



MD/EP 3307271 T2 2024.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3307271 (13) T2

(51) Int. Cl.:A61K 31/4709 (2006.01.01)
A61K 31/496 (2006.01.01)
C07D 215/36 (2006.01.01)
A61P 7/06 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2018 0393 (22) Data de depozit: 2016.06.10 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16808374.9, 2016.06.10 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european:3307271, 2018.04.18 (31) Numărul cererii prioritare: 201562174216 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.06.11 (33) Țara cererii prioritare: US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 01/2024, 2024.01.31 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 37/2023, 2023.09.13 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 06/2018, 2018.06.30
(71) Solicitant: AGIOS PHARMACEUTICALS, INC., US (72) Inventatori: AGRESTA Samuel V., US; CHEN Yue, US; COHEN Marvin Barry, US; DANG Leonard Luan C., US; KUNG Charles, US; MERICA Elizabeth A., US; SILVER Bruce Alan, US; YANG Hua, US (73) Titular: AGIOS PHARMACEUTICALS, INC., US (74) Mandatar autorizat: SOCOLOVA Sofia	

(54) Metode de utilizare a activatorilor de piruvat kinază

(57) Rezumat:

1

Sunt descrise aici metode pentru
utilizarea compușilor care activează piruvat
kinaza.

Revendicări: 24

Figuri: 12

2

MD/EP 3307271 T2 2024.01.31

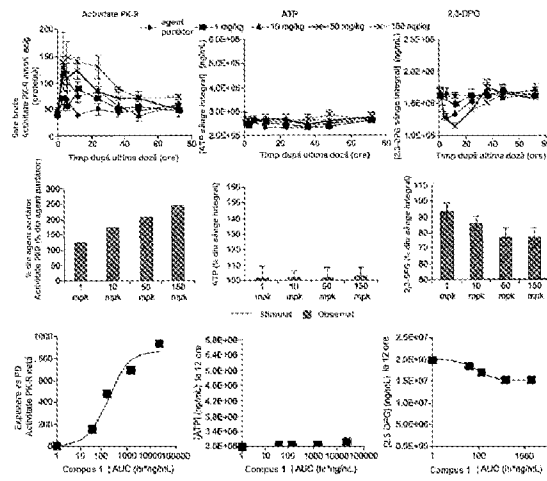


Figura 1

(54) Methods of using pyruvate kinase activators

(57) Abstract:

1

Described herein are methods for using compounds that activate pyruvate kinase.

Claims: 24

Fig.: 12

2

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****REVENDICAREA PRIORITĂȚII**

5 Această cerere revendică prioritate de la U.S.S.N. 62/174,216 completat la 11 iunie 2015.

DOMENIUL DE BAZĂ

Deficiența de Piruvat kinază (DPK) este unul dintre cele mai obișnuite defecte enzimatice în eritrocite la oameni, datorită mutațiilor recesive autozomale ale genei *PKLR* (Zanella, A., și colab., Br J Haematol 2005, 130 (1), 11-25). Aceasta este, de asemenea, cea mai frecventă mutație enzimatică în calea glicolitică centrală și doar a doua deficiență după glucoză-6 fosfat dehidrogenaza (G6PD) (Kedar, P., și colab., Clin Genet 2009, 75 (2), 157-62) a șuntului de hexoză monofosfat.

Eritrocitele umane sunt unice prin faptul că acestea sunt anucleate atunci când sunt mature. Eritrocitele imature prezintă nucleee, dar în timpul eritropoiezei timpurii, anterior să devină reticulocite circulante, acestea extrud nucleeele, precum și alte organele, cum ar fi mitocondrii, reticulul endoplasmatic și aparatul Golgi, pentru a face loc pentru hemoglobina purtătoare de oxigen. Ca un rezultat al lipsei mitocondriilor, globulele roșii mature nu utilizează deloc din oxigenul pe care îl transportă pentru a sintetiza în mod economic adenzina trifosfat (ATP) precum fac alte celule normale diferențiate. În schimb, globulele roșii depind în întregime de glicoliza anaerobă pentru a realiza ciclul de dinucleotidă nicotinamidă adenină (NAD^+) și pentru a realiza ATP, ca o sursă de energie esențială, utilizată pe larg pentru a orienta K^+/Na^+ dependent de ATPază și pompele de Ca^{2+} , pentru a menține integritatea și pliabilitatea membranei celulare, pe măsură ce acestea navighează prin vasele sanguine. În tulburarea DPK, două anomalități distinctive majore sunt depleția de ATP și creșterea concomitentă de 2,3-difosfoglicerat, în concordanță cu acumularea de intermediari glicolitici superiori. Mai mult, una dintre consecințele nivelurilor scăzute de ATP și piruvat este nivelul scăzut de lactat, ducând la inabilitatea de a regenera NAD^+ prin lactat dehidrogenază, pentru analiză suplimentară în glicoliză. Lipsa de ATP perturbă gradientul de cationi în membrana globulelor roșii, cauzând lipsa de potasiu și apă, ceea ce cauzează dehidratarea, contracția și crenarea celulară, și duce la distrugerea prematură și durata de viață diminuată a globulelor roșii (GR-uri). Astfel de GR-uri defecte sunt distruse în splină și rata excesivă de hemoliză în splină duce la manifestarea anemiei hemolitice. Mecanismul exact prin care DPK sechestrează GR-uri nou maturizate în splină pentru a scurta timpii de înjumătățire ai GR-urilor circulante nu este clar, dar studii recente sugerează faptul că neregularea metabolică afectează nu numai supraviețuirea celulară, dar de asemenea, procesul de maturizare care are ca rezultat eritropoieza inefficientă (Aizawa, S. și colab., Exp Hematol 2005, 33 (11), 1292-8).

Piruvat kinaza catalizează transferul unei grupări de fosforil din fosfoenolpiruvat (PEP) către ADP, ducând la producerea unei molecule de piruvat și a unei molecule de ATP. Enzima prezintă o centință absolută pentru cationii Mg^{2+} și K^+ pentru a orienta cataliza. PK funcționează ca ultima etapă critică în glicoliză, deoarece aceasta este o reacție în mod esențial ireversibilă în condiții fiziologice. În plus față de rolul său de sintetizare a uneia dintre cele două molecule de ATP din metabolismul glucozei în piruvat, piruvat kinază este de asemenea, un important regulator al metabolismului celular. Aceasta controlează fluxul de carbon în glicoliza inferioară pentru a asigura intermediari de metabolit cheie pentru a alimenta procese biosintetice, cum ar fi calea pentoză-fosfat, printre altele, în menținerea metabolismului celular sănătos. Datorită acestor funcții critice, piruvat kinaza este strict controlată, atât la nivele de expresie genică, cât și de aloster enzimatic. La mamifere, piruvat kinaza activată în mod complet există ca o enzimă tetramerică. Patru izozime diferite (M1, M2, L și R) sunt exprimate din două gene separate. Izozima PKR specifică eritrocitelor este exprimată din gena *PKLR* ("gena L") localizată pe cromozomul 1q21. Această aceeași genă codifică, de asemenea, izozima PKL, care este exprimată, în mod predominant, în ficat. *PKLR* este formată din 12 exoni cu exonul 1 care este specific eritroidului, în timp ce exonul 2 este specific ficatului. Celelalte două alte izozime de mamifer PKM1 și PKM2 sunt produse din gena *PKM* ("gena M") prin alternarea evenimentelor de matisare alternative, controlate prin proteinele hnRNP. Izozima PKM2 este exprimată în țesuturile fetale și în celulele adulte de proliferare, cum ar fi celulele canceroase. Atât PKR, cât și PKM2, sunt exprimate, de fapt, în proeritroblaste. Cu toate acestea, după diferențierea și maturizarea eritroidului, PKM2 este scăzută în mod gradual în expresie și înlocuită în mod progresiv de către PKR în eritrocitele mature.

Din punct de veder clinic, tulburarea de deficiență ereditară de PKR se manifestă ca anemie hemolitică non-sferocitară. Severitatea clinică a acestei tulburări variază de la simptome observabile în hemoliza în mod complet compensată până la anemia severă în mod potențial fatală, ce necesită transfuzii cronice și/sau splenectomie la dezvoltarea timpurie sau în timpul stresului fiziologic sau al infecțiilor serioase. Persoanele cele mai afectate, care sunt asimptomatice, în mod paradoxal datorită capacității

îmbunătățite de transfer al oxigenului, nu necesită niciun tratament. Cu toate acestea, pentru anumite dintre cele mai severe cazuri, deși extrem de rare la nivelul populației, cu o prevalență estimată de 51 per milion (Beutler, E. Blood 2000, 95 (11), 3585-8), nu există niciun tratament de modificare a bolii disponibil pentru acești pacienți, altul decât îngrijirea paliativă (Tavazzi, D. și colab., Pediatr Ann 2008, 37 (5), 303-10). Acești pacienți cu anemie hemolitică non-sferocitară ereditară (HNSHA) prezintă o nevoie medicală clară neîndeplinită.

Mutațiile genetice heterogene în PKR duc la dereglarea activității sale catalitice. De la clonarea inițială a PKR și raportarea unei singure mutații punctiforme Thr³⁸⁴>Met asociată cu un pacient cu HNSHA (Kanno, H. și colab., Proc Natl Acad Sci USA 1991, 88 (18), 8218-21), există în prezent aproape 200 de mutații diferite raportate, asociate cu această boală, raportate peste tot în lume (Zanella, A. și colab., Br J Haematol 2005, 130 (1), 11-25; Kedar, P., și colab., Clin Genet 2009, 75 (2), 157-62; Fermo, E. și colab., Br J Haematol 2005, 129 (6), 839-46; Pissard, S. și colab., Br J Haematol 2006, 133 (6), 683-9). Deși aceste mutații reprezintă leziuni genetice de un interval larg care include anormalități deleționale și transcriptionale sau translationale, de departe, cel mai obișnuit tip este mutația de sens greșit în regiunea de codificare, care într-un fel sau altul, afectează reziduurile conservate în cadrul domeniilor care sunt importante din punct de vedere structural pentru funcția catalitică a PKR. Modelul de prevalență a mutației pare să fie distribuit în mod neunitar către fundalurile etnice specifice. De exemplu, cele mai frecvente substituții de codon raportate pentru pacienții Nord Americani și Europeni par să fie Arg⁴⁸⁶>Trp și Arg⁵¹⁰>Gln, în timp ce mutațiile Arg⁴⁷⁹>His, Arg⁴⁹⁰>Trp și Asp³³¹>Gly au fost descoperite mai frecvent la pacienții Asiatici (Kedar, P., și colab., Clin Genet 2009, 75 (2), 157-62).

Kung Charles și colab. expune faptul că "Activarea AG-348 a piruvat kinazei in Vivo îmbunătățește Glicoliza Globulelor Roșii la Șoareci" și Yang Hua și colab. expune "Studii de Fază I de Doză în Creștere Unică (SAD) și Multiplă (MAD) de Siguranță, Tolerabilitate, Farmacocinetică (PK) și Piruvat kinază-R la subiecți sănătoși" la a 56-a Reuniune Anuală a Am. Chem. Soc. Hematol.; San Francisco, CA, USA Dec. 06-09, 2014 ISSN: 0006-4971. Inhibitorii de piruvat kinază pentru utilizare în terapie sunt descriși în WO 2012/151451 A1.

REZUMATUL INVENȚIEI

Prezenta invenție este orientată către un Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea deficienței de piruvat kinază (DPK) la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg sau de aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg de Compus 1 sau dintr-o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau dintr-un hidrat ale acestuia, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel DPK la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă. În plus, prezenta invenție este orientată către un Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea deficienței de piruvat kinază (DPK) la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg de Compus 1 sau dintr-o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau dintr-un hidrat ale acestuia, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel DPK la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă. În plus, prezenta invenție este orientată către un Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei hemolitice care cuprinde administrarea pe cale orală la un subiect care are nevoie de acesta, a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg sau de aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg de Compus 1 sau dintr-o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau dintr-un hidrat ale acestuia, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel anemia hemolitică la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă. În plus, prezenta invenție este orientată către un Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei hemolitice la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg de Compus 1 sau dintr-o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau dintr-un hidrat ale acestuia, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel anemia hemolitică la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă. În plus, prezenta invenție este orientată către un Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea talasemiei care cuprinde administrarea pe cale orală la un subiect care are nevoie de acesta a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg sau de aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg de Compus 1 sau dintr-o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau dintr-un hidrat ale acestuia, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel talasemia la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă. În plus, prezenta invenție este orientată către un Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea talasemiei la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg de

Compus 1 sau dintr-o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau dintr-un hidrat ale acestuia, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel talasemia la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă. În plus, prezenta invenție este orientată către un Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei falciforme care cuprinde administrarea pe cale orală la un subiect care are nevoie de acesta a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg sau de aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg de Compus 1 sau dintr-o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau dintr-un hidrat ale acestuia, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel anemia falciformă, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă. În plus, prezenta invenție este orientată către un Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei falciforme la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg de Compus 1 sau dintr-o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau dintr-un hidrat ale acestuia, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel anemia falciformă la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă.

Dintr-un punct de vedere, este dezvăluită o metodă de evaluare a unui subiect, metoda cuprinzând: administrarea la subiect de N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1); și dobândirea unei valori pentru nivelul de Compus 1, nivelul de 2,3-difosfoglicerat (2,3-DPG), nivelul de adenozină trifosfat (ATP) sau activitatea PKR la subiect, pentru a evalua astfel subiectul.

În anumite realizări, valoarea pentru nivelul de Compus 1 este dobândită prin analizarea concentrației plasmatice de Compus 1.

În anumite realizări, nivelul de 2,3-DPG este dobândit prin analizarea concentrației din sânge de 2,3-DPG.

În anumite realizări, nivelul de ATP este dobândit prin analizarea concentrației din sânge de ATP.

În anumite realizări, activitatea PKR este dobândită prin analizarea concentrației din sânge a unui marker ^{13}C în sânge. De exemplu, glucoza marcată cu ^{13}C este administrată la un subiect, și încorporată în anumiți intermediari glicolitici în sânge.

În anumite realizări, analiza este realizată prin analiza probei de fluid corporal, cum ar fi sânge, prin, *de exemplu*, spectroscopie de masă, *de exemplu*, LC-MS.

Dintr-un alt punct de vedere, este dezvăluită o metodă de evaluare a unui subiect, metoda cuprinzând dobândirea, *de exemplu*, dobândirea în mod direct, a valorii pentru nivelul unui compus de N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1), nivelul de 2,3-DPG, nivelul de ATP sau activitatea PKR la un subiect care a fost tratat cu Compusul 1, pentru a evalua astfel subiectul. În anumite realizări, dobândirea cuprinde primirea unei probe de la subiect. În anumite realizări, dobândirea cuprinde transmiterea valorii către o terță parte, *de exemplu*, partea care a administrat Compusul 1.

În anumite realizări, valoarea pentru nivelul de Compus 1 este dobândită prin analizarea concentrației plasmatice de Compus 1.

În anumite realizări, nivelul de 2,3-DPG este dobândit prin analizarea concentrației din sânge de 2,3-DPG.

În anumite realizări, nivelul de ATP este dobândit prin analizarea concentrației din sânge de ATP.

În anumite realizări, activitatea PKR este dobândită prin analizarea concentrației din sânge de marker ^{13}C în sânge. De exemplu, glucoza marcată cu ^{13}C este administrată la un subiect, și încorporată în anumiți intermediari glicolitici în sânge.

În anumite realizări, analiza este realizată prin analiza probei de fluid corporal, cum ar fi sânge, prin, *de exemplu*, spectroscopie de masă, *de exemplu*, LC-MS.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1 în cadrul unei perioade preselectate de mai puțin de 7 zile, mai puțin de 6 zile, mai puțin de 5 zile, mai puțin de 4 zile, mai puțin de 3 zile, sau mai puțin de 72 ore anterior evaluării, *de exemplu*, mai puțin de 48 ore, mai puțin de 24 ore, mai puțin de 12 ore, mai puțin de 10 ore, mai puțin de 8 ore, mai puțin de 6 ore, mai puțin de 4 ore, mai puțin de 3 ore, mai puțin de 2 ore, mai puțin de 1.5 ore, mai puțin de 1 oră, mai puțin de 45 minute, mai puțin de 30 minute, sau mai puțin de 15 minute.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, o doză de la aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, de aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, de aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, de aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, de aproximativ 1200 mg până

la aproximativ 2000 mg, sau de aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, de aproximativ 30 mg, de aproximativ 120 mg, de aproximativ 360 mg, de aproximativ 700 mg, de aproximativ 1400 mg, de aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, o doză de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, de aproximativ 50 mg, de aproximativ 75 mg, de aproximativ 100 mg, de aproximativ 125 mg, de aproximativ 150 mg, de aproximativ 175 mg, 200 mg, de aproximativ 225 mg, de aproximativ 250 mg, de aproximativ 275 mg, de aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat, *de exemplu*, pe cale orală, Compus 1 o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori, zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la, de la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, de la aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, de la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, de la aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, de la aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, de la aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, de la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, de la aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, de la aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, de la aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect de la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, de la aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, de la aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, de la aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, de la aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau de la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

În anumite realizări, metoda cuprinde compararea nivelului de Compus 1, a nivelului de 2,3-DPG sau a nivelului de ATP la un standard de referință.

În anumite realizări, activitatea PKR este dobândită prin analizarea concentrației din sânge de marker ^{13}C în sânge. De exemplu, glucoza marcată cu ^{13}C este administrată la un subiect, și încorporată în anumiți intermediari glicolitici în sânge.

În anumite realizări, valoarea pentru nivelul de Compus 1 este dobândită prin analizarea concentrației plasmatice de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este prezent într-o cantitate detectabilă la subiect cel puțin 2 ore, cel puțin 3 ore, cel puțin 4 ore, cel puțin 5 ore, cel puțin 6 ore, cel puțin 7 ore, cel puțin 8 ore, cel puțin 9 ore, sau cel puțin 10 ore după administrare la subiect.

În anumite realizări, nivelul de 2,3-DPG este dobândit prin analizarea concentrației din sânge de 2,3-DPG.

În anumite realizări, nivelul de ATP este dobândit prin analizarea concentrației din sânge de ATP.

În anumite realizări, activitatea PKR este dobândită prin analizarea concentrației din sânge a unui marker ^{13}C în sânge. De exemplu, glucoza marcată cu ^{13}C este administrată la un subiect, și încorporată în anumiți intermediari glicolitici în sânge.

În anumite realizări, analiza este realizată prin analiza probei de fluid corporal, cum ar fi sânge, prin, *de exemplu*, spectroscopie de masă, *de exemplu*, LC-MS.

În anumite realizări, standardul de referință pentru nivelul de Compus 1, nivelul de 2,3-DPG, nivelul de ATP sau nivelul de activitate PRK este nivelul de Compus 1, nivelul de 2,3-DPG, nivelul de ATP sau nivelul de activitate PRK anterior administrării de Compus 1.

În anumite realizări, valoarea pentru nivelul de Compus 1 este dobândită prin analizarea concentrației plasmatice de Compus 1.

În anumite realizări, nivelul de 2,3-DPG este dobândit prin analizarea concentrației din sânge de 2,3-DPG.

În anumite realizări, nivelul de ATP este dobândit prin analizarea concentrației din sânge de ATP.

În anumite realizări, activitatea PKR este dobândită prin analizarea concentrației din sânge a unui marker ^{13}C în sânge. De exemplu, glucoza marcată cu ^{13}C este administrată la un subiect, și încorporată în anumiți intermediari glicolitici în sânge.

În anumite realizări, analiza este realizată prin analiza probei de fluid corporal, cum ar fi sânge, prin, *de exemplu*, spectroscopie de masă, *de exemplu*, LC-MS.

În anumite realizări, concentrația plasmatică de Compus 1 este de la aproximativ 10,000 ng/mL până la aproximativ 1 ng/mL, *de exemplu*, de la aproximativ 1000 ng/mL până la aproximativ 10 ng/mL.

În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă cu cel puțin de la aproximativ 15% în raport cu standardul de referință (*de exemplu*, de la aproximativ 15% până la aproximativ 60%). În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă cu cel puțin de la aproximativ 15%, cu cel puțin de la aproximativ 20%, cu cel puțin de la aproximativ 25%, cu cel puțin de la aproximativ 30%, cu cel puțin de la aproximativ 35%, cu cel puțin de la aproximativ 40%, cu cel puțin de la aproximativ 45%, cu cel puțin de la aproximativ 50%, cu cel puțin de la aproximativ 55%, cu cel puțin de la aproximativ 60%.

În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă pentru cel puțin de la aproximativ 4 ore (*de exemplu*, cel puțin de la aproximativ 8 ore, cel puțin de la aproximativ 12 ore, cel puțin de la aproximativ 16 ore, cel puțin de la aproximativ 20 ore, cel puțin de la aproximativ 24 ore, cel puțin de la aproximativ 36 ore, cel puțin de la aproximativ 48 ore, cel puțin de la aproximativ 72 ore sau mai mult).

În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă cu cel puțin de la aproximativ 15% în raport cu standardul de referință (*de exemplu*, de la aproximativ 15% până la aproximativ 60%). În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă cu cel puțin de la aproximativ 15%, cu cel puțin de la aproximativ 20%, cu cel puțin de la aproximativ 25%, cu cel puțin de la aproximativ 30%, cu cel puțin de la aproximativ 35%, cu cel puțin de la aproximativ 40%, cu cel puțin de la aproximativ 45%, cu cel puțin de la aproximativ 50%, cu cel puțin de la aproximativ 55%, cu cel puțin de la aproximativ 60%, for cel puțin de la aproximativ 4 ore (*de exemplu*, cel puțin de la aproximativ 8 ore, cel puțin de la aproximativ 12 ore, cel puțin de la aproximativ 16 ore, cel puțin de la aproximativ 20 ore, cel puțin de la aproximativ 24 ore, cel puțin de la aproximativ 36 ore, cel puțin de la aproximativ 48 ore, cel puțin de la aproximativ 72 ore sau mai mult).

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea unei cantități de Compus 1 suficientă pentru a asigura o concentrație de sânge din 2,3-DPG, care este redusă cu cel puțin 15% în raport cu standardul de referință (*de exemplu*, de la aproximativ 15% până la aproximativ 60%). În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă cu cel puțin de la aproximativ 15%, cu cel puțin de la aproximativ 20%, cu cel puțin de la aproximativ 25%, cu cel puțin de la aproximativ 30%, cu cel puțin de la aproximativ 35%, cu cel puțin de la aproximativ 40%, cu cel puțin de la aproximativ 45%, cu cel puțin de la aproximativ 50%, cu cel puțin de la aproximativ 55%, cu cel puțin de la aproximativ 60%.

În anumite realizări, o sigură administrare de Compus 1 este suficientă pentru a asigura o concentrație din sânge de 2,3-DPG redusă cu cel puțin 15% în raport cu standardul de referință (*de exemplu*, de la aproximativ 15% până la aproximativ 60%). În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă cu cel puțin de la aproximativ 15%, cu cel puțin de la aproximativ 20%, cu cel puțin de la aproximativ 25%, cu cel puțin de la aproximativ 30%, cu cel puțin de la aproximativ 35%, cu cel puțin de la aproximativ 40%, cu cel puțin de la aproximativ 45%, cu cel puțin de la aproximativ 50%, cu cel puțin de la aproximativ 55%, cu cel puțin de la aproximativ 60%. Dintr-un alt punct de vedere, este dezvăluit Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă de tratare a unui subiect pentru o tulburare, *de exemplu*, anemia hemolitică non-sferocitară ereditară; anemie falciformă; talasemie, *de exemplu*, beta-talasemie; sferocitoză ereditară; eliptocitoză ereditară; sbetalipoproteinemie; sindromul Bassen-Kornzweig sau hemoglobinuria paroxistică nocturnă, care cuprinde administrarea la subiect a unei cantități de Compus 1 suficientă pentru a asigura o concentrație din sânge de 2,3-DPG redusă cu cel puțin 15% în raport cu standardul de referință (*de exemplu*, de la aproximativ 15% până la aproximativ 60%). În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă cu cel puțin de la aproximativ 15%, cu cel puțin de la aproximativ 20%, cu cel puțin de la aproximativ 25%, cu cel puțin de la aproximativ 30%, cu cel puțin de la aproximativ 35%, cu cel puțin de la aproximativ 40%, cu cel puțin de la aproximativ 45%, cu cel puțin de la aproximativ 50%, cu cel puțin de la aproximativ 55%, cu cel puțin de la aproximativ 60%.

În anumite realizări, standardul de referință este, *de exemplu*, nivelul de 2,3-DPG sau nivelul de ATP din sânge, la o persoană bolnavă, *de exemplu*, o persoană care prezintă o tulburare metabolică sau o tulburare sanguină, *de exemplu*, o persoană diagnosticată cu deficiență de piruvat kinază (DPK). În anumite realizări, standardul de referință este, *de exemplu*, un nivel de bază, *de exemplu*, nivelul de 2,3-DPG sau nivelul de ATP din sânge, la subiect anterior administrării cu Compus 1.

În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă pentru cel puțin de la aproximativ 4 ore (*de exemplu*, cel puțin de la aproximativ 8 ore, cel puțin de la aproximativ 12 ore, cel puțin

de aproximativ 16 ore, cel puțin de aproximativ 20 ore, cel puțin de aproximativ 24 ore, cel puțin de aproximativ 36 ore, cel puțin de aproximativ 48 ore, cel puțin de aproximativ 72 ore sau mai mult).

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1 în cadrul unei perioade preselecate de mai puțin de 7 zile, mai puțin de 6 zile, mai puțin de 5 zile, mai puțin de 4 zile, mai puțin de 3 zile, sau mai puțin de 72 ore anterior evaluării, *de exemplu*, mai puțin de 48 ore, mai puțin de 24 ore, mai puțin de 12 ore, mai puțin de 10 ore, mai puțin de 8 ore, mai puțin de 6 ore, mai puțin de 4 ore, mai puțin de 3 ore, mai puțin de 2 ore, mai puțin de 1.5 ore, mai puțin de 1 oră, mai puțin de 45 minute, mai puțin de 30 minute, sau mai puțin de 15 minute.

În anumite realizări, subiectul este evaluat mai puțin de 72 ore, mai puțin de 48 ore, mai puțin de 24 ore, mai puțin de 12 ore, mai puțin de 10 ore, mai puțin de 8 ore, mai puțin de 6 ore, mai puțin de 4 ore, mai puțin de 3 ore, mai puțin de 2 ore, mai puțin de 1.5 ore, mai puțin de 1 oră, mai puțin de 45 minute, mai puțin de 30 minute, sau mai puțin de 15 minute, după administrarea de Compus 1.

În anumite realizări, o singură administrare de Compus 1 este suficientă pentru a asigura o concentrație din sânge de 2,3-DPG redusă cu cel puțin 15% în raport cu standardul de referință (*de exemplu*, de la aproximativ 15% până la aproximativ 60%). În anumite realizări, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă cu cel puțin de la aproximativ 15%, cu cel puțin de la aproximativ 20%, cu cel puțin de la aproximativ 25%, cu cel puțin de la aproximativ 30%, cu cel puțin de la aproximativ 35%, cu cel puțin de la aproximativ 40%, cu cel puțin de la aproximativ 45%, cu cel puțin aproximativ 50%, cu cel puțin aproximativ 55%, cu cel puțin aproximativ 60%. Într-o realizare, concentrația din sânge de 2,3-DPG este redusă pentru cel puțin aproximativ 4 ore (*de exemplu*, cel puțin aproximativ 8 ore, cel puțin aproximativ 12 ore, cel puțin aproximativ 16 ore, cel puțin aproximativ 20 ore, cel puțin aproximativ 24 ore, cel puțin aproximativ 36 ore, cel puțin aproximativ 48 ore, cel puțin aproximativ 72 ore sau mai mult).

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, o doză de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat, *de exemplu*, pe cale orală, Compus 1 o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, o dată, zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore. Dintr-un alt punct de vedere, este dezvăluită Compus 1 pentru utilizare într-o metodă de tratare a unui subiect pentru o tulburare, *de exemplu*, anemie hemolitică non-sferocitară ereditară; anemie falciformă; talasemie, *de exemplu* beta-talasemie; sferocitoză ereditară; eliptocitoză ereditară; abetalipoproteinemie; sindromul Bassen-Kornzweig; sau hemoglobinurie paroxistică nocturnă, metoda cuprinzând administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000

mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, tulburarea este anemie hemolitică non-sferocitară ereditară.

În anumite realizări, tulburarea este anemie falciformă.

5 În anumite realizări, tulburarea este talasemie, *de exemplu*, beta-talasemie.

În anumite realizări, tulburarea este sferocitoză ereditară.

În anumite realizări, tulburarea este eliptocitoză ereditară.

În anumite realizări, tulburarea este abetalipoproteinemie.

În anumite realizări, tulburarea este sindromul Bassen-Kornzweig.

10 În anumite realizări, tulburarea este hemoglobinurie paroxistică nocturnă.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

15 În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

25 În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

30 Metodele de tratament descrise aici pot cuprinde, în mod adițional, diferite etape de evaluare anterior și/sau ulterior tratamentului cu Compus 1.

În anumite realizări, anterior și/sau după tratamentul cu Compusul 1, metoda cuprinde suplimentar etapa de evaluare a parametrilor PK și PD (*de exemplu*, concentrația plasmatică de Compus 1, 2,3-DPG și/sau ATP). Această evaluare poate fi obținută prin analiza probei de fluid corporal, cum ar fi sânge, prin, *de exemplu*, spectroscopie de masă, *de exemplu*, LC-MS.

Dintr-un alt punct de vedere, este dezvăluită o unitate de dozare orală de Compus 1, în care unitatea de dozare orală este formată din aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

45 În anumite realizări, unitatea de dozare orală este formată din aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

Dintr-un alt punct de vedere, este dezvăluită o metodă de evaluare a unui subiect, metoda cuprinzând administrarea la subiect de N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) și dobândirea informațiilor privind apariția unui eveniment advers (EA) pentru a evalua astfel subiectul.

50 Într-o realizare, evenimentul advers este selectat dintre durere de cap, greață, vomă și infecție a tractului respirator superior. Într-o realizare, evenimentul advers este greața. Într-o realizare, evenimentul advers este voma. Într-o realizare, evenimentul advers este infecția tractului respirator superior.

55 În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ

30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat, *de exemplu*, pe cale orală, Compus 1 o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, subiectului i-a fost administrat Compus 1, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore. Suplimentar este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă pentru creșterea timpului de înjumătățire al globulelor roșii (CSR-uri), care are nevoie de acesta, care cuprinde punerea în contact a sângelui cu o cantitate eficientă din (1) Compusul 1 sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24

ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

Suplimentar este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă pentru regularea nivelelor de 2,3-difosfoglicerat, *de exemplu*, reducând nivelele de 2,3-difosfoglicerat în sânge, care are nevoie de acesta, cuprinzând punerea în contact a sângelui cu o cantitate eficientă din (1) Compusul 1 sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

Dintr-un alt punct de vedere, este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă de tratare a unui subiect, metoda cuprinzând: administrarea la subiect a unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic din (1) Compusul 1 sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic; și dobândirea unei valori pentru nivelul de Compus 1, nivelul de 2,3-difosfoglicerat (2,3-DPG), nivelul de adenozină trifosfat (ATP) sau activitatea PKR la subiect, pentru a trata astfel subiectul.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

5 În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

15 În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată, zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

În anumite realizări, valoarea pentru nivelul de Compus 1 este dobândită prin analizarea concentrației plasmatice de Compus 1.

În anumite realizări, nivelul de 2,3-DPG este dobândit prin analizarea concentrația din sânge de 2,3-DPG.

25 În anumite realizări, nivelul de ATP este dobândit prin analizarea concentrația din sânge de ATP.

În anumite realizări, activitatea PKR este dobândită prin analizarea concentrației din sânge a unui marker ^{13}C în sânge. De exemplu, glucoza marcată cu ^{13}C este administrată la un subiect și încorporată în anumiți intermediari glicolitici în sânge.

30 În anumite realizări, analiza este realizată prin analiza probei de fluid corporal, cum ar fi sânge, prin, *de exemplu*, spectroscopie de masă, *de exemplu*, LC-MS.

Dintr-un alt punct de vedere, este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea deficienței de piruvat kinază (DPK) la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea la subiect a din punct de vedere terapeutic cantitate eficientă din (1) Compusul 1 sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic, pentru a trata astfel DPK la subiect.

În anumite realizări, anterior, în timpul și/sau după tratament cu (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic, metoda cuprinde suplimentar etapa de evaluare pentru nivelele de Compus 1, sau pentru nivelele dintr-unul sau mai mulți intermediar (intermediari) în calea glicolizei, *de exemplu*, evaluând nivelele pentru una sau mai multe dintre 2,3-difosfoglicerat (2,3-DPG), adenosină trifosfat (ATP) sau alt intermediar din calea glicolizei.

50 În anumite realizări, metoda cuprinde activarea uneia sau mai multor izozime de piruvat kinază, *de exemplu*, una sau mai multe dintre izozimele PKR, PKM2 și/sau PKL.

În anumite realizări, metoda cuprinde activarea izozimei PKR de tip sălbatic și/sau a izozimei PKR mutante.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120

mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

Dintr-un alt punct de vedere, este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă de activare a piruvat kinazei la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea la subiect a unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic din (1) Compusul 1 sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic, pentru a activa astfel piruvat kinaza la subiect.

În anumite realizări, metoda cuprinde activarea unei sau mai multor izozime de piruvat kinază, *de exemplu*, una sau mai multe dintre izozimele PKR, PKM2 și/sau PKL.

În anumite realizări, metoda cuprinde activarea izozimei PKR de tip sălbatic și/sau a izozimei PKR mutante. În anumite realizări, izozima PKR mutantă este selectată dintre G332S, G364D, T384M, G37E, R479H, R479K, R486W, R532W, R510Q, I90N și R490W.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

Suplimentar este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei hemolitice non-sferocitare ereditare care cuprinde administrarea la un subiect care are nevoie de acesta, a unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic din (1) Compusul 1 sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

În anumite realizări, anterior, în timpul, și/sau după tratament cu (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic, metoda cuprinde suplimentar etapa de evaluare pentru nivelul de Compus 1, sau pentru nivelele unuia sau mai multor intermediar (intermediari) în calea glicolizei, *de exemplu*, evaluarea nivelelor unuia sau mai multora dintre 2,3-difosfoglicerat (2,3-DPG), adenozină trifosfat (ATP) sau un alt intermediar din calea glicolizei.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore. Suplimentar este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă pentru înfrângerea anemiei falciforme, care cuprinde administrarea la un subiect care are nevoie de acesta, a unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic din (1) Compusul 1 sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau

(3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

În anumite realizări, anterior, în timpul, și/sau după tratament cu (1) Compusul 1 sau cu sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic, metoda cuprinde suplimentar etapa de evaluare pentru nivelul de Compus 1, sau pentru nivelele unuia sau mai multor intermediar (intermediari) în calea glicolizei, *de exemplu*, evaluarea nivelelor unuia sau multora dintre 2,3-difosfoglicerat (2,3-DPG), adenozină trifosfat (ATP) sau un alt intermediar în calea glicolizei.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

Suplimentar este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei hemolitice (*de exemplu*, anemia hemolitică cronică cauzată de deficiența de fosfoglicerat kinază, Blood Cells Mol Dis, 2011; 46(3):206) care cuprinde administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta, a unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic de (1) Compus 1 sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

În anumite realizări, anterior, în timpul, și/sau după tratamentul cu (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic, metoda cuprinde suplimentar etapa de evaluare pentru nivelul de Compus 1 sau pentru nivelele unuia sau mai multor intermediar (intermediari) din calea glicolizei, *de exemplu*, evaluarea nivelelor unuia sau multora dintre 2,3-difosfoglicerat (2,3-DPG), adenozină trifosfat (ATP), sau un alt intermediar în calea glicolizei.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg,

aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

Suplimentar este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea talasemiei (de exemplu, beta-talasemie), sferocitozei ereditare, eliptocitozei ereditare, abetalipoproteinemiei (sau sindromului Bassen-Kornzweig), hemoglobinuriei paroxistice nocturne, anemiei hemolitice dobândite (*de exemplu*, anemiile congenitale (*de exemplu*, enzimopatiile)), sau anemia bolilor cronice care cuprinde administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta, a unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic de (1) N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

În anumite realizări, anterior, în timpul, și/sau după tratament cu (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic, metoda cuprinde suplimentar etapa de evaluare pentru nivelul de Compus 1, sau pentru nivelele unuia sau mai multor intermediari (intermediari) în calea glicolizei, *de exemplu*, evaluarea nivelelor unuia sau multora dintre 2,3-difosfoglicerat (2,3-DPG), adenosină trifosfat (ATP), sau un alt intermediar în calea glicolizei.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de*

exemplu, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

Suplimentar este dezvăluit (1) Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea bolilor și afecțiunilor care sunt asociate cu nivele crescute de 2,3-difosfoglicerat (*de exemplu*, bolile hepatice (Am J Gastroenterol, 1987;82(12):1283) and Parkinson's (J. Neurol, Neurosurg, and Psychiatry 1976;39:952) care cuprinde administrarea la un subiect care are nevoie de acesta a unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic din (1) Compusul 1 sau dintr-o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic; (2) o compoziție care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia și un agent transportor; sau (3) o compoziție farmaceutică care cuprinde Compusul 1 sau o sare a acestuia acceptabilă din punct de vedere farmaceutic, și un agent transportor acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

Un compus de N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) și compozițiile care cuprind Compusul 1 descrise aici sunt activatori alosterici ai mutanților de PKR și izoforme care prezintă activități mai scăzute în comparație cu tipul sălbatic, astfel, sunt utile pentru metodele conform prezentei invenții. Astfel de mutații în PKR pot afecta activitatea enzimei (eficiență catalitică), proprietățile reglatoare (modulare prin fructoză bisfosfat (FBP)/ATP), și/sau termostabilitatea enzimei. Exemple ale unor astfel de mutații sunt descrise în Valentini și colab., JBC 2002. Anumite exemple ale mutanților care sunt activați de către compușii descriși aici includ G332S, G364D, T384M, G37E, R479H, R479K, R486W, R532W, R510Q, I90N și R490W. Fără a fi legați de teorie, Compusul 1 afectează activitățile mutanților PKR prin activarea mutanților PKR non-responsivi la

FBP, restabilind termostabilitatea mutanților cu stabilitate scăzută sau restabilind eficiența catalitică a mutanților deteriorați. Compusul 1 este de asemenea, un activator al PKR de tip sălbatic.

Într-o realizare, pentru a crește timpul de înjumătățire al globulelor roșii, N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamida (Compus 1), compoziția sau compoziția farmaceutică descrisă aici este adăugată în mod direct la sânge integral sau la celulele împachetate extracorporeal sau asigurate subiectului (*de exemplu*, pacientul) în mod direct (*de exemplu*, prin i.p., i.v., i.m., orală, inhalare (livrare aerosolizată), transdermică, sublinguală și alte căi de livrare). Fără a fi legați de teorie, Compus 1 mărește timpul de înjumătățire al GR-urilor, astfel contracarând îmbătrânirea sângelui depozitat, prin impactarea ratei de eliberare a 2,3-DPG din sânge. O scădere în nivelul de concentrație de 2,3-DPG induce un schimb spre stânga a curbei de disociere oxigen-hemoglobină și schimbă echilibrul alosteric către R, sau starea oxigenată, astfel producând o inhibare terapeutică a polimerizării intracelulare care stă la baza aspectului falciform, prin creșterea afinității pentru oxigen, datorită depleției de 2,3-DPG, astfel stabilizând oxo-hemoglobina mai solubilă. În mod corespunzător, într-o realizare, Compusul 1 este util ca un agent anti-falciformare. Într-o altă realizare, pentru a regula 2,3-difosfoglicerat, *de exemplu*, pentru reduce nivelele de 2,3-difosfoglicerat, Compusul 1 este adăugat în mod direct la sângele integral sau la celule împachetate extracorporeal sau care urmează să fie asigurate la subiect (*de exemplu*, pacientul) în mod direct (*de exemplu*, prin i.p., i.v., i.m., orală, inhalare (livrare aerosolizată), transdermică, sublinguală și alte căi de livrare).

SCURTĂ DESCRIERE A DESENELOR

Figura 1 descrie graficul liniar care prezintă activitatea PKR (stânga), nivelele de ATP (centru), și nivelele de 2,3-DPG (dreapta) în sânge integral de la șoareci C57/BL6 tratați cu o singură doză dintr-un compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) la patru nivele de doză (1 mpk, 10 mpk, 50 mpk, și 150 mpk). *Rândul de sus*: Date brute pentru evaluările activității PKR, nivelului de ATP și nivelului de 2,3-DPG; *Rândul din centru*: Modificări procentuale pentru fiecare marker pentru fiecare doză normalizată la tratament cu agent purtător; *Rândul de jos*: Corelare farmacocinetică / farmacodinamică între expunerea Compusului 1 în plasmă și în fiecare marker.

Figura 2 descrie grafice liniare care prezintă activitatea PKR (stânga), nivelele de ATP (centru), și nivelele de 2,3-DPG (dreapta) în sânge integral de la șoareci C57/BL6 tratați cu doze multiple (13 doze, BID) dintr-un compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) la patru nivele de doză (1 mpk, 10 mpk, 50 mpk, și 150 mpk). *Rândul de sus*: Date brute pentru evaluările activității PKR, nivelului de ATP și nivelului de 2,3-DPG; *Rândul din centru*: Modificări procentuale pentru fiecare marker pentru fiecare doză normalizată la tratament cu agent purtător; *Rândul de jos*: Corelare farmacocinetică / farmacodinamică între expunerea Compusului 1 în plasmă și în fiecare marker.

Figura 3 descrie o schemă pentru determinarea activității fluxului PK la șoareci. Șoarecilor C57/BL6 le sunt administrate 13 doze (BID) dintr-un compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1, 100 mpk), și probele de sânge integral sunt îndepărtate în timp. Probele de sânge sunt incubate imediat la 37°C în prezența de [U-¹³C₆]-glucoză, și metaboliții sunt extrași și cuantificați. Datele rezultate sunt supuse unui model de flux cinetic pentru a determina schimbarea generală în fluxul de carbon prin reacția PKR.

Figura 4 descrie un rezumat al numărului de subiecți care experimentează evenimente adverse (EA-uri) din grupul de tratament în studiul SAD, incluzând setul analizei de siguranță al perioadei atât de alimentare, cât și de post.

Figura 5 descrie un grafic liniar care prezintă media profilelor concentrație-timp ale unui compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) în plasma umană după o singură doză orală la 30 mg, 120 mg, 360 mg, 700 mg, 1400 mg, și 2500 mg.

Figura 6 descrie valorile parametrului farmacocinetic (PK) ale unui compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă Compus 1 după o singură doză orală (studiu SAD).

Figura 7 descrie un grafic liniar care prezintă media profilelor concentrație-timp ale 2,3-DPG în sânge uman după o singură doză orală de placebo, 30 mg, 120 mg, 360 mg, 700 mg, 1400 mg, și 2500 mg dintr-un compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1).

Figura 8 descrie un grafic liniar care prezintă media profilelor concentrație-timp ale 2,3-DPG după doze orale multiple de placebo, 120 mg, și 360 mg dintr-un compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) pentru cohortele 1 și 2 în studiul MAD.

Figura 9 descrie un grafic liniar care prezintă media profilelor concentrație-timp ale ATP după doze orale multiple de placebo, 120 mg, și 360 mg dintr-un compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) pentru cohortele 1 și 2 în studiul MAD.

Figura 10A descrie un grafic liniar care prezintă modificarea de la nivelul de bază a profilelor concentrație-timp ale 2,3-DPG după doze orale multiple de placebo, 15 mg (q12h), 60 mg (q12h), 120 mg (q12h), 360 mg (q12h), 700 mg (q12h) dintr-un compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) sau o singură doză de Compus 1 la 120 mg (q24h).

Figura 10B descrie un grafic liniar care prezintă modificarea de la nivelul de bază a profilelor concentrație-timp ale ATP după doze orale multiple de placebo, 15 mg (q12h), 60 mg (q12h), 120 mg (q12h), 360 mg (q12h), 700 mg (q12h) dintr-un compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) sau o singură doză de Compus 1 la 120 mg (q24h).

Figura 11 este o schemă care ilustrează Studiul de Fază 2 descris în Exemplele de aici. BID (q12h) = de două ori-zilnic (la fiecare 12 ore); DRT = echipa de revizuire a datelor; PKR = izoforma de celule roșii sanguine ale piruvat kinazei; TBD = urmează să fie determinat; w = săptămâni.

Figura 12 este o schemă care subliniază reacția enzimatică a piruvat kinazei R (PKR) și modul în care mai multe evaluări farmacodinamice (PD) contribuie la un mecanism pentru înțelegerea acțiunii Compusului 1.

DESCRIERE DETALIATĂ A INVENȚIEI

Detaliile construcției și aranjamentul componentelor stabilite în următoarea descriere sau ilustrate în desene nu sunt intenționate să fie limitative. Realizările pot fi puse în practică sau realizate în diferite moduri. De asemenea, frazeologia și terminologia utilizate aici sunt pentru scopul descrierii și nu ar trebui privite ca fiind limitative. Utilizarea de "care include", "care cuprinde," sau "care prezintă", "care conține", "care implică" și variațiile acestora de aici sunt intenționate să cuprindă itemii enumerați aici în continuare și echivalenții acestora, precum și itemi suplimentari.

Așa cum a fost utilizat aici, termenul "tratare" înseamnă scădere, suprimare, atenuare, diminuare, oprire sau stabilizare a dezvoltării sau progresiei unei boli/tulburări (*de exemplu*, anemie hemolitică non-sferocitară ereditară; anemie falciformă; talasemie, *de exemplu* beta-talasemie; sferocitoză ereditară; eliptocitoză ereditară; sbetalipoproteinemie; sindromul Bassen-Kornzweig; sau hemoglobinurie paroxistică nocturnă), scăderea gravității bolii/tulburării (*de exemplu*, anemie hemolitică non-sferocitară ereditară; anemie falciformă; talasemie, *de exemplu*, beta-talasemie; sferocitoză ereditară; eliptocitoză ereditară; sbetalipoproteinemie; sindromul Bassen-Kornzweig; sau hemoglobinurie paroxistică nocturnă) sau îmbunătățirea simptomelor asociate cu boala/tulburarea (*de exemplu*, *de exemplu*, anemie hemolitică non-sferocitară ereditară; anemie falciformă; talasemie, *de exemplu*, beta-talasemie; sferocitoză ereditară; eliptocitoză ereditară; sbetalipoproteinemia; sindromul Bassen-Kornzweig; sau hemoglobinurie paroxistică nocturnă).

Așa cum a fost utilizat aici, o cantitate dintr-un compus N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) eficientă pentru a trata o tulburare sau o "cantitate eficientă din punct de vedere terapeutic" se referă la o cantitate a compusului care este eficientă, după administrare de doză unică sau multiplă la un subiect, în tratarea unei celule sau în vindecarea, ameliorarea, ușurarea sau îmbunătățirea unui subiect cu o tulburare, dincolo de ceea ce s-a preconizat în absența unui astfel de tratament.

Așa cum a fost utilizat aici, cantitatea de dozare se referă la baza liberă de Compus 1 sau dintr-o sare sau solvat (*de exemplu*, hidrat) ale acestuia, acceptabile din punct de vedere farmaceutic.

Așa cum a fost utilizat aici, termenul "subiect" este intenționat să însemne o persoană. Subiecte umane exemplificative includ un pacient uman (la care s-a făcut referire ca un pacient) care prezintă o tulburare, *de exemplu*, o tulburare descrisă aici, la un subiect normal.

Așa cum a fost utilizat aici, termenul "a dobândi" sau "dobândirea", așa cum termenii sunt utilizați aici, se referă la obținerea posesiei unei entități fizice (*de exemplu*, o probă, *de exemplu*, probă de sânge sau probă de plasmă sanguină), sau a unei valori, *de exemplu*, o valoare numerică, prin "dobândirea în mod direct" sau "dobândirea în mod indirect" a entității fizice sau a valorii. "Dobândirea în mod direct" înseamnă realizarea unui proces (*de exemplu*, o metodă analitică) pentru a obține entitatea fizică sau valoarea. "Dobândirea în mod indirect" se referă la primirea entității fizice sau a valorii dintr-o altă parte sau sursă (*de exemplu*, un laborator terță parte care a dobândit în mod direct entitatea fizică sau valoarea). Dobândirea în mod direct a unei valori include realizarea unui proces care include o schimbare fizică într-o probă sau într-o altă substanță, *de exemplu*, realizarea unui proces analitic care include o schimbare fizică într-o substanță, *de exemplu*, o probă, realizarea unei metode analitice, *de exemplu*, o metodă așa cum a fost descris aici, *de exemplu*, prin analiza probei de fluid corporal, cum ar fi sânge prin, *de exemplu*, spectroscopie de masă, *de exemplu*, LC-MS.

Metode de Tratament

Este dezvăluit Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea sau prevenirea unei boli, afecțiuni sau tulburări, așa cum a fost descris aici (*de exemplu*, tratarea) care cuprinde administrarea la un subiect care are nevoie de acesta, de N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1).

În anumite realizări, tulburarea este selectată dintre anemie hemolitică non-sferocitară ereditară; anemie falciformă; talasemie, *de exemplu*, beta-talasemie; sferocitoză ereditară; eliptocitoză ereditară; sbetalipoproteinemia; sindromul Bassen-Kornzweig; sau hemoglobinurie paroxistică nocturnă.

N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) și compozițiile descrise aici pot fi administrate la celule în cultură, *de exemplu in vitro* sau *ex vivo*, sau la un subiect, *de exemplu, in vivo*, pentru a trata, preveni, și/sau diagnostica o varietate de tulburări, incluzând pe cele descrise aici mai jos.

Compoziții și căi de Administrare

Compozițiile descrise aici includ compusul N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1), precum și agenți terapeutici suplimentari, dacă sunt prezenți, în cantități eficiente pentru obținerea unei modulări a simptomelor de boală, incluzând pe cele descrise aici.

Termenul "agent transportor sau adjuvant acceptabili din punct de vedere farmaceutic" se referă la un agent transportor sau adjuvant care poate fi administrat la un pacient împreună cu Compusul 1 și care nu distruge activitatea farmacologică a acestuia și care este non-toxic atunci când este administrat în doze suficiente pentru a livra cantitatea terapeutică a compusului.

Agenți transportori, adjuvanți și agenți purtători acceptabili din punct de vedere farmaceutic, care pot fi utilizați în compozițiile farmaceutice asigurate aici includ, dar nu sunt limitate la, agenți de schimb ionic, alumină, stearat de aluminiu, lecitină, sisteme de livrare a medicamentului cu auto-emulsifiere (SEDDS) cum ar fi d- α -tocoferol polietilenglicol 1000 succinat, surfactanți utilizați în forme de dozare farmaceutice, cum ar fi Tween-uri sau alte matrici polimerice de livrare asemănătoare, proteine serice, cum ar fi albumină serică umană, substanțe de tampon, cum ar fi fosfați, glicină, acid sorbic, sorbat de potasiu, amestecuri parțiale de gliceride ale acizilor grași vegetali saturați, apă, săruri sau electroliți, cum ar fi sulfat de protamină, hidrogen fosfat disodic, hidrogen fosfat de potasiu, clorură de sodiu, săruri de zinc, siliciu coloidal, trisilicat de magneziu, polivinil pirolidonă, substanțe pe bază de celuloză, polietilen glicol, carboximetilceluloză de sodiu, poliacriilați, ceruri, polietilen-polioxipropilenă-polimeri bloc, polietilen glicol și lanolină. Ciclodextrine, cum ar fi α -, β -, și γ -ciclodextrină, sau derivați modificați pe cale chimică, cum ar fi hidroxialchilciclodextrine, care includ 2- and 3-hidroxiopropil- β -ciclodextrine, sau alți derivați solubili pot fi, de asemenea, utilizați în mod avantajos pentru a îmbunătăți livrarea compuşilor conform formulelor descrise aici.

Compozițiile farmaceutice asigurate aici pot fi administrate pe cale orală în orice formă de dozare acceptabilă pe cale orală incluzând, dar nefiind limitate la, capsule, tablete, emulsii și suspensii apoase, dispersii și soluții. În cazul tabletelor pentru utilizare orală, agenți transportori utilizați în mod obișnuit includ lactoză și amidon de porumb. Agenți de lubrifiere, cum ar fi stearat de magneziu, sunt, de asemenea, adăugați în mod tipic. Pentru administrare orală sub forma unei capsule, agenți de diluare utili includ lactoză și amidon uscat de porumb. Atunci când suspensii și/sau emulsii apoase sunt administrate pe cale orală, ingredientul activ poate fi suspendat sau dizolvat într-o fază uleioasă, este combinat cu agenți de emulsifiere și/sau de suspendare. Dacă se dorește, anumiți agenți de îndulcire și/sau aromatizare și/sau colorare pot fi adăugați.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat pe cale orală la subiect la o doză de aproximativ 10 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500 mg, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1200 mg, aproximativ 1200 mg până la aproximativ 2000 mg, sau aproximativ 2000 mg până la aproximativ 3000 mg, *de exemplu*, aproximativ 30 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 700 mg, aproximativ 1400 mg, aproximativ 2500 mg.

În anumite realizări, metoda cuprinde administrarea, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg, *de exemplu*, aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg, aproximativ 300 mg, de Compus 1.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat o dată sau de două ori, zilnic.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, de două ori zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 12 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat la subiect la aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 200 mg până la aproximativ 500

mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 500 mg până la aproximativ 1000 mg aproximativ la fiecare 12 ore, *de exemplu*, aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 360 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 700 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, o dată, zilnic, *de exemplu*, aproximativ la fiecare 24 ore. În anumite realizări, Compusul 1 este administrat, *de exemplu*, pe cale orală, la subiect la aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore, *de exemplu*, aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

Atunci când compozițiile asigurate aici cuprind o combinație de Compus 1 și unul sau mai mulți agenți terapeutici sau profilactici suplimentari, atât compusul, cât și agentul suplimentar ar trebui să fie prezenți la nivele de dozare de, între aproximativ 1 până la 100%, și mai de preferat, între aproximativ 5 până la 95% din dozarea administrată în mod normal într-un regim monoterapie. Agenții suplimentari pot fi administrați în mod separat, ca parte a unui regim de doză multiplă, din compușii asigurați aici. În mod alternativ, acei compuși pot fi parte a unei forme de dozare unică, amestecați împreună cu Compus 1 într-o singură compoziție.

Doze mai scăzute sau mai mari decât cele enumerate mai sus pot fi necesare. Regimurile specifice de dozare și tratament pentru orice pacient particular vor depinde de o varietate de factori, incluzând activitatea compusului specific folosit, vârsta, greutatea corporală, sănătatea generală de sănătate, sexul, dieta, timpul de administrare, rata de excreție, combinația de medicamente, severitatea și cursul bolii, afecțiunea sau simptomele, și judecata medicului curant.

După îmbunătățirea condiției pacientului, o doză de menținere dintr-un compus, compoziție sau combinație asigurată aici, poate fi administrată, dacă este necesar. Ulterior, dozarea sau frecvența administrării, sau ambele, pot fi reduse, ca o funcție a simptomelor, la un nivel la care afecțiunea îmbunătățită este păstrată atunci când simptomele au fost ameliorate la nivelul dorit. Pacienții, pot, cu toate acestea, necesita tratament intermitent sau pe o bază de termen lung după orice recurență a simptomelor bolii.

Selectarea și monitorizarea pacientului

Compusul N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă (Compus 1) poate activa PKR de tip sălbatic și/sau PKR-uri mutante. Anumite exemple ale mutațiilor care sunt activați de către compușii descriși aici includ G332S, G364D, T384M, G37E, R479H, R479K, R486W, R532W, R510Q, I90N, și R490W. În mod corespunzător, un pacient și/sau subiect pot fi selectați pentru tratament utilizând Compusul 1, mai întâi prin evaluarea pacientului și/sau a subiectului pentru a determina dacă subiectul poartă o mutație în PKR (de exemplu, una dintre mutațiile, așa cum au fost descrise aici), și dacă subiectul este determinat să poarte o mutație în PKR, astfel are nevoie de activare a activității mutantului PKR, atunci, administrarea în mod opțional la subiect a Compusului 1. Un subiect poate fi evaluat ca purtând o mutație în PKR folosind metodele cunoscute în domeniu. Subiectul poate fi, de asemenea, monitorizat, de exemplu, ulterior administrării Compusului 1. În realizări, subiectul poate fi monitorizat pentru evaluarea anumitor parametri PK/PD ai Compusului 1, cum ar fi nivelele de Compus 1, nivelele de 2,3-DPG sau nivelele de ATP.

EXAMPLE

Exemplul 1. Sinteza N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidei (Compus 1)

Sinteza Compusului 1 a fost realizată urmând procedura descrisă în Brevetul SUA Nr. 8 785 450.

Exemplul 2. N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidei (Compus 1) Activarea Piruvat kinazei In Vivo Îmbunătățește Glicoliza Globulelor Roșii la Șoareci

Deficiența de piruvat kinază (DPK) este o enzimopatie autozomal recesivă care este cea mai obișnuită cauză a anemiei hemolitice non-sferocitare ereditare (HNSHA). DPK este o boală rară caracterizată prin hemoliză cronică pe durata vieții cu co-morbidități severe. S-a presupus faptul că producția insuficientă de energie pentru a menține homeostazia membranară a globulelor roșii promovează hemoliza cronică. Tretamentul este în general paliativ, concentrându-se pe anemia rezultată și nu există medicamente aprobate care țintesc în mod direct piruvat kinaza mutată.

Compusul 1 este un activator alosteric al izoformei globulelor roșii de piruvat kinază (PKR) care a intrat recent în teste clinice de Fază I, la voluntari normali sănătoși. Compusul 1 mărește eficiența catalitică și îmbunătățește stabilitatea proteică a unui spectru de proteine mutante PKR exprimate în mod recombinant, care au fost asociate cu DPK. Globulele roșii DPK sunt caracterizate de schimbări în metabolism, asociate cu glicoliză defectivă, incluzând o construcție a intermediarului glicolitic din amonte 2,3-DPG și deficiența din produsul PKR adenosină trifosfat (ATP). Fluxul PKR, *de exemplu*, rata

fluxului de carbon prin reacția enzimei PKR, a fost examinat la pacient cu DPK sau în probe de sânge de la donator WT, prin incubarea sângelui integral cu un traser de izotop stabil, [U-¹³C₆]-glucoză. La diferite momente de timp, după adăugarea de [U-¹³C₆]-glucoză, metabolismul a fost stins și metabolii au fost extrași. Dimensiunile grupului de metaboliți și încorporarea markerului ¹³C în intermediarii glicolitici au

5 fost monitorizate prin LC/MS. Rata de încorporare a markerului a fost descoperită a fi în mod semnificativ mai scăzută în globulele roșii ale pacientului DPK, în concordanță cu activitatea glicolică scăzută. Tratamentul globulelor roșii DPK cu Compusul 1 *ex vivo* induce schimbări în metabolism, în concordanță cu activitatea glicolică crescută, incluzând nivele reduse de 2,3-DPG, nivele crescute de ATP, și nivele crescute ale activității enzimei PKR.

10 Efectul Compusului 1 asupra metabolismului globulelor roșii *in vivo* a fost evaluat la șoareci. Șoareci C57/BL6 au fost dozați prin gavaj oral, fie cu o singură doză, sau cu doze multiple (13 doze, BID) de Compus 1 timp de 7 zile. nivelele de doză testate au fost 1 mpk, 10 mpk, 50 mpk, și 150 mpk. După ultima doză, șoarecilor le-a fost prelevat sânge pentru a evalua expunerea la medicament și markerii farmacodinamici, incluzând 2,3-DPG și nivelele de ATP, și activitatea PKR. Compusul 1 a fost

15 demonstrat a fi un compus care s-a comportat bine, cu o creștere proporțională cu doza în expunere, atât în studiile cu o singură doză, cât și în cele cu doză multiplă. O singură doză de Compus 1 a avut ca rezultat o creștere dependentă de doză în nivelele de activitate PKR (Figura 1, stânga), concomitent cu reducerea în nivelele de 2,3-DPG (Figura 1, dreapta). nu au existat schimbări semnificative în nivelele de ATP după o singură administrare de Compus 1 (Figura 1, centru). În studiile cu doză multiplă, schimbări

20 asemănătoare în activitatea PKR (Figura 2, stânga) și nivelele de 2,3-DPG au fost observate (Figura 2, dreapta). Spre deosebire de studiul cu doză unică, nivelele de ATP în studiul cu doză multiplă au fost observate a fi crescute în mod robust, într-un mod dependent de doză (Figura 2, centru). Corelațiile farmacocinetice/farmacodinamice rezultate dintre expunerea Compusului 1 în plasmă și fiecare marker farmacodinamic (activitatea PKR, precum și nivelele de ATP și de 2,3-DPG) atât pentru studiile cu doză

25 unică, cât și pentru cele cu doză multiplă subliniază suplimentar aceste observații (Figurile 1 și 2, panourile inferioare).

Efectul Compusului 1 asupra fluxului PKR flux a fost evaluat în sânge integral de la șoarecii tratați cu Compus 1. Șoareci C57BL/6 au fost dozați prin gavaj oral cu Compus 1 la 100 mpk BID pentru 13 doze totale. Sânge integral a fost incubat cu [U-¹³C₆]-glucoză la 37°C și dimensiunile grupului de

30 metaboliți și rata de încorporare a markerului ¹³C în intermediarii glicolitici au fost evaluate. Datele au fost analizate ulterior folosind un model matematic de flux cinetic pentru a cuantifica schimbarea generală în fluxul de carbon prin reacția PKR. Folosind acest model, a fost determinat faptul că tratamentul cu Compus 1 a crescut în mod semnificativ fluxul glicolitic prin reacția PKR, așa cum a fost descris în Figura 3.

35 În mod colectiv, aceste date demonstrează faptul că Compusul 1, nu numai că se leagă potențial la, dar și activează enzima PKR *in vivo*, dar această activare enzimatică induce o activitate crescută a căii glicolitice în globulele roșii, fapt care are ca rezultat schimbări profunde în metabolismul celular, așa cum s-a reflectat în nivelele crescute de ATP și nivelele reduse de 2,3-DPG, în mod important. Din moment ce Compusul 1 prezintă potență asemănătoare împotriva enzimei PKR WT, precum împotriva enzimelor

40 PKR mutante testate *in vitro*, aceste date susțin ipoteza potrivit căreia tratamentul cu Compus 1 poate îmbunătăți în mod asemănător activitatea glicolică la pacienții DPK, și astfel, poate corecta patologia de la baza DPK.

Exemplul 3. Studii Clinice ale Siguranței, Tolerabilității, Parametrilor Farmacocinetici (PK) și Farmacodinamici (PD) ale unui activator de Piruvat kinază-R la Subiecți Sănătoși

45 Compusul 1 este un nou activator alosteric de moleculă mică, primul-din-clasă, al PK-R care țintește în mod direct defectul metabolic de la baza DPK. Studiile pre-clinice au demonstrat faptul că Compusul 1 mărește activitatea, atât a enzimelor PK-R de tip sălbatic, cât și a celor diferite mutate. Obiectivul cheie ale acestor studii cu doză în creștere, unică și multiplă, controlate placebo, dublu-orb, randomizate, de Fază I, primul-la-oameni (SAD și MAD) sunt pentru a identifica o doză sigură și activă

50 din punct de vedere farmacodinamic și orarul pentru Compusul 1, care urmează să fie utilizate în studii clinice ulterioare la subiecți cu deficiență de piruvat kinază.

Metode

În studiul cu doză unică în creștere (SAD), bărbați și femei (fără potențial de a avea copii) sănătoase cu vârsta de 18-60 ani, au fost randomizați pentru a primi o doză orală unică de Compus 1 sau placebo (P). Criteriile cheie de excludere au inclus deficiență de 6-fosfat dehidrogenază, donare de sânge, pierdere de sânge mai mare de 500 mL, sau transfuzie de sânge sau plasmă în decurs de trei luni de la scanare screening. Șase cohorte au fost evaluate, fiecare conținând 8 subiecți (6 subiecți care primesc

55 Compusul 1, 2 subiecți care primesc placebo (P)), începând cu 30 mg în cohorta 1, urmat de 120 mg, 360 mg, 700 mg, 1400 mg și, respectiv, 2500 mg în cohortele 2-6.

În studiul cu doză multiplă în creștere (MAD), 2 cohorte (120 mg BID și 360 mg BID) de 8 subiecți fiecare (6 subiecți care primesc Compus 1, 2 subiecți care primesc placebo (P)) au finalizat 14 zile de dozare și 2 săptămâni de urmărire. În ambele studii, evaluările de siguranță au inclus evenimentele adverse (EA-uri), semnele vitale, parametrii ECG și clinici de laborator. Probele de sânge în serie au fost prelevate pentru evaluarea parametrilor PK și PD (2,3-DPG și ATP) pre-doză și la intervale regulate apoi la doze multiple, în ambele studii SAD și MAD. În mod specific, concentrațiile plasmatice de Compus 1 și concentrațiile sanguine ale 2,3-DPG și ATP au fost analizate prin metode în tandem de spectrometrie de masă.

Studiul MAD a fost finalizat prin evaluarea siguranței, tolerabilității și parametrilor farmacocinetici/farmacodinamici (PK/PD) ai Compusului 1 la voluntari sănătoși și pentru a identifica orarul de dozare pentru teste viitoare la pacienți cu deficiență PK. Un studiu MAD, controlat placebo, dublu orb, randomizat, cu unicentric, de Fază I (ClinicalTrials.gov NCT02149966) a fost efectuat la bărbați și femei sănătoase (18-60 ani), în 6 cohorte secvențiale (fiecare cohortă: n=6 Compus 1, n=2 placebo). Subiecții au primit de două ori, zilnic, doze orale de Compus 1 la 15 mg până la 700 mg (q12h), sau 120 mg o dată, zilnic (q24hr) timp de 14 zile, cu urmărire până în Ziua 29. Evenimentele adverse (EAE-urile), parametrii de laborator, ECG-urile și semnele vitale au fost monitorizate. Concentrațiile plasmatice ale Compusului 1 și nivelele de sânge integral ale 2,3-DPG și ATP au fost măsurate în probe de sânge în serie pentru evaluarea PK/PD. Nivelele de hormoni au fost monitorizate datorită datelor pre-clinice care sugerează modulare potențială.

Rezultate

Studiul cu doză unică în creștere (SAD)

În SAD, toți cei 48 de subiecți înrolați au finalizat studiul, care a inclus 47 bărbați și 1 femeie. Acești subiecți au reprezentat un grup divers, rasial și etnic (15 Albi, 31 Negri, 1 Asiatic, 1 Nativ Hawaian sau din altă insulă din Pacific, în care 7 subiecți se identifică ca fiind Hispanici sau Latino) și vârsta medie a fost de aproximativ 40 ani. Analiza datelor de siguranță a indicat faptul că 19/48 (39%) subiecți care primesc Compus 1 sau placebo (P) în condiții de post și/sau hrană, au experimentat cel puțin 1 eveniment advers emergent după tratament (AE) în timpul studiului (Figura 4). Toate EA-urile au fost ușoare sau moderate (Gradu 1 și 2) în severitate, și cele mai obișnuite au fost greața (n=5; 10%) și durerea de cap (n=8; 17%). În cele 2 cohorte care au finalizat MAD (13 bărbați; 3 femei, vârsta medie 44 ani) 8/16 (50%) dintre subiecți care primesc Compus 1 sau placebo au experimentat 11 EA-uri. Toate EA-urile au fost ușoare (n=10) sau moderate (n=1) și cele mai frecvente au fost vânătăile prin puncție venoasă. Nu au existat EA-uri serioase, întreruperi din cauza EA-urilor sau toxicități de limitare a dozei în niciun studiu. Doza maximă tolerată nu a fost atinsă în SAD și escaladarea dozei continuă în MAD. În cohortele 1-6 din SAD, expunerea la doza unică de Compus 1 a crescut modul proporțional cu doza (C_{max} plasmatică medie, $AUC_{0-12ore}$ și $AUC_{0-72ore}$) (Figura 5). Absorbția a fost rapidă, cu un T_{max} mediu de 0,75 – 4,0 ore. Valorile parametrului farmacocinetic al Compusului 1 pentru fiecare cohortă de SAD sunt rezumate în Figura 6. Așa cum era prevăzut, Compusul 1 a avut o distribuție sau o fază de eliminare rapidă în timpul primelor 12 ore după dozare, cu un timp de înjumătățire aparent de aproximativ 2-4 ore (Figura 5). Timpul de înjumătățire terminal aparent mediu ($t_{1/2}$) a variat de la 17,5 – 20,5 ore sau 50 - 80 ore, atunci când concentrațiile au fost măsurate timp de 72 sau, respectiv, 120 ore (Figura 6). În plus, o scădere dependentă de doză în concentrația markerului farmacodinamic 2,3-DPG a fost observată la 24 ore după expunere la Compus 1 (cu o scădere de 48%), care a revenit la nivelele de placebo după 72 ore (Figura 7). Rezultatele preliminare au indicat faptul că alimentele au avut un efect minim asupra expunerii la Compus 1.

Studiul cu doză multiplă în creștere (MAD)

În studiul MAD, rezultatele farmacocinetice pentru cohortele 1 și 2 în Ziua 1 au fost în concordanță cu cele ale studiului SAD. Cu toate acestea, valorile parametrului farmacocinetic ale Compusului 1 au fost mai scăzute în Ziua 14 în comparație cu cele din Ziua 1, sugerând faptul că dozele multiple de Compus 1 pot avea ca rezultat o creștere în rata metabolismului medicamentului. Scăderea în expunere în Ziua 14 este în concordanță cu datele pre-clinice, sugerând faptul că Compusul 1 este un agent de inducere moderat al citocromului P450 3A4 (CYP3A4), care calea principală a metabolismului oxidativ al Compusului 1. În mod asemănător, scăderile în nivelele de 2,3-DPG au fost, de asemenea, observate după administrarea dozei finale în cohortele 1 și 2 ale studiului MAD. Concentrațiile de 2,3-DPG în sânge au revenit la nivelele de placebo între 48 și 72 ore după ultima doză (Figura 8). Au existat creșteri minime în nivelele sanguine de ATP după o singură doză de Compus 1 în studiul SAD. Spre deosebire, au existat creșteri substanțiale în nivelele de ATP în sânge în Zilele 8 - 14 ale subiecților din cohortele 1 și 2 în studiul MAD, și nivelele au rămas ridicate timp de 72 ore după ultima doză (Figura 9).

În cele 6 cohorte secvențiale, 48 subiecți (42 bărbați și 6 femei) cu o vârstă medie de 41,5 (25-60) ani au fost înrolați. În final, datele de siguranță deschise au prezentat ≥ 1 EA în 16 din 36 (44%)

subiecți tratați cu Compus 1 și în 4 din cei 12 (33%) subiecți cu placebo (P). Tratamentul asociat ≥ 1 EA-uri a fost notat în 11 din cei 36 (31%) de subiecți tratați cu Compus 1 și în 3 din cei 12 (25%) subiecți cu placebo. Toate EA-urile asociate cu tratamentul au fost ușoare sau moderate (doar 1 eveniment de gradul 3) în severitate și adesea, reversibile, în ciuda dozării continuate. Cele mai frecvente EA-uri asociate cu Compusul 1 au fost greață și durere de cap, 5 din cei 36 (14%) subiecți pentru fiecare (P: 0/12 (0%) greață; durere de cap 1 din cei 12 (8%)). EA-uri gastrointestinale au avut loc la subiecți tratați cu Compus 1, doar la cea mai înaltă doză, 700 mg q12h. Un EA de gradul 3 a avut loc (Compus 1 (700 mg q12h), valori ridicate ale funcției hepatice (LFT-uri) care au revenit după întreruperea tratamentului). Au existat patru întreruperi ale Compusului 1: din cauza EA-urilor la 2 subiecți (erupția medicamentoasă de Grad 2, 60 mg q12h; LFT-uri ridicate de Grad 3, 700 mg q12h), și 2 subiecți și-au retras consimțământul (ambii au prezentat greață de Grad 1/2 și vomă de Grad 1/1, ambii la 700 mg q12h).

Cea mai înaltă doză tolerată a fost 360 mg q12h (dozele între 360 și 700 nu au fost explorate). Expunerea în plasmă a Compusului 1 a fost dependentă de doză cu variabilitate scăzută până la moderată în parametrii PK ai Compusului 1 și metabolitului său. A exista o scădere dependentă de doză în 2,3-DPG și o creștere în ATP cu efecte de formare a unui platou la 360 mg q12h. Scăderea în 2,3-DPG a fost robustă după Doza 1, în timp ce creșterea în ATP a avut loc în mod gradual și a fost puternic evidentă în Ziua 8. Schimbarea de la nivelul de bază în 2,3-DPG și ATP s-a aflat în platou la ~ 300 $\mu\text{g/ml}$ ($\sim 50\%$ scădere) și, respectiv, ~ 175 $\mu\text{g/ml}$ ($\sim 50\%$ creștere) (Figurile 10A și, respectiv, 10B). După doza finală din Ziua 14, 2,3-DPG a revenit la nivele asemănătoare cu nivelul de bază, între 72 și 120 ore (Figura 10A). Nivelele de ATP au rămas ridicate în decurs de 120 ore post-doză (Figura 10B).

Compusul 1 a prezentat un profil de siguranță favorabil și a fost bine tolerat la subiecții sănătoși, pe baza analizei preliminare a subiecților care primesc o singură doză, de până la 2500 mg sau doze BID multiple, de până la 360 mg timp de până la 14 zile. Compusul 1 a demonstrat, de asemenea, un profil PK de dorit, cu absorbție rapidă, variabilitate PK scăzută și expunere proporțională cu doza cu efect PD, așa cum a fost demonstrat asupra 2,3-DPG și ATP. Nu au existat EA-uri serioase, întreruperi din cauza EA-urilor sau toxicități de limitare a dozei în studiul SAD, și, până în prezent, niciun EA serios în studiul MAD.

Modificările dependente de doză în nivelele sanguine de ATP și 2,3-DPG observate în aceste studii sunt în concordanță cu activitatea crescută a căii glicolitice, care reprezintă efectul farmacodinamic prevăzut al Compusului 1. Aceste date sunt în concordanță cu studiile pre-clinice la șoareci, descrise în Exemplul 2. Din moment ce Compusul 1 prezintă activitate biochimică aproape echipotentă împotriva enzimelor PKR de tip sălbatic și mutante, datele susțin ipoteza potrivit căreia Compusul 1 poate fi capabil să îmbunătățească activitatea glicolică în globulele roșii ale pacienților cu DPK, pentru a soluționa cauza de bază a bolilor.

Așa cum a fost prezentat în Figura 10A a existat o scădere în 2,3-DPG în sânge cu Compusul 1. Nivelele sanguine medii de 2,3-DPG au scăzut în general de la nivelul de bază în decursul perioadei de 12 ore post-doză, după prima doză de Compus 1 în nivelele de doză studiate. Rata de scădere în nivelele de 2,3-DPG a fost mai lentă la doze mai scăzute. O parte mare a scăderii a avut loc după prima doză și scăderea și-a atins gradul său maxim în decurs de 7 zile de dozare. Scăderile asociate cu doza în nivelele de 2,3-DPG au fost observate cu doze în creștere de Compus 1 la doze scăzute de 15 și 60 mg de Compus 1 q12h și au atins un platou la nivelele de doză de 120 până la 700 mg q12h, cu scăderi suplimentare minime cu doze mai mari. Scăderea maximă în nivelele de 2,3-DPG a fost de aproximativ 300 $\mu\text{g/mL}$, o scădere de aproximativ 50%. Concentrația 2,3-DPG a revenit la nivelul de bază în decurs de 72 ore după doza finală de Compus 1.

Așa cum a fost prezentat în Figura 10B, a existat o creștere în ATP în sânge cu Compusul 1. Nivelele de ATP au crescut în timpul administrării de doze multiple de Compus 1. Orice efect al Compusului 1 asupra nivelurilor de ATP în timpul celor 12 ore care urmează primei doze a fost minimal. Creșterea în nivelele de ATP și-a atins gradul maxim în decurs de 10 zile de dozare. Creșterile în nivelele de ATP au fost observate cu doze în creștere de AG-348, la doze scăzute de 15 și 60 mg de AG-348 q12h și au atins un platou la nivelele de doză de 120 până la 700 mg, cu creșteri suplimentare minime cu doze mai mari. Creșterea maximă în nivelele de ATP a fost de aproximativ 175 $\mu\text{g/mL}$, o creștere de aproximativ 50%. Concentrația de ATP a rămas crescută timp de 120 ore după doza finală de Compus 1.

Exemplul 4. Studii Clinice ale Siguranței, Eficacității, parametrilor Farmacocinetici (PK) și Farmacodinamici (PD) ai unui Activator al Piruvat Kinazei-R (PKR) la Subiecți cu Deficiență de piruvat kinază

Acest Exemplu descrie un studiu de doză variată, randomizat, multicentru, cu două brațe, deschis, de Fază 2, al Compusului 1 la pacienți adulți, cu deficiență de piruvat kinază (deficiență de PK). Acesta este primul studiu care a efectuat pe pacienți cu deficiență de PK. Obiectivul cheie al acestui

studiu este de a evalua siguranța și tolerabilitatea de până la 24 săptămâni de administrare de Compus 1 la pacienți cu deficiență de PK.

Metode

În acest studiu cu doză variată, randomizat, multicentru, cu două brațe, deschis, de Fază 2, pacienți adulți (bărbați și femei) cu deficiență de piruvat kinază primesc doze multiple de Compus 1 timp de până la 24 săptămâni. Deficiența de piruvat kinază la pacienți este confirmată de analiza enzimatică a piruvat kinazei în globulele roșii (RBC-uri). În săptămâna 25, pacienții care tolerează în siguranță Compusul 1 și care demonstrează activitatea clinică a Compusului 1 pot fi eligibili pentru înrolare într-un studiu separat de extindere a siguranței pentru tratament continuat. Pacienții care termină tratamentul la finalul celor 24 săptămâni sau mai devreme, vor urma o evaluare de urmărire de 4 săptămâni după ultima doză a medicamentului de test. Pacienții cu toxicitate suspectată a fi asociată cu medicamentul de studiu vor continua urmărirea până când evenimentul advers (EA) se rezolvă, este declarat cronic, sau până când pacientul este pierdut pentru urmărire.

Selecția pacientului

Pacienții sunt scanați anterior randomizării și Zilei 1 a perioadei de tratament pentru a îndeplini anumite criterii. Pacienții incluși în studiu sunt adulți (*de exemplu*, în vârstă de 18 ani sau mai în vârstă) care prezintă un istoric medical/diagnostic de deficiență de piruvat kinază și care sunt anemici, dar nu dependenți de transfuzie.

Randomizarea și Dozarea

Inițial, până la 25 de pacienți sunt randomizați într-o bază deschisă, 1:1 pentru fiecare dintre cele două brațe, *de exemplu*, 25 pacienții per braț. În Brațul 1, sunt administrate două doze de Compus 1, de două ori-zilnic (BID), 300 mg de Compus 1 administrate pe cale orală la fiecare 12 ore (q12h) (BID), *de exemplu*, cu un minim de 10 ore între doze. În Brațul 2, 50 mg de Compus 1 sunt administrate pe cale orală q12h (BID). (Vezi Figura 11) Începând cu Ziua 1, dozarea este continuă (*de exemplu*, nu există perioade de pauză). Compusul 1 este asigurat ca o capsulă de Compus 1, de 25 mg sau 100 mg (echivalent cu bază liberă). Numărul de capsule per doză va fi varia în funcție de grupul de doză atribuit. Pacienții vor primi doze orale multiple (PO) de Compus 1, pe o perioadă de tratament de 24 de săptămâni.

Evaluările Pacientului

Siguranța va fi monitorizată pe o bază continuă, *de exemplu*, la intervale regulate, sau *ad hoc*, după cum este necesar. De exemplu, evenimentele adverse (EA-urile), semnele vitale (VS), laboratorul clinic (hematologie, chimie clinică, coagulare și analiza urinei) și electrocardiografe (ECG-uri) asupra pacienților înrolați sunt monitorizate. În plus, datele PK/PD și indicatorii disponibili ai activității clinice (*de exemplu*, schimbări de la nivelul de bază în hemoglobină (Hb)) sunt evaluați.

Evaluările Farmacocinetice și Farmacodinamice

Evaluările farmacocinetice includ prelevarea de probe sanguine în serie pentru determinarea profilelor concentrație-timp ale Compusului 1 și sunt efectuate, *de exemplu*, după prima doză și doza de dimineață din Ziua 15. De exemplu, nivele suplimentare scăzute de Compus 1 sunt obținute. Compusul 1 este analizat utilizând o analiză pentru a determina concentrațiile în plasmă. Parametrii farmacocinetici în Ziua 1 și în Ziua 15 sunt calculați folosind metode non-compartimentale pe baza concentrațiilor de Compus 1 observate în plasmă.

Evaluările farmacodinamice includ prelevarea de probe sanguine în serie pentru determinarea nivelurilor de ATP și 2,3-DPG. Prelevarea de probe sanguine în serie pentru determinarea nivelurilor de ATP și 2,3-DPG este efectuată, *de exemplu*, după prima doză și doza de dimineață din Ziua 15, și nivele adiționale scăzute de ATP și 2,3-DPG vor fi obținute. ATP și 2,3-DPG sunt analizate utilizând analize pentru a determina concentrațiile în sângele integral. Parametrii farmacodinamici în Ziua 1 și în Ziua 15 sunt calculați pe baza concentrațiilor de ATP and 2,3-DPG observate în sângele integral.

În anumite cazuri, evaluările includ determinarea activității PKR, a proteinei PKR și analizele fluxului glicolitic. Probele sanguine sunt evaluate pentru activitatea PKR în GR-uri și evaluarea fluxului glicolitic în sângele integral este efectuată prin markare *ex-vivo* cu ¹³C-glucoză. Sângele este, de asemenea, evaluat pentru nivelele totale de proteină PKR. Nivelele de metaboliți suplimentari sunt, de asemenea, evaluate în probele sanguine, pentru a elucida suplimentar mecanismul și efectele activării PKR de către Compusul 1. Markerii PD exemplificativi sunt prezentați în Figura 12. Enzima PKR catalizează reacția PEP-la-piruvat, cu formarea concomitentă a ATP. Legarea Compusului 1 la tetramerul PKR poate fi evaluată printr-o analiză biochimică *ex vivo* a lizatelor celulare din pacienții tratați cu Compusul 1. Nivelele de proteină PKR în sângele integral sunt evaluate prin Western blotare sau ELISA cantitativă (sau altă analiză asemănătoare).

Analiza fluxului de PKR măsoară schimbarea în fluxul carbon din glucoză prin reacția PKR față de piruvat, după tratament cu Compusul 1. Acest fapt este diferit de angajamentul țintă măsurat prin analiza activității PKR, deoarece acesta este efectuat în celule intacte și astfel, o măsurătoare mai directă

și funcțională a activității căii. Analiza fluxului PKR este realizată prin incubarea sângelui pacientului proaspăt extras la 37 grade C cu glucoză marcată cu $^{13}\text{C}_6$. Alicote din reacția de incubare sunt prelevate în timp și înghețate rapid. Analiza ulterioară prin spectrometrie de masă relevă date ale incorporării markerului în intermediarii glicolitici, incluzând DHAP, 2,3-DPG, 3-PG, și PEP. Datele sunt potrivite modelării matematice pentru a cuantifica fluxul de carbon prin reacția PKR. O creștere în fluxul de carbon prin reacția PKR indică eficacitatea Compusului 1. Angajamentul țintă al Compusului 1 și stimularea activității căii glicolitice au fost prezentate în modele preclinice și studiile clinice pe voluntari sănătoși, pentru a avea ca rezultat acumularea de ATP și depletizarea metabolitului 2,3-DPG din aval. Prin urmare, o creștere în nivelele de ATP și/sau o scădere în nivelele de 2,3-DPG indică eficacitatea Compusului 1. Nivelele acestor metaboliți pot fi măsurate prin spectrometrie de masă din probe de sânge integral înghețate.

În anumite cazuri, analiza expunere-răspuns este realizată pentru a evalua relația expunerii Compusului 1 și efectele PD cu schimbările în indicatorii activității clinice (*de exemplu*, schimbări în nivelele de Hb).

Date/observații suplimentare sau alternative, altele decât cele enumerate mai sus pot fi revizuite. Pe baza revizuirilor, una sau mai multe dintre următoarele etape pot fi implementate:

- Se adaugă 1 braț cu doză nouă (Brațul 3) pentru a înrola până la 25 de pacienți la o doză care urmează a fi determinată, doza pentru Brațul 3 poate fi scăzută sau mai mare decât dozele pentru Brațul 1 și Brațul 2, dar nu va depăși 360 mg q12h; și regimul de doză poate fi mai puțin frecvent decât q12h.

Descriind astfel mai multe puncte de vedere ale mai multor realizări, urmează să fie apreciat faptul că diferite schimbări, modificări și îmbunătățiri vor avea loc cu ușurință pentru profesioniștii în domeniu. În mod corespunzător, descrierea de mai sus și desenele sunt doar ca Exemple.

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; December 2014 (2014-12), KUNG CHARLES ET AL: "AG-348 Activation of Pyruvate Kinase in Vivo Enhances Red Cell Glycolysis in Mice", XP002787328, Database accession no. PREV201500280942 & BLOOD, vol. 124, no. 21, December 2014 (2014-12), 56TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY; SAN FRANCISCO, CA, USA; DECEMBER 06 -09, 2014 ISSN: 0006-4971(print)
- WO-A1-2012/151451
- DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; December 2014 (2014-12), YANG HUA ET AL: "Phase I Single (SAD) and Multiple Ascending Dose (MAD) Studies of the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics (PK) and Pharmacodynamics (PD) of AG-348, a First-in-Class Allosteric Activator of Pyruvate Kinase-R, in Healthy Subjects", XP002787329, Database accession no. PREV201500280858 & BLOOD, vol. 124, no. 21, December 2014 (2014-12), 56TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY; SAN FRANCISCO, CA, USA; DECEMBER 06 -09, 2014 ISSN: 0006-4971(print)
- US-A1- 2014 155 408
- ANASTASIOU ET AL.: 'Pyruvate kinase M2 activators promote tetramer formation and suppress tumorigenesis' NAT CHEM BIOL. vol. 8, no. 10, 2012, pages 839 - 847, XP055333200
- US-A1- 2014 323 467
- DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; December 2014 (2014-12), YANG HUA ET AL: "Phase I Single (SAD) and Multiple Ascending Dose (MAD) Studies of the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics (PK) and Pharmacodynamics (PD) of AG-348, a First-in-Class Allosteric Activator of Pyruvate Kinase-R, in Healthy Subjects", Database accession no. PREV201500280858 & BLOOD, vol. 124, no. 21, December 2014 (2014-12), 56TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY; SAN FRANCISCO, CA, USA; DECEMBER 06 -09, 2014 ISSN: 0006-4971(print)
- DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; December 2014 (2014-12), KUNG CHARLES ET AL: "AG-348

Activation of Pyruvate Kinase in Vivo Enhances Red Cell Glycolysis in Mice", Database accession no. PREV201500280942 & BLOOD, vol. 124, no. 21, December 2014 (2014-12), 56TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY; SAN FRANCISCO, CA, USA; DECEMBER 06 -09, 2014 ISSN: 0006-4971(print)

(57) Revendicări:

1. Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea deficienței de piruvat kinază (DPK) la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg sau aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg de Compus 1 sau dintr-o sare sau hidrat ale acestuia, acceptabile din punct de vedere farmaceutic, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel DPK la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă.

2. Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea deficienței de piruvat kinază (DPK) la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg de Compus 1 sau dintr-o sare sau hidrat ale acestuia, acceptabile din punct de vedere farmaceutic, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel DPK la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă.

3. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu revendicarea 1 sau 2, în care metoda cuprinde activarea piruvat kinazei R sau

în care metoda cuprinde activarea unei izozime PKR mutante.

4. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 3, în care metoda cuprinde activarea unei izozime PKR mutante.

5. Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei hemolitice care cuprinde administrarea pe cale orală la un subiect care are nevoie de acesta, a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg sau aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg de Compus 1 sau dintr-o sare sau hidrat ale acestuia, acceptabile din punct de vedere farmaceutic, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel anemia hemolitică la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă.

6. Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei hemolitice la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg de Compus 1 sau dintr-o sare sau hidrat ale acestuia, acceptabile din punct de vedere farmaceutic, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel anemia hemolitică la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă.

7. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu revendicarea 5 sau 6, în care anemia hemolitică este anemie hemolitică non-sferocitară ereditară.

8. Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea talasemiei care cuprinde administrarea pe cale orală la un subiect care are nevoie de acesta, a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg sau aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg de Compus 1 sau dintr-o sare sau hidrat ale acestuia, acceptabile din punct de vedere farmaceutic, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel talasemia la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă.

9. Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea talasemiei la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg de Compus 1 sau dintr-o sare sau hidrat ale acestuia, acceptabile din punct de vedere farmaceutic, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel talasemia la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă.

10. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu revendicarea 7 sau 8, în care talasemia este beta-talasemie.

11. Compus 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei falciforme care cuprinde administrarea pe cale orală la un subiect care are nevoie de acesta, a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg sau aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg de Compus 1 sau dintr-o sare sau hidrat ale acestuia, acceptabile din punct de vedere farmaceutic, o dată sau de două ori, zilnic pentru a trata astfel anemia falciformă, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă.

12. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea anemiei falciforme la un subiect care are nevoie de acesta, care cuprinde administrarea pe cale orală la subiect a unei doze de aproximativ 50 mg până la aproximativ 300 mg de Compusul 1 sau dintr-o sare sau hidrat ale acestuia, acceptabile din punct de vedere farmaceutic, o dată sau de două ori, zilnic, pentru a trata astfel anemia falciformă la subiect, în care Compusul 1 este N-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazină-1-carbonil)fenil)chinolină-8-sulfonamidă.

13. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1, 5, 8, și 11, în care metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect o dată sau de două ori, zilnic, a unei doze de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg de Compusul 1.

14. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1, 5, 8, și 11, în care metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect o dată sau de două ori, zilnic, a unei doze de aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg de Compusul 1.

15. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea pe cale orală la subiect, o dată sau de două ori, zilnic, a unei doze de aproximativ 30 mg, sau aproximativ 120 mg de Compusul 1.

16. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea la subiect, o dată sau de două ori, zilnic, a unei doze de aproximativ 50 mg, aproximativ 75 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 125 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 175 mg, aproximativ 200 mg, aproximativ 225 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 275 mg sau aproximativ 300 mg de Compusul 1.

17. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea Compusului 1, o dată, zilnic.

18. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea Compusului 1, de două ori, zilnic.

19. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea Compusului 1 la o doză de aproximativ 50 mg, de două ori, zilnic.

20. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea Compusului 1 la o doză de aproximativ 100 mg, de două ori, zilnic.

21. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea la subiect a unei doze de Compusul 1 de aproximativ 15 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

22. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea la subiect a unei doze de Compusul 1 de aproximativ 10 mg până la aproximativ 60 mg aproximativ la fiecare 12 ore sau aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 12 ore.

23. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea la subiect a unei doze de Compusul 1 de aproximativ 60 mg până la aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

24. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 14, în care metoda cuprinde administrarea la subiect a unei doze de Compusul 1, de aproximativ 90 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 120 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 150 mg aproximativ la fiecare 24 ore, aproximativ 180 mg aproximativ la fiecare 24 ore, sau aproximativ 200 mg aproximativ la fiecare 24 ore.

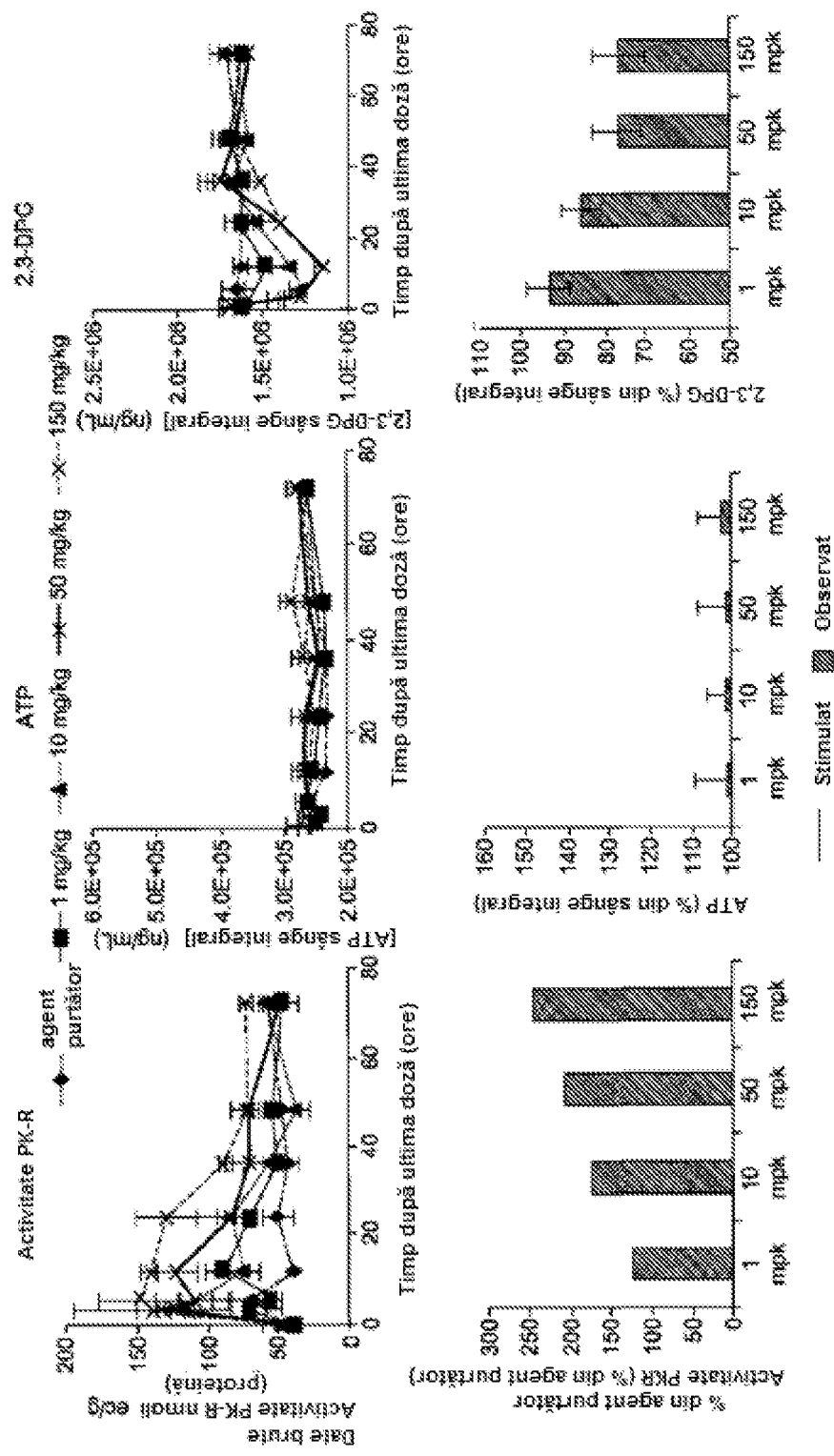


Figura 1

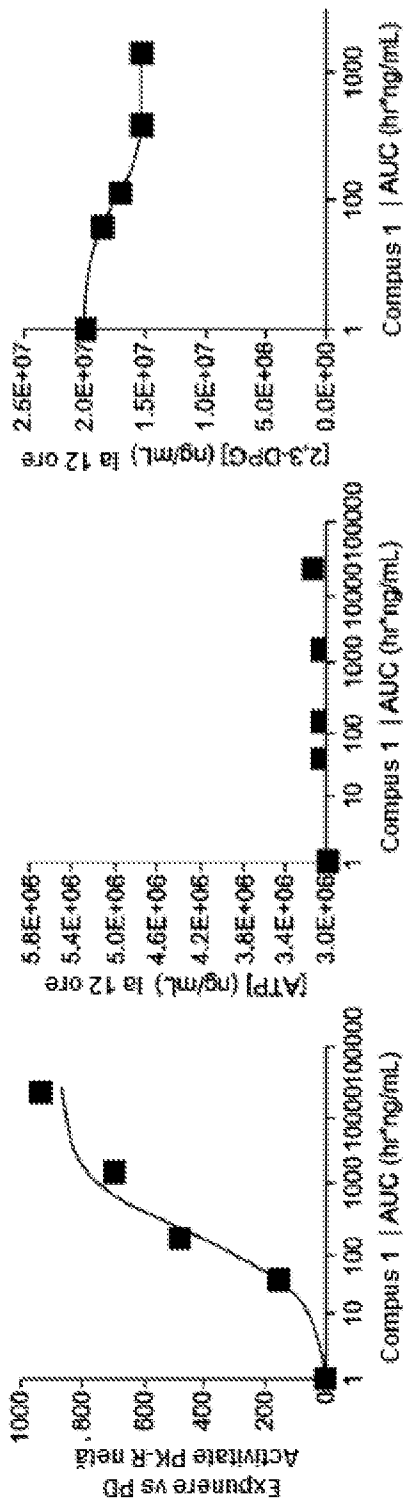


Figura 1
(continuată)

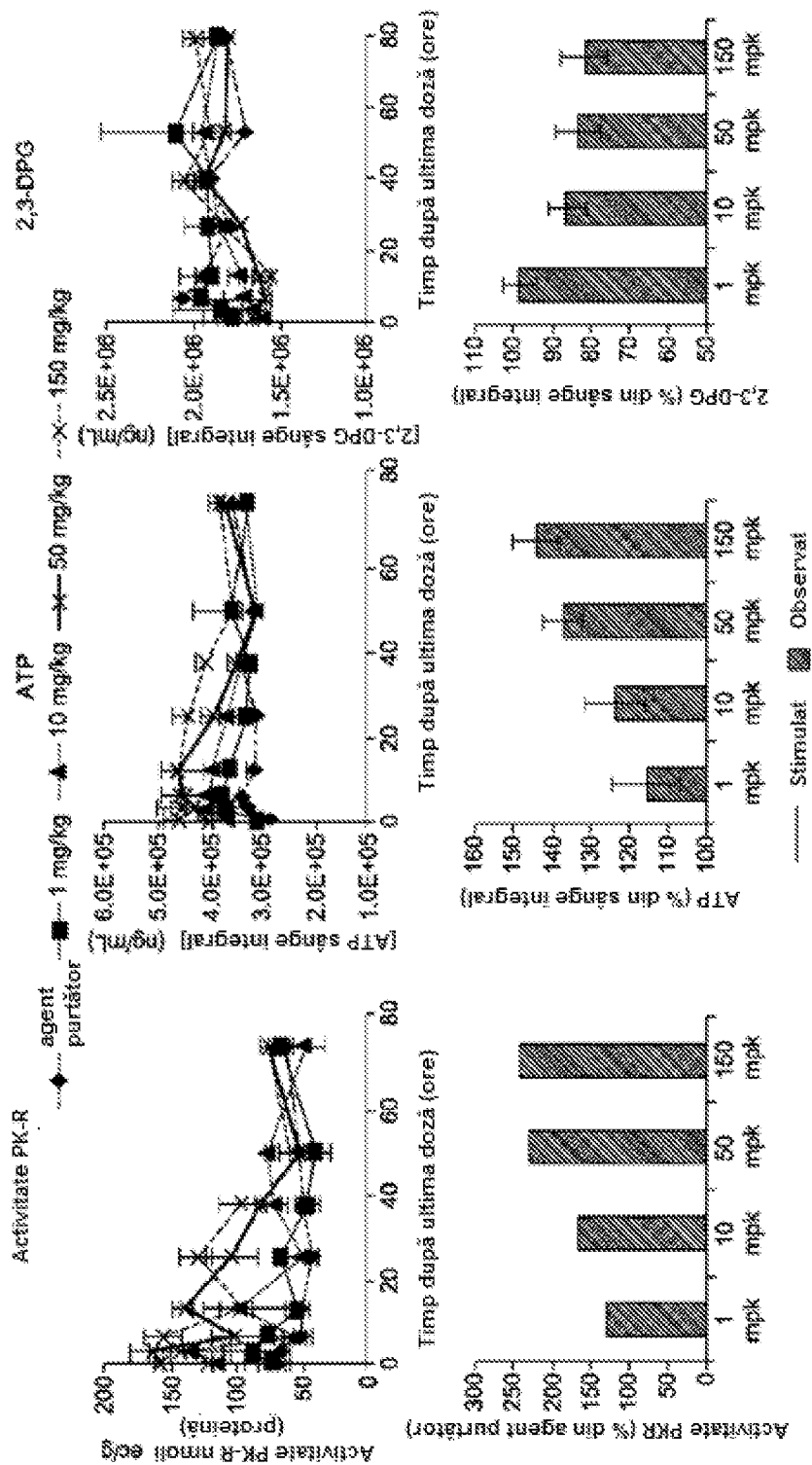


Figura 2

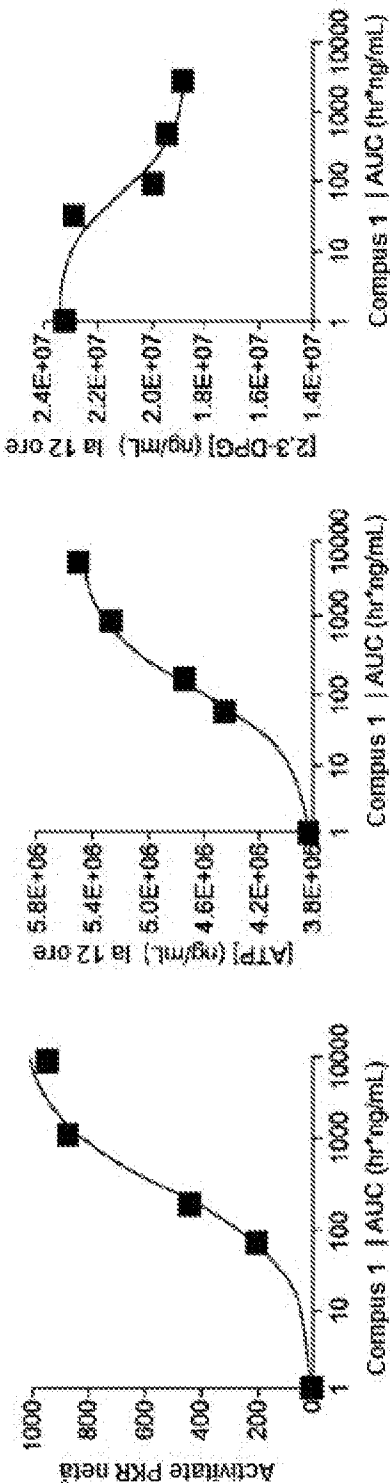


Figura 2
(continuată)

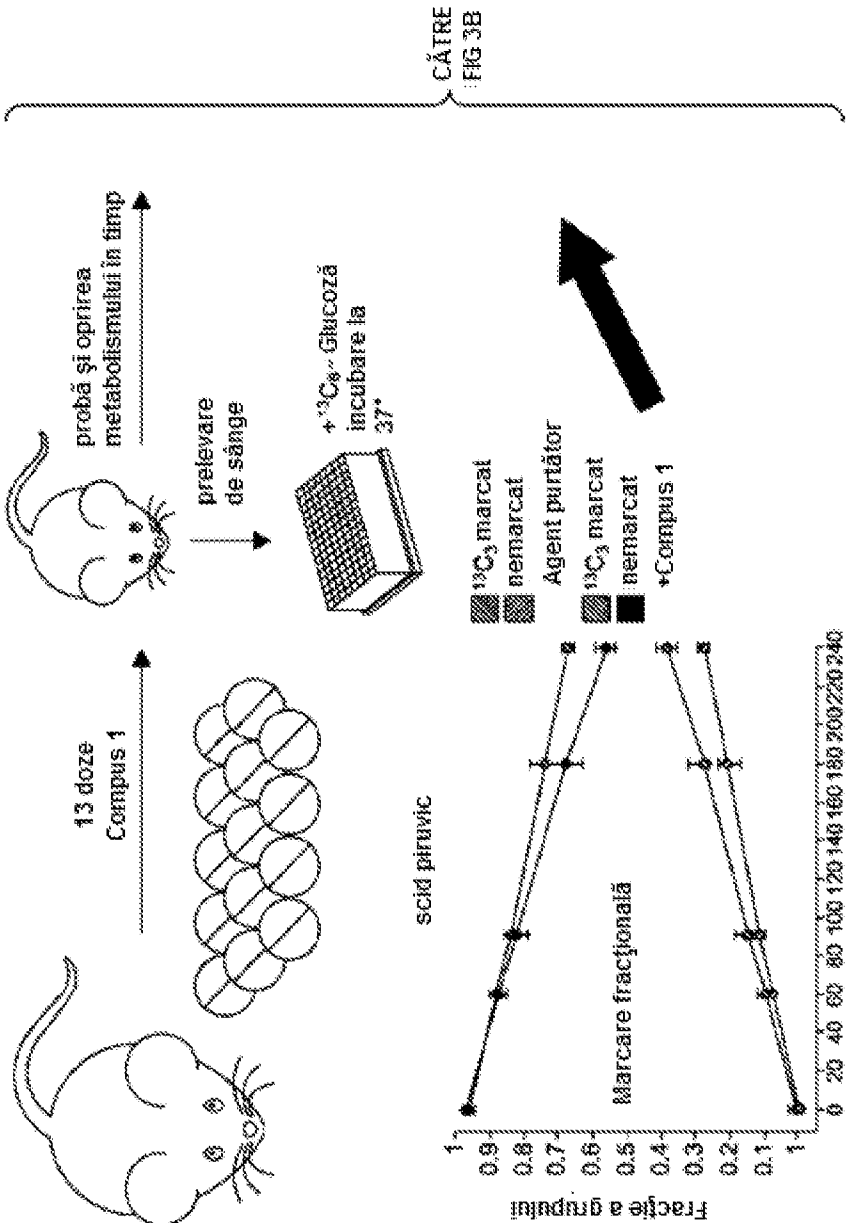


Figura 3A

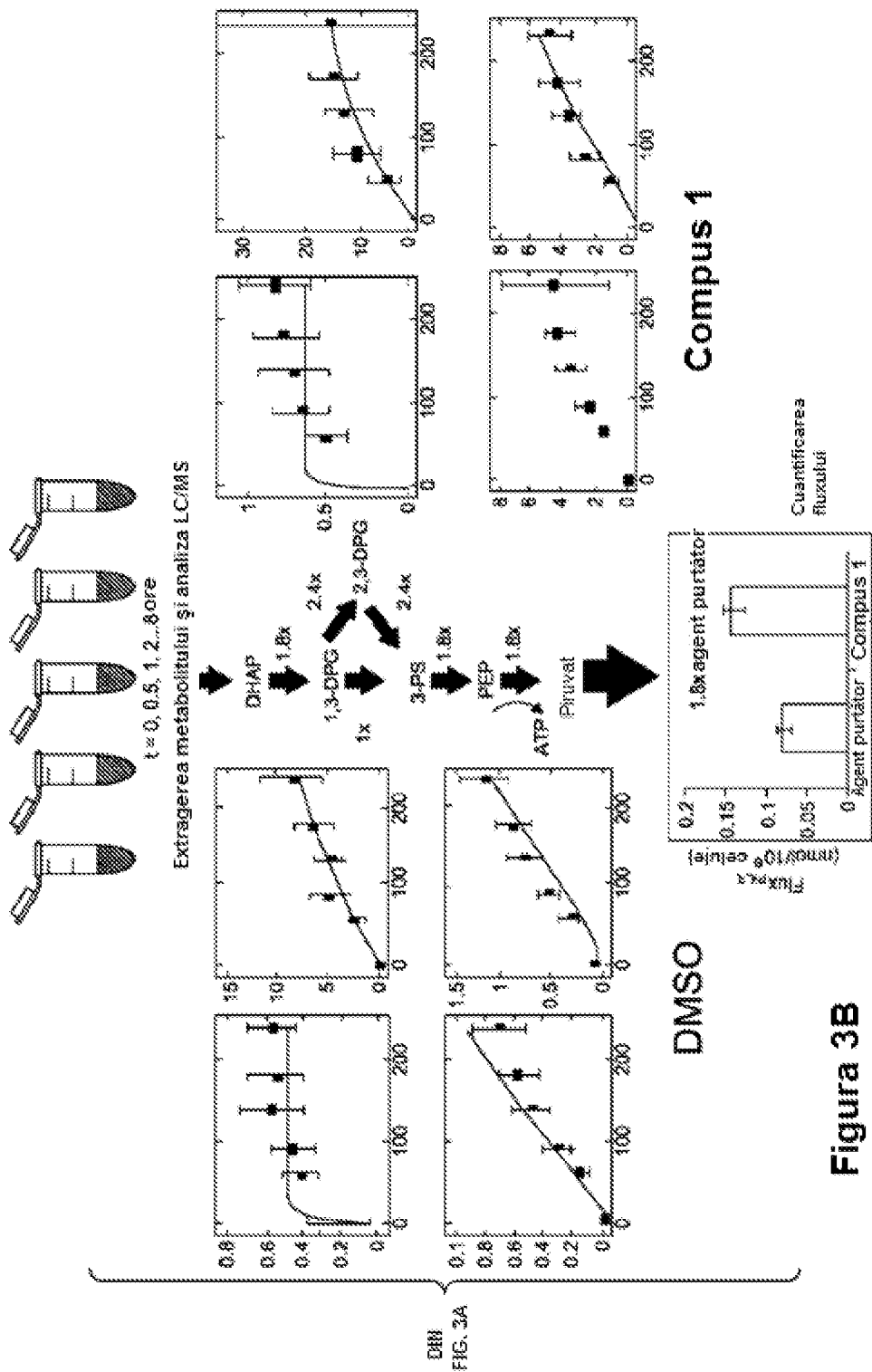
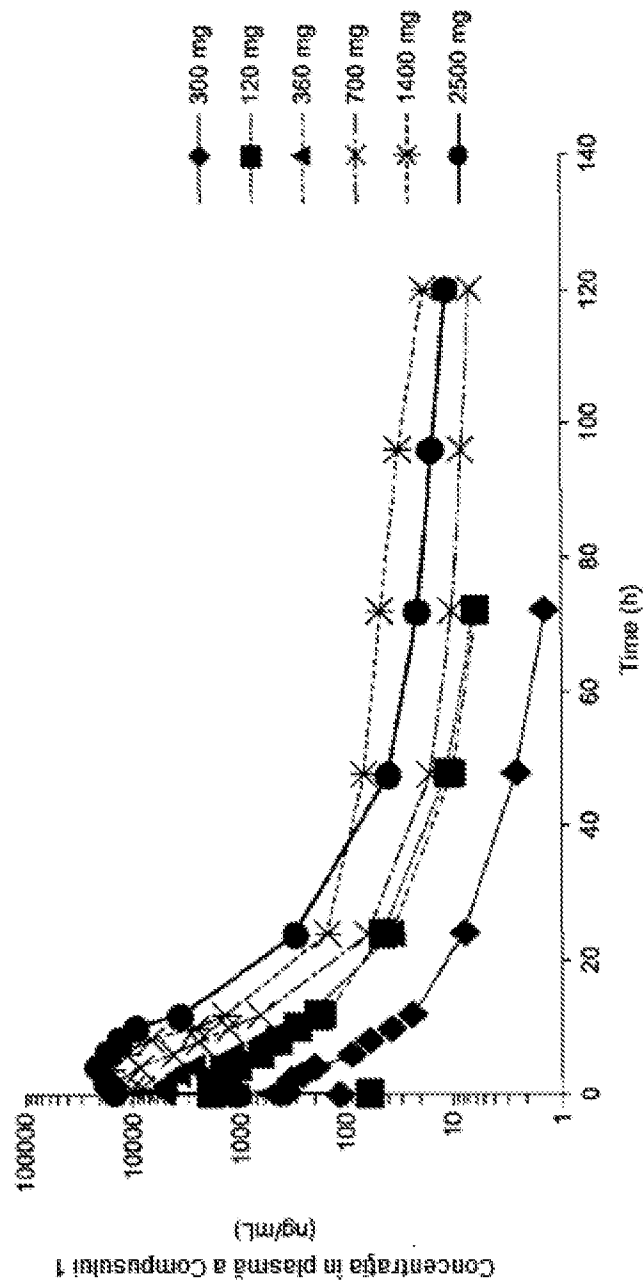


Figura 3B

Eveniment advers	Placebo (n=12)	Compus 1 (n=36)
Orice EA, n (%)	4 (33.3)	16 (44.4)
Grad ≥ 3	0	0
Orice SAE, n (%)	0	0
EA care duce la întrerupere, n (%)	0	0
Cele mai obișnuite EA-uri (≥2 subiecți în fiecare grup) , n (%)		
Durere de cap	3 (25.0)	5 (13.9)
Greață	0	5 (13.9)
Vomă	0	2 (5.6)
Infecție a tractului respirator superior	0	2 (5.6)
EA asociat cu tratamentul*, n (%)	2 (16.7)	11 (30.6)
Cele mai frecvente EA-uri asociate cu tratamentul* (≥2 subiecți în fiecare grup) , n (%)		
Durere de cap	3 (25.0)	4 (11.1) 1 la 30 mg, 2 la 1400 mg, 1 la 2500 mg
Greață	0	5 (13.9) 1 la 1400 mg, 4 la 2500 mg
Vomă	0	2 (5.6) 2 la 2500 mg

* judecat posibil sau probabil asociat cu tratamentul
EA-urile au fost gradate folosind Terminologia Criteriilor pentru Evenimente Adverse a Institutului Național pentru Cancer, Versiunea 4.03

Figura 4



Profile Concentrație medie-Timp ale Compusului 1
în plasmă umană după o singură doză orală

Figura 5

Doză (mg)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (oră)	AUC ₀₋₁₂ (oră +ng/mL)	AUC _{0-∞} (oră +ng/mL)	t _{1/2} (oră)	ClF (L/oră)	VzF (L)
30*	461 (19.3)	0.77 (0.48, 2.00)	1679 (32.0)	2079 (30.8)	19.3 (18.9)	14.4 (30.8)	396 (30.1)
120*	2300 (43.9)	1.01 (0.50, 3.00)	8961 (32.0)	11176 (32.9)	17.8 (18.4)	10.7 (32.9)	271 (46.5)
360*	6637 (26.8)	0.77 (0.50, 2.00)	23501 (12.5)	25944 (10.9)	20.4 (17.6)	13.9 (10.9)	402 (23.8)
700*	12686 (17.7)	1.49 (0.58, 3.03)	61782 (25.9)	68066 (27.9)	79.3 (26.3)	10.3 (27.9)	1148 (29.4)
1400*	17688 (28.1)	2.53 (1.72, 4.03)	113348 (30.0)	131493 (26.7)	50.3 (29.5)	10.6 (26.7)	743 (36.3)
2500*	25477 (24.0)	4.07 (0.48, 6.02)	164122 (30.7)	197795 (36.1)	73.9 (68.5)	12.6 (36.1)	1163 (72.0)

Media geometrică (media geometrică CV%) cu excepția T_{max} care este mediu (minim, maxim) și t_{1/2} care este media aritmetică (CV%)
N=6 pentru fiecare nivel de doză
a Probe colectate în 12 ore
b Probe colectate în 120 ore
AUC_{0-12h} = AUC de la 0 până la 12 ore; AUC_{0-∞} = AUC de la 0 extrapolat până la infinit; ClF = eliminare aparentă; C_{max} = concentrație maximă
t_{1/2} = timp de înjumătățire aparent de eliminare terminală; T_{max} = timp de concentrație maximă observată; VzF = volum aparent de distribuție

Figura 6

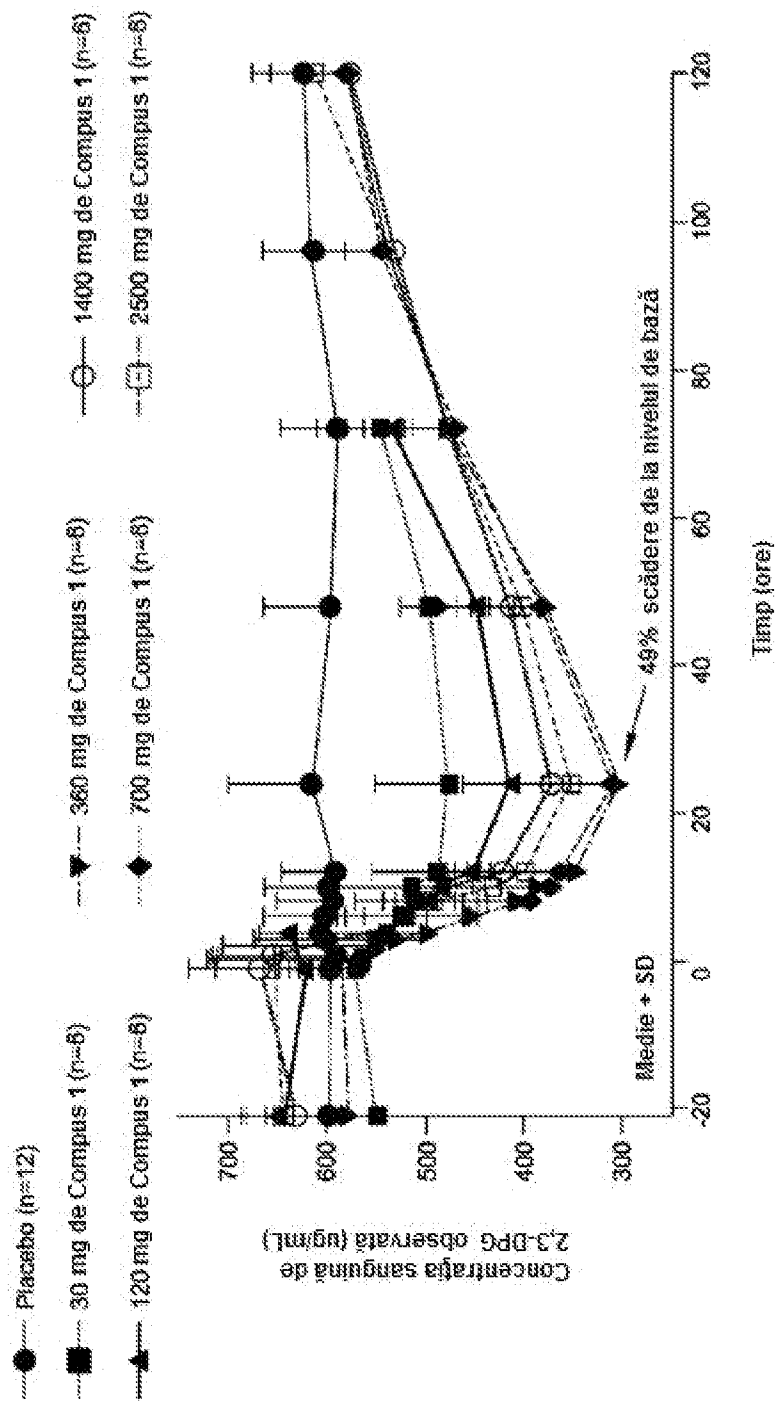


Figura 7

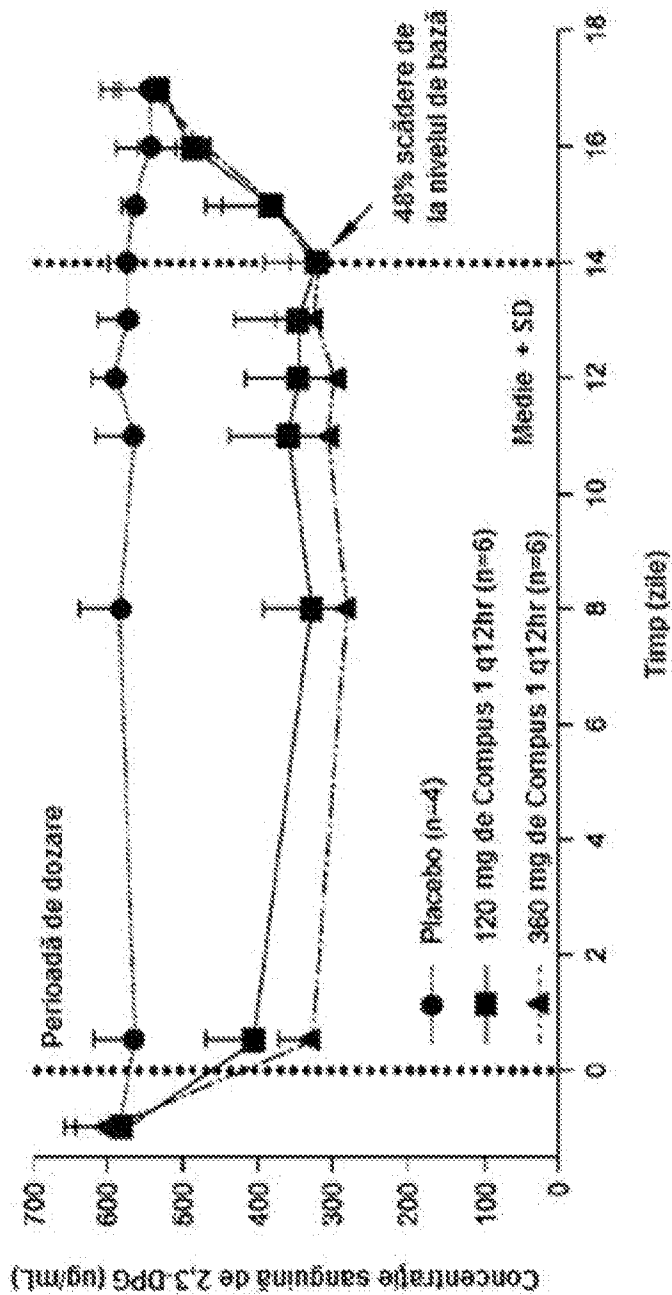


Figura 8

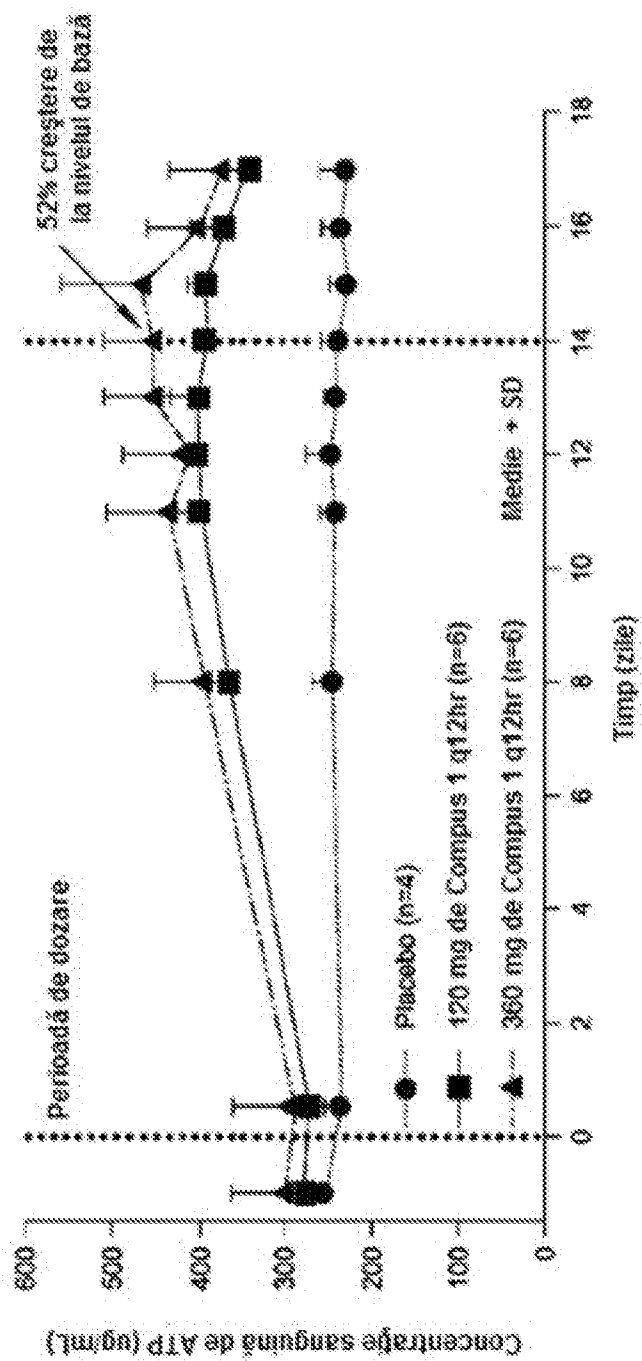
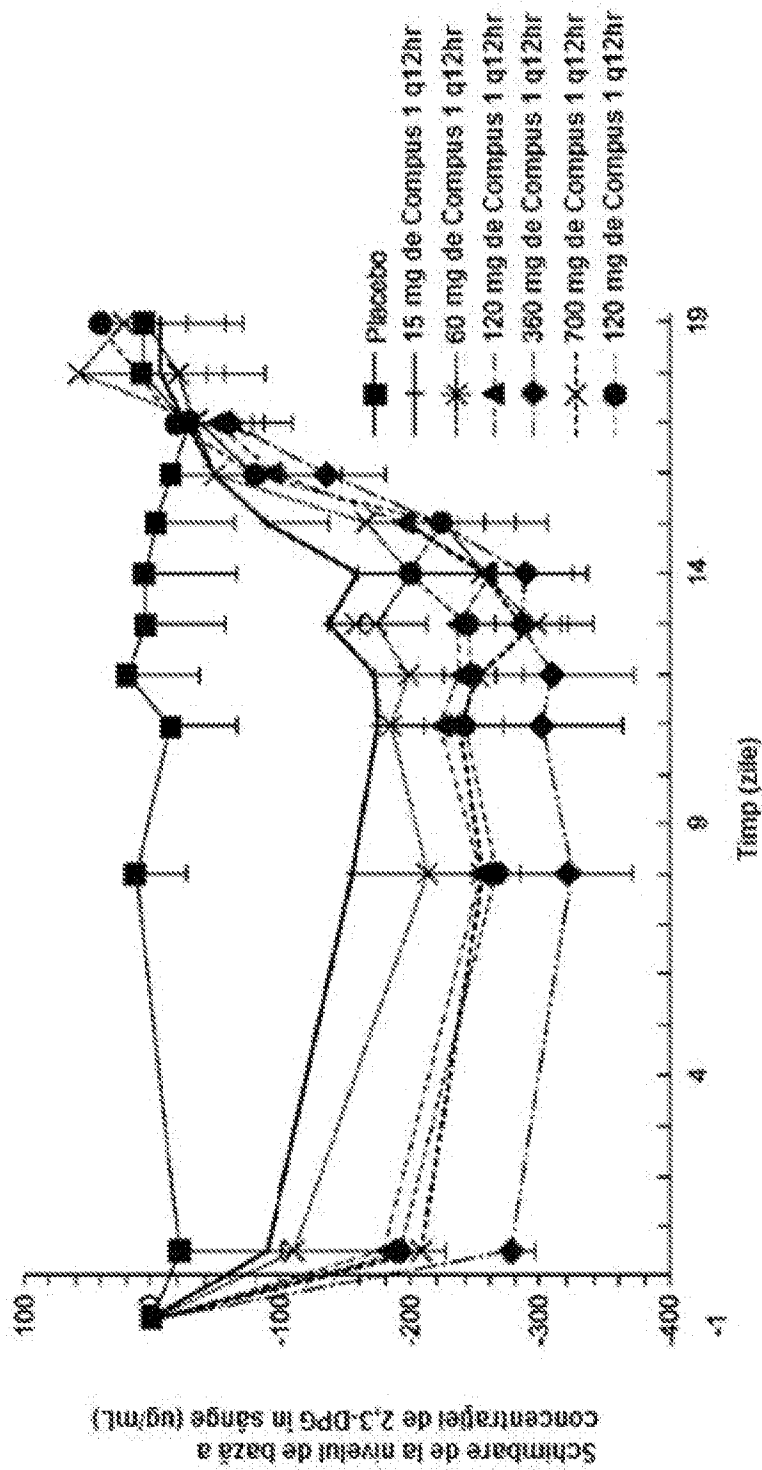


Figura 9



Schimbare de la nivelul de bază a profilului concentrație-timp
de 2,3-DPG și ATP în sânge după doze multiple de Compusul 1

Figura 10A

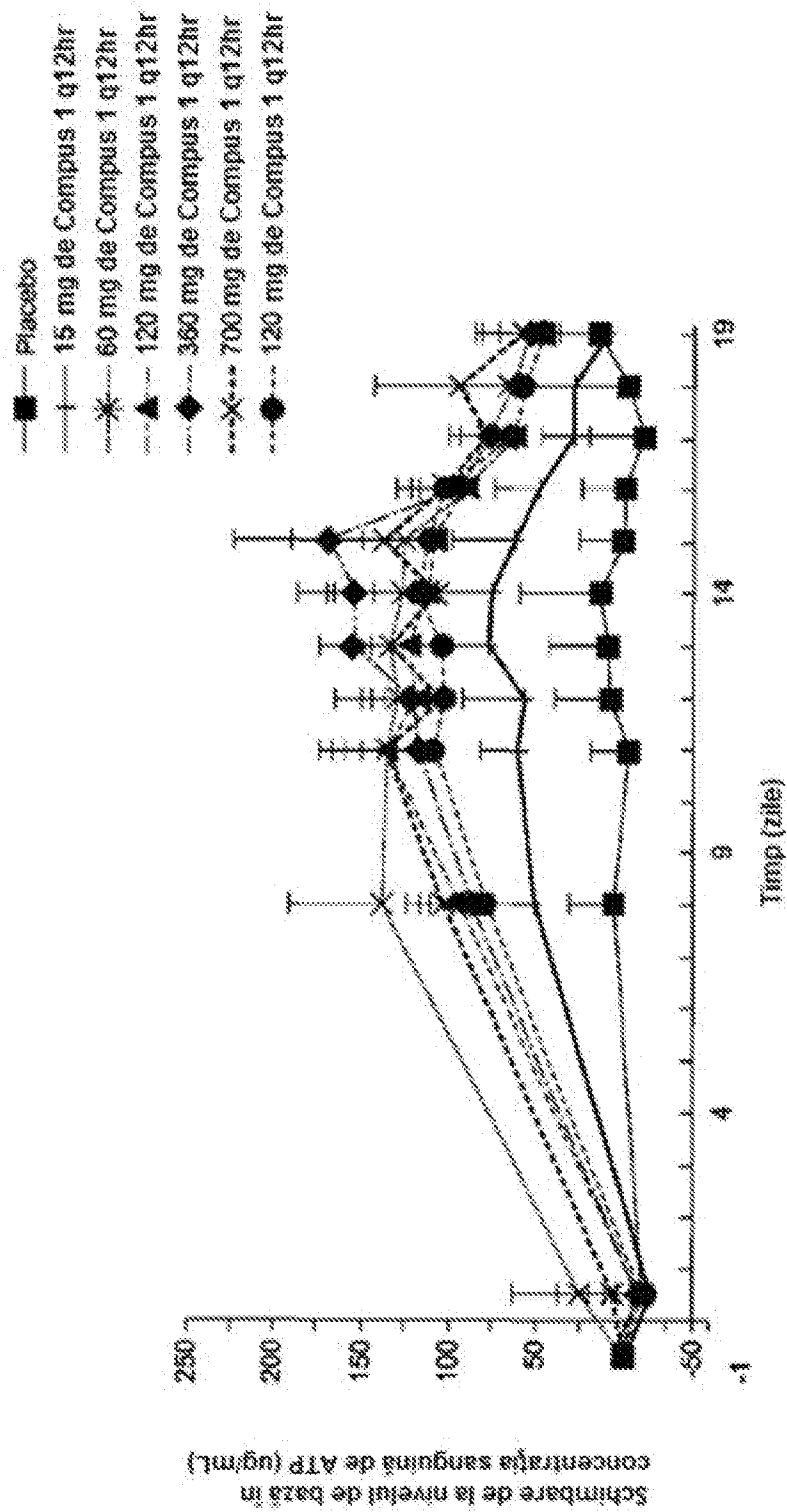


Figura 10B

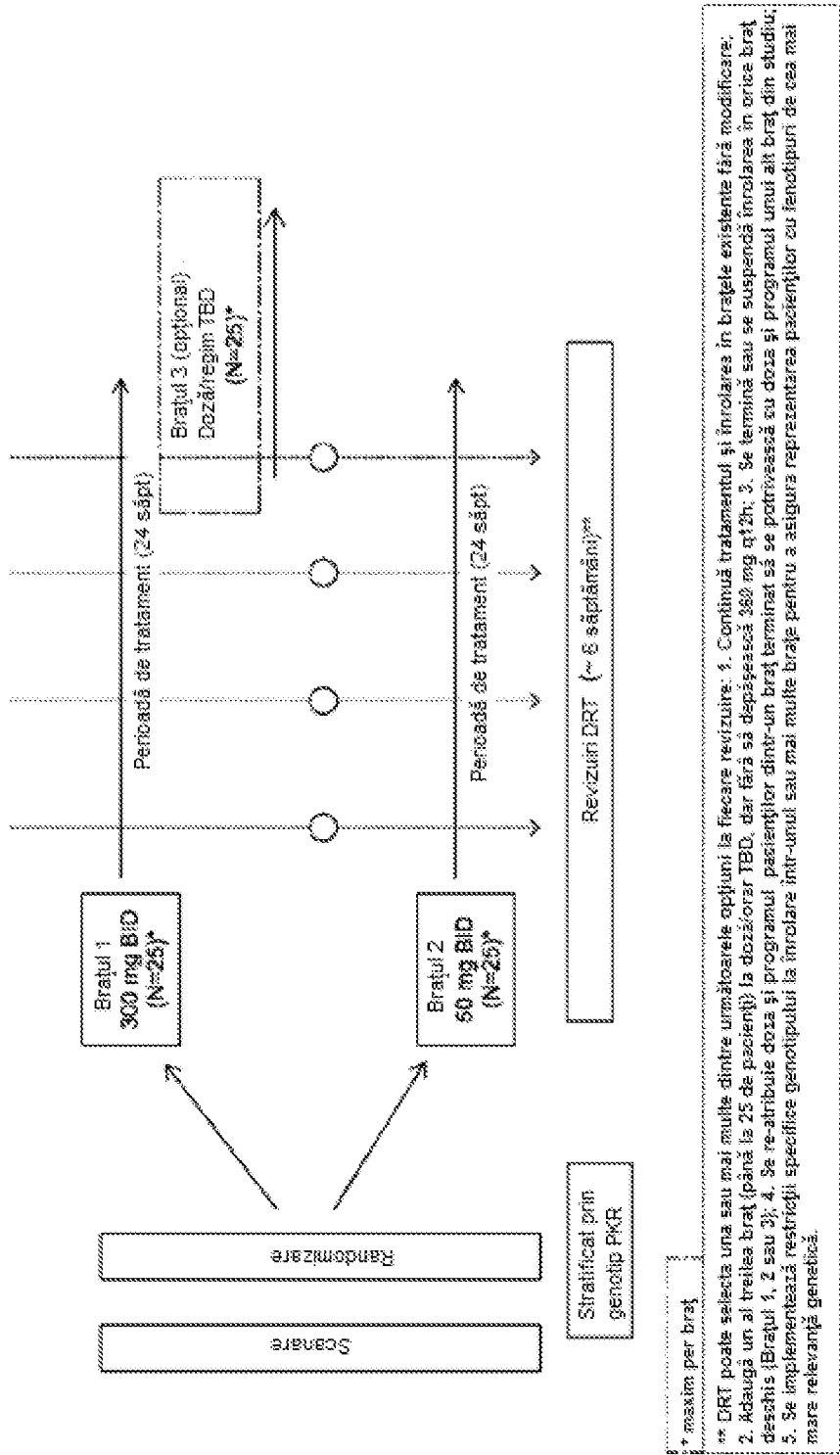
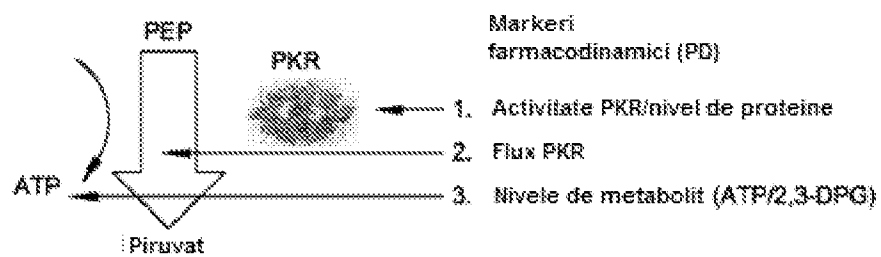


Figura 11

**Figura 12**