



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117157064 A

(43) 申请公布日 2023. 12. 01

(21) 申请号 202280025441.X

(22) 申请日 2022.03.04

(30) 优先权数据

63/157,539 2021.03.05 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.09.27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/019025 2022.03.04

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/187709 EN 2022.09.09

(71) 申请人 菲勒拉新西兰有限责任公司

地址 新西兰奥克兰

(72) 发明人 J·福图纳克 G·库珀 M·库珀

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限公司 11287

专利代理师 江泰维

(51) Int.Cl.

A61K 31/131 (2006.01)

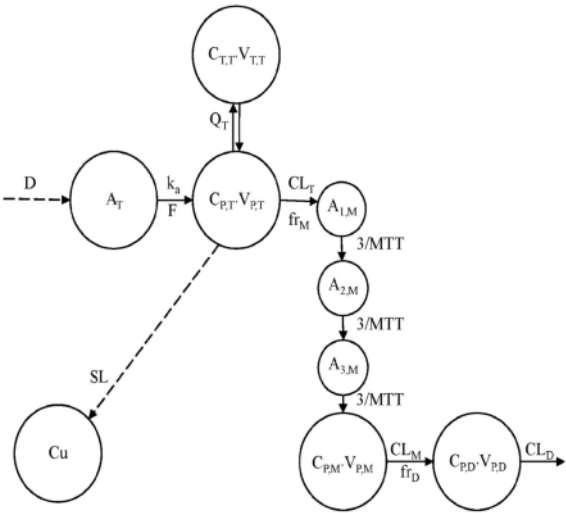
权利要求书3页 说明书53页 附图1页

(54) 发明名称

铜病症的治疗

(57) 摘要

本公开涉及包含固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的组合物以及其用于预防和治疗铜相关疾病、病症和病况的方法。



1. 一种制品,其包含单剂量胶囊或片剂,所述胶囊或片剂含单一固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐,其中所述固定剂量选自由约350mg、约584mg和约701mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐组成的群组。

2. 根据权利要求1所述的制品,其还包含包装插页,所述包装插页指导用户将所述固定剂量施用于患有能用铜螯合剂治疗的疾病的患者。

3. 根据权利要求1所述的制品,其中所述能用铜螯合剂治疗的疾病的特征在于铜过量。

4. 根据权利要求2所述的制品,其中所述疾病选自由威尔森氏病、心力衰竭、糖尿病性心肌病、糖尿病、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、特发性肺纤维化、癌症和铜中毒组成的群组。

5. 根据权利要求1所述的制品,其包含数量等于一或多个日剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的固定剂量胶囊,其中所述日剂量选自由约1050mg/天至约2300mg/天、约1400mg/天至约3500mg/天、约2300mg/天至约2800mg/天和约2800mg/天至约5600mg/天的三亚乙基四胺二琥珀酸盐组成的群组,并且任选地,其中其中所述固定剂量选自由约350mg、约400mg、约500mg、约584mg、约600mg和约701mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐组成的群组。

6. 根据权利要求1所述的制品,其中所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐具有至少约95%的纯度。

7. 根据权利要求1所述的制品,其中所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐具有至少约99%的纯度。

8. 根据权利要求1所述的制品,其中所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐的结晶形式。

9. 根据权利要求1所述的制品,其中所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物。

10. 根据权利要求1所述的制品,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐为约350mg。

11. 根据权利要求1所述的制品,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐为约584mg。

12. 根据权利要求1所述的制品,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐为约600mg。

13. 根据权利要求1所述的制品,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐为约700mg。

14. 根据权利要求1所述的制品,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐为胶囊形式。

15. 根据权利要求1所述的制品,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐为片剂形式。

16. 根据权利要求1所述的制品,其中所述胶囊或片剂被包装在泡罩包装中。

17. 根据权利要求1所述的制品,其中所述胶囊或片剂被包装在瓶中。

18. 根据权利要求1所述的制品,其中所述胶囊或片剂经配制以提供延迟释放。

19. 根据权利要求1所述的制品,其中所述胶囊或片剂经配制以提供持续释放。

20. 根据权利要求1所述的制品,其中所述胶囊或片剂与药代动力学增强剂(PKE)组合

配制,所述药代动力学增强剂提供对所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐的改善的吸收。

21.一种管理患有能用铜螯合剂治疗的疾病的受试者的方法,所述方法包含对所述受试者施用固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐,其中所述固定剂量在约350至约700毫克范围内。

22.根据权利要求21所述的方法,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐为约350mg、400mg、约500mg、约600mg或约700mg。

23.根据权利要求21所述的方法,其中将固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐以在约1050mg/天至约2300mg/天、约1400mg/天至约3500mg/天、约2300mg/天至约2800mg/天、约2400mg/天至约3000mg/天以及约2800mg/天至约5600mg/天范围内的量施用于所述受试者。

24.根据权利要求21所述的方法,其中所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐为至少约95%纯的。

25.根据权利要求21所述的方法,其中所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐为至少约99%纯的。

26.根据权利要求21所述的方法,其中所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐的结晶形式。

27.根据权利要求21所述的方法,其中所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物。

28.根据权利要求26所述的方法,其中所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐多晶型物。

29.根据权利要求21所述的方法,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是用于口服施用的胶囊形式。

30.根据权利要求21所述的方法,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是用于口服施用的片剂形式。

31.根据权利要求21所述的方法,其中所述受试者是人。

32.根据权利要求21所述的方法,其中所述疾病的一或多种症状或诊断标记物有所减少。

33.根据权利要求21所述的方法,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐降低所述受试者体内铜值含量和/或减少细胞内铜。

34.根据权利要求21所述的方法,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐减少总铜。

35.根据权利要求21所述的方法,其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐减少细胞内铜。

36.根据权利要求21所述的方法,其中所述能用铜螯合剂治疗的疾病包含糖尿病,其中糖尿病的一或多种症状通过所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐得以缓解。

37.根据权利要求36所述的方法,其中所述糖尿病为2型糖尿病,并且通过所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐缓解的所述症状为左心室肥大。

38.根据权利要求21所述的方法,其中所述能用铜螯合剂治疗的疾病包含糖尿病性心脏病。

39.根据权利要求21所述的方法,其中所述能用铜螯合剂治疗的疾病包含心脏病,其中

心脏病的一或多种症状通过所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐得以缓解。

40. 根据权利要求39所述的方法, 其中所述心脏病包含心力衰竭。

41. 根据权利要求21所述的方法, 其中所述能用铜螯合剂治疗的疾病包含威尔森氏病。

42. 根据权利要求21所述的方法, 其中所述施用还包含施用一或多种缓解或预防炎症或血管渗漏的药物。

43. 根据权利要求42所述的方法, 其中所述血管是毛细血管。

44. 根据权利要求21所述的方法, 其中所述固定剂量施用为每天两次。

45. 根据权利要求21所述的方法, 其中所述固定剂量每天施用一至四次。

46. 一种制品, 其包含三亚乙基四胺二琥珀酸盐和N-乙酰氨基转移酶抑制剂。

47. 一种制品, 其包含三亚乙基四胺二琥珀酸盐和精胺/亚精胺N-乙酰基转移酶抑制剂(SSAT1)。

48. 一种制品, 其包含三亚乙基四胺二琥珀酸盐和精胺/亚精胺N-乙酰基转移酶抑制剂(SSAT2)。

49. 一种制品, 其包含三亚乙基四胺二琥珀酸盐和多胺膜转运促进剂, 所述多胺膜转运促进剂包括香柠檬素、柚皮素、槲皮素、其它补骨脂素、胡椒碱或四氢-胡椒碱, 其充当膜渗透性的增强剂以增加吸收。

50. 根据权利要求1或5所述的制品, 其中所述固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐胶囊或片剂在室温下具有至少约12个月的保质期。

51. 根据权利要求50所述的制品, 其中在所述保质期内所述三亚乙基四胺二琥珀酸盐的最小纯度为至少约98.5%, 没有高于约0.5%的降解产物, 并且没有高于约0.1%的未鉴定的新杂质。

52. 根据权利要求50所述的制品, 其中所述保质期为约12个月。

铜病症的治疗

技术领域

[0001] 本发明涉及固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐调配物以及它们在治疗、预防或改善可用铜整合剂治疗的疾病、病况和病症中的用途。

[0002] 通过引用并入

[0003] 本文所指出的所有美国专利、美国专利申请公开、外国专利、外国和PCT公开的申请、文章及其它文件、参考文献和出版物,以及在由此发布的任何一项或多项专利中作为参考文献引用的所有文献,特此通过引用整体并入本文。并入的信息也是本申请的一部分,如同所有的文本和其它内容在本申请中重复,并且将被视为提交的本申请的文本和内容的一部分。

背景技术

[0004] 以下包含对理解本发明可能有用的信息。这并不承认任何所述信息是现有技术,或者与目前描述或要求保护的本发明相关,或者明确或隐含引用的任何出版物或文件是现有技术或可用于评估所描述或要求保护的本发明的可专利性的参考文献。

[0005] 铜是参与活细胞中大量生物过程的必需微量元素。对人类蛋白质组的分析已经鉴定了54种铜结合蛋白,其中12种是铜转运蛋白,大约一半是酶,并且一种(抗氧化剂1铜伴侣蛋白,ATOX1)是转录因子。铜结合蛋白包括细胞色素氧化酶、铜-锌超氧化物歧化酶、赖氨酰氧化酶、酪氨酸酶和多巴胺- β -单加氧酶,它们分别参与关键生物过程,如线粒体呼吸、抗氧化防御、细胞外基质交联、色素沉着和神经递质生物合成。需要铜的酶(特别强调参与铜内稳态的遗传病症的酶)的列表可见于霍恩(Horn N.),等人. 缅克斯病和威尔森病中的螯合原理:在正确的时间以正确的组合选择正确的化合物(Choosing the right compounds in the right combinations at the right time). 无机生物化学杂志(J.Inorg.Biochem). 2019;190:98-112。体内的大部分铜位于具有高代谢活性的器官中,诸如肝、肾、心脏和脑,总铜的约5%处于血清中,其中高达95%与血浆铜蓝蛋白结合。

[0006] 未结合的铜用作强效氧化剂,催化高活性羟基自由基的形成,导致DNA、蛋白质和脂质损伤。因此,细胞铜浓度需要通过吸收、排泄和生物利用度的复杂稳态机制来精细调节。

[0007] 在胃肠道吸收后,铜到达血液,在血液中主要与血浆铜蓝蛋白结合。位于细胞膜上的铜转运蛋白1(CTR1,SLC31A1)是主要的铜输入蛋白。在细胞内,各种金属伴侣蛋白接受并递送铜至特定的位置。ATP酶铜转运 α (ATP7A)和ATP酶铜转运 β (ATP7B)是铜内稳态的关键角色,并且是铜递送至分泌途径和过量铜从细胞中流出所需要的。铜内稳态的失调与多种疾病的发病机制相关联。参见布鲁尔(Brewer G.J),医药中的铜(Copper in medicine.) 化学生物学新见(Curr.Opin.Chem.Biol.) 2003;7:207-212;班德曼(Bandmann O.),等人. 威尔森氏病和其它神经铜病症(Wilson's disease and other neurological copper disorders). 柳叶刀神经病学(Lancet Neurol). 2015;14:103-113。

[0008] 螯合剂是由于其结构而能够选择性地结合特定原子/离子的化合物,通常形成稳

定的复杂环状结构。铜超载毒性以及临床上显著的铜缺乏主要与铜转运的遗传缺陷相关联,诸如威尔森氏病(铜超载)和缅克斯病(铜缺乏)。然而,铜在氧化还原生物化学中是一种必需的催化辅因子,并且导致其不成对分布的铜稳态失调与包括糖尿病、神经系统病症和癌症在内的若干种疾病有关。

[0009] 威尔森氏病是一种常染色体隐性疾病,其由ATP7B基因的两个拷贝中的突变[18, 24]引起,导致体内铜过量,并以一系列临床表现为特征,这些临床表现包括肝功能衰竭、震颤和其它神经症状。因此,为了管理增加的铜水平,已经用不同的铜减少的药剂来治疗威尔森氏病患者,包括D-青霉胺(DPA)、盐酸曲恩汀和四硫钼酸盐。铜螯合疗法用于威尔森氏病的目标是清除组织中积累的铜(脱铜期)并防止再积累(维持期)。DPA在1956年推出。它是一种二甲基化半胱氨酸,其调动组织铜储存并促进过量铜排泄到尿液中。DPA(作为Curprimine[®]和Depen[®]出售)是用于治疗威尔森氏病(导致铜在体内积累并可能导致严重症状的遗传性疾病)和胱氨酸尿症(可导致肾结石的遗传性疾病)的一线疗法。然而,它有许多严重的副作用,包括胃/腹痛、恶心、呕吐、食欲不振、腹泻、味觉下降、瘙痒或皮疹、耳鸣(耳中鸣响)、口腔溃疡、伤口愈合不良和皮肤皱纹增加。此外,铜平衡的改善并没有带来神经症状的改善。相反,DPA治疗可能导致患者的神经症状恶化,这被认为是由于脑铜水平的推定增加。布鲁尔,等人.进行初始青霉胺治疗的威尔森氏病患者的神经系统综合征恶化(Worsening of neurologic syndrome in patients with Wilson's disease with initial penicillamine therapy).神经病学文献(Arch.Neurol).1987;44:490-493。此外,DPA的使用受到血液学和肾毒性限制(布鲁尔,尤兹巴斯彦-古尔坎(Yuzbasiyan-Gurkan V.)威尔森氏病(Wilson disease).医学(巴尔的姆)(Med.(Baltim.))1992;71:139-164),并且开始使用替代抗铜剂,诸如曲恩汀,1980.瓦尔茨(Walshe J.M.)用(三亚乙基四胺)二盐酸曲恩汀治疗威尔森氏病(Treatment of Wilson's disease with trientine(triethylene tetramine)dihydrochloride).柳叶刀(Lancet).1982;1:643-647。特别介绍三亚乙基四胺(TETA),也称为曲恩汀,作为盐酸盐用于治疗表现出DPA不耐受的威尔森氏病患者。同上。与DPA相比,二盐酸曲恩汀具有改善的安全性概况,但具有更低的铜尿毒症前期效应。

[0010] 阿尔茨海默氏病(AD)是最常见的痴呆症,其特征在于进行性记忆丧失、语言困难、定向障碍以及可识别的病理标记物,包括老年斑和神经原纤维缠结。从分子角度来看,AD的特征是 β -淀粉样蛋白的细胞外沉积在大脑中积累,最终导致神经元丢失。斑块中 β -淀粉样蛋白的凝结与新皮质组织中高浓度的铜(II)和锌(II)有关,因此表明金属失衡在AD的发病和/或进展中的作用。此外, β -淀粉样蛋白结合并将Cu(II)还原为Cu(I),诱导电子转移至分子氧,形成H₂O₂,导致凋亡细胞死亡和与氧化应激相关联的其它潜在负面结果。AD患者脑脊液中的铜水平比对照组高2.2倍,并且已经观察到脑和脑脊液中的血浆铜蓝蛋白水平增加。巴逊(Basun H.),等人.正常衰老和阿尔茨海默氏病患者的血浆和脑脊液中的金属和微量元素(Metals and trace elements in plasma and cerebrospinal fluid in normal aging and Alzheimer's disease).神经传递科学杂志(J.Neural.Transm.Park Dis.Dement.Sect.)1991;3:231-258。对AD转基因小鼠模型进行的事后分析表明,金属螯合剂可以减少 β -淀粉样蛋白过量。彻尼(Cherny R.A.),等人.用铜-锌螯合剂治疗显著且快速地抑制阿尔茨海默氏病转基因小鼠中 β -淀粉样蛋白的积累(Treatment with a copper-

zinc chelator markedly and rapidly inhibits beta-amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice). 神经元(Neuron).2001;30:665-676;德代奥卢(Dedeoglu A.),等人.针对阿尔茨海默氏淀粉样病变的新型双功能金属螯合剂的初步研究(Preliminary studies of anovel bifunctional metal chelator targeting Alzheimer's amyloidogenesis).实验性老年学(Exp.Gerontol).2004;39:1641-1649.已经进行了在AD患者中使用D-青霉胺的临床试验。斯奎蒂(Squitti R.),等人.D-青霉胺降低阿尔茨海默氏病患者的血清氧化应激(D-penicillamine reduces serum oxidative stress in Alzheimer's disease patients).欧洲临床研究杂志(Eur.J.Clin.Investig).2002;32:51-59。

[0011] 铜内稳态的改变也在帕金森氏病(PD)中起作用。PD是最常见的神经退行性病症中的一种,影响大约2%至3%的65岁以上的群体。PD的主要标志是黑质中典型的产生多巴胺的神经元损失,伴随着通常称为路易体的 α -突触核蛋白聚集,导致运动徐缓、肌肉强直、震颤和其它非运动症状的特征性症状。铜与 α -突触核蛋白的结合是PD发展中的重要事件,触发蛋白纤维化和氧化应激增加。此外,在PD患者中铜与血浆铜蓝蛋白的结合减少,导致游离铜水平升高,与氧化应激和神经退行性变相关联。阿日苏瓦科娃(Ajsuvakova O.P.),等人.帕金森氏病患者体内铜、铁、锌和锰的状态和种态的评估:试点研究(Assessment of copper,iron,zinc and manganese status and speciation in patients with Parkinson's disease:A pilot study).医学和生物学微量元素杂志(J.Trace Elem.Med.Biol).2019:126423.因此,铜内稳态的改变在PD中发挥作用。比约克隆(Bjorklund G.),等人.金属与帕金森氏病:机制和生化过程(Metals and Parkinson's disease:Mechanisms and biochemical processes).当代医药化学(Curr.Med.Chem).2018;25:2198-2214。PD中的铜衰减疗法最近综述于托萨托(Tosato,M)和迪·马可(Di Marco,V),金属螯合疗法与帕金森氏病:相关金属离子与有希望或已建立的药物之间的复合物形成的热力学的评论(Metal chelation therapy and Parkinson's disease:A critical review on the thermodynamics of complex formation between relevant metal ions and promising or established drugs).生物分子(Biomolecules).2019;9:269。

[0012] 特发性肺纤维化(IPF)是一种慢性肺部疾病,通常影响年龄在50至80岁之间的人,其中纤维化在肺部进行性累积,导致肺功能受损。临床表现和症状的广泛异质性导致治疗过程和反应的高度可变性。IPF发病机理的确切机制尚未阐明,然而可能涉及不同的生物和分子因素,包括赖氨酰氧化酶,其为一组参与I型胶原共价交联的铜依赖性酶。特别是,LOXL2可表示潜在的治疗靶标,其是促纤维化的,并且在IPF肺活检中高度表达。参见例如陈(Chen L.),等人.肺纤维化中的LOX/LOXL:潜在的治疗靶标(LOX/LOXL in pulmonary fibrosis:Potential therapeutic targets).药物靶向杂志(J Drug Target).2019;27:790-796。在2003年进行的一项研究证明,在博莱霉素诱导的IPF小鼠模型中,施用铜螯合剂四硫钼酸盐诱导血清血浆铜蓝蛋白减少,导致肺纤维化相应减少,为对其它疗法无反应的IPF患者的临床试验铺平了道路。布鲁尔,等人.四硫钼酸盐疗法免于小鼠中的博莱霉素诱导的肺纤维化(Tetrathiomolybdate therapy protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice).检验与临床医学杂志(J.Lab.Clin.Med).2003;141:210-

216.已经证明,铜与四硫钼酸盐螯合通过减少胶原-I的表达和积累,作用于铜依赖性赖氨酰氧化酶的表达,对IPF产生有益效果。奥维特(Ovet H.,Oztay F.)铜螯合剂四硫钼酸盐通过减少赖氨酰氧化酶的表达逆转了小鼠中博莱霉素诱导的肺纤维化(The copper chelator tetrathiomolybdate regressed bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice,by reducing lysyl oxidase expressions).生物微量元素研究(Biol.Trace Elem.Res).2014;162:189-199。

[0013] 糖尿病(DM)是一组异质性代谢疾病,主要特征为高血糖状态,伴有胰岛素分泌或作用缺陷。糖尿病主要有三种类型:I型、II型和妊娠期糖尿病。与健康个体相比,DM患者的血浆或血清中的铜水平较高。邱(Qiu Q.),等人.糖尿病中的铜:血浆和血清研究的荟萃分析和系统综述(Copper in diabetes mellitus:A meta-analysis and systematic review of plasma and serum studies).生物微量元素研究.2017;177:53-63;李(Li P.),等人.血浆铜浓度与妊娠期糖尿病之间的关联(Association between plasma concentration of copper and gestational diabetes mellitus).临床营养学(Clin.Nutr).2019;38:2922-2927。糖尿病的发生和进展与氧化应激的增加和包括铜在内的若干种金属的失衡相关联。郑(Zheng Y.),等人.锌、铜和铁在糖尿病和糖尿病并发症的发病机理中的作用:螯合剂的治疗效果(The role of zinc,copper and iron in the pathogenesis of diabetes and diabetic complications:Therapeutic effects by chelators).血红蛋白(Hemoglobin).2008;32:135-145。Cu(I)与Cu(II)之间的转变导致活性氧物种(ROS)的产生和随之而来的脂质过氧化、导致细胞死亡的DNA损伤。使用铜螯合剂维持铜内稳态可表示用于糖尿病治疗的策略。参见洛(Lowe J.),等人.剖析糖尿病中的铜内稳态(Dissecting copper homeostasis in diabetes mellitus).Iubmb生活(Iubmb Life).2017;69:255-262。

[0014] 重要的是,三亚乙基四胺盐酸盐的一系列临床前和临床研究证明了铜螯合剂曲恩汀在减少糖尿病的一些临床和病理后果(诸如心力衰竭)方面的潜力。库珀(Cooper G.J.),菲利普斯(Phillips A.R.),松(Choong S.Y.),伦纳德(Leonard B.L.),克罗斯曼(Crossman D.J.),布伦顿(Brunton D.H.),萨菲(Saafi L.),迪萨纳亚克(Dissanayake A.M.),科万(Cowan B.R.),永(Young A.A.),等人.通过选择性铜螯合使糖尿病患者的的心脏再生(Regeneration of the heart in diabetes by selective copper chelation).糖尿病(Diabetes).2004;53:2501-2508。此外,利用铜螯合剂四硫钼酸盐的治疗被描述为促进2型糖尿病小鼠模型中胰岛素抗性的显著降低。田中(Tanaka A.),等人.铜离子在2型糖尿病发病中的作用(Role of copper ion in the pathogenesis of type 2diabetes).内分泌杂志(Endocr.J).2009;56:699-706。

[0015] 铜也与癌症有关,在来自不同类型癌症患者的血清和组织样品中已确定了血清中的铜含量增加(科茨(Coates R.J.),等人.与血清铜水平有关的癌症风险(Cancer risk in relation to serum copper levels).癌症研究(Cancer Res).1989;49:4353-4356)和组织样本(玛格丽特(Margalioth E.J.),等人.正常和恶性组织中的铜和锌水平(Copper and zinc levels in normal and malignant tissues).癌症(Cancer).1983;52:868-872),包括喉鳞状细胞癌(德豪尔赫(de Jorge F.B.),等人.喉癌中铜、铜氧化酶、镁、硫、钙和磷的生化研究(Biochemical studies on copper,copper oxidase,magnesium,sulfur,

calcium and phosphorus in cancer of the larynx).耳鼻喉学报(Acta Otolaryngol).1966;61:454-458)、非霍奇金淋巴瘤(沙阿-雷迪(Shah-Reddy I.),等人.非霍奇金淋巴瘤患者的血清铜水平(Serum copper levels in non-Hodgkin's lymphoma).癌症.1980;45:2156-2159)、多发性骨髓瘤(卡德姆-安萨里(Khadem-Ansari M.H.),等人.I期多发性骨髓瘤中的铜和锌:与血浆铜蓝蛋白、脂质过氧化和超氧化物歧化酶活性的关系(Copper and zinc in stage I multiple myeloma:Relation with ceruloplasmin,lipid peroxidation,and superoxide dismutase activity).激素分子生物学与临床研究(Horm.Mol.Biol.Clin.Investig).2018;37)、慢性淋巴细胞白血病(该阿法(Kaiafa G.D.),等人.血液恶性肿瘤患者的铜水平(Copper levels in patients with hematological malignancies).欧洲内科杂志(Eur.J.Intern.Med).2012;23:738-741)、肝细胞癌(方(Fang A.P.),等人.广东肝癌组群中诊断时的血清铜和锌水平以及肝细胞癌存活率(Serum copper and zinc levels at diagnosis and hepatocellular carcinoma survival in the Guangdong Liver Cancer Cohort).国际癌症杂志(Int.J.Cancer).2019;144:2823-2832)、妇科癌症(扎瓦兹凯(Zowczak M.),等人.癌症患者的血清铜、锌浓度分析(Analysis of serumcopper and zinc concentrations in cancer patients).生物微量元素研究.2001;82:1-8)、结直肠癌(古普塔(Gupta S.K.),等人.结直肠癌患者的血清和组织的微量元素(Serum and tissue trace elements in colorectal cancer).外科肿瘤学杂志(J.Surg.Oncol).1993;52:172-175)、肺癌(张(Zhang X.),杨(Yang Q.)血清铜水平与肺癌风险之间的关联:荟萃分析(Association between serum copper levels and lung cancer risk:Ameta-analysis).国际医学研究杂志(J.Int.Med.Res).2018;46:4863-4873)、原发性脑癌(图瑞克(TureckýL.),等人.原发性脑肿瘤患者的血清血浆铜蓝蛋白和铜水平(Serum ceruloplasmin and copper levels in patients with primary brain tumors).维也纳临床周刊(Klin.Wochenschr).1984;62:187-189)和乳腺癌(达贝克(Dabek J.T.),等人.早期人类乳腺癌血清中非血浆铜蓝蛋白铜增加的证据(Evidence for increased non-ceruloplasmin copper in early-stage human breast cancer serum).营养与癌症(Nutr.Cancer).1992;17:195-201)。肿瘤手术成功切除或病情缓解后,血清铜水平恢复正常。此外,基因表达分析揭示了结直肠中多种铜结合或铜敏感蛋白的多重改变(巴雷西(Barresi V.),等人.铜内稳态基因的转录组分析揭示结直肠癌中SLC31A1、SC01和COX11协同上调(Transcriptome analysis of copper homeostasis genes reveals coordinated upregulation of SLC31A1,SC01,and COX11 in colorectal cancer).FEBS 开放生物(FEBS Open Bio).2016;6:794-806)和乳腺癌(纳加拉贾(Nagaraja G.M.),等人.非侵袭性和侵袭性乳腺癌细胞的基因表达特征和生物标记物:通过代表性差异分析、微阵列和蛋白质组学进行综合分析(Gene expression signatures and biomarkers of noninvasive and invasive breast cancer cells:Comprehensive profiles by representational difference analysis,microarrays and proteomics).致癌基因(Oncogene).2006;25:2328-2338),表明铜内稳态的失调可能有助于癌症的发病、发展和转移。

[0016] 总的来说,这些迹象为铜螯合作为癌症疗法的策略提供了支持。参见古德曼(Goodman V.L.),等人.作为抗癌策略的铜缺乏(Copper deficiency as an anti-cancer

strategy). 内分泌相关癌症 (Endocr. Relat. Cancer). 2004;11:255-263; 洛佩兹 (Lopez J.), 等人. 作为癌症的治疗策略的铜耗竭 (Copper depletion as a therapeutic strategy in cancer). 生命科学中的金属离子 (Met. Ions Life Sci). 2019;19; 加伯 (Garber K.) 癌症的铜连接 (Cancer's copper connections). 科学 (Science). 2015;349:129. 血管异生是支持癌细胞生长和肿瘤转移所必需的。铜螯合剂抑制癌症的机制通常归因于它们对肿瘤血管生成的抑制作用。古德曼等人., 见上文。事实上, 用于治疗威尔森氏病的铜螯合剂, 诸如曲恩汀, 在实验性临床前癌症模型中揭示了化疗特性, 从而导致若干项临床试验。这些试验已经证明铜螯合疗法通常耐受性很好, 因为铜螯合剂选择性地作用于具有增加的铜含量的癌细胞, 而对正常细胞几乎没有毒性。德诺耶 (Denoyer D.), 等人. 癌症疗法中的铜靶向: ‘铜致癌’的金属组学 (Targeting copper in cancer therapy: ‘Copper That Cancer’ Metallomics). 2015;7:1459-1476; 古普特 (Gupte A.), 芒珀 (Mumper R.J.) 作为癌症治疗靶标的癌细胞中铜和氧化应激的升高 (Elevated copper and oxidative stress in cancer cells as a target for cancer treatment). 癌症治疗评论 (Cancer Treat. Rev). 2009;35:32-46。

[0017] 还注意到, 当与抗血管生成剂组合时, 可以实现放射疗法对原发性肿瘤的功效增加和副作用减少, 并且在刘易斯肺高转移癌小鼠肿瘤模型中观察到放射疗法和铜螯合疗法的加成效应。卡恩 (Khan M.K.), 等人. 头颈部鳞状细胞癌小鼠模型中的组合四硫钼酸盐和放射疗法 (Combination tetrathiomolybdate and radiation therapy in a mouse model of head and neck squamous cell carcinoma). 耳鼻喉科学档案-头颈外科 (Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg). 2006;132:333-338。

[0018] 还提出了铜螯合和免疫疗法组合策略, 并对其与若干种免疫疗法策略 (包括单克隆抗体、免疫细胞激活剂、免疫检查点抑制剂和溶瘤病毒载体) 一起使用进行了评估。例如, 在体外和体内的实验模型中, 基于纳米颗粒的铜螯合和免疫刺激的策略已被证明有效抑制乳腺肿瘤的生长和转移。周 (Zhou P.), 等人. 用于转移性乳腺癌联合治疗的基于聚合铜螯合剂的多功能纳米颗粒 (Multifunctional nanoparticles based on a polymeric copper chelator for combination treatment of metastatic breast cancer). 生物材料 (Biomaterials). 2019;195:86-99。关于免疫检查点抑制剂, 在神经母细胞瘤和胶质母细胞瘤肿瘤细胞中观察到铜转运蛋白CTR1与程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1) 表达之间的正相关。铜螯合降低PD-L1的表达, 促进同系小鼠神经母细胞瘤模型中肿瘤浸润淋巴细胞的显著增加。沃利 (Voli F.), 等人. 铜内稳态: 抗肿瘤免疫反应的新选手 (Copper homeostasis: A new player in anti-tumor immune response). 癌症研究. 2019;79。因此, 铜螯合疗法也可以促进基于程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1) /程序性细胞死亡配体1 (PD-L1) 的免疫疗法。溶瘤载体选择性地复制并促进癌细胞的溶解, 从而触发患者的免疫系统对抗肿瘤抗原。响应于诱导的溶瘤反应的肿瘤微环境的变化可能限制溶瘤病毒疗法的功效。因此, 已经假设影响肿瘤微环境和血管生成的铜螯合疗法的组合可以促进溶瘤病毒疗法的功效。此外, 血清铜水平对疱疹病毒感染有不利影响。基于这些前提, 已经描述了伴随的铜螯合疗法增加单纯疱疹病毒衍生的溶瘤病毒的抗肿瘤效果。尤 (Yoo J.Y.), 等人. 铜螯合增强抗肿瘤功效和溶瘤HSV的全身递送 (Copper chelation enhances antitumor efficacy and systemic delivery of oncolytic HSV). 临床癌症研究 (Clin. Cancer Res). 2012;18:

4931-4941; 尤等人. ATN-224[双胆碱四硫钼酸盐]增强溶瘤疱疹病毒对抗局部和转移性头颈部鳞状细胞癌的抗肿瘤功效. 分子疗法-溶瘤学(Mol.Oncolytics). 2015;2:15008。

[0019] 自噬在癌症发展、进展和对疗法的反应中具有复杂的作用。自噬抑制正在成为肿瘤疗法的一种有效方法,特别是在基础自噬水平增加的癌症中。阿玛拉瓦蒂(Amaravadi R.K.), 等人. 靶向癌症中的自噬:最新进展和未来方向(Targeting autophagy in cancer: Recent advances and future directions). 癌症发现(Cancer Discov). 2019;9:1167-1181。不同的证据线索表明,铜含量的增加激活一系列自噬相关基因。波利修克(Polishchuk E.V.), 等人,在来自威尔森病患者和ATP7B缺陷动物的肝脏组织中观察到的自噬激活会保护肝细胞免受铜诱导的凋亡(Activation of autophagy, observed in liver tissues from patients with Wilson disease and from ATP7B-deficient animals, protects hepatocytes from copper-induced apoptosis). 肠胃病学(Gastroenterology). 2019;156:1173-1189.e1175。因此,铜螯合已显示抑制肺腺癌细胞中的Unc-51样自噬激活激酶1和2(Ulk1/2)。曾(Tsang T.), 等人. 铜是驱动肺腺癌自噬激酶ULK1/2的必要调节剂(Copper is an essential regulator of the autophagic kinases ULK1/2 to drive lung adenocarcinoma). 生物学档案(bioRxiv). 2019:816587。最近,铜螯合和氯喹自噬抑制的组合已经评估以促进胰腺癌细胞死亡。禹(Yu Z.), 等人. 阻断SLC31A1依赖性铜吸收增加胰腺癌细胞自噬以抵抗细胞死亡(Blockage of SLC31A1-dependent copper absorption increases pancreatic cancer cell autophagy to resist cell death). 细胞增殖(Cell Prolif). 2019;52:e12568。

[0020] 除了使用三亚乙基四胺二盐酸盐作为用于治疗患有威尔森氏病的个体的疗法之外,据报道它还用于治疗患有原发性胆汁性肝硬化的个体。参见例如爱泼斯坦(Epstein, O.) 等人., 肠胃病学78(6):1442-45(1980)。此外,曲恩汀已经测试用于抑制大鼠肝炎和肝肿瘤的自发发展。参见例如., 宋(Sone, H.), 等人., 肝脏病学(Hepatology) 23:764-70(1996)。已发布的美国专利描述了铜结合化合物在治疗各种病症中的用途,包括治疗糖尿病及其并发症,包括例如糖尿病性心肌病。参见美国专利第6,897,243、6,610,693和6,348,465号。某些铜螯合剂也被描述用于治疗某些病症,包括心血管、葡萄糖和血管病症。关于铜螯合剂的现有教导描述于例如美国专利第10,543,178号(使用三亚乙基四胺的琥珀酸加成盐治疗糖尿病性神经病变)、美国专利第9,993,443号(三亚乙基四胺的琥珀酸加成盐用于治疗与特定心脏、葡萄糖相关和血管病症相关联的组织损伤的用途)、美国专利第8,987,244号(各种螯合剂,包括曲恩汀、2,2,2四胺四盐酸盐和2,3,2四胺四盐酸盐来降低在心肌组织、肾组织、眼组织、神经组织和血管组织中具有组织损伤的患者的铜(II)值)、美国专利第8,563,538号(2,3,2四胺组合物在治疗非糖尿病人类受试者的心力衰竭的方法中的用途,包括2,3,2四胺盐酸盐,例如2,3,2四胺四盐酸盐)、美国专利第8,034,799号(用能够降低铜(例如铜(II))水平的药剂,包括铜螯合剂诸如曲恩汀以及2,3,2四胺、DPA、N-乙酰青霉胺、三硫钼酸盐和四硫钼酸盐,治疗非糖尿病人类受试者的心力衰竭的方法)和美国专利第7,928,094号(使用三亚乙基四胺二盐酸盐治疗一或多种与糖尿病长期并发症相关联的病症的用途)。

[0021] 总之,越来越多的体外和体内研究表明,铜参与的机制表示许多不同病理的潜在治疗靶标。除了在威尔森氏病中观察到的铜代谢的遗传缺陷之外,全身性或组织特异性铜

增加的状态可以通过多种机制发生。在广泛的神经病、纤维化肺病和血管疾病以及不同类型的癌症中观察到铜内稳态的失调。

[0022] 已经对威尔森氏病中的铜失衡进行了充分的研究,导致引入铜螯合疗法作为主要治疗工具,其显著降低了发病率,使威尔森氏病成为可治疗的病症。如上所述,用一线DPA疗法治疗有许多副作用,包括胃/腹痛、恶心、呕吐、食欲不振、腹泻、味觉下降、瘙痒或皮疹、耳鸣(耳中鸣响)、口腔溃疡、伤口愈合不良和皮肤皱纹增加。曲恩汀盐酸盐(以二盐酸盐出售,商品名为**Syprine[®]**和**Clovique[®]**)螯合铜,并用于治疗不能服用青霉胺的人的威尔森氏病。**Syprine[®]**在1985年被FDA批准作为威尔森氏病的二线治疗。曲恩汀二盐酸盐的常见副作用包括皮疹、肌肉痉挛或收缩、胃灼热、胃痛、食欲不振和皮肤剥落、开裂或增厚。

[0023] 努力一直集中在鉴定和评估新的螯合化合物和调配物,以减少毒副作用,增强通过血脑屏障的能力并改善患者的依从性,并且需要开发治疗患有铜病症的受试者的改进方法。本公开满足了这些需求,并提供了减少铜和螯合剂副作用、改善药物稳定性和避免对冷藏和冷链配送的需求的方法和组合物。

发明内容

[0024] 本文描述且请求保护的本发明具有许多属性和实施例,包括但不限于在本发明内容中阐述或描述或提及的属性和实施例。其并不旨在为完全包括性的,并且本文中所描述和主张的发明不限于此介绍中所识别的特征或实施例,所述特征或实施例仅仅出于说明而非限制的目的而被包括。

[0025] 本发明涉及改善的、固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐调配物以及它们用于治疗、预防或改善可用铜螯合剂治疗的疾病、病况和病症的用途。

[0026] 在一个方面,本发明包含一种制品,其包含单剂量胶囊或片剂,所述胶囊或片剂含单一固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐,其中所述固定剂量选自由约350mg、约400mg、约500mg、约600mg和约700mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐组成的群组。

[0027] 在另一方面,所述制品还包含包装插页,所述包装插页指导用户将所述固定剂量施用于患有可用铜螯合剂治疗的疾病、病况或病症的患者。在进一步的方面,可用铜螯合剂治疗的疾病的特征在于铜过量。

[0028] 在另一方面,如本文所述待治疗的疾病、病况或病症选自由威尔森氏病、心力衰竭、糖尿病性心肌病、左心室肥大、糖尿病、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、特发性肺纤维化和癌症组成的群组。在其它实施例中,如本文所述待治疗的疾病、病况或病症选自由额颞型痴呆(FTD)、多发性硬化和肌萎缩性侧索硬化症(卢伽雷氏病/运动神经元疾病或ALS)组成的群组。

[0029] 在另一方面,疾病、病况或病症是铜中毒。

[0030] 在另一方面,所述癌症选自由喉鳞状细胞癌、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、肝细胞癌、妇科癌、结直肠癌、肺癌、原发性脑癌和乳腺癌组成的群组。

[0031] 在另一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐用于抑制肿瘤血管生成。

[0032] 在再一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐与针对肿瘤和癌症(包括刘易斯肺高转移癌)的放射疗法一起使用。

[0033] 在又一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐与免疫刺激一起使用,包括抑

制乳腺肿瘤生长和转移。

[0034] 在另一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐用于降低程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1) 的表达,这已经在例如神经母细胞瘤和胶质母细胞瘤肿瘤细胞中观察到。

[0035] 在另一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐与溶瘤病毒疗法,包括溶瘤HSV疗法联合使用。在另一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐与溶瘤病毒疗法联合使用,例如,对抗局部和转移性头颈部鳞状细胞癌。

[0036] 在另一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐与N-乙酰氨基转移酶抑制剂联合使用。在另一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐与亚精胺-精胺-N(1)-乙酰基转移酶抑制剂(SSAT1和/或SSAT2)联合使用。在一个优选的实施例中,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐与亚精胺-精胺-N(1)-乙酰基转移酶-2(SSAT2)抑制剂联合使用。

[0037] 在再一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐用于预防、治疗或管理自噬。

[0038] 在另一方面,所述制品包含数量等于三亚乙基四胺二琥珀酸盐的日剂量的胶囊,其中日剂量选自自由约2400mg/天至约3000mg/天的三亚乙基四胺二琥珀酸盐组成的群组。在另一方面,剂量和给药为每毫克三亚乙基四胺二琥珀酸盐或三亚乙基四胺四琥珀酸盐约2.336mg和2.337mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐。

[0039] 在另一方面,制品中的三亚乙基四胺二琥珀酸盐具有至少约95%的纯度。在进一步的方面,纯度为至少约99%。

[0040] 在另一方面,制品中的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐的结晶形式。

[0041] 在另一方面,制品中的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物。

[0042] 在另一方面,制品中的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是不吸湿的,并且在正常室温储存条件下具有良好的稳定性。重要的是,本文所述的三亚乙基四胺二琥珀酸盐制品的结晶无水形式在室温下具有至少约12个月(且至多五年)的保质期,三亚乙基四胺二琥珀酸盐API没有显著降解,并且保持在三亚乙基四胺二琥珀酸盐药物的杂质规格内。在一个实施例中,术语“没有显著降解”意指在至少约12个月内三亚乙基四胺二琥珀酸盐的纯度为至少约98.5%,没有高于约0.5%的降解产物,并且没有高于约0.1%的未鉴定的新杂质。

[0043] 在另一方面,具有固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的制品是胶囊形式。在另一方面,具有固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的制品是片剂形式。在进一步的方面,三亚乙基四胺二琥珀酸盐的胶囊或片剂以提供延迟或持续释放的方式配制,从而从相关的速释形式产生修改的药代动力学特征。

[0044] 在仍进一步的方面,本发明还包含一种管理或治疗患有可用铜螯合剂治疗的疾病的受试者的方法,所述方法包含以在约2400mg/天至约3000mg/天的三亚乙基四胺二琥珀酸盐范围内的量施用于所述受试者。在所述方法的一个方面,可用铜螯合剂治疗的疾病的特征在于铜过量。在另一方面,所述方法中使用的三亚乙基四胺二琥珀酸盐为至少约95%纯的、至少约99%纯的或100%纯的。在另一方面,所述方法中使用的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐的结晶形式。在此方法的再一方面,三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物。在所述方法的又一方面,三亚乙基四胺二琥珀酸盐是固定剂量片剂或胶囊形式。在一个优选的实施例中,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸

盐为约400mg、约500mg、约600mg或约700mg。在所述方法的另一个优选实施例中,受试者是人。

[0045] 在另一个实施例中,400mg固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的三个固定剂量片剂或胶囊每天给药两次(每天2400mg)。

[0046] 在另一个实施例中,500mg固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的三个固定剂量片剂或胶囊每天给药两次(每天3000mg)。

[0047] 在另一个实施例中,三亚乙基四胺二琥珀酸盐固定剂量片剂或胶囊为350mg。

[0048] 在另一个实施例中,每天给药的总量为2800mg,如四个350mg片剂或胶囊BID。

[0049] 在另一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐用于降低受试者体内的铜(II)含量或使其正常化。在一个实施例中,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐降低了受试者体内的总铜。在另一个实施例中,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐用于治疗将受益于铜(II)螯合剂的疾病、病症或病况的受试者。

[0050] 在本发明方法的一个优选实施例中,经口递送固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐。

[0051] 在另一个实施例中,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐将受试者体内的总铜维持在约0.8至1.2毫克/升或约10至25微摩尔/升的正常人血清或血浆范围内。在另一个实施例中,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐将受试者体内的总铜维持在约0.8至1.2毫克/升或约10至25微摩尔/升的正常范围的至少约70%内,例如至少约75%。在另一个实施例中,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐将受试者体内的总铜维持在人血浆或血清中铜的正常范围的约75%至约85%或约85%至约95%内。在本发明方法的一个方面,给于固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的受试者的铜状态通过评估受试者尿液中的铜来确定。

[0052] 在本发明的一个方面,所述方法采用包含固定剂量的基本上纯的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的药物组合物。在另一方面,所述方法采用包含基本上纯的三亚乙基四胺二琥珀酸盐和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0053] 在本发明的一个方面,所述方法采用固定剂量的结晶形式的三亚乙基四胺二琥珀酸盐。

[0054] 在本发明的另一方面,所述方法采用固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物。

[0055] 在某些实施例中,固定剂量的三亚乙基四胺琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐多晶型物。

[0056] 用于本发明方法的优选药物组合物包含固定剂量的基本上纯的三亚乙基四胺二琥珀酸盐或基本上由其组成或由其组成。另一种优选的组合物是固定剂量的基本上纯的三亚乙基四胺二琥珀酸无水物。另一种优选的组合物是包含基本上纯的三亚乙基四胺二琥珀酸盐晶体或基本上由其组成或由其组成的组合物,所述晶体具有三亚乙基四胺分子和琥珀酸盐分子的交替层。

[0057] 在本发明的另一方面,所述方法将受试者体内的铜水平维持在正常水平的约70%至约100%,从而通过降低哺乳动物患者体内的铜值和/或降低铜水平来实现。

[0058] 三亚乙基四胺二琥珀酸盐的总剂量可以单剂量单位或分剂量单位(例如,BID、TID)给药,并且优选维持受试者正常的尿和/或血浆铜水平,或者不低于正常值的约70%至

75%的水平。固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐通常BID施用。

[0059] 在一些实施例中,所述方法包含向受试者施用包含固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的片剂或胶囊或基本上由其组成或由其组成。优选地,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐以胶囊形式口服施用。

[0060] 在本文描述和/或要求保护的任何方法中,给予受试者的固定三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量方案不会将受试者体内铜的生理水平降低至耗竭状态或以其它方式危险的低水平。

[0061] 本发明还包括一种制品,例如零件试剂盒,其包含本文所述的固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐中的一或多种,例如口服固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐和描述其在疗法(例如在心力衰竭、糖尿病性心肌病、左心室肥大、威尔森氏病、癌症等的治疗)中的用途的一套印刷说明书(例如包装插页)或基本上由其组成。在一个实施例中,所述试剂盒不包括物理指令集,而是指或描述它们在线、在云端、在闪存驱动器或另一种存储机构中的可得性。在一个实施例中,说明书记载了三亚乙基四胺二琥珀酸盐将对先前接受三亚乙基四胺二盐酸盐或DPA的威尔森氏病的患者施用。

[0062] 前面的概述和下面的详细描述都是示例性和说明性的。它们旨在提供本发明的进一步细节,但不应被解释为进行限制。从以下对本发明的详细描述中,其它目的、优点和新颖特征将对本领域技术人员显而易见。

附图说明

[0063] 图1是用于描述实例3中TETA、MAT和DAT血浆浓度和尿铜排泄随时间变化的最终PK/PD模型的示意图。符号在缩写列表和表8中定义。

具体实施方式

[0064] 实践各种配制方法以获得期望的结果,最大化药物的吸收、分布、代谢和消除的药代动力学特征。分子三亚乙基四胺是碱性的,因为四个氮原子各有一个孤电子对。它是一种无色油状液体,但像许多胺一样,由于空气氧化产生的杂质而呈现微黄色。它可溶于极性溶剂。

[0065] 三亚乙基四胺的二盐酸盐被归类为BCS III类药物(高溶解度,低渗透性)。它以商标名称**Syprine®** (250mg)、**Clovique®** (250mg)和**Cufence** (300mg)出售。三亚乙基四胺也可以四盐酸盐的形式得到,以**Cuprior®** (150mg)市售。除了三亚乙基四胺二盐酸盐形式的口服生物利用度的高度可变性之外,以前对这些不同盐形式的相对生物利用度几乎一无所知(参见,例如,鲁军(Lu,Jun),三亚乙基四胺药理学及其临床应用(Triethylenetetramine Pharmacology and its Clinical Applications),分子癌症治疗学(Molecular Cancer Therapeutics)第9卷,第9期,pp.2458-2467(2007年9月)),并且对三亚乙基四胺二琥珀酸盐的生物利用度一无所知,我们已经确定其为BCS I类药物(高溶解度、高渗透性)而非BCS III类药物。

[0066] 推荐以**Syprine®**和**Clovique®**出售的三亚乙基四胺二盐酸盐以按照分剂量给予的750至1250mg/天的剂量空腹服用,成人每天分两次至四次服用,最大剂量为2000mg/天。

本品以胶囊形式以250毫克/胶囊(含有200mg当量的三亚乙基四胺)的剂量提供。**Cufence®** 三亚乙基四胺二盐酸盐产品以200mg胶囊出售,并且建议剂量为每天800至1600mg(4至8个胶囊),分2至4次分剂量服用。

[0067] **Syprine®**在1985年11月在美国被批准用于医疗用途,以用于治疗威尔森氏病。**Cloviquie®**在2019年10月在美国获得批准,用于治疗威尔森氏病。**Cufence®**在2019年7月被欧盟批准用于威尔森氏病患者的医疗用途。**Cloviquie®**是第一个FDA批准的便携式泡罩包装的曲恩汀产品,其提供室温稳定性长达30天,可能为患者提供更多便利性。**Cuprior™**是三亚乙基四胺的四盐酸盐。此产品以150mg强度的片剂提供,每片含有75mg当量的三亚乙基四胺。其在2017年9月被欧盟批准用于治疗威尔森氏病。所有这些产品都经配制进行立即释放。

[0068] 本发明的一个目的是提供三亚乙基四胺二琥珀酸盐的剂量和剂型,其在人体暴露/生物利用度方面与以前批准的用于治疗例如威尔森病的三亚乙基四胺的剂型相当。

[0069] 三亚乙基四胺二琥珀酸盐是曲恩汀的一种替代性高级盐形式。它更稳定,具有更好的分布和良好的活性。就其对光、温度和水分的耐受性而言,它明显优于目前用于治疗威尔森氏病的三亚乙基四胺二盐酸盐化合物。它不像二盐酸盐那样需要冷链储存或特殊包装。然而,适当给药是未知的。

[0070] 给药的评估基于许多因素而为复杂的,包括药物分子量、药物稳定性和半衰期、药物溶解度、药物透过粘膜屏障的渗透性、生物利用度(药物在全身循环或药理作用位点的可用性)、组织分布和清除率、药物的组织:血液比、与血浆蛋白的结合、剂量的活性、分解成活性代谢物、平均血浆浓度、排泄途径,以及对大剂量或负荷剂量和/或持续或基础药物水平的需要。除了分子量之外,对于铜螯合剂三亚乙基四胺二琥珀酸盐来说,这些变量中的大多数都是未知的。

[0071] 用于治疗疾病的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的最佳固定剂量已被发现,并在本文中根据以下实例中描述的研究提供,包括实例1的肠吸收研究和实例2的体内分布研究以及实例3和4中描述、解释和评估的人类临床研究结果,其揭示了意外的发现,包括关于三亚乙基四胺二琥珀酸盐的铜螯合活性和分解为主要代谢物、平均血浆浓度、全身组织分布、口服施用后的组织:血液比和三亚乙基四胺二琥珀酸盐生物利用度等的发现。

[0072] 实例1描述了体外肠吸收研究,表明三亚乙基四胺二琥珀酸盐在人体内将具有良好的吸收(估计为约70%)。

[0073] 实例2是在对雄性白化大鼠和雄性着色大鼠口服施用后,对标记的脱铜化合物三亚乙基四胺二琥珀酸盐的组织分布进行的定量体内研究。在42种不同的身体组织(包括两个物种的脑、心脏、肺和肝)中发现了显著的组织渗透。在雄性着色大鼠中,最大组织放射性浓度在1小时与8小时时间点之间均匀分布。在给药后1小时,在包括肺在内的各种组织中观察到最高水平的放射性,渗透到肺中持续了整整8小时。在给药后24小时,雄性着色大鼠体内正在进行消除,大约一半的测量组织的放射性水平低于定量限。在给药后72小时,雄性着色大鼠的放射性的消除几乎完成,约65%的组织低于定量限。

[0074] 实例3描述了在临床研究中健康成年志愿者口服2向交叉施用三亚乙基四胺二盐酸盐和三亚乙基二盐酸盐后,三亚乙基四胺、其两种主要代谢物以及铜排泄的人类群体

药代动力学和药效学建模,揭示了三亚乙基四胺二琥珀酸盐在人体内的生物利用度。群体PK分析囊括来自此研究的样本,其中每个受试者在双盲、剂量递增、2向交叉设计中接受三亚乙基四胺二琥珀酸盐和三亚乙基四胺二盐酸盐(Syprine®)。

[0075] 实例4比较三亚乙基四胺二琥珀酸盐和三亚乙基四胺二盐酸盐(Syprine®)描述了对实例2研究中获得的数据的进一步分析。实例2的研究发现,以二琥珀酸盐形式施用三亚乙基四胺导致三亚乙基四胺及其代谢物的暴露指数(C_{max}和AUC)降低。实例3中的建模比较了吸收动力学,并在实例3研究设计的背景下提供了两种盐形式的相对生物利用度的更全面的评估。实例4的分析将基于模型的群体分析应用于数据,以获得三亚乙基四胺及其两种主要代谢物(单乙酰化(MAT)和二乙酰化(DAT形式)的药代动力学的综合评估,并进一步评估铜的尿排泄的药效学,以考虑PK/PD参数诸如性别、年龄和剂量的潜在协变量,并比较来自实例2生物等效性研究的Syprine®和三亚乙基四胺二琥珀酸盐的PK/PD,特别是关于生物利用度。

[0076] 三亚乙基四胺二盐酸盐是铜螯合剂,其被FDA批准用于威尔森氏病的二线治疗。在欧洲,它以300mg胶囊形式提供,并且通常BID施用两个胶囊(每天总共1200mg)来治疗威尔森氏病。在美国,三亚乙基四胺二盐酸盐(Syprine®)以250mg胶囊形式提供,并且通常BID施用两个胶囊(每天总共1000mg)来治疗威尔森氏病。尚未对Syprine®剂量和/或剂量间的间隔进行系统评估。然而,根据有限的临床经验,在美国,Syprine®的推荐初始剂量为对于儿童患者500至750mg/天,以及对于成人患者750至1250mg/天(最高达2000mg/天),每天分两次、三次或四次分剂量服用。

[0077] 三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺的一种替代性高级盐形式,但是其目标给药是未知的,并且从现有技术中是无法得知。我们发现,为了使300mg三亚乙基四胺二盐酸盐中三亚乙基四胺的生物利用度加倍,需要约701mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐。为了使250mg三亚乙基四胺二盐酸盐中三亚乙基四胺的生物利用度加倍,我们发现需要约584mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐。为了使250mg三亚乙基四胺四盐酸盐(与二盐酸盐生物等效)中三亚乙基四胺的生物利用度加倍,我们发现需要约350mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐。

[0078] 因此,我们不仅发现包含约701mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐和约584mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐以及约350mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐或基本上由其组成的固定剂量对于投加这种盐形式是最佳的,而且基于分别为1000mg/天和1200mg/天的给药,约2336mg和2804mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐的每天剂量对于治疗威尔森氏病和其它铜病症是最佳的。

[0079] 使用上述儿童每天500至750mg和成人每天750至1250mg(且至多2000mg/天)的三亚乙基四胺二盐酸盐儿童和成人剂量范围,儿童每天三亚乙基四胺二琥珀酸盐的剂量范围为约1168mg至约1752mg,并且成人约为约1752mg至约2920mg(且至多4672mg/天)。如果临床反应不充分或游离血清铜持续>20mcg/dL,则增加剂量,并且长期维持剂量每6至12个月重新评估一次。

[0080] 曲恩汀二盐酸盐的另一个批准日剂量为成人1200至2400mg/天,分2至4次分剂量服用,并且儿童的剂量较低,通常为600至1500mg/天,此取决于年龄和体重,通常也以分剂量形式服用。基于本文的发现,优选的三亚乙基四胺二琥珀酸盐对于成人的剂量为约2803mg/天至约5606mg/天,并且对于儿童的剂量为约1402mg/天至约3504mg/天,此取决于

年龄和体重,所有通常都是以分剂量服用。

[0081] **Cuprior®** (三亚乙基四胺四盐酸盐) 也指示用于治疗对D-青霉胺疗法不耐受的成人、青少年和 ≥ 5 岁儿童的威尔森氏病,并以150mg片剂出售。批准和推荐的成人**Cuprior®**给药方案为每天450mg至975mg (3至 $6\frac{1}{2}$ 片),分2至4次分剂量服用。成人的三亚乙基四胺二琥珀酸盐给药方案将为每天约1051mg至约2278mg (通常使用350至350.4mg固定剂量,对应于150mg三亚乙基四胺四盐酸盐片剂)。儿科的起始剂量低于成人,并取决于年龄和体重。一般来说,儿童的**Cuprior®**剂量通常在每天225mg至600mg之间 ($1\frac{1}{2}$ 至4片),分2至4次分剂量服用。儿童的三亚乙基四胺二琥珀酸盐给药方案将为每天约525mg至约1400mg。

[0082] 我们进一步发现,用于最佳给药和生物利用度的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的其它固定剂量为约350mg、约400mg、约500mg、约600mg和约700mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐,包括约350.4mg、584mg和约701mg固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐。本文描述了示例性的有效量,并且包括以多个固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐给药的约2300mg/天至约2800mg/天范围内的剂量,例如包含约350mg、400mg、约500mg、约600mg和/或约700mg或基本上由其组成。三亚乙基四胺二琥珀酸盐的其它固定剂量的给药量等于约1050mg/天至约2300mg/天、约1400mg/天至约3500mg/天、约2400毫克/天至约3000mg/天以及约2800mg/天至约5600mg/天。

[0083] 举例来说,BID给予的四个350mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐胶囊将等于每天2800mg (大致相当于每天2804mg,这是我们发现的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的剂量,与在欧洲用于治疗威尔森氏病施用的每天1200mg三亚乙基四胺二盐酸盐是生物等效的)。例如,BID给予的三个400mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐胶囊将等于每天2400mg (大致相当于每天2337mg,这是我们发现的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的剂量,与美国用于治疗威尔森氏病施用的每天1000mg三亚乙基四胺二盐酸盐是生物等效的)。

[0084] 例如BID给予的三片500mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐固定剂量片剂/胶囊等将等于每天3000mg,其大致相当于我们发现的每天2804mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐生物等效剂量。例如BID给予的四片600mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐固定剂量片剂/胶囊等等于每天2400mg,其大致相当于我们发现的每天2337mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐生物等效剂量。例如BID给予的两片700mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐固定剂量片剂/胶囊等将等于每天2800mg,其大致相当于每天2804mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐生物等效剂量。

[0085] 可以计算和制造三亚乙基四胺二琥珀酸盐的其它方便的固定剂量,以提供每天生物等效剂量,诸如约2804mg/天和约2337mg/天。例如,可使用BID给予的五次280mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量来提供每天2800mg。此外,举例来说,可使用BID给予的四次290mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量来提供每天2320mg。

[0086] 约350mg、约584mg和约701mg固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐也可以分两次BID给予,以分别等于约1400mg、约2336mg和约2804mg的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的每天剂量。本文所述的这些和其它固定剂量以及每天总剂量可用于治疗威尔森氏病和其它铜病症,包括本文所述或参考的那些。

[0087] 一般来说,给药为每毫克三亚乙基四胺二盐酸盐或三亚乙基四胺四盐酸盐约2.336mg和2.337mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐。

[0088] 举例来说,我们还发现,每天2804mg三亚乙基四胺二琥珀酸盐 (以每天两次施用两

个700mg胶囊形式给予)将预计在整个给药间隔期间产生显著的尿铜排泄作用,对血清铜水平或用于治疗心脏病的其它实验室测试参数的副作用最小且可忽略,所述心脏病包括例如2型糖尿病患者的心脏病,其中也可以用这些剂量治疗心肌病(例如左心室质量增加)。用如所述给药的三亚乙基四胺二琥珀酸盐治疗左心室质量增加六个月,以约2800mg/天提供,将致使左心室质量增加显著下降至正常。

[0089] 我们进一步发现,用于最佳给药和生物利用度的固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐将可用于治疗本文所述的铜相关疾病、病症或病况,所述固定剂量以包含约350mg、400mg、约500mg、约584mg、约600mg和/或约700或701mg的多个固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐或基本上由其组成的形式给予。

[0090] 在一个方面,本发明涉及新发现的、固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐调配物以及它们用于治疗、预防或改善可用铜螯合剂治疗的疾病、病况和病症的用途。

[0091] 在某些实施例中,三亚乙基四胺二琥珀酸盐以初始剂量(或负荷剂量)随后以维持剂量施用,其中负荷剂量比维持剂量大约或至少1.5倍、约或至少2倍、约或至少2.5倍或约或至少3倍。维持剂量可以是例如约350mg、400mg、约500毫克、约584mg、约600mg和/或约700或701mg,每天1至4次。在一个实施例中,负荷剂量在第一次维持剂量之前施用一次、两次、三次、四次或五次,并且可以一天给予一次、两次、三次或四次。

[0092] 因此,举例来说,在一个实施例中,对于2337mg/天三亚乙基四胺二琥珀酸盐负荷剂量方案,三亚乙基四胺二琥珀酸盐以至少约3505mg (1.5×)、至少约4674mg (2×)、至少约5842mg (2.5×)、或至少约7001mg (3×)的日负荷剂量(其可在全天以一次或多次剂量提供)施用。在一个实施例中,三亚乙基四胺二琥珀酸盐负荷剂量以一天两次剂量施用,并且任选地在1、2、3、4或5天或更多天内施用。其它三亚乙基四胺二琥珀酸盐负荷剂量相应地基于每天或以其它频率给予的三亚乙基四胺二琥珀酸盐维持剂量,诸如,例如每天给予的2804或其它维持剂量进行计算。

[0093] 在一个实施例中,本文所述的三亚乙基四胺二琥珀酸盐固定剂量每天施用两次(BID),以提供所需的每天给药。在另一个实施例中,三亚乙基四胺二琥珀酸盐固定剂量每天施用三次(TID),以提供所需的每天给药。在仍进一步实施例中,三亚乙基四胺二琥珀酸盐固定剂量每天施用四次(QID),以提供所需的每天给药。

[0094] 重要的是,本文所述的三亚乙基四胺二琥珀酸盐制品的结晶无水形式在室温下具有至少约12个月(且至多五年)的保质期,三亚乙基四胺二琥珀酸盐API没有显著降解,并且保持在三亚乙基四胺二琥珀酸盐药物的杂质规格内。在一个实施例中,术语“没有显著降解”意指在至少约12个月内三亚乙基四胺二琥珀酸盐的纯度为至少约98.5%,没有高于约0.5%的降解产物,并且没有高于约0.1%的未鉴定的新杂质。

[0095] 定义

[0096] 本文提到的铜(II)也称为或 Cu^{+2} 或铜⁺²,或“二价铜”(铜⁺²阳离子)。

[0097] 与“包括(including)”、“含有(containing)”或“特征在于(characterized by)”同义的术语“包含(comprising)”为包括性的或开放式的并且并不排除来自药物(或方法里的步骤)的额外、未列出的要素或成分。短语“由……组成”排除药物(或方法里的步骤)中未指定的任何要素、步骤或成分。短语“基本上由……组成”是指指定材料和那些不会实质上影响药物(或在方法情况下,步骤)的基本和新颖特征的材料。本发明的基本和新颖特征在

整个说明书中描述,并且包括本发明的化合物、组合物和方法降低铜水平、降低总铜、降低铜值、降低铜(II)和/或螯合铜(II)的能力。本发明的基本和新颖特征还包括本发明的化合物、组合物和方法提供铜相关疾病、病症或病况或其症状的临床相关变化的能力。在本发明的方法中的一种的另一方面,本发明的其它组合物和方法的基本和新颖特征包括减少炎症和/或对抗血管渗漏的能力。此概念结合了例如减少或消除通过脉管系统壁或进入细胞外基质的过量流体迁移的有害作用和由这种过程引发或加剧的疾病的能力。除了在所附权利要求中使用术语“包含”和“基本上由……组成”之外,本说明书中使用的术语“包含”可以替换为“基本上由……组成”,并且反之亦然。因此,举例来说,本说明书中使用的短语“包含X的组合物”在权利要求中可以写成“包含X的组合物”或“基本上由X组成的组合物”。

[0098] 如本文所用,术语“受试者”或类似术语(包括“个体”和“患者”)所有这些术语在本文中可互换使用,是指任何哺乳动物,包括人类。本文优选的哺乳动物是人,包括成人、儿童,举例来说,包括患有威尔森氏病、心力衰竭、心肌病、左心室肥大、糖尿病或癌症的人。在某些实施例中,受试者、个体或患者是人。

[0099] 如本文所用,“哺乳动物”具有其通常的含义,并且包括灵长类动物(例如,人类和非人灵长类动物)、实验动物(例如,啮齿动物,诸如小鼠和大鼠)、农场动物(诸如牛、猪、水貂、羊和马)和家畜(诸如狗和猫)。在本发明的一个方面,将固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐添加到动物饲料或水中。本发明包括在动物饲料或水中包含固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的制品。

[0100] 如本文所用,术语“使患者接受”或“对……施用”包括确保三亚乙基四胺二琥珀酸盐在体内存在的任何主动或被动方式。优选的施用方式是口服。然而,设想到所有其它施用方式(特别是肠胃外,例如静脉内、肌肉内等)。

[0101] 术语“治疗铜相关疾病、病症或病况”等是指预防、减缓、减少、降低、停止和/或逆转以病理性、过量或不需要的铜为特征的疾病、病症或病况,或可用铜(II)螯合剂治疗的疾病、病症或病况,或其一或多种症状,包括例如威尔森氏病、心力衰竭、糖尿病性心肌病、左心室肥大、糖尿病、阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、特发性肺纤维化和癌症。本文所述的三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量和治疗方法可用于治疗铜相关的疾病、病症或病况。

[0102] “治疗铜过量”是指全部或部分地预防、减缓、减少、降低、停止和/或逆转受试者体内的病理性、过量或不需要的铜,和/或治疗过量或不需要的铜的一或多种症状。本文所述的三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量和治疗方法可用于治疗铜过量。

[0103] 术语“预防”是指全部或部分预防或改善或控制。因此,预防疾病、病症或病况意味着全部或部分预防,或改善或控制疾病、病症或病况。本文所述的三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量和治疗方法可用于预防铜过量以及铜相关的疾病、病症或病况。

[0104] 如本文所用,术语“有效量”或“治疗有效量”是指本文所述的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的量。示例性有效量在本文描述,并且包括在约2400mg/天至约3000mg/天范围内的剂量,所述剂量包含固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐或基本上由其组成。在一个方面,三亚乙基四胺二琥珀酸盐的有效量是至少约95%纯的、至少约99%纯的或100%纯的。在另一方面,有效量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐的结晶形式。在此方法的再一方面,有效量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物。在所述方法的又一方面,有效量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是固定剂量片剂或胶囊形式。在

一个优选的实施例中,三亚乙基四胺二琥珀酸盐的有效固定剂量为约400mg、约500mg、约600mg或约700mg。还描述了350mg的固定剂量。

[0105] 因此,在一个方面,“有效量”是指在需要的剂量和时间内达到所需治疗或预防效果的有效量。例如,但不进行限制,“有效量”可以指本文公开的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的量,其能够治疗铜相关疾病、病症或病况的体征和/或症状,或者以其它方式治疗铜过量。在一个实施例中,通过在本文公开的三亚乙基四胺二琥珀酸盐给药后确定受试者的反应和/或受试者尿液或血浆中铜的量来评估所述量的有效性。优选地,有效量维持正常的铜水平,或维持受试者的铜水平在正常水平的至少约70%内,或在本文所述的其它水平内。

[0106] 如本文所使用的,“预防有效量”是指以剂量计并且持续所需的时段以实现所期望的预防结果的有效的量。典型地,但不是必须地,由于在铜相关疾病、病症或病况之前或早期在受试者中使用预防性固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐,因此预防有效量可以小于治疗有效量。一旦铜相关的疾病、病症或病况已经得到控制,预防性剂量也可以用作维持剂量,例如,初始剂量、推注剂量或负荷剂量,所有均如本文所述。

[0107] “药学上可接受的”意指例如载体、稀释剂或赋形剂,其与调配物的其它成分相容,并且通常对其接受者施用是安全的,或者在施用时不会引起不希望的不良物理反应。如本文所使用的,“药学上可接受的载体”是指药物调配物中可以向受试者安全施用的成分,而不是活性成分。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。药学上可接受的稀释剂、载体和/或赋形剂包括可用于制备药物组合物的物质,可以与本文所述的化合物共同施用,同时允许它们发挥其预期功能,并且通常是安全、无毒的,并且既不是生物学上也不是其它方面不期望的。药学上可接受的稀释剂、载剂和/或赋形剂包含适于兽医使用以及人类药用的稀释剂、载剂和/或赋形剂。

[0108] 术语“药物制剂”是指一种制剂,其形式能使其中所含的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的生物活性有效,并且不含对将施用调配物的受试者具有不可接受的毒性的额外组分。本发明的药物调配物包含本文公开的固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐和药学上可接受的载体。

[0109] “铜螯合剂”结合或修改铜,包括那些选择性地结合或修改铜(I)或铜(II)值的螯合剂,并且用于使血液和/或组织铜水平正常化并防止不需要的铜积累。铜螯合剂包括其前药。使铜值正常化的其它药剂以及选择性地结合或修改铜(II)的其它药剂,无论是现在已知的还是以后开发的,都包括在此定义内。

[0110] “铜多价合剂”或“脱铜剂”是能够结合和/或抑制任何或所有各种形式的铜的能力的药剂。脱铜剂包括螯合剂、降低总铜的药剂、降低铜值的药剂、降低细胞内可用铜量的药剂,包括本文所述的那些。脱铜剂还包括铜改性剂,即用于通过修改体内铜含量(包括细胞内含量)或通过修改铜可用性来减少铜的药剂。应当理解,铜是必需的细胞内营养物,并且因此本发明包括降低细胞内铜含量且同时保持安全的患者铜水平的方法。脱铜剂包括铜去除剂,即从身体和/或细胞内去除铜的药剂。

[0111] 如本文所用,术语“治疗(treatment或treating)”哺乳动物中铜相关疾病、病症或病况的体征和/或症状在上下文允许的情况下意指(i)预防病况或疾病,即避免疾病的一或多种临床症状;(ii)抑制病况或疾病,即阻止一或多种临床症状的发生或进展;和/或(iii)缓解病况或疾病,即导致一或多种临床症状的消退。因此,“治疗(treatment)”(及其语法变

体,诸如“治疗(treat或treating)”)通常指试图改变被治疗的个体、组织或细胞的自然进程的临床干预,并且可以为了预防或在临床病理学过程中进行。所述术语不一定意味着对受试者进行治疗直到完全恢复。因此,“治疗”包括减少、减轻或改善铜相关疾病、病症或病况的症状或严重程度,或预防或以其它方式降低发生铜相关疾病、病症或病况的风险。其还可以包括维持或促进铜相关疾病、病症或病况的完全或部分缓解状态。本文所述的三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量用于治疗。

[0112] 本文使用的“与……相关联”仅仅意味着两种情况都存在,而不应解释为意味着一个必然与另一个有因果联系。

[0113] 术语“可螯合的铜”包括可以被三亚乙基四胺二琥珀酸盐结合的任何可螯合形式的铜,诸如铜(II)。因此,术语“铜值”(例如,元素、盐等)意指在体内可用于被三亚乙基四胺二琥珀酸盐螯合的任何适当形式的铜(例如,在细胞外组织中,并且可能与细胞外部和/或胶原结合,而不是细胞内组织)。本发明的某些方法和组合物可用于结合可螯合的铜,例如可螯合的铜(II),同时保持正常或接近正常的铜值(例如,在正常值的约70%至75%内,例如,或对受试者无害的其它铜值)。

[0114] 所描述和要求保护的三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量选择性地结合铜(II)或修改铜(II)值,并用于使血液和/或组织铜水平正常化并防止不需要的铜积累,并对患有可通过铜螯合剂治疗的疾病、病症或病况的受试者施用。

[0115] 三亚乙基四胺二琥珀酸盐包括其前药,其剂量根据三亚乙基四胺二琥珀酸盐前药的“前”部分的分子量进行修改。

[0116] 本文公开的这些剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐可以单独施用或与一或多种附加成分联合施用,并且可以配制成包括一或多种药学上可接受的赋形剂、稀释剂和/或载体的药物组合物。在某些实施例中,本发明提供了一种组合产品,其包含(a)一定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐,和(b)一或多种抗炎剂和/或抗血管渗漏剂,其中组分(a)和(b)适于同时或依次施用。在本发明的特定实施例中,根据本发明的组合产物以这样的方式使用,使得组分中的至少一种组分被施用,而另一种组分仍对正在治疗的受试者具有效果。三亚乙基四胺二琥珀酸盐和/或抗炎剂和/或抗血管渗漏剂的剂量可以包含在相同或一或多种不同的容器中,并单独施用,或以任何组合混合在一起,并同时施用。优选地,三亚乙基四胺二琥珀酸盐和/或抗炎剂和/或抗血管渗漏剂中的两种或全部三种组合在胶囊中用于口服施用。

[0117] 在另一个实施例中,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐与三亚乙基四胺代谢抑制剂联合使用。设想到此包括(尽管不以任何方式受本说明书限制)酶N-乙酰氨基转移酶和/或精胺/亚精胺N-乙酰氨基转移酶(SSAT1和/或SSAT2)的抑制剂。

[0118] 三亚乙基四胺被认为作为铜(II)离子的强螯合剂而起作用。因此,举例来说,对威尔森氏病的治疗被认为至少部分是通过增强铜(II)离子从体内的清除来起作用的。然而,三亚乙基四胺也可以通过减少肠道对铜的吸收而在治疗中发挥双重积极作用。例如,抑制铜依赖性酶的作用可以通过在细胞外或细胞内达到有效浓度的三亚乙基四胺来优化,从而竞争性地抑制这些酶的作用。在这些条件下,增强铜的消除将提供额外的治疗效用。

[0119] 已知Syprine®的特征在于非常差的肠吸收(口服生物利用度基本上低于10%)。这部分地解释为其多个可电离(碱性)胺基。三亚乙基四胺的增强吸收将允许剂量的显著减

少,可能具有改善的副作用特征,并且甚至可能具有更好的功效。

[0120] 三亚乙基四胺通过N-乙酰氨基转移酶或精胺/亚精胺N-乙酰氨基转移酶(SSAT 1和/或SSAT2)在肝脏中快速代谢——或在这些酶以足够浓度表达的任何情况下——是导致Syprine®及其其它盐形式需要高剂量的限制因素。因此,将曲恩汀或其各种盐形式(包括三亚乙基四胺二琥珀酸盐)与这些酶的抑制剂共同施用可有利于增强生物利用度和降低剂量。因此,三亚乙基四胺二琥珀酸盐(或三亚乙基四胺二盐酸盐或三亚乙基四胺四盐酸盐)可以与N-乙酰氨基转移酶和/或精胺/亚精胺N-乙酰氨基转移酶(SSAT1和/或SSAT2)的抑制剂一起配制或共同施用。这种药剂包括诸如对乙酰氨基酚、二烯丙基硫和卡泊芬净等分子。在另一方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐与亚精胺-精胺-N(1)-乙酰基转移酶抑制剂(SSAT1和/或SSAT2)联合使用。

[0121] 这种组合产品可以根据本文提供的方法和原理以及本领域已知的那些方法和原理来制造。还提供了用于本文所述方法的组合产品。

[0122] 对于单独或共同施用,可以制备固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐调配物以提供快速或缓慢释放;立即释放、延迟释放、定时释放或持续释放;或它们的组合。调配物可以是液体、溶液、悬浮液、乳液、酏剂、糖浆、糖浆剂、滴剂(包括但不限于滴眼剂)、片剂、颗粒、粉末、锭剂、软锭剂、胶囊、凝胶、软膏、霜剂、洗剂、油、泡沫、喷雾剂、雾剂或气雾剂的形式。例如,三亚乙基四胺二琥珀酸盐的胃滞留或粘膜粘附调配物可以增强或延长这种治疗物品在胃肠道中的吸收。三亚乙基四胺二琥珀酸盐的延迟释放形式将用于避免代谢,延长和增加吸收,并通过在药物通过胃后释放药物来增加生物利用度。各种不同的方法可用于实现这些经修改释放调配物。这种技术是本领域技术人员所熟知的,选择特定的技术和赋形剂来解决由所讨论的物品的ADME特征所引起的问题或挑战。

[0123] 粘膜粘附调配物含有特定的聚合物,所述聚合物粘附至上皮内层的水合部位处。因此,例如在通过胃后在十二指肠中释放的药物将粘附至胃肠道的壁,导致药物从此部位延长并优先释放和吸收。颊、角膜、呼吸和阴道组织也衬有粘膜组织,并因此是这种调配物的靶标。大多数聚合物的粘膜粘附特性随着分子量的增加而增加,因此发现例如200,000至700,000范围内的MW与聚氧乙烯聚合物和共聚物的粘膜粘附增强相关。粘度、孔径和交联度是选择粘膜粘附聚合物时考虑的其它因素。氢键结、柔韧性、水合程度和溶胀也是从粘膜粘附聚合物进行药物递送中的重要因素。除了聚氧乙烯/聚乙烯醇之外,由聚合丙烯酸酯和甲基丙烯酸酯以及羟基化甲基丙烯酸聚合物构成的材料也可用于此目的。壳多糖、氰基丙烯酸盐、透明质酸、羟丙基纤维素、结冷胶、聚羧乙烯聚合物和羧甲基纤维素钠是已经用于粘膜粘附调配物的其它相关聚合物。开发鼻腔粘膜粘附调配物时注意到这种组织的特殊性。鼻递送系统包括甲基乙基醚、(羟丙基)甲基纤维素(HPMC)、羧甲基纤维素钠、羧乙烯聚合物-934P和Eudragit RL-10的共聚物。粘蛋白、明胶、聚卡波非和泊洛沙姆是用于阴道或直肠粘膜粘附调配物的聚合物的实例。用于GI粘膜粘附系统的口服四送系统以壳聚糖、聚丙烯酸、藻酸盐、聚甲基丙烯酸和羧甲基纤维素钠为代表。使用这种化合物可以制备粘膜粘附固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐调配物。

[0124] 胃滞留调配物通常经设计用于在胃和近端肠中具有最佳吸收窗的药物。流体动力学平衡系统、漂浮微球、产气片剂、溶胀以防止从胃中流出的调配物和粘附于胃壁的调配物是这种调配物的实例。膨胀至它们不能轻易通过幽门括约肌的尺寸的“栓塞”系统是胃滞留

调配物的一个实例。低密度(漂浮)或产气(二氧化碳)调配物保留延长的时间;这种技术可以联合使用来优化这种性能。也经常使用粘膜粘附聚合物将这种效果设计成调配物。海藻酸钠与碳酸钠或碳酸氢钠的组合可产生“漂流”效应,使得基于胃液中的浮力而将调配物保留在胃中。使用这些方法和化合物可以制备胃滞留固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐调配物。

[0125] 本发明方法中使用的优选铜螯合剂是本文所述的固定剂量以及使用这些固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的总施用量。

[0126] 在一个方面,固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是基本上纯的,包括至少约90%纯的、至少约95%纯的和100%纯的。在一个方面,三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物。在一各方面,三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐的结晶形式或三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物。

[0127] 在本发明的另一方面,药学上可接受的盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐的多晶型物。三亚乙基四胺二琥珀酸盐多晶型物描述于例如美国专利第8,067,641号中。在一个方面,固定剂量包含三亚乙基四胺二琥珀酸盐的多晶型物,其中所述多晶型物是具有见于美国专利8,067,641中表3B的坐标所定义的结构晶体。在本发明的另一方面,固定剂量包含三亚乙基四胺二琥珀酸盐的多晶型物,其中所述多晶型物是具有见于美国专利8,067,641中表3C的坐标所定义的结构晶体。在本发明的其它方面,固定的三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量基本上由具有美国专利第8,067,641号中表3B的坐标所定义的结构晶体的三亚乙基四胺二琥珀酸盐多晶型物组成,或者基本上由具有美国专利第8,067,641号中表3C的坐标所定义的结构晶体三亚乙基四胺二琥珀酸盐多晶型物组成。

[0128] 固定剂量和每天或其它定期给药

[0129] 有效固定的三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量为约400mg、约500mg、约600mg或约700mg。还提供了350mg的固定剂量。固定剂量用于,例如,在约2400mg/天至约3000mg/天的范围内或在其它时间段内,施用三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量。在一个方面,三亚乙基四胺二琥珀酸盐的有效量是至少约95%纯的、至少约99%纯的或100%纯的。在另一方面,有效量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐的结晶形式。在此方法的再一方面,有效量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物。在所述方法的又一方面,有效量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐是固定剂量片剂或胶囊形式。总剂量可以单剂量单位或分剂量单位(例如,BID、TID)给药,并且优选维持受试者正常的尿和/或血浆铜水平,或者不低于正常值的约70%至75%的水平。在一个优选的实施例中,固定剂量BID施用。

[0130] 其它适应症

[0131] 在一些实施例中,本发明提供了一种化妆品组合物,其包含美容有效量的铜多价合剂或脱铜剂,例如铜螯合剂,诸如铜(II)螯合剂,例如三亚乙基四胺二琥珀酸酯。在一些实施例中,本发明提供了通过施用包含铜多价合剂或脱铜剂或基本上由其组成的组合物来预防或减缓脱发或促进毛发发育的方法。在一些实施例中,本发明提供了通过施用包含铜多价合剂或脱铜剂或基本上由其组成的组合物来预防、减少或消除肝斑或促进正常皮肤发育的方法。在一些实施例中,本发明提供了通过施用包含铜多价合剂或脱铜剂或基本上由其组成的组合物来预防、减少或消除脂肪团或促进正常皮肤发育的方法。在一些实施例中,

铜多价合剂或脱铜剂是铜螯合剂。在一些实施例中,铜螯合剂是铜(II)螯合剂,例如三亚乙基四胺。在一些实施例中,三亚乙基四胺是三亚乙基四胺二琥珀酸盐。在一些实施例中,用于预防或减缓脱发或促进毛发发育、用于预防、减少或消除肝斑或脂肪团或促进正常皮肤发育的铜多价合剂或脱铜剂作为局部药物调配物施用。在一些实施例中,局部调配物以糊剂、软膏、油、乳膏、洗剂、泡沫、凝胶、酊剂、粉末、喷雾剂或贴剂的形式提供。在一些实施例中,用于预防或减缓脱发或促进毛发发育、用于预防、减少或消除肝斑或脂肪团或促进正常皮肤发育的铜多价合剂或脱铜剂通过微针或通过粘合贴剂、非粘合贴剂、封闭贴剂或微电子贴剂施用。在一些实施例中,用于预防或减缓脱发或促进毛发发育、用于预防、减少或消除肝斑或脂肪团或促进正常皮肤发育的铜多价合剂或脱铜剂经肠(例如,口服、舌下、口腔、直肠等)、肠胃外(例如,静脉内、肌内、皮下等)、鼻内施用、透皮施用、眼部施用、吸入施用等。在一些实施例中,用于预防或减缓脱发或促进毛发发育、用于预防、减少或消除肝斑或脂肪团或促进正常皮肤发育的铜多价合剂或脱铜剂使用延迟或持续释放系统施用。持续释放系统所含化合物的量将取决于,例如,组合物的施用部位、本发明化合物释放的动力学和持续时间以及待治疗和/或护理的病况、病症和/或疾病的性质。本领域的技术人员已知可以施用含有本发明的化合物的化妆品或药物组合物的不同装置。

[0132] 在一些实施例中,对接受治疗以预防或减缓脱发或促进毛发发育、预防、减少或消除肝斑或脂肪团或以其它方式促进正常皮肤发育的区域进行预处理,以促进铜多价合剂或脱铜剂转运至皮肤和/或皮肤相关联(例如表皮、真皮、基底层和/或毛囊)区域的所需区域。例如,待处理的皮肤区域可通过皮肤磨削技术(诸如应用糖晶体、纤维素植物物质、冷冻CO₂、聚合物珠和/或二氧化硅颗粒)、通过手工应用等来处理。类似地,待用铜多价合剂或脱铜剂治疗的皮肤区可通过施用减少角质层的厚度或增加角质层的渗透性的化学药剂诸如表面活性剂和/或化学还原剂来准备。在一些实施例中,在施用铜多价合剂或脱铜剂之前或与此同时,可通过施用脉冲激光和/或声能(例如,经由超声波)来准备皮肤和/或皮肤相关联区域。类似地,在施用铜多价合剂或脱铜剂之前,可以用剥离技术(诸如施用和随后除去粘合膜、胶带或蜡)来准备皮肤。在这种皮肤准备性处理之前、期间和/或之后,可以用含铜多价合剂或脱铜剂的组合物来处理皮肤。例如,如上所述的皮肤准备性处理可以在施用含防御素的组合物之前施用。替代地,如上所述的皮肤准备性处理可以在将含防御素的调配物施用于皮肤之后施用。铜多价合剂和脱铜剂可以连续或不连续的方式施用。

[0133] 制造

[0134] 适用于本发明的三亚乙基四胺二琥珀酸盐可以从已知的制造来源获得或使用本领域已知的方法合成。例如,制造方法描述于美国专利9,556,123中,所述专利描述了三亚乙基四胺及其生产中有用的中间体的合成。美国专利8,067,641描述了用于合成基本上纯的三亚乙基四胺二琥珀酸盐、基本上纯的三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物和三亚乙基四胺二琥珀酸盐多晶型物的方法。

[0135] 其它铜多价合剂和脱铜剂,包括其它铜螯合剂,以及组合物和制剂可以从各种制造商或制造来源获得,或者根据本领域的方法制备。

[0136] 药物制剂

[0137] 还提供了药物制剂,其包括存在于药学上可接受的载体中的固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐。术语“药学上可接受的”具有上文所述的含义,并且包括由联邦或州政府

的监管机构批准的或在美国药典或其它公认的药典中列出的用于哺乳动物诸如人类的那些媒剂。术语“媒剂”是指稀释剂、佐剂、赋形剂或载剂,本发明化合物与其一起配制以便向哺乳动物施用。

[0138] 在一个方面,本发明提供了药物制剂,其中固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐(单独或与另一种活性成分一起)通过将它(或它们)与一或多种药学上可接受的稀释剂、载体、佐剂等以药物调配物领域技术人员已知的方式进行组合来制备。固定剂型可通过将其与一或多种药学上可接受的稀释剂、载体、佐剂等以药物调配物领域技术人员已知的方式进行组合来制备。

[0139] 赋形剂的选择将部分取决于活性成分以及用于施用组合物的特定方法。因此,本发明药物组合物有多种合适的调配物。

[0140] 适用于本文的剂型包括本领域已知的适用于化合物药物调配物的任何适当剂型,所述化合物适用于哺乳动物特别是人类,特别是(尽管不是唯一的)适用于在包含对人类施用的治疗化合物的溶液、片剂或胶囊中稳定的那些剂型。

[0141] 组合物可以采取任何标准已知剂型的形式,包括上面提到的那些,并且包括片剂、丸剂、胶囊、半固体、粉末、持续释放调配物、溶液、悬浮液、酏剂、气雾剂、注射用液体、透皮递送装置(例如,透皮贴剂)或任何其它合适的组合物。考虑到待治疗的病状的性质和待使用的活性剂,本发明所涉及的领域的普通技术人员将容易地理解最适当的剂型,而无需任何过度的实验。本文描述了固定三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量和剂量范围。应当理解,其它活性剂(例如,抗炎剂)中的一或多种可以与三亚乙基四胺二琥珀酸盐固定剂量一起配制成单一组合物。在某些实施例中,优选的剂型包括可注射溶液、透皮贴剂中的局部调配物和口服调配物。本发明的剂型包括本领域现在已知的或以后发现的任何合适的剂型,其适用于适合对人类施用的化合物的药物调配物。

[0142] 一个实例是片剂、胶囊、锭剂等的口服递送形式,或任何液体形式,如果是口服剂型,则其能够在例如消化道中引发作用之前保护化合物免于降解。

[0143] 本发明的特定调配物为固体形式,特别是用于口服施用的片剂或胶囊。

[0144] 优选为片剂或胶囊形式的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的缓释或控释制剂。

[0145] 除了标准稀释剂、载体和/或赋形剂之外,根据本发明的组合物可以与一或多种附加成分一起配制,或者以这种方式配制,以便例如增强活性或生物利用度,有助于保护其完整性或增加其半衰期或保质期,能够在对受试者施用缓慢释放,或者提供其它期望的益处。例如,缓释媒剂包括大分子单体、聚(乙二醇)、透明质酸、聚(乙烯基吡咯烷酮)或水凝胶,以允许产品随时间从基质中持续释放。作为进一步的实例,组合物还可以包括防腐剂、增溶剂、稳定剂、湿润剂、乳化剂、甜味剂、着色剂、调味剂、包衣剂、缓冲剂等。本发明所涉及领域的技术人员将很容易鉴定对于特定目的可能需要的其它添加剂。

[0146] 本发明的固定三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量可以通过持续释放系统施用。缓释组合物的合适的实例包含呈成形制品,例如膜或微胶囊形式的半渗透性聚合物基质。持续释放基质包括聚交酯(美国专利第3,773,919号;EP 58,481)、L-谷氨酸和 γ -乙基-L-谷氨酸盐的共聚物、聚(甲基丙烯酸2-羟乙盐)、乙烯乙酸乙烯酯或聚-D-(-)-3-羟基丁酸(EP 133,988)。持续释放组合物还包括脂质体包裹(例如,包封)的化合物。含有铜螯合剂(单独或与抗病毒和/或抗炎剂一起)的脂质体可以通过已知方法制备,包括例如在以下文献中描述的

那些方法:DE 3,218,121;EP 52,322;EP 36,676;EP 88,046;EP 143,949;EP 142,641;日本专利申请83-118008;美国专利第4,485,045和4,544,545号;以及EP102,324。通常,脂质体可用于包封三亚乙基四胺二琥珀酸盐,并且是小的(约200至800埃)单层类型,其中脂质含量大于约30摩尔%胆固醇,所选择的比例根据最有效的疗法进行调整。例如,还可以使用PGLA纳米颗粒或微颗粒或原位离子激活的胶凝系统进行缓慢释放递送。

[0147] 本发明的另一个目的是提供三亚乙基四胺二琥珀酸盐的调配物,其药代动力学特征优于早期调配物。“优于”应理解为增加三亚乙基四胺的吸收、分布、减缓代谢或消除可导致增强的治疗功效,或在较低剂量下的等效功效。还应理解,可以用三亚乙基四胺的不同盐形式或游离胺碱来实施任何或所有这些相同的调配物,以改变或改善它们的药代动力学特征,从而为预期用途提供改善的或更合适的产品。这种目的可以通过修改三亚乙基四胺二琥珀酸盐或三亚乙基四胺的其它盐的调配物以获得所需结果来实现。

[0148] 在一个这种实例中,可以使用胃滞留剂型(GRDF)配制所需的盐形式。配制这种递送形式的目的是延长胃滞留时间,并且因此增强吸收。这种策略可以采用例如:1)通道延迟剂;2)大的单一单位剂型;3)生物粘附药物递送系统;4)重球团;和5)浮力形式。聚合物诸如羧乙烯聚合物、壳聚糖、海藻酸钠、HPMC、聚丙烯酸、聚乙二醇和这些聚合物的改性形式以各种方式用于实现胃滞留,仅举几个实例。

[0149] 在用于非立即释放的经修改剂型的第二实例中,产品被配制成延迟药物的释放,直至剂型离开胃之后。在延迟释放形式中,释放特征类似或等于立即释放形式,但是药物的实际释放被例如肠溶包衣延迟,使得活性成分直至完全通过胃后才从剂型颗粒释放。作为这种策略的一个实例,肠溶包衣是通过使用例如(甲基)丙烯酸聚合物来实现的,所述聚合物直至pH高于5.5时才溶解在水性介质中,因此获得了通过胃而不释放活性成分的剂型。

[0150] 延长释放剂型不同于延迟释放剂型,因为药物的释放特征超过了立即释放产品的释放特征。延长释放的机制包括延迟溶解、扩散、通过渗透压从完整剂型递送、维持水文或流体动力学平衡以及离子交换。获得延长释放递送的传统方式是在非离子纤维素醚(诸如HPMC;参见US8865778B2)的基质中,在存在选定量的非交联溶胀剂诸如羧甲基淀粉或淀粉羟乙酸钠的情况下配制。实现相同结果的其它方法是已知的。例如,含有渗透剂和水溶胀性聚合物的药物递送调配物核心易于用作驱动力,以受控、延长的方式递送药物。

[0151] 用于本发明组合物的方法和制剂中的治疗性调配物可以通过药学领域公知的任何方法来制备。参见例如吉尔曼(Gilman)等人(编辑)古德曼和吉尔曼的:治疗学的药理学基础(THE PHARMACOLOGICAL BASES OF THERAPEUTICS)(第8版)佩加蒙出版社(Pergamon Press)(1990);和雷明顿(Remington),实践和药学的科学(THE SCIENCE OF PRACTICE AND PHARMACY),第20版.(2001)麦克出版公司,宾夕法尼亚州伊斯顿;安飞士(Avis)等人.(编辑)(1993)药物剂型:肠胃外药物(PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS:PARENTERAL MEDICATIONS)德克尔(Dekker,N.Y.);利伯曼(Lieberman)等人(编辑)(1990)药物剂型:片剂(PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS:TABLETS)德克尔;以及利伯曼等人.(编辑)(1990)药物剂型:分散系统(PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS:DISPERSE SYSTEMS)德克尔。组合物也可以根据标准技术配制,如可见于这种标准参考文献中,例如热纳罗(Gennaro AR):雷明顿:药学的科学与实践(The Science and Practice of Pharmacy),第20版,利平科特(Lippincott),威廉姆斯&威尔金斯(Williams&Wilkins),2000。

[0152] 本发明的特定调配物是用于鼻内施用的形式,例如纳米乳剂。本发明的其它调配物是透皮贴剂的形式。

[0153] 本发明的其它调配物基本上由固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐组成,其量在本文中描述。优选为基本上由固定剂量的基本上纯的三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物组成的调配物,即为至少约90%纯的、至少约95%纯的或100%纯的。

[0154] 制品/试剂盒

[0155] 本发明还包括一种制品或“试剂盒”,其含有用于治疗铜相关疾病、病症或病况的物质。试剂盒包含容器,所述容器包含固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐,优选基本上纯的三亚乙基四胺二琥珀酸盐无水物,或基本上由其组成。试剂盒还可包含在容器上或与容器相关联的标签或包装插页(或注明可在线或在云端、或在闪存驱动器或另一种存储机构中获得)。术语“包装插页”用于指通常包括在治疗产品的商业包装中(或可在线获得)的说明书,其包含关于适应症、用法、给药、施用、禁忌症和/或关于使用这种治疗产品的警告的信息。合适的容器包括例如瓶子、泡罩包装等。容器可由多种合适的材料,包括例如塑料形成。容器也可以是包含片剂或胶囊形式的组合物的包装,后者是优选的,举例来说,其中固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐在泡罩包装中提供。标签或包装插页指示所述组合物用于治疗患有(或怀疑患有)与铜过量或不需要的铜有关或者可以用铜螯合剂治疗的疾病、病症或病况的受试者。在一个实施例中,说明书记载了三亚乙基四胺二琥珀酸盐将对先前接受三亚乙基四胺二盐酸盐或DPA的威尔森氏病的患者施用。在其它实施例中,说明书记录了将三亚乙基四胺二琥珀酸盐施用于患有心力衰竭、糖尿病性心肌病、左心室肥大、癌症或本文所述的其它疾病、病症或病况的患者。说明书将参考本文所述的剂量或给药方案中的一或多种。

[0156] 在本发明的另一个实施例中,包含用于治疗本文所述病症的一剂或多剂三亚乙基四胺二琥珀酸盐的制品。所述制品包含容器、标签和包装插页。合适的容器包括例如瓶子、泡罩包装等。容器可以由诸如玻璃或塑料等各种材料形成。容器容纳有效治疗所述病况的三亚乙基四胺二琥珀酸盐组合物的剂量。容器上或与之相关联的标签指示三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量组合物用于治疗所选择的病况。在某些实施例中,患者患有威尔森氏病。在一些实施例中,患者患有先前已经治疗的威尔森氏病,并且对他或她先前的疗法不耐受。在某些实施例中,患者患有心力衰竭。在某些实施例中,患者患有糖尿病性心肌病。在某些实施例中,患者患有左心室肥大。在某些实施例中,患者患有癌症。包装插页可以任选地包含例如在clinicaltrials.gov上发现的或后来发表的一些或全部临床试验结果。

[0157] 使用固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的疗法的评估可通过参考哺乳动物(包括人类)的可用铜值来完成。本文中提到的与铜值的存在相关的“升高”将包括当测量时具有至少约10mcg游离铜/dL血清的人。等于总血浆铜减去血浆铜蓝蛋白结合的铜的游离铜的测量可以施用各种方法来进行。优选程序公开在SYPRINE(曲恩汀盐酸盐)胶囊(一种用于治疗威尔森氏病的化合物)的Merck&Co数据表(www.Merck.com)中,其中进行24小时尿铜分析,通过计算定量确定的总铜与血浆铜蓝蛋白-铜之间的差异来确定血清中的游离铜。

[0158] 实例

[0159] 本发明涉及并描述了与围绕本文所述和要求保护的固定剂量的三亚乙基四胺二琥珀酸盐的发明的发现相关的方法。

[0160] 提出以下实例以便向本领域普通技术人员提供如何制造和使用本发明的完整公开内容和描述,并且不旨在限制诸位发明人考虑作为其发明的范围,也不旨在表示以下实验是进行的全部或仅有的实验。

[0161] 实例1描述了

[0162] 实例1描述了使用标准测定的体外研究,所述研究预测了三亚乙基四胺二琥珀酸盐将在人体中具有良好的吸收(估计为约70%)。

[0163] 实例2是在对雄性白化大鼠和雄性着色大鼠口服施用后,对三亚乙基四胺二琥珀酸盐的组织分布进行的定量体内研究。在42种不同的身体组织(包括两个物种的脑、心脏、肺和肝等)中发现了显著的组织渗透。在雄性着色大鼠中,最大组织放射性浓度在1小时与8小时时间点之间均匀分布。在给药后1小时,在包括肺在内的各种组织中观察到最高水平的放射性,渗透到肺中持续了整整8小时。在给药后24小时,雄性着色大鼠体内正在进行消除,大约一半的测量组织的放射性水平低于定量限。在给药后72小时,雄性着色大鼠的放射性的消除几乎完成,约65%的组织低于定量限。

[0164] 在实例3和4中描述了脱铜化合物三亚乙基四胺二琥珀酸盐的新型给药方案,其描述了对健康成年志愿者口服2向交叉施用三亚乙基四胺二琥珀酸盐和三亚乙基四胺二盐酸盐后,三亚乙基四胺、其两种主要代谢物以及铜排泄的人类群体药代动力学和药效学建模,并揭示了三亚乙基四胺二琥珀酸盐的生物利用度。

[0165] 实例1

[0166] 通过使用口服生物利用度的Caco-2体外模型来评估参与化合物渗透性的Pgp

[0167] 哺乳动物肠组织中p-糖蛋白(Pgp)外排泵的存在已被证实,并在药物的主动转运机制中发挥关键作用。

[0168] 本研究的目的是使用人体肠道屏障的Caco-2体外模型,评估Pgp在测试化合物三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)的渗透性和代谢中的意义。

[0169] 作为在体外高度可溶且低毒性的化合物,并且基于下文所述的体外Papp值,预测三亚乙基四胺二琥珀酸盐将在人体内具有良好的吸收(估计为约70%)。

[0170] 肠转运研究中最常用的模型是人肠细胞系,特别是来源于结肠癌的HT29和Caco-2细胞系(威尔(Wils P.),等人.分化的肠上皮细胞系作为用于预测药物肠吸收的体外模型(Differentiated intestinal epithelial cell lines as in vitro models for predicting the intestinal absorption of drugs).细胞生物学和毒理学(Cell Biol.Toxicol).10:393,1994;Boulenc X.肠细胞模型:它们在评估异生物质的代谢和吸收中的用途(Their use in evaluating the metabolism and absorption of xenobiotics).STP制药科学(STP.Pharma.Sciences)7:259,1997),并且在药物研究中最广泛用于评估肠吸收的是Caco-2细胞。默尼耶(Meunier V),等人.人肠上皮细胞系Caco-2;药理学和药代动力学应用(The human intestinal epithelial cell line Caco-2; Pharmacological and pharmacokinetic applications).细胞生物学和毒理学.11:187,1995.在增强其极化的条件下,在固体渗透膜上培养21天,这种结肠癌来源的细胞系获得完全分化的细胞的汇合单层,其顶端微绒毛模拟肠腔和完全分化的基底外侧表面,相当于通常与血液系统接触的细胞表面。此外,它们表现出与人小肠上皮细胞非常相似的表型和生理特征。茨维鲍姆(Zweibaum A.),等人.培养细胞系在肠细胞分化和功能研究中的应用

(Use of cultured cell lines in studies of intestinal cell differentiation and function). 在:美菲尔德 (M.Field) 和弗里泽尔 (R.A.Frizzel) (编辑), 生理学手册 (Handbook of physiology). 胃肠系统 (The gastrointestinal system). 第IV卷: 肠道吸收和分泌 (Intestinal absorption and secretion). 美国生理学会, 华盛顿哥伦比亚特区 (Washington DC). 223, 1991. 参见阿瑟森 (Artursson P.), 和卡尔森 (Karlsson J.) 人类口服药物吸收与人类肠上皮 (Caco-2) 细胞表观药物渗透系数之间的相关性 (Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells). 生物化学与生物物理研究通讯 (Biochem. Biophys. Res. Com). 175:880, 1991.

[0171] 本项目的主要目的是解决参与 [^{14}C] - 放射性标记的测试物质三亚乙基四胺二琥珀酸盐 ([$2\text{-}^{14}\text{C}$]PX811019) 的代谢和渗透性的Pgp, 并进一步确定未标记的三亚乙基四胺二琥珀酸盐测试物质 (PX811019) 是否表示Pgp抑制剂或底物。为此, 已经评估了单层完整性和功能性的Caco-2细胞极化培养物被用作GI屏障的体外模型。

[0172] 评估未标记的三亚乙基四胺二琥珀酸盐 (PX811019) 对Caco-2培养物的细胞毒性: 为此, 进行了WST-1测定。这种用于测量哺乳动物细胞中细胞增殖、细胞生存力和细胞毒性的标准测定利用线粒体琥珀酸脱氢酶活性的测量作为线粒体损伤的指标, 并且被认为是检测早期细胞毒性事件的最灵敏的方法之一。将Caco-2细胞以 5×10^5 个细胞/ cm^2 的密度接种在96孔板中, 诸如在渗透性测定中。培养48小时后, 在HBSS (x1) - $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ - pH=7.4缓冲液中以8种不同浓度 (1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0312、0.0156、0.0078mM) 施加未标记的PX811019, 并在37°C下孵育2小时。然后通过应用WST-1和在ELISA板读数器中测量450nm处的吸光度来检查细胞的生存力。每个浓度测试三次。

[0173] 在Caco-2屏障模型中 [$2\text{-}^{14}\text{C}$] 三亚乙基四胺二琥珀酸盐 (PX811019) 渗透性的评估: 一旦评估了对Caco-2培养物的细胞毒性, 将 [$2\text{-}^{14}\text{C}$]PX811019在transwell过滤器 (直径为6.5mm; 孔隙为0.4 μm) 中在21天Caco-2极化培养物上孵育。首先进行TEER测量以及荧光黄 (低渗透性标记物) 和安替比林 (高渗透性标记物) 的渗透性, 以检查屏障的完整性和质量。地高辛被用作检测培养物中Pgp活性的标记物。同时, 通过将渗透性测定中所用浓度的未标记的PX811019与荧光黄一起施加在对照transwell过滤器的顶部隔室中来确定测试化合物对屏障完整性的影响。为了进行渗透性评估, 然后将 [$2\text{-}^{14}\text{C}$]PX811019以一种无毒浓度 (1 $\mu\text{Ci/ml}$; 0.02mM) 在HBSS (x1) - $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ - pH=7.4缓冲液中在供体隔室中应用, 并在37°C单独或在维拉帕米或叠氮化钠存在下孵育1小时。在0、15、30、45、60和120分钟后, 从受体隔室中回收样品, 并通过液体闪烁计数进行进一步分析。还在0和120分钟时从供体隔室中回收样品用于质量平衡评估。在存在Caco-2屏障的情况下, 在3个重复的transwell过滤器中进行每个条件。基于通过闪烁计数从样品分析获得的dpm原始数据, 在A-B (顶端-基底) 和B-A (基底-顶端) 方向上计算渗透系数 (Papp, 单位为 cm/s), 并在每个实验条件下评估 [$2\text{-}^{14}\text{C}$]PX811019渗透性。

[0174] 在Caco-2屏障模型中评估未标记的三亚乙基四胺二琥珀酸盐 (PX811019) 对Pgp活性的影响: 一旦评估了 [^3H] - 地高辛在Caco-2培养物上的渗透性, 就将其单独或与未标记的三亚乙基四胺二琥珀酸盐 (PX811019) 一起在transwell过滤器 (直径为6.5mm; 孔隙为0.4 μm) 中在21天Caco-2极化培养物上孵育。首先进行TEER测量以及荧光黄 (低渗透性标记物) 和

安替比林(高渗透性标记物)的渗透性,以检查屏障的完整性和质量。同时,通过将渗透性测定中所用浓度的未标记的PX811019与荧光黄一起施加到对照transwell过滤器的顶部隔室中来确定测试化合物对屏障完整性的影响。为了评估测试化合物对Pgp活性的影响, $[^3\text{H}]$ 地高辛($4\mu\text{Ci}/\text{ml}; 0.2\text{mM}$)然后单独或在相似且无毒浓度的PX811019测试化合物(0.2mM)存在的情况下施加到HBSS(x1) - $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ - $\text{pH}=7.4$ 缓冲液中的供体隔室中,并在 37°C 孵育1小时。在0、15、30、45、60和120分钟后,从受体隔室中回收样品,并通过液体闪烁计数进行进一步分析。还在0和120分钟时从供体隔室中回收样品用于质量平衡评估。在存在Caco-2屏障的情况下,在3个重复的transwell过滤器中进行每个条件。基于通过闪烁计数从样品分析获得的dpm原始数据,在A-B(顶端-基底)和B-A(基底-顶端)方向上计算 $[^3\text{H}]$ 地高辛的渗透系数(P_{app} ,单位为 cm/s),并在每个实验条件下评估PX811019对Pgp依赖性的高辛渗透性的影响。

[0175] 主要结果

[0176] 未标记的三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)在任何测试浓度下均未对Caco-2细胞产生任何细胞毒性。

[0177] ●本研究中使用的Caco-2极化单层满足预测性体外渗透性测定所需屏障状态的质量标准:TEER值高于 $1000\text{欧姆}\cdot\text{cm}^2$;在两个实验中,荧光黄(低渗透性标记物)的 P_{app} 值低于 $1\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$,并且安替比林(高渗透性标记物)的 P_{app} 值高于 $1\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$ 。

[0178] ●地高辛在A-B方向上呈现低 P_{app} 值($0.75\pm\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$),并且在B-A方向上呈现中等 P_{app} 值($6.08\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$),其中不对称指数为8.06,指示系统中的Pgp活性。相比之下,施加在这些Caco-2单层上的 $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ 三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)在测试的无毒浓度下呈现中-高A-B渗透性值,其中平均值为 $9.87\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$,并且在B-A方向上或在维拉帕米或叠氮化钠存在的情况下没有观察到渗透性。在所有测试条件下,质量平衡在70%与120%之间。

[0179] ●在测试化合物三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)存在的情况下,地高辛在A-B或B-A方向上的 P_{app} 值与仅用地高辛在顶端施用测试化合物时获得的值相似(分别为 $0.66\pm 0.89\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$ 和 $12.7\pm 6.76\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$),而在基底外侧施用时,两者都略有降低(分别为 $0.2\pm 0.35\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$ and $5.68\pm 3.03\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$)。然而,在这两种情况下,不对称指数保持不变,并且甚至有所增加。这表明地高辛转运途径以及因此Pgp活性不受施用未标记的测试物质三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)的影响,与施用所述物质的隔室无关。

[0180] 总之,三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)在任何测试浓度下(1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0312、0.0156、0.0078mM)都没有表现出对Caco-2细胞的任何细胞毒性。本研究中使用的Caco-2极化单层满足预测性体外渗透性测定所需屏障状态的质量标准:TEER值高于 $1000\text{欧姆}\cdot\text{cm}^2$; P_{app} 荧光黄低于 $1\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$,并且 P_{app} 安替比林高于 $10\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$ 。此外,针对地高辛获得的 P_{app} 值和不对称指数指示Pgp活性水平在所述细胞模型的可接受范围内。

[0181] 此外,三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)在两种测定中使用的浓度下不影响单层的完整性。在这些Caco-2单层上施用的曲恩汀二琥珀酸盐(PX811019)在测试浓度下呈现中-高渗透值,在吸收(A-B)方向上的平均值为 $9.87\times 10^{-6}\text{cm}/\text{s}$ 。作为在体外高度可溶且低毒性的化合物,并且基于体外 P_{app} 值,人们可预测所述化合物将在人体内具有良好的吸收(估

计为约70%)。在分泌(B-A)方向上没有观察到渗透性。

[0182] 与地高辛Pgp底物的渗透性数据相比,在A-B和B-A两个方向上获得的Papp数据表明,三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)在吸收方向上使用Pgp非依赖性极化转运途径穿过Caco-2屏障。在叠氮化钠和维拉帕米存在的情况下,三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)通过Caco-2单层的A-B转运被完全抑制。由于叠氮化钠是一种ATP合成抑制剂,这表明测试物质(PX811019)的转运是ATP依赖性的。维拉帕米通常通过抑制ATP结合盒作为Pgp抑制剂用于渗透性测定。然而,它被广泛描述为Ca²⁺通道阻断剂,更具体地说是L型通道。由于三亚乙基四胺二琥珀酸盐转运体的A-B极化和不对称指数指示Pgp未被牵涉在内,因此在维拉帕米存在情况下的数据将表明所述药剂作为三亚乙基四胺二琥珀酸盐的特异性转运蛋白的阻断剂。基于这些数据,测试物质通过肠屏障转运的一种可能机制可能是通过活性ATP依赖性和/或Ca²⁺依赖性转运蛋白途径来进行。

[0183] 从仅使用地高辛和在测试物质存在情况下的渗透性测定中获得的数据表明,三亚乙基四胺二琥珀酸盐不影响Pgp活性。此外,由于它不与地高辛竞争,因此它将不是Pgp底物,这进一步支持了显示其渗透性在研究中使用的细胞模型和实验条件中不是Pgp依赖性的数据。

[0184] 实例2

[0185] 单次口服施用[2-¹⁴C]PX811019后大鼠体内总放射性的定量组织分布

[0186] 研究目的:本体内研究的目的是提供在对雄性白化大鼠和雄性着色大鼠口服施用后,关于脱铜化合物三亚乙基四胺二琥珀酸盐的组织分布的定量信息。对取自三只在给药后1、3、8和24小时处死的白化雄性大鼠和一只在给药后1、8、24、72、168和336小时处死的着色大鼠的全身切片进行全身荧光成像(WBPI)。使用磷光成像器系统对单个切片中的组织放射性浓度进行量化。使用为此目的设计的辅助软件包,产生在每个时间点选择的切片的经注释图像。终末血样是取自即将处死之前的所有动物,并分析其放射性。所述研究是按照良好实验室规范(GLP)进行的。

[0187] 测试物质:[2-¹⁴C]PX811019(放射性标记的三亚乙基四胺二琥珀酸盐),由Selcia以放射化学纯度为99.6%的固体形式提供。在本研究中使用之前,在Aptuit使用高效液相色谱(HPLC)确定了真实性和放射化学纯度。

[0188] 分析试剂:液体闪烁剂Gold StarTM购自英国之宝(Meridian)(英国萨里郡的埃普森(Epsom,Surrey,UK)),以及Ultima GoldTM和Permafluor[®]E+得自英国珀金埃尔默有限公司(PerkinElmer LAS(UK)Ltd)。CO₂吸收溶液Carbo Sorb[®]E也得自英国珀金埃尔默有限公司。除非另有说明,否则所有其它分析试剂为至少标准分析实验室试剂等级,并且主要得自威达优尔有限公司(VWR International Ltd)(英国多塞特郡普尔市(Poole,Dorset,UK))和西格玛奥德里奇有限公司(Sigma-Aldrich Ltd)(英国多塞特郡普尔市)。去离子水在室内制备。

[0189] 动物:获得足够数量的动物用于本研究:

	物种:	大鼠	大鼠
	应变:	斯普拉格-道利(Sprague Dawley)	李斯特-荷特(Lister Hooded)
	性别:	雄性	雄性
[0190]	年龄:	6 周	6 周
	动物数量:	12	6
	风土驯化:	7 天	7 天
	来源:	哈伦英国有限公司(Harlan UK Limited)	哈伦英国有限公司

[0191] 通过用不可擦除的墨水进行尾巴标记而唯一地识别动物,并且任意分配动物编号。所有研究都是根据1986年动物(科学程序)法、英国内政部对所述法实施的指导以及所有适用的实验动物护理和安置的行为准则进行的。所使用的设施是由实验动物护理评估和认证协会(AAALAC)完全认可的。在研究之前,对动物的健康状况进行了评估,并且所有动物都是健康的,并被认为是适合于实验使用。

[0192] 研究设计:每只大鼠接受单次口服施用[2-¹⁴C]PX811019,目标剂量水平为10mg/kg游离碱。对取自三只在给药后1、3、8和24小时处死的白化雄性大鼠和一只在给药后1、8、24、72、168和336小时处死的着色大鼠的全身切片进行定量全身荧光成像(QWBPI)。对单个切片内的组织放射性浓度进行量化和注释,并且产生在每个时间点选择的切片的代表性图像。终末血样是取自即将处死之前的所有动物,并分析其放射性。

[0193] 结果

[0194] 放射化学纯度:在使用之前,确定[2-¹⁴C]PX811019的放射化学纯度为97.7%,并且单一杂质为0.9%。在给药时,确定调配物的平均放射性浓度为22.2μCi/g(0.82MBq/g),并且确定配制的[2-¹⁴C]PX811019的平均比放射性为22.2μCi/mg(0.82MBq/mg)。

[0195] 施用的剂量:针对PX811019施用的剂量在9.96与10.2mg/kg之间。放射性剂量范围为8.14至8.32MBq/kg。

[0196] 动物观察和环境控制:在可归因于施用[2-¹⁴C]PX811019的生命截阶段期间没有进行动物观察。在生命阶段期间,容置动物的房间的温度和相对湿度分别在20℃至22℃和67%至90%之间。

[0197] 口服施用后放射性的组织分布:表1呈现了在以10mg/kg游离碱的目标剂量水平口服施用[2-¹⁴C]PX811019后,雄性白化大鼠的平均组织放射性浓度。

[0198] 表1.在以10mg/kg游离碱的目标剂量水平对雄性白化大鼠单次口服施用[2-¹⁴C]PX811019后在不同时间器官和组织中的放射性浓度(结果以纳克当量/克表示)

	组织/器官	1 小时	3 小时	8 小时	24 小时
[0199]	LOQ(定量限)	126	110	118	126
	肾上腺皮质	512	448	160	blq
	肾上腺髓质	587	446	326	151
	骨	543	483	214	blq
	骨髓	520	751	528	214
	大脑	blq	blq	blq	blq
	棕色脂肪	665	586	591	blq
	盲肠内容物	211281	437329	126104	3208
	盲肠壁	22306	28979	10713	321
	心脏血液	694	290	215	blq
	心肌	382	344	324	blq
	附睾	388	253	218	blq
	眼部液	blq	blq	blq	blq
	晶状体	blq	blq	blq	blq
	舌苔	613	295	253	blq
	哈氏腺	289	320	535	212
	肾皮质	6323	6617	3783	1036
	肾髓质	6760	4444	3733	1054
	大肠内容物	blq	blq	473267	9204
	大肠壁	822	482	4964	605
	肝脏	3034	2231	1416	260
	肺	801	507	392	blq
	鼻黏膜	blq	332	blq	blq
	胰腺	563	795	643	blq
	松果体	370	655	533	166
	脑垂体	866	470	562	234
	包皮腺	411	519	380	201
	前列腺	5361	6632	920	blq
	精囊	319	564	472	186
	骨骼肌	224	234	190	blq
[0200]	小肠内容物	268536	96883	13207	685
	小肠壁	14301	6739	4897	1144
	脊髓	blq	blq	blq	blq
	脾脏	520	573	547	231
	胃内容物	317629	188232	2601	blq
	胃壁	2624	1353	841	215
	下颌下唾腺	652	1018	917	blq
	睾丸	196	159	184	blq
	胸腺	453	796	845	438
	甲状腺	433	671	683	287
	尿	29573	104341	15185	520
	白色脂肪	206	blq	blq	blq
	全血#	527	243	114	60.6

[0201] blq低于定量限 #值通过样品燃烧而获得

[0202] 表2呈现了在以10mg/kg游离碱的目标剂量水平口服施用[2-¹⁴C]PX811019后,雄性着色大鼠的组织放射性浓度。

[0203] 表2.在以10mg/kg游离碱的目标剂量水平对雄性着色大鼠单次口服施用[2-¹⁴C]PX811019后在不同时间器官和组织中的放射性浓度(结果以纳克当量/克表示)

组织/器官	1 小时	8 小时 (114M)	24 小时	72 小时	168 小时	336 小时 (118M)
LOQ(定量限)	125	123	114	129	112	106
肾上腺皮质	238	342	222	blq	blq	blq
肾上腺髓质	292	440	178	147	blq	blq
骨	152	253	blq	blq	blq	blq
骨髓	292	368	210	blq	blq	blq
[0204] 大脑	blq	blq	blq	blq	blq	blq
棕色脂肪	285	255	136	blq	blq	blq
盲肠内容物	blq	251695	5099	226	blq	blq
盲肠壁	452	11591	1428	381	blq	blq
心脏血液	410	151	blq	blq	blq	blq
心肌	241	151	blq	blq	blq	blq
附睾	303	151	blq	blq	blq	blq
眼脉络膜层	324	157	128	144	blq	blq
眼部液	blq	blq	blq	blq	blq	blq
晶状体	blq	blq	blq	blq	blq	blq
舌苔(未着色的)	249	277	blq	blq	blq	blq
舌苔(着色的)	307	299	blq	blq	blq	blq
哈氏腺	143	590	163	130	blq	blq
肾皮质	4797	1293	565	277	blq	blq
肾髓质	2648	1236	727	233	blq	blq
大肠内容物	ns	424462	9630	381	blq	blq
大肠壁	227	3563	1369	192	blq	blq
肝脏	1299	615	242	blq	blq	blq
肺	480	194	blq	blq	blq	blq
鼻黏膜	blq	134	blq	blq	blq	blq
胰腺	347	334	130	200	blq	blq
松果体	255	blq	blq	133	blq	blq
脑垂体	291	298	205	145	blq	blq
[0205] 包皮腺	185	419	136	blq	blq	blq
前列腺	ns	277	blq	blq	blq	blq
精囊	295	193	127	162	blq	blq
骨骼肌	blq	173	blq	blq	blq	blq
小肠内容物	448683	22920	1771	167	blq	blq
小肠壁	4639	2488	748	169	blq	blq
脊髓	blq	blq	blq	blq	blq	blq
脾脏	184	905	192	143	blq	blq
胃内容物	268321	30411	blq	blq	blq	blq
胃壁	1292	2985	240	169	blq	blq
下颌下唾腺	448	651	142	blq	blq	blq
睾丸	blq	blq	blq	blq	blq	blq
胸腺	268	572	204	155	blq	blq
甲状腺	375	472	161	134	blq	blq
尿	6174	790	654	527	blq	blq
白色脂肪	136	blq	blq	blq	blq	blq
全血#	332	79.9	61.0	52.0	31.7	25.0

[0206] blq 低于定量限

[0207] # 值通过样品燃烧而获得

[0208] 雄性白化大鼠和着色大鼠的组织:血液比率分别见表3和表4。

[0209] 表3.以10mg/kg游离碱的目标剂量水平对雄性白化大鼠单次口服施用[2-¹⁴C] Px811019后不同时间的组织:血液比率

	组织/器官	1 小时	3 小时	8 小时	24 小时 *
[0210]	肾上腺皮质	0.74	1.54	0.74	nc
	肾上腺髓质	0.85	1.54	1.52	2.49
	骨	0.78	1.67	1.00	nc
	骨髓	0.75	2.59	2.46	3.53
	大脑	nc	nc	nc	nc
	棕色脂肪	0.96	2.02	2.75	nc
	心脏血液	1.00	1.00	1.00	nc
	心肌	0.55	1.19	1.51	nc
	附睾	0.56	0.87	1.01	nc
	眼部液	nc	nc	nc	nc
[0211]	晶状体	nc	nc	nc	nc
	舌苔	0.88	1.02	1.18	nc
	哈氏腺	0.42	1.10	2.49	3.50
	肾皮质	9.11	22.8	17.6	17.1
	肾髓质	9.74	15.3	17.4	17.4
	肝脏	4.37	7.69	6.59	4.29
	肺	1.15	1.75	1.82	nc
	鼻黏膜	nc	1.14	nc	nc
	胰腺	0.81	2.74	2.99	nc
	松果体	0.53	2.26	2.48	2.74
	脑垂体	1.25	1.62	2.61	3.86
	包皮腺	0.59	1.79	1.77	3.32
	前列腺	7.72	22.9	4.28	nc
	精囊	0.46	1.94	2.20	3.07
	骨骼肌	0.32	0.81	0.88	nc
	脊髓	nc	nc	nc	nc
	脾脏	0.75	1.98	2.54	3.81
	下颌下唾腺	0.94	3.51	4.27	nc
	睾丸	0.28	0.55	0.86	nc
	胸腺	0.65	2.74	3.93	7.23
	甲状腺	0.62	2.31	3.18	4.74
	白色脂肪	0.30	nc	nc	nc

[0212] 使用心脏血液值计算的组织:血液比率

[0213] nc 不可计算

[0214] * 使用全血值计算

[0215] 表4.在以10mg/kg游离碱的目标剂量水平对雄性着色大鼠单次口服施用[2-¹⁴C] PX811019后不同时间的组织:血液比率

	组织/器官	1 小时	8 小时	24 小时 *	72 小时 *	168 小时	336 小时
[0216]	肾上腺皮质	0.58	2.26	3.64	nc	nc	nc
	肾上腺髓质	0.71	2.91	2.92	2.83	nc	nc
	骨	0.37	1.68	nc	nc	nc	nc
	骨髓	0.71	2.44	3.44	nc	nc	nc
	大脑	nc	nc	nc	nc	nc	nc
	棕色脂肪	0.70	1.69	2.23	nc	nc	nc
	心脏血液	1.00	1.00	nc	nc	nc	nc
	心肌	0.59	1.00	nc	nc	nc	nc
	附睾	0.74	1.00	nc	nc	nc	nc
	眼脉络膜层	0.79	1.04	2.10	2.77	nc	nc
	眼部液	nc	nc	nc	nc	nc	nc
	晶状体	nc	nc	nc	nc	nc	nc
	舌苔(未着色的)	0.61	1.83	nc	nc	nc	nc
	舌苔(着色的)	0.75	1.98	nc	nc	nc	nc
	哈氏腺	0.35	3.91	2.67	2.50	nc	nc
	肾皮质	11.7	8.56	9.26	5.33	nc	nc
	肾髓质	6.46	8.19	11.9	4.48	nc	nc
[0217]	肝脏	3.17	4.07	3.97	nc	nc	nc
	肺	1.17	1.28	nc	nc	nc	nc
	鼻黏膜	nc	0.89	nc	nc	nc	nc
	胰腺	0.85	2.21	2.13	3.85	nc	nc
	松果体	0.62	nc	nc	2.56	nc	nc
	脑垂体	0.71	1.97	3.36	2.79	nc	nc
	包皮腺	0.45	2.77	2.23	nc	nc	nc
	前列腺	nc	1.83	nc	nc	nc	nc
	精囊	0.72	1.28	2.08	3.12	nc	nc
	骨骼肌	nc	1.15	nc	nc	nc	nc
	脊髓	nc	nc	nc	nc	nc	nc
	脾脏	0.45	5.99	3.15	2.75	nc	nc
	下颌下唾液腺	1.09	4.31	2.33	nc	nc	nc
	睾丸	nc	nc	nc	nc	nc	nc
	胸腺	0.65	3.79	3.34	2.98	nc	nc
	甲状腺	0.91	3.13	2.64	2.58	nc	nc
	白色脂肪	0.33	nc	nc	nc	nc	nc

[0218] 使用心脏血液值计算的组织:血液比率

[0219] nc 不可计算

[0220] * 使用全血值计算

[0221] 可能在口服施用后,在胃肠道中发现了高放射性浓度(在给药后8小时,大肠内容物为473267纳克当量/克,在给药后3小时,盲肠内容物为437329纳克当量/克,在给药后1小时,胃内容物为317629纳克当量/克,并且在给药后1小时,小肠内容物为268536纳克当量/克)。尿液中的浓度也很高,在给药后3小时观察到的最高水平为104341纳克当量/克。上面给出的所有值都是雄性白化大鼠的,并且通常也是着色动物的代表。

[0222] 在雄性白化大鼠中,达到了最大组织放射性浓度,其中测量的细胞摄取包括在给药后1小时大约44%的测量组织和在给药后3小时另外30%。在给药后1小时,似乎有大约一半的组织正在进行吸收。与心脏血液中的浓度为694纳克当量/克相比,肾髓质、前列腺、肝脏、脑垂体和肺中的放射性水平最高(分别为6760、5361、3034、866和801纳克当量/克)。肝

脏和肾髓质在所述时间点具有最大浓度。在给药后3小时,在心脏血液浓度为290纳克当量/克相比,最高放射性水平与前列腺、肾皮质、肾髓质、肝脏和下颌下唾腺相关联(分别为6632、6617、4444、2231和1018纳克当量/克)。尽管此时前列腺中的放射性水平似乎很高,但人们认为这是由尿液污染造成的。在给药后8小时,除了哈氏腺(535纳克当量/克)、胸腺(845纳克当量/克)和甲状腺(683纳克当量/克)在此时具有其最大组织浓度外,组织中的放射性浓度低于其最大值。与心脏血液浓度为215纳克当量/克相比,最高放射性水平与肾皮质、肾髓质、肝脏、前列腺、胸腺和甲状腺相关联(分别为3783、3733、1416、920、845和683纳克当量/克)。在给药后24小时,放射性正在消除,约80%的组织处于或低于定量限。在肾髓质、肾皮质和胸腺中观察到最高放射性水平(分别为1054、1036和438纳克当量/克)。

[0223] 在给药后1小时和3小时,雄性白化大鼠的组织:血液比率(在可计算的情况下)分别在0.28(睾丸)与22.9(前列腺)之间。大多数组织的组织:血液比率大于1,在给药后3、3、8和3小时分别在前列腺(22.9)、肾皮质(22.8)、肾髓质(17.4)和肝脏(7.69)计算出最高比率。如上所述,认为前列腺水平高似乎与泌尿污染有关。然而,在给药后1小时,大多数组织:血液比率小于1,并且比率倾向于随时间增加。这可能表明与血液相比组织的摄取和释放较慢。

[0224] 雄性着色大鼠体内的放射性分布与雄性白化大鼠体内所观察到者相似。在雄性着色大鼠中,最大组织放射性浓度在1小时与8小时时间点之间均匀分布。在给药后1小时,在大约40%的测量组织中达到最高水平,并且在给药后8小时,另外45%达到最高水平。在给药后1小时,大约一半的组织被认为正在吸收。与心脏血液中的浓度为410纳克当量/克相比,在肾皮质、肾髓质和肝脏中看到最高放射性水平(分别为4797、2648和1299纳克当量/克)。肝脏和肾脏在此时间点具有最大浓度。在给药后8小时,与心脏血液浓度为151纳克当量/克相比,最高放射性水平与肾皮质、肾髓质、脾脏、下颌下唾腺、肝脏、哈氏腺和胸腺相关联(分别为1293、1236、905、651、615、590和572纳克当量/克)。在给药后24小时,正在进行消除,大约一半的测量组织的放射性水平低于定量限值。最高水平与肾髓质和肾皮质相关联(分别为727和565纳克当量/克)。在给药后72小时,放射性消除几乎完成,约65%的组织低于定量限值。在肾皮质、肾髓质和胰腺中观察到最高放射性水平(分别为277、233和200纳克当量/克)。

[0225] 在给药后168小时,消除似乎完成,组织中的所有放射性水平均低于定量限值。

[0226] 在给药后1小时和24小时,雄性着色大鼠的组织:血液比率(在可计算的情况下)分别在0.33(白色脂肪)与11.9(肾髓质)之间。大多数组织的组织:血液比率大于1,在给药后24、1、8和8小时分别在肾髓质(11.9)、肾皮质(11.7)、脾脏(5.99)和肝脏(4.07)计算出最高比率。然而,在给药后1小时,大多数组织:血液比率小于1,并且比率倾向于随时间增加。这可能表明与血液相比组织的摄取和释放较慢。

[0227] 将通过QWBPI测量的血液中的放射性水平与通过在处死前即刻采集的血样的样品燃烧获得的值进行比较。在通过QWBPI测量获得的值和通过样品燃烧获得的值之间,显而易见的是趋势和数量级相似。通过QWBPI定量和通过样品燃烧,雄性白化大鼠在给药后1小时的血液水平分别为694和527纳克当量/克,并且通过QWBPI定量和样品燃烧,雄性着色动物的血液水平分别为410和332纳克当量/克。

[0228] 总结本研究的某些方面,注意到口服施用后,在胃肠道内容物中观察到高放射性

浓度。在雄性白化病大鼠中,放射性吸收迅速,在给药后1小时,大多数组织中存在可测量的放射性水平。约44%的组织在给药后1小时达到最大放射性水平,并且另外30%的组织在给药后3小时达到最大水平。在给药后1、3、3和1小时,在肾髓质、前列腺、肾皮质和肝脏中,得到了最高放组织射性浓度(分别为6760、6632、6617和3034纳克当量/克)。尽管前列腺中的放射性水平似乎很高,但人们认为这是由尿液污染造成的。

[0229] 雄性着色大鼠体内的放射性浓度和分布与雄性白化大鼠体内的那些相似。约40%的组织在给药后1小时达到最大放射性水平,并且另外45%的组织在给药后8小时达到最大水平。最高水平与肾皮质、肾髓质和肝脏相关联(分别为4797、2648和1299纳克当量/克),所有均在给药后1小时出现。

[0230] 结论:雄性白化大鼠和雄性着色大鼠体内总放射性的分布和浓度相似。与着色组织的黑色素结合不明显。

[0231] PX811019被迅速吸收并分布,在给药后1小时,几乎一半的组织具有最大放射性浓度,而大约一半的组织仍在吸收。在1小时时间点后,大多数组织中的组织:血液比率达到大于1的值,这可能表明与血液相比,组织的吸收和释放较慢。

[0232] 与生物转化和消除相关联的组织(例如肝脏和肾脏)和分泌腺(例如胰腺、下颌下唾腺、胸腺和甲状腺)往往具有较高的放射性浓度。

[0233] 从组织中消除放射性通常很快,在给药后24小时观察到组织水平降低,并且至72小时时大多数组织中的放射性似乎完全消除。

[0234] 实例3

[0235] 在正常健康志愿者中三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)与三亚乙基四胺二盐酸盐的药代动力学和药效学的单中心、随机化、双盲、单剂量、2向交叉、剂量递增研究

[0236] 此人类临床研究提供了在对健康成年志愿者口服2向交叉施用三亚乙基四胺二琥珀酸盐和三亚乙基四胺二盐酸盐后,三亚乙基四胺、其两种主要代谢物以及铜排泄的人类群体药代动力学和药效学建模。

[0237] 群体PK分析囊括来自一项研究的样本(三个组群中每个组群的TETA剂量为166、499、832mg游离碱),其中每个受试者在2向交叉设计中接受三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)和三亚乙基四胺二盐酸盐(**Syprine®**)。三亚乙基四胺二盐酸盐(**Syprine®**)是一种强效铜螯合剂,其于1985年被FDA批准用于威尔森氏病的二线治疗。三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)是三亚乙基四胺的一种替代性高级盐形式,但是其目标给药是未知的,并且从现有技术中是无法得知。

[0238] 群体药代动力学/药效学(PK/PD)模型用于描述三亚乙基四胺(TETA)、其两种主要代谢物(单乙酰化(MAT)和二乙酰化(DAT)形式)的浓度以及尿液中的铜排泄。通过分别估计PX811019和**Syprine®**的吸收相关参数,进一步使用TETA的一级吸收和二隔室动力学模型、MAT和DAT的悬链线形成以及血浆中由TETA直接控制的铜排泄来鉴定所研究的TETA调配物之间的差异。基于标准卡方统计检验受试者特异性协变量和剂量对PK/PD参数的影响。使用NONMEM软件进行群体PK/PD建模。

[0239] 目的:本研究的目的是比较三亚乙基四胺(TETA)二琥珀酸盐(PX811019)相对于TETA二盐酸(**Syprine®**)的药代动力学(PK)特征,并确定给药关系,并且表征尿铜排泄对研究

药物的药效学(PD)特征。

[0240] 简略的PK/PD、半衰期、吸收动力学和生物利用度总结:在进行所述研究时,发现PX811019与Syprine®相比的相对生物利用度为74.5%。观察到Syprine与PX811019在滞后时间(0.083和0.239小时)以及吸收速率常数(1.74和1.19小时⁻¹)方面的差异。协方差分析未鉴定出与剂量、性别、体重或肾功能相关的主要PK/PD差异。所述化合物表现出高度稳定和一致的PK/PD特征。发现TETA分布体积的一些剂量依赖性在较高剂量下产生稍长的半衰期。不同剂型之间的吸收动力学差异适中,显而易见的是PX811019的生物利用度(74.5%)低于Syprine®。发现施用约134%剂量的PX811019将产生与Syprine®基本上相同的TETA、MAT和DAT血浆浓度以及铜排泄率。另外参见实例3。

[0241] 方法:本研究为1期、前瞻性、随机化、双盲、剂量递增、2向交叉设计。计划招募多达四个组群,每个组群有六名受试者。PX811019或Syprine®剂量以大约摩尔当量剂量的TETA游离碱(每个胶囊大约166至167mg游离碱)对每个组群内的受试者施用。同期组群给药示于表5中:

[0242] 表5. TETA二盐酸盐和TETA二琥珀酸盐的研究剂量

[0243]	组群	TETA 二盐酸(Syprine®) 剂量(mg)	TETA 二琥珀酸盐 (PX811019)剂量(mg)	胶囊数量	TETA mg 游离碱 约数
	1	250	435	1	166
	2	750	1305	3	499
[0244]	3	1250	2175	5	832

[0245] 每个组群完成后,主办方和研究者审查了TETA及其乙酰代谢物[单乙酰基TETA(MAT)和二乙酰TETA(DAT)]的血浆浓度-时间曲线以及安全性和耐受性数据,然后批准升级到下一个组群。基于对中期PK数据的分析,决定在三个组群完成后停止招募。

[0246] 共有三次门诊访视:第一剂量前28天内发生的筛选访视和两次治疗访视。基于病史、临床实验室结果、体检结果、生命体征评估和静息12导联心电图评估来筛选和招募受试者。符合条件的受试者在每次治疗访视给药前一天晚上的2000小时被允许进入研究机构。隔夜禁食后,受试者被随机分组,在第1天接受单一口服剂量的PX811019或单一口服剂量的Syprine®,并在第8天接受替代性治疗。每一剂量后,受试者被限制在研究设施内48小时(直至第3天或第10天的早晨)。

[0247] 安全性评估包括不良事件(AE)评估、体检、临床实验室测试和生命体征(血压和脉率)评估。用于确定血浆TETA、MAT和DAT水平的血样在第1天和第8天的时间0(在给药前30分钟内)、5、15、30、60、90、120分钟以及在给药后3、4、5、6、8、10和12小时收集,然后在给药后第2至3天和第9至10天的16、20、24、30、36、42和48小时收集。在第1天和第8天以下列时间间隔收集的尿液中,测量尿铜排泄:在给药前2至0小时,在给药后0至2、2至4、4至6、6至8、8至10、10至12和12至16小时,然后在给药后第2至3天和第9至10天的16至20、20至24、24至30、30至36、36至42和42至48小时。

[0248] 方案修订:在研究期间有一项方案修订。方案修订1从筛选访视到第1天给药的筛选窗口从14天延长至28天,以便在升级至下一组群之前有足够的时间审查安全性和PK数据。

[0249] 受试者人数:共有18名受试者(9名男性,9名女性)被招募并随机分组,接受单一口服剂量的PX811019和Syprine®。

[0250] 入选标准:为了符合资格,受试者必须在进行任何研究相关程序之前完成适当管理的IRB批准的知情同意书,并且是年龄在18与60岁之间(包括18和60岁)的健康成年男性或女性,体重指数(BMI)在18与30kg/m²之间(包括18和30kg/m²),并且具有通过肌酐清除率>90mL/min计算的正常肾功能。具有生育潜力的女性必须在筛选访视时和每次允许进入研究机构时进行阴性妊娠测试,在研究药物施用前四周愿意使用有效的避孕方法,并且为非哺乳的。在研究药物施用后的四周内,男性必须愿意使用有效的屏障避孕。受试者在以下情况下被排除在外:如果受试者为吸烟者、有药物或酒精滥用史、在第一剂研究药物前30天内参加过临床研究或在第一剂研究药物前56天内捐献过1品脱或以上的血液或14天内捐献过血浆;如果他们在第一剂研究药物前两周内或在研究期间使用了铁、铜或其它膳食补充剂;在第一剂研究药物施用前一周内或在研究期间需要处方药或非处方药或草药或营养补充剂;有系统性红斑狼疮、铁粒幼细胞性贫血、肌张力障碍、肌肉痉挛或重症肌无力病史,或有抗凝血治疗史;已知对TETA或调配物辅料过敏;临床检查显示肺部异常;或筛选访视时的临床实验室结果,表明以下任何一项:基于血浆铁、铁结合能力和铁蛋白水平的铁缺乏症的临床诊断,基于低水平的血浆铜或血浆铜蓝蛋白的铜缺乏症,异常肝功能测试结果或血小板计数 $<100 \times 10^6/L$ 。

[0251] 测试产品、剂量和施用方式:TETA二琥珀酸盐(PX811019)以435mg胶囊形式提供,并且TETA二盐酸盐(Syprine®)以250mg胶囊形式提供,每个胶囊表示大约等摩尔剂量的TETA游离碱。两种调配物的胶囊在大小和形状上相似,但在外观上不相同。为了保护盲者的完整性,受试者在被指定的药剂师或助理研究者蒙住眼睛的情况下施用研究药物,并且不允许受试者直接接触胶囊。在第1天和第8天大约0800时,在禁食过夜后,用240mL水施用胶囊。

[0252] 治疗持续时间:本研究包括在第一剂研究药物施用前28天内的筛选访视,以及相隔7天的两次治疗访视,每次访视均需要连续过夜3次。

[0253] 评估标准:单一口服剂量的PX811019和Syprine®后,通过分析TETA及其代谢物MAT和DAT的血浆浓度来评估这两种制剂的PK特征。通过确定单一口服剂量的两种调配物后的尿铜排泄来评估药效学参数。通过评估治疗中出现的不良事件(AE)的频率、由于AE导致的停药、体检结果、生命体征变化和临床实验室测试结果来评估安全性。

[0254] 统计方法:通过非隔室方法分析血浆TETA、MAT和DAT浓度数据的PK参数(包括 C_{max} 、 T_{max} 、 AUC_{0-24} 、 AUC_{0-t} 、 AUC_{0-inf} 、消除期 $t_{1/2}$ 和有效 $t_{1/2}$)。通过检查PX811019和Syprine®两种调配物的TETA、MAT和DAT的血浆浓度时间曲线和 C_{max} ,并基于TETA游离碱的当量摩尔剂量计算血浆TETA的 AUC_{0-t} 值的比率,评估了这两种调配物的给药关系。计算每种调配物的药代动力学参数和平均尿铜排泄的总结统计数据。还计算了 AUC_{0-24} 、 AUC_{0-t} 、 AUC_{0-inf} 和 C_{max} 的几何平均值。在适当的采样时间,计算每种调配物的血浆浓度和尿铜排泄的总结统计数据(平均值、中位数、标准误差、最小值和最大值)。

[0255] 安全性数据,包括不良事件、生命体征评估、临床实验室评估和体检,按调配物和剂量组群进行总结。使用MedDRA字典对不良事件进行编码。提供了按受试者列出的不良事

件数据列表,包括逐字术语、首选术语和系统器官分类,以及严重性、与治疗的关系和采取的措施。合并用药按受试者列出,并使用WHO药物词典进行编码。使用SAS来计算描述性统计数据(算术平均值、标准误差、中位数、最小值和最大值)。

[0256] 结果:年龄在20至48岁之间的总共18名符合条件的受试者(9名男性和9名女性)被招募并随机分组以接受研究药物。十七名(94.4%)受试者完成了研究,并且组群3中的一名(5.6%)受试者因在首次治疗访视期间施用PX811019后出现不良事件而退出研究。

[0257] 人口统计:招募的受试者代表健康成年群体,年龄范围从20岁至48岁。招募的受试者的总体平均(SD)年龄为34.3(8.14)岁,并且种族分布为4名(22.2%)白人、6名(33.3%)黑人、7名(38.9%)拉丁裔/西班牙裔和1名(5.6%)美洲印第安人/阿拉斯加土著。平均(SD)身高和体重分别为169.5(8.46)cm和73.9(11.41)kg,并且平均(SD)BMI为25.7(3.27)kg/m。

[0258] 安全性结果:

[0259] 治疗中出现的AE:五名受试者报告了治疗中出现的不良事件;17名受试者中有3名(17.6%)在接受Syprine®后报告了AE,并且18名受试者中有2名(11.1%)在接受PX811019后报告了AE。施用Syprine®后报告的AE包括头痛、腹泻和恶心。施用PX811019后报告的AE包括头痛、腹泻和肝酶升高。所有AE均为轻度或中度,并且在从研究退出前已解决,并且未报告严重AE。组群3中的一名受试者因在第一次治疗访视期间施用PX811019(2175mg)后出现轻度、可逆的肝酶升高而中止研究。

[0260] 其它安全性评估:基于坐位血压和脉率,未观察到研究药物引起的对临床显著的血液动力学影响。

[0261] 除了一名接受PX811019(2175mg)的受试者被报告出现轻度、可逆的肝酶升高(被认为可能与研究药物有关)外,未观察到实验室测试参数出现临床显著变化。

[0262] 药代动力学结果:

[0263] 组群1、2和3在单一等摩尔口服剂量后的TETA、MAT和DAT的平均药代动力学参数列于下表6,并在实例3中进一步描述:

[0264] 表6. 从非隔室分析中获得的TETA、MAT和DAT的药代动力学参数总结。显示了从最终PK/PD模型估算值得出的半衰期,以供比较。

PK 群体中 TETA、MAT 和 DAT 的 PK 参数总结						
参数(单位)	组群 1(N=6)		组群 2(N=6)		组群 3(N=6)	
	PX8110144 35 mg	Syprine® 250 mg	PX811019 1305 mg	Syprine® 750 mg	PX811019 2175mg	Syprine® 1250 mg
TETA						

[0266]	$C_{\max}$ (mg/L)	292.3412	496.6128	1121.0355	1873.0383	1814.5398	3430.2492
	AUC ₀₋₂₄ (mg/L·h)	1090.0472	1515.2096	4173.2842	6376.9208	7037.9122	13275.2109
	AUC _{0-t} (mg/L·h)	1089.6795	1541.5092	4391.2987	6644.2427	7398.6177	13740.1848
	AUC _{0-inf} (mg/L·h)	1157.8173	1691.0937	4738.4486	6905.3857	7728.7437	14131.1832
	$t_{1/2}$ (h)	8.3944	18.7837	26.8652	22.9857	21.7903	23.9489
	$t_{1/2}$ (α)预测值, h	1.16	1.16	1.14	1.14	1.44	1.44
	$t_{1/2}$ (β)预测值, h	18.2	18.2	28.0	28.1	36.6	36.7
	MAT						
	$C_{\max}$ (mg/L)	460.0520	507.4967	1042.0688	1370.9102	1373.4790	1555.2304
	AUC ₀₋₂₄ (mg/L·h)	3606.0350	4548.8755	7771.6814	10240.2013	11764.3074	14279.3749
	AUC _{0-t} (mg/L·h)	3933.3491	4981.8145	8644.9491	11301.4154	13371.4157	16339.2152
	AUC _{0-inf} (mg/L·h)	4134.0485	5337.3440	9239.8333	11981.3464	14373.6664	17493.6323
	$t_{1/2}$ (h)	15.8239	22.3079	17.8289	18.3246	17.0265	17.7415
	$t_{1/2}$ 预测值, h	3.52	3.52	3.82	3.82	4.60	4.60
	DAT						
	$C_{\max}$ (mg/L)	95.5918	126.8557	267.0867	406.6258	397.1342	475.1264
	AUC ₀₋₂₄ (mg/L·h)	874.1022	1141.6082	2234.9524	3352.6220	3250.9811	4413.2536
	AUC _{0-t} (mg/L·h)	918.6399	1216.1421	2666.4082	3787.3474	4113.1406	5142.3914
	AUC _{0-inf} (mg/L·h)	986.8079	1292.5907	2778.4138	3940.5216	4354.1000	5423.7201
	$t_{1/2}$ (h)	7.1751	8.3329	10.5466	11.6251	11.9974	12.3562
	$t_{1/2}$ 预测值, h	0.687	0.687	0.390	0.390	0.426	0.426

[0267] TETA的PK:

[0268] 组群1、2和3中的受试者施用PX811019与Syprine®后TETA的 $C_{\max}$ 比率分别为0.58、0.59和0.55,并且组群1、2和3中的受试者施用PX811019与Syprine®后AUC_{0-t}和AUC_{0-inf}比率分别为0.66至0.68、0.64至0.65和0.55。在所有三个剂量组群的受试者中,施用PX811019与Syprine®后,TETA的AUC₀₋₂₄比率也较低。

[0269] 对组群1中的受试者施用PX811019和Syprine®后,TETA的平均消除 $t_{1/2}$ 分别为8.4和18.8小时,并且对组群2和3中的受试者施用PX811019和Syprine®后,在21.8至26.9小时的范围内。在三个剂量组群中,有效 $t_{1/2}$ 值为约消除 $t_{1/2}$ 值的三分之一至四分之一,并且不依赖于调配物,但组群1中的PX811019除外,其为约一半(4.5小时对8.4小时)。所有三个剂量组群的 $T_{\max}$ 中位数在1.25小时与2.0小时之间。

[0270] MAT的PK:

[0271] 组群1、2和3中的受试者施用PX811019与Syprine®后MAT的 $C_{\max}$ 比率分别为0.87、0.75和0.91。施用PX811019与Syprine®后AUC_{0-t}和AUC_{0-inf}比率分别为0.74至0.76、0.74至0.75和0.84。对组群1中的受试者施用PX811019和Syprine®后,MAT的平均 $t_{1/2}$ 值分别为16和22小时,并且对组群2和3中的受试者施用PX811019和Syprine®后,所述值为17至18小时。根据AUC测量,在所有三个剂量水平下,与TETA相比,MAT的暴露量大约高2至3倍。组群1中的受试者施用PX811019和Syprine®后,MAT的 $C_{\max}$ 高于TETA的 $C_{\max}$,但低于组群3中的受试者施用这两种调配物后的值。对于所有三个剂量组群中的受试者,两种调配物的MAT的中位数 $T_{\max}$ 为5.0至5.5小时,晚于母体化合物的 $T_{\max}$ 。

[0272] DAT的PK:

[0273] DAT的 C_{max} 通常比TETA低2至3倍,并且比MAT低3至4倍。DAT的AUC也低于两种调配物的母体药物和MAT。PX811019调配物与Syprine®的DAT的 C_{max} 比率在0.71(组群1)与0.88(组群3)之间,而AUC比率在0.72(组群1)与0.84(组群3)之间。DAT的中位数 T_{max} 值与MAT的 T_{max} 相似(5.0至6.0小时)。

[0274] 药效学结果

[0275] 对于所有剂量组,大多数铜尿症发生在给药后的前6小时内。当Syprine®的剂量从250增加到1250mg时,铜尿症水平也随之增加。在435和1305mg PX811019下,所述值大致相同,并在最高剂量2175mg时增加。

[0276] 结论

[0277] 这些健康的成年男性和女性受试者对单一口服剂量的Syprine®(250、750、1250mg)和PX811019(435、1305、2175mg)均安全且耐受性很好。

[0278] 在施用Syprine后,有3名(17.6%)受试者报告了不良事件,并且在施用PX811019后,有2名(11.1%)受试者报告了不良事件,并且不良事件包括头痛、恶心、腹泻和肝酶升高。不良事件为轻度或中度,并且未报告严重不良事件。

[0279] 一名受试者在用2175mg PX811019治疗后,因肝酶轻度可逆升高而停止参与研究。

[0280] 基于坐位血压和脉率,未观察到研究药物引起的对临床显著的血液动力学影响。

[0281] 除了一名接受2175mg PX811019的受试者被报告出现轻度、可逆的肝酶升高(被认为可能与研究药物有关)外,未观察到实验室测试参数出现临床显著变化。

[0282] 对于所有剂量组,大多数铜尿症发生在给药后的前6小时内,并且铜尿症随着剂量水平的增加而增加。由于调配物,铜的尿排泄没有明显差异。

[0283] 与施用等摩尔剂量的Syprine®相比,在所有三个测试剂量水平下,单一口服剂量的PX811019调配物后,TETA的 C_{max} 降低41-45%。

[0284] 与施用等摩尔剂量的Syprine®相比,在所有三个剂量水平下,单一口服剂量的PX811019调配物后, AUC_{0-t} 和 AUC_{0-inf} 降低34-45%。

[0285] 与施用等摩尔剂量的Syprine®相比,在所有三个剂量水平下,单一口服剂量的PX811019调配物后,代谢物MAT和DAT的 C_{max} 和AUC值均较低。

[0286] 总体结论

[0287] 这些健康的成年男性和女性受试者对单一口服剂量的PX811019(435、1305、2175mg)和Syprine®(250、750、1250mg)安全且耐受性很好。不良事件为轻度或中度且未报告严重不良事件。一名受试者在用2175mg PX811019治疗后,因肝酶轻度可逆升高而停止参与研究。与施用等摩尔剂量的Syprine®相比,在三个测试剂量水平下,单一口服剂量的PX811019调配物后,TETA的 C_{max} 降低41-45%,并且TETA的 AUC_{0-t} 和 AUC_{0-inf} 降低34-45%。由于调配物,铜的尿排泄没有明显差异。

[0288] 三亚乙基四胺二琥珀酸盐1200mg/天,以600mg/天两次给药,将预计在整个给药间隔期间会产生显著的铜尿症效果,且副作用最小,并且对血清铜水平或其它实验室测试参数的副作用可忽略不计。

[0289] 实例4

[0290] 三亚乙基四胺的群体药代动力学和药效学建模

[0291] 本报告中分析的数据在实例3研究中获得,所述研究是比较TETA二琥珀酸盐(PX811019)和TETA二盐酸盐(**Syprine**®)的双眼、剂量递增、2向交叉设计研究。实例3的研究证明,以二琥珀酸盐形式施用TETA导致TETA及其代谢物的暴露指数(C_{max} 和AUC)降低。此处使用基于群体的建模来比较吸收动力学,并在进行的实例3研究设计的背景下,提供了TETA的这两种盐形式的相对生物利用度的更全面的评估。

[0292] 实例3的分析将基于模型的群体分析应用于数据,以获得TETA、MAT和DAT的药代动力学的综合评估,进一步评估铜的尿排泄的药效学,以考虑PK/PD参数诸如性别、年龄和剂量的潜在协变量,并比较来自实例2的**Syprine**®和PX811019的PK/PD,特别是关于生物利用度。

[0293] 研究分析:基于从实例3研究(三亚乙基四胺二琥珀酸盐(PX811019)与三亚乙基四胺二盐酸盐在正常健康志愿者中相比的药代动力学和药效学的单中心、随机化、双盲、单剂量、2向交叉、剂量递增研究)中获得的数据,开发了TETA及其代谢物的群体PK/PD模型,其中受试者被随机分组,在第1天接受单一口服剂量的PX811019或单一口服剂量的**Syprine**®,并在第8天接受替代性治疗。可获得来自三个群组的数据,每个群组有六名受试者。对于组群3中的一名受试者,仅可获得第1天的PD数据。PX811019或**Syprine**剂量以实例2的表5中列出的剂量,以大约摩尔当量剂量的TETA游离碱(每个胶囊大约166至167mg游离碱)对每个组群内的受试者施用。

[0294] 用于确定血浆TETA、MAT和DAT浓度的血样在第1天和第8天的时间0(在给药前30分钟内)、5、15、30、60、90、120分钟以及在给药后3、4、5、6、8、10、12、16和20小时收集,然后在给药后第2至3天和第9至10天的24、30、36、42和48小时收集。经由第1天和第8天以下列时间间隔进行的尿液收集,测量尿铜排泄:在2至0小时(给药前),和在给药后0至2、2至4、4至6、6至8、8至10、10至12、12至16、16至20和20至24小时,然后在给药后第2至3天和第9至10天的24至30、30至36、36至42和42至48小时。

[0295] 群体药代动力学/药效学分析

[0296] PK/PD分析的数据处理:使用经过验证的生物分析LC/MS/MS方法分析PK样品,同时确定人血清中的三亚乙基四胺及其两种主要代谢物。测量了三亚乙基四胺(TETA)和两种主要的TETA衍生代谢物:N1-乙酰三亚乙基四胺(MAT)和N1,N10-二乙酰三亚乙基四胺(DAT)。TETA、MAT和DAT的测定LLOQ为0.005mg/L。收集尿液样品进行铜分析,其作为药效学终点。使用带有F-FLAG选项的Beal M3方法处理低于定量限(BLQ)的浓度。比尔(Beal, SL),用低于定量限的一些数据拟合PK模型的方式(Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit).药物动力学杂志(J Pharmacokinet Pharmacodyn).2001, 28:481-504。

[0297] 群体PK/PD方法:使用NONMEM(版本7.3.0,图标开发解决方案,美国马里兰州埃利科特市(Ellicott City,MD,USA))和gfortran编译器9.0进行群体非线性混合效应建模。使用Wings for NONMEM(WFN730,<http://wfn.sourceforge.net>)执行NONMEM运行。使用了拉普拉斯估计方法。使用ADVAN6 PREDPP子程序求解模型的微分方程。NONMEM数据处理和绘图

在Matlab®软件版本7.0(美国马萨诸塞州纳蒂克(Natick,MA,USA)的迈斯沃克公司(MathWorks))中进行。

[0298] 使用NONMEM目标函数的最小值、典型的拟合优度诊断图以及药代动力学参数和变异性估计的精度评估在模型建立过程期间区分各种模型。

[0299] 群体PK/PD模型:PK/PD模型(图1)用于描述TETA、MAT和DAT的浓度以及尿液中排出的铜量。对于TETA是一级吸收,二隔室模型,并且对于MAT和DAT是悬链线一隔室模型。一系列的转运隔室被用来描述TETA与MAT浓度之间的延迟。以下方程用于PK:

$$[0300] \quad \frac{dA_T}{dt} = -k_a \cdot A_T \quad (\text{方程 1})$$

$$[0301] \quad V_{P,T} \cdot \frac{dC_{P,T}}{dt} = CONV \cdot F \cdot F_{P/S} \cdot k_a \cdot A_T - Q_T \cdot C_{P,T} + Q_T \cdot C_{T,T} - CL_T \cdot C_{P,T} \quad (\text{方程 2})$$

$$[0302] \quad V_{T,T} \cdot \frac{dC_{T,T}}{dt} = Q_T \cdot C_{P,T} - Q_T \cdot C_{T,T} \quad (\text{方程 3})$$

$$[0303] \quad \frac{dA_{1,M}}{dt} = fr_M \cdot CL_T \cdot C_{P,T} - 3/MTT \cdot A_{1,M} \quad (\text{方程 4})$$

$$[0304] \quad \frac{dA_{2,M}}{dt} = 3/MTT \cdot (A_{1,M} - A_{2,M}) \quad (\text{方程 5})$$

$$[0305] \quad \frac{dA_{3,M}}{dt} = 3/MTT \cdot (A_{2,M} - A_{3,M}) \quad (\text{方程 6})$$

$$[0306] \quad V_{P,M} \cdot \frac{dC_{P,M}}{dt} = 3/MTT \cdot A_{3,M} \cdot \frac{188}{146} - CL_M \cdot C_{P,M} \quad (\text{方程 7})$$

$$[0307] \quad V_{P,D} \cdot \frac{dC_{P,D}}{dt} = fr_D \cdot CL_M \cdot C_{P,M} \cdot \frac{233}{188} - CL_D \cdot C_{P,D} \quad (\text{方程 8})$$

[0308] 方程1至8的初始条件是: $A_T(0)=D$; $C_{P,T}(0)=0$; $C_{T,T}(0)=0$; $C_{P,M}(0)=0$; $A_{1,M}(0)=0$; $A_{2,M}(0)=0$; $A_{3,M}(0)=0$; 且 $C_{P,D}(0)=0$ 。F表示TETA(Syprine)的假定生物利用度; $F_{P/S}$ 表示PX811019相对于Syprine的相对生物利用度; $C_{P,T}$ 、 $C_{P,M}$ 、 $C_{P,D}$ 为血浆中TETA、MAT、DAT的浓度; $C_{T,T}$ 是外周室中TETA的浓度; CL_T 、 CL_M 、 CL_D 是TETA、MAT和DAT的系统清除率; Q_T 是TETA的分布间隙; $V_{P,T}$ 、 $V_{P,M}$ 、 $V_{P,D}$ 是TETA、MAT和DAT的分布体积; $V_{T,T}$ 是TETA分布的外围体积; MTT是说明TETA与MAT浓度之间延迟的平均转运时间。所述模型用0至3个转运步骤进行了测试。 fr_M 和 fr_T 是代谢成MAT的TETA和代谢成DAT的MAT的分数。TETA、MAT和DAT的分子量(146、188和233g/mol)用于转换母体化合物与代谢物之间的质量变化(即TETA当量)。对于PX811019, CONV等于0.5721(250/435), 以及对于Syprine等于1, 并且用于将PX811019的质量转换为Syprine当量。

[0309] 产生的模型实际参数为:TETA的 CL_T/F 、 Q_T/F 、 $V_{P,T}/F$ 、 $V_{T,T}/F$; MAT的 CL_M/F 、 f_{rM} 和 $V_{P,M}/F$ 、 f_{rM} ; 以及DAT的 CL_D/F 、 f_{rM}/f_{rD} 和 $V_{P,D}/F$ 、 f_{rM}/f_{rD} , 因为服用的口服剂量的施用具有不确定的生物利用度(F), 并且反映TETA转化为MAT和MAT转化为TETA的分数(f_r)无法鉴定。额外滞后时间(t_{lag})用于解释口服给药后观察到的TETA浓度-时间曲线的上升阶段的延迟。根据这些参数计算出半衰期值($t_{0.5}$)。

[0310] 假设TETA的血浆浓度与铜的尿排泄之间存在线性关系, 对药效学进行建模(秋

(Cho H-Y)、布鲁姆(Blum RA)、桑德兰(Sunderland T)、库伯(Cooper GJS)和朱斯科(Jusko WJ),健康成人中铜选择性螯合剂(TETA)的药代动力学和药效学建模(Pharmacokinetic and pharmacodynamics modeling of a copper-selective chelator(TETA) in healthy adults),临床药理学杂志(J Clin Pharmacol)2009,49:916-928):

$$[0311] \quad Cu(t) = \int_{t_{-1}}^t ER_0 \cdot (1 + SL \cdot C_{P,T}(\tau)) \cdot d\tau = \int_{t_{-1}}^t ER_0 + ER_0 SL \cdot C_{P,T}(\tau) \cdot d\tau \quad (\text{方程 9})$$

[0312] 其中 t 表示对应于每次铜测量的尿收集时间, t_{-1} 是先前的膀胱排泄时间(t_{-1} 与 t 之间的时间范围对应于尿收集间隔), $d\tau$ 表示积分的变量是时间, ER_0 是基线铜排泄率,并且 SL 是将铜排泄率与血浆TETA浓度关联的线性斜率值。

[0313] 根据方程(9),排泄的铜质量($Cu(t)$)对每个尿液收集间隔的铜排泄率进行积分。对于图形显示, $ER(t)$ 近似为在尿液收集间隔期间排泄的铜量(实验或模型预测):

$$[0314] \quad ER(t) = \frac{Cu(t)}{t - t_{-1}} = \frac{\int_{t_{-1}}^t ER_0 \cdot (1 + SL \cdot C_{P,T}(\tau)) \cdot d\tau}{t - t_{-1}} \quad (\text{方程 10})$$

[0315] 假设对数正态分布,对PK参数的个体间变异性(IIV)和场合间变异性(IOV)进行建模:

$$[0316] \quad P_{ik} = \theta_P \cdot \exp(\eta_{P,i} + \kappa_{P,k}) \quad (\text{方程12})$$

[0317] 其中 P_{ik} 是第 i 个个体和第 k 个场合的PK/PD参数集, θ_P 是PK/PD参数的总体估计, η_i (ETA)是均值为0且方差为 ω^2 的随机效应, κ_k (KAPPA)是均值为0且方差为 π^2 的随机效应。通过估计这些参数的场合间变异性,假设了单独的F和 k_a 群体变异性模型。假设了两个水平的不同场合间变异性,这两个水平对应于TETA的每一施用。对于其它参数,仅对个体间变异性建模。

[0318] 在分析中,对第 i 个个体在第 k 场合在时间 t_j 测量的TETA、MAT和DAT浓度以及尿液中的铜量 C_{ijk} 的任何第 j 次观察被定义为:

$$[0319] \quad C_{P,T,ijk} = C_{P,T}(P_{ik}, t_j) \cdot (1 + \epsilon_{ijk,T,prop}) + \epsilon_{ijk,T,add} \quad (\text{方程13})$$

$$[0320] \quad C_{P,M,ijk} = C_{P,M}(P_{ik}, t_j) \cdot (1 + \epsilon_{ijk,M,prop}) + \epsilon_{ijk,M,add} \quad (\text{方程14})$$

$$[0321] \quad C_{P,D,ijk} = C_{P,D}(P_{ik}, t_j) \cdot (1 + \epsilon_{ijk,D,prop}) + \epsilon_{ijk,D,add} \quad (\text{方程15})$$

$$[0322] \quad Cu_{ijk} = Cu(P_{ik}, t_j) \cdot (1 + \epsilon_{ijk,Cu,prop}) + \epsilon_{ijk,Cu,add} \quad (\text{方程16})$$

[0323] 其中 $C_{P,T}$ 、 $C_{P,M}$ 、 $C_{P,D}$ 和 Cu 反映了基本结构群体模型(方程2、7、8、9), P_{ik} 是第 i 个个体和第 k 个场合的药代动力学参数(即 CL_T/F 、 Q/F 、 $V_{P,T}/F$ 、 $V_{T,T}/F$ 等),并且 $\epsilon_{ijk,add}$ 代表加性残差个体内随机误差。假设 ϵ_{ijk} 围绕均值0对称分布,所有PK和PD测量的方差用 σ^2_{add} 和 σ^2_{prop} 表示。NONMEM控制流如下:

[0324] \$PROBLEM TETA

[0325] \$INPUT ID TIM AMT DV CMT MDV EVID IDPERIOD IND BLQ AGEy BWkg Creat

[0326] DOSE

[0327] Form GFR M1F2 Period RACE SEQ TIME

[0328] \$DATA...\Data\NonmemData20161118.csv IGNORE=#

[0329] \$SUBROUTINE ADVAN6 TOL=6

[0330] \$MODEL

[0331] COMP = (DEPOT,DEFDOSE) ;1
[0332] COMP = (PER1) ;2 TAT
[0333] COMP = (PER2) ;3 TAT
[0334] COMP = (MET3) ;4 MAP
[0335] COMP = (MET4) ;5 DAD
[0336] COMP = (CU) ;6 DAD
[0337] COMP = (D1) ;7 D1
[0338] COMP = (D2) ;8 D2
[0339] COMP = (D3) ;9 D3
[0340] \$PK
[0341] ;CONVERT PX811019 DOSE TO SYPRINE EQUIVALENTS
[0342] CONV = 1
[0343] IF (FORM.EQ.0) CONV = 250/437
[0344] DOSECONV = DOSE*CONV; Syprine equivalents
[0345] FORX = 1;
[0346] IF (FORM.EQ.0) FORX = THETA(1); relative bioavailability PX811019/
SYPRINEALAG1X = THETA(2); ALAG for SYPRINE
[0347] IF (FORM.EQ.0) ALAG1X = THETA(3); ALAG for PX811019
[0348] KAX = THETA(4); KA for SYPRINE
[0349] IF (FORM.EQ.0) KAX = THETA(5); KA for PX811019; IOV
[0350] FVAR1 = DEXP(ETA(14)); 1
[0351] FVAR2 = DEXP(ETA(15)); 2
[0352] KAVAR1 = DEXP(ETA(16)); 1
[0353] KAVAR2 = DEXP(ETA(17)); 2
[0354] IF (PERIOD.EQ.1) FVAR = FVAR1
[0355] IF (PERIOD.EQ.2) FVAR = FVAR2
[0356] IF (PERIOD.EQ.1) KAVAR = KAVAR1
[0357] IF (PERIOD.EQ.2) KAVAR = KAVAR2
[0358] ;TETA
[0359] ALAG1 = ALAG1X*DEXP(ETA(1))
[0360] KA = KAX*KAVAR*DEXP(ETA(2))
[0361] VT = THETA(6)*DEXP(ETA(3))
[0362] CLTM = THETA(7)*DEXP(ETA(4))
[0363] VTT = THETA(8)*(1+THETA(21)*(DOSECONV-750))*DEXP(ETA(5))
[0364] QT = THETA(9)*DEXP(ETA(6)); MAT
[0365] MTT = THETA(10)*DEXP(ETA(7))
[0366] VM = THETA(11)*DEXP(ETA(8))
[0367] CLMD = THETA(12)*DEXP(ETA(9)); DAT
[0368] VD = THETA(13)*DEXP(ETA(10))

```
[0369]   CLD=THETA(14)*DEXP(ETA(11));CU
[0370]   BES=THETA(15)*DEXP(ETA(12))
[0371]   ALP=THETA(16)*DEXP(ETA(13))
[0372]   K23=QT/VT
[0373]   K32=QT/VTT
[0374]   K50=CLD/VD
[0375]   K24=CLTM/VT
[0376]   K45=CLMD/VM
[0377]   K74=3/MTT
[0378]   $DES
[0379]   CTETA=A(2)/VT
[0380]   DADT(1)=-KA*A(1)
[0381]   DADT(2)=CONV*FORX*FVAR*KA*A(1)-K23*A(2)+K32*A(3)-K24*A(2)
[0382]   DADT(3)=K23*A(2)-K32*A(3)
[0383]   DADT(4)=K74*A(9)*188/146-K45*A(4)
[0384]   DADT(5)=K45*A(4)*230/188-K50*A(5)
[0385]   DADT(6)=BES+ALP*CTETA
[0386]   DADT(7)=K24*A(2)-K74*A(7)
[0387]   DADT(8)=K74*A(7)-K74*A(8)
[0388]   DADT(9)=K74*A(8)-K74*A(9)
[0389]   $ERROR
[0390]   TETACONC=A(2)/VT
[0391]   LLOQ_TETA=5/1000
[0392]   LLOQ_MAT=5/1000 LLOQ_DAT=5/1000
[0393]   IF (BLQ.EQ.0.AND.CMT.EQ.2) THEN
[0394]     IPRE=A(2)/VT
[0395]     IRES=DV-IPRE
[0396]     W=SQRT(0.00001**2+(THETA(17)*IPRE)**2)
[0397]     IWRE=(DV-IPRE)/W
[0398]     Y=IPRE+W*ERR(1)
[0399]   ENDIF
[0400]   IF (BLQ.EQ.1.AND.CMT.EQ.2) THEN
[0401]     IPRE=A(2)/VT
[0402]     IRES=DV-IPRE
[0403]     W=SQRT(0.00001**2+(THETA(17)*IPRE)**2)
[0404]     DUM=(LLOQ_TETA-IPRE)/W
[0405]     CUMD=PHI(DUM)F_FLAG=1
[0406]     Y=CUMD
[0407]   ENDIF
```

```
[0408] IF (BLQ.EQ.0.AND.CMT.EQ.4) THEN
[0409] IPRE=A(4)/VM
[0410] IRES=DV-IPRE
[0411] W=SQRT(0.00001**2+(THETA(18)*IPRE)**2)
[0412] IWRE=(DV-IPRE)/W
[0413] Y=IPRE+W*ERR(2)
[0414] ENDIF
[0415] IF (BLQ.EQ.1.AND.CMT.EQ.4) THEN
[0416] IPRE=A(4)/VM
[0417] IRES=DV-IPRE
[0418] W=SQRT(0.00001**2+(THETA(18)*IPRE)**2) DUM=(LLOQ_MAT-IPRE)/WCUMD=
PHI(DUM)
[0419] F_FLAG=1
[0420] Y=CUMD
[0421] ENDIF
[0422] IF (BLQ.EQ.0.AND.CMT.EQ.5) THEN
[0423] IPRE=A(5)/VD
[0424] IRES=DV-IPRE
[0425] W=SQRT(0.00001**2+(THETA(19)*IPRE)**2)
[0426] IWRE=(DV-IPRE)/W
[0427] Y=IPRE+W*ERR(3)
[0428] ENDIF
[0429] IF (BLQ.EQ.1.AND.CMT.EQ.5) THEN
[0430] IPRE=A(5)/VD
[0431] IRES=DV-IPRE
[0432] W=SQRT(0.00001**2+(THETA(19)*IPRE)**2)
[0433] DUM=(LLOQ_DAT-IPRE)/W
[0434] CUMD=PHI(DUM) F_FLAG=1
[0435] Y=CUMD
[0436] ENDIF
[0437] IF (CMT.EQ.6) THEN
[0438] IPRE=A(6)
[0439] IRES=DV-IPRE W=SQRT(0.00001**2+(THETA(20)*IPRE)**2)
[0440] IWRE=(DV-IPRE)/W
[0441] Y=IPRE+W*ERR(4)
[0442] ENDIF
[0443] ;TETA
[0444] $THETA(0,0.746);F_RELATIVE
[0445] $THETA(0,0.083);ALAG1_SYPRINE
```

[0446] \$THETA (0,0.100) ;ALAG1_PX811019
[0447] \$THETA (0,1.72) ;KA_SYPRINE
[0448] \$THETA (0,1.20) ;KA_PX811019
[0449] \$THETA (0,376.) ;VT
[0450] \$THETA (0,147.) ;CLTM
[0451] \$THETA (0,1160.) ;VTT
[0452] \$THETA (0,42.1) ;QT
[0453] ;MAT
[0454] \$THETA (0,0.549) ;MTT
[0455] \$THETA (0,395.) ;VM
[0456] \$THETA (0,75.8) ;CLMD
[0457] ;DAT
[0458] \$THETA (0,179.) ;VD
[0459] \$THETA (0,306.) ;CLD;CU
[0460] \$THETA (0,0.592) ;ERO
[0461] \$THETA (0,22.9) ;ERO*SL
[0462] \$THETA (0.001) ;VT-DOSE
[0463] ;ERROR MODELS
[0464] \$THETA (0,0.456) ;PROPT
[0465] \$THETA (0,0.227) ;PROPM
[0466] \$THETA (0,0.196) ;PROPD
[0467] \$THETA (0,0.542) ;PROPCU
[0468] \$OMEGA 0 FIX;ALAG1
[0469] \$OMEGA 0 FIX;KA \$OMEGA 0.0141;VT
[0470] \$OMEGA 0.0213;CLTM
[0471] \$OMEGA 0.0626;VTT\$OMEGA 0 FIX;QT
[0472] \$OMEGA 0 FIX;MTT
[0473] \$OMEGA BLOCK (2) ;VM-CLMD
[0474] 0.25
[0475] 0.1 0.157
[0476] \$OMEGA BLOCK (2) ;VD-CLD
[0477] 0.694
[0478] 0.1 0.127
[0479] \$OMEGA 1.26;ERO
[0480] \$OMEGA 0.282;ERO*SL
[0481] \$OMEGA BLOCK (1) 0.20;FVAR
[0482] \$OMEGA BLOCK (1) SAME
[0483] \$OMEGA BLOCK (1) 0.60;KA OCC
[0484] \$OMEGA BLOCK (1) SAME

[0485] \$SIGMA 1.FIX;FIX
 [0486] \$SIGMA 1.FIX;FIX
 [0487] \$SIGMA 1.FIX;FIX
 [0488] \$SIGMA 1.FIX;FIX
 [0489] \$ESTIMATION METHOD=COND INTER NOABORT MAXEVAL=9999 NSIG=2 SIGL=7
 [0490] PRINT=2 LAPLACIAN NUMERICAL SLOW
 [0491] MSFO=
 [0492] \$COV UNCONDITIONAL SLOW
 [0493] \$TABLE ID TIME EVID IPRE IWRE IRES AMT BLQ CWRES CMT TIM MDV
 [0494] NOPRINT ONEHEADER FILE=SDTAB.BLE
 [0495] \$TABLE ID ALAG1 KA VT VTT QT VM VD CLD BES MTT FVAR KAVAR ALP
 CLTMCLMD ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 ETA6 ETA7 ETA8 ETA9 ETA10 ETA11 ETA12
 [0496] ETA13
 [0497] NOAPPEND NOPRINT ONEHEADER FILE=PATAB.BLE
 [0498] \$TABLE ID AGEy BWkg Creat DOSE DOSECONV GFR
 [0499] NOAPPEND NOPRINT ONEHEADER FILE=COTAB.BLE
 [0500] \$TABLE ID M1F2 Period RACE SEQ Form
 [0501] NOAPPEND NOPRINT ONEHEADER FILE=CATAB.BLE

[0502] 视觉预测检查:通过视觉预测检查(VPC)来评估模型性能。VPC是基于1000个用最终参数估计[7-9]模拟的数据集计算的。VPC可以对一段时间内的预测数据和观测数据进行比较。在本研究中,第10、50和90百分位数用于总结数据和VPC预测。VPC能够将从预测中获得的置信区间与一段时间内观察到的数据进行比较。当观察数据的相应百分位数超出源自预测值的90%置信区间时,指示模型设定错误。

[0503] 协方差分析:这项工作的一个目的是表征按照PX811019与Syprine®给药的TETA的可能的PK/PD差异。因此,单独对每种调配物的所有吸收相关参数(滞后时间和 k_a)进行了估计。其它参数被认为在药物调配物之间相同,除非在模型建立过程中发现一些相反的证据。

[0504] 使用标准协方差分析寻找其它可能的关系,其中将PK/PD参数的个体(事后推理)估计值(Eta(η)或Kappa(κ))相对于可用协变量(体重、年龄、eGFR、性别、剂量、序列、周期、调配物)制图,以鉴定它们的潜在影响。如果找到了这种关系,则所有记录的值都用下面的回归模型来描述:

$$[0505] \quad P_{ik} = \theta_{P1} (1 + \theta_{P2} (\text{COV}_{ik} - \text{COV}_{\text{中位数}})) \exp(\eta_{P,i} + \kappa_{P,k}) \quad (\text{方程17})$$

[0506] 其中 θ_{P1} 和 θ_{P2} 是回归系数。连续变量以它们的中位数COV中位数为中心,因此允许 θ_{P1} 代表具有中位数协变量的典型患者的参数估计值。分类协变量(诸如性别)包括在基于指示变量的模型中:

$$[0507] \quad P_{ik} = \begin{pmatrix} \theta_{P1} & \text{if } IND_{ik} = 0 \\ \theta_{P2} & \text{if } IND_{ik} = 1 \end{pmatrix} \cdot \exp(\eta_{P,i} + \kappa_{P,k}) \quad (\text{方程18})$$

[0508] 其中IND是指示变量,当协变量存在时,其值为1,否则为0。针对两个层次模型的NONMEM目标函数(OFV)的最小值差异(似然比)近似为 χ^2 分布(莫尔德(Mould DR),厄普顿(Upton RN.)群体建模、模拟和基于模型的药物开发的基本概念一部分2:药代动力学建模

方法介绍(Basic concepts in population modeling,simulation,and model-based drug development—Part 2:Introduction to pharmacokinetic modeling methods), CPT:定量药理学与系统药理学杂志(CPT:Pharmacometrics&Systems Pharmacology)2013, 2,e38)。在协变量搜索过程中,通过在基础模型中添加适当方程来检查每个协变量的影响。当对于一个自由度,模型之间的OFV差异达到3.84时,认为包括在基础模型中的协变量是统计学上显著的($p<0.05$)。重复此过程,直到添加了所有显著的协变量。然后通过一次去除一个协变量来进行反向消除。根据OFV,最不重要的协变量被从模型中剔除,除非OFV的差异大于6.63(对应于 $p<0.01$)。当不再有协变量可以从模型中排除时,就建立了最终模型。

[0509] 结果和讨论

[0510] 从18名受试者分析的数据包含TETA、MAT和DAT中每一者的714个血浆浓度测量值,以及455个尿液中铜的测量值。有124个(17.4%)TETA、113个(15.8%)MAT和187个(26.2%)DAT测量值低于定量限(BQL)。

[0511] 表7呈现了受试者特征和可用协变量的总结。

[0512] 表7.受试者的人口统计学特征。

	参数, 单位	所有受试者, 中位数[范围]或数字
[0513]	年龄, 年	34 [20 – 48]
	体重, kg	75 [57.3 – 93.6]
	肾小球滤过率(eGFR), ml/min	121.5 [91.3 – 158.8]
	男性/女性	9/9

[0514] 9名男性和9名女性构成的群组的中位年龄为34岁,并且范围为20至48岁。体重在57.3至93.6kg的范围内。所有受试者具有正常肾功能,所估计的肾小球滤过率(eGFR)在91.3至158.8ml/min的范围内。

[0515] 实例2中的表6使用传统的非隔室(NCA)分析总结了TETA、MAT和DAT的主要暴露指数。根据 C_{max} 和AUC值显而易见的是,当作为PX811019施用,这些等摩尔剂量的TETA产生了所有三种化合物的较低浓度。然而,由于NCA没有适当地考虑稍后时间的BLQ值,因此依赖于此的任何参数(例如, $t_{0.5}$)可能是偏斜的。由于此研究包括一系列剂量以及母体药物、两种代谢物以及铜排泄的联合测量,因此进行了此基于群体的分析,以此全面、更普遍的方式比较这两种盐形式。

[0516] 最初,PK/PD模型用于描述来自健康志愿者中多剂量研究的数据。其为具有TETA PK的一级吸收的二室配置模型。假设悬链线代谢($TETA \rightarrow MAT \rightarrow DAT$),对TETA的代谢物进行建模。此外,使用三个转运步骤对TETA与MAT浓度之间的延迟进行建模。针对MAT和DAT血浆浓度,假设均为一室处置模型。尿液中的铜被建模为与早先发现的TETA血浆浓度的直接线性连接。秋等人,“健康成人中铜选择性螯合剂(TETA)的药代动力学和药效学建模”,临床药理学杂志2009,49:916-928。

[0517] 对秋等人的模型进行了以下修改:(i)不需要残差模型的附加部分;(ii)由于本研究存在较大的变异性,因此包括了对 ER_0 (基线铜排泄率)的个体间变异性的估计;(iii)将方程(9)重新参数化为作为独立参数的 ER_0 和 $SL \cdot ER_0$;(iv)包括MAT和DAT的表观分布体积与清除率之间的相关性;(v)针对吸收速率常数建立IOV模型,作为该研究的主要目的之一;

和(vi)发现TETA周边分布体积的剂量依赖性。正如NONMEM目标函数和视觉预测检查所判断的那样,这些步骤中的每一步都极大地改进了模型拟合。

[0518] 针对受试者中的每一个,在整个研究中的TETA、MAT和DAT的血浆浓度以及铜排泄的实验数据和模型拟合用图表表示(受试者图表)。

[0519] 对假定的一般生物利用度(F)和吸收速率常数的场合间变异性建模被用作替代,以解释TETA药代动力学的总体受试者内变异。这种场合间变异性的包括避免了群体参数估计的偏差。博格斯特朗(Bergstrand,M,)等人,用于诊断非线性混合效应模型的预测校正视觉预测检查(Prediction-corrected visual predictive checks for diagnosing nonlinear mixed-effects models),美国药理学科学家协会杂志(AAPS J.)2001,13:143-151。

[0520] 受试者图表中的模型拟合表明,最终PK模型准确描述了测得的浓度和PD反应。准备了最终模型的典型拟合优度诊断图。个体和群体预测值相对于观察浓度围绕同一性线相对对称地分布,个体加权残差相对于个体预测浓度和时间不显示任何趋势,并且围绕零相对均匀地分布,表明在量化PK数据时模型性能良好。

[0521] TETA、MAT和DAT浓度以及尿液中排泄的铜量的VPC图用于评估模型和拟合参数的特性。VPC图指示,数据的中心趋势和特定采样时间的变异性都被重新捕获,因为大多数数据点都落在90%的置信区间内。在模型拟合中,没有关于测量值和浓度分数低于LLOQ的重大错误设定。

[0522] 下表8A至8D列出了TETA和代谢物的模型拟合群体PK/PD参数:

[0523] 表8. 基于最终模型的最终群体PK/PD参数(A)以及受试者间(B)、场合间(C)和残差方差估计值(D)的总结。

参数, 单位	描述	估计值(%CV)[收缩]
A. 群体平均数		
$\theta - FP/S$	相对生物利用度 (PX811019/Syprine)	0.745 (6.0)
$\theta - t_{\text{滞后}}, h$ (Syprine)	Syprine 的吸收滞后时间	0.083 (0.3)
$\theta - t_{\text{滞后}}, h$ (PX811019)	PX811019 的吸收滞后时间	0.239 (1.4)

[0525]

$\theta - k_a, h^{-1}$ (Syprine)	Syprine 的吸收速率常数	1.74 (55.1)
$\theta - k_a, h^{-1}$ (PX811019)	PX811019 的吸收速率常数	1.19 (31.1)
$\theta - VP, T/F, L$	TETA 的表观中心体积	326 (15.0)
$\theta - CL_T/F, L/h$	TETA 的表观系统清除率	141 (11.1)
$\theta - Q_T/F, L/h$	TETA 的表观分布间隙	39.2 (12.1)
$\theta - VT, T/F, L$	750 mg 剂量(Syprine 当量)的 TETA 表观外周体积	1210 (11.8)
$\theta - (V_{T,T}/F - \text{剂量}), L/100mg$	TETA 剂量(Syprine 当量)与 $V_{T,T}/F$ 之间的关系回归参数	0.0637 (17.3)
$\theta - MTT, h$	MAT 形成的平均转运时间	0.381 (34.2)
$\theta - VP, M/F/fr_M, L$	MAT 的表观体积	426 (9.8)
$\theta - CL_M/F/fr_M, L/h$	MAT 的表观系统清除率	76.2 (6.5)
$\theta - VP, D/F/fr_M/fr_D, L$	DAT 的表观体积	197 (17.7)
$\theta - CL_D/F/fr_M/fr_D, L/h$	DAT 的表观系统清除率	306 (9.0)
$\theta - ER_0, \mu g/h$	基线铜排泄率	0.581 (28.7)
$\theta - SL \cdot ER_0, (mg/L)^{-1} \cdot (\mu g/h)$	TETA 与铜排泄率之间的斜率	24.3 (17.4)
A. 个体间变异		
$\omega^2 - V_{P,T}/F, \%$	个体间变异为 $V_{P,T}/F$	16.3 (27.9) [22.3]
$\omega^2 - CL_T/F, \%$	个体间变异为 CL_T/F	10.3 (41.4) [22.0]
$\omega^2 - V_{T,T}/F, \%$	个体间变异为 $V_{T,T}/F$	13.5 (33.6) [30.9]
$\omega^2 - VP, M/F/fr_M, \%$	个体间变异为 $VP, M/F/fr_M$	55.1 (17.4) [2.7]
$\omega^2 - CL_M/F/fr_M, \%$	个体间变异为 $CL_M/F/fr_M$	41.5 (15.1) [2.9]
$\omega^2 - CL_D/F/fr_M/fr_D, \%$	个体间变异为 $CL_D/F/fr_M/fr_D$	55.9 (18.1) [1.5]
$\omega^2 - VP, D/F/fr_M/fr_D, \%$	个体间变异为 $VP, D/F/fr_M/fr_D$	86.8 (29.4) [2.7]
$\omega^2 - ER_0, \%$	个体间变异为 ER_0	112 (24.6) [5.9]
$\omega^2 - SL \cdot ER_0, \%$	个体间变异为 $SL \cdot ER_0$	58.1 (25.1) [7.8]
Cor_1	$V_{P,M}/F/fr_M$ 与 $CL_M/F/fr_M$ 之间的相关性	0.927
Cor_2	$V_{P,D}/F/fr_M/fr_D$ 与 $CL_D/F/fr_M/fr_D$ 之间的相关性	0.789
B. 场合间变异性		
$\pi^2 - k_a, \%$	场合间变异性为 k_a	69.4 (57.6) [16.3]
$\pi^2 - F, \%$	场合间变异性为 F	43.7 (17.3) [5.5]
C. 残差变异性		
$\sigma^2_{prop, T}, \%$	TETA 的比例残差变异性	38.1 (7.5) [2.6]
$\sigma^2_{prop, D}, \%$	MAT 的比例残差变异性	23.8 (7.3) [4.9]
$\sigma^2 \text{ 比例}, M, \%$	DAT 的比例残差变异性	19.0 (4.0) [4.7]
$\sigma^2 \text{ 比例}, Cu, \%$	Cu 的比例残差变异性	56.6 (5.4) [1.8]

[0526] 所有的PK/PD参数、受试者间、场合间和残差方差经估计都很好, CV值小于57.6%。表观平均中心分布体积对于TETA为326L, 对于MAT为426L, 并且对于DAT为197L。对应的表观清除率为141、76.2和306L/h。对于TETA, 750mg剂量的表观外周体积为1210L, 并且表观分布间隙为39.2L/h。PX811019相对于Syprine®的相对生物利用度为74.5%。吸收速率常数分别对于PX811019为1.19小时⁻¹且对于Syprine®为1.74小时⁻¹, 并且时滞分别为0.239和0.083小时。关于TETA转化为MAT的平均转运时间(MTT)为0.381小时, 反映了MAT出现的短暂延迟。基线铜排泄率为0.581μg/h。铜排泄与TETA浓度呈线性增加, 斜率(SL)为41.8(mg/L)⁻¹。

[0527] 个体间变异性(IIV)一般为适中至中度, 并且可针对以下进行鉴定: 所有的中心分

布体积 (TETA、MAT和DAT分别为16.3%、55.1%和86.8%)、所有的表观系统清除率 (TETA、MAT和DAT分别为10.3%、41.5%和55.9%)、TETA的外周室体积 (13.5%)、 ER_0 (112%) 和 $SL \cdot ER_0$ (58.1%)。对于其它参数, IIV被固定为零, 因为它或者在建模过程中趋于零, 或者估计有大的 (>50%) 收缩。

[0528] 药物的反复施用导致了IOV的发生。这个过程, 当包括在模型构建过程中时, 大大改进了模型拟合。假定的F和吸收速率常数的IOV适中, 并且等于44%和70%。

[0529] 发现 $V_{T,T}/F$ 和用Syprine当量表示的TETA剂量之间有显著的关系 ($p=9.0224e-05$, $\Delta OFV=15.331$)。所述模型预测, 与750mg剂量的TETA相比, 每100mg差异, $V_{T,T}/F$ 增加6.37%。这一因素可能是半衰期随剂量适度增加的原因 (实例13中的表6)。在最终模型中, IIV参数的个体值被精确地估计为由小于20%的非常低的收缩率指示 (收缩率等于31%的 $V_{T,T}/F$ 除外)。萨维奇 (Savic, RM) 和卡尔森 (Karlsson, MO.) 诊断用经验贝叶斯估计中收缩率的重要性: 问题与解决方案. AAPS杂志. 2009; 11: 558-69。这表明这些数据提供了关于个体预测参数的信息, 使得搜索其它协变量关系成为可能。使用与受试者性别相关的TETA PK/PD参数的ETA的个体估计值, 基于ETA图 (个体估计值相对于群体均值的偏差) 搜索体重、年龄、eGFR、性别和序列因素之间的关系。类似地, 基于与调配物和场合相关的TETA PK/PD参数的KAPPA图 (特定场合 (访视) 的估计值相对于个体平均PK参数的偏差), 搜索调配物和场合的因素之间的关系。这些数据中任何趋势的缺乏表明这些个体协变量没有解释PK/PD参数中剩余的无法解释的受试者间变异性。

[0530] 还对6名典型受试者的个体TETA、MAT和DAT浓度以及铜排泄率与时间的关系进行了联合作图。所有受试者在整个研究期间的药物和代谢物浓度以及铜排泄率似乎相似且一致。

[0531] 将模型拟合的半衰期值添加到实例2的表6中, 以便与NCA值进行比较。由于 V_T 随剂量增加, TETA的 $\beta t_{0.5}$ 随剂量从18小时增加至28小时至37小时。本研究改进了测定的LLOQ, 允许在冲洗阶段进行更扩展和可靠的测量。这种 V_T 增加通常通过非线性血浆蛋白或随药物浓度增加的组织结合来解释。表6 (实例2) 中所列的DAT和MAT的 $t_{0.5}$ 值反映了在直接施用这些化合物情况下所预期的理论处置率。它们的实际终端斜率由来自TETA的“形成速率限制配置”控制, 并由此在整个数据的联合拟合过程中确定。

[0532] 应用于铜排泄的PK/PD模型显示, 在所有剂量下, 每个受试者的Syprine®和PX811019重叠的TETA浓度与铜排泄之间存在高度一致的关系。一名受试者具有异常高的基线和受TETA影响的铜排泄率。

[0533] 总体而言, 以琥珀酸盐形式施用TETA产生的总体线性特性和PK/PD特征与以二盐酸盐形式给药的TETA没有区别, 除了反映为74.5%相对生物利用度的较低总体暴露量。这两种形式的吸收动力学不同, 但差别很小。在利用PX811019的这些数据的初步分析 (实例2, 表6) 中观察到的较低 C_{max} 和AUC值可以通过施用134%量的本发明琥珀酸盐调配物 (1/0.745) 来补偿。在这种三亚乙基四胺二琥珀酸盐剂量调整后, 可预期的TETA的浓度对时间曲线8798应该与三亚乙基四胺二盐酸盐曲线相同。

[0534] ***

[0535] 本文描述且请求保护的本发明具有许多属性和实施例, 包括但不限于本详细公开中阐述或描述或提及的那些。其并不旨在是概括所有的, 并且本文描述且请求保护的本发

明并不限于本详细公开中鉴定的特征或实施例或受本发明内容中鉴定的特征或实施例限制,所述特征或实施例仅包含用于说明性而非限制性目的。

[0536] 本文参考或提到的所有专利、出版物、科学论文、网站及其它文件和材料指示本发明所属领域的技术人员的技术水平,并且每个这种参考的文件和材料在此以引用的方式并入,其程度如同其已个别地以引用的方式全文并入或在本文中全文阐述一样。申请人保留将来自任何这种专利、出版物、科学论文、网站、电子可用信息以及其它参考材料或文献的任何和所有材料和信息实际并入本说明书的权利。在本说明书中对任何申请、专利和出版物的引用不是,并且可不认为是承认或以任何形式暗示它们构成有效的现有技术或构成世界上任何国家的公知常识的一部分。

[0537] 本文描述的具体方法和组合物是优选实施例的代表,并且是示例性的而不意欲作为对本发明范围的限制。本领域技术人员在考虑本说明书后将想到其它目的、方面和实施例,并且这些目的、方面和实施例包括在由权利要求书的范围所限定的本发明的精神内。因此,例如,在本文的每种情况下,以及在本发明的实施例或实例中,术语“包括”、“基本上由……组成”和“由……组成”中的任何一个可以用本说明书中的其它两个术语中的任一个来替代。在本文中适当地说明性描述的方法和过程可以以不同的步骤顺序实施,并且其并不必限制于本文或权利要求中所指示的步骤顺序。除非上下文另有明确规定,否则也如本文以及在所附权利要求书中所使用的,单数形式“一个(a)”、“一种(an)”和“所述(the)”包含复数指代物。本专利决不能被解释为限制于本文具体公开的具体实施例或实施例或方法。在任何情况下,本专利都不能解释为受任何审查员或专利和商标局的任何其它官员或雇员作出的任何陈述的限制,除非这种陈述明确且无任何限定或保留地在申请人的回应书中明确采用。

[0538] 已经使用的术语和表达被用作描述性术语而非限制性术语,并且在使用这些术语和表达时无意排除所示出和描述的特征或其部分的任何同等者,但是应当认识到,在所主张保护的本发明的范围内可以进行各种修改。因此,应当理解尽管本发明已通过优选实施例和任选特征具体公开,但本领域的技术人员可以采用公开的本文概念的修改和变化,并且这种修改和变化被视为在如由附加权利要求限定的本发明的范围内。

[0539] 其它实施例在所附权利要求书内。此外,在本发明的特征或方面以马库西组的方式进行描述的情况下,所属领域的技术人员将认识到本发明也因此以马库西组的任何个别成员或成员子组的形式进行描述。

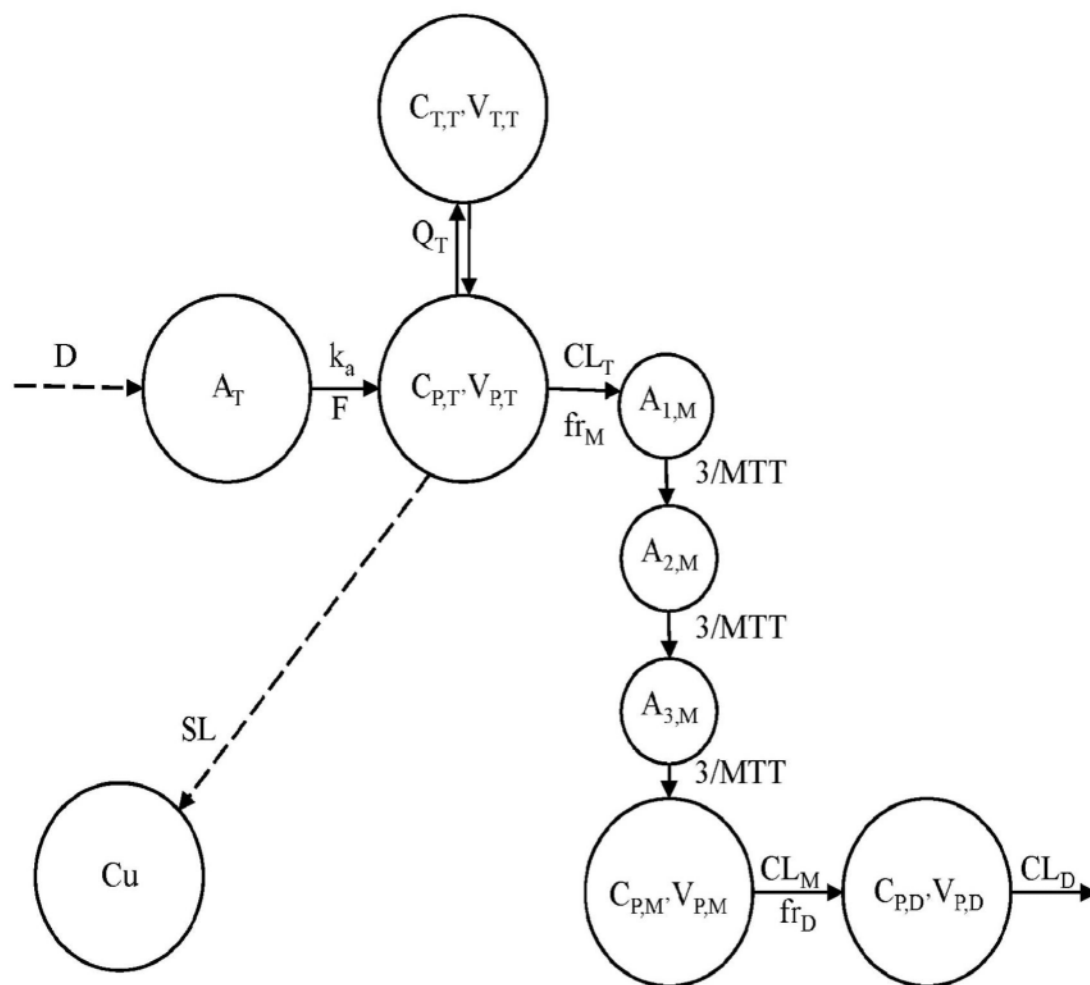


图1