3.50 | 37.71 | 4.00 | 25.33 |
| スターチ 1500 | 6.50 | 70.03 | 0.00 | 0.00 |
| クロスカルメロースナトリウム | 3.00 | 32.32 | 3.00 | 19.00 |
| ヒドロキシプロピルセルロース EXF | 5.30 | 57.10 | 5.00 | 31.67 |
| 外部の成分 | 例 4 D (450/40mg G/A) | | 例 4 E (300/10mg G/A) | |
| | % w/w | mg/タブレット | % w/w | mg/タブレット |
| 微結晶性セルロース、N F (PH 102) | 11.27 | 121.46 | 25.37 | 160.65 |
| マンニトール | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| クロスカルメロースナトリウム | 3.00 | 32.32 | 3.00 | 19.00 |
| ステアリン酸マグネシウム (非ウシ) | 1.00 | 10.77 | 1.00 | 6.33 |
| コアタブレット作製 | 100.00 | 950.00 | 100.00 | 1077.42 |

10

20

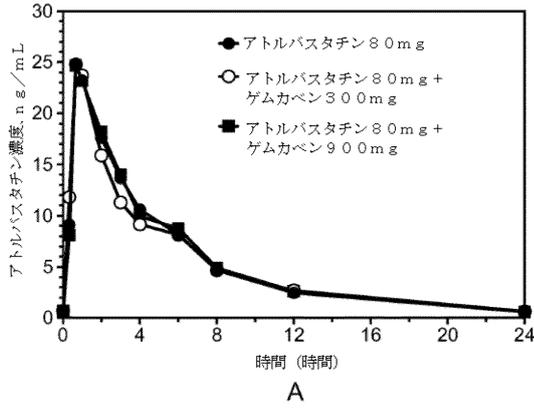
30

【 0 2 8 5 】

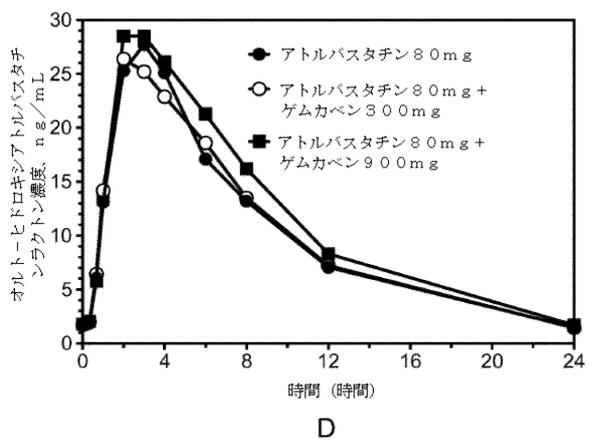
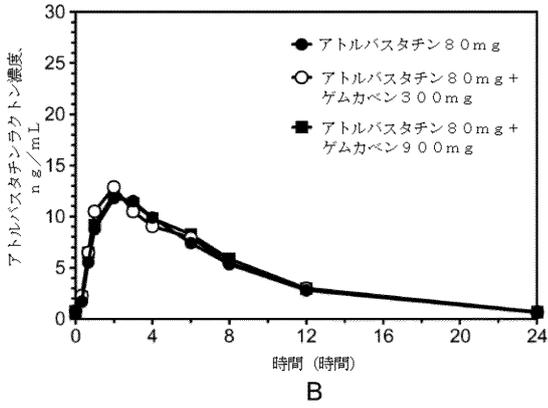
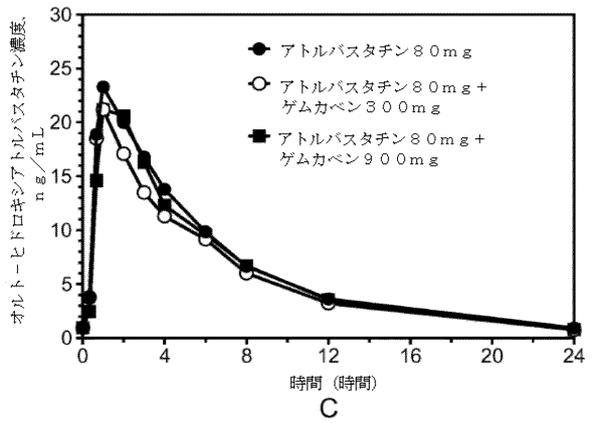
本開示で参照された全ての刊行物及び特許は、各刊行物または特許出願が参照により組み込まれている旨明確かつ個々に示されている場合と同じ程度に、参照により本明細書に組み込まれる。万が一、参照により組み込まれている特許または刊行物のいずれかにある用語の意味が、本開示で使用されている用語の意味と矛盾する場合、本開示における用語の意味が支配的となるように意図される。さらに、先述の考察は、単に本発明における例示的な実施形態を開示及び説明するものである。当業者であれば、以下の請求項で定義される本発明の範囲及び趣旨から逸脱することなく様々な変更、改変、及び変形形態がなされ得ることを、このような考察ならびに付属の図面及び請求項から容易に認識することになる。

40

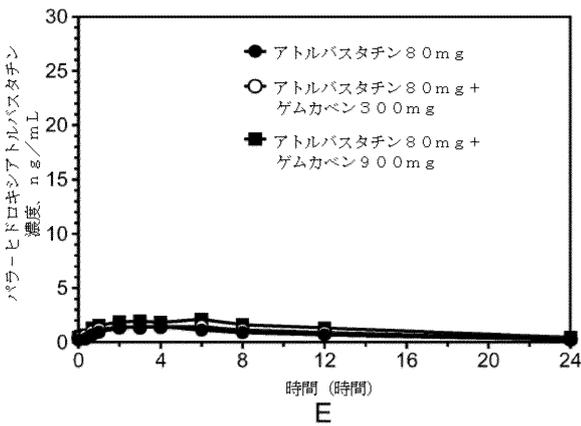
【 図 1 A - 1 B 】



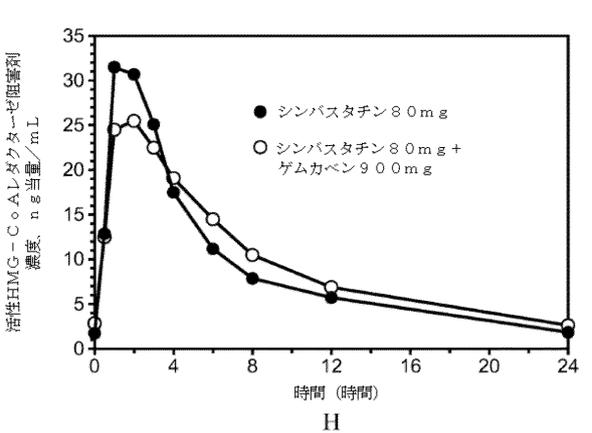
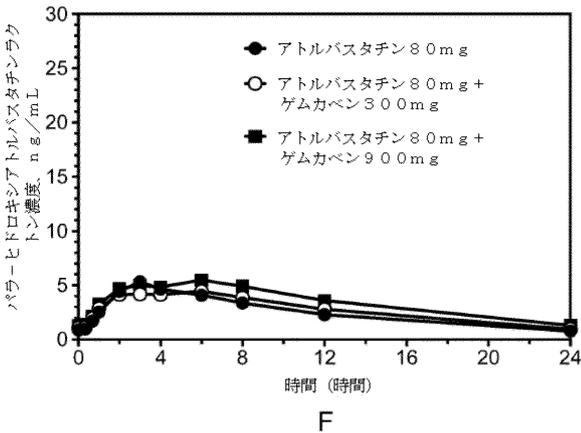
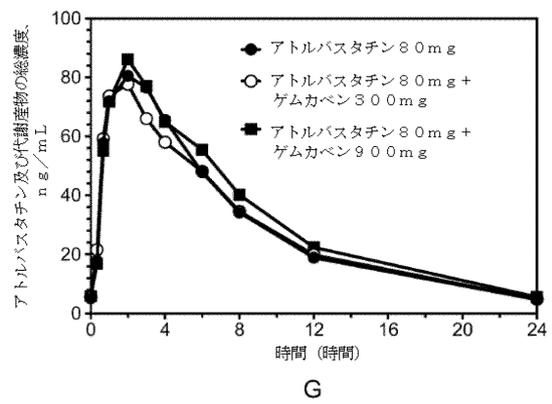
【 図 1 C - 1 D 】



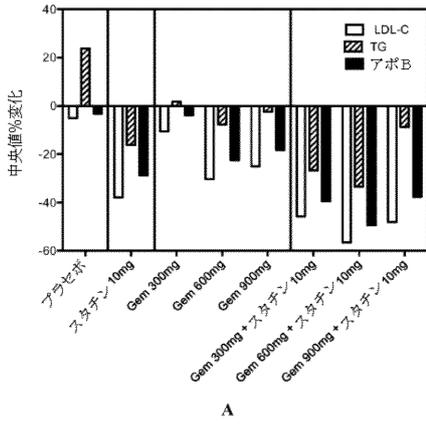
【 図 1 E - 1 F 】



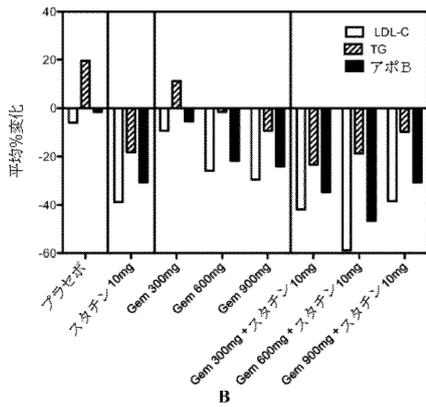
【 図 1 G - 1 H 】



【 図 2 A - 2 B 】

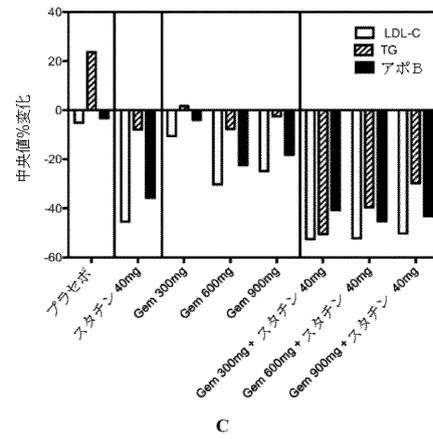


A

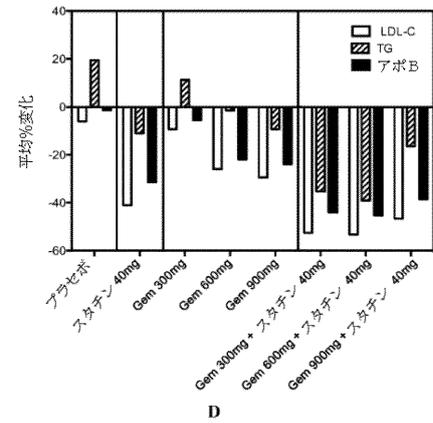


B

【 図 2 C - 2 D 】

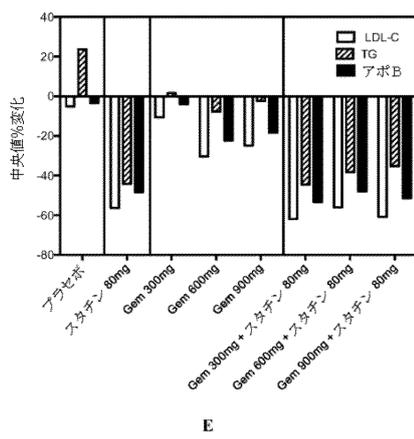


C

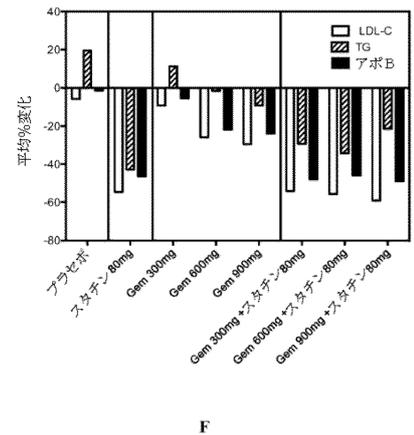


D

【 図 2 E - 2 F 】

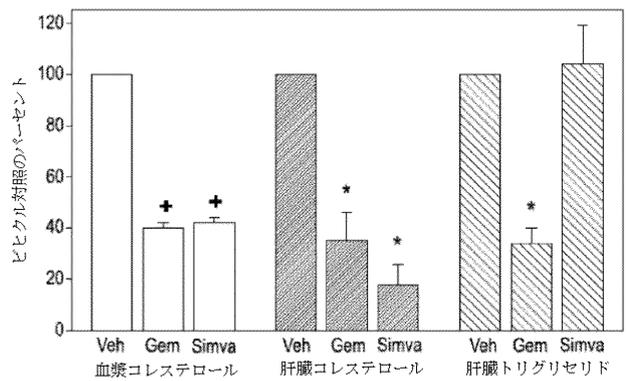


E

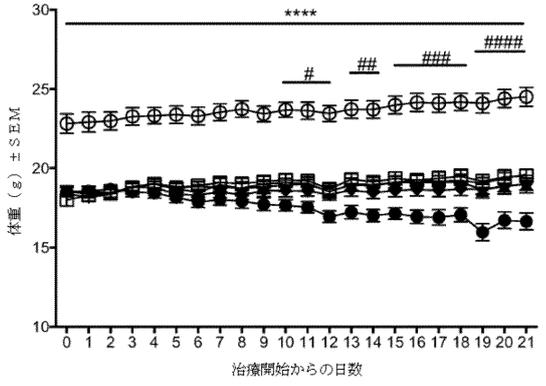


F

【 図 3 】

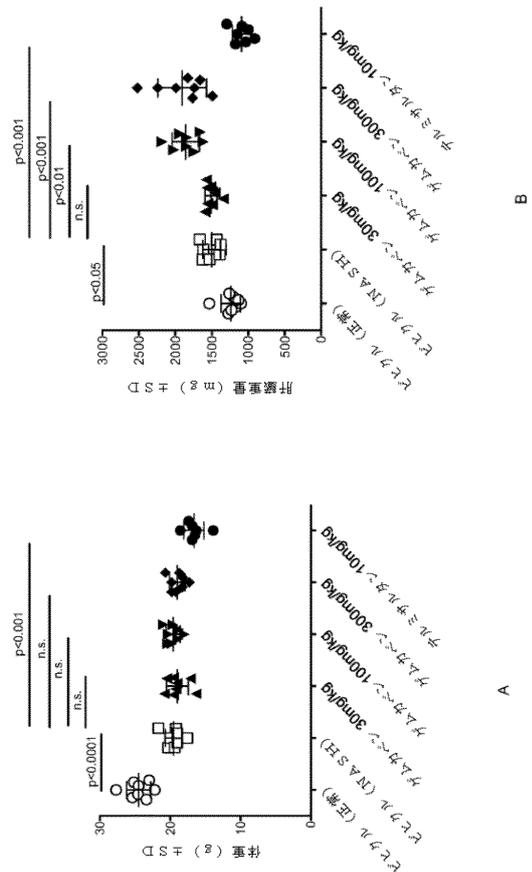


【 図 4 】

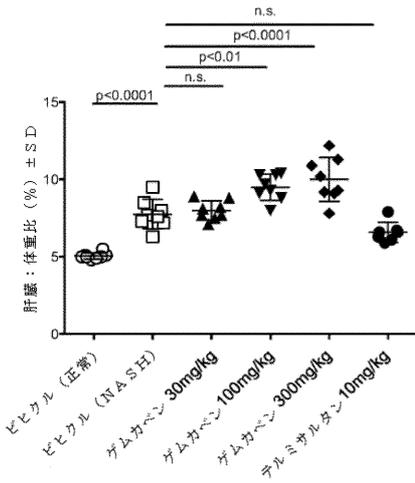


- ビヒクル (正常) ビヒクル (正常) v s ビヒクル (NASH) ****; p<0.0001
- ビヒクル (NASH)
- ▲ ギムカベン 30mg/kg テルミサルタン 10mg/kg v s ビヒクル (NASH) #; p<0.05
- ▼ ギムカベン 100mg/kg ##; p<0.01
- ◆ ギムカベン 300mg/kg ###; p<0.001
- テルミサルタン 10mg/kg ####; p<0.0001

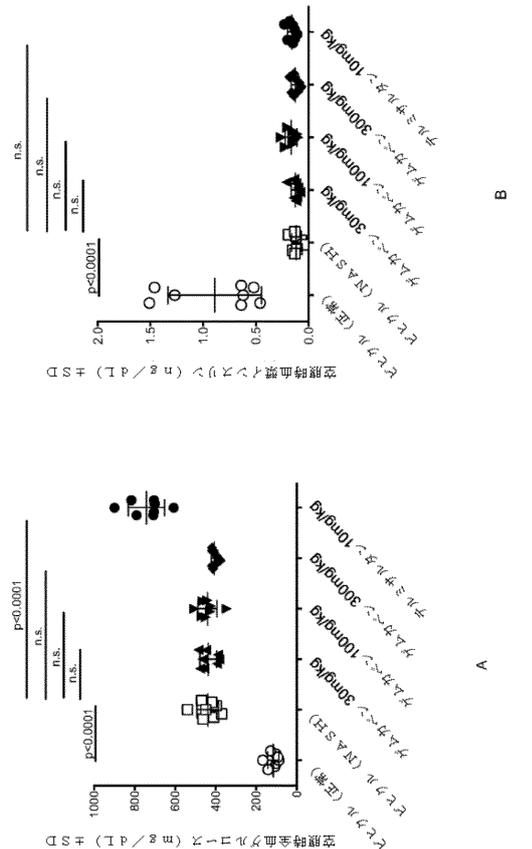
【 図 5 A - 5 B 】



【 図 5 C 】



【 図 6 A - 6 B 】

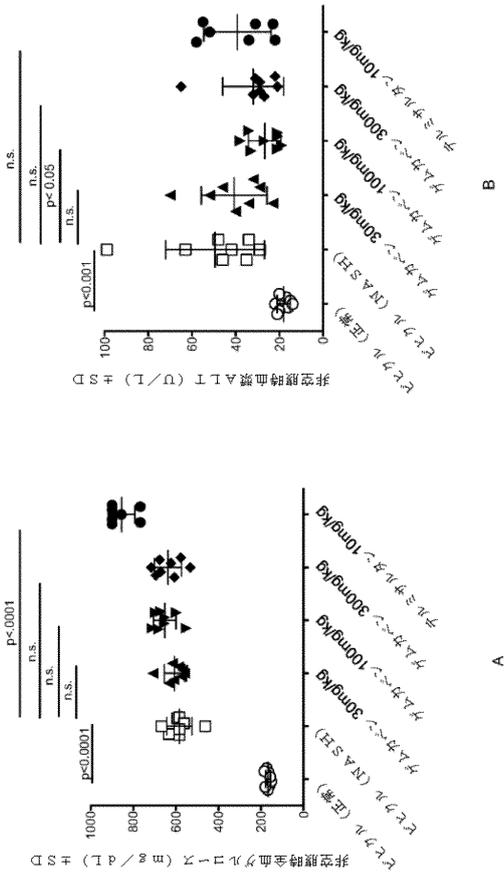


C

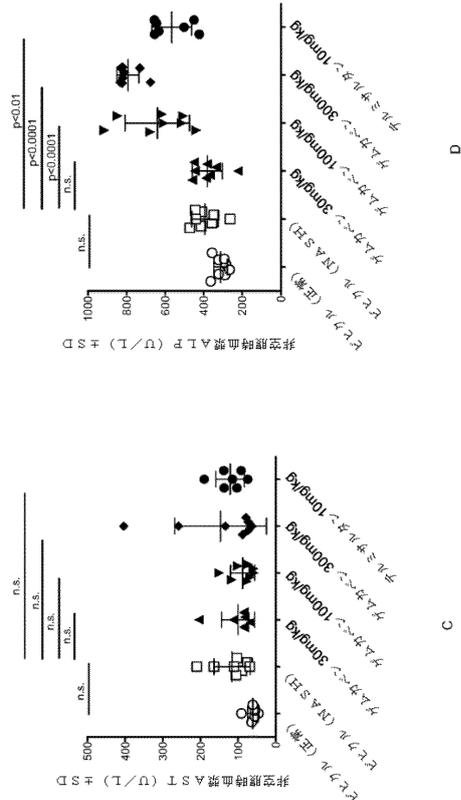
A

B

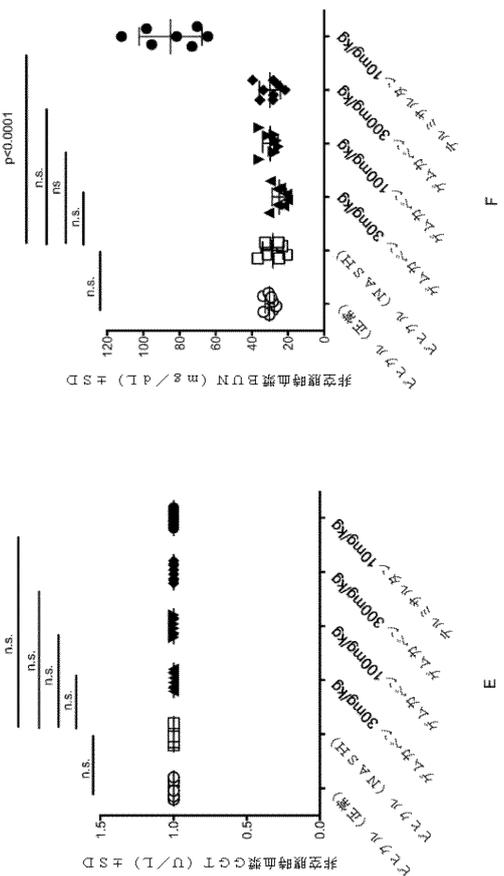
【 図 7 A - 7 B 】



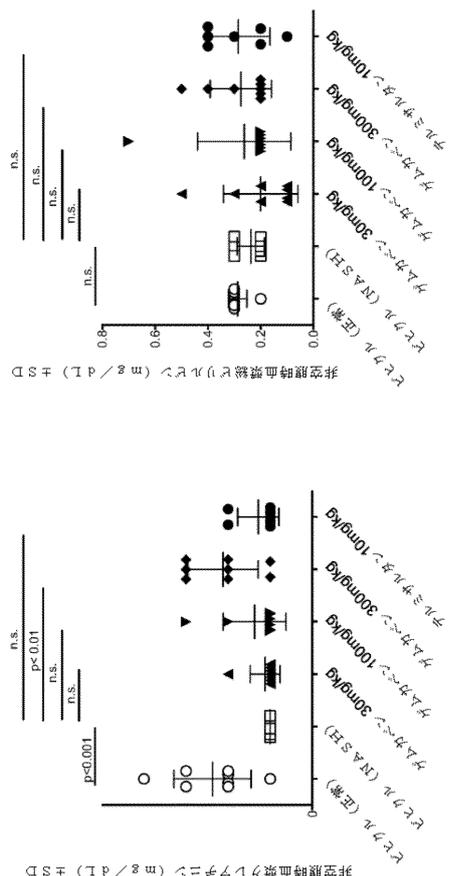
【 図 7 C - 7 D 】



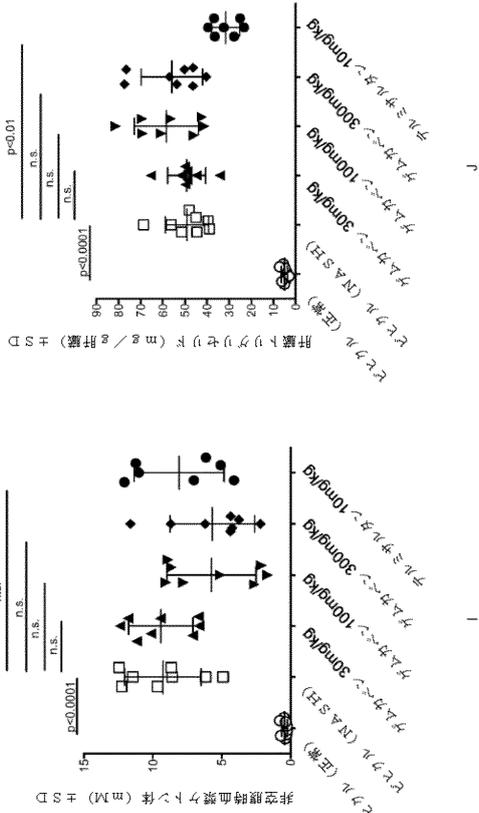
【 図 7 E - 7 F 】



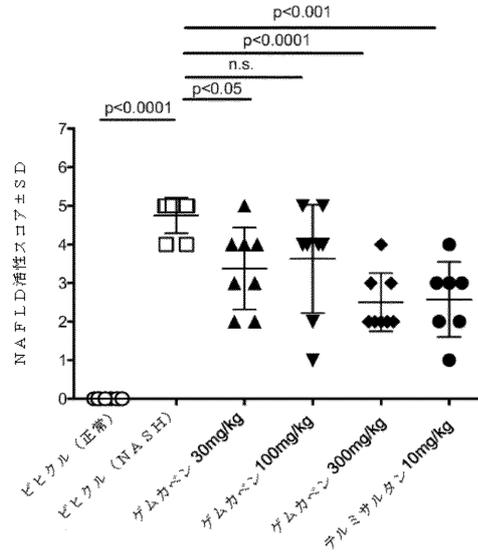
【 図 7 G - 7 H 】



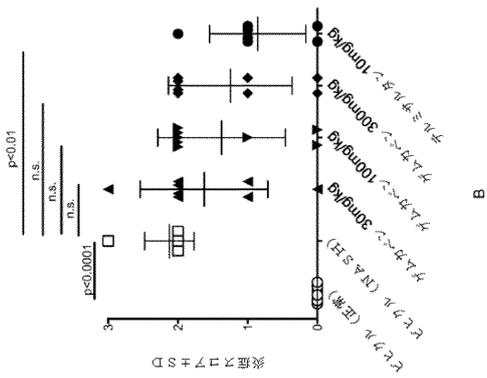
【 図 7 I - 7 J 】



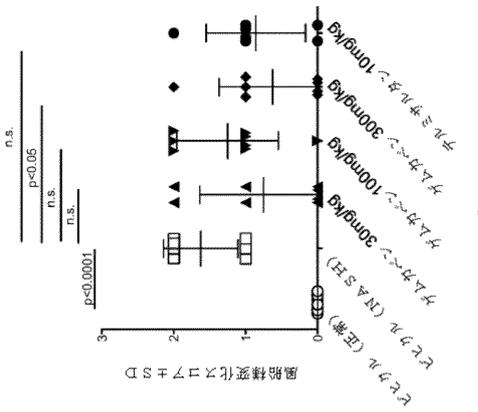
【 図 8 】



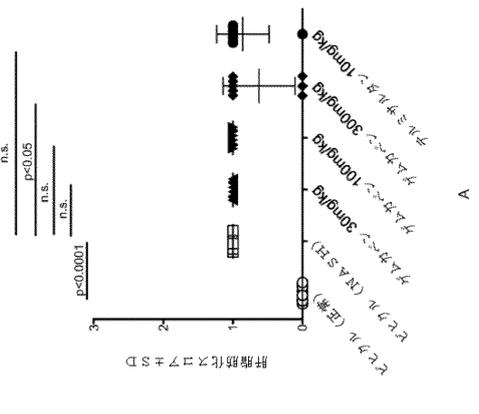
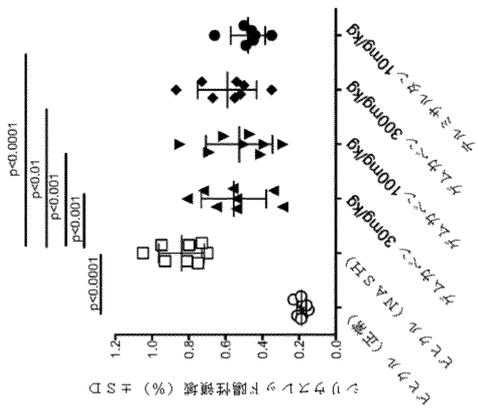
【 図 9 A - 9 B 】



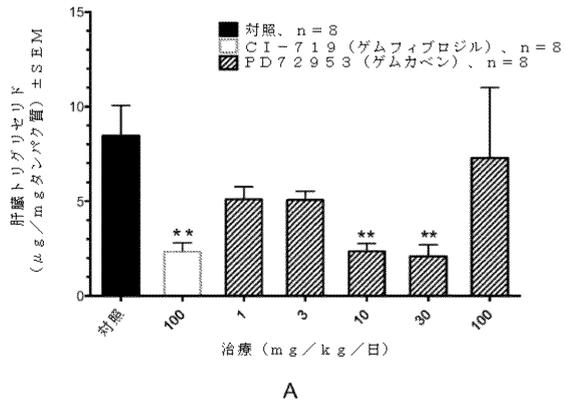
【 図 9 C 】



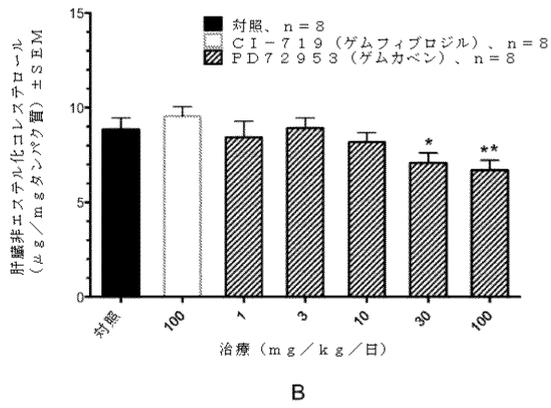
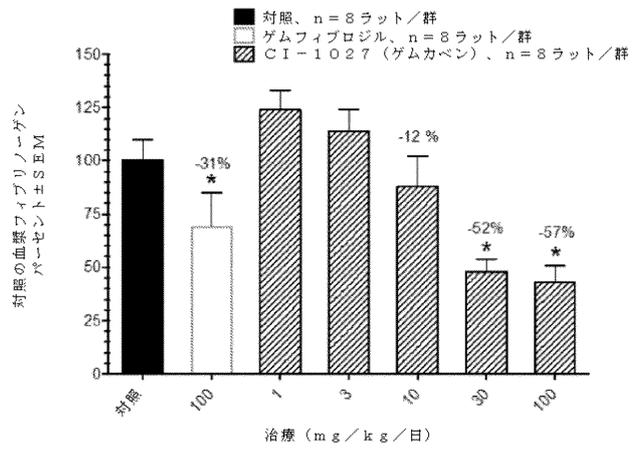
【 図 10 】



【 図 1 1 A - 1 1 B 】



【 図 1 2 】



【 国際調査報告 】

PCT/US2016/060837 13.03.2017

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 16/60837

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: 6-24, 50-61, 68-71 and 83-88
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See Supplemental Box

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

PCT/US2016/060837 13.03.2017

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/60837

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 31/194, A61P 1/18 (2017.01)
CPC - A61K 31/19
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC(8) - A61K 31/194, A61P 1/18 (2017.01)
CPC - A61K 31/19

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PatBase, Google Scholar, Reaxys, PubChem; search terms: treating type Iib hyperlipidemia administering gemcabene statin fibrinogen atorvastatin steatosis hepatic cirrhosis NASH hypercholesterolemia

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---------------|---|---------------------------------------|
| X --- Y | WO 2015/143276 A1 (Esperion Therapeutics Inc) 24 September 2015 (24.09.2015); para[0006], para[0007], para[0013] | 44-45 ----- 46 |
| X --- Y | US 2014/0234288 A1 (Grabowski) 21 August 2014 (21.08.2014); para[0007], para[0006], para[0026], para[0027], para[0037], para[0087] | 47-49, 72-74 ----- 62-67, 75-79 |
| X | US 2009/0186834 A1 (Talley et al.) 23 July 2009 (23.07.2009); para[0013], para[0014], para[0052] | 80-82 |
| X --- Y | Mandema et al. 'Model-Based Development of Gemcabene, a New Lipid-Altering Agent', The AAPS Journal, 7 October 2005 (07.10.2005), Vol.7, pageE513-E522; pE513, pE515, pE518, pE519 | 1-5 ----- 25-43, 63-67, 75-79 |
| Y | Davidson et al. 'Efficacy and Tolerability of Atorvastatin/Fenofibrate Fixed-Dose Combination Tablet Compared With Atorvastatin and Fenofibrate Monotherapies in Patients With Dyslipidemia: A 12-Week, Multicenter, Double-Blind, Randomized, Parallel-Group Study', Clinical Therapeutics, 25 January 2010 (25.01.2010), Vol.31, page2824-2838; p2824 | 25-43 |
| Y | US 5,783,600 A (Bisgaier et al.) 21 July 1998 (21.07.1998); col2, col7, col14 | 46 |
| Y | Kleiner et al. 'Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease', Hepatology, 24 May 2005 (24.05.2005), Vol.41, pages1313-1321; Abstract | 62-67 |

Further documents are listed in the continuation of Box C.

* Special categories of cited documents:

| | |
|---|--|
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means | "G" document member of the same patent family |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | |

| | |
|---|--|
| Date of the actual completion of the international search 07 February 2017 | Date of mailing of the international search report 13 MAR 2017 |
|---|--|

| | |
|---|---|
| Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300 | Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774 |
|---|---|

PCT/US2016/060837 13.03.2017

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/60837

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|---|--|--------------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | Kotronen et al. 'Fatty Liver A Novel Component of the Metabolic Syndrome', <i>Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology</i> , 19 December 2007 (19.12.2007), Vol.28, page27-38; p27 | 46 |
| A | Guha, 'Classification of dyslipidaemia', <i>Diapedia</i> , 13 August 2014 (13.08.2004), (http://www.diapedia.org/associated-disorders/6104914178/classification-of-dyslipidaemia), page1-5; p2 | 1-5, 49 |
| A | Chen et al. 'Fibrinogen blood test', <i>MedlinePlus</i> , 27 January 2015 (27.01.2015), (https://medlineplus.gov/ency/article/003650.htm), page1-3; p1 | 81-82 |
| A | US 2015/0005386 A1 (Bisgaier) 01 January 2015 (01.01.2015); entire document | 1-5, 25-49, 62-67, 72-82 |

PCT/US2016/060837 13.03.2017**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/US 16/60837

Box III Continuation

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: Claims 1-5, 47-49, 62-67 and 72-82 drawn to a method of treating a subject having type IIb hyperlipidemia/reducing the accumulation of liver fat/reduction of the NAFLD activity score/reducing hepatic fibrosis/reducing hepatic fibrosis/reducing plasma fibrinogen levels comprising, administering to the subject gemcabene in combination with a low or moderate dose of a statin

Group II: claims 25-43 drawn to a fixed dose combination comprising an amount of gemcabene from about 50 mg to about 900 mg and an amount of a statin from about 1 mg to about 60 mg

Group III: Claims 44-46, drawn to a method for treating or preventing hepatic steatosis, comprising administering to a subject in need thereof an effective amount of a compound of formula (I) or formula (II)

The inventions listed as Groups I-III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

special technical feature:

Groups I and II do not require method for treating or preventing hepatic steatosis, comprising administering to a subject in need thereof an effective amount of a compound of formula (I) or formula (II), as required by Group III.

Group III does not require gemcabene in combination with a low or moderate dose of a statin, as required by Groups I-II.

Group II does not require a method of treatment comprising the administration of the drug, as required by groups I and III

Shared Common Features

Groups I and II share the technical feature of combination of gemcabene and statin

Groups I and III share the technical feature of administering pharmaceutical agent for treating diseases.

However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is being anticipated by US 2012/0165411 A1 to Bisgaier et al. (hereinafter "Bisgaier?"). Bisgaier teaches administering the combinations of gemcabene and statin to a subject for treating (para [0064]; claims 7-10)

As the technical features were known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Groups I-III therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|---------------------------|-----------------|-------------|
| A 6 1 K 31/404 (2006.01) | A 6 1 K 31/404 | |
| A 6 1 K 31/4747 (2006.01) | A 6 1 K 31/4747 | |
| A 6 1 K 45/00 (2006.01) | A 6 1 K 45/00 | |
| A 6 1 P 3/06 (2006.01) | A 6 1 P 3/06 | |
| A 6 1 P 3/00 (2006.01) | A 6 1 P 3/00 | |
| A 6 1 P 3/04 (2006.01) | A 6 1 P 3/04 | |
| A 6 1 P 3/10 (2006.01) | A 6 1 P 3/10 | |
| A 6 1 P 29/00 (2006.01) | A 6 1 P 29/00 | |
| A 6 1 P 1/16 (2006.01) | A 6 1 P 1/16 | |
| A 6 1 P 43/00 (2006.01) | A 6 1 P 43/00 | 1 2 1 |

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA

(72) 発明者 チャールズ・エル・ビスゲイア

アメリカ合衆国 4 8 1 0 5 - 9 5 6 3 ミシガン州アナーバー、タングルウッド・ドライブ 3 6 0 5 番

(72) 発明者 ダニエラ・カルメン・オニチュ

フランス 3 1 2 0 0 トゥールーズ、シュマン・ドゥ・ニコル 1 4 8 番

F ターム (参考) 4C084 AA19 AA22 NA05 ZA70 ZA75 ZA76 ZB11 ZC21 ZC33 ZC35
ZC75
4C086 AA01 AA02 BA17 BC05 BC13 BC28 BC42 MA02 MA03 MA04
NA05 ZA70 ZA75 ZA76 ZB11 ZC21 ZC33 ZC35 ZC75
4C206 AA01 AA02 DA36 DB03 DB56 MA02 MA03 MA04 NA05 ZA70
ZA75 ZA76 ZB11 ZC21 ZC33 ZC35 ZC75