(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 111683684 B
(45)授权公告日 2024.07.02

(21)申请号 201880074778.3
(22)申请日 2018.09.20
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111683684 A
(43)申请公布日 2020.09.18
(30)优先权数据
62/561101 2017.09.20 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.05.19
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/052080 2018.09.20
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/060634 EN 2019.03.28

(73)专利权人 硫创治疗公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 V.P.小斯坦顿 P.P.里乌 P.巴斯基 D.维特
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 李进 邵长准

(51)Int.Cl.
A61K 47/54(2006.01)
C07C 323/41(2006.01)
C07H 15/203(2006.01)
(56)对比文件
WO 2017161318 A1,2017.09.21
审查员 赵黎博

权利要求书1页 说明书90页 附图39页

(54)发明名称

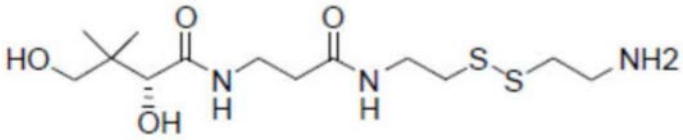
用于治疗半胱胺敏感性病症的方法

(57)摘要

本发明提供治疗个体的胱氨酸病和其它半胱胺敏感性病症的方法,其包括施用可在体内转化为半胱胺的二硫化物。所述方法可包括向所述个体单独施用还原剂,以增加在施用所述二硫化物后产生的所述半胱胺的生物可用性和延长所述半胱胺的血浆药代动力学曲线。所述方法准许个体中持续的半胱胺血浆浓度。

CN 111683684 B

1.包含化合物1或其药学上可接受的盐的药物组合物在制备用于治疗个体的半胱胺敏感性病症的药物中的用途,其中所述药物包含50至150毫克/千克体重(mg/kg)的剂量的化合物1或其药学上可接受的盐,



(1),

其中所述药物被配制成每日一次或多次向所述个体口服施用,并且其中所述半胱胺敏感性病症选自胱氨酸病;神经退化性疾病;神经发育性疾病;

神经精神疾病;线粒体疾病;肾、肝或肺的纤维化疾病;寄生虫感染;镰状细胞贫血;癌症;缺血性疾病,包括缺血性心脏病或中风;慢性阻塞性肺病(COPD);囊性纤维化(CF);细菌感染;病毒感染;非酒精性脂肪性肝炎(NASH);酒精性脂肪性肝炎;和非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)。

2.根据权利要求1所述的用途,其中所述药物不配制成在向所述个体施用还原剂的2小时内施用。

3.根据权利要求1所述的用途,其中所述药物被配制成每日一次、两次或三次向所述个体施用。

4.根据权利要求1所述的用途,其中所述剂量为2000-8000mg的化合物1或其药学上可接受的盐。

5.根据权利要求1所述的用途,其中所述药物被配制成用于立即释放。

6.根据权利要求1所述的用途,其中所述药物(i)被配制成粉末且剂型为药囊,或者(ii)被配制成片剂或胶囊,或者(iii)被配制成液体溶液或悬浮液。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的用途,其中所述半胱胺敏感性病症是选自亨廷顿氏病、神经退化病症伴以脑铁积累、帕金森氏病和阿尔茨海默氏病的神经退化性疾病。

8.根据权利要求1至6中任一项所述的用途,其中所述半胱胺敏感性病症是选自瑞特综合症和其它MECP2突变相关病症的神经发育性疾病。

9.根据权利要求1至6中任一项所述的用途,其中所述半胱胺敏感性病症是选自利氏综合症、MELAS、MERFF和弗里德希氏共济失调的线粒体疾病。

10.根据权利要求1至6中任一项所述的用途,其中所述半胱胺敏感性病症是选自奥尔波特病、局灶节段性肾小球硬化症(FSGS)、酒精性脂肪性肝炎(ASH)和肺部纤维化的纤维化疾病。

11.根据权利要求1至6中任一项所述的用途,其中所述半胱胺敏感性病症是细菌感染或病毒感染。

用于治疗半胱胺敏感性病症的方法

技术领域

[0001] 本发明提供用于治疗半胱胺敏感性症状、综合症和疾病的组合物和方法。

背景技术

[0002] 半胱胺是天然存在的氨基硫醇,通过泛酰巯基乙胺的分解代谢在体内产生。临床前和早期临床研究表明,半胱胺可能在多种疾病中具有治疗活性,但由于缺乏方便的给药方案和较差的毒理学,广泛的临床开发受到阻碍。

[0003] 半胱胺具有若干作用机制,其中大多数与其硫醇部分的还原能力有关。半胱胺在20世纪50年代首次作为用于经受放射疗法的癌症患者的放射防护剂和作为辐射中毒治疗。半胱胺的硫醇基可以减少可能对细胞有害的自由基和其它氧化化合物,从而有助于氧化还原稳态。半胱胺还可以通过增加其它抗氧化剂硫醇(如谷胱甘肽和半胱氨酸)的含量来间接中和有害氧化剂。例如,半胱胺可以参与硫醇-二硫化物与胱氨酸(半胱氨酸的二聚氧化形式)的交换,形成半胱胺-半胱氨酸二硫化物和游离半胱氨酸。半胱胺还可以与蛋白质的半胱氨酸残基形成二硫化物,从而影响蛋白质结构和功能。半胱胺可以抑制酶,包括转谷氨酰胺酶、半胱天冬酶、基质金属蛋白酶和谷氨酰胺酰环化酶。半胱胺是一种螯合剂,对铜具有特殊的亲和力。半胱胺还阻断某些肽激素的分泌,包括生长抑素。

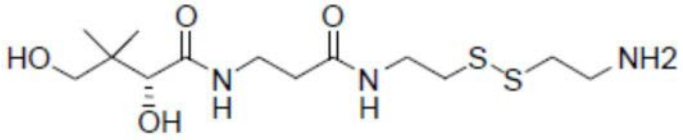
[0004] 有半胱胺治疗益处的临床前或临床证据的疾病包括神经退化性疾病,包括阿尔茨海默氏病(Alheimer's disease)、亨廷顿氏病(Huntington's disease)和帕金森氏病(Parkinson's disease);肾、肝和肺的发炎性疾病和纤维化疾病;代谢疾病,包括糖尿病、代谢综合症和脂肪性肝病谱;传染病,包括病毒、细菌和寄生虫感染;高胆固醇血症;缺血性疾病,包括缺血性心脏病或中风;镰状细胞贫血;遗传线粒体疾病;精氨酸突变为半胱氨酸引起的遗传性疾病;和癌症。

[0005] 不幸的是,半胱胺具有非常令人不愉快的感官特性(臭味和苦味),并且当摄入治疗有效量(青少年和成人每天超过1克)时会产生体臭和口臭。大多数患者还经历胃肠道副作用,包括厌食、恶心、呕吐和/或胃痛。口臭、体臭和胃肠道副作用都与高峰半胱胺血液水平相关(通常比健康受试者的内源性半胱胺水平高50倍)。此外,半胱胺的消除半衰期仅为约25分钟,这需要频繁给药。总之,现有的半胱胺口服制剂存在感官特性(苦味、难闻气味)、药理学(大部分剂量间隔的亚治疗血液水平)、毒理学(胃肠道和其它副作用)和稳定性(由氧化所致的短存放期)的问题。这些问题中的许多是药物,一种挥发性硫醇化合物固有的。结果,许多胱氨酸病患者不完全顺应半胱胺疗法,且因此遭受疾病进展。

[0006] 临床开发已受到半胱胺制剂无法在持续时段内以可接受的毒理学递送治疗水平的药物的阻碍。因此,需要改进的治疗方案,包括改进的半胱胺产生化合物、改进的制剂和改进的给药方案,其可以产生持续升高的半胱胺血液水平,同时降低峰浓度且提高谷浓度,从而提供改善的功效同时使副作用最小化。此外,鉴于半胱胺药代动力学的已知患者间变化,需要能够使给药方案个体化的组合物以改善功效并降低毒性。

发明内容

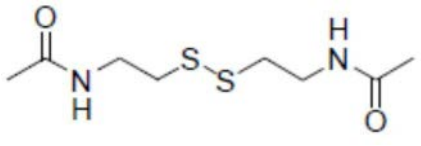
[0007] 在第一方面,本发明提供一种治疗个体的半胱胺敏感性病症的方法,其包括向个体施用剂量为50至150毫克/千克体重(mg/kg)(例如60±10、70±10、80±10、90±10、100±25、110±20、120±10、130±10或140±10mg/kg)的化合物1:

[0008] 

(1),

[0009] 或其药学上可接受的盐,每日一次或多次(例如每日一次、两次或三次)。在特定实施例中,在施用剂量的2小时内(例如在30分钟、1小时、90分钟或2小时内),不向个体施用还原剂。在特定实施例中,在施用剂量之后2小时至8小时,向个体施用还原剂。在特定实施例中,在施用化合物1或药学上可接受的盐的剂量之后3±1小时、4±1小时、5±1小时、6±1小时、7±1小时或4±2小时施用还原剂。在一个实施例中,还原剂选自谷胱甘肽、谷胱甘肽二乙酯、γ谷氨酰半胱氨酸、二氢硫辛酸、N-乙酰半胱氨酸、高半胱氨酸、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A、维生素E和抗坏血酸。在特定实施例中,其中化合物1或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,化合物1或其药学上可接受的盐被配制成粉末且剂型为药囊。在特定实施例中,向个体施用选自包括以下的组的泛酰巯基乙胺酶诱导剂:PPARα激动剂、PPARγ激动剂或Nrf2诱导剂。在一个实施例中,泛酰巯基乙胺酶诱导剂是十字花科蔬菜中存在的异硫氰酸酯、萝卜硫素、S-烯丙基半胱氨酸、二烯丙基三硫化物、氧化脂肪、ω-3脂肪酸或十八烯乙醇酰胺。在特定实施例中,在施用化合物1或其药学上可接受的盐的30分钟(例如5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、25分钟或30分钟)内,向个体施用10至50mg/kg(例如15±5、20±5、25±5、30±5、35±5、40±5或45±5mg/kg)的胱胺或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,胱胺或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,与施用化合物1或其药学上可接受的盐同时施用胱胺或其药学上可接受的盐。

[0010] 在特定实施例中,在施用化合物1或其药学上可接受的盐的30分钟(例如5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、20分钟或25分钟)内,向个体施用剂量为10至50mg/kg(例如15±5、20±5、25±5、30±5、35±5、40±5或45±5mg/kg)的化合物3:

[0011] 

(3),

[0012] 或其药学上可接受的盐。任选地,化合物3或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,与施用化合物1或其药学上可接受的盐同时施用化合物3或其药学上可接受的盐。

[0013] 在以上方法中的任一种中,半胱胺敏感性病症可选自胱氨酸病;神经退化性疾病;神经发育性疾病;神经精神疾病;线粒体疾病;肾、肝或肺的纤维化疾病;寄生虫感染;镰状细胞贫血;癌症;缺血性疾病,包括缺血性心脏病或中风;慢性阻塞性肺病(COPD);囊性纤维化(CF);细菌感染;病毒感染;非酒精性脂肪性肝炎(NASH);酒精性脂肪性肝炎;和非酒精性脂肪性肝病(NAFLD),或本文所述的任何其它半胱胺敏感性病症。

[0014] 在相关方面中,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物1或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括还原剂的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物之后至少两小时施用第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

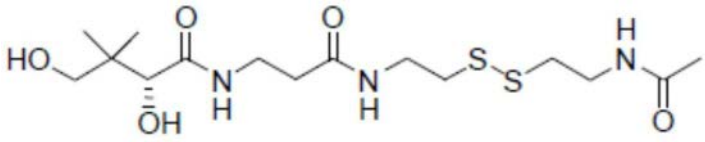
[0015] 在另一方面,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物1或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括泛酰巯基乙胺酶诱导剂的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物和第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

[0016] 在另一相关方面中,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物1或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括胱胺或其药学上可接受的盐的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物的30分钟内施用第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

[0017] 在另一方面,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物1或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括化合物3或其药学上可接受的盐的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物的30分钟内施用第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

[0018] 在任何上述试剂盒中,说明书可包括关于执行施用上文所述的化合物1的方法的说明书。

[0019] 在另一方面,本发明提供用于治疗个体的半胱胺敏感性病症的方法,其包括向个体施用剂量为50至150毫克/千克体重(mg/kg)(例如60±10、70±10、80±10、90±10、100±25、110±20、120±10、130±10或140±10mg/kg)的化合物2:

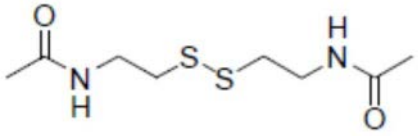
[0020] 

(2),

[0021] 或其药学上可接受的盐,每日一次或多次(例如每日一次、两次或三次)。在特定实施例中,在施用剂量的2小时内(例如在30分钟、1小时、90分钟或2小时内),不向个体施用还原剂。在特定实施例中,在施用剂量之后2小时至8小时,向个体施用还原剂。在特定实施例中,在施用化合物2或药学上可接受的盐的剂量之后3±1小时、4±1小时、5±1小时、6±1小时、7±1小时或4±2小时施用还原剂。在一个实施例中,还原剂选自谷胱甘肽、谷胱甘肽二乙酯、γ谷氨酰半胱氨酸、二氢硫辛酸、N-乙酰半胱氨酸、高半胱氨酸、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A、维生素E和抗坏血酸。在特定实施例中,其中化合物2或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,化合物2或其药学上可接受的盐被配制成粉末且剂型为药囊。在特定实施例中,向个体施用选自包括以下的组的泛酰巯基乙胺酶诱导剂:PPARα激动剂、PPARγ激动剂或Nrf2诱导剂。在一个实施例中,泛酰巯基乙胺酶诱导剂是十字花科蔬菜中存在的异硫氰酸酯、萝卜硫素、S-烯丙基半胱氨酸、二烯丙基三硫化物、氧化脂肪、ω-3脂肪酸或十八烯乙醇酰胺。在特定实施例中,在施用化合物2或其药学上可接受的盐的30分钟(例如5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、25分钟或30分钟)内,向个体施用10至50mg/kg(例如15±5、20±5、25±5、30±5、35±5、40±5或45±5mg/kg)的胱胺或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,胱胺或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,与施用化合物2或其药学上可接受的盐同时施用胱胺或其药

学上可接受的盐。

[0022] 在特定实施例中,在施用化合物2或其药学上可接受的盐的30分钟(例如5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、20分钟或25分钟)内,向个体施用10至50mg/kg(例如15±5、20±5、25±5、30±5、35±5、40±5或45±5mg/kg)的化合物3:

[0023]  (3),

[0024] 或其药学上可接受的盐。任选地,化合物3或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,与施用化合物2或其药学上可接受的盐同时施用化合物3或其药学上可接受的盐。

[0025] 在以上方法中的任一种中,半胱胺敏感性病症可选自胱氨酸病;神经退化性疾病;神经发育性疾病;神经精神疾病;线粒体疾病;肾、肝或肺的纤维化疾病;寄生虫感染;镰状细胞贫血;癌症;缺血性疾病,包括缺血性心脏病或中风;慢性阻塞性肺病(COPD);囊性纤维化(CF);细菌感染;病毒感染;非酒精性脂肪性肝炎(NASH);酒精性脂肪性肝炎;和非酒精性脂肪性肝病(NAFLD),或本文所述的任何其它半胱胺敏感性病症。

[0026] 在相关方面中,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物2或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括还原剂的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物之后至少两小时施用第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

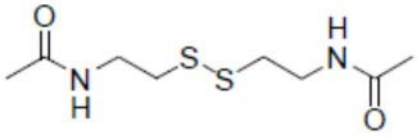
[0027] 在另一方面,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物2或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括泛酰巯基乙胺酶诱导剂的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物和第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

[0028] 在另一方面中,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物2或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括胱胺或其药学上可接受的盐的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物的30分钟内施用第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

[0029] 在另一方面中,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物2或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括化合物3或其药学上可接受的盐的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物的30分钟内施用第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

[0030] 在任何上述试剂盒中,说明书可包括关于执行施用上文所述的化合物2的方法的说明书。

[0031] 本发明提供包括化合物3的药物组合物:

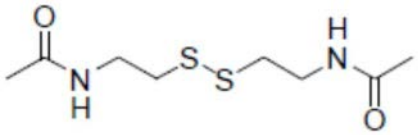
[0032]  (3),

[0033] 或其药学上可接受的盐。药物组合物可包括化合物3或其药学上可接受的盐,被配制成用于立即释放,被配制成用于延迟释放,或被配制成用于持续释放。在特定实施例中,药物组合物进一步包括第二活性成分,其包括半胱胺前体或其药学上可接受的盐。任选地,

第二活性成分被配制成用于立即释放。在特定实施例中,第二活性成分被配制成用于延迟释放或被配制成用于持续释放。在一个特定实施例中,化合物3或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放且第二活性成分被配制成用于延迟释放。

[0034] 在相关方面中,本发明提供治疗个体的半胱胺敏感性病症之方法,其包括向个体施用治疗有效量的包括化合物3或其药学上可接受的盐的药物组合物。半胱胺敏感性病症可选自胱氨酸病;神经退化性疾病;神经发育性疾病;神经精神疾病;线粒体疾病;肾、肝或肺的纤维化疾病;寄生虫感染;镰状细胞贫血;癌症;缺血性疾病,包括缺血性心脏病或中风;慢性阻塞性肺病(COPD);囊性纤维化(CF);细菌感染;病毒感染;非酒精性脂肪性肝炎(NASH);酒精性脂肪性肝炎;和非酒精性脂肪性肝病(NAFLD),或本文所述的任何其它半胱胺敏感性病症。

[0035] 在另一方面,本发明提供一种治疗个体的半胱胺敏感性病症的方法,其包括向个体施用剂量为50至150毫克/千克体重(mg/kg)(例如60±10、70±10、80±10、90±10、100±25、110±20、120±10、130±10或140±10mg/kg)的化合物3:

[0036]  (3),

[0037] 或其药学上可接受的盐,每日一次或多次(例如每日一次、两次或三次)。在特定实施例中,在施用剂量的2小时内(例如在30分钟、1小时、90分钟或2小时内),不向个体施用还原剂。在特定实施例中,在施用剂量之后2小时至8小时,向个体施用还原剂。在特定实施例中,在施用化合物3或药学上可接受的盐的剂量之后3±1小时、4±1小时、5±1小时、6±1小时、7±1小时或4±2小时施用还原剂。在一个实施例中,还原剂选自谷胱甘肽、谷胱甘肽二乙酯、γ谷氨酰半胱氨酸、二氢硫辛酸、N-乙酰半胱氨酸、高半胱氨酸、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A、维生素E和抗坏血酸。在特定实施例中,其中化合物3或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,化合物3或其药学上可接受的盐被配制成粉末且剂型为药囊。在特定实施例中,向个体施用选自包括以下的组的泛酰巯基乙胺酶诱导剂:PPARα激动剂、PPARγ激动剂或Nrf2诱导剂。在一个实施例中,泛酰巯基乙胺酶诱导剂是十字花科蔬菜中存在的异硫氰酸酯、萝卜硫素、S-烯丙基半胱氨酸、二烯丙基三硫化物、氧化脂肪、ω-3脂肪酸或十八烯乙醇酰胺。在特定实施例中,在施用化合物3或其药学上可接受的盐的30分钟(例如5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、25分钟或30分钟)内,向个体施用10至50mg/kg(例如15±5、20±5、25±5、30±5、35±5、40±5或45±5mg/kg)的胱胺或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,胱胺或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,与施用化合物3或其药学上可接受的盐同时施用胱胺或其药学上可接受的盐。

[0038] 在以上方法中的任一种中,半胱胺敏感性病症可选自胱氨酸病;神经退化性疾病;神经发育性疾病;神经精神疾病;线粒体疾病;肾、肝或肺的纤维化疾病;寄生虫感染;镰状细胞贫血;癌症;缺血性疾病,包括缺血性心脏病或中风;慢性阻塞性肺病(COPD);囊性纤维化(CF);细菌感染;病毒感染;非酒精性脂肪性肝炎(NASH);酒精性脂肪性肝炎;和非酒精性脂肪性肝病(NAFLD),或本文所述的任何其它半胱胺敏感性病症。

[0039] 在相关方面中,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物3或其药学上可接

受的盐的第一药物组合物;(ii)包括还原剂的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物之后至少两小时施用第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

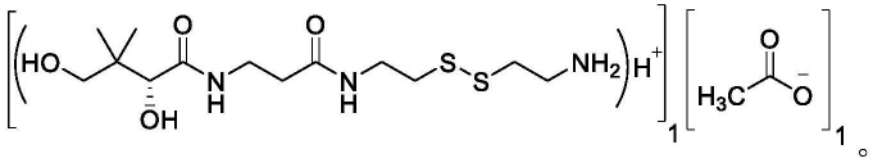
[0040] 在另一方面,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物3或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括泛酰巯基乙胺酶诱导剂的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物和第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

[0041] 在另一方面中,本发明提供一种试剂盒,其包括:(i)包括化合物3或其药学上可接受的盐的第一药物组合物;(ii)包括胱胺或其药学上可接受的盐的第二药物组合物;和(iii)关于在向个体施用第一药物组合物的30分钟内施用第二药物组合物以治疗半胱胺敏感性病症的说明书。

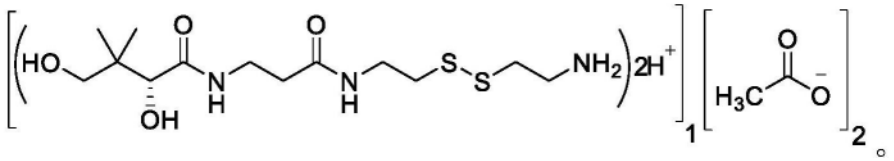
[0042] 在任何上述试剂盒中,说明书可包括关于执行施用上文所述的化合物3的方法的说明书。

[0043] 在另一方面,本发明提供化合物1的酸加成盐,其中所述酸为盐酸、乙酸、三氟乙酸或酒石酸。在特定实施例中,酸为乙酸或酒石酸。在特定实施例中,酸为乙酸。

[0044] 在一个实施例中,酸加成盐具有下式:

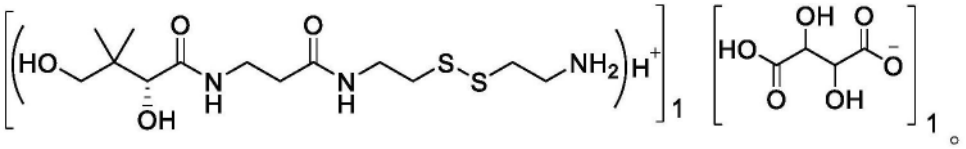
[0045] 

[0046] 在一些实施例中,酸加成盐具有下式:

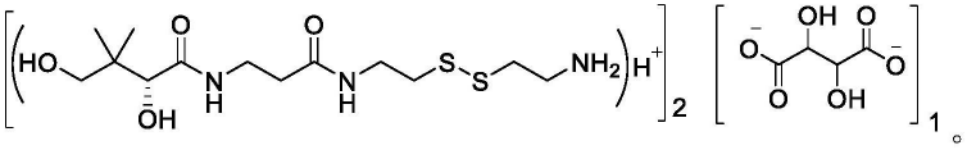
[0047] 

[0048] 在特定实施例中,酸为酒石酸。

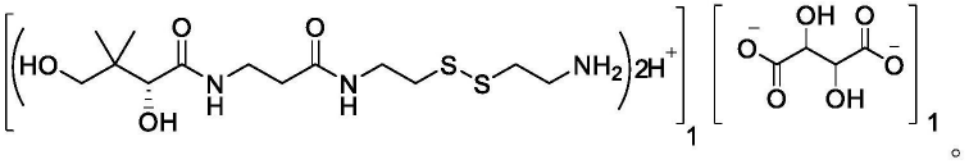
[0049] 在一个实施例中,酸加成盐具有下式:

[0050] 

[0051] 在一个实施例中,酸加成盐具有下式:

[0052] 

[0053] 在一个实施例中,酸加成盐具有下式:

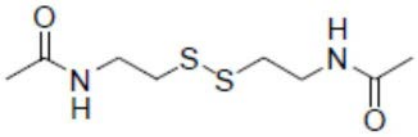
[0054] 

[0055] 在另一方面,本发明提供治疗个体的半胱胺敏感性病症的方法,其包含向个体施用有效量的前述酸加成盐中的任一种。

[0056] 在特定实施例中,在施用剂量的2小时内(例如在30分钟、1小时、90分钟或2小时内),不向个体施用还原剂。在特定实施例中,在施用剂量之后2小时至8小时,向个体施用还原剂。在特定实施例中,在施用化合物1或药学上可接受的盐的剂量之后3±1小时、4±1小时、5±1小时、6±1小时、7±1小时或4±2小时施用还原剂。在一个实施例中,还原剂选自谷胱甘肽、谷胱甘肽二乙酯、γ谷氨酰半胱氨酸、二氢硫辛酸、N-乙酰半胱氨酸、高半胱氨酸、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A、维生素E和抗坏血酸。

[0057] 在特定实施例中,其中前述酸加成盐中的任一种被配制成用于立即释放。在特定实施例中,前述酸加成盐中的任一种被配制成粉末且剂型为药囊,或在瓶中配制以再悬浮于适合于饮用的水溶液中。在特定实施例中,向个体施用选自包括以下的组的泛酰巯基乙胺酶诱导剂:PPARα激动剂、PPARγ激动剂或Nrf2诱导剂。在一个实施例中,泛酰巯基乙胺酶诱导剂是十字花科蔬菜中存在的异硫氰酸酯、萝卜硫素、S-烯丙基半胱氨酸、二烯丙基三硫化物、氧化脂肪、ω-3脂肪酸或十八烯乙醇酰胺。在特定实施例中,在施用前述酸加成盐中的任一种的30分钟(例如5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、25分钟或30分钟)内,向个体施用10至50mg/kg(例如15±5、20±5、25±5、30±5、35±5、40±5或45±5mg/kg)胱胺或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,胱胺或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,与施用前述酸加成盐中的任一种同时施用胱胺或其药学上可接受的盐。

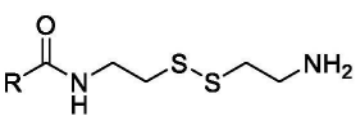
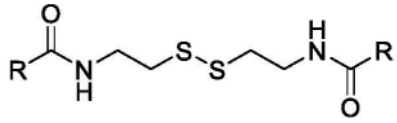
[0058] 在特定实施例中,在施用化合物1或其药学上可接受的盐的30分钟(例如5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、20分钟或25分钟)内,向个体施用剂量为10至50mg/kg(例如15±5、20±5、25±5、30±5、35±5、40±5或45±5mg/kg)的化合物3:

[0059]  (3),

[0060] 或其药学上可接受的盐。任选地,化合物3或其药学上可接受的盐被配制成用于立即释放。在特定实施例中,与施用化合物1或其药学上可接受的盐同时施用化合物3或其药学上可接受的盐。

[0061] 在以上方法中的任一种中,半胱胺敏感性病症可选自胱氨酸病;神经退化性疾病;神经发育性疾病;神经精神疾病;线粒体疾病;肾、肝或肺的纤维化疾病;寄生虫感染;镰状细胞贫血;癌症;缺血性疾病,包括缺血性心脏病或中风;慢性阻塞性肺病(COPD);囊性纤维化(CF);细菌感染;病毒感染;非酒精性脂肪性肝炎(NASH);酒精性脂肪性肝炎;和非酒精性脂肪性肝病(NAFLD),或本文所述的任何其它半胱胺敏感性病症。

[0062] 在另一方面中,本发明提供一种合成不对称二硫化物的方法,所述方法包含组合:(a)1摩尔当量的有机羧酸或其盐;(b)2至4摩尔当量(例如2、2.5、3、3.5或4摩尔当量)的胱胺或其盐;和(c)酰胺偶合试剂,以形成混合物,所述混合物包含大于90%(例如91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%)转化为式(A)的不对称二硫化物的有机羧酸或其盐,和小于10%(例如9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或0.5%)保持未反应或转化为式(B)的对称二硫化物的有机羧酸:

[0063]  (A)  (B),

[0064] 其中R为有机基团。在特定实施例中,基团R-C(O)-是小于1,000道尔顿、700道尔顿、400道尔顿或200道尔顿的部分。在一些实施例中,R-C(O)-是天然或合成氨基酸,或其酯或酰胺。

[0065] 在一些实施例中,有机羧酸或其盐选自泛酸、4-磷酸泛酸、乙酸或其盐。在特定实施例中,有机羧酸或其盐是泛酸或其盐。在一些实施例中,酰胺偶合试剂为羟基苯并三唑。在一些实施例中,酰胺偶合试剂为N,N'-二环已基碳化二亚胺。在一些实施例中,组合是在选自以下的一种或多种溶剂中:二氯甲烷、四氢呋喃、乙腈二甲基甲酰胺、水以及其组合。

[0066] 在另一方面,本发明提供合成不对称二硫化物的方法,所述方法包含在有机溶剂中组合:

[0067] (a)2至4摩尔当量(例如2至2.3、2.2至3、2.7至3.3或3.1至4摩尔当量)选自半胱胺、N-乙酰基半胱胺、半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸酰胺或其盐的硫醇;和

[0068] (b)1摩尔当量选自胱胺、泛硫乙胺或其盐的二硫化物。

[0069] 在一些实施例中,硫醇与二硫化物的摩尔比为约2:1至约4:1(例如约2:1至约2.5:1、约2.5:1至3.5:1、约2.7:1至约3.3:1、约2.5:1至约3:1、约3:1至约3.5或约3:1至约3.5、至约4:1、约3.5:1至约4:1)。在特定实施例中,硫醇与二硫化物的摩尔比为约2.5:1至约3.5:1(例如约2.5:1至2.7:1、约2.7:1至约3.3:1或约3.3:1至约3.5:1)。在其它实施例中,硫醇与二硫化物的摩尔比为约2.7:1至约3.3:1(例如约2.7:1至约3.1:1或约3.1至约3.3)。

[0070] 在一些实施例中,硫醇为N-乙酰基半胱胺或其盐。

[0071] 在一些实施例中,二硫化物为胱胺或其盐。

[0072] 在一些实施例中,有机溶剂为甲醇或乙醇。在特定实施例中,有机溶剂为甲醇。

[0073] 定义

[0074] "立即释放"是指释放在单位剂型中配制的活性剂(例如半胱胺前体或其药学上可接受的盐)的模式,所述单位剂型在模拟胃介质中具有溶解释放曲线,其中至少55%、65%、75%、85%或95%的药剂在使用USP相容仪器测试的前两个小时内释放。

[0075] "控制释放"意指以允许控制释放的解剖部位或释放速率或两者的方式从其制剂中释放活性剂(例如半胱胺前体或其药学上可接受的盐)的模式。一般而言,控制释放制剂的目的是延长体内存在治疗药物水平的时间段(例如相对于立即释放制剂),和/或优化药物向半胱胺吸收部位的递送,从而减少必须在24小时时段内施用的剂量。胃滞留、延迟释放、持续释放和结肠靶向制剂都是控制释放制剂的实例。控制释放制剂还可以允许相对于以相同剂量水平施用的立即释放制剂所观察降低的药物峰值浓度(Cmax)(即,在本发明的半胱胺前体的情况下降低的半胱胺Cmax)。活性剂的控制释放制剂可以通过例如将活性剂包埋在基质物质中来实现,所述基质物质溶解或侵蚀缓慢,使得活性成分通过扩散缓慢且规则地从涂层中渗出,其通过扩散出基质或通过侵蚀基质表面或两者,或通过形成具有半可渗透表面的凝胶,其中药物缓慢地离开半透性层。

[0076] "延迟释放"意指药物制剂,例如口服制剂,其基本上完整地通过胃的酸性环境并溶解在小肠的更碱性环境中,使得配制成单位剂型的活性剂(例如半胱胺前体或其药学上可接受的盐)在模拟胃液中具有溶解释放曲线,其中小于25%、20%、15%、10%或5%的药剂在测试的第一小时内释放,且另外在pH 6.0或6.3或6.5的模拟肠液中具有溶解释放曲线,其中至少55%、65%、75%、85%或95%的药剂在测试的前两小时内释放。在一些实施例

中,活性剂(例如半胱胺前体或其药学上可接受的盐)的延迟释放由使用口服剂型的pH敏感性肠溶包衣产生)。肠溶包衣可以与例如快速或缓慢(持续)释放制剂或两者的组合组合,以延长药物释放的时间。

[0077] 术语“持续释放”(在文献中也称为“延长释放”)是指药物制剂,其提供相比于相同药物的立即释放制剂,在延长时段(例如6-12小时或更长时间)内的逐渐药物释放,使得配制成单位剂型的活性剂(例如半胱胺前体或其药学上可接受的盐)在模拟胃液或肠液中具有溶解释放曲线,其中当在模拟小肠液中时,至少10-45%(即15-45%、20-45%、25-45%、25-45%、35-45%、30-45%或40-45%)的药剂在测试前三小时释放并且不低于65%、75%、85%、90%、93%、95%或97%的药剂在8小时内释放。优选地,尽管不是必需的,持续释放导致药物在延长时段内基本恒定的血液水平,其在所治疗疾病的治疗范围内。优选地,半胱胺前体的持续释放制剂产生的血浆半胱胺水平落入例如5-50μM,5-40μM、5-35μM、5-30μM、5-25μM、5-20μM、或10-50μM、10-45μM、10-40μM、10-35μM、10-30μM、10-25μM或10-20μM之间的浓度范围内。

[0078] 术语“结肠靶向”是指在结肠(其具有比小肠高得多的肠道菌群密度)中、并且任选地还在回肠末端(其倾向于成为胃肠道最碱性的区域)中提供药物释放的制剂或组合物。将药物释放靶向至远端回肠和结肠的一种方法是使用pH敏感性包衣,其溶解在大约pH 7(例如pH 6.8、pH 6.9、pH 7.0),这是回肠中的典型pH。设计用于回肠中pH依赖性药物释放的制剂很可能也在结肠中释放药物(特别是如果药物包埋于持续释放基质中),和/或回肠中释放的一些半胱胺前体可能仍以前体形式(即尚未转化为半胱胺)进入结肠。另一种类型的结肠靶向制剂依赖于由肠细菌制成的酶来降解不能被唾液、胃或胰酶降解的药物包封聚合物,从而影响结肠中的药物递送。肠道菌群的密度在回肠末端也很高,因此肠道菌群可能开始消化聚合物,且因此在回肠末端释放药物。回肠靶向和结肠靶向制剂在本文中统称为结肠靶向制剂。

[0079] 术语“单位剂型”是指适合作为单位剂量的物理离散单位,例如丸剂、片剂、囊片、硬胶囊或软胶囊,每个单位含有预定量的半胱胺前体或其药学上可接受的盐。“硬胶囊”意指包括膜的胶囊,所述膜形成能够携带药物和赋形剂的固体或液体有效负载的两部分胶囊形容器。“软胶囊”意指模制成单个容器的胶囊,其携带药物和赋形剂的液体或半固体或固体有效负载。颗粒、粉末和液体也可以通过使用适当的包装以“单位剂型”提供。例如,颗粒或粉末可以小袋或液体形式施用在安瓿、小瓶或塑料容器中。

[0080] 如本文所用,术语“微粒”是指微珠、微球、微丸、纳米粒子、纳米珠、纳米球或药物制剂中使用的其它细粒,其中每个微粒的平均直径为0.05-999微米。可以在单个单位剂型中使用数十、数百或数千这样的微粒,例如其可被填充在胶囊内或配制为粉末或悬浮在液体中。

[0081] 如本文所用,术语“有效量”的药剂是足以在患者中产生有益或期望结果(例如疾病缓解)的量,并且因此,“有效量”取决于应用所述药剂的情形,包括患者的年龄和体重;疾病的性质,包括受疾病影响的器官、疾病状态或活动水平;患者对半胱胺的敏感性和其它因素。

[0082] 如本文所用,“泛酰巯基乙胺”、“4-磷酸泛酰巯基乙胺”、“脱磷酸辅酶A”和“辅酶A”,以及可在胃肠道中转化为那些化合物之一的任何类似物或衍生物均指D对映异构体(也

偶尔使用更新的命名法称为R对映异构体)。这些化合物中的每一种在泛酰基部分中含有手性碳,其可以D(右旋)或L(左旋)形式存在,也分别称为(R)或(S)形式。只有D-泛酰巯基乙胺对映异构体是泛酰巯基乙胺酶的底物,且因此它是半胱胺前体的唯一泛酰巯基乙胺对映异构体。类似地,只有可转化成泛酰巯基乙胺(例如4-磷酸泛酰巯基乙胺)、脱磷酸辅酶A和辅酶A的化合物的D-对映异构体才适用于本发明的组合物和方法中。

[0083] 如本文所用,“二硫化物化合物”是含有与第二硫原子化学键合的硫原子的化合物,其形式为:R1-SS-R2,其中R1和R2为有机化合物。R1和R2可以相同或不同。二硫化物化合物通常通过两个硫醇的氧化形成(即R1-SH加R2-SH产生R1-SS-R2加$2H^+$)并且可以通过还原可逆地转化回两个硫醇(即R1-SS-R2加$2H^+$产生R1-SH+R2-SH)。二硫化物化合物也可以通过使一个或两个硫醇与二硫醇反应形成(例如R1-SH加R2-SH加HS-R3-SH产生R1-SS-R3-SS-R2加$4H^+$,其中R1、R2和R3是有机化合物且H^+是氢离子)。本发明的二硫化物化合物是具有生物活性的含硫化合物,其包括:1)下式的半胱胺混合二硫化物化合物:C_2H_6NS-S-R1,其中R1是有机部分,2)下式的泛酰巯基乙胺二硫化物化合物:$C_{11}H_{21}N_2O_4S$-S-R1,其中R1是有机部分,3)下式的4-磷酸泛酰巯基乙胺二硫化物化合物:$C_{11}H_{22}N_2O_7PS$-S-R1,其中R1是有机部分,4)下式的脱磷酸辅酶A二硫化物化合物:$C_{21}H_{34}N_7O_{13}P_2S$-S-R1,其中R1是有机部分,5)下式的辅酶A二硫化物化合物:$C_{21}H_{35}N_7O_{16}P_3S$-S-R1,其中R1是有机部分,或6)下式的N-乙酰基半胱胺化合物:C_4H_8NOS-S-R1,{2其中R1是有机部分。可以使用二硫醇形成另外的二硫化物,二硫醇化合物可以形成两个二硫键。至少一个和任选两个二硫键是与半胱胺或可在胃肠道中降解为半胱胺的化合物的二硫键。或者,二硫醇仅与一种这样的化合物二硫键合,二硫醇的第二硫醇仍呈硫醇形式,或者第二硫醇可与任何硫醇二硫键合,包括例如图17中列出的硫醇。在胃肠道中可降解为半胱胺的化合物除了泛酰巯基乙胺外,还包括4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或N-乙酰基半胱胺,或可在胃肠道中转化为这五种化合物之一的任何类似物或衍生物(例如通过化学或酶促过程)。在本文中称为“合适的类似物或衍生物”的任何这样的类似物或衍生物均为本发明的硫醇,并且可以取代这五种化合物中的一种。“混合二硫化物”是由两种不同硫醇形成的二硫化物。“半胱胺混合二硫化物”意指连接半胱胺与另一种(非半胱胺)硫醇的二硫化物;“泛酰巯基乙胺混合二硫化物”意指连接泛酰巯基乙胺与另一种(非泛酰巯基乙胺)硫醇的二硫化物;等等。通常,混合二硫化物通过简单的双组分硫醇分类(例如半胱胺-泛酰巯基乙胺被称为半胱胺混合二硫化物)。可用于形成二硫化物半胱胺前体的硫醇包括例如L-半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸、谷胱甘肽、图17中列出的任何硫醇和本文所述的其它硫醇。几种示例性的混合二硫化物说明于图2至10中。图18-21中的表显示了图17中的硫醇如何有效地结合以形成二硫化物。为了简洁明了,本文使用通过二硫键连接的两个硫醇的名称来命名二硫化物,而不是正式的化学名称(例如使用IUPAC命名法)。因此,半胱胺-泛酰巯基乙胺是指由这两种化合物形成的二硫化物。所述规则的三个重要例外:通过两个泛酰巯基乙胺反应形成的二硫化物通常称为泛硫乙胺,通过两个半胱氨酸反应形成的二硫化物通常称为胱氨酸,通过两个半胱胺反应形成的二硫化物通常称为胱胺。

[0084] 如本文所用,术语“通过使.....反应形成的二硫化物”或“通过使.....反应形成的化合物”具体指的是在两个命名的硫醇之间形成的二硫化物。例如,通过使半胱胺与泛酰巯基乙胺反应形成的二硫化物(称为半胱胺-泛酰巯基乙胺)意指在半胱胺分子与泛酰巯基乙胺分子之间形成的杂二聚体。此定义不反映当两个命名的硫醇反应时实际可能发生的

情况。也就是说,当半胱胺在氧化条件下与泛酰巯基乙胺反应时,取决于化学条件,可能以不同的比例形成三种二硫化物:半胱胺-半胱胺(即胱胺)、半胱胺-泛酰巯基乙胺(即泛酰巯基乙胺-半胱胺,其出于本发明的目的相同)和泛酰巯基乙胺-泛酰巯基乙胺(即泛硫乙胺)。当意指实际的反应产物(即三种二硫化物的混合物)时,文中明确指出。

[0085] “半胱胺前体”意指可以在生理条件下转化成至少一种半胱胺的化合物。转化方法包括在含有半胱胺的二硫化物(即半胱胺混合二硫化物)的情况下的还原、在泛酰巯基乙胺酶底物(泛酰巯基乙胺以及可在胃肠道中代谢转化为泛酰巯基乙胺的化合物,例如4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A以及其合适的类似物或衍生物的情况下的酶水解,或还原和酶裂解两者。前体的实例包括但不限于半胱胺混合二硫化物、泛酰巯基乙胺二硫化物、4-磷酸泛酰巯基二硫化物、脱磷酸辅酶A二硫化物、辅酶A二硫化物和N-乙酰基半胱胺二硫化物、以及泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸酸辅酶A、辅酶A和N-乙酰基半胱胺。半胱胺、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A(后四种化合物为半胱胺前体)之间的化学关系如下所示。两个泛酰巯基乙胺分子(即泛硫乙胺)、或两个4-磷酸泛酰巯基乙胺分子、或两个脱磷酸辅酶A分子或两个辅酶A分子或两个N-乙酰基半胱胺分子的均二聚体也各自为二硫化物半胱胺前体化合物,因为成分硫醇都是半胱胺前体。

[0086] 关于半胱胺前体泛氨酸、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或N-乙酰基半胱胺或含有其中的任一种的二硫化物的“合适的类似物或衍生物”意指可在胃肠道中转化为泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或N-乙酰基半胱胺的化合物,无论是通过化学或酶促过程。

[0087] “可转化为泛酰巯基乙胺的化合物”意指可以在胃肠道中降解为泛酰巯基乙胺的化合物,例如4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A,以及可以在胃肠道中转化为母体化合物的那些化合物的类似物或衍生物。

[0088] 关于二硫化物使用的“成分硫醇”是指反应以形成二硫化物的硫醇(和任选的二硫醇)化合物。

[0089] “半胱胺含量”意指在化学和/或酶促降解时可在体内转化为半胱胺的半胱胺前体的重量分数。

[0090] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”表示在合理的医学判断范围内适合用于与人和动物组织接触而没有过度毒性、刺激、过敏反应等,并且与合理的效益/风险比相称的那些盐。药学上可接受的盐在本领域中众所周知。举例来说,药学上可接受的盐描述于:Berge等人,《药物科学杂志(J.Pharmaceutical Sciences)》66:1-19,1977和《药物盐:性质、选择和用途(Pharmaceutical Salts:Properties,Selection,and Use),(P.H.Stahl和C.G.Wermuth编),Wiley-VCH,2008中。盐可以在本发明化合物的最终分离和纯化过程中原位制备,或者通过使游离碱基与合适的有机或无机酸反应而单独制备。代表性的酸加成盐包括乙酸盐、己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、酒石酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑磺酸盐、樟脑酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、反丁烯二酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、十二烷基硫酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦

味酸盐、特戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、丁二酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。代表性的碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等，以及无毒的铵、季铵和胺阳离子，包括(但不限于)铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺等。

[0091] “胃滞留(gastroretentive)”、“胃滞留(gastric-retentive)”等意指能够在哺乳动物(优选人)的胃中长时间停留的药物组合物，优选与食物一样长，更优选长于食物。因此，“胃滞留”是在胃中维持药物组合物的时间长于在以自由形式，例如在不被认为是胃滞留的口服递送媒剂内递送时在胃中保留的时间。胃滞留制剂的特征可在于在胃中保留比从胃正常排空的时间长的时段，即长约2小时，特别是长约3小时且通常超过约4、6、8或10小时。胃滞留制剂通常在摄入膳食后保留在胃中约3、4、6、8、10小时或有时18小时或更长时间。然而，应注意，根据本发明，在向非禁食胃施用超过48小时后，并且优选在24小时后未观察到控制释放胃滞留药物递送系统的保留。胃滞留制剂包括漂浮或浮力制剂、溶胀或可膨胀制剂、生物粘附或粘膜粘附制剂、展开制剂和磁性制剂，或其任何组合。两种或更多种类型的胃滞留制剂的组合是常见的，因为已经证明难以仅用一种胃滞留机制维持在胃中的停留。胃滞留制剂优选与膳食一起施用。

[0092] “漂浮(floating)”、“漂浮(flotation)”和“浮力(buoyant)”可互换使用，意指一种能够将本发明的组合物置于胃内容物表面上或附近的制剂，其在进食状态下是食糜(在禁食状态或胃排空后状态下是胃液)。通过漂浮在胃内容物上，制剂在胃部肌肉收缩期间被推动通过幽门进入十二指肠的机率较小，当处于坐姿或站立姿势时，幽门位于胃底部。漂浮制剂可以由小(例如微米级)、中等(例如毫米级)或大(例如厘米级)颗粒组成。如本文所阐述，大组合物可通过可溶胀/可膨胀机制同时起作用。任何大小的制剂可通过粘膜粘附机制同时起作用。

[0093] 可互换使用的“溶胀”和“可膨胀”意指组合物在与含有流体的介质(如胃液或食糜)接触时增加其尺寸的能力。优选地，“溶胀”的特征在于将初始片剂的尺寸增加到将不容易从胃中清除的尺寸。从胃中清除涉及通过幽门。人类幽门的平均静息直径在进食和禁食状态下有所不同。在进食状态下，其约为1厘米或更小，在禁食状态下约为1.28厘米，加减7毫米。优选地，“溶胀”需要将组合物的尺寸在至少两个维度上增加至超过14mm、超过16mm、超过18mm、超过20mm或超过22mm，但可替代地在一个维度上，其中第二和第三维度均大于12毫米、14毫米或16毫米。

[0094] “粘膜粘附”意指组合物粘附于内衬胃肠道的粘液层的能力。在胃滞留制剂的情况下，粘膜粘附”是指粘附于内衬胃的粘液层。粘膜粘附是延长胃停留时间的几种技术之一，然而胃的粘液层连续翻转，虽然缓慢，但限制了粘膜粘附的持续时间。因此，粘膜粘附通常与其它胃滞留方法结合以实现延长的胃停留时间。“生物粘附”意指组合物粘附于内衬胃肠道的其它分子，包括肠上皮细胞表面上的分子的能力。

[0095] “展开”或“变形”可互换使用，意指组合物在胃中展开、伸展、解开、减压或以其它方式打开以转化成具有不容易通过幽门，且因此长时间保留在胃中的尺寸和/或几何形状的组合物的能力。可以在胶囊内配制展开”或变形制剂。理想地，但不是必须地，在展开或打开状态下的展开制剂的尺寸在至少两个维度上大于16mm、18mm、20mm或22mm，但可替代地仅在一个维度上，其中第二和第三维度超过12mm、14mm或16mm。

[0096] “磁性制剂”意指含有磁体或散布的磁化材料的组合物,其能够与由位于体外的一个或多个磁体产生的外部施加的磁场相互作用,从而实现组合物在胃或小肠中保留很长一段时间。胃靶向组合物的保留时间优选地至少与食物在胃中的保留时间一样长,更优选比食物的保留时间更长。优选保留小肠靶向组合物直至基本完全药物溶解,或者直至损失足够的磁力以将组合物保持在适当位置,无论哪个首先发生。使用的磁体或磁性材料必须对人类摄取是安全的。外部磁体也可用于将含磁体的药物组合物定位在胃肠道的其它区域,例如结肠中,但是在大多数情况下,磁性制剂是一种胃滞留或小肠靶向制剂。

[0097] 如本文所用,“治疗有效量”是指必须施用于患者(人类或非人哺乳动物)以改善疾病或调节充当疾病活动性替代物的生物标记物的量。不同疾病,包括神经退化性、代谢性、纤维化、缺血性、感染性、赘生性和遗传性疾病的临床终点变化很大,但在本领域中通常是众所周知的。具体的生物标记物可包括例如:(i)白细胞(WBC)胱氨酸水平,其充当胱氨酸病患者的疾病控制的替代物;(ii)认知、运动或情绪状态指数可用于测量神经退化性疾病患者的治疗反应,包括如以下的仪器:临床总体印象(CGI)评分、基于临床医师访谈的变化评估加护理人员输入(CIBIC-Plus)总体得分、阿尔茨海默氏病合作研究临床医师的总体变化印象(ADCS-CCGIC)评分、阿尔茨海默氏病评估量表-认知次级量表(ADAS-Cog)评分、修改用于严重痴呆症的阿尔茨海默氏病合作研究活动的日常活动量表(ADCS-ADLsev)评分、简易精神状态检查(MMSE)、神经精神病学量表(NPI)评分、统一亨廷顿氏病评定量表(UDHRS)、MATTIS测试、霍普金斯连线测试(Hopkins Trail Making Test)、分类流畅性、统一帕金森氏病评定量表(UPDRS)评分、或帕金森氏病睡眠量表(PDSS-2)总评分;(iii)神经退化性疾病活动的生化量度包括AD生物标记物(如血浆β-淀粉样蛋白)或脑源性神经营养因子(BDNF)水平;(iv)代谢和纤维化肝病的指标包括解剖学测试,例如基于肝脏活组织检查的肝纤维化测量,包括(NAFLD)活动评分(NAS)和肝纤维化评分;(v)肝脏健康的生化指数,包括如分别通过HOMA-IR和adipo-IR指数测量的肝脏和脂肪组织胰岛素敏感性、血清转氨酶和γ-谷氨酰转肽酶(GGT)水平、用于NAFLD、NASH、ASH或遗传性肝病的血液中的CK-18源性片段;(vi)线粒体疾病的疾病状态指数,包括作为临床终点的纽卡斯尔儿科线粒体疾病量表(Newcastle Pediatric Mitochondrial Disease Scale;NPMDS)评分,以及(vii)生物标记物,包括谷胱甘肽、总血清硫醇、乙酰乙酸酯、β-羟基丁酸,乳酸酯或丙二醛(氧化应激的标记物)。其它替代疾病标记物包括免疫应答的调节、基因或蛋白质表达的调节或经验证的放射性疾病测量的调节(例如通过X射线、CT扫描、MRI扫描或PET扫描评估)。确定治疗有效量的半胱胺前体的方法是高度疾病特异性的,并且是专门研究上述每种疾病的临床医生所熟知的。

[0098] 如本文所用,“药学上可接受的赋形剂”是包含(与活性成分一起)在组合物制剂中的天然或合成物质,其适用于人类和/或非人哺乳动物而没有不适当的副作用(如毒性、刺激或过敏反应)。赋形剂可包括例如:抗粘剂、抗氧化剂、粘合剂、包衣、压缩助剂、崩解剂、染料(颜料)、润肤剂、乳化剂、填充剂(稀释剂)、成膜剂或涂料、调味剂、芳香剂、助流剂(流动增强剂)、润滑剂、防腐剂(包括抗氧化剂)、印刷油墨、吸附剂、悬浮剂或分散剂、溶剂、胶体稳定剂、甜味剂和水。美国FDA维护着一个“非活性成分”数据库,其中包含有关数千种常用于配制药物的物质的信息。可以在数据库中搜索通常用于控制、延迟、持续或延长释放制剂的赋形剂。赋形剂包括(但不限于):丁基化羟基甲苯(BHT)、碳酸钙、磷酸钙(二元)、硬脂酸

钙、卡波姆、交联羧甲基纤维素、交联聚乙烯吡咯烷酮、柠檬酸、交联聚维酮、包括乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素或羟丙甲纤维素的纤维素衍生物、多库酯钠、明胶、gelucire 43/01、乳糖、硬脂酸镁、麦芽糖醇、甘露醇、甲基纤维素、对羟基苯甲酸甲酯、微晶纤维素、聚乙二醇、聚(环氧乙烷)、聚乙烯吡咯烷酮、聚维酮、预胶化淀粉、对羟基苯甲酸丙酯、虫胶、二氧化硅、羧甲基纤维素钠、羟基乙酸淀粉钠、山梨糖醇、淀粉(玉米)、硬脂酸、蔗糖、滑石、二氧化钛、植物油、蜡,包括白蜡、黄蜡或蜂蜡,和木糖醇。赋形剂还可包括稀释剂(例如盐水和水性缓冲溶液);含水载剂和非水载剂,例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等),和其合适的混合物;植物油,如橄榄油;和可注射的有机酯,如油酸乙酯。用于配制具有特定性质的组合物的赋形剂更具体地描述于具体实施方式中。

[0099] “肠溶包衣”意指添加到本文所述制剂中的试剂或化合物,其在通过胃时保护本文所述的活性成分(例如半胱胺前体和半胱胺前体降解和吸收的增强剂)。肠溶包衣还可以保护胃免受刺激性药物成分(例如半胱胺)的伤害。商业肠溶包衣技术的实例包括但不限于:AcrylEZE、Opadry、Nutrateric和Sureteric产品(Colorcon,West Point PA)、Advantia Performance Specialty Coatings(International Specialty Products,Wayne NJ)、Kollicoat产品线(BASF Corporation,Ludwigshafen Germany)、Aquacoat产品(FMC BioPolymer)、Eastman C-A-P(Eastman Chemical Co.Kingsman TN)、Eudragit产品线(Evonik Industries),以及AQOAT、HP-50和HP-55产品线(Shin Etsu Pharma)。Ashland Specialty Ingredients、Encap Drug Delivery和Sanyo Chemical Industries,Ltd.也销售肠溶包衣系统。通常用于肠溶衣制剂中的pH敏感性成膜聚合物的实例包括:(i)基于纤维素的聚合物,例如乙酸邻苯二甲酸纤维素(例如Aquacoat CPD,FMC;C-A-P,Eastman Chemical Co.)、乙酸丁二酸纤维素、乙酸偏苯三酸纤维素,羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、羟丙基甲基纤维素乙酸酯丁二酸酯(例如AquaSolve,Ashland Specialty Ingredients,Wilmington DE);(ii)聚甲基丙烯酸酯,例如聚(甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯)(例如Eudragit L30D-55和Eudragit L100-55,Evonik Industries;AcrylEZE,Colorcon;Kollicoat MAE 30DP和Kollicoat MAE 100P,BASF Pharma Ingredients and Services;Polyquid PA-30,Sanyo Chemical Industries)和聚(甲基丙烯酸-甲基丙烯酸甲酯),比例为1:1和1:2;(iii)聚乙烯基衍生物,例如聚(乙酸乙烯酯)邻苯二甲酸酯(例如Sureteric,Colorcon);和(iv)其它共聚物,例如苯乙烯和顺丁烯二酸的共聚物的半酯、乙烯基醚和顺丁烯二酸的共聚物的半酯、以及乙酸乙烯酯和丁烯酸的共聚物。肠溶包衣也使用虫胶(例如PROTECT,Sensient Pharmaceutical Coating Systems)或海藻酸钠和玉米蛋白(Encap Drug Delivery)制备。羟丙基甲基纤维素也称为羟丙甲纤维素或HPMC。通常用于肠溶衣制剂的其它赋形剂的实例包括:湿微晶纤维素、湿粉末纤维素、结冷胶和硬脂酸。肠溶包衣可应用于各种制剂,包括片剂、胶囊和微粒。

[0100] 如本文所用,“组合疗法”意指除了本文公开的药物外,还向根据本发明需要治疗的患者(或非人哺乳动物)给予本文未充分描述的药物,或在某些情况下未考虑的药物。组合疗法可以与本发明的半胱胺前体疗法连续(在之前或之后)或同时进行。

[0101] “治疗”意指使患者经受治疗方案以治疗疾病或病症并获得有益或期望的结果,例如改善疾病体征或症状或改善疾病活动性或疾病状况的生化、放射学、行为或物理标记物。有益或期望结果的实例可包括(但不限于)炎症的消退、生化不平衡的消退、生活质量的改

善、认知和行为状态的改善、运动功能的改善、情感和情绪状态的改善、睡眠改善,或更一般地减轻或改善一种或多种症状或病症;减轻疾病的程度;稳定疾病状态;预防疾病传播;延迟或减缓疾病的进展;改善或缓解疾病、病症或病况;以及部分或完全缓解重大疾病表现。

[0102] 术语“哺乳动物”旨在表示人类和非人哺乳动物。

[0103] “递送”意指通过口服施用含有活性成分和(任选地)一种或多种载体和/或稀释剂和/或佐剂或其它赋形剂的片剂、胶囊、液体、粉末、颗粒、微米粒子、药囊、栓剂等(统称为“药物组合物”或仅“组合物”)来提供和/或施用本文所述的活性成分。可以向组合物提供递送说明书,包括对组合物的表面或包装上的任何颜色编码或字母数字文本的解释,以及关于组合物是否应该在一天的特定时间或与食物(例如食物的特定类型或数量)、液体、膳食(包括关于膳食类型的细节)或其它药物一起摄取的说明,以及患者在给药后是否应该保持直立或坐一段时间。

[0104] 几种疾病首字母缩略词、基因名称和其它医学术语用缩写表示。疾病首字母缩略词包括MELAS(线粒体脑肌病、乳酸酸中毒和中风样发作)和MERFF(肌阵挛性癫痫伴蓬毛样红纤维)。基因名称包括POLG,其编码DNA聚合酶γ的催化亚基,线粒体DNA聚合酶;OCT1、OCT2和OCT3,其编码有机阳离子转运蛋白1、2和3(也分别称为SLC22A1、SLC22A2和SLC22A3);PANK2,编码泛酸盐激酶2;VNN1编码vanin 1,也称为泛酰巯基乙胺酶;VNN2,其编码vanin 2,也称为GPI-80以及泛酰巯基乙胺酶。

[0105] 如本文所用,“半胱胺敏感性疾病”意指有证据表明半胱胺可以是有效治疗的疾病。证据可以源自哺乳动物(例如人、狗、小鼠、大鼠、猴子、兔)的疾病的临床或临床前研究,或来自疾病机制的体外研究。半胱胺敏感性疾病构成广泛、异质的疾病组,其具有广泛不同的表现和发病机制。有半胱胺功效证据的疾病和病症可根据发病机制进行分类,重要的警告是半胱胺功效的机制并不总是清楚,且可能存在未知的作用机制。半胱胺敏感性疾病的重要类别包括(i)胱氨酸转运障碍,其中胱氨酸病最为人所知;(ii)与氧化性损伤有关的疾病,包括神经退化性疾病和肝病;(iii)与病理酶活性相关的病症(包括神经退化性疾病)、遗传性线粒体疾病、与突变体MECP2和POLG相关的疾病;(iv)纤维化病症,包括肾、肝或肺的纤维化;(v)代谢紊乱,包括代谢综合症X、糖尿病和非酒精性脂肪肝病谱,最终导致非酒精性脂肪性肝炎(NASH);(vi)传染病,包括某些病毒感染(例如流感)、细菌感染(例如铜绿假单胞菌)和寄生虫感染(例如疟疾;(vii)缺血性疾病,包括心脏和其它器官的缺血再灌注损伤;(viii)与脂联素代谢异常相关的疾病;和(ix)癌症以及癌症疗法的有害作用的改善。

[0106] 如本文所用,术语“约”意指所述值的±20%。

附图说明

[0107] 图1描绘了辅酶A的化学结构,其中可以通过酶催化反应从辅酶A衍生出脱磷酸辅酶A分子、4-磷酸泛酰巯基乙胺分子、泛酰巯基乙胺分子、泛酸分子或半胱胺分子(在图11中示出)。

[0108] 图2描绘了本发明的二硫化物的两种化学结构。顶部的化学结构描绘了混合的半胱胺二硫化物分子,其中左侧是半胱胺且右侧是第二硫醇(描绘的R-S-)。底部的化学结构描绘了泛酰巯基乙胺二硫化物,其中左侧是泛酰巯基乙胺且右侧是第二硫醇(描绘的R-S-)。图3、4和5显示了示例性的混合半胱胺二硫化物。其它混合半胱胺二硫化物可以与图17

中列出的硫醇一起形成,如图18和21中示意性所示。

[0109] 图3描绘了示例性半胱胺混合二硫化物的四种化学结构。具体地,如标记中所示,混合半胱胺二硫化物与伴侣硫醇烯丙基硫醇、L-半胱氨酸、L-半胱氨酸乙酯和N-乙酰半胱氨酸一起显示。

[0110] 图4描绘了示例性半胱胺混合二硫化物的两种化学结构和示例性N-乙酰基半胱胺混合二硫化物的一种化学结构。在半胱胺与N-乙酰基半胱胺以及半胱胺与N-乙酰半胱氨酸酰胺之间形成两个半胱胺混合二硫化物。还显示了在N-乙酰基半胱胺与N-乙酰半胱氨酸酰胺之间形成的混合二硫化物(如标记中所示)。

[0111] 图5描绘了在半胱胺与泛酰巯基乙胺之间以及半胱胺与谷胱甘肽之间形成的示例性半胱胺混合二硫化物的两种化学结构,如标记中所示。

[0112] 图6描绘了在半胱胺与辅酶A之间形成的示例性半胱胺混合二硫化物的化学结构。

[0113] 图7描绘了两种化学结构。顶部是在泛酰巯基乙胺与半胱氨酸之间形成的示例性泛酰巯基乙胺混合二硫化物。底部是与泛酰巯基乙胺形成的示例性N-乙酰基半胱胺混合二硫化物。

[0114] 图8描绘了两种示例性混合二硫化物的化学结构,一种在泛酰巯基乙胺与N-乙酰半胱氨酸之间形成,另一种在二硫醇二氢硫辛酸与两个半胱胺(一个与二氢硫辛酸的两个硫醇中的每一个二硫键合)之间形成,如标记中所示。

[0115] 图9描绘了在泛酰巯基乙胺与谷胱甘肽之间形成的示例性泛酰巯基乙胺混合二硫化物的化学结构。

[0116] 图10描绘了在4-磷酸泛酰巯基乙胺与辅酶A之间形成的示例性4-磷酸泛酰巯基乙胺混合二硫化物的化学结构。

[0117] 图11是部分辅酶A、泛酰巯基乙胺和半胱胺代谢途径的示意图,包括在胃肠道中发生的细胞内代谢(实线)和分解代谢反应(虚线)。一些反应发生在两个位置(例如,磷酸酶存在于细胞质和胃肠腔中)。化合物以常规类型命名,斜体类型的酶。化合物和酶都具有图中所示的那些的各种替代名称。此图不是辅酶A、泛酰巯基乙胺和半胱胺代谢的完整呈现,而仅旨在传达辅酶A、脱磷酸辅酶A、4-磷酸泛酰巯基乙胺和泛酰巯基乙胺可以在肠中分解代谢为半胱胺(和泛酸盐)。

[0118] 图12以示意图形式描绘了胃肠(GI)道的解剖结构(顶部)。下面是对于胃肠道的每个区段总结了与从本发明的半胱胺前体体内产生和吸收半胱胺有关的某些解剖学和生理学参数的表。特别地,所述表指示了发生半胱胺形成和吸收的解剖位点以及影响半胱胺前体体内产生半胱胺(例如通过二硫键还原和泛酰巯基乙胺酶裂解)的速率,以及半胱胺沿胃肠道吸收(例如通过有机阳离子转运蛋白1、2和3)的速率的生理变量水平。例如,pH影响二硫键交换反应。谷胱甘肽(GSH)的水平是氧化还原环境的代表,其影响氧化和还原形式的二硫化物与硫醇之间的平衡,包括二硫化物半胱胺前体的还原。吸收表面积和通过时间,以及泛酰巯基乙胺消化酶和半胱胺转运蛋白的水平影响来自泛酰巯基乙胺的半胱胺产生速率和随后的半胱胺吸收。图中的其它生理变量影响某些类型的制剂的性能。例如,某些类型的胃滞留制剂溶胀至阻止通过幽门的尺寸;一些pH敏感性药物包衣在十二指肠中在pH 5.5、pH 6或pH 6.5附近溶解,而其它包衣在pH 7附近溶解,这是回肠中较典型的;某些类型的结肠靶向制剂部分地由聚合物构成,所述聚合物难以被人(或哺乳动物)酶消化,但可被肠细

菌产生的酶降解,从而影响与所述聚合物共同配制的半胱胺前体的释放。表中提供的值或范围来自文献资料,但可能不包括正常人类变化的全部范围。尽管如此,所指出的变化程度可部分地解释临床上观察到的半胱胺吸收和代谢的广泛的个体间变化。

[0119] 图13是显示半胱胺前体的分类和其一些突出的药理学特性的表。在表的左(下)侧对半胱胺前体如下地分类:根据(i)其为硫醇或二硫化物,(ii)如果是二硫化物,其是否为含半胱胺的混合二硫化物(包括半胱胺-泛酰巯基乙胺)、含泛酰巯基乙胺的二硫化物(半胱胺-泛酰巯基乙胺除外),或含有可在胃肠道中降解为泛酰巯基乙胺的其它硫醇,和(iii)在化学还原和/或酶促降解时产生多少半胱氨酸(在#符号下)。"其它硫醇或二硫醇"意指任何二硫醇,以及不是半胱胺、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或N-乙酰基半胱胺的任何硫醇。(关于示例性硫醇和二硫醇,参见图17)。由含有"其它硫醇"的二硫化物半胱胺前体的降解产生的半胱胺的数量是一个,但是含有二硫醇的二硫化物半胱胺前体在降解时可以产生一个或两个半胱胺,因为一个二硫醇可以结合例如两个半胱胺(关于硫醇和二硫醇可如何组合的概述,参见表21)。所述表在"产生半胱胺的步骤"下进一步显示从每类半胱胺前体产生半胱胺所需要的化学和/或酶促步骤。例如,含有半胱胺和另一种硫醇(例如半胱氨酸)的半胱胺混合二硫化物仅需要一个步骤:二硫键还原。类似地,硫醇泛酰巯基乙胺仅需要一步:泛酰巯基乙胺酶裂解。其它半胱胺前体需要两个步骤。例如,泛酰巯基乙胺均二聚体泛硫乙胺需要二硫键还原,然后是泛酰巯基乙胺酶裂解。其它半胱胺前体需要三个或更多个步骤。例如,4-磷酸泛酰巯基乙胺均二聚体需要二硫键还原、磷酸酶裂解和泛酰巯基乙胺酶裂解。含有二硫化物的脱磷酸辅酶A和辅酶A需要额外的步骤。在一些二硫化物半胱胺前体中,半胱胺的降解步骤的数量在通过二硫键还原产生的两种硫醇之间不同,如表中所示。所述表进一步显示了可与半胱胺前体共同配制或共同施用以增强半胱胺的体内产生的化合物类别,并显示哪(些)类的增强剂可用于各类半胱胺前体。例如,任何二硫化物半胱胺前体可以与还原剂(表中缩写为RA)高效地共同配制或共同施用以促进二硫键还原。是或包括泛酰巯基乙胺或可以降解为泛酰巯基乙胺的任何硫醇的半胱胺前体可以与酶泛酰巯基乙胺酶的诱导剂(表中缩写为PI)高效地共同配制或共同施用。泛酰巯基乙胺二硫化物可以与还原剂和泛酰巯基乙胺酶诱导剂高效地共同配制或共同施用。表中未显示的是半胱胺吸收的增强剂(例如半胱胺转运蛋白,例如有机阳离子转运蛋白的诱导剂),或半胱胺分解代谢的抑制剂,因为这些化合物可以与所有类别的半胱胺前体高效地共同配制或共同施用。在最右侧(顶部),所述表总结了不同类别的半胱胺前体的突出药理学特性,这可能受产生半胱胺所需的降解步骤的数量、半胱氨酸的产量或体内半胱胺产生增强剂的存在影响。提供的非常简短的描述并不完整,并且不应被理解为限制性的。

[0120] 图14是示例性药物组合物的图示。显示了示例性组合物的突出特性,包括:(i)剂型的类型(例如片剂、胶囊、粉末、液体),(ii)制剂在药物释放的解剖学定位方面的特性(例如胃滞留制剂保留在胃中;肠溶包衣制剂可设计成在小肠中释放药物;结肠靶向制剂设计用于在回肠或结肠中释放药物)以及(iii)药物释放持续时间(立即释放:IR,或持续释放:SR),(iv)半胱胺前体的类型,(v)剂量(以范围提供),(vi)体内半胱胺产生的共同配制的增强剂(如果有的话)的类型,(vii)增强剂化合物的剂量(以范围提供),(viii)与食物(例如苹果酱或酸奶)或膳食(例如晚餐)一起施用组合物的建议,或食物是否是可选的("食物OK"),(ix)胃肠道中半胱胺前体释放的部位,和(vii)体内产生半胱胺的位点(例如通过二硫

键还原或泛酰巯基乙胺酶裂解)。图13中的组合物各自限于针对药物释放的位点和时间的单一类型的制剂。此类组合物(包括图中未显示的许多变体)可以各种组合施用,提供个体化给药的灵活性。具有更多活性组分和/或更复杂配方的其它示例性组合物显示在图14和15中。

[0121] 图15是示例性药物组合物的说明,所述示例性药物组合物具有(i)一种或两种药物释放曲线-例如组合物G包括立即释放和持续释放组分;(ii)至少两种类型的半胱胺前体和至多两种增强剂。提供了在有或无食物的情况下施用的建议,以及药物释放的位点和半胱胺前体向半胱胺的体内转化。示例性组合物和许多其它未示出的组合物可以各种比例组合。

[0122] 图16是示例性多剂量方案的说明,其中两种或更多种组合物一起施用或在短时间间隔内依次施用。示例性组合物的突出特性如图14和15所示。包括提供半胱胺前体降解增强剂(例如还原剂)但不含半胱胺前体的组合物的实例。增强剂的单独制剂允许其以各种比例与含半胱胺前体的组合物共同施用,以优化体内半胱胺产生或吸收。增强剂的单独制剂进一步允许控制增强剂释放的位点和时序以优化体内半胱胺产生或吸收。

[0123] 图17是示例性的硫醇和二硫醇的列表,其为硫醇型半胱胺前体(化合物2-6),或可组合以制造二硫化物型半胱胺前体。显示了每种硫醇或二硫醇的化学式、化学文摘社(CAS)登记号和式分子量。在一些情况下,CAS编号特定针对特定的对映异构体。每个硫醇经编号(图17的最左列),以便简明参考图18-21中的这些硫醇。

[0124] 图18含有两个表,其显示图17中的硫醇和二硫醇可如何组合以制备两类二硫化物半胱胺前体:半胱胺混合二硫化物和泛酰巯基乙胺二硫化物。两个表中的每一个中的五列从左侧开始列出:

[0125] (i)反应以形成二硫化物的两个硫醇,其由图17的最左列中的编号指代(硫醇编号为1-29且二硫醇编号为30-35)。因此,举例来说,符号:“1+28”表示通过使硫醇1(半胱胺)与硫醇28(硫普罗宁)反应形成的二硫化物。左表中的所有二硫化物包含半胱胺(化合物1)加第二硫醇(化合物2至35中的任一种)。右表中的所有二硫化物包括泛酰巯基乙胺(化合物2)加第二硫醇(化合物2至35中的任一种)。

[0126] (ii)二硫化物的式分子量(MW)在第一列中表示;例如,二硫化物1+28的MW为238.35道尔顿(两种成分硫醇的质量之和减去2,以解释两个损失的质子)。应注意,在硫醇13和14(L-半胱氨酸乙酯HCl和L-半胱氨酸甲酯HCl)的情况下,使用盐形式的质量。游离二硫化物的实际质量比所示质量小36.46道尔顿。

[0127] (iii)可在体内降解半胱胺前体后产生的半胱胺的数量。对二硫化物进行分选,其中产生两个半胱胺的那些在粗水平线上方列出且产生一个半胱胺的那些在下方列出。

[0128] (iv)可在体内转化为游离半胱胺的半胱胺前体的分数。例如,可转化为半胱胺的238.35道尔顿的二硫化物1+28的分数为32.4%。产生一种半胱胺的二硫化物通过可转化为半胱胺的分子量分数从高到低排列。

[0129] (v)从二硫化物半胱胺前体产生半胱胺所需的降解步骤(化学或酶)的数量。对于粗水平线上方的二硫化物(其中两个硫醇均可降解为半胱胺(或两个硫醇中的一个是半胱胺本身))提供两个数字,显示二硫化物的每个硫醇成分的步骤数。两个数字的顺序对应于表格第一列中列出的两个硫醇的顺序。对于其中仅一个硫醇可降解为半胱胺的二硫化物

(在粗水平线下方),仅显示一个数字,表明所述硫醇的降解步骤数。例如,在二硫化物表1B中,表示为“2+5”的二硫化物表示与辅酶A(硫醇5)二硫键合的泛酰巯基乙胺(硫醇2)。此二硫化物的MW为1,352.36。在肠道中降解后,此二硫化物产生两个半胱胺。两个在一起在一起称重154.3道尔顿,这是二硫化物质量的11.4%,如第4列所示。从二硫化物到两个半胱胺的降解途径包括在泛酰巯基乙胺部分的情况下的两个步骤(步骤1:二硫键还原,步骤2:泛酰巯基乙胺酶裂解)和在辅酶A部分的情况下的四个或更多个步骤(表示为4+)(步骤1:二硫键还原,步骤2:外核苷酸二磷酸酶催化的核苷酸分离(其它分解代谢途径是可能的),步骤3:去磷酸化为泛酰巯基乙胺,步骤4:泛酰巯基乙胺酶裂解)。因此,第5列中的数字2/4+分别表示泛酰巯基乙胺和辅酶A部分从二硫化物到半胱胺的降解步骤数。

[0130] 图19包含两个表,其显示图17中的硫醇和二硫醇可如何组合以制得两类二硫化物半胱胺前体:4-磷酸泛酰巯基乙胺二硫化物和脱磷酸辅酶A二硫化物。两个表中的每一个的五列提供的信息与图18中相同。再次应注意,在硫醇13和14(L-半胱氨酸乙酯HCl和L-半胱氨酸甲酯HCl)的情况下,使用盐形式的质量。游离二硫化物的实际质量比所示质量小36.46道尔顿。

[0131] 图20包含两个表,其显示图17中的硫醇和二硫醇可如何组合以制得两类二硫化物半胱胺前体:辅酶A二硫化物和N-乙酰基半胱胺二硫化物。两个表中的每一个的五列提供的信息与图18中相同。再次应注意,在硫醇13和14(L-半胱氨酸乙酯HCl和L-半胱氨酸甲酯HCl)的情况下,使用盐形式的质量。游离二硫化物的实际质量比所示质量小36.46道尔顿。

[0132] 图21包含两个表,其显示二硫醇可如何连接到两个硫醇以制得能够在体内降解时产生两个半胱胺(上表)或一个半胱胺(下表)的二硫化物。硫醇和二硫醇的编号如图17中所示。在每个表中,出于简洁,各种可能的二硫醇-硫醇-硫醇组合由二硫醇部分分组(化合物30-35),且每组的分子量和半胱胺产量以范围提供。每个表的底部显示三种示例性二硫醇-硫醇-硫醇组合,并且包括特定MW、可转化为半胱胺的MW百分比和半胱胺的降解步骤数(参见上文图18的解释)。在两个表下面的说明文字中提供额外的细节。

[0133] 图22说明了在混合(不对称)二硫化物的化学合成中使用的初始硫醇活化步骤。

[0134] 图23说明了用于制备半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物的一种合成方案(称为TTI-0102,其中01指半胱胺,其为图17中的硫醇1,且02指泛酰巯基乙胺,其为图17中的硫醇2)。首先用叔丁氧基羰基(Boc)保护半胱胺的伯胺,然后在2,3-二氯-5,6-二氰基苯醌(DDQ)存在下,在二氯甲烷(DCM)中用双(5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧磷杂环己烷-2-基)二硫烷(由简写PDTA指代)活化半胱胺-Boc的-SH。然后用酸除去Boc基团,并使活化的半胱胺与(R)-泛酰巯基乙胺反应。

[0135] 图24说明了用于制备半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物的第二合成方案(TTI-0102)。在2,3-二氯-5,6-二氰基苯醌(DDQ)存在下,在二氯甲烷(DCM)中用双(5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧磷杂环己烷-2-基)二硫烷(由简写PDTA指代)活化(R)-泛酰巯基乙胺。然后使活化的(R)-泛酰巯基乙胺与半胱胺在氢化钠(NaH)和四氢呋喃(THF)中反应。

[0136] 图25说明了用于制备N-乙酰基半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物的合成方案(称为TTI-0602,其中数字6和2指的是两个组合的硫醇,如图17中所编号)。在2,3-二氯-5,6-二氰基苯醌(DDQ)存在下,在二氯甲烷(DCM)中用双(5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧磷杂环己烷-2-基)二硫烷(PDTA)活化N-乙酰基半胱胺。然后使活化的N-乙酰基半胱胺与(R)-泛酰巯

基乙胺在含三乙醇胺(TEA)的DCM中反应。

[0137] 图26说明了用于制备N-乙酰半胱氨酸-泛酰巯基乙胺二硫化物的合成方案(称为TTI-1502,其中数字15和2指的是两个组合的硫醇,如图17中所编号)。在2,3-二氯-5,6-二氰基苯醌(DDQ)存在下,在二氯甲烷(DCM)中用双(5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧磷杂环己烷-2-基)二硫烷(PDTA)活化N-乙酰半胱氨酸。然后使活化的N-乙酰半胱氨酸与(R)-泛酰巯基乙胺在氢化钠(NaH)和四氢呋喃(THF)中反应。

[0138] 图27包含在Varian INOVA 500上获得的TTI-0102的核磁共振(NMR)谱。TTI-0102的插入结构用字母a到i标注以表示特定键,其也在NMR谱上突出显示。

[0139] 图28包含在Varian INOVA 500上获得的TTI-0602的核磁共振(NMR)谱。TTI-0602的插入结构用字母a到g注释以表示特定键,其也在NMR谱上突出显示。

[0140] 图29包含在Varian INOVA 500上获得的TTI-1502的核磁共振(NMR)谱。TTI-1502的插入结构用字母a到i标注以表示特定键,其也在NMR谱上突出显示。

[0141] 图30A和图30B.含有在通过管饲法向史泊格-多利大鼠(Sprague-Dawleyrat)施用半胱胺盐酸盐(30mg/kg;图30A)或化合物2(也称为TTI-0602)(120mg/kg;图30B)之后,血浆中半胱胺的浓度-时间曲线,如实例10中所述。两条曲线中的值均为三只大鼠的平均值。标准偏差由误差条表示。

[0142] 图31A和图31B.含有通过管饲法向史泊格-多利大鼠(每剂量3只大鼠)施用30mg/kg、60mg/kg或120mg/kg剂量的化合物2(也称为TTI-0602)后血浆中半胱胺的浓度-时间曲线(图31A),如实例10中所述,和通过管饲法向史泊格-多利大鼠施用120mg/kg的化合物2(也称为TTI-0602)后血浆中半胱胺、N-乙酰基半胱胺和泛酸的浓度时间曲线(图31B),也在实例10中描述。

[0143] 图32包含说明通过管饲法向史泊格-多利大鼠施用120mg/kg的化合物2(也称为TTI-0602)后10.5小时,肝脏和肾脏中半胱胺浓度(微摩尔)的图表,如实例10中所述。

[0144] 图33描绘在通过管饲法向雄性史泊格-多利大鼠施用以下各者后血浆中半胱胺的浓度-时间曲线:(i)半胱胺盐酸盐(30mg/kg)或胱胺二盐酸盐(30mg/kg)或泛硫乙胺(30mg/kg)或化合物1(也称为TTI-0102)(100mg/kg),如实例1中所述。浓度是三只大鼠的平均值,且误差条指示标准差。

[0145] 图34A和图34B.描绘在通过管饲法向雄性史泊格-多利大鼠施用30mg/kg、60mg/kg或100mg/kg的剂量的化合物1(也称为TTI-0102)后血浆中半胱胺的浓度-时间曲线(图34A),如实例11-13中所述,和衍生自每个剂量的药物动力学参数(图34B)。缩写:Cmax=最大半胱胺浓度;Tmax最大半胱胺浓度出现的时间;AUC last=从时间0至六小时的药物浓度时间曲线下面积;T1/2=血浆中半胱胺的半衰期;MRT last=基于6小时数据的平均滞留时间。

[0146] 图35A和图35B.描绘条形图,其显示在通过管饲法向雄性史泊格-多利大鼠施用30mg/kg、60mg/kg或100mg/kg的剂量的半胱胺盐酸盐(30mg/kg)或化合物1(也称为TTI-0102)之后六小时,大鼠的胃肠道中半胱胺(图35A)和泛酰巯基乙胺(图35B)的浓度。如实例11-13中所述地分析获自胃、近端小肠、远端小肠和盲肠/结肠的胃肠道内容物。用TCEP还原了来自所有四个肠段的样品。还在无TCEP的情况下分析了近端和远端小肠内容物。每个条上方的数字指示所述样品的值。将样品在上图和下图中对齐,以便于比较相同样品中的半

胱胺和泛酰巯基乙胺水平。

[0147] 图36A.描绘胱胺半酰化以产生化合物1(半胱胺-泛酰巯基乙胺不对称二硫化物)的合成方案。DCC是偶合试剂N,N'-二环已基碳化二亚胺的缩写。HOBt是1-羟基苯并三唑水合物的缩写。DMF是溶剂二甲基甲酰胺的缩写。

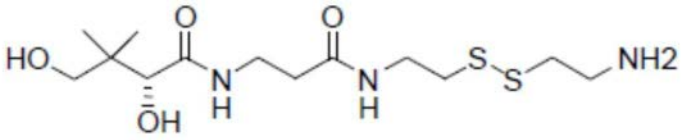
[0148] 图36B.描绘通过硫醇-二硫化物交换合成化合物1的方案。所示的涉及半胱胺(硫醇)和泛酰巯基乙胺(二硫化物)的反应是实例14中论述的两个硫醇-二硫化物交换反应之一。

[0149] 图37.描绘经由胱胺半酰化制得的TTI-0102的质子核磁共振(^{1}H NMR)光谱(图36A中所说明)。显示TTI-0102的结构,且用在^{1}H NMR光谱中的峰处键入的小写字母来注释。表显示所有峰的数值与其增量值(以百万分率,或ppm表示)和峰高度。

[0150] 图38.以表格形式描绘图37中示出的^{1}H NMR光谱中的预测和观察质子峰高之间的关系,其中质子与图37中相同地标记(a、b、c、d、e、f、g、h、i)。

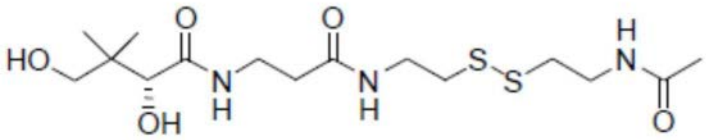
具体实施方式

[0151] 本发明提供允许以受控量且在胃肠道中的受控位置从前体化合物(半胱胺前体)体内产生半胱胺的组合物和方法,以及治疗半胱胺敏感性症状、综合症和疾病的方法。本发明的方法和组合物可包括下文所示的化合物1-3中的任一种,或其药学上可接受的盐。



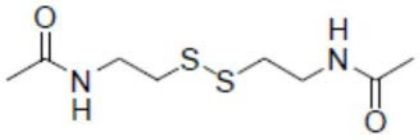
(1)

[0152]



(2)

[0153]



(3)

[0154] 化合物1-3可单独施用,或与作为半胱胺前体的第二活性成分组合施用,或与修改施用化合物后个体中半胱胺的释放或吸收的药剂,如还原剂或泛酰巯基乙胺酶诱导剂组合施用。

[0155] 半胱胺是一种小的、高反应性的硫醇分子(NH2-CH2-CH2-SH),存在于从细菌到人的所有生命形式中。半胱胺的IUPAC名称是2-氨基乙烷硫醇。其它常用名包括巯乙胺、β-巯基乙胺、2-巯基乙胺、脱羧半胱氨酸和硫代乙醇胺。在人体中,半胱胺是由酶泛酰巯基乙胺酶产生的,泛酰巯基乙胺酶将泛酰巯基乙胺裂解成半胱胺和泛酸,也称为泛酸盐或维生素B5。人泛酰巯基乙胺酶由Vanin 1和Vanin 2基因(缩写为VNN1和VNN2)编码并广泛表达,包括在胃肠道中。因此,存在于许多食物中(例如在坚果和乳制品中)的饮食泛酰巯基乙胺在胃肠腔中裂解以产生半胱胺和泛酸,其接着被吸收。特别地,半胱胺可以通过有机阳离子转运蛋白(OCT)转运通过胃肠上皮,有机阳离子转运蛋白是包括有机阳离子转运蛋白1

(OCT1)、OCT2和OCT3的转运蛋白家族,其已经显示在肠上皮细胞中转运半胱胺。基于其在胃肠道中转化为半胱胺的能力,泛酰巯基乙胺是半胱胺前体。半胱胺前体代表一类化合物,其在(i)耐受性和副作用、(ii)药代动力学和给药间隔、(iii)制造和(iv)产品稳定性方面具有优于半胱胺盐的优点。更一般地,施用可以不同速率在体内产生半胱胺的半胱胺前体,并且使用配制方法在选定的时间将这些前体递送到胃肠道中的所选位点可通过提供好得多的半胱胺药代动力学控制而适用于治疗方案,半胱胺药代动力学控制直至目前一直是广泛使用半胱胺和其它硫醇的主要障碍。

[0156] 半胱胺前体

[0157] 泛酰巯基乙胺和其分解代谢产物半胱胺和泛酸盐是植物和动物中辅酶A生物合成的中间化合物(关于相关的代谢和分解代谢途径图,参见图11)。辅酶A生物合成途径中的几种化合物,例如4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A可以在人胃肠道中分解代谢为泛酰巯基乙胺,然后分解为半胱胺和泛酸盐。因此,4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A由于可在肠中转化为半胱胺,因此是半胱胺前体。N-乙酰基半胱胺也是半胱胺前体,通过肠内或细胞脱乙酰酶(例如在体内将N-乙酰半胱氨酸转化为半胱氨酸的脱乙酰酶)脱乙酰化。

[0158] 泛硫乙胺是两个泛酰巯基乙胺分子的二聚体,通过二硫键连接。换句话说,泛硫乙胺是泛酰巯基乙胺的氧化形式。泛硫乙胺与两个泛酰巯基乙胺的相互转化不是酶促介导的,且不需要ATP。相反,反应很大程度上受肠道中氧化还原环境的控制。在倾向于在体内、尤其是细胞内占优势的还原环境中,泛酰巯基乙胺将占主导地位,而在更加氧化的环境(例如胃)中,平衡将转向泛硫乙胺。Wittwer(Wittwer等人,《实验医学杂志(J.Exp.Med.)》76:4(1985))的小型临床研究表明,当口服施用时,大部分的泛硫乙胺在人胃肠道中化学还原为泛酰巯基乙胺,且随后裂解成半胱胺和泛酸盐。因此,泛硫乙胺是半胱胺前体。本文的泛酰巯基乙胺是指D-对映异构体。

[0159] 泛酰巯基乙胺的泛酰基部分含有手性碳。因此,存在两种对映异构形式的泛酰巯基乙胺,传统上称为D-泛酰巯基乙胺和L-泛酰巯基乙胺(也称为R-泛酰巯基乙胺和S-泛酰巯基乙胺)。只有泛酰巯基乙胺的D-对映异构体可以被泛酰巯基乙胺酶裂解,因此只有D-对映异构体才有资格作为半胱胺前体。泛酰巯基乙胺的两种对映异构体可以四种方式结合形成二硫化物泛硫乙胺:D-,D-;D,L;L-,D-;和L-,L-泛硫乙胺。只有D-,D-泛硫乙胺可以化学还原成两个D-泛酰巯基乙胺,且接着裂解产生两个半胱胺。因此,强烈优选泛硫乙胺的D-,D-形式,并且本文所用的术语泛硫乙胺是指D-,D-对映异构体。泛酰巯基乙胺相关化合物4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸-辅酶A和辅酶A也必须呈D-立体异构构型,以在肠道中降解时产生D-泛酰巯基乙胺(并由此产生半胱胺)。因此,“4-磷酸泛酰巯基乙胺”、“脱磷酸辅酶A”和“辅酶A”以及其任何类似物或衍生物在本文中是指D-对映异构体。泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A中没有一个被肠上皮细胞吸收,而是每种化合物必须被分解代谢为被吸收的泛酸盐和半胱胺(参见Shibata等人,《营养学杂志(J.Nutr.113:2107(1983))。

[0160] 可以在胃肠道中转化为母体化合物(例如通过天然酶或化学过程)的泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A的D-立体异构体的类似物或衍生物也可用于形成硫醇或二硫化物型半胱胺前体且在本文中称为“合适的类似物或衍生物”。例如,存

在许多易于在肠道中降解为辅酶A的辅酶A的生理形式(例如乙酰基辅酶A、丁二酰基辅酶A、丙二酰基辅酶A等)。任何乙酰化、烷基化、磷酸化、脂化或其它类似物可用作半胱胺前体。文献中已经描述了泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A的类似物,以及其产生方法(van Wyk等人,《化学通讯(Chem Commun)》4:398(2007))。

[0161] 除本身以外,泛酰巯基乙胺可与硫醇形成二硫化物,称为泛酰巯基乙胺混合二硫化物,其构成另一类半胱胺前体。与泛酰巯基乙胺反应的硫醇优选是天然存在的硫醇,或基于人或动物使用历史已知在人体中安全的非天然硫醇。例如,混合二硫化物可以通过使泛酰巯基乙胺与4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A、存在于人体和许多食物中的化合物反应而形成。此类混合二硫化物在肠中还原和降解时产生两个半胱氨酸。与N-乙酰基半胱胺偶联的泛酰巯基乙胺也在肠道中还原和降解时产生两个半胱氨酸。在某些实施例中,优选可产生两个半胱胺的二硫化物半胱胺前体。图18-21显示不同类别的二硫化物半胱胺前体的半胱胺产率。可以通过化学或酶促过程转化为胃肠道中的母体化合物的4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A的类似物或衍生物(即合适的类似物或衍生物)也可以与泛酰巯基乙胺偶联以形成泛酰巯基乙胺混合二硫化物半胱胺前体,或其可偶联到其它硫醇。

[0162] 泛酰巯基乙胺混合二硫化物也可以通过泛酰巯基乙胺与本身不可降解为半胱胺的硫醇反应而形成,所述硫醇为如L-半胱氨酸、高半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸酰胺、N-乙酰半胱氨酸乙酯、N-乙酰基半胱胺、L-半胱氨酸乙酯氢氯化物、L-半胱氨酸甲酯氢氯化物、硫代半胱氨酸、烯丙基硫醇、糠基硫醇、苄基硫醇、硫代萜品醇、3-巯基丙酮酸、半胱氨酰甘氨酸、γ谷氨酰半胱氨酸、γ-谷氨酰半胱氨酸乙酯、谷胱甘肽、谷胱甘肽单乙酯、谷胱甘肽二乙酯、巯基乙基葡糖酰胺、硫代水杨酸、硫代半胱氨酸、硫普罗宁或二乙基二硫代氨基甲酸。关于可与泛酰巯基乙胺反应以形成泛酰巯基乙胺混合二硫化物的示例性硫醇化合物的化学文摘社(CAS)登记号、分子式和分子量,参见图17。由泛酰巯基乙胺和硫醇6-35中的任一种(关于硫醇编号,参见图17)形成的二硫化物在二硫键还原和泛酰巯基乙胺酶裂解后产生一个半胱胺。虽然这些第二硫醇不可在肠中转化为半胱胺,但其可通过例如刺激泛酰巯基乙胺酶活性或参与与含半胱胺的二硫化物的二硫键交换来增强半胱胺生成,或其可提供与通过半胱胺(通过例如)充当还原剂或通过其它机制提供的治疗益处互补的治疗益处。

[0163] 二硫醇化合物,如二氢硫辛酸(DHLA)、内消旋-2,3-二巯基丁二酸(DMSA)、2,3-二巯基丙磺酸(DMPS)、2,3-二巯基-1-丙醇、布西拉明或N,N'-双(2-巯基乙基)间苯二甲酰胺也可以与泛酰巯基乙胺反应以形成具有一个游离硫醇基的泛酰巯基乙胺混合二硫化物,或具有两个二硫键的三联化合物,所述二硫键将两个泛酰巯基乙胺分子连接到二硫醇。前一类混合泛酰巯基乙胺二硫化物在二硫键还原和泛酰巯基乙胺酶裂解时产生一个半胱胺,而后一类产生两个半胱胺。关于显示半胱胺、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或N-乙酰基半胱胺可如何与各种二硫醇组合以产生适用半胱胺前体的表,参见图21。或者,可以将两种不同的硫醇键合到二硫醇以产生半胱胺前体,只要其中一个硫醇是半胱胺、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或N-乙酰基半胱胺,或其合适的类似物或衍生物;即为一种最终可在胃肠道中降解为半胱胺的化合物。图21中的表2A和2B显示此类半胱胺前体的一些突出特性,包括分子量和半胱胺产率的范围(即,可在体

内转化为半胱胺的半胱胺前体的百分比),以及针对所选实例,从半胱胺前体降解为半胱胺的体内降解步骤数。

[0164] 与泛酰巯基乙胺类似,4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或N-乙酰基半胱胺,或合适的类似物或衍生物中的任一种可以(i)与其自身反应以形成均二聚二硫化物,或(ii)以各种配对彼此反应以形成混合二硫化物,或(iii)与其它硫醇(不可在体内转化为半胱胺)反应,以形成混合二硫化物。所有这些二硫化物都是半胱胺前体。前两个类别可以在肠道中还原和降解时产生两个半胱胺,而第三类仅可产生一个半胱胺。

[0165] 例如,图17中列出的任何硫醇可以与4-磷酸泛酰巯基乙胺(如图19中所示)、与脱磷酸辅酶A(图19)、与辅酶A(图20)或与N-乙酰基半胱胺(图20)反应以形成混合二硫化物半胱胺前体。也可以使用其它天然存在的硫醇,同样可以使用已知在人体中安全的非天然硫醇。图18-21示意性示出了一些可反应以形成二硫化物半胱胺前体的硫醇和二硫醇的组合。在人胃肠道中将这些化合物转化为半胱胺需要:(i)还原二硫键以产生游离硫醇,(ii)在含有4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或其合适的类似物或衍生物的二硫化物的情况下,通过存在于肠中的酶(例如磷酸酶、二磷酸酶、磷酸二酯酶)降解以产生泛酰巯基乙胺,(iii)通过泛酰巯基乙胺酶来裂解泛酰巯基乙胺。含有N-乙酰基半胱胺的二硫化物必须在肠道、血液或组织中被还原和脱乙酰化。

[0166] 半胱胺本身也可以与其它硫醇反应形成混合二硫化物半胱胺前体。例如,半胱胺可以与泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或N-乙酰基半胱胺,与可在胃肠道中降解为母体化合物的这五种硫醇的类似物或衍生物,或与任何在图17列出其它硫醇反应,以形成图18-20中的任何二硫化物。两个半胱胺可通过两个二硫键与二硫醇连接,以产生另一类二硫化物半胱胺前体(图21)。图8示出了这样的半胱胺前体的化学结构:一个二氢硫辛酸二硫键键合到两个半胱胺。在二硫键还原时,两个半胱氨酸与二氢硫辛酸一起被释放,二氢硫辛酸是强还原剂并且可以在某些疾病环境中补充半胱胺的治疗特性。

[0167] 总之,半胱胺前体可分为三大类:(i)可降解为半胱胺的硫醇,(ii)包括半胱胺的混合二硫化物,包括与二硫醇形成的二硫化物,(ii)包括泛酰巯基乙胺的二硫化物,(iii)包括4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A或合适的类似物或衍生物的二硫化物。后三类中的每一类可以依据第二硫醇进一步分解:(a)泛酰巯基乙胺或合适的类似物或衍生物,(b)4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A或合适的类似物或衍生物,或(c)本身不是半胱胺前体的硫醇(例如L-半胱氨酸、高半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸酰胺、N-乙酰半胱氨酸乙酯、N-乙酰基半胱胺、L-半胱氨酸乙酯氢氯化物、L-半胱氨酸甲酯氢氯化物、硫代半胱氨酸、烯丙基硫醇、糠基硫醇、苄基硫醇、3-巯基丙酮酸、硫代萜品醇、谷胱甘肽、半胱氨酰甘氨酸、γ谷氨酰半胱氨酸、γ-谷氨酰半胱氨酸乙酯、谷胱甘肽单乙酯、谷胱甘肽二乙酯、巯基乙基葡糖酰胺、硫代水杨酸、硫代半胱氨酸、硫普罗宁或二乙基二硫代氨基甲酸)。二硫醇化合物,如二氢硫辛酸、内消旋-2,3-二巯基丁二酸(DMSA)、2,3-二巯基丙磺酸(DMPS)、2,3-二巯基-1-丙醇、布西拉明或N,N'-双(2-巯基乙基)间苯二甲酰胺还可以与半胱胺、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A或合适的类似物或衍生物组合以形成二硫化物。

[0168] 半胱胺前体的药理学特性

[0169] 来自半胱胺前体的体内半胱胺产生的时间和空间模式可以根据半胱胺前体的类

型而大幅变化。需要多次化学和酶促反应以产生半胱胺的半胱胺前体将平均比仅需要一步的那些更晚产生半胱胺。半胱胺前体的这种特性可用于设计多种具有不同体内半胱胺产生速率和持续时间的药物组合物。此外,药物组合物可以产生所需药理学结果的组合和比例施用。例如,为了在药物施用后不久提供升高的血浆半胱胺水平,可以施用半胱胺混合二硫化物。从半胱胺混合二硫化物产生半胱胺所需的唯一步骤是二硫键还原。取决于第二硫醇的标识,可以在一个或多个降解步骤之后产生第二半胱胺。第二半胱胺仅可在二硫键还原和另一步骤后产生,因此其必定将晚于第一半胱胺产生,从而延长半胱胺在肠道中产生并被吸收到血液中的时间。由于半胱胺游离碱和半胱胺盐(例如Cystagon®和Procysbi®)具有非常短的半衰期,从半胱胺前体体内产生半胱胺的此延长代表了超过目前治疗剂的一个显著进步。

[0170] 在一种方法中,如果第二硫醇是泛酰巯基乙胺(即半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物),那么泛酰巯基乙胺酶裂解步骤对于产生第二半胱胺是必需的。泛酰巯基乙胺酶通常位于肠上皮细胞的表面上,且因此在任何时候仅与一部分肠内容物接触,从而延长产生半胱胺的时间。来自一个二硫键分子的早期和晚期半胱胺产生的此组合具有以下几个优点:(i)半胱胺在二硫键还原时变得可用,提供早期治疗益处,(ii)泛酰巯基乙胺的裂解随时间发生(泛酰巯基乙胺酶在整个胃肠道中以不同水平表达),延长治疗效益的持续时间,(iii)通过二硫键还原和泛酰巯基乙胺裂解延长半胱胺随时间和空间的产生,降低与副作用密切相关的高峰半胱胺浓度,同时也(iv)避免泛酰巯基乙胺酶或半胱胺吸收机制,例如通过OCT转运的饱和。简而言之,延长的血液半胱胺水平升高为患者提供了更有效的药物和更低毒性且更方便的给药形式。

[0171] 或者,如果第二硫醇是L-半胱氨酸(即半胱胺-L-半胱氨酸二硫化物),则在二硫化物还原时仅产生一个半胱胺,并且不存在长时间的半胱胺产生。然而,如下所述,半胱胺-L-半胱氨酸二硫化物可以配制成几乎在胃肠道的任何部分释放,包括回肠或结肠,其中能够快速释放半胱胺的半胱胺前体可能是有用的。此外,还显示半胱氨酸增强泛酰巯基乙胺酶的活性,并在几种疾病模型中具有有益效果。因此,半胱胺-L-半胱氨酸二硫化物可以是另一种半胱胺前体的有用补充物,或者可适用于治疗对半胱胺和半胱氨酸都有反应的疾病。

[0172] 含有需要两个或更多个分解代谢反应以产生半胱胺的硫醇,例如4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A,或其合适的类似物或衍生物的二硫化物可以在小肠中比在胃或大肠中更有效地降解,其在小肠中暴露于胰液中存在的消化酶。通过使两种这样的硫醇彼此反应,或与除半胱胺以外的硫醇反应制备的二硫化物将在稍后的时间点开始产生半胱胺并且比例如半胱胺-L-半胱氨酸二硫化物延续更长的时间。平均而言,4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A或合适的类似物将比泛酰巯基乙胺更晚产生半胱胺,并且含有这些化合物的二硫化物也是如此。

[0173] 半胱胺前体,如泛酰巯基乙胺和可在肠道中降解为泛酰巯基乙胺的化合物,以及含有任何这些化合物的二硫化物在通过泛酰巯基乙胺酶裂解后全都产生泛酸盐以及半胱胺。泛酸盐或维生素B5是一种水溶性化合物,其存在于饮食中且由肠细菌合成。当以大剂量施用泛酸盐时,超出量在尿液中排出。关于膳食参考摄入量科学评估的美国医学研究所常务委员会的叶酸、其它B族维生素和胆碱专家小组对泛酸盐的评论(National Academies Press(US),1998)发现:“未发现在人或动物体内口服泛酸的副作用的报道”。

[0174] 半胱胺前体的混合物

[0175] 本发明的方法和组合物可包括半胱胺前体的混合物以利用其不同药理学特性的优势。特别地,半胱胺血浆水平的个体化改善(或针对给定患者的需要个人化)可以通过使用半胱胺前体的混合物来实现。例如,上述半胱胺-泛酰巯基乙胺混合二硫化物将半胱胺与泛酰巯基乙胺的比固定于1:1。然而,半胱胺被迅速吸收并从体内清除(消除半衰期:约25分钟),产生血液水平的急剧峰值,而泛酰巯基乙胺提供半胱胺(通过泛酰巯基乙胺酶裂解)数小时。因此,早期产生治疗性半胱胺水平(从二硫键还原时释放的半胱胺)的半胱胺-泛酰巯基乙胺混合二硫化物的剂量可能在稍后产生亚治疗性半胱胺水平,因为来自泛酰巯基乙胺的半胱胺产生在更长的时间段内扩散。因此,1:1比例的半胱胺:泛酰巯基乙胺可能不是特定患者或目的的理想选择。添加更多泛酰巯基乙胺至剂型将持续较长时段将血液半胱胺保持在治疗浓度范围内。为了增加泛酰巯基乙胺与半胱胺的比,可以例如将硫醇泛酰巯基乙胺或二硫化物泛硫乙胺或另一种含有泛酰巯基乙胺的二硫化物与半胱胺-泛酰巯基乙胺混合二硫化物共同配制或共同施用以实现持续较长时段在治疗范围内的血液半胱胺水准。可以调节两种半胱胺前体的比以获得所需的药代动力学参数,例如使半胱胺浓度-时间曲线下面积(AUC)最大化,或使半胱胺的峰值浓度(Cmax)最小化,或使谷值浓度(Cmin)最大化,或维持半胱胺血液水平高于阈值,或这些参数的任何组合。

[0176] 半胱胺前体,例如4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A,以及由这三种化合物形成的二硫化物需要比泛酰巯基乙胺(其仅需要一步)更多的分解代谢步骤来产生半胱胺。因此,从那些半胱胺前体的半胱胺产生速率平均比从泛酰巯基乙胺或某些泛酰巯基乙胺二硫化物更慢且时间更长。因此,4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A或其二硫化物与半胱胺-泛酰巯基乙胺和任选的泛酰巯基乙胺或泛硫乙胺共同施用或共同配制提供了通过选择合适的半胱胺前体来控制半胱胺药代动力学的另一种方法。特别地,使用此类半胱胺前体可以用于进一步延长在胃肠道中产生半胱胺的时间。

[0177] 含有4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A的二硫化物

[0178] 图11中示意性显示的辅酶A的经典生物合成途径涉及由四种酶催化的五个步骤(CoA合酶催化最后两个步骤)。初始步骤-泛酸盐激酶对泛酸盐的磷酸化-控制通过该途径的通量。直到最近,人们认为辅酶A合成(或分解代谢)途径中的中间化合物都没有在胃肠道中被有效吸收。相反,只有泛酰巯基乙胺(泛酸盐和半胱胺)的分解代谢产物在肠道中被吸收。对半胱胺前体疗法的辅酶A途径的理解的两个重要结果是(i)半胱胺前体必须在肠道中降解为半胱胺,然后被吸收并转运到治疗效果的部位(例如肝脏、中枢神经系统),和(ii)细胞辅酶A合成必须从泛酸盐开始(因为其它代谢中间物不穿过细胞膜)。

[0179] 然而,4-磷酸泛酰巯基乙胺有效地穿过细胞膜(Srinivasan等人,《自然化学生物学(Nature Chemical Biology)》11:784(2015))。此观察结果对设计和使用本文所述的半胱胺前体来治疗多种疾病和病症有影响。首先,它允许涉及在多个组织和器官(与肠道相对),包括患病组织中原位产生半胱胺的治疗方法。在第二方面,它能够在泛酸盐激酶催化的初始合成步骤的下游细胞递送辅酶A前体(4-磷酸泛酰巯基乙胺),可用于治疗泛酸盐激酶缺乏的受试者。下文描述使用半胱胺前体治疗这两类疾病的方法,并用几个实例进行说明。

[0180] 在一个方法中,可以有效地治疗肾、肝、肺和结缔组织的疾病以及传染病,因为这

些器官(和其它器官)都含有从VNN1或VNN2基因表达的泛酰巯基乙胺酶。所述方法包括(i)给患者服用可以在肠道中降解的半胱胺前体以产生一个或两个分子的4-磷酸泛酰巯基乙胺,其中一些分子将(ii)被肠上皮细胞吸收并进入血液(其中4-磷酸泛酰巯基乙胺非常稳定),然后,通过循环,(iii)通过患病器官,其中(iv)其可被磷酸酶和泛酰巯基乙胺酶降解,以在疾病所在地产生半胱胺。

[0181] 此治疗方法的优点可包括(i)每当量剂量在疾病部位的半胱胺浓度高于肠道吸收的半胱胺可达到的半胱胺浓度,(ii)血浆半胱胺浓度随着所引起的较低毒性而降低(因为4-磷酸泛酰巯基乙胺是循环递送媒剂),(iii)血液半衰期比半胱胺长(4-磷酸泛酰巯基乙胺超过3小时相对于半胱胺约25分钟),其延长给药间隔且从而增加患者便利性,以及(iv)能够选择性地将半胱胺靶向其中泛酰巯基乙胺酶过表达是病原的疾病组织,包括例如代谢疾病,如NASH(Sato W.等人,《肝脏病学研究(Hepatol Res.)》34:256(2006))和某些发炎性疾病(Naquet P.等人,《生化学会会刊(Biochem Soc Trans.)》42:1094(2014))。炎症通常存在于感染部位,因此在感染部位产生选择性半胱胺也是可能的,并且在半胱胺具有抗微生物、抗病毒或抗寄生作用的环境中是有用的。因此,4'-磷酸泛酰巯基乙胺可以在肠道中被吸收,在血液中循环,且接着在表达泛蛋白酶的器官或疾病组织中降解为半胱胺,无论是组成性的,如在肾脏中,还是作为活动性疾病的表现,如在炎症中。

[0182] 4-磷酸泛酰巯基乙胺-产生肾脏疾病的二硫化物

[0183] 如上所述,泛酰巯基乙胺酶(由VNN1和VNN2基因编码)在肾中以高水平表达。因此,一些循环的4-磷酸泛酰巯基乙胺将在肾脏中降解,产生半胱胺。肾特异性半胱胺产生的优点包括比通过胃肠道吸收半胱胺将可获得的组织水平更高的组织水平,并且与半胱胺的血液水平升高相关的副作用更少(例如恶臭呼吸和汗液、恶心、呕吐、厌食和胃痛)。对半胱胺疗法有反应的肾脏疾病包括纤维化疾病(例如肾小球肾炎)以及代谢疾病,包括肾病性胱氨酸病(其中肾衰竭是可通过半胱胺疗法延迟长达十年的主要并发症)。

[0184] 胱氨酸尿症是另一种遗传性肾病,与复发性肾结石(肾石病)有关。平均而言,成年患者需要每3年进行一次与肾结石相关的疼痛、感染或其它并发症的外科手术,并且普通患者在中年时接受了7次肾结石外科手术。患有胱氨酸尿症的患者肾脏损失的风险增加,需要肾切除术。少数但显着比例的病例(1-3%)发展为终末期肾病,且必须接受透析或肾移植治疗。

[0185] 胱氨酸尿症是由编码低亲和力胱氨酸转运蛋白rBAT(一种杂二聚体)的两个基因(SLC3A1和SLC7A9)之一的突变引起的。疾病传播是常染色体隐性遗传;遗传任一基因的两个缺陷拷贝的个体会产生胱氨酸尿症。

[0186] 在健康的人类受试者中,只有0.4%通过肾小球过滤的胱氨酸最终进入尿液;另外99.6%被rBAT重新吸收于近端小管中(并且在较小程度上被另一种转运蛋白重新吸收)。当rBAT有缺陷时,高浓度的胱氨酸在尿液汇集于肾盂中时保留于尿液中。胱氨酸可沉淀为结石,可导致输尿管梗阻和剧烈疼痛。肾结石也会增加感染的风险。(并非所有患有胱氨酸尿症的患者都会产生结石;疾病的范围非常广泛)。

[0187] 产生结石的胱氨酸尿症患者的初始治疗方法是:每天饮用5升液体,并将尿液碱化至pH 7.5左右,这增加了胱氨酸的溶解度。二线治疗是施用硫醇化合物,其可以与半胱氨酸形成混合二硫化物。混合二硫化物比胱氨酸更可溶,且因此仍然溶解在尿液中。硫醇青霉胺

和硫普罗宁已经以这种方式使用,但是大多数患者对它们的耐受性不好。α-巯基丙酰甘氨酸也被美国FDA批准用于胱氨酸尿症,但约三分之一的患者不能耐受。

[0188] 口服施用的半胱胺前体可在肠中降解为4-磷酸泛酰胺,然后被吸收,进入循环,且最终降解为泛酰巯基乙胺,且接着通过肾脏中的泛酰巯基乙胺酶降解为半胱胺,是一类有用的胱氨酸尿症治疗化合物。半胱胺易于通过与胱氨酸的二硫键交换而与半胱氨酸形成混合的二硫化物,并且半胱胺-半胱氨酸二硫化物比胱氨酸更可溶于水溶液(例如尿液)中。因为这种治疗方法需要在肾脏中形成半胱胺,所以将需要比在肠道中形成并从肠道吸收的半胱胺所需的剂量更低剂量的半胱胺前体(其中只有一小部分到达肾脏)。

[0189] 适合半胱胺疗法的其它肾病可以使用类似的方法治疗,包括与氧化性损伤和遗传性疾病相关的纤维化疾病,包括由精氨酸密码子改变为半胱氨酸密码子的突变引起的疾病。肾脏的血液供应是心输出量的主要部分,确保将大部分吸收的4-磷酸泛酰巯基乙胺递送到肾脏。

[0190] 更一般地,可降解成4-磷酸泛酰巯基乙胺(包括4-磷酸泛酰巯基乙胺二硫化物)的半胱胺前体适用于向表达显著水平的磷酸酶和泛酰巯基乙胺酶的所有器官提供治疗剂量的半胱胺。例如,可以治疗与氧化性损伤有关的肺部疾病。

[0191] 用于这些治疗方法的适用的半胱胺前体包括含有辅酶A、脱磷酸辅酶A和4'-磷酸泛酰巯基乙胺的二硫化物,其中的每一种都可以通过二硫键还原(在含4'-磷酸泛酰巯基乙胺的二硫化物的情况下),或通过二硫键还原接着酶促降解(在含辅酶A和脱磷酸辅酶A的二硫化物的情况下)在胃肠道中降解为4'-磷酸泛酰巯基乙胺。在一些实施例中,提供两个4'-磷酸泛酰巯基乙胺分子的半胱胺前体优于提供一个分子的那些。例如,4'-磷酸泛酰巯基乙胺-脱磷酸辅酶A混合二硫化物,或均二聚4'-磷酸泛酰巯基乙胺二硫化物可以提供比半胱氨酸-4-磷酸泛氨酸混合二硫化物更多的原位半胱胺产生能力。另一类有用的半胱胺前体包括与可降解成4'-磷酸泛酰巯基乙胺的一种或两种硫醇连接的二硫醇。例如,二氢硫辛酸通过二硫键与一个或两个4'-磷酸泛酰巯基乙胺分子连接。

[0192] 更一般地,任何由4'-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A和另一种硫醇组成的二硫化物在胃肠道中二硫键还原后和(在脱磷酸辅酶A或辅酶A的情况下)部分降解时,可以是4'-磷酸泛酰巯基乙胺的来源。在通过胃肠上皮转运后,且在到达循环后,4'-磷酸泛酰巯基乙胺可能被血清磷酸酶降解为泛酰巯基乙胺(然而,这是一个缓慢的反应)且接着通过泛酰巯基乙胺酶在血液中降解为半胱胺和泛酸盐(快速反应),或4'-磷酸泛酰巯基乙胺可在接触表达磷酸酶和泛酰巯基乙胺酶的组织时降解。磷酸酶,包括例如由ACP1、ACP2、ACP5和ACPT基因编码的酸性磷酸酶,以及由ALPI、ALPL、ALPP和ALPPL2基因编码的碱性磷酸酶(共同)广泛表达。表达VNN1编码的泛酰巯基乙胺酶的组织包括肝、肾、心脏和胃肠道,而VNN2编码的泛酰巯基乙胺酶在肾、膀胱、胰脏、脾、肺、造血系统(例如骨髓、淋巴结、扁桃体)、结缔组织(平滑肌、脂肪组织)中,并且在较小程度上,在甲状腺、肾上腺、心脏和生殖器官(睾丸、卵巢、输卵管、子宫内膜)中表达。VNN3基因已被描述为假基因,但有几篇报道描述了差异性VNN3表达,表明它具有功能性作用。VNN3被广泛表达。关于vanin家族基因的组织和细胞系表达的数据可以在公共数据库中找到,例如蛋白质图谱(www.proteinatlas.org)和几个出版物(例如Jansen,P.A.M.等人Vanin基因家族在正常和发炎人类皮肤中的表达:通过促炎性细胞因子诱导(Expression of the Vanin Gene Family in Normal and

Inflamed Human Skin:Induction by Proinflammatory Cytokines.)《皮肤病学研究杂志(Investigative Dermatology)》129:2167-2174,2009)。

[0193] 泛酸盐激酶相关神经退化(PKAN)

[0194] 可以治疗性地使用递送4-磷酸泛酰巯基乙胺的二硫化物半胱胺前体的第二治疗方法通过称为泛酸盐激酶相关神经退化(PKAN)的疾病来说明。有临床前和临床证据表明半胱胺在几种神经退化性疾病中具有治疗效果,包括帕金森氏病、亨廷顿氏病和神经退化伴以脑铁积累(NBIA)。NBIA是指一组罕见的临床异质性疾病,与进行性锥体外系征象、运动发育迟缓和认知能力下降以及其它症状有关。发病年龄范围从婴儿期到成年晚期。呈现症状差异很大,进展率也不同。因此,通常通过在脑部MRI扫描中观察基底神经节中的异常铁积累来建议诊断。小脑萎缩也可能存在。NBIA与10种基因中的任一种的突变有关:PANK2、PLA2G6、C19orf12、FA2H、ATP13A2、WDR45、COASY、FTL、CP和DCAF17。除了位于X染色体上的WDR45基因中的突变外,NBIA作为常染色体隐性疾病传播。

[0195] 最常见的NBIA类型(占所有病例的30-50％)是泛酸盐激酶相关神经退化(PKAN),其由编码泛酸盐激酶2(PANK2)的基因中的突变引起。泛酸盐激酶2定位于线粒体,使泛酸磷酸化以产生4-磷酸泛酸,其被转化为4-磷酸泛酰基-半胱氨酸,其随后被脱羧成4-磷酸泛酰巯基乙胺(参见图11)。提供4'-磷酸泛酰巯基乙胺(PANK2催化步骤下游的代谢物)的来源克服了对功能性PANK2酶的需求。辅酶A和脱磷酸辅酶A都可以在胃肠道中降解为4'-磷酸泛酰巯基乙胺。因此,由4'-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A和另一种硫醇组成的任何二硫化物可以补充PANK2的缺乏。

[0196] 在某些实施例中,可以将含有4'-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A的二硫化物向罹患PANK2缺乏的患者施用以改善疾病症状。具体地,图19(表1C和1D)、图20(表1E)和图21中示出的二硫化物(包括至少一种4′-磷酸泛酰巯基乙胺、一种脱磷酸辅酶A或一种辅酶A的化合物的子集;以图中的命名法分别为硫醇3、4和5)。

[0197] 本申请的二硫化物半胱胺前体特别适合于实施上述治疗方法。二硫化物提供了一种有效的方式来递送4'-磷酸泛酰巯基乙胺(并最终是半胱胺),因为(i)二硫化物在空气中稳定(即对氧气稳定),且因此比硫醇更容易配制和储存,并且可以长时间稳定,(ii)硫醇基被保护直至二硫化物在小肠中,在接近吸收位点被还原,(iii)具有累加或互补治疗特性的第二硫醇可以同时递送。例如,在一些实施例中,半胱胺-4-磷酸泛酰巯基乙胺混合二硫化物,半胱胺-脱磷酸辅酶A混合二硫化物和半胱胺-辅酶A混合二硫化物是有用的治疗化合物。

[0198] N-乙酰基半胱胺二硫化物(化合物3)

[0199] 在某些实施例中,半胱胺前体为化合物3或其药学上可接受的盐。两种N-乙酰基半胱胺的同二聚体是半胱胺的有效递送媒剂,其可以两种方式使用:其可作为单一药剂施用,或与一或多种其它半胱胺前体组合施用。在两种情况下,目标均为持续可能的最长时间提供在治疗范围(例如在血浆中大于5微摩尔但小于75微摩尔,或大于10微摩尔但小于65微摩尔)内的持续血液N-乙酰基半胱胺和半胱胺水平。

[0200] 在化合物3作为单一药剂施用的那些实施例中,其优选地以提供至少两种释放曲线的方式配制:早期释放曲线和晚期释放曲线。早期释放制剂(也称为速释)在口服施用后的十分钟内开始释放化合物3。晚期释放制剂在约二至四小时后开始释放相当大量的化合

物3。两种制剂经掺合,因此其可在单一剂型中一起摄入。被配制成用于早期释放的化合物3的剂量与被配制成用于晚期释放的剂量的比为至少1:2,且可在至多1:8范围内(例如1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8)。在一个实施例中,早期和晚期释放剂量组分均被配制成微珠。具有两种释放曲线的微珠可以分开制造,接着以所需比率混合在一起以产生剂型(例如在药囊中)。所述方法促进制造具有早期与迟后释放微珠的不同比率的剂量。两种类型的微珠的不同比率可用于对患者进行个体化治疗。

[0201] 在一些实施例中,化合物3以三种释放曲线配制:早期、中间和晚期。早期释放组分在口服施用后的十分钟内开始释放化合物3,中间释放组分在剂量摄入后约二至四小时开始释放相当大量的化合物3,且晚期制剂在摄入后约3至6小时开始释放。三种释放组分经掺合,因此其可在单一剂型中一起摄入。三种剂量组分中化合物3的比率(早期:中间:晚期)为至少1:2:2。中间和晚期组分中的化合物3可在早期组分中的量的2-8倍之间独立变化,然而,晚期释放组分至少等于中间释放组分(例如1:2:8、1:4:6、1:4:4、1:5:5、1:6:8等)。在一个实施例中,早期、中间和晚期释放剂量组分全部被配制成微珠,其可分开制造,接着以所需比率(例如针对胃肠道和肝脏生理学而定制的比率混合在一起,以产生剂型(例如在药囊中)。

[0202] 在某些实施例中,晚期剂量组分,或中间和晚期剂量组分两者被配制成用于延长在胃中的滞留时间(胃滞留制剂)。在其它实施例中,晚期或中间和晚期剂量组分两者被配制成用于持续释放。在某些实施例中,二组分或三组分剂型与餐食,优选含有至少500卡、更优选至少700卡的餐食一起摄入。优选地,餐食是营养复杂的(例如含有若干类型的全食物),且至少25%的含热量源自脂肪。

[0203] 在其中化合物3与至少一种额外半胱胺前体共同施用的那些实施例中,将其配制为提供与至少一种其它半胱胺前体的释放曲线互补的释放曲线,以使得半胱胺前体在一起提供持续尽可能长时间的治疗范围内的血浆半胱胺浓度。在优选实施例中,化合物3在给药后的前1至3小时内提供半胱胺,且至少一种额外半胱胺前体在剂量之间的3-6、3-8、4-10或3-12小时,例如12小时间隔内提供半胱胺。在此类实施例中,化合物3可被配制成用于速释。在某些实施例中,与化合物3共同施用的至少一种额外半胱胺前体是化合物1或其药学上可接受的盐。

[0204] 从半胱胺前体产生半胱胺的增强剂

[0205] 本发明的方法和组合物可以利用半胱胺产生增强剂。可以如下地实现控制半胱胺血液水平的额外灵活性:通过将半胱胺前体与将半胱胺前体在肠道中化学和酶促分解为半胱胺所需的步骤的增强剂组合,以将半胱胺吸收到血液中,且防止半胱胺在肠道、血液或组织中快速分解代谢。针对这几个步骤中的每一个都存在特定的增强剂。因此,本文所述的任何半胱胺前体可以任选地与增强半胱胺产生或肠吸收或减缓半胱胺分解的药剂共同配制或共同施用或依次施用。

[0206] 将二硫化物半胱胺前体转化为半胱胺的第一步是还原二硫化物以产生两个硫醇。胃肠道中的氧化还原环境可能不含有足够的还原当量,以定量地将半胱胺前体还原为其各自的硫醇,从而限制半胱胺产生。例如,胃液中还原剂谷胱甘肽和半胱氨酸的浓度非常低或不可检测(参见Nalini等人,《国际生物学(Biol Int.)》32:449(1994))。此外,在高剂量泛硫乙胺的小型临床研究中,大部分泛硫乙胺在粪便中不变地排泄,显然反映了不完全的二

硫键还原(见Wittwer等人,《实验医学杂志(J.Exp.Med.76:4(1985))。为了解决这种潜在的限制,还原剂可以与二硫化物半胱胺前体共同施用或共同配制,或者在半胱胺前体之前或之后施用,因此其在需要的时间和地点可用。还原剂可以促进二硫键还原,释放两个硫醇,或其可促进硫醇-二硫键交换反应,其中硫醇(A)和二硫化物(B-C)反应产生新的二硫化物(A-B或A-C)和硫醇(B或C),从而释放原始二硫化物中的一种硫醇(例如半胱胺、泛酰巯基乙胺或可降解为半胱胺的化合物)。

[0207] 多种还原剂可用于促进胃肠道中二硫化物还原或硫醇-二硫键交换。还原剂可以直接还原二硫化物半胱胺前体,或它们可以还原其它二硫化物,例如谷胱甘肽二硫化物,其转而还原二硫化物半胱胺前体或参与硫醇-二硫键交换。在一些实施例中,具有还原能力的生理化合物(即通常在体内发现的物质)或食源性化合物可用于促进二硫化物半胱胺前体的还原,或促进硫醇-二硫键交换反应。可以使用生理还原剂,例如硫醇谷胱甘肽或半胱氨酸(均由于胆汁和肠上皮细胞分泌而存在于小肠中),也可以使用通常存在于体内和食物中的其它化合物,例如抗坏血酸(维生素C)、生育酚(维生素E)或二硫醇二氢硫辛酸,一种有效的还原剂。也可以使用其它广泛可用的还原剂,包括硫醇,如N-乙酰半胱氨酸和非硫醇,如烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH),同样可以使用图17中列出的任何硫醇。优选的还原剂包括已知在引起局部胃肠氧化还原环境变化所需的剂量下安全的那些。每个给药期可能需要高达几克的还原剂,例如0.5-5克。可以从还原剂的共同施用中受益的二硫化物半胱胺前体显示在图13中。确切地说,化合物1-3可受益于一种或多种还原剂的共同施用或适当时间后续施用,如本文所述。可以组合两种或更多种还原剂。优选地,还原剂的分子量小于300道尔顿。

[0208] 成年人每天产生400至超过1,000毫升(ml)的胆汁;已估计平均体积为750ml(Boyer,《综合生理学(Compr.Physiol.)》3:32(2013))。胆汁全天在肝脏中产生。一些储存在胆囊中,而其余部分提供稳定缓慢的胆汁流动,即使在禁食状态下(胆汁起到排泄功能以及帮助消化和脂肪吸收)。膳食刺激肽激素分泌素和胆囊收缩素的十二指肠分泌,并且它们分别刺激胆汁产生和胆囊收缩。胆汁中硫醇的浓度约为4mM,主要由谷胱甘肽组成,但也包括γ-谷氨酰半胱氨酸、半胱氨酰甘氨酸和半胱氨酸(Eberle等人,《生物化学杂志(J Biol.Chem.)》256:2115(1981);Abbott&Meister,《生物化学杂志》258:6193(1984))

[0209] 半胱氨酸和在较小程度上的谷胱甘肽也通过肠上皮细胞分泌到胃肠道腔中以调节腔内氧化还原电位。已直接测量来自大鼠空肠的肠液中的硫醇浓度,与胆汁的贡献无关。禁食大鼠的范围为60-200μM,且饲喂动物的范围为120-300μM(Hagen等人,《美国生理学杂志(Am.J.Physiol.)》259:G524(1990);Dahm和Jones,《美国生理学杂志》267:G292(1994))。此外,与胆汁分泌不同,管腔硫醇水平的维持是一个动态过程,因此至少在某种程度上,肠上皮细胞产生的半胱氨酸增加可以抵消氧化分子(如二硫化物半胱胺前体)肠道水平的增加(Dahm和Jones,《营养学杂志(J.Nutr.)》130:2739(2000))。人体小肠每天分泌约1.8升液体,且结肠分泌约0.2升,总共约2升。分泌液中硫醇(主要是半胱氨酸)的浓度根据胃肠道区域、管腔氧化还原电位和饮食而变化。

[0210] 胃肠道硫醇(胆汁和肠上皮细胞源性)的总浓度将影响将半胱胺前体转化为硫醇所必需的二硫键还原和/或硫醇-二硫键交换的速率和程度,这是其降解为半胱胺的必要的第一步。可以通过做出一些假设来估计餐后上胃肠道中可用的还原当量的量。例如,如果我

们假设(i)大餐后一小时内分泌200ml胆汁,接下来2-3小时又分泌100ml,以及(ii)胆汁中的硫醇浓度为4mM,则胆汁中硫醇还原能力的毫当量为0.3L×0.004mol/L＝0.0012摩尔硫醇(1.2毫摩尔)。进一步假设小肠肠上皮细胞在餐后4小时内分泌额外的400毫升,且硫醇浓度为200μM,另外提供0.4升×0.0002摩尔/升＝80微摩尔的腔内硫醇。结合胆汁硫醇,总共约1.28毫摩尔可用于还原饮食二硫化物并维持肠道氧化还原电位。这不是硫醇分泌上限的估计,硫醇分泌上限可以是相当大的,而是在餐后数小时内小肠中正常水平的硫醇。

[0211] 0.5克剂量的半胱胺-(R)-泛酰巯基乙胺二硫化物(MW:353.52g/L)含有约1.41毫摩尔的二硫键,且因此原则上可以通过内源水平的硫醇(忽略管腔硫醇用于其它生理目的的需要)转化为硫醇(通过二硫键还原或硫醇-二硫键交换)。

[0212] 更一般地,超过1.25毫摩尔的半胱胺前体剂量可受益于共同施用外源性还原剂。通常存在于饮食中的许多天然产物可以提供还原能力以促进半胱胺前体还原或硫醇-二硫键交换,包括主要的内源性肠硫醇半胱氨酸或谷胱甘肽。还可以使用半胱氨酸或谷胱甘肽类似物,例如N-乙酰半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸乙酯或N-乙酰半胱氨酸酰胺。抗坏血酸是另一种可以还原二硫键的药剂(Giustarini等人《一氧化氮(Nitric Oxide)》19:252(2008))。提供相当于例如1克二硫化物半胱胺前体半胱胺-(R)-泛硫乙酸二硫化物的还原能力所需的抗坏血酸剂量可以如下计算:

[0213] 抗坏血酸的分子量(176.12g/mol)大约是半胱胺-(R)-泛酰巯基乙胺二硫化物(也称为化合物1)的一半(353.52g/mol)。因此,1克抗坏血酸具有与2克剂量的化合物1中的二硫键数目等摩尔的还原当量。虽然美国食品和营养委员会推荐的维生素C每日摄入量仅为女性75毫克,且男性摄入量为90毫克,但许多人服用的剂量要高得多,包括每天1克或更多的剂量,显然很少或没有副作用。

[0214] 类似的推理提供了以摩尔计匹配化合物1剂量所需的其它还原剂的量。例如,半胱氨酸(分子量:121.15道尔顿)约为化合物1质量的34%;N-乙酰半胱氨酸(分子量:163.195道尔顿)约为化合物1质量的46%;α硫辛酸(分子量:208.34道尔顿)约为化合物1质量的59%,依此类推。α-硫辛酸和N-乙酰半胱氨酸在维生素商店和互联网上分别广泛可购得600和1,000毫克胶囊和片剂,包括持续释放制剂,表明其非调节状态。可以基于其分子量对其它二硫化物半胱胺前体进行类似的计算。

[0215] 由于胆汁是硫醇的主要来源,并且胆汁沿着小肠和大肠的长度连续稀释,因此半胱胺前体还原的额外还原能力在空肠、回肠或结肠中比在十二指肠中更有用。因此,设计用于在远端小肠和/或大肠中释放还原剂的制剂可以是二硫化物半胱胺前体的特别有用的补充剂。抗坏血酸和其它还原剂的持续释放制剂是可商购的。或者,抗坏血酸可以与半胱胺前体共同配制,以确保两种药剂的共同递送。

[0216] 与不同生物还原剂相关的电化学电位(降低强度)是已知的,并提供其使用指南,然而这些试剂还原不同二硫化物半胱胺前体的能力最好凭经验确定。

[0217] 硫醇-二硫键交换反应的动力学受pH的强烈影响(即,通过低pH延迟)。此类交换反应是二硫键还原的另一种机制,用于从半胱胺混合二硫化物中释放半胱胺,或者从泛酰巯基乙胺二硫化物中释放泛酰巯基乙胺,等等。为了增强硫醇-二硫键交换反应的动力学,碱性化合物可与二硫化物半胱胺前体共同施用或共同配制,因此其可在需要的时间和地点可用。在胰液中以高浓度存在的生理化合物(如碳酸氢盐)可用于调节局部胃肠pH。

[0218] 将许多半胱胺前体转化为半胱胺的必要步骤是由人体中的VNN1和VNN2基因编码的酶泛酰巯基乙胺酶。泛酰巯基乙胺和泛酰巯基乙胺二硫化物,包括泛硫乙胺需要这种酶来产生半胱胺。泛酰巯基乙胺酶也是由可在胃肠道中转化为泛酰巯基乙胺的化合物产生半胱胺最终需要的,例如4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A和合适的类似物和衍生物。胃肠道中正常水平的泛酰巯基乙胺酶可能不足以定量裂解由药理剂量提供的所有泛酰巯基乙胺分子。为了解决这一限制,诱导泛酰巯基乙胺酶表达的化合物可以与含有泛酰巯基乙胺的半胱胺前体或可转化成泛酰巯基乙胺的化合物共同施用或共同配制,以在需要的时间和地点(即泛酰巯基乙胺存在的时间和地点)增加胃肠道中的泛酰巯基乙胺酶的量。诱导泛酰巯基乙胺酶表达的药剂包括生理物质,包括某些食物成分和药理学药剂,包括FDA批准的药物。VNN1的生理诱导剂包括多种物质,这些物质通过转录因子NF-E2相关因子-2(更常见地缩写为Nrf2)、过氧化物酶体增殖剂活化受体α(PPARα)和过氧化物酶体增殖剂活化受体γ(PPARγ)。

[0219] 诱导Nrf2活化(通过易位至细胞核)的因素包括天然产物和某些药物。例如,萝卜硫素,十字花科蔬菜(例如西兰花、球芽甘蓝、卷心菜和花椰菜)中存在的一种异硫氰酸酯,通过Nrf2来诱导VNN1表达。富含萝卜硫素的食物(例如花椰菜芽)可用于诱导泛酰巯基乙胺酶表达,或者萝卜硫素可作为药物组合物中的纯物质施用。某些食源性硫醇,包括S-烯丙基半胱氨酸和二烯丙基三硫化物(均存在于洋葱、大蒜和大蒜提取物中)也诱导Nfr2,并且可以包含在与半胱胺前体一起施用的膳食中。或者,可以纯形式获得任一化合物并以药物组合物的形式施用。存在于某些食物中的脂质,包括一些多不饱和脂肪酸、氧化脂肪、ω-3脂肪酸和天然存在的脂质十八烯乙醇酰胺(OEA)也诱导Nrf2和/或PPARα。富含氧化脂肪的食物包括炸薯条和其它油炸食品,这些食品可与半胱胺前体共同施用,半胱胺前体需要泛酰巯基乙胺酶裂解来产生半胱胺。ω-3脂肪酸存在于鱼中,且在鱼油提取物中且以纯净形式可用,用于药物组合物中。

[0220] 天然存在的PPARα配体包括内源性化合物,例如二十碳四烯酸和二十碳四烯酸代谢物,包括白三烯B4,8-羟基二十碳四烯酸和所述家族的某些成员。药理学PPARα配体包括贝特类(例如苯扎贝特、环丙贝特、克利贝特、氯贝特、非诺贝特、吉非罗齐)、匹立尼酸(pirinixic acid)(Wy14643)和邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)。任何天然或合成的PPARα配体可以与半胱胺前体共同配制或共同施用,所述半胱胺前体需要泛酰巯基乙胺酶裂解来产生半胱胺。关于PPAR配体的综述,参阅Grygiel-Gorniak,B.《营养杂志(Nutrition Journal)》13:17(2014)。

[0221] 天然和合成的PPARG激动剂也可用于刺激Nrf2介导的泛酰巯基乙胺酶基因VNN1和/或VNN2的转录。天然产物PPARG激动剂包括二十碳四烯酸和代谢物,包括15-羟基二十碳四烯酸(15(S)-HETE、15(R)-HETE和15(S)-HpETE)、9-羟基十八碳二烯酸、13-羟基十八碳二烯酸、15-脱氧-(δ)12,14-前列腺素J2和前列腺素PGJ2,以及和厚朴酚、阿莫夫啶1、阿莫夫啶B和amorphastilbol。其它天然产物活化PPARG和PPARA两者,包括染料木黄酮、生物素A、马尾藻喹啉酸(sargaquinoic acid)、马尾藻氢喹啉酸(sargahydroquinoic acid)、白藜芦醇和紫穗醇(amorphastilbol)。天然产物PPARG激动剂在Wang等人,《生物化学药理学(Biochemical Pharmacology)》92:73(2014))中描述和综述。药理学PPARγ激动剂包括噻唑烷二酮(也称为格列酮,例如吡格列酮、罗格列酮、洛贝格列酮)。衍生自红肉的血红素也

诱导VNN1表达。刺激泛酰巯基乙胺酶表达的PPARA或PPARG激动剂可与含有泛酰巯基乙胺或可在肠道中降解为泛酰巯基乙胺的化合物的半胱胺前体共同施用或共同配制。可以组合两种或更多种泛酰巯基乙胺酶表达的诱导剂以增强表达或减少任何单一药剂的剂量。

[0222] 使半胱胺在整个身体中具有生物可利用性的另一个重要步骤是穿过肠上皮细胞的吸收。来自肠腔的半胱胺吸收由转运蛋白介导,其天然水平可能不足以转运肠腔中的所有半胱胺。因此,诱导半胱胺转运蛋白表达的化合物可与半胱胺前体共同施用或共同配制以增强半胱胺吸收。半胱胺通过有机阳离子转运蛋白1、2和3(由OCT1、OCT2和OCT3基因编码,也称为SLC22A1、SLC22A2和SLC22A3基因)且可能通过其它转运蛋白转运穿过肠上皮。有机阳离子转运蛋白表达的诱导剂包括转录因子PPARα和PPAR γ、孕烷X受体(PXR)、视黄酸受体(RAR)和(在OCT1的情况下)RXR受体,以及糖皮质激素受体。因此,这些受体的天然或合成配体可用于增加OCT表达并因此增强肠上皮细胞对半胱胺的吸收。刺激半胱胺转运蛋白表达的药剂可与任何类型的半胱胺前体共同施用或共同配制。

[0223] 半胱胺在人体内的消除半衰期(静脉推注后从Cmax到半Cmax的时间)为约25分钟。一些半胱胺剂量转化为多种二硫化物,包括与游离半胱氨酸、与蛋白质的半胱氨酰残基以及与谷胱甘肽的混合二硫化物。没有药理学干预可以阻止这种消除模式,并且在任何情况下,半胱胺的所述集合仍可用于进一步的二硫键交换。然而,存在半胱胺分解代谢途径,其不可逆地转化半胱胺,有效地将其从体内去除。酶半胱胺双加氧酶将半胱胺氧化成亚牛磺酸,是半胱胺消除的重要因素。随后将亚牛磺酸进一步氧化成牛磺酸。半胱胺前体与这些分解代谢产物中的一种或两种的共同施用可通过终产物抑制来减缓半胱胺分解代谢。因此,在某些实施例中,半胱胺前体与亚牛磺酸和/或牛磺酸以最佳时间顺序共同配制、共同施用或施用。

[0224] 图13显示了半胱胺前体基于其硫醇成分、可以产生的半胱胺分子的数量、产生半胱胺所需的代谢步骤、体内半胱胺产生的潜在有用增强剂和半胱胺释放曲线的分类。诱导半胱胺转运蛋白更高表达的化合物(图13中未显示)可用于所有类型的半胱胺前体。使肠内容物碱化从而促进硫醇-二硫键交换和/或二硫键还原的化合物(图13中未显示)适用于二硫化物半胱胺前体。

[0225] 总之,可如下地实现控制半胱胺血液水平的灵活性:通过共同配制或共同施用(i)一种或多种具有选定特性的半胱胺前体,(ii)一种或多种体内半胱胺前体分解和/或半胱胺吸收的增强剂,(iii)一种或多种半胱胺分解代谢抑制剂,使用(iv)一种或多种类型的制剂(例如立即、延迟、持续、胃滞留或结肠靶向或组合)和(v)能够将半胱胺前体和增强剂以可有效地降解和吸收的量最佳共递送至胃肠道的目标区段的给药方案。个体化应用这些工具的结果是持续延长时段在治疗范围内的持续半胱胺血液水平,与现有化合物和制剂相比,导致对疾病的优异药理学作用。

[0226] 药物组合物

[0227] 本发明提供了配制成在延长的时段内达到治疗有效的半胱胺血浆浓度的组合物,以便:(i)减少与高峰浓度的半胱胺相关的副作用,(ii)减少由亚治疗谷浓度的半胱胺引起的治疗不足和(iii)通过减少每天的剂量来提高患者的便利性,且因此提高对治疗的顺应性。本发明的化合物和制剂还被设计成(i)与现有的半胱胺制剂相比提供改善的感官特性,(ii)减少游离半胱胺与胃上皮的接触,胃上皮是胃肠道副作用的已知来源,(ii)通过使剂

量和递送部位与胃肠道中的相关消化和吸收过程相匹配来使达到治疗性半胱胺血液水平所需的半胱胺前体的剂量最小化,所述目的可以通过以下方法实现:(iii)通过与这些过程的增强剂共同配制或共同施用来优化半胱胺前体分解和吸收。

[0228] 对于本发明的组合物,所有制剂中都包含药物赋形剂,以防止半胱胺前体或其盐暴露于口腔中。用于掩盖苦味或其它令人不愉快的味道的配方方法包括包衣,其可以多层涂覆。也可使用香料和染料。产生具有可接受的口感和/或味道的药物组合物的方法是本领域已知的(例如参见在别处引用的药物制剂的教科书;专利文献还提供了制备感官上可接受的药物组合物的方法(参见例如美国专利公开号20100062988)。

[0229] 胃滞留组合物

[0230] 第一组合物在胃滞留制剂中提供半胱胺前体或其盐。本领域中已知多种胃滞留技术,其中几种已成功用于市售产品。关于综述,参见例如Pahwa等人,药物递送和配制的新近专利(Recent Patents in Drug Delivery and Formulation),6:278(2012);和Hou等人,胃滞留剂型:综述(Gastric retentive dosage forms:a review)。治疗药物载剂系统的评论综述(Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems)20:459(2003)。

[0231] 胃滞留制剂提供胃中半胱胺前体的持续释放。取决于半胱胺前体的类型,后续体内半胱胺产生可以在胃中或在小肠中开始,小肠是最有效吸收半胱胺的组织。一些半胱胺前体可以继续在大肠中转化为半胱胺,即使从胃或小肠中的药物组合物释放也是如此。例如,在胃中释放的二硫化物半胱胺前体可以在胃的酸性氧化环境中主要保持在氧化状态,然后在遇到小肠中的还原剂(例如胆汁谷胱甘肽)后开始释放半胱胺。在摄取后1-4小时、优选小时1-6、更优选小时1-8小时、1-10小时或更长时间期间,胃滞留组合物将产生升高的血液半胱胺水平。

[0232] 与针对半胱胺酒石酸氢盐(参见例如Procysbi® FDA Full Prescribing Information)所推荐相比,半胱胺前体的胃滞留制剂应与食物一起施用,优选与含有足够热量和营养密度的膳食一起施用以减缓胃排空。营养密集的膳食会触发小肠中的渗透压感受器和化学感受器(并且在胃中的程度较小),其具有刺激神经和激素信号的作用,这减少胃动力,从而延迟排空。延迟胃排空是延长胃滞留组合物效果的机制。然而,用大量食物或液体填充胃有助于促进胃动力并加速排空,因此营养密度是比体积更重要的膳食特性。在排入十二指肠之前必须在胃窦和幽门中被磨成小颗粒固体食物与液体或半液体食物相比,可延长胃滞留。在液体食物中,相对于低粘度液体,高粘度液体可以减缓胃排空。具有高渗透含量的食物触发十二指肠渗透压感受器以传递减慢胃排空的信号。胃中半胱胺前体的释放(例如从胃滞留制剂)可以增加胃内容物的渗透压,从而增加十二指肠内容物的渗透压。

[0233] 在某些实施例中,二硫化物半胱胺前体优选用于胃滞留制剂,因为胃的酸性氧化环境倾向于维持其氧化形式的二硫化物,从而限制胃上皮细胞暴露于半胱胺,这被认为是半胱胺毒性的一个原因。进入十二指肠并与含有高(毫摩尔)浓度的谷胱甘肽、半胱氨酸和其它还原剂的胆汁混合后,二硫化物将被还原,从而在其暴露于泛酰巯基乙胺酶和半胱胺转运蛋白在肠细胞上表达的位置产生游离硫醇。

[0234] 小肠中脂肪的存在是最有效的已知胃排空抑制剂,并导致近端胃松弛和减少的幽门区域的收缩。一旦脂肪在小肠中被吸收并且不再触发对胃的抑制信号,胃动力就恢复其正常模式。因此,胃滞留制剂可以理想地与含有脂肪食物的膳食一起施用。富含蛋白质的膳

食也会减缓胃排空,但在较小程度上,且富含碳水化合物的膳食程度更小。

[0235] 胃滞留组合物还可以与减缓胃排空的化合物一起施用,包括某些脂质,例如具有至少12个碳原子的脂肪酸刺激肠内分泌细胞释放胆囊收缩素,降低胃动力,而具有较短碳细胞的脂肪酸不那么有效。在一些实施例中,食物或膳食可以补充有含有12或更长碳链的脂肪酸的脂肪酸或甘油三酯(例如油酸、肉豆蔻酸、肉豆蔻酸三乙醇胺、脂肪酸盐)。

[0236] 当脂肪和蛋白质到达十二指肠时,会刺激几种肠道激素的分泌,包括胃内激素、胆囊收缩素(CCK)和胰高血糖素样肽1(GLP1)。CCK通过结合CCK1受体(缩写为CCK1R,以前称为CCK-A受体)来减缓胃排空。在一些实施例中,口服活性CCK激动剂或模拟物、CCK1R的正变构调节剂,或促进内源性CCK释放、或抑制CCK降解、或通过这些或其它机制的某些组合来延长CCK作用的药剂与胃滞留剂一起施用,以减缓胃排空并延长胃滞留组合物的胃滞留。CCK是以8种氨基酸至53种氨基酸范围内的几种形式(例如CCK-8、CCK-53)存在的肽。口服施用肽是无效的,因为其在胃肠道中被消化。小分子CCK激动剂已由几个研究小组开发和测试。例如,SR-146,131和相关化合物由Sanofi的科学家开发(美国专利5,731,340和6,380,230,以引用的方式并入本文中)。

[0237] 某些蛋白酶抑制剂诱导CCK产生或释放,或延长其半衰期,或以其它方式增强其作用,包括食源性混合物和纯化合物。例如,摄取源自马铃薯的蛋白酶抑制剂浓缩物与CCK水平升高有关,摄入大豆蛋白胨和大豆β-伴大豆球蛋白胨同样如此。卡莫司他(Camostate)是一种合成蛋白酶抑制剂,具有多效作用,包括刺激内源性CCK释放,且从而减缓胃排空。甲磺酸卡莫司他是一种广泛用于人体的药用盐。FOY-251是卡莫司他的活性代谢产物。在一些实施例中,刺激CCK产生或释放,或延长CCK半衰期或以其它方式增强CCK作用的药剂与胃滞留组合物以减缓胃排空的量共同配制或共同施用。在一些实施例中,卡莫司他、FOY-251或卡莫司他的前药、衍生物或活性代谢物或其药学上可接受的盐与胃滞留组合物共同配制或共同施用,其量在50-300mg/kg之间,或100-250mg/kg之间。

[0238] 通过食糜的酸化也减慢胃排空。例如,已显示柠檬酸和乙酸延迟胃排空。在一些实施例中,食物或膳食包括柠檬酸(例如来自橙子、柠檬、酸橙、葡萄柚或其它富含柑橘的水果的果实或果汁)或乙酸(例如醋、咸菜或其它腌制蔬菜)或乳酸(例如酸菜或泡菜)的天然来源。在一些实施例中,足以将胃食糜的pH降至低于pH 4或低于pH 3.5的量的酸性食物或液体与胃滞留组合物一起施用。

[0239] 胰高血糖素样肽-1(GLP1)是另一种肠激素,其由十二指肠中的细胞释放以响应食物,特别是摄入的脂肪,并且影响胃排空。一些研究小组已发现口服施用的GLP1受体激动剂(例如Sloop等人,《糖尿病(Diabetes)》59:3099(2010))。本身不是激动剂但加强内源性GLP1的GLP1受体的正变构调节剂是另一类GLP1R刺激剂(例如Wootten等人,《药理学与实验治疗学杂志(J.Pharmacol.Exp.Ther.)》336:540(2011);Eng等人,《药物代谢和处置(Drug Metabolism and Disposition)41:1470(2013);还参见美国专利公开案第20060287242号、第20070021346号、第20070099835号、第20130225488号和第20130178420号,其中的每一个以引用的方式并入本文中)。在内源性GLP1存在下正调节GLP-1受体信号传导的化合物包括槲皮素,其通过结合GLP-1受体上的变构位点并在内源性配体(GLP-1,一种肽,以若干形式存在)结合时积极影响受体信号传导而起作用。一些槲皮素类似物也是内源性GLP1的正调节剂。槲皮素是一种存在于许多水果、蔬菜、叶子和谷物中的黄酮醇。它被用作保健品、饮料

和食品的成分。在一些实施例中,GLP-1的GLP-1受体激动剂或阳性肠溶调节剂与胃滞留组合物共同配制或共同施用,其量足以延迟胃排空。在一些实施例中,GLP-1受体激动剂或阳性肠溶调节剂是槲皮素或槲皮素的类似物、衍生物或活性代谢物。某些小分子药物也能够减慢胃排空时间,并且可以与胃滞留组合物共同施用或共同配制。

[0240] 通过食糜的酸化也减慢胃排空。例如,已显示柠檬酸和乙酸延迟胃排空。在一些实施例中,食物或膳食包括柠檬酸(例如橙子、葡萄柚或其它富含柑橘的水果)或乙酸(例如醋、咸菜或其它腌制蔬菜)或乳酸(例如酸菜或泡菜)的天然来源。在一些实施例中,通过与胃滞留组合物一起施用酸性食物或液体,将食糜的pH降低至低于4或低于3.5。

[0241] 美国专利8,741,885描述了通过将活性药物成分与阿片类药物组合来延长胃滞留药物组合物(例如漂浮、溶胀或粘膜粘附组合物)的胃滞留的方法。共同配制的阿片类药物的目的是减缓胃排空。胃轻瘫或严重抑制的胃肠动力是阿片类药物疗法的一种众所周知且可能严重的并发症。

[0242] 持续释放组合物

[0243] 第二种组合物在非胃滞留持续释放制剂中提供半胱胺前体或其盐。持续释放制剂是本领域熟知的:Wen,H.和Park,K.(编)《口服控制释放制剂设计与药物递送:理论与实践(Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery:Theory to Practice)》.Wiley,2010;Augsburger,和L.L.和Hoag,S.W.(编)《(药物剂型-片剂,第3卷:制造和过程控制(Pharmaceutical Dosage Forms-Tablets,volume 3:Manufacture and Process Control)》.CRC Press,2008。持续释放组分可以是片剂、粉末或填充有微粒的胶囊。任选地,颗粒的大小、组成(例如持续释放聚合物的类型或浓度)、或包覆剂的类型或厚度、或层的数量和组成(如果涂有多层包覆剂)可变化,使得药物以不同的速率或在不同的起始时间从单个颗粒释放,从而与其中所有颗粒基本相同的制剂相比,在延长的时间内总体上提供药物释放。持续释放制剂可任选地用pH敏感性材料包覆,以防止在胃中溶解(称为肠溶包衣)。单一组合物中的微粒可以在一种或多种包覆剂的类型或厚度上变化。例如,包衣溶解的pH可能非常。在这种混合组合物中使用的两种或微粒可以分别以严格的规格制造,然后以一定的比例混合以实现体内延长的药物释放。

[0244] 持续释放组合物可以在胃和/或小肠中提供半胱胺前体的延长释放(如果肠溶包衣,则不是前者)并因此提供持续体内半胱胺产生。可以设计持续释放制剂以释放药物一段时间,所述时间段大致等于平均胃和小肠通过时间的总和,例如如果在禁食状态下施用,则为3-5小时,或如果与食物或与餐食一起施用,则为5-8小时。或者,可以将持续释放制剂设计成释放药物的时间长于平均胃和小肠通过时间的总和,以便继续在大肠中释放半胱胺前体。在一些实施例中,当在禁食状态下施用时,这种持续释放组合物可以释放半胱胺前体4-8小时,或者当与膳食一起施用时,可以释放6-10小时或更长时间。

[0245] 持续释放制剂可在摄取后1-4小时、优选1-6小时、更优选1-8小时、更优选1-10小时或更长时间内产生升高的血液半胱胺水平。半胱胺前体的持续释放制剂可以与食物一起或在两餐之间,并且任选地与半胱胺前体降解或半胱胺吸收的增强剂一起施用。食物往往会抑制游离半胱胺、特别是脂肪类食物的吸收,且一般建议空腹摄取半胱胺盐,但允许使用少量苹果酱或类似食物。

[0246] 混合制剂

[0247] 一些组合物必须具有两种类型的制剂的成分,一种主要针对控制药物释放速率且另一种主要针对控制药物释放的解剖部位。例如,胃滞留制剂总是含有持续释放制剂中的药物;否则长期胃驻留将毫无意义。然而,存在在单一胃滞留制剂中组合立即释放组分和持续释放组分的方法。例如,立即释放组分可以形成快速溶解或在胃中快速崩解的外层,留下通过本文所述的一种或多种胃滞留机制保留在胃中的核心持续释放组分。但是,并非所有类型的制剂都能有效地组合。例如,肠溶包衣的胃滞留制剂会适得其反,因为胃滞留制剂被设计成在胃中释放药物-并且胃释放将被在酸性介质中抗溶解的包衣阻断。

[0248] 具有不同时间或解剖学药物释放曲线的组合物当与合适的半胱胺前体,且任选地与半胱胺产生或吸收的增强剂组合时,可提供治疗范围内的血液半胱胺水平0.5-6小时、更优选0.5-8小时且最优选0.5-12、0.5-15小时或更久。制剂的生产性组合的实例如下,包括具有最多两种药物释放组分的混合制剂,和可以各种量和比例组合的单独配制的组合物,以调整体内半胱胺产生和吸收的量和时间以满足个别患者的需要。

[0249] 第三组合物提供第一肠溶包衣组分和肠溶包衣微粒的第二组分的混合制剂,所述第一肠溶包衣组分配制用于在小肠中延迟释放半胱胺前体或其盐,所述第二组分配制用于在整个小肠和大肠的近端部分中持续释放半胱胺前体或其盐。混合制剂提供了第一组分以初始地实现血液中升高水平的半胱胺,而第二组分随时间推移维持血液中半胱胺水平。

[0250] 第四组合物提供混合制剂,其包括(i)半胱胺前体或其盐的持续释放胃滞留制剂,(ii)设计用于在胃中释放药物的半胱胺前体或其盐的立即释放制剂。混合制剂的第二组分在组合物的外表面上,并在与胃内容物接触时立即开始溶解。其首先产生半胱胺,虽然不一定在胃里。第一(胃滞留)组分在胃中提供延长的半胱胺前体释放,并随后在整个小肠中产生体内半胱胺,并且取决于半胱胺前体的特征,进入大肠。在施用混合组合物后1小时内开始从两种组分组合地体内产生和吸收半胱胺,并持续至少5小时,优选在治疗浓度范围内持续8、10、12或更多个小时。

[0251] 在第五组合物中,第一组分配制用于在胃中立即释放,并包括半胱胺前体,优选半胱胺混合二硫化物或泛酰巯基乙胺二硫化物或其盐,且第二种组分配制用于持续释放半胱胺前体或其盐。第一组分在组合物的外表面上,使得第二组分在第一组分溶解或崩解后保持完整。此第五组合物的混合制剂可以从立即释放组分产生血浆半胱胺浓度的初始升高,并由第二(持续释放)组分维持升高的半胱胺水平,其中持续体内半胱胺产生维持6小时、8小时、10小时更久。沿胃肠道、从胃到大肠的半胱胺前体(或几种不同的半胱胺前体)的释放允许半胱胺前体的量与肠道的所有区段中的泛酰巯基乙胺酶和半胱胺转运蛋白的水平相匹配,从而最大化半胱胺产生和吸收。连续肠道产生和吸收半胱胺避免了依赖高Cmax来延长暴露,从而减少与高峰水平相关的半胱胺副作用。因此,半胱胺前体的混合制剂允许将半胱胺适用于对半胱胺的作用敏感的许多病症。

[0252] 在第六组合物中,第一组分配制用于在胃中立即释放,并包括半胱胺前体,优选半胱胺混合二硫化物或泛酰巯基乙胺二硫化物或其盐;第二组分配制用于在回肠和/或结肠中释放半胱胺前体或其盐。此第六组合物的混合制剂可以大致在第一峰快速下降时从立即释放组分产生血浆半胱胺水平的初始升高且从髂骨和结肠靶向组分产生血浆半胱胺水平的第二升高。第二组分可以在施用后4至8小时开始释放半胱胺前体,这取决于其是否与食物一起施用。沿胃肠道、从胃到大肠的半胱胺前体(或不同的半胱胺前体)的控制释放允许

半胱胺前体的量与肠道的所有区段中的泛酰巯基乙胺酶和半胱胺转运蛋白的水平相匹配以最大化半胱胺产生和吸收。

[0253] 化合物

[0254] 本发明的药学上可接受的组合物包括一种或多种半胱胺前体或其药学上可接受的盐。本发明的盐可包括(但不限于)碱金属盐,例如钠盐、钾盐;碱土金属盐,例如钙盐、镁盐和钡盐;以及有机碱盐(例如胺碱盐)和无机碱盐。示例性的盐见于《雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》,第17版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,1985,第1418页,Berge等人,《药物科学杂志(Pharmaceutical Sciences)》66:1(1977),以及《药用盐:特性、选择和用途(Pharmaceutical Salts:Properties,Selection,and Use)》,(P.H.Stahl和C.G.Wermuth编),Wiley-VCH,2008中,其中的每一个以全文引用的方式并入本文中。

[0255] 本发明的组合物可以在胃滞留或混合制剂的组分中包括半胱胺前体或其盐,以在施用后的前4小时内、优选在施用后的前2小时内、且最优选在第一个小时内在治疗范围内达到半胱胺的血浆浓度。半胱胺血浆浓度优选保持在治疗范围内至少5小时,优选6小时,更优选8小时、10小时或更久。所述制剂可包括硫醇半胱胺前体,其可被酶促降解以产生半胱胺,例如泛酰巯基乙胺,或可在胃肠道中降解为泛酰巯基乙胺(且因此降解为半胱胺)的化合物,例如4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A,或其衍生物或前药,可在胃肠道中降解为泛酰巯基乙胺(然后降解为半胱胺)。或者,半胱胺前体可以通过使半胱胺或可以降解产生半胱胺的化合物与另一种含硫醇的有机硫化合物反应形成二硫化物化合物来形成。二硫化物半胱胺前体或其盐可以如下地形成:通过使半胱胺与硫醇半胱胺前体,如泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或N-乙酰基半胱胺反应,或通过使半胱胺与其它硫醇反应,包括N-乙酰半胱氨酸(NAC)、N-乙酰半胱氨酸酰胺、N-乙酰半胱氨酸乙酯、高半胱氨酸、谷胱甘肽(GSH)、烯丙基硫醇、糠基硫醇、苄基硫醇、硫代萜品醇(葡萄柚硫醇)、3-巯基丙酮酸、L-半胱氨酸、L-半胱氨酸乙酯、L-半胱氨酸甲酯、硫代半胱氨酸、半胱氨酰甘氨酸、γ-谷氨酰半胱氨酸、γ-谷氨酰半胱氨酸乙酯、谷胱甘肽单乙酯、谷胱甘肽二乙酯、巯基乙基葡糖酰胺、硫代水杨酸、硫普罗宁或二乙基二硫代氨基甲酸。硫醇半胱胺前体或半胱胺也可与二硫醇反应,如二氢硫辛酸、内消旋-2,3-二巯基丁二酸(DMSA)、2,3-二巯基丙磺酸(DMPS)、2,3-二巯基-1-丙醇(二巯基丙醇)、布西拉明或N,N'-双(2-巯基乙基)间苯二甲酰胺($BDTH_2$),以形成二硫化物半胱胺前体。关于可用于形成二硫化物半胱胺前体的硫醇,参见图17,且关于概述可以连接形成二硫化物半胱胺前体的硫醇对的表,参见图式18-21。适合于形成半胱胺前体的其它硫醇是本领域已知的。例如,以全文引用的方式并入本文中的PCT专利公开案第WO 1993006832号公开了图17中未包括的其它适用的硫醇,包括N,N-二甲基半胱胺、硫代胆碱、氨基丙硫醇、氨基丁硫醇和氨基戊硫醇等。

[0256] 形成的二硫化物可以延迟胃中半胱胺的释放和/或促进其在小肠中的体内产生和吸收,这取决于所用半胱胺前体的特性(例如形成半胱胺所需的降解步骤数)。图13显示了半胱胺前体的分类,并总结了所选择的药理学相关特性。图18-21提供了许多二硫化物半胱胺前体的半胱胺产率的信息。胃通常是比小肠更具氧化性和酸性的环境。当胃内容物进入十二指肠时,其与含有中和胃酸的碳酸氢盐的胰液混合,并与胆汁混合,胆汁含有毫摩尔浓度的生理还原剂谷胱甘肽,以及包括半胱氨酸的相关硫醇。因此,二硫化物倾向于在胃中保

持氧化并且更可能在小肠中被还原,或参与与硫醇的二硫键交换反应。二硫键交换反应通常由硫醇盐离子催化,其比硫醇形式亲核得多;硫醇盐离子的形成在胃的酸性环境中是不利的。

[0257] 例如,硫醇半胱胺前体泛酰巯基乙胺可以形成均二聚二硫化物,其中两个泛酰巯基乙胺共价连接以形成泛硫乙胺(二硫化物半胱胺前体)。在一些优选实施例中,半胱胺前体提供了超过一个的半胱胺,如按以下提供:通过例如由连接半胱胺与泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A形成的混合半胱胺二硫化物,或通过由用4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A或可在胃肠道中转化为母体化合物的合适的前药或类似物氧化泛酰巯基乙胺而形成的相应混合泛酰巯基乙胺二硫化物。而且,4-磷酸泛酰巯基乙胺可以与脱磷酸辅酶A或辅酶A二硫键合,或者脱磷酸辅酶A可以与辅酶A二硫键合以制备能够在体内产生两个半胱胺的半胱胺前体。图13显示了可以从不同类别的半胱胺前体体内产生的半胱胺的数量。图18-21显示了特定的二硫化物半胱胺前体;在体内产生两个半胱胺的那些在表顶部列出并且还显示了每个二硫化物的半胱胺分数产率(以百分比计),同样显示了产生半胱胺所需的降解步骤数。在一些实施例中,半胱胺或有机硫的反应性硫醇基可以被修饰为包括取代基,例如乙酰基、酯基、谷氨酰基、丁二酰基、苯丙氨酰基、聚乙二醇(PEG)和/或叶酸。

[0258] 在优选实施例中,本发明的组合物可以在胃滞留制剂的组分和/或混合制剂的组分中包括泛酰巯基乙胺、含有泛酰巯基乙胺的二硫化物或其盐,以在施用之后5-10小时或更长时间维持较高血液水平的半胱胺。组合物可以是半胱胺前体,其需要将母体化合物化学还原或酶促转化成至少一种半胱胺,从而延缓半胱胺的释放。制剂可包括泛酰巯基乙胺,或可在胃肠道中降解为泛酰巯基乙胺的化合物(例如4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A;统称为泛酰巯基乙胺前体),其中泛酰巯基乙胺或泛酰巯基乙胺前体的硫醇基与另一有机硫化合物的硫醇基反应,以形成二硫化物化合物。由于泛酰巯基乙胺酶在肠中比在胃中表达的水平更高,并且小肠腔是比胃更具还原性的环境,因此二硫化物半胱胺前体的泛酰巯基乙胺组分可以在小肠中转化为半胱胺,且随后被吸收。例如,泛酰巯基乙胺可以形成均二聚二硫化物,其中两个泛酰巯基乙胺共价连接以形成泛硫乙胺。含泛酰巯基乙胺的半胱胺前体还可包括泛酰巯基乙胺混合二硫化物,其中泛酰巯基乙胺硫醇与硫醇基反应形成二硫化物。在优选实施例中,泛酰巯基乙胺前体提供一种以上的半胱胺,例如通过由半胱胺和泛酰巯基乙胺形成的混合二硫化物提供,其在被还原并随后被泛酰巯基乙胺酶裂解时产生2个半胱胺和一个泛酸;或通过混合的二硫化物泛酰巯基乙胺-辅酶A,其在还原且随后降解且接着被泛酰巯基乙胺酶裂解时产生2个半胱胺、2个泛酸和ADP。在图18-21中显示了在肠中降解时产生两个半胱胺的其它二硫化物半胱胺前体。在一些实施例中,泛酰巯基乙胺或有机硫化合物的反应性硫醇基可以被修饰为包括取代基,例如乙酰基、甲酯、乙酯、谷氨酰基、丁二酰基、苯丙氨酰基、聚乙二醇(PEG)和/或叶酸。

[0259] 需要泛酰巯基乙胺酶裂解来产生半胱胺的半胱胺前体与仅需要化学还原来产生半胱胺的半胱胺前体(半胱胺混合二硫化物)之间的区别是显著的,因为前体化合物转化为半胱胺的动力学通常在第二类别的情况下更快,其条件是肠中存在(或可以药理学方式产生)充分还原的环境。可以进一步区分需要还原,接着泛酰巯基乙胺酶裂解的半胱胺前体(例如泛硫乙胺)与需要首先还原,接着降解为泛酰巯基乙胺,接着泛酰巯基乙胺酶裂解的

半胱胺前体(例如4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或含有二硫键的辅酶A)。后一类二硫化物半胱胺前体所需的额外降解步骤减缓并延长了较长时间内半胱胺产生的时间。

[0260] 本发明化合物可以用化学合成领域的普通技术人员已知的各种方法制备。制备硫醇,包括半胱胺、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A或辅酶A和其它硫醇(参见图17)的方法是本领域熟知的。辅酶A、泛硫乙胺、N-乙酰基半胱胺和谷胱甘肽可作为膳食补充剂商购。图17中的大多数其它硫醇很容易从化学公司获得。

[0261] 半胱胺前体的合成

[0262] 包括硫醇和二硫化物半胱胺前体的本发明化合物可以使用本领域已知的方法和程序,从容易获得的起始物质制备,例如Mandel等人,《有机通讯(Organic Letters)》,6:4801(2004)所述的那些。制造泛硫乙胺的方法描述于美国专利第3,300,508号和第4,060,551号中,其中的每一个以引用的方式并入本文中。在日本专利公开案第JP-A-S50-88215号和第JP-A-S55-38344号中公开了将液体泛酰巯基乙胺转化成固体形式的方法。应了解,除非另有说明,否则在给出典型或优选的工艺条件(即反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂、压力等)的情况下,也可以使用其它工艺条件。最佳反应条件可随所用的特定反应物或溶剂而变化,但这些条件可由本领域的普通技术人员通过常规优化程序确定。

[0263] 在优选实施例中,本发明的组合物包括一种或多种二硫化物半胱胺前体。作为硫醇的氧化形式的二硫化物易于由成分硫醇形成而无需昂贵的试剂或设备。此外,二硫化物不经受可能限制暴露于空气的硫醇化合物的长期稳定性的氧化。因此,关于制造,成本、储存成本、运输和患者便利性(即长保质期),半胱胺前体的二硫化物形式比硫醇形式更优选。

[0264] 在一些实施例中,通过连接两种不同硫醇,形成三种反应产物来合成混合二硫化物半胱胺前体:硫醇A和B可连接形成二硫化物A-A、A-B和B-B。例如,通过使半胱胺与泛酰巯基乙胺反应形成的二硫化物包括:半胱胺-半胱胺(称为胱胺)、半胱胺-泛酰巯基乙胺和泛酰巯基乙胺-泛酰巯基乙胺(称为泛硫乙胺)。所有三种化合物都可用于提供半胱胺,且事实上,将每种化合物转化为半胱胺所涉及的不同步骤可以通过二硫键还原或通过还原和酶促降解步骤的组合延长在体内产生半胱胺的时段而在药理学上有益。因此,共同配制所有三种氧化产物而无需纯化(除了除去未反应的硫醇和/或非所要的杂质,如溶剂)可以是药理学上有用的。当两个反应硫醇各自可转化为半胱胺(例如泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A、N-乙酰半胱氨酸或合适的类似物和前药)时,或者当半胱胺本身与可转化为半胱胺的硫醇反应时情况尤其如此。因此,在某些实施例中,通过使两种不同硫醇反应形成的所有三种二硫化物在单一组合物中共同配制,每种硫醇可转化为半胱胺(或其中一种是半胱胺)。合成和配制的此方法不需要更复杂的合成步骤,或者从氧化反应中同时产生的两种均二聚二硫化物分离混合二硫化物所需的合成后纯化步骤。(在配制药物组合物之前,当然必须除去未反应的硫醇和其它杂质)。

[0265] 制备和共同配制三种二硫化物的混合物的优点在二硫化物半胱胺前体的情况下并未完全实现,所述二硫化物半胱胺前体通过使可转化为半胱胺的硫醇与不能转化为半胱胺的第二硫醇反应制得。例如,通过使泛酰巯基乙胺与N-乙酰半胱氨酸(NAC)反应形成的三种二硫化物是:泛酰巯基乙胺-泛酰巯基乙胺(泛硫乙胺)、泛酰巯基乙胺-NAC和NAC-NAC。前两种化合物是半胱胺前体,第三种(NAC-NAC)则不是。然而,NAC-NAC在调节肠道氧化还原环境方面可具有有益的药理学特性,或者由于在化学还原时提供两个NAC分子而具有有益的

医学特性。因此,在某些实施例中,通过使半胱胺或可在体内转化为半胱胺的硫醇与不可在体内转化为半胱胺的第二硫醇反应形成的所有三种二硫化物产物在单一组合物中共同配制。

[0266] 当两种不同的硫醇被氧化时,反应产物的预期比率取决于两种硫醇的摩尔比、两种硫醇的绝对浓度、pH和/或每个硫醇的巯基周围的化学环境。如果硫醇A与硫醇B的比率为1:1,则反应产物A-A、B-B、A-B的预期摩尔比为约1:1:2。(与预期比率的偏差可由于邻近于硫醇的化学键的差异而出现,所述差异可影响例如二硫键形成的动力学,所述动力学可能受与巯基键结的原子的电负性影响。可以使用本领域已知的方法预测或测量任何偏差)。通过改变两种硫醇的摩尔比可以改变反应产物的比率。例如,为了增加A-A和A-B相对于B-B的比例,硫醇A的摩尔浓度可以相对于硫醇B的摩尔浓度增加。当使两种硫醇反应时,其中一种是半胱胺或可降解为半胱胺的化合物(硫醇A),且另一种是不可降解为半胱胺的硫醇(硫醇B),第一种硫醇的摩尔浓度可相对于第二种硫醇的摩尔浓度增加以增加产生的半胱胺前体的比例。例如,硫醇A和B以2:1的摩尔比反应增加了A-A和A-B(均为半胱胺前体)相对于B-B(不是半胱胺前体)的比例。

[0267] 在某些实施例中,可通过包括催化剂来促进两种不同硫醇的氧化和/或改变反应产物的混合(综述于Musiejuk和Witt(2015)中)。例如,可添加氧化剂,如过氧化氢或二甲亚砜(DMSO),或金属,如铜、锰或碲化物,或碘、偶氮二羧酸二乙酯(或相关化合物)或二氯二氰基醌(DDQ)。可通过凭经验确定最佳溶剂系统、催化剂浓度和反应条件来实现催化剂的最优性能。

[0268] 在其它实施例中,可经由硫醇与对称二硫化物之间的硫醇-二硫化物交换反应产生不对称二硫化物。此类型的反应,如两种不同硫醇的氧化提供所有可能产物(对称和不对称二硫化物)的混合物。但是,通过提供相比于硫醇摩尔过量的对称二硫化物,有利于形成不对称二硫化物,且在优化条件下甚至可能是主要反应产物。实例15和16描述经由硫基-二硫化物交换合成泛酰巯基乙胺-半胱胺二硫化物。方法以半胱胺作为硫醇且以泛硫乙胺作为二硫化物,和以泛酰巯基乙胺作为硫醇且以胱胺作为二硫化物进行。在硫醇:二硫化物交换反应的优选实施例中,硫醇与二硫化物的摩尔比(例如半胱胺:泛硫乙胺)为2:1至4:1、2.5:1至3.5:1、2.7:1至3.3:1。在某些实施例中,溶剂为甲醇且反应时间为1-20小时,或1-12小时,或1-6小时。在某些实施例中,硫醇:二硫化物交换反应的产物(例如TTI-0102)随后经沉淀(例如如实例17中所述)。

[0269] 或者,在另一实施例中,药物组合物中使用的半胱胺前体的比率可以通过组合混合二硫化物氧化反应的三种反应产物与纯二硫化物来调节。例如,如果硫醇半胱胺(C)和泛酰巯基乙胺(P)以1:1的摩尔比被氧化,则其将结合形成3种产物:C-C、P-P和C-P,比率约为1:1:2。纯泛硫乙胺(P-P)可以任何期望的量添加到所述混合物中,以延长混合物的体内半胱胺产生特性。将泛硫乙胺的起始量加倍将产生1:2:2的比率。添加四倍于泛硫乙胺的起始量将产生1:2:5的比率。

[0270] 还可以组合两种独立产生的混合二硫化物反应产物以获得新比率的半胱胺前体。例如,如果半胱胺-泛酰巯基乙胺反应产物(C-C、P-P和C-P)与等摩尔量的来自N-乙酰半胱氨酸(NAC)-半胱胺(C)氧化反应的反应产物(1:1:2的比率的C-C、NAC-NAC和C-NAC)组合,则混合物中将含有五种化合物,其中的一种化合物NAC-NAC不能转化为半胱胺。其它四种二硫

化物P-P、C-C、C-P、C-NAC以约1:2:2:2的摩尔比存在。任选地,可添加泛酰巯基乙胺以使比率为例如2:2:2:2(更简单地表示为1:1:1:1),或以更大的量添加以使比率为1:1:1:5。因此,药物组合物中二硫化物的摩尔比可通过各种方法来控制。在另一实例中,半胱胺-泛酰巯基乙胺反应产物(C-C,P-P和C-P)可与等摩尔量的来自4-磷酸泛酰巯基乙胺(4P)-半胱胺(C)氧化反应的反应产物(即1:1:2比率的C-C、4P-4P和C-4P)组合,以产生1:1:1:2:2比率的五种二硫化物的混合物。

[0271] 总之,当氧化一个硫醇以制备半胱胺前体二硫化物时,仅存在一种产物(例如泛酰巯基乙胺+泛酰巯基乙胺=泛硫乙胺)。当氧化两种硫醇时,有三种产物,其中两种或三种是半胱胺前体,这取决于一种或两种硫醇是否可降解为半胱胺,或者是半胱胺。通过组合这两种类型反应的产物,最容易制备半胱胺前体的混合物。混合物可包括各种摩尔比的纯二硫化物或三组分二硫化物混合物。然而,杂二聚半胱胺前体也可以在纯化后以纯的形式使用,或与其它均二聚或杂二聚半胱胺前体组合使用。

[0272] 或者,通过使用更复杂的化学方法,可以选择性地合成特定的混合二硫化物(也称为不对称二硫化物)(例如,半胱胺和泛酰巯基乙胺可以组合以基本上仅形成二硫化物半胱胺-泛酰巯基乙胺)。这些方法使用各种硫保护基团和将其去除的策略。最广泛使用的方法需要用硫醇或其衍生物来取代次磺酰基衍生物。通常使用的次磺酰基衍生物包括:次磺酰氯、S-烷基硫代硫酸盐和S-芳基硫代硫酸盐(Bunte盐)、S-(烷基硫烷基)异硫脲、苯并噻唑-2-基二硫化物、苯并三唑基硫化物、二硫代过氧化酯、(烷基硫基)二烷基锍盐、2-吡啶基二硫化物和衍生物、N-烷基四唑基二硫化物、次磺酰胺、次磺酰基二甲磺酰胺、次磺酰基硫氰酸盐、4-硝基芳烃次磺酰苯胺、硫代亚磺酸盐和硫代磺酸盐、硫烷基硫脒、硫代亚硝酸盐、次磺酰基硫代碳酸盐、硫代酰亚胺、硫代鏻盐和5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧杂磷杂环己烷-2-基二硫化物。其它程序涉及:硫醇与亚磺酰基苯并咪唑的反应、铑催化的二硫键交换、电化学方法和使用偶氮二甲酸二乙酯。这些和其它方法由Musiejuk,M.和D.Witt.《国际有机制备和程序(Organic Preparations and Procedures International)》47:95(2015)综述。因此,只需要适度的努力就可以制得特定的混合(不对称)二硫化物。实例1和2提供了本发明的混合二硫化物的合成程序。

[0273] 在其它实施例中,可通过将取代基(例如酰基)优先偶合至对称二硫化物的一个末端(即,半酰化)而从对称二硫化物合成混合二硫化物。例如,由于半胱胺和泛酰巯基乙胺相差一个泛酸盐部分,二硫化物胱胺可被泛酸盐半酰化以产生半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物。当反应物的浓度被优化,且添加偶合剂以促进酰化时,此程序可产生大于95%的产率。胱胺是用于产生不对称二硫化物的有吸引力的起点,因为其在两端均含有反应性氨基。实例14描述经由反应性中间物,经由用取代基泛酸使胱胺半酰化而有效合成泛酰巯基乙胺-半胱胺二硫化物。在某些实施例中,酰基与二硫化物的摩尔比为1:2至1:4。在某些实施例中,通过以3:1至5:1的DCC:酰基的摩尔比添加N,N'-二环己基碳化二亚胺(DCC)来促进酰化反应。在某些实施例中,通过以1:1至1:3的HOBt:酰基的摩尔比添加1-羟基苯并三唑(HOBt)来促进酰化反应。

[0274] 立体化学

[0275] 一些本发明化合物以一种以上的对映异构形式存在。特别地,泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A在泛酰基部分中含有手性碳。因此,这些化合物中的

每一种可以作为D-或L-对映异构体存在,或者就泛酰基而言作为两者的外消旋混合物存在。然而,人泛酰巯基乙胺酶(由VNN1和VNN2基因编码)对D-泛酰巯基乙胺具有特异性。(Bellussi等人,《生理化学和物理学(Physiological Chemistry and Physics)》6:505(1974))。因此,只有D-泛酰巯基乙胺(而不是L-泛酰巯基乙胺)是半胱胺前体,且因此本发明仅涉及D-泛酰巯基乙胺,并且仅涉及4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A以及可在胃肠道中转化为那些化合物的任何类似物或前药的D-对映异构体。同样,所有含有泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A或任何合适的类似物或前药的二硫化物仅使用D-对映异构体。

[0276] 氨基酸和氨基酸衍生物的L-对映异构体是优选的。因此,“半胱氨酸”在本文中是指L-半胱氨酸,高半胱氨酸是指L-高半胱氨酸,且半胱氨酸衍生物,例如N-乙酰半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸酰胺、N-乙酰半胱氨酸乙酯、半胱氨酸甲酯、半胱氨酸乙酯、半胱氨酰甘氨酸和γ谷氨酰半胱氨酸全部使用半胱氨酸的L-对映异构体形成。

[0277] 对于二氢硫辛酸,R对映异构体是优选的,因为那是在人体中制得的对映异构体。一般来说,对于通常在人体内存在或在食品中存在的化合物,天然存在的对映异构体是优选的。

[0278] 盐形式和结晶

[0279] 任何化合物,包括本发明的半胱胺前体的药物性质可通过与相对离子或盐关联而改进。可改进的特定性质包括稳定性(例如吸湿性较低;较不易氧化;对热、湿度和pH极值更耐受)、形成晶体的更好倾向、配制简易性(例如与化合物的固体形式,如粉末的性质相关)。

[0280] 盐形式改进化合物的结晶性质的潜力特别重要,因为结晶是比例如柱色谱更便宜、更快速且更可扩展的纯化方法。诱导小分子沉淀的方法是本领域中已知的(例如参见Chen等人在《晶体生长和设计(Crystal Growth and Design)》,11(4),2011)中的评论。可如下地诱导结晶:通过冷却目标化合物的饱和溶液,或通过向化合物的溶液中添加反溶剂(目标化合物难溶于其中的液体)(Mostafa等人《化学工程科学(Chemical Engineering Science)》63:5457-5467,2008),或通过引入促进晶体形成的表面(例如有划痕的玻璃),或通过添加晶种,或通过添加将与目标化合物共结晶的化合物(Korotkova和Karatchvil,能源化学(Procedia Chemistry)10:473-476,2014),包括聚合物(Edueng等人控制释放杂志(Journal of Controlled Release)256:193-202,2017)。工业结晶工艺可以分批形式进行,或越来越躲地通过连续工艺(Zhang等人《工程化(Engineering)》3:354-364,2017)。

[0281] 结晶可以两种方式之一使用:所关注的二硫化物化合物可在杂质存在下选择性地结晶,杂质保留于溶液中且因此可在结晶之后容易地去除,或一种或多种杂质可在所关注的化合物保留于溶液中时结晶。两种方法可依序(一个接一个)组合。

[0282] 因为半胱胺前体通常将以相对较大剂量(每天超过1克,且成人可能高达十克)施用,任何盐都需要是安全的。因此,优选在饮食中以显著水平存在,且具有令人愉悦的感官性质的天然产物盐。此类盐的实例包括但不限于乙酸盐、柠檬酸盐和酒石酸盐。诱导晶体形成的半胱胺前体的盐形式可能与药学上优选的盐形式不重叠,在此情况下,可专门产生盐形式以帮助结晶,接着再溶解于溶剂中且盐转变为优选的药物盐。倾向于促进晶体形成的大型盐包括苯甲酸盐和萘甲酸盐(萘甲酸)。

[0283] 分离方法

[0284] 上文概述的大部分合成途径不能产生大于99％纯度(即,在药物监管机构要求的范围内)的混合二硫化物。结晶的选择性也可能不足以将药物杂质降至可接受水平。因此,可能还需要稳健的分离方法。因此,在某些实施例中,任何合成方法可与将所需产物(即,混合二硫化物胱胺前体)与合成中产生的其它化合物(包括其它二硫化物)分离的有效方案结合。除结晶外,适用的分离方法包括各种色谱程序,包括基于尺寸、电荷、疏水性、亲和力或其它特征分离小分子的树脂。

[0285] 制剂

[0286] 当用作药物时,半胱胺前体或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药可以药物组合物的形式施用。这些组合物可以药学领域中众所周知的各种方式制备,并且可以被制成通过多种赋形剂和制剂技术在受控时间在胃肠道的特定区段释放药物。例如,可以定制制剂以解决特定疾病,达到实现治疗功效所需的血液半胱胺水平,实现期望的药物作用持续时间,并提供具有不同药物释放特征的一组组合物,其可以不同的组合施用以顾及半胱胺代谢的患者间变化。施用主要通过口服途径,并可以通过栓剂补充。半胱胺前体也可以与增强体内半胱胺产生或吸收的试剂共同配制,包括例如还原剂、缓冲剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或通过肠上皮细胞吸收半胱胺的诱导剂。

[0287] 药物组合物可含有一种或多种药学上可接受的载剂。在制备用于本发明方法的药物组合物时,半胱胺前体、其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药通常与赋形剂混合,用赋形剂稀释或以例如胶囊、片剂、小袋、纸、小瓶或其它容器的形式包封在这样的载剂内。本发明的活性组分可以在药学上可接受的赋形剂或载剂存在下单独或以混合物形式施用。基于施用模式和途径、靶向以用于药物释放的胃肠道区域和药物释放的预期时间曲线来选择赋形剂或载剂。当赋形剂用作稀释剂时,它可以是固体、半固体或液体材料(例如生理盐水),其充当活性成分的媒剂、载剂、基质或其它介质。因此,组合物可以呈片剂、粉末、颗粒、口含锭、小袋、扁囊剂、酏剂、悬浮液、乳液、溶液、糖浆以及软明胶胶囊和硬明胶胶囊的形式。如本领域中已知,赋形剂的类型和量视预期药物释放特征而变化。所得组合物可包含其它试剂,例如防腐剂或包衣。

[0288] 合适的药物载剂以及用于药物制剂的药物必需品描述于《雷明顿:医药科学和实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy)》,第21版,Gennaro编,Lippencott Williams&Wilkins(2005)(本领域中熟知的参考文本)和USP/NF(美国药典和国家处方集(United States Pharmacopeia and the National Formulary))或对应的欧洲或日本参考文献中。合适的赋形剂的实例是乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯树胶、碳酸钙、磷酸钙、海藻酸盐、黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、纤维素衍生物、聚乙烯吡咯烷酮、聚(乳酸-共-乙醇酸)(PLGA)、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、植物油、聚乙二醇、疏水性惰性基质、卡波姆、羟丙甲纤维素、gelucire 43/01、多库酯钠和白蜡。制剂可另外包括:润滑剂,例如滑石、硬脂酸镁和矿物油;润湿剂;乳化剂和悬浮剂;防腐剂,如羟基苯甲酸甲酯和羟基苯甲酸丙酯;甜味剂;和调味剂。其它示例性赋形剂和其用途的细节描述于《药物赋形剂手册(Handbook of Pharmaceutical Excipients)》,第6版,Rowe等人编,Pharmaceutical Press(2009)中。

[0289] 药物组合物可以包括半胱胺前体盐,任选地与促进半胱胺前体在体内降解为半胱胺或增强半胱胺的肠吸收的其它药剂共同配制或共同施用。药物组合物还可以包括补充半

胱胺在目标疾病中的药理学作用的其它治疗剂。本文提供了体内半胱胺产生或吸收的示例性增强剂,以及可包括在本文所述的组合物中的示例性治疗剂。

[0290] 本发明的组合物可含有单一活性组分(即单一半胱胺前体),或单一单位剂型中的第一和第二活性组分的组合,或单一单位剂型中的第一、第二、第三和任选的第四活性组分和任选的第五组分的组合。在具有两种活性组分的组合物中,两种组分可以都是半胱胺前体或一种组分可以是体内半胱胺产生的增强剂(例如促进二硫化物半胱胺前体还原的还原剂,或诱导肠道泛酰巯基乙胺酶表达增加的药剂)或半胱胺的肠吸收增强剂(例如诱导一种或多种有机阳离子转运蛋白(例如OCT1、OCT2或OCT3)表达增加的药剂)。在具有三种或四种活性组分的组合物中,所有组分可以是半胱胺前体,或者一种或两种组分可以是体内半胱胺产生和/或肠吸收的增强剂。在具有两种或更多种半胱胺前体的组合物中,选择半胱胺前体的类型以在持续的时间段内实现体内半胱胺产生。例如,其仅需要二硫键还原以产生一种半胱胺,并因此将在到达具有有助于二硫键还原的氧化还原环境的胃肠道区域后不久开始产生半胱胺的混合二硫化物半胱胺前体可与泛酰巯基乙胺,或与泛酰巯基乙胺二硫化物混合,这需要二硫键还原和泛酰巯基乙胺酶裂解来产生半胱胺,并且任选还与可在肠道中降解为泛酰巯基乙胺的化合物或含有这种化合物的二硫化物组合,这需要额外的步骤来产生泛酰巯基乙胺且因此产生半胱胺。可在肠道中降解为泛酰巯基乙胺的化合物包括4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A和合适的类似物和衍生物。体内半胱胺的产生的时程将根据半胱胺前体与半胱胺之间的降解步骤数而变化。在一些实施例中,含有多个半胱胺前体的组合物被配制成粉末、颗粒或液体-即可以容纳大量药物的制剂类型。

[0291] 药物组合物也可包括增强制剂性能的一种或多种药剂。例如,胃滞留组合物可包括减慢胃排空的化合物,以延长组合物在胃中的停留时间。

[0292] 在具有两种半胱胺前体组分的组合物中,第一和第二组分可以例如约1:1.5至约1:4的比率存在。在具有三种半胱胺前体组分的组合物中,第一、第二和第三组分可以例如约1:1:2至约1:4:4之间的比率存在。在具有四种活性组分的组合物中,第一至第四活性组分可以例如约1:1:1:2至约1:2:5:5的比率存在。在具有五种活性组分的组合物中,第一至第五活性组分可以例如约1:1:2:2:2至约1:1:2:5:5:8的比率存在。

[0293] 在一些实施例中,含有两种或更多种半胱胺前体的组合物包括选择用于快速体内半胱胺产生的一种前体(例如仅需要二硫键还原)和选择用于中间或较慢体内转化为半胱胺的第二种前体,例如需要化学还原和至少一个酶促降解步骤)。在一些实施例中,含有两种或更多种半胱胺前体的药物组合物,至少一种前体是半胱胺混合二硫化物,其可以在二硫键还原时产生半胱胺。在另外的相关实施例中,至少一种另外的组分是含有泛酰巯基乙胺的二硫化物或可在胃肠道中降解为泛酰巯基乙胺的化合物。

[0294] 组合物可以固体单位剂型(例如片剂或胶囊)配制,每个剂量含有例如50-800mg第一组分的活性成分。例如,剂量可以含有约50mg至约800mg、约50mg至约700mg、约50mg至约600mg、约50mg至约500mg;约75mg至约800mg、约75mg至约700mg、约75mg至约600mg、约75mg至约500mg;约100mg至约800mg、约100mg至约700mg、约100mg至约600mg、约100mg至约500mg;约250mg至约800mg、约250mg至约700mg、约250mg至约600mg、约250mg至约500mg;约400mg至约800mg、约400mg至约700mg、约400mg至约600mg;约450mg至约700mg、约450mg至约600mg的第一组分的活性成分。

[0295] 在替代实施例中,组合物可以配制成液体或粉末单位剂型,每个剂量单位含有约250mg至约10,000mg半胱胺前体。例如,剂量可含有约250mg至约10,000mg、约250mg至约8,000mg、约250mg至约6,000mg、约250mg至约5,000mg;约500mg至约10,000mg、约500mg至约8,000mg、约500mg至约6,000mg、约500mg至约5,000mg;约750mg至约10,000mg、约750mg至约8,000mg、约750mg至约6,000mg、约750mg至约5,000mg;约1,250mg至约10,000mg、约1,250mg至约8,000mg、约1,250mg至约6,000mg、约1,250mg至约5,000mg;约2,000mg至约10,000mg、约2,000mg至约8,000mg、约2,000mg至约6,000mg;约2,000mg至约5,000mg、约3,000mg至约6,000mg第一组分的活性成分。

[0296] 在具有第一和第二胱胺前体组分的组合物中,固体单位剂型中第二活性组分的量可以变化,例如50-700mg。例如,剂量可含有约50mg至约700mg、约50mg至约600mg、约50mg至约500mg、约50mg至约450mg;约75mg至约700mg、约75mg至约600mg;约100mg至约700mg;约100mg至约600mg、约100mg至约500mg、约100mg至约400mg;约250mg至约700mg、约250mg至约600mg、约250mg至约500mg、约250mg至约400mg;约400mg至约700mg、约400mg至约600mg、约400mg至约500mg、约450mg至约700mg;约450mg至约600mg、约450mg至约500mg。在具有半胱胺前体作为第一活性组分和体内半胱胺产生增强剂作为第二活性组分的组合物中,单位剂型中第二活性组分的量可以变化,例如0.1mg-400mg。

[0297] 在包括第一和第二胱胺前体组分的替代实施例中,液体或粉末单位剂型中第二活性组分的量可以变化,例如约250mg至约6,000mg。例如,剂量可每剂含有约250mg至约6,000mg、约250mg至约5,000mg、约250mg至约4,000mg、约250mg至约3,000mg、约250mg至约2,000mg;约500mg至约6,000mg、约500mg至约5,000mg、约500mg至约4,000mg、约500mg至约3,000mg;约750mg至约6,000mg、约750mg至约5,000mg、约750mg至约4,000mg、约750mg至约3,000mg;约1,250mg至约6,000mg、约1,250mg至约5,000mg、约1,250mg至约4,000mg、约1,250mg至约3,000mg;约2,000mg至约6,000mg、约2,000mg至约5,000mg、约2,000mg至约4,000mg;约2,000mg至约3,000mg、约2,500mg至约5,000mg第二组分的活性成分。

[0298] 在具有第三或第三和第四半胱胺前体组分的固体组合物中,单位剂量可含有约50mg至约400mg的第三(如果存在)和第四活性组分中的每一种。例如,剂量可含有约50mg至约400mg、约50mg至约350mg、约50mg至约300mg、约50mg至约250mg;约75mg至约400mg、约75mg至约350mg、约75mg至约300mg、约75mg至约250mg;约100mg至约400mg、约100mg至约350mg、约100mg至约300mg、约100mg至约250mg;约250mg至约400mg、约250mg至约350mg或约250mg至约300mg。在具有五种活性组分的组合物中,五种组分的单位剂量可在约50mg至约300mg范围内变化。在具有体内半胱胺产生增强剂作为第四活性组分和任选的第三活性组分的组合物中,单位剂型中第四活性组分和任选的第三活性组分的量可以变化,例如0.1mg-400mg。

[0299] 在包括液体或粉末单位剂型中的第三或第三和第四半胱胺前体组分的替代实施例中,第三活性组分和任选的第四活性组分的单位剂量可变化,例如约250mg至约4,000mg。例如,剂量可每剂含有约250mg至约4,000mg、约250mg至约3,000mg、约250mg至约2,000mg、约250mg至约1,000mg、约500mg至约4,000mg、约500mg至约3,000mg、约500mg至约2,000mg、约500mg至约1,000mg;约750mg至约4,000mg、约750mg至约3,000mg、约750mg至约2,000mg、约750mg至约1,000mg;约1,000mg至约4,000mg、约1,000mg至约3,000mg、约1,000mg至约2,

000mg、约1,000mg至约1,500mg;约1,500mg至约4,000mg、约1,500mg至约3,000mg、约1,500mg至约2,000mg;约2,000mg至约4,000mg、约2,000mg至约3,000mg的第三活性成分和任选的第四活性成分。

[0300] 可以配制药物组合物,以便在通过采用本领域已知的方法施用至患者后,提供活性组分的立即、延迟、胃滞留、持续或结肠释放(统称为控制释放)。

[0301] 为了制备固体组合物(如片剂),可以将一种或多种活性成分(例如几种半胱胺前体)与一种或多种药物赋形剂混合以形成含有本发明化合物的均匀混合物的固体本体制剂组合物。当将这些本体制剂组合物称为均匀时,活性成分通常均匀地分散在整个组合物中,使得组合物可以容易地细分成等效的单位剂型,例如片剂、胶囊或微粒。然后将此固体本体制剂细分为上述类型的单位剂型。

[0302] 或者,可以制备活性成分与一种或多种药物赋形剂混合的两个均匀批次,各自使用不同浓度的活性成分。然后第一混合物可用于形成核心,且第二混合物可用于形成核心周围的壳体以形成具有可变药物释放特征的组合物。如果高浓度批次位于核心中并且较低浓度批次位于壳体中,则一旦壳体基本上溶解或侵蚀,初始适度的药物释放速率将跟有更大速率的药物释放。在一些实施例中,药物组合物在核心中含有比在壳体中更高浓度的活性成分。核心:壳体中半胱胺前体浓度的比率可以例如在约1.5:1至4:1之间的范围内。赋形剂在两批之间的类型或浓度也可以不同,以便影响药物释放速率。在一些实施例中,核心中的聚合物或其它基质形成成分比从壳体中释放活性成分更慢。在这样的实施例中,核心中较高浓度的半胱胺前体通过较慢的药物释放速率部分或完全平衡,以延长半胱胺前体释放的持续时间,并因此延长体内半胱胺产生、肠道吸收和血液水平升高的持续时间。在施加壳层之前可以将一个或多个包衣施加到核心上,并且可以将额外的包衣施加到壳体上以实现有效的制造过程和/或帮助提供所需的药理学特性,包括药物在胃肠道中释放的时序和位置。

[0303] 本发明的药物组合物包括配制用于释放半胱胺前体混合物的那些,所述半胱胺前体在导致半胱胺产生的降解步骤的机制或数量方面不同。具体地,两种、三种、四种或五种半胱胺前体的混合物,每种前体与释放半胱胺相距一个、两个、三个或更多个化学和/或酶促降解步骤。例如,一个步骤可以是二硫键还原(在半胱胺混合二硫化物的情况下)或泛酰巯基乙胺酶裂解(在泛酰巯基乙胺的情况下)。两个步骤可以是二硫键还原,后跟泛酰巯基乙胺酶裂解(在泛酰巯基乙胺二硫化物的情况下),或磷酸酶裂解,后跟泛酰巯基乙胺酶裂解(在4-磷酸泛酰巯基乙胺的情况下)。三个步骤可以是降解为泛酰巯基乙胺(例如通过磷酸酶)之前或之后的二硫键还原,后跟泛酰巯基乙胺酶裂解(例如在4-磷酸泛酰巯基乙胺二硫化物的情况下)。四个步骤可以是二硫键还原,后跟降解为泛酰巯基乙胺的两个降解步骤(例如通过外核苷酸二磷酸酶去除腺嘌呤核苷酸部分,然后通过磷酸酶去除4'磷酸),接着是泛酰巯基乙胺酶裂解(例如在辅酶A或脱磷酸辅酶A二硫化物的情况下)。将具有不同的降解为半胱胺的化学和/或酶促降解途径的半胱胺前体组合的目的是延长半胱胺在肠中产生和从肠中吸收的时间,并因此延长治疗有效半胱胺血液水平的持续时间。在一些实施例中,本发明的药物组合物含有至少两种半胱胺前体,在其它实施例中,药物组合物含有三种半胱胺前体。

[0304] 可以配制本发明的药物组合物用于混合释放,这意味着一种组合物含有两种药物

释放曲线。例如,立即释放制剂可以与持续释放制剂组合。(例如参见图14中的组合物F)。在这样的组合物中,第一活性组分可以配制成在摄取后约5分钟与约30分钟之间开始立即释放。例如,可以在摄取组合物后5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、25分钟、30分钟或45分钟开始释放第一活性组分。配制第一活性组分,使得在摄入后约15分钟与3小时之间、优选30分钟与2小时之间达到治疗范围内的半胱胺血浆浓度。例如,在摄取组合物后0.5小时、1小时、2小时或3小时可达到治疗性血浆半胱胺浓度。使用的半胱胺前体的类型(例如硫醇、半胱胺混合二硫化物、泛酰巯基乙胺二硫化物、辅酶A二硫化物、N-乙酰基半胱胺二硫化物等)将影响达到半胱胺的治疗性血液浓度的时间长度,以及维持治疗性血液浓度的持续时间。

[0305] 在具有两种、三种和任选地四种或五种活性组分(例如多种半胱胺前体和/或体内半胱胺的产生和吸收的增强剂)的组合物中,第二、第三和/或第四和/或第五活性组分中的每一个被配制用于在摄取后约1小时与约8小时之间开始从组合物控制释放。控制释放组合物可包括延迟释放和/或持续释放制剂。例如,第二、第三和/或第四活性组分可在摄取组合物后1小时、1.5小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时或8小时开始释放。配制第二、第三和/或第四活性组分,使得半胱胺的血浆浓度(其反映所有活性组分的贡献)在摄取后约30分钟与2小时之间开始保持在治疗范围内并在摄取后延长约6与10小时之间,更优选延长8与12小时之间,或延长更长的时间。例如,在摄入组合物的活性组分后,血浆半胱胺浓度可在治疗范围内维持6小时、8小时、10小时、12小时、15小时、20小时或24小时。取决于患者的年龄和身材、所治疗的疾病以及患者的半胱胺代谢率,可能需要两种或更多种组合物来递送足够的半胱胺前体以在数小时内达到治疗血液水平。

[0306] 作为包含混合制剂的药物组合物的替代或补充,在一些实施例中,可以产生由单一类型的制剂组成的组合物。也就是说,可以制备基于时间的制剂,例如立即释放或持续释放制剂,和解剖学靶向制剂,例如胃滞留、延迟释放和结肠定向制剂,以作为单独的组合物施用。配制具有不同药物释放特性(无论是基于时间还是基于解剖学/生理学)的药物组合物的集合具有某些优点。例如,此类组合物可以不同的组合和比率施用至不同的患者,以在延长时段内达到治疗范围内的血液半胱胺水平。也就是说,由根据特定时间表施用的一种、两种、三种或更多种组合物组成的治疗方案可以适于个体患者的半胱胺产生、吸收和代谢能力。由于已知这些能力在患者之间变化,含有不同半胱胺前体和不同药物释放特性多个均匀组合物的制剂解决现有的半胱胺的制剂的一个已知的限制,所述多个均匀组合物可针对不同患者以不同比率组合。

[0307] 优选地,两种或更多种药物组合物的组合可以将治疗范围内的半胱胺血液水平在摄取后维持至少2-8小时,更优在选摄取后维持1-8小时,更优选2-10小时且最优选1-10小时、1-12小时、1-14小时或更长时间。含有具有不同药物释放曲线的不同半胱胺前体的单独配制的药物组合物提供了个体化给药方案所需的给药灵活性,以长期获得治疗有效的半胱胺血液浓度。

[0308] 有充分证据表明,健康个体的胃排空时间和大肠通过时间差异很大(高达两倍或更大)。还已知肠道氧化还原环境和泛酰巯基乙胺酶活性水平因个体而异。这些和其它因素可能解释在半胱胺给药后观察到的血浆半胱胺水平的广泛个体间变化。例如,在健康志愿者的立即释放半胱胺酒石酸氢盐药代动力学研究中,与膳食一起施用600mg口服剂量后的峰值半胱胺血液水平(Cmax)变化超过8倍,从7微摩尔变为57.3微摩尔。(Dohil R.和

P.Rioux,《药物开发的临床药理学(Drug Pharmacology in Drug Development)》2:178(2013))。在同一研究中,与膳食一起施用600mg延迟释放半胱胺酒石酸氢盐后的Cmax变化12倍,从2.1μM变为25.4μM。当向禁食患者施用半胱胺时,半胱胺血浆水平的患者间变化不太极端,但仍然高达四倍。(当半胱胺每6小时给药一次(如在Cystagon®的情况下),或甚至每12小时一次(如在Procysbi®的情况下)时,很难完全避免进餐时间)。

[0309] 目前的半胱胺制剂和施用方法仅提供一种工具来解决受试者间的变化性:提高或降低剂量。本发明的半胱胺前体、体内半胱胺产生和吸收的增强剂、药物配制方法和药物施用方法通过为个体患者定制化合物、剂型和给药方案而提供多种实现治疗性血液半胱胺水平的工具,而不会引起通常与高Cmax相关的不可接受的毒性或与血液水平长期低于治疗阈值相关的不充分治疗效果。

[0310] 单独配制的组合物的另一个优点是其可相对于膳食在不同时间施用。这是一种有用的选择,因为不同类别的半胱胺前体和不同类型的制剂与膳食不同地相互作用。例如,胃滞留制剂应与餐食一起或在餐后不久施用,优选富含营养的餐食,以最大化胃滞留的持续时间。相反,含有可通过二硫键还原快速转化为半胱胺的半胱胺混合二硫化物的立即释放制剂应优选不与大餐一起施用。大餐干扰一些个体中半胱胺的吸收,但是餐食与某些半胱胺前体相容,所述半胱胺前体在胃中几乎不产生半胱胺,例如泛酰巯基乙胺二硫化物,其倾向于在小肠中转化为半胱胺。

[0311] 在本发明的化合物和制剂的情况下可能的个体化给药方案是特别有用的,因为虽然半胱胺肠吸收的广泛的个体间变化已被充分记录,但同样充分证明,个体内变化相比之下是适中的。也就是说,当在类似情况下的多个场合施用时,给定受试者将基本上类似地吸收和代谢一定剂量的半胱胺。因此,一旦个体化以针对特定患者产生治疗范围内的血液半胱胺水平,给药方案应相对稳定并且随时间推移产生可预测的结果。

[0312] 可以使用本领域已知的方法设计持续释放制剂以在广泛变化的时间段内释放药物。(Wen,H.和Park,K.编:《口服控制释放制剂设计和药物递送:理论与实践》,Wiley,2010;Wells,J.I.和Rubinstein,M.H.编:《制药技术:受控药物释放(Pharmaceutical Technology:Controlled Drug Release)》,第I和II卷,Ellis and Horwood,1991,和Gibson,M.编:《药物预配制和制剂:从候选药物选择到商业剂型的实用指南(Pharmaceutical Preformulation and Formulation:A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form)》,第2版,Informa,2009)。

[0313] 图14、15和16提供了本发明的药物组合物的实例,旨在说明如活性成分(半胱胺前体、半胱胺前体转化为半胱胺的增强剂和半胱胺肠吸收的增强剂)、剂量范围(对于组合的所有活性组分)、制剂类型(包括混合制剂)、组合物和施用方法的组合(例如与食物或与膳食一起)的方面。活性成分包括半胱胺前体以及体内半胱胺产生的增强剂和半胱胺肠吸收的增强剂。

[0314] 用于口服施用的制剂

[0315] 本发明考虑的药物组合物包括配制用于口服施用的那些(“口服剂型”)。口服剂型可例如呈片剂、胶囊、液体溶液或悬浮液、粉末或液体或固体晶体或颗粒形式,其含有活性成分与无毒的药学上可接受的赋形剂的混合物。如果配制成液体、粉末、晶体或颗粒,则剂

量可以明确划定单位剂量的方式包装。例如,粉末或颗粒或微粒可以包装在小袋中。液体可以包装在玻璃或塑料容器中。

[0316] 选择赋形剂以提供可接受的感官特性、控制药物释放特性、促进有效制造和确保药物组合物的长期稳定性,以及药理学、药剂学和药物制造领域的技术人员已知的其它考虑因素。赋形剂可以是例如惰性稀释剂或填充剂(例如蔗糖、山梨糖醇、糖、甘露醇、微晶纤维素、淀粉(包括马铃薯淀粉)、碳酸钙、氯化钠、乳糖、磷酸钙、硫酸钙或磷酸钠);成粒剂和崩解剂(例如包括微晶纤维素的纤维素衍生物、包括马铃薯淀粉的淀粉、交联羧甲基纤维素钠、海藻酸盐或海藻酸);粘合剂(例如蔗糖、葡萄糖、山梨糖醇、阿拉伯树胶、海藻酸、海藻酸钠、明胶、淀粉、预胶化淀粉、微晶纤维素、硅酸镁铝、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮或聚乙二醇);以及润滑剂、助流剂和防粘剂(例如硬脂酸镁、硬脂酸锌、硬脂酸、二氧化硅、氢化植物油或滑石)。其它药学上可接受的赋形剂可以是着色剂、调味剂、增塑剂、保湿剂、防腐剂、缓冲剂、稳定剂等。这些赋形剂中的许多由多个赋形剂制造商以多种化学形式出售,和/或可以不同的浓度使用,和/或与其它赋形剂以不同的组合使用,具有随后的性能特征差异。特定的赋形剂可以在制剂中实现多于一个目的。

[0317] 用于口服施用的制剂还可以呈现为咀嚼片剂,呈现为硬明胶胶囊,其中活性成分与惰性固体稀释剂(例如马铃薯淀粉、乳糖、微晶纤维素、碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合,或呈现为软明胶胶囊,其中活性成分与水或油介质(例如花生油、液体石蜡或橄榄油)混合。粉末、颗粒和丸粒可以使用上文在片剂和胶囊下所提及的成分,使用例如混合器、流化床设备或喷雾干燥设备以常规方式制备。

[0318] 一类有用的制剂主要控制药物释放速率(例如立即释放和持续释放制剂),尽管对药物释放的位置具有重要影响。第二类有用的制剂主要控制药物释放的解剖部位(例如在胃中药物释放的胃滞留制剂、用于大肠的结肠靶向制剂),尽管对释放时间有影响。肠溶包衣制剂具有以下两者的重要元素:其被设计成在酸性胃环境中保持完整,并且通常溶解于更碱性的小肠中,这是一种解剖学靶向,但其通常被称为延迟释放制剂,突出了时间控制元素。然而,结肠靶向制剂也可具有肠溶包衣以防止在胃中溶解,突出了解剖学靶向与控制药物释放速率之间的复杂关系。此外,在基于时间与解剖学或生理学靶向的制剂中使用的赋形剂之间存在广泛重叠。这些类型的制剂可以各种方式组合以在时间和空间上产生具有不同药物释放曲线的多种组合物。这些组合物又可以不同的量和比率组合以个体化治疗方案以适应患者之间的生物化学和生理学变化,以及疾病类型、程度和活动性的变化。

[0319] 胃滞留制剂

[0320] 胃滞留制剂可用于从胃中的本发明组合物释放半胱胺前体或其盐,并控制组合物的活性组分在延长时间内在胃中的释放。换句话说,由于胃滞留制剂的要点是胃滞留时间延长,所以伴随的赋形剂应该在预期胃滞留剂型保留在胃中的整个时间段和任选地更长时间(包括通过小肠和进入结肠的时间)内提供活性成分的持续释放。本发明的活性成分的胃滞留可以通过各种机制实现,例如粘膜粘附、漂浮、沉降、溶胀和膨胀,和/或通过同时施用延迟胃排空的药理学药剂。用于胃滞留制剂的赋形剂以及药物组合物的大小和形状根据胃滞留机制而变化。

[0321] 粘膜粘附/生物粘附胃滞留制剂

[0322] 粘膜粘附涉及制剂中使用的聚合物与胃肠粘液层的粘附,直到其由于持续的粘液产生而从表面自发地除去。生物粘附,有时可与粘膜粘附互换使用,还包括聚合物或药物组合物的其它组分与胃肠上皮细胞表面上的分子的粘附。粘膜粘附和生物粘附的目的是增加药物组合物紧邻胃肠上皮细胞的时间,包括能够半胱胺前体裂解的细胞类型(即在其表面上表达泛酰巯基乙胺酶的细胞),以及半胱胺吸收和转运到循环(例如表达有机阳离子转运蛋白的细胞)。粘膜粘附聚合物可用于配制大剂型(如片剂或胶囊)和小剂型(如微粒或微球)。各种生理因素,如蠕动、粘蛋白类型、粘蛋白周转率、胃肠pH、禁食/进食状态和进食状态下的食物类型影响粘膜粘附的程度和持久性。粘膜粘附的机制被认为是通过在聚合物-粘液边界处形成静电和氢键。通常,粘膜粘附用对胃肠粘液具有亲和力的聚合物实现,并选自合成或天然生物粘附材料,例如聚丙烯酸、甲基丙烯酸和两者的衍生物、凝聚胺、聚赖氨酸、聚卡波非、卡波姆、海藻酸盐、聚葡萄胺糖、消胆胺、树胶、凝集素、聚环氧乙烷、硫糖铝、黄蓍胶、糊精(例如羟丙基β-环糊精)、聚乙二醇(PEG)、麦醇溶蛋白、纤维素和纤维素衍生物,例如羟丙基甲基纤维素(HPMC),或其混合物。例如,可以商品名CARBOPOL(例如Carbopol 974P和971P)和POLYCARBOPHIL获得的交联丙烯酸和甲基丙烯酸共聚物已用于粘膜粘附制剂中。(Hombach J.和A.Bernkop-Schnürch.《实验药理学手册(Handbook of Experimental Pharmacology)》197:251(2010))。其它生物粘附性阳离子聚合物包括酸性明胶、聚半乳糖胺、聚氨基酸(如聚赖氨酸、聚鸟氨酸)、聚四价化合物,醇溶谷蛋白、聚亚胺、二乙氨基乙基葡聚糖(DEAE)、DEAE-亚胺、聚乙烯吡啶、聚硫代二乙氨基甲基乙烯(PTDAE)、聚组氨酸、DEAE-甲基丙烯酸酯、DEAE-丙烯酰胺、聚对氨基苯乙烯、聚氧乙烷、Eudragit RL、Eudragit RS、GAFQUAT、聚酰氨基胺、阳离子淀粉、DEAE-聚葡萄糖、DEAE-纤维素和共聚甲基丙烯酸酯,包括HPMA、N-(2-羟丙基)-甲基丙烯酰胺的共聚物(例如见美国专利6,207,197)。

[0323] 当应用于小颗粒(例如微粒)时,粘膜粘附是最有效的。粘膜粘附制剂可以与下面描述的一种或多种其它胃滞留制剂方法组合,包括漂浮制剂、膨胀/溶胀制剂或任何类型的持续释放制剂。

[0324] 漂浮胃滞留制剂

[0325] 作为胃滞留机制的漂浮在体积密度低于胃液和/或食糜(胃中部分消化的食物)的活性组分(例如半胱胺前体)的制剂中是有效的,以便在胃中保持浮力。通常希望密度小于1克/立方厘米,更优选地密度小于0.9克/立方厘米。可以通过(i)使用低密度材料(包括脂质),(ii)在组合物的中心预形成一个或多个气泡,或(iii)使用泡腾赋形剂在体内产生气泡来实现浮力。必须设计后一种类型的药物组合物,使得由泡腾赋形剂产生的气体保留在组合物中,且从而有助于其浮力。例如,泡腾赋形剂可以嵌入聚合物基质中以捕获组合物中的气泡。后一种类型的浮力制剂通常使用由可溶胀聚合物或多糖和泡腾对制备的基质,例如碳酸氢钠和柠檬酸或酒石酸或含有截留空气或液体的室的基质,其在体温下与液体胃内容物接触时产生气体。已广泛综述漂浮胃滞留制剂(例如Kotreka,《英国治疗药物载剂系统重要评论(U.K.Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems)》,28:47(2011))。

[0326] 设计用于胃滞留的漂浮药物组合物已在本领域中已知一段时间。举例来说,美国专利第4,126,672号、第4,140,755号和第4,167,558号(其中的每一个以引用的方式并入本文中)描述了呈片剂形式的“流体动力学平衡的”药物递送系统(HBS),其密度小于胃液的密

度(即小于1克/立方厘米)。因此,组合物漂浮在胃液或食糜上,从而避免在胃的肌肉收缩期间通过幽门排出。药物从纤维素衍生的亲水胶体,如甲基纤维素、羟基烷基纤维素(例如羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素)或羧甲基纤维素钠中连续释放,其在与胃液接触时在组合物的表面上形成不透水的屏障,所述屏障逐渐侵蚀,缓慢释放药物。在以引用的方式并入本文中的美国专利第4,140,755号中公开了一种双层漂浮片剂,其具有配制用于立即释放的外层和配制用于持续释放的内层。

[0327] 还描述了用于持续递送L-多巴和脱羧酶抑制剂的类似流体动力学平衡的漂浮制剂(参见美国专利第4,424,235号)。亲水胶体,例如阿拉伯胶、黄蓍胶、刺槐豆胶、瓜尔胶、刺槐树胶、琼脂、果胶、角叉菜胶、可溶性和不溶性海藻酸盐、羧基聚亚甲基、明胶、酪蛋白、玉米蛋白和膨润土可用于制备本发明的漂浮制剂。漂浮制剂可包括高达约60%的脂肪物质或脂肪物质的混合物,其选自蜂蜡、鲸蜡醇、硬脂醇、单硬脂酸甘油酯、氢化蓖麻油和氢化棉籽油(脂肪和油的密度低于胃液)。漂浮制剂可促进半胱胺前体的持续释放,并在较长时间内提供较高血浆半胱胺水平。延长的较高血浆半胱胺水平允许较低频率的给药。

[0328] 本发明的漂浮组合物可含有气体产生剂。使用气体产生化合物配制漂浮组合物的方法是本领域已知的。例如,含有碳酸氢钠的漂浮微胶囊描述于美国专利4,106,120中。基于气体产生的类似漂浮颗粒描述于美国专利第4,844,905号中。漂浮胶囊已在美国专利5,198,229中描述。

[0329] 漂浮组合物可任选地含有酸源和产生气体的碳酸盐或碳酸氢盐试剂,它们一起充当泡腾对,产生二氧化碳气体,其为制剂提供浮力。当混合物与水接触时或当碱性组分与酸性液体(例如胃液)接触时,由可溶性有机酸和碱金属碳酸盐组成的泡腾对形成二氧化碳。所用酸的典型实例包括柠檬酸、酒石酸、苹果酸、反丁烯二酸或己二酸。使用的产生气体的碱的典型实例包括碳酸氢钠、碳酸钠、甘氨酸碳酸钠、倍半碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钾、碳酸钙、碳酸氢钙、碳酸氢铵、亚硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠等。气体产生剂与通过与水接触或与胃液中的盐酸接触而触发的酸源相互作用,以产生二氧化碳或二氧化硫,其被截留在组合物的基质中并改善其漂浮特征。在一个实施例中,气体产生剂是碳酸氢钠,且酸源是柠檬酸。

[0330] 漂浮的动力学是重要的,因为如果组合物在到达胃后不久不比胃液和/或食糜更轻,那么其将有可能通过幽门迅速排出。一些组合物在摄取时具有比胃液和食糜更低的密度,例如含有预先形成的气泡的组合物,或含有低密度材料(如脂质)的组合物。对于那些在到达胃后必须达到低于胃液和/或食糜密度的漂浮组合物(即泡腾制剂),优选在与胃液接触后30分钟内、更优选在15分钟内、并且最优选在十分钟内达到低于1克/立方厘米的密度。漂浮的持续时间也很重要,且应与药物释放的持续时间相匹配。也就是说,如果组合物被设计为在6小时内释放药物,则其也应该能够漂浮6小时。优选地,漂浮组合物保持密度小于1至少5小时,更优选7.5小时,更优选10小时或更久。

[0331] 可能需要大剂量的半胱胺前体(例如2-10克)来有效治疗一些半胱胺敏感性疾病,和/或在高大成人受试者中达到足够的血液水平。由于可以包含在标准剂型(例如片剂、胶囊)中的任何活性剂的量受到患者吞服大型组合物的能力的限制,并且进一步因为多个片剂或胶囊的施用可能是不方便的或令人不愉快的(或者对于患有吞咽困难的患者不可能),不限制单位剂型中活性剂的量的替代剂型是有用的。粉末、颗粒和液体是非尺寸限制剂型的实例,其仍然可以通过合适的包装,例如在小袋或小瓶中以单位剂量递送。在本发明的一

些实施例中,本发明的漂浮胃滞留组合物以液体形式施用。在另一个实施例中,液体组合物包括海藻酸盐。在其它实施例中,活性药物成分以粉末或颗粒的形式递送,其可以撒在食物上。

[0332] 一种液体胃滞留漂浮药物递送系统利用藻酸盐作为赋形剂。海藻酸是由通过1,4糖苷键连接的β-D-甘露糖醛酸和α-L-古洛糖醛酸残基制成的线性嵌段多糖共聚物。其在药物组合物中用于多种目的,包括作为持续释放聚合物(参见Murata等人,《欧洲制药学与生物制药学杂志(Eur J Pharm Biopharm)》50:221(2000))。Gaviscon是含有抗酸剂的漂浮液体海藻酸盐制剂的品牌名称。它已被用于治疗胃食管反流数十年,因此慢性海藻酸盐摄入的安全性已得到很好的证实。已经描述了具有小分子药物的海藻酸盐漂浮制剂(参见Katayama等人,《生物医药公报(Biol Pharm Bull.)》22:55(1999);和Itoh等人,《药物开发与制药工业(Drug Dev Ind Pharm.)》36:449(2010))。在胃内容物表面上形成层的漂浮制剂有时被称为筏形成制剂。筏形成漂浮/胶凝持续释放组合物已经由Prajapati等人,《控制释放杂志(J Control Release)》168:151(2013);和Nagarwal等人,《当前药物输递送(Curr Drug Deliv.)》5:282(2008)描述。

[0333] 以引用的方式并入本文中的美国专利第4,717,713号公开了液体(可饮用)制剂,其在与胃内容物接触时在胃中形成半固体凝胶样基质,从而实现药物从凝胶状基质中的控制释放。公开了凝胶形成媒剂,包括黄原胶、海藻酸钠、复合凝聚对,例如明胶或其它聚合物和角叉菜胶,以及热凝胶甲基纤维素,其全部或一部分可以各种比率组合以影响悬浮药物活性剂的溶解和/或扩散速率。使用的其它赋形剂包括碳酸盐化合物,例如碳酸钙,作为胶凝促进剂和作为气体产生剂有效地使凝胶漂浮。木葡聚糖和结冷胶也可用作胶凝剂,或胶凝剂的组合。

[0334] 液体(可饮用)漂浮制剂可包括微粒,其可作为液体悬浮液(浓缩物或即用型)提供或作为可加入液体(例如水、果汁或其它饮料)的粉末提供。漂浮胃滞留组合物也可以粉末的形式递送,以撒在食物上或以其它方式与食物混合。

[0335] 漂浮胃滞留制剂可包括粘膜粘附聚合物或其它粘膜粘附成分(参见美国专利第6,207,197号和第8,778,396号,以引用的方式并入本文中),且可以使用聚合物,例如聚环氧乙烷、聚乙烯醇、海藻酸钠、乙基纤维素、聚(乳酸)共-乙醇酸(PLGA)、聚乳酸、聚甲基丙烯酸酯、聚己内酯、聚酯、聚丙烯酸和聚酰胺。

[0336] 溶胀和膨胀胃滞留组合物

[0337] 溶胀和膨胀是胃滞留机制,其中在与胃液接触时,组合物溶胀至防止其通过幽门离开胃的程度。结果,组合物长时间保留在胃中,例如直到组合物的表面被侵蚀以将其直径减小至小于幽门的直径,或直到食物基本上从胃中排空,此时强烈的肌肉收缩(有时称为“管家波(housekeeper wave)”)扫过胃,清除其内容物。当组合物在溶胀或膨胀状态下超过约14-16mm的直径时,排除组合物通过幽门括约肌。优选地,组合物的直径超过16-18mm。溶胀可以与漂浮相结合,这使得制剂远离幽门,特别是在进食状态下。

[0338] 自20世纪60年代以来已知一种制剂的概念,所述制剂在与胃液接触时溶胀并因此保留在胃中。美国专利第3,574,820号公开了片剂,其与胃液接触溶胀到使其不能通过幽门且因此保留在胃中的尺寸。类似地,美国专利第5,007,790号描述了由亲水性、水溶胀性、交联聚合物组成的片剂或胶囊,其快速溶胀以促进胃滞留,同时允许与聚合物混合的药物分

子缓慢溶解。

[0339] 以引用的方式并入本文中的美国专利公开案第20030104053号公开了用于递送药物的单位剂型片剂,其中活性组分分散在由聚(环氧乙烷)和羟丙基甲基纤维素的组合形成的固体单一基质中。据说这种组合在释放速率控制和再现性方面提供了独特的益处,同时允许片剂溶胀以实现胃滞留和片剂逐渐崩解以在发生药物释放后从胃肠道中清除片剂。同样转让给DepoMed的美国专利第6,340,475号(以引用的方式并入本文中)突出了通过将活性组分掺入由亲水性聚合物构成的聚合物基质中而产生的活性组分的单位口服剂型,所述亲水性聚合物在吸水时溶胀至足够大以促进剂型在进食模式期间保留在胃中的尺寸。聚合物基质由选自以下组成的组的聚合物形成:聚(环氧乙烷)、纤维素、交联聚丙烯酸、黄原胶和烷基取代的纤维素,如羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素和微晶纤维素。

[0340] 此外,DepoMed研究人员还开发了基于树胶的溶胀胃滞留系统。以引用的方式并入本文中的美国专利第6,635,280号公开了用于高度水溶性药物的控制释放口服剂型,其包含一种或多种形成固体聚合物基质的聚合物,所述聚合物基质在吸水时溶胀至足够大以促进剂型在进食模式期间保留在胃中的尺寸。聚合物基质可以由选自以下的聚合物形成:聚(环氧乙烷)、纤维素、烷基取代的纤维素、交联聚丙烯酸和黄原胶。以引用的方式并入本文中的美国专利第6,488,962号公开了最佳片剂形状,其防止通过幽门,同时保持便于吞咽。片剂使用水溶胀性聚合物制备,包括纤维素聚合物和其衍生物、多糖和其衍生物、聚环氧烷、聚乙二醇、聚葡萄胺糖、聚(乙烯醇)、黄原胶、顺丁烯二酸酐共聚物、聚(乙烯基吡咯烷酮)、淀粉和基于淀粉的聚合物、麦芽糖糊精、聚(2-乙基-2-噁唑啉)、聚(乙烯亚胺)、聚氨基甲酸酯水凝胶、交联聚丙烯酸和其衍生物,以及上面列出的聚合物的共聚物,包括嵌段共聚物和接枝聚合物。

[0341] 以引用的方式并入本文中的美国专利第6,723,340号公开了用于制备溶胀胃滞留组合物的最佳聚合物混合物。混合物提供溶胀和药物释放参数的最佳控制以及溶解/侵蚀参数的控制,以确保组合物在基本完全药物释放后进入小肠。优选的聚合物混合物包括聚(环氧乙烷)和羟丙基甲基纤维素的组合。为聚合物混合物提供优选的分子量范围和粘度范围。

[0342] 上述专利公开中描述的方法已经用于配制在多个出版物中描述的四种美国FDA批准的溶胀胃滞留制剂(例如综述于:Berner等人,《药物递送专家观点(Expert Opin Drug Deliv.)》3:541(2006))。

[0343] 以引用的方式并入本文中的美国专利公开案第20080220060号公开了胃滞留制剂,其包含用弱胶凝剂、强胶凝剂和气体产生剂的混合物制粒的活性物质。本文中,强胶凝剂选自由以下组成的组:甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、不含低取代羟丙基纤维素的羟丙基纤维素、羟乙基纤维素、乙基纤维素、羧甲基纤维素钠、黄原胶、瓜尔胶、角叉菜胶、刺槐豆胶、海藻酸钠、琼脂、明胶、改性淀粉、羧乙烯基聚合物的共聚物、丙烯酸酯的共聚物、氧乙烯和氧丙烯的共聚物和其混合物。所述专利还描述了制造方法。美国专利第7,674,480号公开了溶胀胃滞留制剂方法,其使用包括超级崩解剂、单宁酸和一种或多种水凝胶的混合物来提供非常快速的溶胀。以引用的方式并入本文中的美国专利公开案第20040219186号提供了可膨胀的胃滞留装置,其包含由多糖形成的、基于黄原胶或刺槐豆胶或其组合的凝胶。以

引用的方式并入本文中的美国专利公开案第20060177497号公开了基于结冷胶的口服控制释放剂型作为胃滞留的平台技术。剂型还包含亲水性聚合物,例如瓜尔胶、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠盐、黄原胶。

[0344] 美国专利第6,660,300号公开了一种双相溶胀胃滞留制剂技术,其适用于递送水溶性药物,其中溶胀和药物释放通过组合物的单独隔室实现:内部固体颗粒相包含药物和一种或多种亲水性聚合物、一种或多种疏水性聚合物和/或一种或多种疏水性材料,例如蜡、脂肪醇和/或脂肪酸酯。使用一种或多种疏水性聚合物和/或一种或多种疏水性材料(如蜡、脂肪醇和/或脂肪酸酯)形成外部固体连续相(其中嵌入含药物内相的颗粒)。公开了片剂和胶囊。

[0345] 适用于溶胀或可膨胀基质制剂的其它赋形剂包括(i)水溶胀性聚合物基质和(ii)选自以下的亲水性聚合物:聚环氧烷,特别是聚(环氧乙烷),聚乙二醇和聚(环氧乙烷)-聚(环氧丙烷)共聚物;纤维素聚合物;丙烯酸和甲基丙烯酸聚合物、其共聚物和酯,优选由丙烯酸、甲基丙烯酸、丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸乙酯和其彼此或与如丙烯酸氨基乙酯等其它丙烯酸酯物质的共聚物;顺丁烯二酸酐共聚物;聚顺丁烯二酸;聚(丙烯酰胺),如聚丙烯酰胺本身、聚(甲基丙烯酰胺)、聚(二甲基丙烯酰胺)和聚(N-异丙基丙烯酰胺);聚(烯醇),如聚(乙烯醇);聚(N-乙烯基内酰胺),如聚(乙烯基吡咯烷酮)、聚(N-乙烯基己内酰胺)和其共聚物;多元醇,如甘油、聚甘油(特别是高度支化的聚甘油)、丙二醇和1,3-丙二醇,其经一个或多个聚环氧烷取代,例如单-、二-和三-聚氧乙烯化甘油、单-和二-聚氧乙烯化丙二醇,和单-和二-聚氧乙烯化的1,3-丙二醇;聚氧乙烯化山梨糖醇和聚氧乙烯化葡萄糖;聚噁唑啉,包括聚(甲基噁唑啉)和聚(乙基噁唑啉);聚乙烯胺;聚乙酸乙烯酯,包括聚乙酸乙烯酯本身以及乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、聚乙酸乙烯酯邻苯二甲酸酯等,聚亚胺,如聚乙烯亚胺;淀粉和淀粉基聚合物;聚氨基甲酸酯水凝胶;聚葡萄胺糖;多糖胶;玉米蛋白;以及虫胶、氨化虫胶、虫胶-乙酰醇和虫胶硬脂酸正丁酯。胃滞留制剂还可包括漂浮制剂、粘膜粘附制剂、可膨胀基质制剂、变形制剂和/或磁性制剂的任何组合。

[0346] 在一些实施例中,本发明的药物组合物是胃滞留组合物,其由于溶胀至抑制通过幽门的大小而保留在胃中。在进一步的实施例中,胃滞留组合物通过溶胀和漂浮机制两者保留在胃中。

[0347] 展开、变形的胃滞留制剂

[0348] 还描述了在与液体胃内容物接触时展开、减压或以其它方式改变尺寸和/或形状的药物组合物,并且是本发明化合物和制剂的合适的递送媒剂。这种组合物采用与溶胀/膨胀胃滞留制剂相似的原理,因为其将胃中的形状改变成不易于准许通过幽门的尺寸和/或几何形状。用于制备展开、伸展或其它变形胃滞留组合物的方法和材料是本领域已知的。例如,美国专利第3,844,285号描述了多种供兽医用于反刍动物的此类装置,但是基本原理也适用于人胃滞留制剂。美国专利第4,207,890号描述了一种控制释放药物递送系统,其由“内部含有有效膨胀量的膨胀剂,药剂的塌陷的、可膨胀的、无孔的聚合物包膜”组成,在与胃液接触时溶胀且展开,且因此在膨胀状态下保留在胃中。所述组合物以崩解形式在胶囊内施用。已经综述了展开和变形胃滞留组合物(例如Klausner等人,《控制释放杂志(Journal of Controlled Release)》90:143(2003))。

[0349] Intec Pharma(Jerusalem,Israel)正在开发一种称为“手风琴丸(Accordion

Pill)”的示例性展开胃滞留技术。各种形状的多层平面结构(其中至少一层含有药物)折叠成手风琴或阶梯状形状并包装在胶囊内,如Kagan,L.《控制释放杂志》113:208(2006)中所述。手风琴丸和相关技术的其它特征公开在以引用的方式并入本文中的美国专利第6,685,962号中,包括优选用于其构造的药物赋形剂。胶囊在与胃内容物接触时溶解,释放折叠的组合物,所述组合物迅速展开,且然后当与常规膳食一起施用时保留在胃中长达12小时。

[0350] 其它胃滞留技术包括超多孔水凝胶和离子交换树脂系统。由于通过许多相互连接的孔快速吸水,超多孔水凝胶迅速溶胀(在接触液体的一分钟内)。组合物可溶胀至其原始尺寸的100倍或更多,但仍保持足够的机械强度以承受由于与亲水性聚合物(如交联羧甲基纤维素钠(例如商品名:Ac-Di-Sol))共同配制而引起的胃收缩力。离子交换树脂珠粒可装载带负电的药物并使用气体产生剂(例如碳酸氢盐,其与胃液中的氯离子反应产生二氧化碳气体)漂浮。将珠粒囊封在半透膜中,所述膜捕获气体,导致珠粒的长期漂浮。

[0351] 胃滞留制剂还可包括粘膜粘附、漂浮、筏形成、溶胀、展开/变形、超多孔水凝胶或离子交换树脂制剂的任何组合。这种组合是本领域的技术人员已知的。例如,以全文引用的方式并入本文中的美国专利第8,778,396号(“包含微粒的多单元胃肠道药物剂型”)描述了由微粒组成的组合的粘膜粘附漂浮胃滞留制剂。

[0352] 本发明的组合物可包括(但不限于)具有溶胀和/或粘膜粘附特性以进一步促进胃滞留的亲水性聚合物。具有溶胀和/或粘膜粘附特性的亲水性聚合物适合掺入本发明的组合物中,包括(但不限于)聚环氧烷;纤维素聚合物;丙烯酸和甲基丙烯酸聚合物和其酯、顺丁烯二酸酐聚合物;聚顺丁烯二酸;聚(丙烯酰胺);聚(烯醇);聚(N-乙烯基内酰胺);多元醇;聚氧乙烯化糖;聚噁唑啉;聚乙烯胺;聚乙酸乙烯酯;聚亚胺;淀粉和淀粉基聚合物;聚氨基甲酸酯水凝胶;聚葡萄胺糖;多糖胶;玉米蛋白;虫胶基聚合物;聚环氧乙烷、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钙、甲基纤维素、聚丙烯酸、麦芽糖糊精、预糊化淀粉和聚乙烯醇、其共聚物和混合物。

[0353] 从组合物中释放活性成分可以通过使用合适的阻滞剂来实现,所述阻滞剂包括由于释放阻滞特性而在制药领域中熟知的赋形剂。此类释放阻滞剂的实例包括(但不限于)聚合物释放阻滞剂、非聚合物释放阻滞剂或其任何组合。

[0354] 用于本发明目的的聚合物释放阻滞剂包括(但不限于)纤维素衍生物;多元醇;糖类、树胶和其衍生物;乙烯基衍生物、聚合物、共聚物或其混合物;顺丁烯二酸共聚物;聚环氧烷或其共聚物;丙烯酸聚合物和丙烯酸衍生物;或其任何组合。纤维素衍生物包括(但不限于)乙基纤维素、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、羟丙基纤维素(HPC)、羟乙基纤维素、羟甲基纤维素、羟乙基甲基纤维素、羧甲基纤维素(CMC)或其组合。多元醇包括(但不限于)聚乙二醇(PEG)或聚丙二醇;或其任何组合。糖类、树胶和其衍生物包括(但不限于)糊精、聚糊精、聚葡萄糖、果胶和果胶衍生物、海藻酸、海藻酸钠、淀粉、羟丙基淀粉、瓜尔胶、刺槐豆胶、黄原胶、刺槐树胶、黄蓍胶、角叉菜胶、阿拉伯树胶、阿拉伯胶、胡芦巴纤维或结冷胶等;或其任何组合。乙烯基衍生物、聚合物、共聚物或其混合物包括(但不限于)聚乙酸乙烯酯、聚乙烯醇、聚乙酸乙烯酯(8份w/w)和聚乙烯吡咯烷酮(2份w/w)的混合物(Kollidon SR)、乙烯基吡咯烷酮共聚物、乙酸乙烯酯共聚物、聚乙烯吡咯烷酮(PVP);或其组合。聚环氧烷或其共聚物包括(但不限于)聚环氧乙烷、聚环氧丙烷、聚(氧乙烯)-聚(氧丙烯)嵌段共聚物(泊洛沙姆)或其组合。顺丁烯二酸共聚物包括(但不限于)乙酸乙烯酯顺丁烯二酸酐共聚

物、丙烯酸丁酯苯乙烯顺丁烯二酸酐共聚物等或其任何组合。丙烯酸聚合物和丙烯酸衍生物包括(但不限于)卡波姆、甲基丙烯酸、聚甲基丙烯酸、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯等或其组合。聚甲基丙烯酸酯包括(但不限于)a)由选自甲基丙烯酸、甲基丙烯酸酯、丙烯酸和丙烯酸酯的单体形成的共聚物,c)由选自丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯和氯化甲基丙烯酸三甲基铵基乙酯的单体形成的共聚物等,或其任何组合。用于本发明目的的非聚合物释放阻滞剂包括(但不限于)脂肪、油、蜡、脂肪酸、脂肪酸酯、长链一元醇和其酯或其组合。在一个实施例中,本发明中使用的非聚合物释放阻滞剂包括(但不限于)Cutina(氢化蓖麻油)、Hydrobase(氢化大豆油)、Castorwax(氢化蓖麻油)、Croduret(氢化蓖麻油)、Carbowax、Compritol(山嵛酸甘油酯)、Sterotex(氢化棉籽油)、Lubritab(氢化棉籽油)、Apifil(蜡黄)、Akofine(氢化棉籽油)、Softtisan(氢化棕榈油)、Hydrocote(氢化大豆油)、Corona(羊毛脂)、Gelucire(月桂酸聚乙二醇甘油酯)、Precirol(棕榈基硬脂酸甘油酯)、Emulcire(鲸蜡醇)。Plurol diisostearique(二异硬脂酸聚甘油酯)和Geleol(硬脂酸甘油酯),和其混合物。

[0355] 本发明的胃滞留组合物可呈例如(但不限于)整体或多层剂型或嵌入式系统的形式。在本发明的一个实施例中,胃滞留组合物呈双层或三层固体剂型的形式。在说明性实施例中,呈用于口服施用的膨胀双层系统形式的固体药物组合物适于在到达胃肠道后立即从第一层递送活性药物组分,并在特定时间段内以修改的方式递送另一医药剂,其可与第二层相同或不同。可以配制第二层以在组合物中膨胀,从而延长组合物在胃中的滞留。

[0356] 在另一说明性实施例中,用于口服施用的固体药物组合物含有两层:一层包含活性组分以及合适的释放阻滞剂,且另一层包含可溶胀药剂与其它赋形剂的组合。在本发明的另一实施例中,用于口服施用的固体药物组合物含有包埋系统,所述系统是专用剂型,包含含有活性组分的第一片剂,所述第一片剂置于包含确保胃滞留的赋形剂的第二片剂内。在此系统中,含有活性组分的片剂很小并且在除了至少一侧之外的所有侧上覆盖有赋形剂的掺合物,所述赋形剂包含可溶胀聚合物或漂浮系统或两者,其确保胃滞留。

[0357] 在本发明的另一实施例中,剂型可以任选地经包覆。表面包衣可用于感官目的(特别是具有气味或令人不愉快味道的硫醇或二硫化物)、用于药物标记目的(例如用于剂型的颜色编码系统)、用于美学目的、用于使压缩剂型尺寸稳定、或用于延缓药物释放。表面包衣可以是适合肠内使用的任何常规包衣。可以使用常规成分的任何常规技术进行包覆。表面包衣可以例如使用常规聚合物使用快速溶解膜获得,所述聚合物为例如(但不限于)羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、羧甲基纤维素、聚乙烯醇、聚甲基丙烯酸酯等。包衣赋形剂和其使用方法是本领域熟知的。参见例如:McGinity,James W.和Linda A.Felton,《用于药物剂型的水性聚合物包衣(Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms)》,第三版,Informa Healthcare,2008。

[0358] 此外,在本发明的另一实施例中,所述组合物呈多颗粒形式,包括(但不限于)丸粒、微球、微胶囊、微珠、微粒或纳米颗粒,其在肠中具有延长的转运以有效递送在肠道中需要更长保留时间的活性剂。多颗粒系统可以是(i)生物粘附或粘膜粘附的,从而延迟胃肠道转运,或(ii)可漂浮在胃内容物的顶部,任选地形成凝胶状层,或(iii)可包覆有pH敏感性外层或在小肠的弱酸性环境中、或在回肠(通常是具有最高pH的肠段)的中性至微碱性环境中溶解的层,或(iv)可以使用含有聚合物的药物形成,所述聚合物不会被人体酶消化,但可

被肠细菌产生的酶消化,导致药物在远端回肠和结肠中释放。在一个实施例中,呈多颗粒形式的本发明组合物是胃滞留的。这种多颗粒系统可通过包括(但不限于)粒化、造粒、喷雾干燥、喷雾凝结等方法制备。

[0359] 合适的聚合物释放控制剂可用于本发明组合物中。在一个实施例中,聚合物释放控制剂是pH非依赖性的或pH依赖性的或其任何组合。在另一实施例中,用于本发明组合物中的聚合物释放控制剂可以是溶胀或非溶胀的。在另一实施例中,可用于本发明组合物中的聚合物释放控制剂包括(但不限于)纤维素衍生物、糖类或多糖、聚(氧乙烯)-聚(氧丙烯)嵌段共聚物(泊洛沙姆)、乙烯基衍生物或其聚合物或共聚物、聚环氧烷和其衍生物、顺丁烯二酸共聚物、丙烯酸衍生物等或其任意组合。

[0360] 可以构建用于口服使用的控制释放组合物,以通过控制活性药物物质的溶解和/或扩散来释放活性药物。可以采用许多策略中的任何一种以获得控制释放,且从而优化血浆浓度相对于时间曲线。在一个实例中,通过适当选择各种制剂参数和成分,包括例如各种类型的控制释放组合物和包衣来获得控制释放。因此,将药物与合适的赋形剂一起配制成药物组合物,所述药物组合物在施用后以受控方式释放药物。实例包括单个或多个单位片剂或胶囊组合物、油溶液、液体、悬浮液、乳液、微胶囊、微球、纳米颗粒、粉末和颗粒。在某些实施例中,组合物包括可生物降解的pH和/或温度敏感性聚合物包衣。

[0361] 溶解或扩散控制释放可以通过适当包覆化合物的片剂、胶囊、丸剂或颗粒制剂,或通过将化合物掺入合适的基质中来实现。控制释放包衣可包括一种或多种上述包衣物质和/或例如虫胶、蜂蜡、糖蜡、蓖麻蜡、巴西棕榈蜡、硬脂醇、单硬脂酸甘油酯、二硬脂酸甘油酯、棕榈酸硬脂酸甘油酯、乙基纤维素、丙烯酸树脂、dl-聚乳酸、乙酸丁酸纤维素、聚氯乙烯、聚乙酸乙烯酯、乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯、聚甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酸甲酯、2-羟基甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酸酯水凝胶、1,3-丁二醇、乙二醇甲基丙烯酸酯和/或聚乙二醇。在控制释放基质制剂中,基质材料还可包括例如水合甲基纤维素、巴西棕榈蜡和硬脂醇、carbopol 934、硅酮、三硬脂酸甘油酯、丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸甲酯、聚氯乙烯、聚乙烯和/或卤代碳氟化合物。

[0362] 或者,可以配制和施用体内半胱胺产生或吸收的某些半胱胺前体或增强剂作为医疗食品。医疗食品由美国FDA监管为食品,而不是药品。配制医疗食品的方法在本领域中是已知的。参见例如美国专利公开案第20100261791号,其描述了在食品或饮料中制备和施用活性化合物的方法。Nutracia是一家总部位于荷兰的医疗食品公司,拥有250多项专利申请和专利,描述了将药理学活性剂与食品或饮料结合的方法。

[0363] 包衣

[0364] 配制用于口服递送的药物组合物,例如本发明的片剂或胶囊可以被包覆或以其它方式混合,以提供具有延迟或延长释放优点的剂型。涂层可以适于以预定模式释放活性药物物质(例如,以实现控制释放制剂),或者可以使其适于直到在通过胃之后才释放活性药物物质,例如通过使用肠溶包衣(例如,pH敏感性聚合物(“pH控制释放”));具有缓慢或pH依赖性溶胀、溶解或侵蚀速率的聚合物(“时间控制释放”);被酶降解的聚合物(“酶控制释放”或“可生物降解释放”);和形成通过压力增加破坏的坚固层的聚合物(“压力控制释放”))。可用于本文所述的药物组合物的示例性肠溶包衣包括糖衣、薄膜包衣(例如基于羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、甲基羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羧甲基纤维素、丙烯酸酯共聚

物、聚乙二醇和/或聚乙烯吡咯烷酮),或基于甲基丙烯酸共聚物、邻苯二甲酸乙酸纤维素、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、乙酸丁二酸羟丙基甲基纤维素、聚乙酸乙烯酯邻苯二甲酸酯、虫胶和/或乙基纤维素的包衣。此外,可以使用延时材料,例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0365] 例如,片剂或胶囊可包含内剂量和外剂量组分,后者呈前者上的包膜形式。两种组分可以通过肠溶层分开,肠溶层用于抵抗胃中的崩解并允许内部组分完整地进入十二指肠或延迟释放。

[0366] 当使用肠溶包衣时,理想地,大量药物在下胃肠道中释放。或者,可以使用渗漏的肠溶包衣来提供立即释放与延迟释放制剂之间的释放曲线。例如,美国专利申请20080020041A1公开了包覆有肠溶材料的药物制剂,所述肠溶材料在接触胃液时释放至少一部分活性成分,其余部分在接触肠液时释放。

[0367] 除了影响延迟释放或延长释放的包衣之外,固体片剂组合物可包括适于保护组合物免于不希望的化学变化(例如,在活性药物物质释放之前的化学降解)的包衣。可以与《制剂技术百科全书(Encyclopedia of Pharmaceutical Technology)》,第5和6卷,Swarbrick和Boyland编,2000中所描述类似的方式将包衣施加于固体剂型上。

[0368] 对于控制释放制剂,组合物的活性成分可以靶向用于在小肠中释放。制剂可含有肠溶包衣,使得组合物对胃中发现的低pH环境具有抗性,但对小肠的较高pH环境敏感。为了控制小肠中活性成分的释放,可以使用多颗粒制剂来防止活性成分的同时释放。多颗粒组合物可以包括多个单独的肠溶包衣核心,其包括疏水相,所述疏水相含有分散在基于微晶纤维素的凝胶中的半胱胺前体或其盐,和含有水凝胶的亲水相。微晶纤维素(MCC)用作半胱胺前体或其盐的释放控制聚合物,在核心于肠中溶解或侵蚀时防止剂量倾倒且使半胱胺前体或其盐稳定化。两种或更多种就核心或包衣层中的赋形剂而言不同的多颗粒组合物可以组合在一种药物组合物(例如胶囊、粉末或液体)中,以便在更长的时间段内释放活性成分(例如半胱胺前体)。或者,可以如下地实现相同的效果:通过在两批或更多批微粒中使用不同浓度的赋形剂,且接着以选定的比率(例如1:1)组合来自不同批次的微粒以实现靶向药物释放曲线。

[0369] 组合物可包括多个单独的肠溶包衣核心,其含有约15%w/w至约70%w/w半胱胺前体或其盐、约25%w/w至约75%w/w微晶纤维素、和约2%w/w至约15%w/w甲基纤维素,其中%w/w是肠溶包衣核心的%w/w。

[0370] 在一些情况下,包括覆盖各个核心并将各个核心与其各自的肠溶包衣分离的连续蛋白质底衣层可能是有利的,因为蛋白质底衣层进一步增强了半胱胺前体或其盐的稳定性。连续的蛋白质底衣适于防止半胱胺前体或其盐与肠溶包衣混合。一些优选的蛋白质底衣具有以下属性:底衣可包括粘附于核心的明胶膜和/或底衣可包含干燥的蛋白质凝胶。

[0371] 在特定实施例中,肠溶包衣核心在置于0.1N HCl溶液中约2小时内释放不超过约20%的半胱胺前体或其盐,并且随后在置于基本中性的pH环境中约8小时内释放不少于约85%的半胱胺前体或其盐。

[0372] 优选地,肠溶包衣的核心是球形的并且直径不超过3mm。

[0373] 为了防止单独施用的组合物在胃中的粘附,可以用抗粘附剂涂覆本发明的组合物。抗粘附剂也可用于防止微粒彼此粘附。例如,组合物可以包覆有薄的微晶纤维素粉末最

外层。或者,可以通过用不溶于胃液但可渗透且可溶胀的聚合物包覆来防止粘附。例如,已显示30％的聚丙烯酸酯分散液(例如Eudragit NE30D,Evonik Industries)可以防止漂浮微小片剂在胃中粘附(参见Rouge等人,《欧洲药剂学和生物药学杂志(European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics)》43:165(1997))。

[0374] 用于肠溶包衣的所列赋形剂的商业形式包括例如各种品牌的聚甲基丙烯酸酯(化学异构的一组化合物,包括氨基甲基丙烯酸酯共聚物、铵基甲基丙烯酸酯共聚物、丙烯酸乙酯共聚物分散体、甲基丙烯酸甲酯共聚物分散体、甲基丙烯酸共聚物和甲基丙烯酸共聚物分散体),其由公司作为产品线销售,包括(但不限于)Ashland、BASF Fine Chemicals(Kollicoat产品线)、ColorCon(Acryl-EZE产品线)、Eastman Chemical(Eastacryl产品线)和Evonik Industries(Eudragit产品线)。

[0375] 用于回肠和结肠药物释放的制剂

[0376] 在一些实施例中,回肠和/或结肠靶向制剂可用于将半胱胺前体递送至远端回肠和结肠。(术语“结肠靶向”在本文中用于指回肠靶向和结肠靶向制剂两者;任何开始在回肠中释放药物的组合物也可能在结肠中释放药物,并且一些在回肠中释放的药物有可能会到达结肠)。结肠靶向组合物的药物递送优点包括与大肠上皮的长期接触和可用于位点特异性递送的结肠细菌的存在。

[0377] 从药代动力学角度来看,半胱胺的结肠吸收是理想的,因为由于其半衰期极短,必须在胃肠道中连续产生半胱胺(并被吸收)以将血液水平维持在治疗范围内。摄入的药物组合物(如果不是胃滞留组合物)可以在摄入后三至五小时到达结肠(平均而言,在大多数受试者中),如果在禁食条件下摄入,或在摄入食物后六至十小时(平均而言,在大多数受试者中)。在剂型到达结肠后将血液半胱胺水平维持在治疗范围内的唯一方法是确保半胱胺在结肠中产生和吸收。在小肠中释放的一些半胱胺前体可以完整地进入结肠并在结肠中降解为半胱胺。然而,为了在结肠中提供稳固的半胱胺产生,应该配制半胱胺前体以在结肠(或回肠)中释放,其中它们可以降解为半胱胺并被吸收。结肠靶向组合物不打算单独用作半胱胺敏感性疾病的疗法,而是用于补充针对胃肠道其它区域的制剂。

[0378] 已经广泛开发了两种结肠靶向递送方法,并在下文描述。

[0379] 第一种方法涉及利用通过肠细菌在结肠中产生的酶。肠细菌可以消化唾液、胃液、肠液或胰液中存在的人体酶难以消化的各种聚合物。含有这种聚合物的药物组合物不能被消化-且因此与聚合物混合的活性成分不能逃逸-直到其遇到由回肠末端(其中细菌密度开始增加)或结肠(其中可能存在每毫升结肠内容物1,000,000,000,000个细菌)中的肠细菌产生的酶。

[0380] 半胱胺前体和/或其它活性成分(例如体内半胱胺生成或吸收的增强剂)可以与延迟药物释放的聚合物混合,并且仅可通过肠细菌产生的酶消化(在人胃肠道中)。用于基于肠细菌选择性降解的结肠靶向药物递送的聚合物包括聚葡萄糖水凝胶(Hovgaard,L.和H.Brondsted,《控制释放杂志(J.Controlled ReI.)》36:159(1995))、交联软骨素(Rubinstein等人,《药学研究(Pharm.Res.)》9:276(1992)),和含有偶氮芳香族部分的水凝胶(Brondsted,H.和J.Kopoecek,《药学研究》9:1540(1992);和Yeh等人,《控制释放杂志》36:109(1995))。

[0381] 药物与载体共价连接以在胃和小肠中形成稳定的前体,并在通过肠道微生物菌群

酶促裂解后在大肠中释放药物;这些前体的实例包括偶氮结合物、环糊精结合物、糖苷结合物、葡糖醛酸盐结合物、聚葡萄糖结合物、多肽和聚合物结合物。基本原理是将药物与载剂连接的共价键必须是人体酶难以消化的,但可被肠细菌酶消化。

[0382] 第二种方法涉及利用回肠相对于胃肠道的其它部分的高pH。在健康受试者中,胃肠道中的pH从十二指肠(从近端至十二指肠远端,约5.5至6.6)增加至回肠末端(约pH 7-7.5),然后在盲肠中降低(约pH 6.4),且接着从结肠的右侧到左侧再次增加,最终值约为pH 7。

[0383] 组合物可以用pH敏感性聚合物包覆,所述聚合物仅在中性至弱碱性pH(例如高于pH 6.5、高于pH 6.8或高于pH 7)下溶解。在pH敏感性包衣下面是持续释放制剂,通过扩散、侵蚀或组合从中缓慢释放药物。此方法描述于以引用的方式并入本文中的美国专利第5,900,252号中。

[0384] 可以组合基于肠细菌和pH的结肠靶向方法。参见例如:Naeem等人,《胶体与表面B辑生物界面(Colloids Surf B Biointerfaces)》S0927(2014)。所述研究描述了使用细菌可消化聚合物形成的包衣纳米颗粒。另一种组合pH和细菌酶消化以将含药物的液体填充胶囊递送到结肠的技术描述于美国专利公开案第20070243253号中,其公开了使用聚合物的制剂,所述聚合物包括淀粉、直链淀粉、支链淀粉、聚葡萄胺糖、硫酸软骨素、环糊、聚葡萄糖、普鲁兰、角叉菜胶、硬葡聚糖、几丁质、胶体态葡聚糖和果聚糖,以及在高于约pH 5或更高pH溶解的pH敏感性包衣。

[0385] 结肠靶向药物递送的其它方法采用:(i)时间释放系统,其中一旦多层制剂通过胃,外层开始溶解,并且基于包衣的厚度和组成,药物在3-5小时的滞后时间后释放,这是关于小肠的通过时间;(ii)氧化还原敏感性聚合物,其中偶氮聚合物和二硫化物聚合物的组合响应于结肠的低氧化还原电位而提供药物释放;(iii)选择性粘附于结肠粘液,减缓剂型的转运以使药物释放药物的生物粘附聚合物;和/或(iv)渗透控制药物递送,其中药物由于渗透压而通过半透膜释放。

[0386] David R.Friend的书“经口结肠特异性药物递送(Oral Colon-Specific Drug Delivery)”(CRC Press,1992)提供并概述了较早的结肠靶向方法(其中许多仍然有用),如基于聚葡萄糖的递送系统、基于糖苷/糖苷酶的递送、偶氮键前药、羟丙基甲基丙烯酰胺共聚物和其它结肠递送基质。最近已由例如Bansal等人,Polim Med.44:109(2014)综述了结肠靶向药物递送。最近的方法包括使用仅可由肠细菌产生的酶消化的新型聚合物,包括在各种植物中发现的天然聚合物,以及微珠、纳米颗粒和其它微粒。

[0387] 治疗方法

[0388] 本发明涉及适用于治疗半胱胺敏感性疾病和病症的新型组合物和方法。治疗需要口服可在胃肠道中转化为半胱胺的半胱胺前体。一类重要的半胱胺前体是混合二硫化物,其在体内还原后提供两种硫醇。两种硫醇都可以在体内转化为半胱胺,或仅一种。两种硫醇都可转化为半胱胺的半胱胺前体是用于疾病,包括胱氨酸病、囊性纤维化、疟疾以及病毒和细菌感染的优选类别的治疗剂。这种混合二硫化物的非限制性实例包括半胱胺-泛酰巯基乙胺和半胱胺-4-磷酸泛酰巯基乙胺。

[0389] 对于一些其它疾病,可以选择不可转化为半胱胺的第二硫醇,以补充或增强半胱胺的治疗效果。在某些实施例中,用于治疗神经退化和神经精神疾病的混合二硫化物半胱

胺前体包括来自以下组的第二硫醇:N-乙酰半胱氨酸、半胱氨酸甲酯、半胱氨酸乙酯、γ谷氨酰半胱氨酸、γ谷氨酰半胱氨酸乙酯、高半胱氨酸、半胱氨酸和二氢硫辛酸。

[0390] 混合二硫化物半胱胺前体的组合在解决特定疾病的病理生理学方面,或者在定制治疗方案中以解释疾病状态、疾病活动性、药物代谢或药物敏感性的患者间变化方面提供了进一步的灵活性。例如,其中两种硫醇可在体内转化为半胱胺的混合二硫化物可与其中仅一种硫醇可在体内转化为半胱胺的混合二硫化物共同施用。两种类型的混合二硫化物的比率可以在约1:1至约1:10之间变化。

[0391] 半胱胺前体可以与增强(i)前体体内转化为半胱胺和(ii)肠上皮细胞随后吸收半胱胺所需的生化过程的药剂共同施用。可以选择和给予这些增强剂以增强或补充半胱胺前体在特定疾病中的治疗效果,或个体化特定患者的治疗方案。例如,二硫化物半胱胺前体可与增强二硫键还原的还原剂共同施用。还原剂可以是生理化合物,例如硫醇谷胱甘肽、半胱氨酸、高半胱氨酸、γ-谷氨酰半胱氨酸,或者它可以是那些化合物之一的类似物,例如N-乙酰半胱氨酸、半胱氨酸甲酯、半胱氨酸乙酯或γ谷氨酰半胱氨酸乙酯,或者它可以是二硫醇,如二氢硫辛酸,或非硫醇还原剂,如维生素C(抗坏血酸)。

[0392] 从本发明的混合二硫化物释放的半胱胺和其它硫醇可通过几种机制中的任一种来提供治疗效果。

[0393] 半胱胺在体内具有多效化学和药理作用,包括(i)抗氧化剂,(ii)还原剂和硫醇-二硫键交换的参与者,(iii)酶抑制剂和(iv)铜螯合剂。半胱胺还调节某些与疾病相关的化学物质和蛋白质的血浆水平。例如,半胱胺:(v)降低甘油三酯和低密度脂蛋白相关胆固醇,其高水平与心脏病和动脉粥样硬化有关,并且(vi)降低总脂联素以及脂联素多聚物的相对丰度,其高水平与代谢综合症和其它疾病有关。半胱胺还具有(v)抗寄生虫,(vi)抗细菌和(vii)抗病毒作用,以及(viii)抗纤维化作用,所有这些都是通过不确定的机制。

[0394] (i)半胱胺可直接作为抗氧化剂,通过提供还原基团来中和活性氧类(ROS)。

[0395] (ii)半胱胺可以增加其它生理抗氧化剂的水平,包括谷胱甘肽(GSH),体内的主要抗氧化剂,和半胱氨酸,血清和胃肠道中的重要抗氧化剂。半胱胺的抗氧化和GSH恢复特性与广泛的疾病相关,其中高水平的氧化脂质、蛋白质或小分子(通常伴有低水平的GSH)有助于发病机制。异常氧化产物是促成因素的疾病包括神经退化性疾病、囊性纤维化和与HIV感染相关的免疫功能受损(参见Herzenberg等人,《美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci U S A.)》94:1967(1997);和Bhaskar等人,《生物化学杂志(J Biol Chem.)》290:1020(2015))。GSH是一种三肽,通过肠道中的蛋白酶降解为其成分氨基酸。因此,口服GSH不是将GSH递送至身体的有效方式。半胱胺疗法是提高GSH水平的有效方法。

[0396] (iii)半胱胺可以化学还原,或参与与含有谷胱甘肽的二硫化物和含有半胱氨酸的二硫化物(包括胱氨酸)的硫醇-二硫键交换反应,从而产生游离谷胱甘肽和半胱氨酸,其反过来可以还原其它氧化化合物或中和活性氧类。游离半胱氨酸(例如由半胱胺-胱氨酸交换产生)也可用于谷胱甘肽合成。除了促进硫醇-二硫键与游离胱氨酸和半胱氨酸的交换外,半胱胺还可以与蛋白质中的胱氨酸和半胱氨酰残基相互作用,包括控制细胞抗氧化防御机制的各种氧化还原敏感蛋白。半胱胺还通过与溶酶体胱氨酸的硫醇-二硫键交换反应抑制胱氨酸病中的病理性胱氨酸积累,形成半胱氨酸和半胱氨酸-半胱胺混合二硫化物,其均可以在没有功能性胱氨酸蛋白基因的情况下离开溶酶体。(半胱氨酸-半胱胺二硫化物由

PQLC2基因编码的赖氨酸/七螺旋蛋白质转运蛋白转运)。

[0397] (iv)半胱胺抑制组织转谷氨酰胺酶(也称为转谷氨酰胺酶2或TG2),这是一种与亨廷顿氏病的发病机制有关的细胞质酶。胱胺(两个半胱胺的二硫化物)也是TG2抑制剂,并且在亨廷顿氏病模型中已经比半胱胺更广泛地进行了测试。然而,在细胞质强烈还原的环境中,几乎所有的胱胺都被还原为半胱胺。因此,半胱胺可能是胱胺的活性形式(参见:Jeitner等人,《生物化学药理学(Biochem Pharmacol.)》69:961(2005))。胱胺改善运动功能并延长亨廷顿氏病的几种小鼠模型的寿命。这些有益作用可以由脑源性神经营养因子(BDNF)介导,其在胱胺治疗时增加。胱胺也同样可能通过半胱胺产生来抑制细胞质酶半胱天冬酶-3。亨廷顿氏病基因亨廷顿蛋白的异常致病产物诱导半胱天冬酶-3的活化并随后从培养细胞中的线粒体释放细胞色素c,最终导致细胞凋亡。在高浓度(例如25毫摩尔)下,半胱胺还抑制基质金属蛋白酶(MMP),这是一组锌依赖性内肽酶,在血管生成、伤口愈合和组织重塑中具有生理作用。MMP在一些癌症中过度表达,并通过降解细胞外基质而促成侵袭和转移。半胱胺抑制体外胰腺癌细胞的迁移和侵袭以及体内胰腺癌异种移植物的生长(Fujisawa等人,《公共科学图书馆·综合(PLoS One)》.7:e34437(2012))。

[0398] (v)与一些其它硫醇一样,半胱胺是一种强铜螯合剂,它可能是一些膀胱病患者的主要副作用的原因,这些患者由于其疾病相关的肾功能不全而已经具有低铜和血浆铜蓝蛋白水平。然而,铜螯合可能在神经退化疾病,例如阿尔茨海默氏病中具有治疗益处。

[0399] (vi)半胱胺在两种慢性肾病小鼠模型中通过TGF-β独立机制降低氧化蛋白水平并抑制肌成纤维细胞增殖。肌成纤维细胞产生细胞外基质,包括胶原蛋白,且异常肌成纤维细胞增殖与多种慢性纤维化疾病的瘢痕形成、收缩和器官功能丧失有关,包括肾病(例如奥尔波特病、局灶节段性肾小球硬化)、肺病(例如囊性纤维化、肺纤维化、慢性阻塞性肺病)和肝病(例如非酒精性脂肪酸肝病、非酒精性脂肪性肝炎和酒精性脂肪性肝炎)。

[0400] (vii)半胱胺抑制在体外和小鼠疟疾模型中引起疟疾的寄生虫,恶性疟原虫的增殖,而不会不利地调节宿主发炎性反应。施用半胱胺前体泛硫乙胺可预防感染伯氏疟原虫(Plasmodium berghei)ANKA株的小鼠的脑综合症。半胱胺还增强治疗上重要的青蒿素抗疟疾家族。在一些实施例中,青蒿素-半胱胺前体组合用于治疗疟疾,包括新出现的青蒿素抗性疟原虫株以及脑疟疾。用于治疗疟疾的优选半胱胺前体是可以产生两个半胱胺的那些;也就是说,二硫化物半胱胺前体,其中还原时产生的两种硫醇都可转化成半胱胺。示例性的二硫化物半胱胺前体包括通过连接半胱胺与泛酰巯基乙胺或半胱胺与4-磷酸泛酰巯基乙胺形成的那些。与二硫化物半胱胺前体共同施用的优选的二硫键还原增强剂包括硫醇泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A和辅酶A,它们各自本身是半胱胺前体。

[0401] (viii)半胱胺促进脂联素的多聚化,脂联素是由脂肪细胞产生的信号传导分子。低水平的脂联素与胰岛素抗性和发炎有关,并且可能有助于I型和II型糖尿病的发病机制。高分子量脂联素可能有助于介导胰岛素信号传导。患有用半胱胺治疗24周的非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的儿科患者具有增加的高分子量脂联素多聚体水平。半胱胺可在治疗上适用于与低脂联素水平相关的病况,包括胰岛素抗性代谢疾病,例如糖尿病。除了总脂联素外,脂联素多聚体的分布可以独立地解释个体和群体之间代谢性状的变化性。

[0402] (ix)半胱胺具有多效抗病毒作用。例如,它可以通过干扰感染性病毒颗粒的产生、通过阻断前病毒DNA形成或通过与蛋白质的半胱氨酸残基形成混合二硫化物来抑制HIV复

制,从而改变细胞膜的二硫桥结构并限制病毒的吸附。半胱胺还可以抑制A、B和C型流感病毒的生长,包括禽流感病毒亚型,如H5N1、H1N2、H2N2、H3N2、H3N8、H5N1、H5N2、H5N3、H5N8、H5N9、H7N1、H7N2、H7N3、H7N4、H7N7、H9N2和H10N7。半胱胺还可以抑制西班牙、亚洲和香港的流感病毒株以及猪、马和犬流感病毒的增殖。美国专利第8,415,398号公开了半胱胺的抗病毒用途。

[0403] 在特定疾病中,半胱胺可以通过上述作用机制之一、通过多种机制、或通过一种或多种尚未鉴定的机制起作用。

[0404] 有半胱胺功效证据的疾病和病症包括胱氨酸病;神经退化性疾病;神经发育障碍,例如瑞特综合症;线粒体病症,例如利氏综合症、MELAS、MERFF、弗里德希氏共济失调和与POLG基因突变相关的病症,以及某些形式的自闭症;肾脏(例如奥尔波特病、局灶节段性肾小球硬化症(FSGS))、肝脏(例如非酒精性脂肪性肝炎(NASH)和酒精性脂肪性肝炎(ASH))和肺部纤维化疾病(肺纤维化、慢性阻塞性肺病(COPD)、囊性纤维化(CF));寄生虫感染(例如疟疾和脑疟疾);镰状细胞贫血;癌症;中风;细菌感染,包括生物膜形成细菌,如铜绿假单胞菌;病毒感染,包括流感病毒和人类免疫缺陷病毒感染(AIDS);代谢性疾病,包括代谢综合症X和非酒精性脂肪性肝病(NAFLD);金属中毒,包括铜和中毒;和防止辐射毒性。

[0405] 与半胱胺或可降解为半胱胺的化合物结合的其它硫醇二硫化物可提供互补的治疗功效。例如,由半胱胺与L-半胱氨酸或L-半胱氨酸衍生物,如L-半胱氨酸甲酯、L-半胱氨酸乙酯、N-乙酰半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸乙酯或N-乙酰半胱氨酸酰胺反应形成的二硫化物可在神经退化性疾病的治疗,或有毒金属的螯合和排泄中具有互补功效。

[0406] 本发明的组合物通过允许更好地控制半胱胺血液水平(即将半胱胺长期维持在治疗范围内),并且在混合二硫化物的情况下,任选地通过提供第二治疗性硫醇部分,将为这些疾病提供改善的治疗,从而提高疗效和患者便利性,同时减少副作用和患者对治疗的不顺应性。

[0407] 神经退化性疾病

[0408] 神经退化性疾病包括亨廷顿氏病(HD)、帕金森氏病(PD)、阿尔茨海默氏病(AD)和神经退化伴以脑铁积累(NBIA),也称为哈-斯二氏综合症。这些由已知基因突变不同程度引起的疾病的特征在于神经元结构或功能的进行性丧失,包括神经元死亡。HD完全归因于HTT基因外显子1中CAG三联体的扩增,而NBIA与约10个基因的突变相关,最常见的是PANK2(30-50%的病例)。较小比例的PD和AD病例来源于遗传。神经退化性疾病还与多种蛋白质错误折叠异常(例如α-突触核蛋白的聚集、tau蛋白的过磷酸化和聚集、以及β淀粉样蛋白的聚集)、以及蛋白质降解途径的错误调节(例如泛素-蛋白酶体途径和自噬-溶酶体途径)、膜损伤、线粒体功能障碍、轴突运输缺陷或程序性细胞死亡途径的错误调节(例如细胞凋亡和自噬)相关。

[0409] 亨廷顿氏病(HD)细胞具有非常低水平的胱硫醚γ-裂解酶(CSE),其是来自胱硫醚的半胱氨酸的重要产生剂。缺陷发生在转录水平,且可能是神经退化的重要介体。向HD组织和HD动物模型施用半胱氨酸逆转氧化应激和其它异常。还有证据表明半胱氨酸对其它神经退化性疾病有效,包括伴有铁积累的神经退化、帕金森氏病、阿尔茨海默病和神经发育障碍,例如瑞特综合征和其它MECP-2相关病症。然而,口服施用的半胱氨酸具有低生物利用度,并且在大剂量下可能是有毒的。

[0410] 半胱胺穿过血脑屏障,可以促进体内半胱氨酸形成(例如通过与胱氨酸的硫醇-二硫键交换),并且可以为半胱氨酸生物合成提供硫源。半胱胺在三种不同的HD小鼠模型中表现出有益效果。四项研究显示在R6/2小鼠模型中的有益效果。R6/2HD小鼠模型含有表达具有非常长的CAG三联体重复序列的突变型人HTT等位基因的外显子1的转基因。半胱胺的有益作用包括改善体重减轻和运动异常,以及延长存活期。一项研究显示在R6/1小鼠模型中有益,所述模型还含有外显子-1转基因,其具有较小的扩展CAG重复序列和较温和的表型。还显示半胱胺在HD的YAC128小鼠模型中是有益的,其包含具有扩展的CAG重复序列的全长HTT基因。半胱胺的作用机制尚不确定。

[0411] 2014年2月,Raptor制药公司公布了对亨廷顿氏病的RP103(延迟释放半胱胺酒石酸氢盐)正在进行的为期3年的2/3期临床试验的18个月中期分析结果。共有96名HD患者随机分组接受RP103或安慰剂治疗。RP103治疗的患者以每天1200mg半胱胺给药,大约是用于胱氨酸病的剂量的一半。89名患者完成了最初的18个月阶段。对参加试验的所有96名患者的分析显示,在接受RP103治疗的患者中,总运动评分(TMS)恶化较慢的趋势为正,这是所述研究的主要终点。与治疗18个月后用安慰剂治疗的患者相比,用RP103治疗的患者TMS进展慢32%(分别为4.51相对于6.68,p=0.19)。在66例未同时服用丁苯那嗪的患者中,与安慰剂组相比时,RP103治疗导致如根据TMS测量的疾病进展的统计显著延迟(分别为2.84分相对于6.78,p=0.03)。

[0412] 对于本文所述的神经退化疾病或精神疾病的治疗,半胱胺前体理想地选自下组的混合二硫化物:半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+半胱氨酸、半胱胺+N-乙酰半胱氨酸、半胱胺+N-乙酰半胱氨酸酰胺、半胱胺+N-乙酰半胱氨酸乙酯、半胱胺+3-巯基丙酮酸、半胱胺+γ-谷氨酰半胱氨酸乙酯、泛酰巯基乙胺+半胱氨酸、泛酰巯基乙胺+N-乙酰半胱氨酸、半胱胺+N-乙酰半胱氨酸酰胺、泛酰巯基乙胺+N-乙酰半胱氨酸乙酯、泛酰巯基乙胺+3-巯基丙酮酸、泛酰巯基乙胺+γ-谷氨酰半胱氨酸乙酯、2个半胱胺+二氢硫辛酸、2个泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸、半胱胺+泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸、半胱胺+AD4+二氢硫辛酸和半胱胺+N-乙酰半胱氨酸乙酯+二氢硫辛酸。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0413] 肝病

[0414] 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是美国和欧洲最常见的慢性肝病,且其发病率在亚太地区迅速增加。美国NAFLD患病率估计在23%至33.6%之间。据估计,高达80%的代谢综合症患者(美国约4700万人)也可能患有NAFLD。在一些患者中,NAFLD进展为非酒精性脂肪性肝炎(NASH),这是一种潜在致死的疾病,和正增长的肝衰竭病因,估计在美国患病率为2%至5.7%。

[0415] 没有FDA批准用于NAFLD、NASH或酒精性脂肪性肝炎(ASH)的治疗。包括抗氧化剂维生素E、降血糖药二甲双胍和PPARγ激动剂吡格列酮和罗格列酮在内的多种药剂的临床试验产生了令人失望的结果。半合成胆汁酸衍生物奥贝胆酸(一种类法尼醇X受体激动剂)的2期临床试验一直很有前景。针对胰岛素抗性的其它实验性疗法且正在测试中。

[0416] 2011年,Dohil等人(《营养药理学与治疗学(Aliment Pharmacol.Ther.)》33:1036(2011))对11名患有NAFLD的儿童进行了一项肠溶包衣半胱胺的小型、开放性的24周试验。半胱胺降低了11名患者中7名患者的肝酶ALT和AST血清水平(肝细胞损伤指数),这种作用

在治疗结束后持续6个月。然而,对身体质量指数(BMI)没有影响。这项开放式的2a期临床试验涉及患有活检证实的中度至重度NAFLD诊断且基线ALT和AST水平至少是正常上限值两倍的儿童。这些患者每天两次接受肠溶包衣半胱胺,持续六个月,然后是为期六个月的治疗后监测期。在所有患者中,ALT平均减少54%(p=0.004),满足ALT从基线减少至少50%的预定主要终点。此外,患者在次要终点方面有所改善,包括AST(41%平均减少,p=0.02)、细胞角蛋白18(平均减少45%,p=0.026)和脂联素(平均减少35%,p=0.023)。在停药后测量血清转氨酶,并且ALT和AST的降低在6个月治疗后阶段期间持续存在。在Dohil等人的此概念验证研究后,Raptor制药公司与国家糖尿病以及消化和肾脏疾病研究所(NIDDK)合作发起了一项临床试验。这项名为半胱胺酒石酸氢盐延迟释放用于治疗儿童非酒精性脂肪性肝病(CyNCh)的试验已在NIDDK赞助的NASH临床研究网络的10个美国中心招募了160名儿科参与者。

[0417] CyNCh是一项多中心、双盲、随机、安慰剂对照的IIb期临床试验,对于患有组织学证实的NAFLD的儿童用延迟释放半胱胺(RP103)胶囊(对于≤65kg的患者,口服300mg,每日两次;对于>65-80kg的患者,口服375mg,每日两次;或对于>80kg的患者,口服450mg,每日两次)或安慰剂进行治疗。半胱胺的剂量几乎比用于治疗胱氨酸病的剂量低3倍是可能的,因为肝脏中半胱胺的首过代谢消除了肠道吸收的半胱胺的约40%,这是半胱胺敏感性疾病全身疗法的障碍,但是有利于治疗肝脏疾病。

[0418] 其它可能受益于半胱胺疗法的肝病包括酒精性脂肪性肝炎和急性慢性肝功能衰竭。

[0419] 对于本文所述的肝病的治疗,半胱胺前体理想地选自以下混合二硫化物组:半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+半胱氨酸、半胱胺+N-乙酰半胱氨酸、半胱胺+N-乙酰半胱氨酸乙酯、半胱胺+谷胱甘肽、半胱胺+谷胱甘肽单乙酯、半胱胺+谷胱甘肽二乙酯、半胱胺+γ-谷氨酰半胱氨酸、半胱胺+γ-谷氨酰半胱氨酸乙酯、半胱胺+半胱氨酰甘氨酸、半胱胺+二氢硫辛酸、泛酰巯基乙胺+半胱氨酸、泛酰巯基乙胺+N-乙酰半胱氨酸、泛酰巯基乙胺+N-乙酰半胱氨酸乙酯、泛酰巯基乙胺+谷胱甘肽、泛酰巯基乙胺+谷胱甘肽单乙酯、泛酰巯基乙胺+谷胱甘肽二乙酯、泛酰巯基乙胺+γ-谷氨酰半胱氨酸、泛酰巯基乙胺+γ-谷氨酰半胱氨酸乙酯、泛酰巯基乙胺+半胱氨酸甘氨酸、泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸、2个半胱胺+二氢硫辛酸、2个泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸、2个N-乙酰半胱氨酸+二氢硫辛酸、NAC+半胱胺+二氢硫辛酸、半胱胺+泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸、N-乙酰基半胱胺+泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸和半胱胺+半胱氨酸+二氢硫辛酸。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0420] 疟疾

[0421] 以上已经描述了作为单独治疗和作为青蒿素的增效剂的半胱胺在疟疾中的有效性的体外和体内证据。半胱胺治疗可以使患有疟疾和脑疟疾的患者受益。

[0422] 对青蒿素的抗性的特征在于青蒿素治疗后寄生虫的清除显著延迟。青蒿素衍生物的半衰期约为1小时,且因此需要至少经若干天每天给药。例如,WHO批准的成人剂量的复方蒿甲醚(蒿甲醚-苯芴醇)在0、8、24、36、48和60小时为4片(6个剂量)。由于其类似的短暂半衰期,如果使用半胱胺前体的立即释放制剂,可以按照相同的时间表给予半胱胺,或者可以每12小时给药持续3天,剂量与用于治疗患有胱氨酸病的患者的剂量相似,即成人每天2.5

克。

[0423] 胱氨酸病

[0424] 胱氨酸病是一种罕见的常染色体隐性遗传性溶酶体贮积病。它是遗传性肾脏范康尼氏综合症(Fanconi syndrome)的最常见且潜在可治疗的病因。未经治疗的肾功能在生命的第一个十年结束时迅速恶化,导致需要肾移植的终末期肾病。胱氨酸病管理中的两个主要里程碑,用半胱胺消耗胱氨酸的疗法和同种异体肾移植对胱氨酸病患者的预后具有相当大的影响。然而,当使用半胱胺酒石酸氢盐(Cystagon®)的立即释放制剂时,由于显著的副作用和严格的6小时给药方案,顺应半胱胺疗法已成为主要问题。最近,美国FDA和欧洲EMA批准了一种新的每日两次延迟释放的半胱胺酒石酸氢盐(Procysbi®)肠溶包衣配方,用于治疗胱氨酸病,并且已被证明是Cystagon®的安全且有效的替代品。半胱胺的推荐维持剂量(对于立即释放制剂Cystagon®,每6小时,或对于延迟释放制剂Procysbi®,每日两次)为每天每平方米体表面积1.3克。如果白细胞胱氨酸水平保持高于每毫克WBC蛋白1纳摩尔1/2胱氨酸,则剂量可以增加至1.95克/平方米/天。

[0425] 对于本文所述的胱氨酸病的治疗,半胱胺前体理想地选自以下混合二硫化物组:半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+N-乙酰基半胱胺、半胱胺+烯丙基硫醇、半胱胺+半胱氨酸、半胱胺+3-巯基丙酮酸、N-乙酰基半胱胺+泛酰巯基乙胺、N-乙酰基半胱胺+N-乙酰基半胱胺、N-乙酰基半胱胺+烯丙基硫醇、N-乙酰基半胱胺+半胱氨酸和N-乙酰基半胱胺+3-巯基丙酮酸。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0426] 遗传性线粒体疾病

[0427] 半胱胺直接清除ROS,包括超氧化物自由基、醛(脂质过氧化的有毒产物)和过氧化氢。半胱胺还通过二硫键还原和参与硫醇-二硫键交换反应,包括与产生半胱氨酸和半胱氨酸-半胱胺混合二硫化物的胱氨酸的反应来促成其它还原硫醇的形成。此反应增加了细胞半胱氨酸库。半胱氨酸是谷胱甘肽(GSH)生物合成中的限速底物。谷胱甘肽是由氨基酸半胱氨酸、谷氨酸和甘氨酸构成的三肽。

[0428] 低GSH水平损害线粒体功能,这可能加重遗传性线粒体疾病。Salmi等人(斯堪的纳维亚临床和实验室调查(Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation),2012)研究了一群儿童的生物化学和/或遗传证实线粒体疾病,且发现改变的血浆硫醇水平和氧化还原状态,指示氧化应激和抗氧化剂供应消耗的增加。半胱胺增加细胞硫醇水平(包括半胱氨酸)的能力可潜在地解决线粒体疾病患者的相对硫醇缺乏症。半胱胺直接清除ROS的能力可以抵消增加的氧化应激并改善这些疾病中受损的线粒体功能。

[0429] 2014年,Raptor制药公司启动了一项开放式、剂量递增的2期试验,在利氏综合症和其它遗传性线粒体疾病患者中,其延迟释放半胱胺RP103每12小时以两个分次剂量施用至多1.3克/平方米/天,持续至多6个月。

[0430] 示例性遗传性线粒体疾病包括(但不限于)弗里德希氏共济失调、莱伯氏遗传性视神经病变(Leber's hereditary optic neuropathy)、肌阵挛性癫痫和蓬毛样红纤维、线粒体脑肌病、乳酸性酸中毒和中风样综合症(MELAS)、凯-塞二氏综合症(Kearn-Sayre

syndrome)、亚急性坏死性脑病(利氏综合症)和线粒体心肌病以及由多个线粒体DNA缺失导致的其它综合症。其它线粒体疾病包括神经源性肌无力、共济失调和视网膜色素变性(NARP)、进行性外部眼肌麻痹(PEO)以及复合体I疾病、复合体II疾病、复合体III疾病、复合体IV疾病和复合体V疾病,其涉及OXPHOS复合体的功能障碍。此外,POLG基因的突变以及某些形式的自闭症。

[0431] 对于本文所述的线粒体疾病的治疗,半胱胺前体理想地选自以下混合二硫化物组:半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+N-乙酰基半胱胺、半胱胺+3-巯基丙酮酸、半胱胺+二氢硫辛酸、2个半胱氨酸+二氢硫辛酸、2个泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸、半胱胺+泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸、半胱胺+N-乙酰基半胱胺+二氢硫辛酸和半胱胺+泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0432] 囊性纤维化和其它慢性呼吸道疾病

[0433] 囊性纤维化(CF)由CFTR基因中的功能丧失突变引起,所述基因编码在各种上皮细胞中表达的cAMP调节的氯通道。CFTR功能缺陷导致主要临床表现,包括慢性肺部炎症伴以对呼吸道细菌感染的易感性增加、胰腺功能障碍和男性不育。三碱基缺失突变ΔF508占北欧和北美CF的约70-90%。如果通过校正分子在质膜上挽救,ΔF508-CFTR可以保留部分氯离子通道活性,但是在这种情况下,ΔF508-CFTR从质膜快速再循环并转向溶酶体降解。因此,稳定质膜上的ΔF508-CFTR仍然是一项具有挑战性的任务。功能性CFTR的丧失诱导活性氧类(ROS)和转谷氨酰胺酶2介导的BECN1交联以及细胞内聚集体内第III类磷脂酰肌醇3-激酶(PtdIns3K)的螯合,导致肺部炎症。胱胺可以恢复BECN1功能和自噬,减少人类细胞和ΔF508-CFTR突变纯合小鼠模型的气道中的SQSTM1积累和钝化炎症。此外,施用胱胺可以挽救细胞内运输并稳定上皮细胞质膜上的功能完整的ΔF508-CFTR,从而补充CFTR校正分子的有益效果。胱胺在挽救自噬和控制炎症方面的作用在药物冲洗后延伸良好,但在戒断期间通过CFTR消耗而消除。半胱胺(来自Novabiotics®的Lynovex®)表现出至少与目前可用的粘液溶解剂相当的粘液溶解活性。半胱胺对铜绿假单胞菌和其它CF病原体具有杀菌作用。半胱胺活性对CF肺特有的高离子浓度不敏感。半胱胺阻止了已建立的铜绿假单胞菌生物膜的形成和破坏。半胱胺与常规CF抗生素具有协同作用;逆转CF细菌病原体的抗生素抗性。Lynovex®的口服(凝胶胶囊)形式已完成IIa期试验。Novabiotics正在开发Lynovex用于囊性纤维化以及COPD和其它慢性呼吸道疾病,作为具有粘液溶解和抗微生物作用的单一治疗。

[0434] 对于本文所述的肺病的治疗,半胱胺前体理想地选自以下混合二硫化物组:半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+N-乙酰基半胱胺、半胱胺+烯丙基硫醇、半胱胺+半胱氨酸、半胱胺+3-巯基丙酮酸、N-乙酰基半胱胺+泛酰巯基乙胺、N-乙酰基半胱胺+N-乙酰基半胱胺、N-乙酰基半胱胺+烯丙基硫醇、N-乙酰基半胱胺+半胱氨酸和N-乙酰基半胱胺+3-巯基丙酮酸。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0435] 肾病

[0436] 半胱胺在两种肾纤维化小鼠模型中有效:输尿管狭窄和肾缺血/再灌注损伤(Okamura等人,《美国肾病学会杂志(J.Am.Soc.Nephrol.)》25:43(2014))。这些结果表明先

前未认识到的半胱胺通过TGF-β非依赖性机制的抗纤维化作用,包括氧化应激减少和肌成纤维细胞对肾损伤反应的减弱。

[0437] 纤维化也是肾小球疾病遗传形式的主要表现之一,包括局灶节段性肾小球硬化、奥尔波特综合症和薄基膜疾病。

[0438] 对于本文所述的肾病的治疗,半胱胺前体理想地选自以下混合二硫化物组:半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+N-乙酰基半胱胺、半胱胺+烯丙基硫醇、半胱胺+半胱氨酸、半胱胺+3-巯基丙酮酸、N-乙酰基半胱胺+泛酰巯基乙胺、N-乙酰基半胱胺+N-乙酰基半胱胺、N-乙酰基半胱胺+烯丙基硫醇、N-乙酰基半胱胺+半胱氨酸和N-乙酰基半胱胺+3-巯基丙酮酸。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0439] 实例10描述了半胱胺前体的大鼠药代动力学研究,其中施用半胱胺前体后半胱胺的肾水平在施药后10.5小时远高于施用半胱胺酒石酸氢盐后报道的水平(Dohil等人Pharmacol.Drug Dev.)》4:170(2012))。

[0440] 由精氨酸突变为半胱氨酸引起的遗传性疾病

[0441] 可以使用本发明的方法和组合物治疗某些遗传性疾病。例如,引起疾病的突变包括DNA序列改变,其将精氨酸的密码子改变为半胱氨酸的密码子。这种突变的一个子集发生在保留部分功能,或者至少足够稳定以通过核糖体完全合成并运输到其正常目的地(例如质膜、线粒体、细胞核等)的蛋白质中。半胱胺可以与异常的半胱氨酸残基形成二硫键,并且在这样做时,在一定程度上模拟精氨酸,从而在一定程度上恢复正常的蛋白质功能(例如参见Gahl等人《美国医学遗传学杂志(Am J Med Genet)》20:409(1985))。因此,任何具有精氨酸至半胱胺变化的遗传性疾病都是半胱胺前体疗法的候选者。这些疾病包括A型血友病,由因子VIII基因中的精氨酸突变为半胱胺所致;纯常染色体显性痉挛性截瘫,由CPT1C基因中的精氨酸突变为半胱胺所致;脊髓小脑性共济失调35,由TGM6基因中的精氨酸突变为半胱胺所致;和许多其它疾病。

[0442] 通过半胱胺前体和增强剂可能的持续半胱胺水平更好地满足了突变蛋白质的持续半胱胺酰化需求。

[0443] 对于本文所述的由精氨酸突变为半胱氨酸引起的遗传性疾病的治疗,半胱胺前体理想地选自以下混合二硫化物组:半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+N-乙酰基半胱胺、半胱胺+烯丙基硫醇、半胱胺+半胱氨酸、半胱胺+3-巯基丙酮酸、N-乙酰基半胱胺+泛酰巯基乙胺、N-乙酰基半胱胺+N-乙酰基半胱胺、N-乙酰基半胱胺+烯丙基硫醇、N-乙酰基半胱胺+半胱氨酸和N-乙酰基半胱胺+3-巯基丙酮酸。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0444] 心血管疾病

[0445] 与慢性高胆固醇血症相关的由动脉粥样硬化引起的心脏病和缺血性心脏病可用半胱胺前体治疗。

[0446] 对于本文所述的心血管疾病的治疗,半胱胺前体理想地选自以下混合二硫化物组:半胱胺+辅酶A、N-乙酰基半胱胺+辅酶A、泛酰巯基乙胺+辅酶A、脱磷酸辅酶A+辅酶A、辅酶A+辅酶A、半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+N-乙酰基半胱胺、半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+布西拉明、泛酰巯基乙胺+布西拉明、泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸、辅酶A+二氢硫辛酸、2

个半胱胺+布西拉明、2个半胱胺+二氢硫辛酸、半胱胺+泛酰巯基乙胺+布西拉明,和半胱胺+泛酰巯基乙胺+二氢硫辛酸。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0447] 神经发育障碍

[0448] 神经发育障碍,包括瑞特综合症和其它MECP2相关病症可用半胱胺前体治疗。

[0449] 其它疾病

[0450] 来自镰状细胞贫血患者的红细胞暴露于半胱胺导致在低氧条件下镰状化的显著抑制、平均红细胞血红蛋白浓度的降低和氧亲和力的显著增加。相比于未处理的镰状细胞,半胱胺处理的红细胞的氧亲和力较少依赖于其平均红细胞血红蛋白浓度。

[0451] 已经在癌细胞系和异种移植模型中证实了半胱胺的抗肿瘤作用(Fujisawa等人,e34437(2012))。值得注意的是,半胱胺在没有毒性的情况下以剂量依赖性方式延长小鼠的存活期。在用半胱胺治疗的动物异种移植物和癌细胞系中,基质金属蛋白酶活性显著降低。

[0452] 长期半胱胺疗法促进脂联素多聚化,表明半胱胺可能在与胰岛素抗性、氧化应激和较低脂联素水平以及缺血性损伤相关的病症中起治疗作用。

[0453] 对于本文所述的血液疾病的治疗,半胱胺前体理想地选自以下混合二硫化物组:半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+N-乙酰基半胱胺、半胱胺+N-乙酰半胱氨酸乙酯、半胱胺+N-乙酰半胱氨酸酰胺、N-乙酰基半胱胺+N-乙酰基半胱胺和半胱胺+烯丙基硫醇。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0454] 对于本文所述的传染病的治疗,半胱胺前体理想地选自以下混合二硫化物组:半胱胺+泛酰巯基乙胺、半胱胺+N-乙酰基半胱胺、半胱胺+烯丙基硫醇、半胱胺+半胱氨酸、半胱胺+3-巯基丙酮酸、N-乙酰基半胱胺+泛酰巯基乙胺、N-乙酰基半胱胺+N-乙酰基半胱胺、N-乙酰基半胱胺+烯丙基硫醇、N-乙酰基半胱胺+半胱氨酸和N-乙酰基半胱胺+3-巯基丙酮酸。治疗方案任选地包括本文所述的增强剂,例如还原剂、泛酰巯基乙胺酶诱导剂或PPAR激动剂。

[0455] 给药方案

[0456] 如下地进行用于调节半胱胺敏感性疾病的治疗中的血浆半胱胺水平的本发明方法:通过施用一种或多种含有一种或多种半胱胺前体和任选的一种或多种体内半胱胺产生和/或吸收的增强剂的组合物,持续时间和量足以导致血浆半胱胺水平升高,所述水平足以提供半胱胺敏感性疾病或病症的有效治疗。例如,虽然胃滞留和非胃滞留持续释放制剂本身均可在3、5、8小时或更长时间内提供半胱胺前体释放,但为了持续较长时间段在治疗浓度范围内的更稳定的半胱胺血液水平,可能需要以与一种或多种其它组合物,例如立即释放、延迟释放或结肠靶向组合物共同施用这些制剂类型中的任一种。也可以施用包含两种类型制剂的组合物,称为混合制剂。

[0457] 组合物的施用量和频率可以根据例如施用的物质(例如哪种半胱胺前体、哪种增强剂、哪种类型的制剂)、疾病、患者状态和施用方式而变化。在治疗应用中,可以将组合物施用给患有WBC胱氨酸水平升高(例如胱氨酸病)的患者,其量足以降低或至少部分降低WBC胱氨酸水平,优选低于推荐水平。剂量可能取决于例如以下的变量:疾病类型和进展程度、疼痛的严重程度(例如急性、亚急性或慢性)、特定患者的年龄、体重和一般状况、所选组合物的相对生物功效、半胱胺代谢的个体间差异、赋形剂的配方、施用途径和主治临床医师的

判断。可以从来源于体外或动物模型测试系统的剂量-反应曲线估计有效剂量。有效剂量是通过例如在胱氨酸病的情况下降低WBC胱氨酸水平,在NASH的情况下停止或逆转肝纤维化,在神经退化性疾病的情况下改善认知、运动或情绪功能(如通过临床验证测试测量)而产生理想的临床结果的剂量。

[0458] 每剂量的半胱胺前体或其盐的量可以变化。半胱胺酒石酸氢盐的剂量范围的上限是每天每平方米体表面积1.95克(仅计算半胱胺的重量),对于普通成人,其相当于约3.7克/天的半胱胺碱。然而,半胱胺的所述量与显著副作用相关,并且在一些情况下与治疗中断相关。

[0459] 半胱胺前体的分子量变化很大,可在体内转化为半胱胺的部分也是如此。几个实例可用于说明变化。半胱胺碱的分子量为77.15g/mol。硫醇泛酰巯基乙胺的分子量为278.37g/mol。因此,半胱胺-泛酰巯基二硫化物的分子量为约353.52(针对氧化反应中损失的两个质子进行调节)并且可在体内转化为两个半胱胺,它们一起重154.3。因此,约43.6%的半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物可转化为半胱胺。假设半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物在体内100%转化为半胱胺,并进一步假设相同的生物利用度,对于70kg成人,半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物的最大剂量范围为8.5克/天,或约0.12克/千克/天。当与患者的体内半胱胺产生和吸收能力相匹配地给予半胱胺前体时,半胱胺前体的生物利用度预计适当高于半胱胺盐。半胱胺前体向半胱胺的体内转化率不太可能是100%,但是通过将给药方案校准为药代动力学参数,并通过共同施用适当的半胱胺前体分解和吸收增强剂,可以实现非常高的转化率。

[0460] 二硫化物泛硫乙胺的分子量为554.723g/mol,且在还原和泛酰巯基乙胺酶裂解后产生两个半胱胺分子(即27.8%的泛硫乙胺将变为半胱胺)。因此,进行与上述相同的假设,对于70kg成人,泛硫乙胺的最大剂量范围为13克/天,或约0.19克/千克/天。

[0461] 对于仅产生一个半胱胺分子的大性半胱胺前体,如辅酶A(MW 767.535g/mol),可转化为半胱胺的剂量的比例仅为约10%,且因此对于70kg成人,辅酶A的最大剂量可高达37克/天,或约0.5克/千克/天。因此,辅酶A不优选作为需要高血液水平的半胱胺以获得良好治疗效果的疾病的唯一治疗,但可以与更有效递送半胱胺的其它半胱胺前体组合。

[0462] 半胱胺前体剂量的有用范围的低端不是由副作用和耐受性限度决定的,而是完全通过功效决定的,其可以从一种疾病到另一种疾病显著变化。例如,因为肝脏的首过代谢(其从血液中清除约40%吸收的半胱胺)不影响半胱胺向肝脏的递送,所以肝病的有效剂量范围低于其它疾病。

[0463] 例如,受试者可以接受约0.01g/kg至约0.5g/kg的半胱胺前体。通常,半胱胺和泛酰巯基乙胺化合物的施用量使得峰值血浆浓度范围为1μM-45μM。示例性剂量可以在约0.01至约0.2g/kg;约0.05至约0.2g/kg;约0.1至约0.2g/kg;约0.15至约0.2g/kg;约0.05g/kg至约0.25g/kg;约0.1g/kg至约0.25g/kg;约0.15g/kg至约0.25g/kg;约0.1g/kg至约0.50g/kg;约0.2至约0.5g/kg;约0.3至约0.5g/kg;或约0.35至约0.5g/kg之间。示例性剂量可以是约0.005g/kg、约0.01g/kg、约0.015g/kg、约0.02g/kg、约0.03g/kg、约0.05g/kg、约0.1g/kg、约0.15g/kg、约0.2g/kg或约0.5g/kg。示例性峰值血浆浓度可以在5-20μM、5-15μM、5-10μM、10-20μM、10-15μM或15-20μM范围内变化。峰值血浆浓度可维持2-14小时、4-14小时、6-14小时、6-12小时或6-10小时。

[0464] 治疗频率也可能不同。受试者可每天治疗一次或多次(例如一次、两次或三次)或每隔多小时(例如约每8、12或24小时)进行治疗。优选地,药物组合物每24小时施用1或2次。治疗时程可以是不同的持续时间,例如两天、三天、四天、五天、六天、七天、八天、九天、十天或更多天、两周、1个月、2个月、4个月、6个月、8个月、10个月、超过一年或终生。例如,治疗可以是一天两次持续三天、一天两次持续七天、一天两次持续十天。治疗周期可以例如每周一次、两月一次或每月一次的间隔重复,其由不给予治疗的时段隔开。治疗可以是单次治疗或可持续与个体的寿命一样长(例如多年)。

[0465] 组合疗法

[0466] 体外数据表明半胱胺可能被多种CYP酶代谢,包括CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6和CYP2E1,但不能被CYP2A6或CYP3A4代谢。半胱胺在体外不是CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1和CYP3A4的抑制剂。在体外,半胱胺是P-gp和OCT2的底物,但不是BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3和OCT1的底物。半胱胺不是OAT1、OAT3和OCT2的抑制剂。

[0467] 半胱胺与其它化合物之间没有已知的相互作用,且因此半胱胺前体可以与用于治疗以上列出的多种适应症的几种其它药物一起使用。例如:

[0468] 本发明的组合物可以与以下一种或多种抗神经退化药物组合施用:例如(但不限于)乙酰胆碱酯酶抑制剂多奈哌齐(donepezil;Aricept®)、雷斯替明(rivastigmine;Exelon®)或加兰他敏(galantamine;Razadyne®)以治疗轻度至中度阿尔茨海默氏病;美金刚(Namenda®)以治疗轻度至重度阿尔茨海默氏病;左旋多巴与卡比多巴的组合(例如Parcopa®、Sinemet®)以治疗帕金森氏病;另外,多巴胺激动剂,包括普拉克索(pramipexole;Mirapex®)、罗匹尼罗(ropinirole;Requip®)和罗替戈汀(rotigotine;作为贴剂,Neupro®),短效可注射多巴胺激动剂,例如用于缓解症状的阿扑吗啡(apomorphine;Apokyn®),MAO-B抑制剂,包括司来吉兰(selegiline;Eldepryl®、Zelapar®)和雷沙吉兰(rasagiline;Azilect®),儿茶酚O-甲基转移酶(COMT)抑制剂、恩他卡朋(entacapone;Comtan®)、抗胆碱激导性剂(Cogentin®)、金刚烷胺、镇静剂、抗抑郁药和其它管理帕金森氏病和阿尔茨海默氏病症状,包括与这些疾病相关的行为问题的药物;丁苯那嗪(tetrabenazine;Xenazine®)和其它未经批准的抗舞蹈病治疗,如奥氮平(olanzapine)、阿立哌唑(aripiprazole)、利培酮(risperidone)或泰必利(tiapride),其用于亨廷顿氏病。

[0469] 没有FDA批准的线粒体疾病疗法,但已经测试了药理学活性剂,如维生素、微量营养素和辅酶Q10。最初设计用于与电子传递链相互作用的醌EPI-743可能通过提高谷胱甘肽水平起作用,并且正在进行线粒体疾病的临床试验。

[0470] 奥尔波特综合症尚无明确的疗法,但研究表明,血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂可以减少蛋白尿和肾病的进展。

[0471] 青蒿素由于其功效和仍少量的耐药菌株而成为最重要的抗疟疾药物之一。青蒿素不建议作为单一疗法来减少耐药菌株的出现,但这已经在某些地区发生过。化学上,青蒿素

是一种倍半萜内酯,含有一种不寻常的过氧化物桥,据信对其抗疟疾活性很重要。已开发出青蒿素的半合成衍生物,包括青蒿琥酯(水溶性:用于经口、经直肠、肌肉内或静脉内使用)、蒿甲醚(脂溶性:用于经口、经直肠或肌肉内使用)、双氢青蒿素、蒿酸和蒿乙醚。也已合成其它类似物(例如Posner等人,《医药化学杂志(J.Med.Chem.42:300(1999))。

[0472] 用于治疗代谢综合症的药物适合于针对患者中存在的代谢综合症的特定组分。胆固醇降低剂,包括他汀类和贝特类,对一些患者有用。也可以使用各种类别的血压药物。用于治疗2型糖尿病的药物包括二甲双胍。

[0473] 半胱胺前体可以与任何上述药剂组合。

[0474] 生物标记物

[0475] 本发明的治疗方法可包括遵循一种或多种生物标记物作为选择给药方案或患者选择的指导。生物标记物可以如下地测量:

[0476] 基于2室模型的血浆半胱胺药代动力学,用于确定吸收和消除半衰期,以及药物的“触发器(flip-flop)”药代动力学特征曲线,其肠内产生和吸收速率比消除速率慢。

[0477] 胱氨酸病:给药前白细胞(WBC)胱氨酸水平低于1nmol1/2胱氨酸/mg WBC蛋白质,其条件是治疗耐受性良好。如果给药前WBC胱氨酸水平低于2nmol1/2胱氨酸/mg蛋白质,则患者仍可从治疗中受益。

[0478] 线粒体疾病:示例性线粒体活性标记物包括(但不限于)游离硫醇水平、谷胱甘肽(GSH)、还原型谷胱甘肽(GSSH)、总谷胱甘肽、高级氧化蛋白产物(AOPP)、铁还原抗氧化能力(FRAP)、乳酸、丙酮酸,乳酸盐/丙酮酸盐比率、磷酸肌酸、NADH(NADH+H+)或NADPH(NADPH+H+)、NAD或NADP水平、ATP、无氧阈、还原型辅酶Q、氧化型辅酶Q;总辅酶Q、氧化细胞色素C、还原细胞色素C、氧化细胞色素C/还原细胞色素C比率、乙酰乙酸酯、β-羟基丁酸酯、乙酰乙酸酯/β-羟基丁酸酯比率、8-羟基-2’-脱氧鸟苷(8-OHdG)、活性氧类水平、氧消耗水平(VO2)、二氧化碳输出水平(VCO2)和呼吸商(VCO2/VO2)。

[0479] 神经退化性疾病:神经退化性疾病中的半胱胺活性可能与以下各者有关:NFkB途径的激活,这是CNS中突触可塑性所必需的;上调存活素(BIRC5)和Bcl-2样蛋白12(BCL2L12),均为良好表征的抗细胞凋亡蛋白;增加的热休克蛋白(HSP40、HSP90)的表达,减轻了涉及蛋白质错误折叠的病理,这将有益于涉及蛋白质寡聚化的神经退化性疾病,包括HD、AD和PD;增加的BDNF的表达和分泌,进一步支持神经元存活和生长;抑制转谷氨酰胺酶和半胱天冬酶;或仅增加可能显著影响HD的大脑中的游离半胱氨酸水平。

[0480] 纤维化疾病:预期产品的施用增加半胱胺的全身水平,阻断通过TGF-β途径的信号传导,抑制肌成纤维细胞活化和增殖,抑制多种基质组分的表达且上调MMP-1和MMP-3。

[0481] 寄生虫感染:预期产品的施用增加半胱胺的全身水平,其将与青蒿素和衍生物具有协同作用,用于治疗疟疾和脑疟疾。

[0482] 对于所有适应症,将使用适当的标准测量不良事件。不良事件包括皮疹、皮肤损伤、癫痫、嗜睡、嗜眠、抑郁、脑病、胃肠溃疡和/或出血、恶心、呕吐、食欲不振(厌食)、腹泻、发烧和腹痛。AE的严重程度使用不良事件的常用术语标准(Common Terminology Criteria for Adverse Events;CTCAE),3.0版[《癌症治疗评估计划(Cancer Therapy Evaluation Program),2003]或以其它方式分类如下:轻度(1级):经历较轻且不会对受试者造成明显不适或改变日常生活活动(ADL);受试者知道症状,但容易容忍症状;中度(2级):经历是对受

试者造成的不便或担忧,并导致干扰ADL,但受试者能够继续ADL;重度(3级):经历严重干扰ADL,且受试者丧失能力和/或无法继续ADL;危及生命(4级):研究者认为,当发生事件时,受试者立即面临死亡风险(即,不包括以更严重形式发生可能会导致死亡的事件)的经历。根据上面定义的CTCAE标准,5级类别是死亡

[0483] 试剂盒

[0484] 本文所述的任何药物组合物可与一组说明书一起使用,即形成试剂盒。试剂盒可包括作为本文所述疗法的药物组合物的使用说明书。例如,说明书可以提供给药和治疗方案,用于在半胱胺敏感性疾病的治疗中调节血浆中的半胱胺浓度。

[0485] 配制的药剂可以作为试剂盒包装在一起。非限制性实例包括含有例如两个丸剂、丸剂和散剂、栓剂和丸剂、片剂等的试剂盒。另外,单位剂量试剂盒可包含制备和施用组合物的说明书。试剂盒可以制造成供一个患者单次使用的单位剂量、供特定患者多次使用(以恒定剂量或其中单独的化合物随着治疗进展可以在效力上变化);或试剂盒可含有适合施用给多个患者的多种剂量(“散装包装”)。试剂盒组件可以组装在纸箱、泡罩包装、瓶子、管等中。

[0486] 实例

[0487] 提出以下实例以向本领域普通技术人员提供如何实施和评价本文所要求的方法和系统的完整公开和描述,并且旨在纯粹是示例本发明的且不打算限制发明人认为是其发明的范围。

[0488] 实例1.高效合成混合二硫化物

[0489] 多个研究小组已经描述了用于高效合成混合二硫化物的多种方法(参见Witt等人《朗缪尔(Langmuir)》23:2318(2007);Musiejuk等人《有机制备和程序(Org.Prep.and Proc.)》47.2:95(2015))的综述,包括专门针对半胱氨酸和半胱氨酸类似物的方法(例如Szymelfejnik等人《合成(Synthesis)》22:3528(2007);Gormer等人《有机化学杂志(J.Org.Chem.)》75.5:1811(2010))。已经报道了最近的改进,例如基于使用2,3-二氯-5,6-二氰基苯醌(DDQ)来促进硫醇-二硫键交换(Musiejuk等人《英国皇家化学学会进展(RSC Advances)》5.40:31347(2015))。

[0490] 当组合两种不同的硫醇时,这些方法允许优先合成混合二硫化物(相对于两种均二聚二硫化物)。在本实施例中,使用Antoniow等人,《合成》3:363(2007)描述的方法来偶联硫醇半胱胺和泛酰巯基乙胺。也可以使用此程序的变化形式选择性地偶联其它硫醇对。

[0491] 此程序的试剂为:(i)双(5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧磷杂环庚烷基)二硫化物(简称“二硫代磷酸试剂”),(ii)溴,(iii)半胱胺,(iv)二氯甲烷和(v)泛酰巯基乙胺。所有试剂均为医药级。

[0492] 步骤1.在氮气氛围下在-5℃下,在干燥(无水)二氯甲烷中制备7毫摩尔二硫代磷酸试剂溶液(例如,将27.6克二硫化物试剂加入1升二氯甲烷中)。

[0493] 步骤2.在氮气氛围下在-5℃下,将溴加入上述溶液中直至最终浓度为6毫摩尔。

[0494] 步骤3.在无水二氯甲烷中制备11毫摩尔的泛酰巯基乙胺溶液。

[0495] 步骤4.在完成步骤2之后30分钟,加入一定体积的泛酰巯基乙胺溶液(来自步骤3),其为步骤2中制备的溶液的体积的5%(例如,将50毫升泛酰巯基乙胺溶液加入1升步骤2溶液中)。在室温下搅拌30分钟。

[0496] 步骤5.用去离子水(500毫升)洗涤反应产物,接着经用无水MgSO4干燥,过滤且在真空中蒸发。

[0497] 步骤6.通过柱色谱(SiO2;CH2Cl2-已烷,1:1)纯化残留物,得到二硫化物试剂-泛酰巯基乙胺(DR-P)的纯二硫化物。

[0498] 步骤7.向DR-P悬浮在二氯甲烷中的0.5毫摩尔溶液中加入半胱胺(0.5毫摩尔,在无水二氯甲烷中)和三乙醇胺(2毫摩尔),比率为6:4:2(DR-P:半胱胺:三乙醇胺),且在室温下搅拌温度15分钟。

[0499] 步骤8.向步骤7的反应体积中加入(i)五体积的二氯甲烷(ii)五体积的蒸馏水和(iii)五体积的:(a)饱和NaHCO3水溶液或(b)1M HCl。

[0500] 步骤9.步骤8的有机层经无水MgSO4干燥,过滤并真空蒸发

[0501] 步骤10.悬浮步骤9中的残余物,并通过硅胶柱色谱纯化。

[0502] 关于上述方案的详细信息以及对选择性二硫化物合成的许多其它方案的参考可以在Musiejuk,M.和D.Witt.《国际有机制备和程序(Organic Preparations and Procedures International)》47:95(2015)中找到。

[0503] 实例2.选择性合成含有半胱氨酸或半胱氨酸类似物的混合二硫化物

[0504] 适用于制备混合二硫化物半胱胺前体的硫醇中包括半胱氨酸、半胱氨酸乙酯、半胱氨酸甲酯、N-乙酰半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸乙酯、N-乙酰半胱氨酸酰胺和高半胱氨酸,以及含半胱氨酸的化合物,包括半胱氨酰甘氨酸、γ谷氨酰半胱氨酸、γ-谷氨酰半胱氨酸乙酯以及谷胱甘肽(其为甘氨酸、L-半胱氨酸和L-谷氨酸盐的三肽,其中L-谷氨酸盐与L-半胱氨酸的氨基部分具有异肽键)和谷胱甘肽衍生物。

[0505] 将前述和其它半胱氨酸衍生物或含半胱氨酸的化合物与半胱胺、N-乙酰基半胱胺、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或这些化合物的合适类似物或衍生物偶联的适用方案描述于在Szymelfejnik等人,《合成》22:3528(2007)中。

[0506] 此方法利用5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧磷杂环已烷-2-基二硫烷基衍生物对半胱氨酸衍生物的选择性反应性,以产生几乎完全不对称的二硫化物。例如,用N-乙酰半胱氨酸和半胱氨酸乙酯合成了各种不对称二硫化物,产率分别为93%和98%(Szymelfejnik等人《合成》2007)。

[0507] 在本实施例中,泛酰巯基乙胺与半胱氨酸乙酯偶联。(参见图18中的二硫化物表1B;二硫化物半胱胺前体“2+13”是与半胱氨酸乙酯键合的泛酰巯基乙胺二硫化物)。

[0508] 所述程序的第一步是合成(5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧磷杂环已烷-2-基)二硫烷基溴,其接着在步骤2中与泛酰巯基乙胺偶联。从步骤5开始,泛酰巯基乙胺是与半胱氨酸乙酯二硫键合,利用二硫代磷酸根阴离子的优异离去基特性。

[0509] 步骤1.在-30℃和氮气下向5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧磷杂环已烷-2-基)二硫化物(例如2.76克;7.0毫摩尔)于无水二氯甲烷(100毫升)中的溶液中加入溴化物(0.96克;6.0毫摩尔)。使反应进行15分钟。

[0510] 步骤2.向上述反应物中加入泛酰巯基乙胺(3.062克,11毫摩尔)于无水二氯甲烷(5毫升)中的溶液。在室温下搅拌混合物30分钟。

[0511] 步骤3.用蒸馏去离子水(50毫升)洗涤混合物,用无水MgSO4干燥,然后过滤,并在真空中蒸发。

[0512] 步骤4.通过柱色谱(硅胶,使用1:1二氯甲烷:己烷混合物)纯化残余物,得到(5,5-二甲基-2-硫代-1,3,2-二氧磷杂环己烷-2-基)二硫烷基-泛酰巯基乙胺(在后续步骤中称为二硫化物1)。

[0513] 步骤5.向二硫化物1(0.5毫摩尔)于二氯甲烷(6ml)中的溶液中加入半胱氨酸乙酯盐酸盐(0.5毫摩尔)和三乙胺(0.28毫升,2.0毫摩尔)于二氯甲烷(4ml)中的溶液。在室温下搅拌15分钟。

[0514] 步骤7.用二氯甲烷(50ml)稀释混合物,然后用以下之一洗涤:(i)1M KHSO4(25ml)或(ii)0.25M NaOH(25ml)。

[0515] 步骤8.使用无水MgSO4干燥,过滤并在真空中蒸发。

[0516] 步骤8.通过柱色谱(硅胶,使用二氯甲烷:甲醇的25:1混合物,或在氯仿中再结晶)纯化残余物。

[0517] 可以调整这种小规模合成以找到最佳合成条件(例如产生大于90%、或大于95%的混合二硫化物。随后可以按比例放大反应以产生药理量的二硫化物。其它半胱氨酸类似物可以使用此程序的变化形式与半胱胺、N-乙酰基半胱胺、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A或合适的类似物或衍生物偶联。

[0518] 关于额外细节,查询:Szymelfejnik等人,《合成》22:3528(2007)。

[0519] 实例5.化合物1和化合物3的共同配制。

[0520] 将七百(700)重量份化合物1(泛酰巯基乙胺-半胱胺二盐酸盐)、两百(200)重量份化合物3(正乙酰基半胱胺-正乙酰基半胱胺二盐酸盐)、六百四十(640)重量份蒸馏水和2,000重量份食品级微晶纤维素在室温下彻底混合。所得粉末状混合物用于填充标准的两片式硬明胶胶囊,每粒胶囊800mg。

[0521] 实例6.化合物2和化合物3以及胱胺的共同配制

[0522] 将六百五十(650)重量份化合物2(泛酰巯基乙胺-正乙酰基半胱胺二盐酸盐)、六百五十(650)重量份化合物3(正乙酰基半胱胺-正乙酰基半胱胺二盐酸盐)、两百(200)重量份胱胺和一千零九十(1090)重量份蒸馏水以及两千(2000)重量份食品级微晶纤维素在室温下彻底混合。所得粉末混合物用于填充纸袋,每小袋3,000毫克。

[0523] 实例7.化合物3的胃滞留制剂

[0524] 本发明的示例性胃滞留制剂是Acuform®(Depomed),一种设计用于优化药物递送的基于聚合物的技术。Acuform允许通过使用独特的溶胀聚合物将化合物3的药物组合物靶向、控制递送至上胃肠道(GI),所述聚合物允许组合物的片剂在胃中保留约5至10小时。在此期间,片剂的活性组分化合物3以所需的速率和时间稳定地递送到上胃肠道。这种逐渐的持续释放允许更多的药物在上胃肠道中被吸收,提供了更大的治疗功效和增加的治疗耐受性的潜力,且方便每日一次或两次给药。

[0525] 实例8.肾病性胱氨酸病的疗法

[0526] 描述了三名患有胱氨酸病的患者的剂量制剂和治疗方案,以说明患者群体中的人口统计学变化性以及如何通过利用由本发明提供的药物和剂型灵活性来克服药物吸收、代谢和反应中的个体间生物化学变化。这些实施例说明了半胱胺前体选择、剂型选择和剂量方案个体化的原理。

[0527] 患者1:一名18个月的婴儿,在呈现由于肾脏范康尼氏综合症而未能茁壮成长和过

度排尿之后,新诊断出患有胱氨酸病。此患者不可接受固体药物治疗。目前可获得类别的固体药物原则上可以粉碎并与食物混合,但实际剂量将取决于各种控制不佳的变量,包括(i)摄入的药物-食物混合物的量,(ii)混合物的均匀性(如果不是全部消耗),(iii)可能的药物-食物相互作用和(iv)用于储存和准备食物的条件(例如加热),特别是如果未消耗的药物-食物混合物被保存用于未来的膳食以避免在未消耗的药物上浪费钱。另一个复杂因素是6小时给药间隔(根据Cystagon®,即半胱胺的速释制剂的要求)不符合婴儿的进餐时间或父母的睡眠时间表。

[0528] 即使不是婴儿用餐时间,优选的剂型也会被完全消耗;含有均匀浓度的药物;并且会充分稀释所述少量未消耗或反流的药物,对摄取的总剂量只有很小的影响。此外,如果给药间隔可以延长至12小时而不是6小时,则可以改善对处方疗法的依从性(在这种情况下,由婴儿的父母依从)。

[0529] 为这名14kg婴儿选择的剂型是化合物3,在加糖可饮用糖浆中配制成延迟释放微粒,浓度为每毫升糖浆50mg。

[0530] 通过定期测量白细胞胱氨酸水平来监测疾病控制。对于所有胱氨酸病患者,治疗目标是将白细胞(WBC)胱氨酸抑制至每毫克WBC蛋白少于1纳摩尔的1/2胱氨酸。如果第一次胱氨酸测量(通常在治疗开始后4至6周进行)显示出不充分的胱氨酸抑制,则剂量可以两个分次剂量增加至1000毫克/天。如果此较高剂量仍无法有效控制WBC胱氨酸水平,则剂量可以150毫克/天的增量进一步增加。(由于高剂量的半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物不会产生与半胱胺酒石酸氢盐制剂相关的高Cmax,如果需要,还有相当大的范围来进一步增加剂量)。

[0531] 如果在1,500毫克/天时未达到足够的WBC胱氨酸抑制,则可以进一步增加剂量,同时监测副作用,或者可以加入第二种半胱胺-泛酰巯基乙胺的制剂,以在12小时给药时段后期提供增加的血浆半胱胺水平。例如,设计用于主要在摄取后6-12小时间隔期间提供半胱胺的持续释放液体微粒制剂可以通过测量血浆半胱胺水平或优选WBC胱氨酸水平凭经验确定的比例与原始糖浆混合。

[0532] 液体制剂可在任何时间与快速施用相容,包括进餐或两餐之间(无论是母乳、配方奶还是婴儿食品)。9-10ml剂量体积是18个月消耗的微量,但足以使未能消耗少量(例如由于口腔渗漏或打嗝)不会对总剂量产生太大影响。甜味剂增强了药物的吸引力。

[0533] 微粒的尺寸范围为50-500微米,且优选在100-400微米之间,因此能够长时间保持悬浮在液体中,特别是在悬浮剂(例如3%低分子量羧甲基纤维素和0.25%TWEEN 20)存在下。在最终产物中混合在所述尺寸范围内的单独产生的颗粒的批料以扩大药物释放的持续时间(例如75、150和450微米颗粒的单独批料以1:2:1的比率混合)。粒度可以通过摇筛机使用筛分分析来测定,所述摇筛机具有符合ASTM规格的USP标准丝网筛。

[0534] 颗粒由使用湿捏合过程与一种或多种基质赋形剂均匀混合的药物内核组成,并被至少三层包衣包围。核心赋形剂是微晶纤维素、淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯吡咯烷酮-乙酸乙烯酯共聚物,或与湿捏合过程相容的任何其它赋形剂。载药量(最终产物中药物的分数,按质量计)在50-90%之间。

[0535] 第一包衣有助于固定颗粒的尺寸并用作扩散膜,从而能够调节药物释放;它由以下的三部分混合物组成:(i)纤维素衍生物(例如邻苯二甲酸羟丙基纤维素、乙基纤维素、羧

甲基乙酸纤维素、羧甲基乙酸丁酸纤维素),或甲基丙烯酸和丙烯酸酯的共聚物,或甲基丙烯酸甲酯,(ii)脂质赋形剂(例如氢化棉花油或蓖麻油),和(iii)合适的增塑剂(例如邻苯二甲酸二乙酯或甘油单乙酸酯)。

[0536] 第二、第三和任何另外的包衣在亲水层与亲脂层之间交替,最外面为亲水层。外部亲水层提供由pH敏感性赋形剂形成的肠溶包衣,其在酸性pH下耐溶解但在中性或接近中性pH(例如pH超过6)时易于溶解,例如不同比率的甲基丙烯酸二甲基氨基乙酯、甲基丙烯酸和甲基丙烯酸酯,有时统称为聚(甲基)丙烯酸酯或甲基丙烯酸/丙烯酸乙酯共聚物,任选与羟丙基甲基纤维素混合。用这些赋形剂制备的商业形式的肠溶包衣以如下的商品名销售:Acryl-EZE、Acryl-EZE MP(Colorcon,Inc.)、Eastacryl 30D(Eastman Chemical Co.)、各种Eudragit产品,如Eudragit L 100(Evonik Industries);Kollicoat MAE 30D和Kollicoat MAE 30DP(BASF Chemicals)。

[0537] 亲脂性包衣可包括脂肪酸、巴西棕榈蜡、蜂蜡等。

[0538] 颗粒可以分批制备,在不同批次中具有不同数量的包衣、不同的包衣厚度或不同的包衣组合物,以实现持续至少6小时、优选8小时或更长时间的延长的药物释放曲线。

[0539] 药物可以作为微粒的含水悬浮液与甜味剂和悬浮剂一起提供,或者它可以作为设计用于在使用时复水的干混合物提供。在任何一种情况下,液体制剂都具有促进微粒长时间悬浮的流变特性。

[0540] 配制用于液体递送的控制释放微粒在美国专利第5,405,619号中公开,其包含许多上述的要素,同时提供关于制剂和制造方法的其它有用的赋形剂和细节。

[0541] 患者2:一名患有胱氨酸病的10岁、35kg男孩用Cystagon®治疗七年。他目前的剂量是每天四次700mg(每天2.8克),这对于35kg的患者来说非常高。剂量相当于每六小时六粒(四片150毫克和两片50毫克片剂),或每天24粒。这位年轻的患者讨厌在午夜和早上6点被吵醒服用他的药物,讨厌吞咽巨大的(0号)药丸,讨厌Cystagon®经常导致的体臭和口臭(他的朋友注意到并取笑他)。他已经制定了多种跳过剂量的策略,或者在不可能的情况下,减少了半胱胺的副作用。例如,他已经了解到,他可以通过与大餐一起或在不久后摄入药物来避免一些副作用,减少半胱胺与食物一起吸收,特别是蛋白质或脂肪。只要学校的护士没有留下来看他在开始午餐之前吞下他所有的药丸,他就可以在学校完成这项任务,他通常可以安排花很长时间来吞下每颗药丸。由于这些避免措施,他的WBC胱氨酸水平通常超过2.5纳摩尔1/2胱氨酸/毫克蛋白质。为了解决不充分的代谢控制问题,他的医生已经将男孩的半胱胺剂量增加到目前的高水平,如果按规定实际摄入,这将是超治疗的。由于这种过量的剂量,当男孩实际上按照处方空腹摄取全剂量时,他更可能在那些场合经历副作用。

[0542] 此患者的优选剂型是消除药物摄入后高峰半胱胺血液水平的剂量,这是他经历的大多数副作用的直接原因;将消除对午夜和早上6点醒来的需要,这对患者和其父母具有干扰;将减少每六小时吞服六粒药丸的负担;将不需要在学校给药,以及所有相关的戏剧性事件;并且通过鼓励更好的依从性,将允许减少高剂量,同时实现更好的疾病控制。

[0543] 最初为此患者选择的剂型是以高剂量(例如50至150mg/kg)施用并且被配制成用于立即释放(IR)的化合物1,接着是在施用化合物1之后3+小时施用的抗坏血酸。化合物1和抗坏血酸均可以粉末状形式提供,包装成各种尺寸的彩色编码小袋,其可以打开并与所需

量的食物或饮料组合。粉末可以与牛奶和含糖谷物(患者首选的早餐)以及大多数其它膳食混合,包括富含脂肪和蛋白质的膳食。

[0544] 给药方案能够在8小时给药间隔内提供升高的血浆半胱胺水平。可以容易地调节两种粉末的比率和施用时序以优化个体患者中的半胱胺时间-浓度分布。

[0545] 化合物1的此粉末制剂可利用具有多种任选包衣的离子交换树脂核心来提供立即、延迟或持续释放。所得粉末可直接加入食品中,或在水或其它液体中悬浮后加入。

[0546] 立即释放粉末由与未包覆的离子交换树脂,如聚苯乙烯磺酸钠(例如由Rohm and Haas出售的Amberlite® IRP 69牌树脂)混合的药物组成。合成步骤是:

[0547] 步骤1.将半胱胺-泛酰巯基乙胺二硫化物溶解于蒸馏水中。

[0548] 步骤2.将Amberlite® IRP 69逐渐加入到步骤1溶液中并搅拌1小时,在此期间形成药物-树脂复合物。

[0549] 步骤3.通过过滤去除水,且用蒸馏水冲洗药物-树脂混合物两次,以去除任何取代盐离子。

[0550] 步骤4.干燥药物-树脂混合物,直到水分含量为3%-7%,然后通过配有标准40目筛网的CO-MIL装置(Quadro Engineering Corp.),这限制颗粒尺寸超过约410微米的颗粒通过(即,通过筛网的颗粒小于约410微米)。

[0551] 患者3.在肾移植后,且患有糖尿病、甲状腺功能低下和吞咽异常的一名22岁的胱氨酸病患者用十几种药物进行治疗,许多药物每天施用数次。她的胱氨酸病用Procysbi®治疗,2,400毫克/天,分两次分次剂量(每剂量8粒尺寸-0的150毫克胶囊)。然而,她经常在摄入Procysbi®后经历严重的胃痛,以及恶心和呕吐,且这些胃肠道副作用通常防止她按期服用其它药物,或导致其它药物被呕吐。对于她的免疫抑制方案,这尤其令人担忧,没有这种方案,她就有可能失去移植的肾脏。

[0552] 控制WBC胱氨酸几乎不足,在不同的问诊时,每毫克蛋白质含有1至1.45纳摩尔的1/2胱氨酸。致力于发现胃肠道副作用的原因,她的医生在摄取后一小时测量她的血浆半胱胺水平,且发现其为78微摩尔。所述高水平当然可以解释她的胃肠道症状,但考虑到边际胱氨酸控制,她的医生不愿意减少她的Procysbi®剂量。

[0553] 此患者的优选剂型将消除或至少减轻可能由高峰半胱胺血液水平引起的胃肠道副作用,同时还减少药丸的数量,其与患者的其它药物一起代表显著的身心负担。

[0554] 为此患者选择的剂型是以高剂量(例如50至150mg/kg)施用的化合物1与同时施用的低剂量的胱胺(例如10至40mg/kg)的组合。

[0555] 实例9.非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的疗法

[0556] 一名具有葡萄糖耐受性异常、胃食道逆流病(GERD)和36的身体质量指数(BMI)的超重的50岁男性非饮酒者在常规检查时注意到肝酶升高;天冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸转氨酶(ALT)均超过正常范围上限的四倍。肝酶显着升高的发现暗示肝细胞损伤,并导致肝病的诊断检查。对肝癌和病毒性肝炎的检测结果为阴性,且肝酶升高的其它潜在传染性和毒理学原因被排除,从而导致肝活检。活检显示脂肪变性、肝细胞鼓胀、发炎和显著的纤维化。在临床表现的背景下,这些发现导致了非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的诊断。

[0557] 指示患者改变他的饮食并开始适度运动的计划。六个月的饮食和生活方式咨询未

能带来体重减轻、葡萄糖耐量改善或ALT或AST水平降低,促使开始药物治疗。用配制成原位胶凝液的化合物2治疗患者。目标剂量为每公斤体重20毫克半胱胺游离碱,且起始剂量为所述量的四分之一,在目标剂量的四至六周内逐渐增加,同时调整任何副作用(即在显著副作用的情况下的较慢剂量增加或较低最终剂量)。

[0558] 还原剂维生素C和维生素E以胶囊形式在患者方便时(例如在午餐前和睡觉前)施用,配制用于在每次化合物2的剂量后2至4小时在近端小肠中延迟释放,以增强胃肠道中的二硫键还原(并因此最大化半胱胺-N-乙酰半胱氨酸向其双组分硫醇的转化),以及作为补充治疗剂。维生素C的日剂量为2克,且维生素E的日剂量为800国际单位的α生育酚,RRR立体异构体,其相当于每天533.3毫克(1IU的生育酚定义为2/3毫克的RRR-α-生育酚)。这些量的一半每天施用两次。先前已经显示维生素C和维生素E的方案有效降低NASH患者的肝纤维化评分(参见Harrison等人,《美国胃肠病学杂志(Am J Gastroenterol.)》98:2485(2003))。

[0559] 以片剂或胶囊形式摄取大量药物将导致每天吞咽十几个大药丸(不包括其它药物),这对于患者来说是痛苦。液体制剂作为具有赋形剂的甜味饮料提供,其掩盖了药物的任何令人不快的味道,被设计成与膳食一起吞咽,使得药物摄取容易,且从而改善顺应性。(实际上,通过液体制剂可以容易地施用基本上更多量的半胱胺前体)。液体凝胶制剂的第二个好处是它比食物轻,因此它以凝胶形式漂浮在食糜顶部,并提供防止酸性胃内容物反流到食道中的保护层。(液体凝胶制剂,如Gaviscon® Algicon®和Gastron®,最初开发用于胃食管反流疗法)。

[0560] 实例10.化合物2(N-乙酰基半胱胺-(R)-泛酰巯基乙胺二硫化物)的药代动力学研究

[0561] 如图25所示地合成N-乙酰基半胱胺-(R)-泛酰巯基乙胺二硫化物(通过组合图17中的硫醇6和2制备的二硫化物,且因此称为化合物2)。然后以三个剂量水平向雄性史泊格-多利大鼠口服施用化合物2以评估其药代动力学(PK)参数,特别是关于半胱胺产生的时程。

[0562] 计算以每千克体重的半胱胺碱的毫克数表示的剂量并在本文表示如下:一分子的化合物2,在二硫键还原、N-乙酰基半胱胺的脱乙酰化(产生半胱胺)和泛酰巯基乙胺通过泛酰巯基乙胺酶的裂解(产生一种半胱胺和一种泛酸)后,产生两个半胱胺分子。因此,1摩尔重395.54克的化合物2得到2摩尔半胱胺,每个重77.15克/摩尔×2=154.3克。因此,按质量计,154.3/395.54=38.5%的化合物2在降解后可转化为半胱胺。相反,为了根据半胱胺碱计算化合物2的剂量,将半胱胺碱的剂量乘以×2.5974。例如,为了计算30mg/kg半胱胺碱,当量剂量的化合物2乘以30mg/kg×2.5974=77.92mg/kg。因此,在下面的论述和附图中,“30mg/kg”剂量的化合物2意味着施用77.92mg/kg,“60mg/kg”剂量的化合物2意味着施用155.84mg/kg且“120mg/kg”剂量的化合物2意味着施用311.68mg/kg。在关于半胱胺盐的文献中广泛使用的这种命名法的目的是促进不同半胱胺前体和半胱胺盐的剂量的比较。

[0563] 通过管饲法向三组大鼠(每组3只大鼠)施用化合物2,选择递送的剂量为约30mg/kg(第1组)、60mg/kg(第2组)和120mg/kg(第3组)的半胱胺碱。在向禁食大鼠施用之前,将所有剂量溶解在3毫升生理盐水中(然而,120mg/kg剂量没有完全溶解在盐水中,因此那些大鼠实际上接受的剂量低于计划;参见下面的组织分析的论述)。

[0564] 为250克大鼠制备化合物2剂量,但施药时大鼠的实际质量为267-300克,因此按体重标准化的实际剂量的范围在第1组中为26.1-27.1mg/kg、在第2组中为51.7-56.2mg/kg且

在第3组中为108.3-109.5mg/kg。尽管如此,为方便起见,这些剂量被称为30、60和120mg/kg。

[0565] 对照组大鼠(第5组)通过管饲法在3毫升盐水中施用半胱胺盐酸盐,选择递送的剂量为30mg/kg半胱胺碱。(半胱胺HCl的质量为113.6道尔顿,其中77.15道尔顿或67.91%是半胱胺碱;相反,从半胱胺碱的剂量乘以后者×1.47计算半胱胺HCl的剂量。例如,为计算将递送的半胱胺盐酸盐剂量,30mg/kg半胱胺碱乘以30×1.47=44.2mg/kg)。对250克大鼠制备半胱胺盐酸盐剂量,但施药时大鼠的实际质量为281-285克,因此按体重标准化的实际剂量水平的范围在第5组中为26.3-26.7mg/kg。

[0566] 在即将给药前,并且在给药后5、10、20、30、45、60、90、120、180、240、300和600分钟通过在PK研究之前手术植入的颈动脉导管从大鼠获得血液样品。通过离心从血液中获得血浆并快速冷冻。几天后,将血浆样品在冰上解冻,将每个血浆样品等分至两个成对的管(每管20μL),其中一个处理用于测量硫醇(在定量二硫键还原后),而另一个处理用于分析二硫化物。

[0567] 为了定量还原二硫键,使用Dohil等人(2012)报道的方案,用5mM三(2-羧乙基)膦(TCEP)(一种选择性和强效的二硫键还原剂)处理第一管中的血浆。简而言之,将2.2μl新鲜制备的50mM TCEP储备溶液加入到20μl血浆中,并将样品在37℃下培育45分钟。通过加入2.2μl去离子水来调节配对(未还原)样品中的血浆体积。

[0568] 在TCEP还原步骤后,通过添加3.5体积的含有内标的冰冷乙腈(ACN)/1%甲酸(FA)溶液(将77μL ACN/1%FA溶液添加至22.2μL血浆中)将所有血浆样品脱蛋白。内标为氘化(d4)半胱胺(Toronto Research Chemicals)、氘化(d8)缬氨酸和氘化(d8)苯丙氨酸(均获自Cambridge Isotope Laboratories;Andover,MA),各自的最终浓度为0.2μg/ml于ACN/1%FA溶液中。

[0569] 通过在Eppendorf微量离心机中在4℃下以14,000rpm离心10分钟而将变性蛋白质制成丸粒。将上清液(25μl)移至新管中,与75μl ACN/0.1%FA溶液混合,并直接注入150×2mm Atlantis亲水相互作用液相色谱(HILIC)柱(Waters;Milford,MA)。使用Nexera X2 U-HPLC(Shimadzu)和Q-Exactive hybrid quadrupole Orbitrap质谱仪(Thermo Fisher Scientific)分析代谢物。用5%流动相A(10mM甲酸铵和0.1%甲酸水溶液)以360μl/min的流动速率等度洗脱柱1分钟,然后在7分钟内用40%流动相B(乙腈伴以0.1%甲酸)以线性梯度洗脱。电喷雾电离电压为3.5kV,并且使用m/z 70-800的全扫描分析以70,000分辨率和3Hz数据采集速率获得数据。发现正离子模式的质谱法可以从感兴趣的分析物中产生更好的信号。电离源电压为-3.0kV,且源温度为325℃。使用Tracefinder(版本3.2,Thermo Fisher Scientific)处理MS数据。

[0570] 通过在血浆中连续稀释(100、75、50、25、15、10、5、3、1和0.5μM)而产生半胱胺、N-乙酰基半胱胺和泛酰巯基乙胺(均来自Sigma-Aldrich)的标准曲线,且接着用于从LC-MS离子计数中插入这些物质的血浆浓度。

[0571] 除血浆样品外,在研究结束时(给药后10.5小时)从大鼠获得胃肠内容物(胃内容物、近端小肠内容物、远端小肠内容物和盲肠/结肠内容物)、肝脏、肾脏和脾脏并快速冻结。在胃肠内容物以及肝和肾组织中测量半胱胺、N-乙酰基半胱胺和泛酸的组织水平。用于组织分析的方案需要(i)在干冰上粉碎冷冻组织碎片以获得小块;(ii)将几个冷冻组织块(约

25-150μg)称入具有两个金属滚珠轴承的配衡的1.5毫升微量离心管中,并立即储存在干冰上;(iii)使用Retsch Cryomill在250赫兹下低温均质化组织碎片5分钟;(iv)将样品分成两个试管,且将20μl悬浮的均质化组织粉末与2.2μl的50mM TCEP(5mM终浓度)在37℃下培育45分钟,或加入2.2μl去离子水,(v)向两个样品(TCEP、无TCEP)中加入等体积(w:v)的乙腈:甲醇(1:1),并在4℃下在Eppendorf微量离心机中以14,000rpm离心10分钟而将沉淀的蛋白质制成丸粒;(vi)将25μl上清液转移到含有75μl ACN/0.1%FA的新管中;(vii)使用与血浆样品相同的柱和运行条件,在上述LC-MS设备上注射样品。

[0572] 结果:在化合物2给药大鼠中,产生半胱胺并且在比半胱胺HCl给药大鼠显著更长的时间内被吸收。在半胱胺HCl给药大鼠中,峰值半胱胺血浆浓度(Cmax)在管饲后15分钟出现。此后,半胱胺浓度在90分钟内下降至小于最大值的一半(图30A)。相比之下,化合物2给药大鼠(120mg/kg;第3组)中的峰值半胱胺浓度出现在180分钟(图30B)。此外,虽然半胱胺盐酸盐给药大鼠的血浆浓度-时间曲线的形状是尖锐的高峰,但在化合物2给药大鼠中,血浆浓度-时间曲线更接近于平台(比较图30A和30B)。半胱胺盐酸盐给药大鼠的峰值血浆半胱胺浓度(超过200μM)高于在人类受试者中观察到的,并且将与人体内的严重毒性相关。当以较低剂量(20mg/kg半胱胺碱当量)向史泊格-多利大鼠施用时,半胱胺酒石酸氢盐产生的Cmax为81.9μM,在施用后5-22.5分钟发生,并且半胱胺水平在2小时后返回基线(Dohil等人2012)。

[0573] (来自120mg/kg大鼠的胃肠内容物的分析显示,在给药后10小时,大量的未溶解的药物仍然粘附在大鼠8和9的胃中,表明这些大鼠没有接受全剂量。因此,图30B中的曲线低估了用完全剂量将实现的半胱胺暴露)。

[0574] 30mg/kg、60mg/kg和120mg/kg化合物2剂量的比较(图31A)显示Cmax的逐渐增加和Tmax(即出现Cmax的时间)的同样重要的渐进延迟:30mg/kg组中的峰值血浆浓度最初在30分钟时出现,且接着在90分钟时再次达到所述水平,其间具有非常小的下降。60mg/kg组的Tmax在90分钟时出现,且在120mg/kg组中在180分钟时出现。在所有三个剂量下,半胱胺浓度时间曲线似乎存在双相特征,其中初始上升峰值在约30分钟,然后是1.5-3小时处的第二(并且在60和120mg/kg剂量组中,更高)峰值。

[0575] 在胃肠道中二硫键还原后,化合物2产生两个硫醇部分:N-乙酰基半胱胺和泛酰巯基乙胺。随后通过两个独立的过程产生半胱胺:前者的脱乙酰化和后者的泛酰巯基乙胺酶裂解。这两个过程的时程可以通过观察N-乙酰基半胱胺和泛酸的肠和血浆水平来监测,其在泛酰巯基乙胺裂解时产生(与半胱胺一起)。(泛酸的半衰期比人体中的半胱胺长,并且它出现在大鼠体内)。图31B显示(i)N-乙酰基半胱胺被吸收到血液中(以前未知),其动力学基本上与半胱胺相似,表明类似的转运机制。此外,在胃肠道(其中存在N-乙酰基半胱胺和半胱胺)和血液中均必须持续将N-乙酰基半胱胺转化为半胱胺以解释高半胱胺水平。泛酸也存在于肠内容物和血浆中。泛酸水平在第一个小时内迅速增加,表明通过泛酰巯基乙胺的泛酰巯基乙胺酶裂解产生半胱胺,然后在90分钟时略微下降,然后恢复缓慢、极逐渐攀升至240分钟(图31B),表明泛酰巯基乙胺裂解对半胱胺血浆水平的早期和晚期贡献。

[0576] 在来自120mg/kg组(大鼠7、8和9,包括剂量组3;图32)的所有三只大鼠的肝脏和肾脏样品中,10.5小时处的半胱胺的组织水平显著超过50μM。这三只大鼠在10小时处的血浆半胱胺水平为1.1、0和1.5μM。高得多的组织水平可以反映(i)与血液相比组织中较低水平

的泛酰巯基乙胺酶(或更具体地,某些特定细胞类型中较低的泛酰巯基乙胺酶水平,因为泛酰巯基乙胺酶在一些肾细胞中表达);和/或(ii)与血浆相比,组织中的脱乙酰基酶更多,导致组织中N-乙酰基半胱胺比血液中更有效地转化为半胱胺。为了比较,当向史泊格-多利大鼠给予半胱胺酒石酸氢盐(20mg/kg)时,半胱胺的组织半衰期估计为25-29分钟,并且推断超过95%的半胱胺将在150分钟内被消除(Dohil等人2012)。由于半胱胺的大多数治疗效果发生在组织中,而不是血液(肾脏是胱氨酸病患者中第一个失败的器官),给药后10小时肾脏和肝脏中存在半胱胺在治疗上是非常有意义的。

[0577] 实例11.在向大鼠施用不同二硫化物之后半胱胺的药物动力学。

[0578] 方法

[0579] 在向大鼠施用半胱胺盐酸盐(30mg/kg)、胱胺二盐酸盐(30mg/kg)、泛硫乙胺(30mg/kg)或泛酰巯基乙胺-半胱胺二硫化物(也称为TTI-0102;化合物1)(100mg/kg)之后分析血浆中半胱胺的药代动力学。

[0580] 剂量关于每千克体重每种化合物可递送的半胱胺碱的毫克数来表示。其计算如下:一分子的TTI-0102在二硫键还原后产生一分子的半胱胺和一分子的泛酰巯基乙胺。泛酰巯基乙胺随后被肠道泛酰巯基乙胺酶裂解,产生一个半胱胺和一个泛酸。因此,一分子的TTI-0102产生两分子的半胱胺。因此,一摩尔TTI-0102(化学式量:353.52克)产生两摩尔半胱胺(化学式量:77.15克/摩尔),因此每353.52克TTI-0102递送77.15×2=154.3克半胱胺。因此,按质量计,154.3/353.52=43.65%的TTI-0102在降解后可转化为半胱胺。相反,为了根据半胱胺碱计算TTI-0102的剂量,将TTI-0102的质量除以递送的半胱胺碱的质量:353.52/154.3=2.291。因此,为了计算30mg/kg半胱胺,当量剂量的TTI-0102乘以30mg/kg×2.291=68.73mg/kg。因此,在下面的论述和附图中,“30mg/kg”剂量的TTI-0102意味着施用68.73mg/kg,“60mg/kg”剂量的TTI-0102意味着施用137.46mg/kg且“100mg/kg”剂量的TTI-0602(也称为化合物2)意味着施用229.1mg/kg。在半胱胺药理学文献中标准的这种命名法的目的是促进不同半胱胺前体和半胱胺盐的剂量的比较。(对于其他三个分子进行类似计算。半胱胺HCl的质量为113.6道尔顿,其中77.15道尔顿或67.91%是半胱胺碱;相反,从半胱胺碱的剂量乘以后者×1.47计算半胱胺HCl的剂量。例如,为计算将递送的半胱胺盐酸盐剂量,30mg/kg半胱胺碱乘以30×1.47=44.2mg/kg)。

[0581] 通过管饲法向三只称重约300克的雄性史泊格-多利大鼠施用四种化合物中的每一种。将所有剂量溶解于2.5毫升盐水中。

[0582] 在即将给药前(在一分钟内),并且在给药后10、20、30、45、60、90、120、180、240、300和360分钟通过在PK研究之前手术植入的颈动脉导管从大鼠获得血液样品。通过离心从血液中获得血浆、快速冷冻且储存于-80℃下。几天后,将血浆样品在冰上解冻,将每个血浆样品等分至两个成对的管(每管20μL),其中一个处理用于测量硫醇(在定量二硫键还原后),而另一个处理用于分析二硫化物。

[0583] 为了定量还原二硫键,使用Dohil等人(2012)报道的方案,用5mM三(2-羧乙基)膦(TCEP)(一种强效和选择性的二硫键还原剂)处理第一管。简而言之,将2.2μl新鲜制备的50mM TCEP储备溶液加入到20μl血浆中,并将样品在37℃下培育45分钟。通过加入2.2μl去离子水来调节配对(未还原)样品中的血浆体积。

[0584] 在TCEP还原步骤后,通过添加3.5体积的含有内标的冰冷乙腈(ACN)/1%甲酸(FA)

溶液(将77μL ACN/1％FA溶液添加至22.2μL血浆中)将所有血浆样品脱蛋白。内标为氘化(d4)半胱胺(Toronto Research Chemicals)、氘化(d8)缬氨酸和氘化(d8)苯丙氨酸(均获自Cambridge Isotope Laboratories;Andover,MA),各自的最终浓度为0.2μg/ml于ACN/1％FA溶液中。

[0585] 通过在微量离心机中在4℃下以14,000rpm离心10分钟而将变性蛋白质制成丸粒。将上清液(25μl)移至新管中,与75μl ACN/0.1％FA溶液混合,并直接注入150×2mm Atlantis亲水相互作用液相色谱(HILIC)柱(Waters;Milford,MA)。使用Nexera X2 U-HPLC(Shimadzu)和Q-Exactive hybrid quadrupole Orbitrap质谱仪(Thermo Fisher Scientific)分析代谢物。用5％流动相A(10mM甲酸铵和0.1％甲酸水溶液)以360μl/min的流动速率等度洗脱柱1分钟,然后在7分钟内用40％流动相B(乙腈伴以0.1％甲酸)以线性梯度洗脱。电喷雾电离电压为3.5kV,并且使用m/z 70-800的全扫描分析以70,000分辨率和3Hz数据采集速率获得数据。发现正离子模式的质谱法可以从感兴趣的分析物中产生更好的信号。电离源电压为-3.0kV,且源温度为325℃。使用Tracefinder(版本3.2,Thermo Fisher Scientific)处理MS数据。

[0586] 通过在血浆(100、75、50、25、15、10、5、3、1和0.5μM)或相关组织基质中连续稀释而产生半胱胺和泛酰巯基乙胺(获自Sigma-Aldrich)的标准曲线。通过标准的最佳拟合线的斜率用于根据LC-MS离子计数计算那些物质的血浆浓度。

[0587] 除血浆样品外,在研究结束时(给药后6小时)从大鼠获得胃肠内容物(胃内容物、近端小肠内容物、远端小肠内容物和盲肠/结肠内容物)并快速冷冻。在胃肠内容物中测量半胱胺和泛酰巯基乙胺的组织水平。用于组织分析的方案需要(i)在干冰上粉碎冷冻组织碎片以获得小块;(ii)将几个冷冻组织块(约25-150μg)称入具有两个金属滚珠轴承的配衡的1.5毫升微量离心管中,并立即储存在干冰上;(iii)使用Retsch Cryomill在250赫兹下低温均质化组织碎片5分钟;(iv)在冰上解冻各样品,添加二体积的水(w:v,即对于每毫克均质化组织添加2微升水)以制备约1:3稀释液;(v)将20μl的再悬浮组织粉末移出至新管,添加2.2μl的50mM TCEP(5mM最终浓度)且在37℃下保温45分钟(TCEP处理的样品),或添加2.2μl去离子水代替TCEP(无TCEP样品);(vi)添加3.5体积的乙腈:0.1％甲酸,涡旋混合15秒,且接着通过在4℃下在微量离心机中以14,000rpm离心10分钟而使沉淀蛋白质粒化;(vii)将25μl上清液转移至含有75μl ACN/0.1％FA的新管中;(vii)使用与血浆样品相同的柱和运行条件,在上述LC-MS设备上注射样品。

[0588] 结果和讨论:

[0589] 在给与半胱胺HCl(30mg/kg)的大鼠中,血浆半胱胺水平迅速升高;药代动力学参数指示在一分钟内吸收一半的剂量且峰值观察浓度(约50μM)出现于管饲后10分钟的第一个测量时间点。半胱胺水平截至4小时降至低微摩尔水平(图1)。高半胱胺水平与口臭、体臭、恶心、呕吐、厌食和胃痛有关。

[0590] 在给与胱胺HCl(30mg/kg)的大鼠中,血浆半胱胺峰出现较晚(30-60分钟之间)且较宽(AUC比半胱胺HCl更大)。半胱胺水平接着截至约4小时降至基线值(图1)。因此,出人意料地,当相比于半胱胺本身时,在盐水中递送到胃的胱胺(即,速释剂型)提供优良的半胱胺暴露,然而,高峰水平和快速消除与半胱胺盐酸盐给药大鼠类似。

[0591] 出乎意料地,在给与泛硫乙胺(30mg/kg)的大鼠中,血浆半胱胺水平从未超过2.5

微摩尔。因此,在不存在增强二硫键还原和/或泛酰巯基乙胺酶表达的药剂的情况下,泛硫乙胺是大鼠中较差的半胱胺递送剂。(人类胃肠道生理学在几个潜在的重要方面不同于大鼠生理学,包括pH和谷胱甘肽体积和浓度)。

[0592] 在给与TTI-0102(100mg/kg)的大鼠中,血浆半胱胺水平直到90分钟才达到峰值,接着保持升至高于10μM直至4小时后,且持续整个六小时评估时段升至高于5μM。另外,AUC(499min*μg/L)大于半胱胺HCl AUC(365),而Cmax较低(分别为34.4μM相对于约55.3μM)(图2)。因此,TTI-0102(100mg/kg)提供比半胱胺盐酸盐、胱胺二盐酸盐或泛硫乙胺更大的半胱胺暴露,提供在更长时间内高于5和10微摩尔的血浆水平,且具有比前两个更低的Cmax,其全部是合乎需要的药理学性质。

[0593] 一般来说,半胱胺的啮齿动物代谢比在人体内更快(例如半衰期更短),因此,大鼠药物动力学参数不应解释为可直接转换为人类环境。尽管如此,剂量

[0594] 实例12.在施用30、60或100mg/kg的泛酰巯基乙胺-半胱胺混合二硫化物(TTI-0102)之后,大鼠血浆中半胱胺的药代动力学。

[0595] 正如所料,当给与大鼠30mg/kg、60mg/kg或100mg/kg的TTI-0102(图2)时,AUC随剂量(分别为175、252、499min*μg/L)逐渐增加。但是,出乎意料的是,(i)Cmax几乎保持恒定(在三个剂量中为29.4、34.4、34.4μM),且(ii)血浆半胱胺暴露的持续时间随剂量逐渐增加。确切地说,60与100mg/kg TTI-0102剂量之间的AUC、吸收半衰期和平均滞留时间(MRT)的差异是显著的。因此,高水平的化合物1(例如50-150mg/kg提供近乎理想的药代动力学模式,保持血浆半胱胺低于引起副作用的水平,但高于功效所需的水平,尤其是在长时间内持续时。

[0596] 实例13.大鼠中半胱胺和泛酰巯基乙胺-半胱胺混合二硫化物(TTI-0102)的胃肠代谢

[0597] 对来自半胱胺盐酸盐(30mg/kg)给药大鼠和30、60和100mg/kg大鼠的胃肠内容物的分析展现三种化合物1剂量水准之间一些出人意料的差异(图3)。在给与100mg/kg化合物1的大鼠中,在给药后六小时,在胃肠道的所有层面(胃、近端和远端小肠、结肠)处均存在高水平的泛酰巯基乙胺。在具有或不具有二硫键还原剂TCEP的情况下,在近端和远端小肠(SI)样品中进行处理。“无TCEP”样品与TCEP样品的比较展现约一半的泛酰巯基乙胺呈硫醇形式,其中另外(大约)一半是明显与另一硫醇结合的二硫化物。小肠中存在高浓度的游离泛酰巯基乙胺(近端Si中为613μM,远端SI中为219μM)的事实表明泛酰巯基乙胺酶裂解是将泛酰巯基乙胺转化为半胱胺(和泛酸)的限制因素。因此,预期与化合物1共同施用泛酰巯基乙胺酶诱导剂,或在施用化合物1(100mg/kg)后的一定时间间隔(例如2-4小时)施用将改进泛酰巯基乙胺向半胱胺的转化,且在剂量施用之后几小时、在半胱胺血浆水平开始下降时开始增强半胱胺血浆水平。调节泛酰巯基乙胺酶基因(VNN1和VNN2)表达的天然产物是本领域中已知的,且包括例如萝卜硫素、S-烯丙基半胱氨酸、二烯丙基三硫化物、氧化脂肪、ω-3脂肪酸和十八烯乙醇酰胺。诱导泛酰巯基乙胺酶表达的药物包括PPARα激动剂、PPARγ激动剂。一般来说,诱导Nrf2表达的药物或天然产物是适用的。(Nrf2是活化泛酰巯基乙胺酶表达的转录因子)。

[0598] 对化合物1(100mg/kg)大鼠的近端和远端SI中半胱胺水平的分析分别展现129和34μM的中等游离半胱胺浓度(无TCEP样品)。在TCEP还原之后,那些水平分别增加至430和

899μM。在泛酰巯基乙胺的情况下观察到类似模式。因此,小肠中大部分的半胱胺是二硫化物结合的(无论呈未还原的化合物1或经由硫醇-二硫化物交换与另一硫醇结合的二硫化物形式),其中分率从近端SI到远端SI显著增加。这可以通过近端SI中存在较高浓度的胆汁源性的谷胱甘肽来解释。(胆汁是胃肠道中谷胱甘肽的主要来源,认为肠上皮细胞也分泌谷胱甘肽和半胱氨酸)。因此,胃肠道中的还原能力不足以还原(或保持还原)所有的化合物1。这限制了化合物1向半胱胺的转化(通过二硫键还原,或还原之后加泛酰巯基乙胺酶裂解)。与化合物1(100mg/kg)一起或在其之后施用生理还原剂可提高化合物1转化为半胱胺的效率。可使用多种生理硫醇,包括例如谷胱甘肽、谷胱甘肽二乙酯、γ谷氨酰半胱氨酸、二氢硫辛酸、N-乙酰半胱氨酸、高半胱氨酸、泛酰巯基乙胺、4-磷酸泛酰巯基乙胺、脱磷酸辅酶A、辅酶A、维生素E或抗坏血酸。这些药剂中的任一种可与化合物1一起或在其之后施用,或与化合物1共同配制。适用的制剂可包括延迟释放或持续释放制剂,其在最需要额外二硫键还原能力的时间(例如化合物1释放开始后的2小时)和位置(例如远端小肠)提供还原剂。

[0599] 结肠内容物(经TCEP还原)的分析展现高浓度的半胱胺和泛酰巯基乙胺,确认化合物1前体不完全转化为半胱胺,并且因此确认通过增加给药后4-12小时间隔内的半胱胺产生和吸收来进一步改进药物浓度-时间曲线的形状的范围。例如,与高热量餐食一起施用高剂量的化合物1(例如100mg/kg或更高)将延长化合物1从胃中的释放且延长其被还原、泛酰巯基乙胺裂解且作为半胱胺吸收的时段。化合物1的胃滞留制剂是实现延长从胃中释放的目的的另一种方式。

[0600] 实例14.混合二硫化物的合成-胱胺的酰化

[0601] 已经描述了用于高效合成混合二硫化物的多种方法(参见Witt等人《朗缪尔》23:2318(2007);Musiejuk等人《有机制备和程序(Org.Prep.and Proc.)》47.2:95(2015))。但是,尽管对二硫键形成的化学方法进行了广泛研究(例如Singh等人《含硫官能团(Sulfur-Containing Functional Groups)》(1993)),但必须凭经验却的连接特定硫醇对的有效方法。另外,在开发用于药物物质的合成方法中,必须考虑如杂质概况(杂质的和量)、可扩展性(使用廉价工艺和设备)、固态(例如非晶形或结晶,其可具有不同稳定性特征的溶解度)和盐形式(其也可影响溶解、稳定性和适口性)的考虑因素。

[0602] 提出以下实例以向本领域普通技术人员提供如何实施和评价本文所要求的方法和系统的详细描述,并且旨在纯粹是示例本发明的且不打算限制发明人认为是其发明的范围。实际上,还讨论了可能的改进。

[0603] 以下实例描述了TTI-0102和其盐的合成。此方法可适于合成其它不对称二硫化物。

[0604] 试剂和方法.

[0605] 以下列出了用于通过泛酸盐使胱胺半酰化的七种试剂:

[0606]

试剂	化学文摘社(CAS)#	当量
1.胱胺二盐酸盐	56-17-7	2-4
2.泛酸半钙	137-08-6	1
3.N,N'-二环已基碳化二亚胺(DCC)	538-75-0	3-5
4.1-羟基苯并三唑水合物(HOBt H_2O)	123333-53-9	1-3
5.溶剂:甲醇、二甲基甲酰胺、水		

[0607] 反应流程说明于图36的图A中。将试剂1、2和3溶解于DMF(80mL)和H_2O(160mL)的混合物中。随后,将混合物冷却至0℃且逐滴添加溶解于80mL DMF中的试剂4。将反应物在0℃下搅拌1小时且接着在室温下搅拌过夜。接着将粗反应材料装载于硅胶柱上且将TTI-0102与未酰化的胱胺、双酰化的胱胺(泛硫乙胺)和其它非所需副产物分离(参见实例5中的细节)。TTI-0102在胱胺之前洗脱,胱胺是主要污染物。

[0608] 或者,TTI-0102或污染物质可选择性地结晶且晶体与溶解物质分离。关于TTI-0102的盐形式和沉淀的论述,参见实例17。

[0609] 结果.

[0610] 酰化反应的TTI-0102产率为95%至97%。在色谱纯化之后,质子NMR光谱无可检测的污染峰(图37)。

[0611] 观察.

[0612] 酰化反应具有以下优点:(i)步骤数少,(ii)容易获得的原料,(iii)高产率(97%)和(iv)可扩展。在大规模合成中,通过TTI-0102的选择性结晶,可省去色谱纯化,或用作"抛光"步骤(参见实例17)。

[0613] 室里15.混合二硫化物的合成-半胱胺和泛硫乙胺的硫醇二硫化物交换

[0614] 以下实例描述了TTI-0102和其盐的合成。此方法可适于合成其它不对称二硫化物。

[0615] 试剂和方法.

[0616] 用于半胱胺-泛硫乙胺二硫化物交换的试剂列出如下:

[0617]

试剂	CAS 编号	量	当量	浓度
1. (D)-泛硫乙胺	16816-67-4	1 g	1	1.8 mM
2. 半胱胺(游离碱)	60-23-1	0.42 g	3	5.4 mM
3. 溶剂:乙酸(AcOH)、甲醇(MeOH)和水				

[0618] 反应流程说明于图36的图B中。首先,将试剂1和2溶解于20mL MeOH中且在室温下搅拌过夜。可使用短至一小时的反应时间。

[0619] 色谱纯化.

[0620] 将反应混合物分成2克部分(基于预期的50%产物)、于真空中蒸发且再悬浮于10mL的DCM:MeOH:AcOH中(比率10:3:0.1)(例如10mL/2克预期产物)。使用每1克预期产物30立方厘米(15g干凝胶)来制备硅胶柱(Sigma Aldrich Silica Gel Cat#60737,CAS编号112926-00-8)。在装载再悬浮的反应材料之后,将柱用300mL的DCM:MeOH:AcOH(比率10:3:0.1)的溶剂混合物洗涤,随后用DCM:MeOH:AcOH(10:4:0.1)的溶剂混合物(300ml)洗涤,且再次用DCM:MeOH:AcOH(10:5:0.1)的溶剂混合物洗涤。收集柱洗脱份且通过硅胶薄层色谱(TLC)使用溶解于DCM:MeOH(3:1)的溶剂混合物中的TLC-PET板(Merck货号99577)来分析产物含量。在TLC上以1/4的R_f检测产物。收集含有纯产物的洗脱份,浓缩,且真空干燥。对代表性样品进行^1H NMR(500MHz)。

[0621] 结果.

[0622] 半胱胺-泛硫乙胺反应的TTI-0102产率为50%至55%。在色谱纯化之后,质子NMR光谱无可检测的污染峰

[0623] 观察.

[0624] 硫醇-二硫化物交换反应具有以下优点:(i)少数步骤和温和条件("一锅"反应),(ii)容易获得的廉价原料,(iii)中等产率,和(iv)可扩展。硫醇-二硫化物交换反应可与连续工艺相容。

[0625] 实例16.混合二硫化物的合成-泛酰巯基乙胺和胱胺的硫醇二硫化物交换

[0626] 以下实例描述了TTI-0102和其盐的合成。此方法可适于合成其它不对称二硫化物。

[0627] 试剂和方法.

[0628] 以下列出了用于通过泛酸盐使胱胺半酰化的试剂:

[0629]

试剂	当量	量
1. (D)-泛酰巯基乙胺	3 eq	2.6 g，9.3 mmol
2. 半胱胺盐酸盐	1 eq	700 mg，3.1 mmol
3. MeONa	1.3 eq	通过将 162 mg 的 60% NaH 添加至 5 ml MeOH 而制备

[0630] 方法.

[0631] 如同此反应的半胱胺-泛硫乙胺形式(实例15),溶剂为甲醇。泛酰巯基乙胺可购买,或通过二硫键还原从泛硫乙胺产生。将试剂1溶解于10ml MeOH中。随后,添加试剂2溶液且在室温下搅拌15分钟。试剂3分开溶解于10ml MeOH中,且添加至反应混合物。将整个混合物在室温下搅拌过夜。

[0632] 实例17.TTI-0102盐形式-物理特征和沉淀.

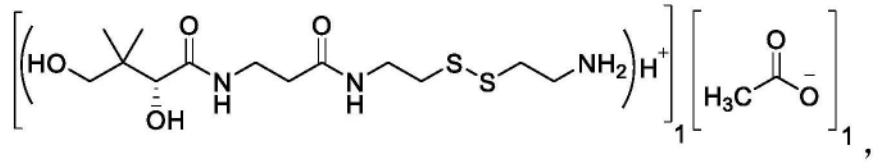
[0633] 如同实例14制备TTI-0102。通过蒸发水和DMF获得粗产物。将残余物悬浮于乙酸乙酯/水中;沉淀,滤出二环已基脲(DCU)。将溶液蒸发且悬浮于甲醇中。滤出沉淀物(未反应的泛酸)。浓缩滤液且接着溶解于少量甲醇中。在添加二氯甲烷之后,将胱胺盐酸盐沉淀且滤出。在蒸发溶剂之后,残余物从甲醇:丙酮(1:10)结晶,得到TTI-1盐酸盐。

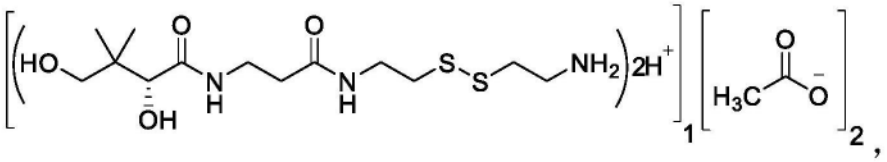
[0634] 形成酒石酸盐且从MeOH:DCM混合物结晶。滤出固体形式(沉淀物)且蒸发滤液。

[0635] 观察.

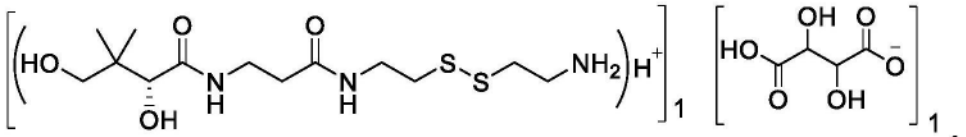
[0636] TTI-0102游离碱在干燥时是透明至微黄色的玻璃状固体。此观察产生对TTI-0102的盐形式的研究。TTI-0102的乙酸盐比游离碱更稳定,且可冻干为固体形式(白色、充满气泡的固体),其可被压碎以产生粉末。TTI-0102的酒石酸盐也可被冻干呈固体形式,且具有比如上文所述的乙酸盐更易于沉淀的额外优点。

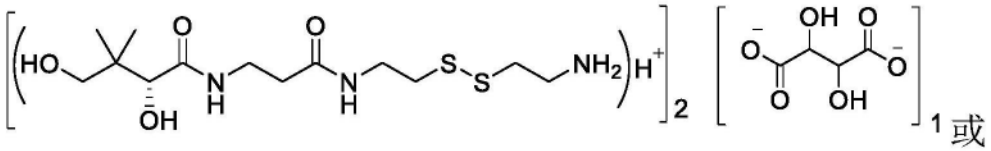
[0637] 化合物1的酸加成盐可具有下式中的任一个:

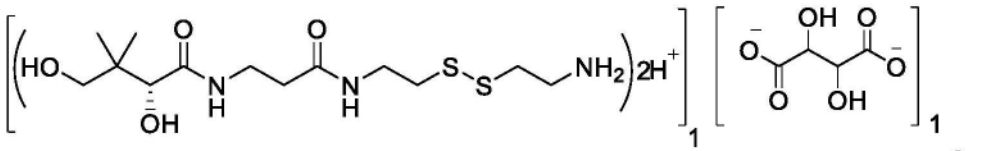




[0638]





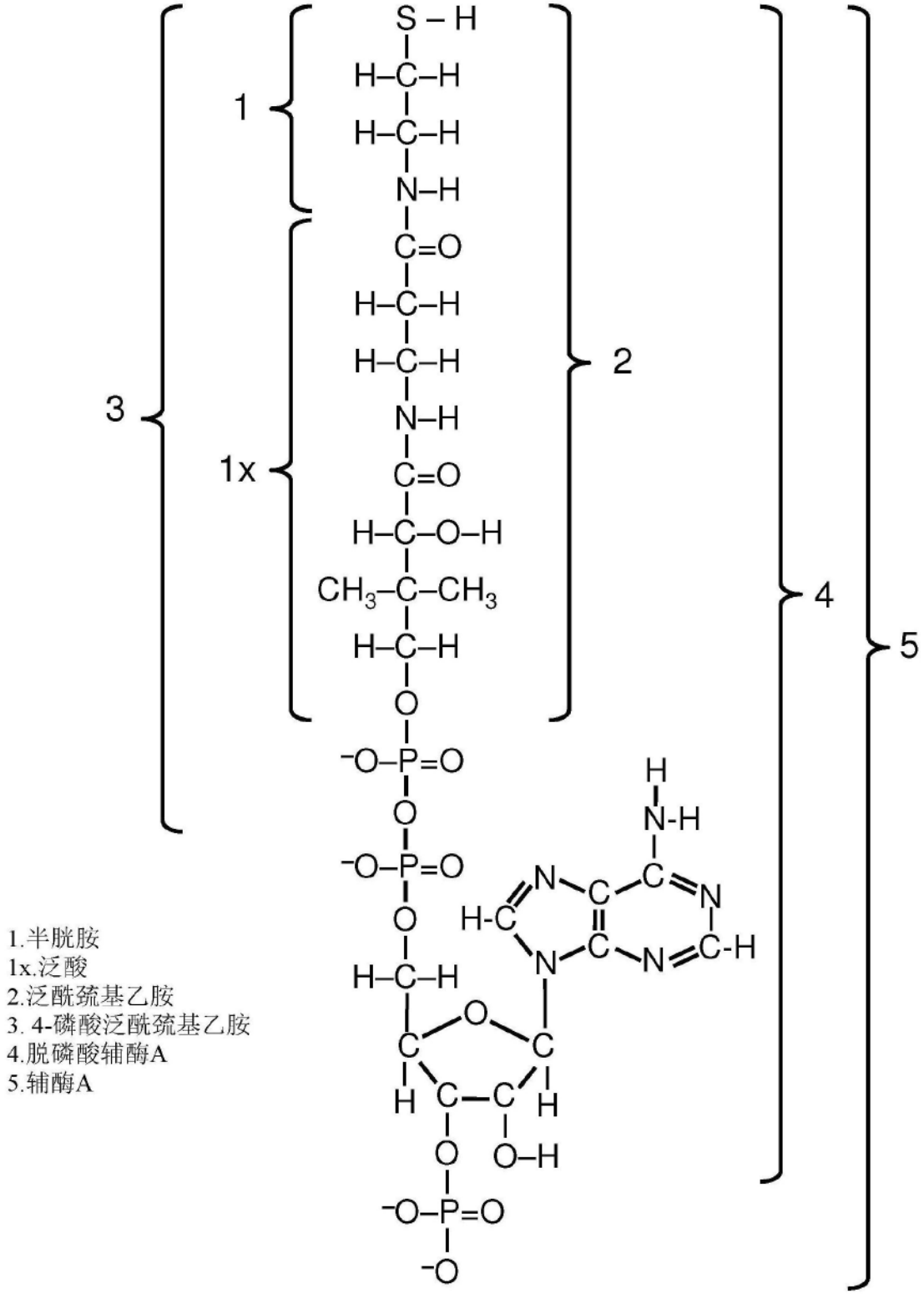


。

[0639] 化合物1的酸加成盐的形式可通过改变形成酸加成盐的溶液中的酸(例如羧酸,如乙酸或酒石酸)与化合物1的摩尔比,和/或通过调节分离盐的溶液的pH来控制。化合物1的酸加成盐可显示有利性质,如关于二硫化物降解的稳定性。

[0640] 其它实施例

[0641] 虽然已经结合本发明的具体实施例描述了本发明,但应理解,本发明能够进一步修改,并且本专利申请意图将如下的任何变化、用途或修改涵盖在本发明的精神内:通常遵循本发明原理并且将与本公开的所述背离包括为在本发明所属领域的普通技术内,并且包括为可以应用于上文所述的基本特征。



1.半胱胺
1x.泛酸
2.泛酰巯基乙胺
3. 4-磷酸泛酰巯基乙胺
4.脱磷酸辅酶A
5.辅酶A

图1

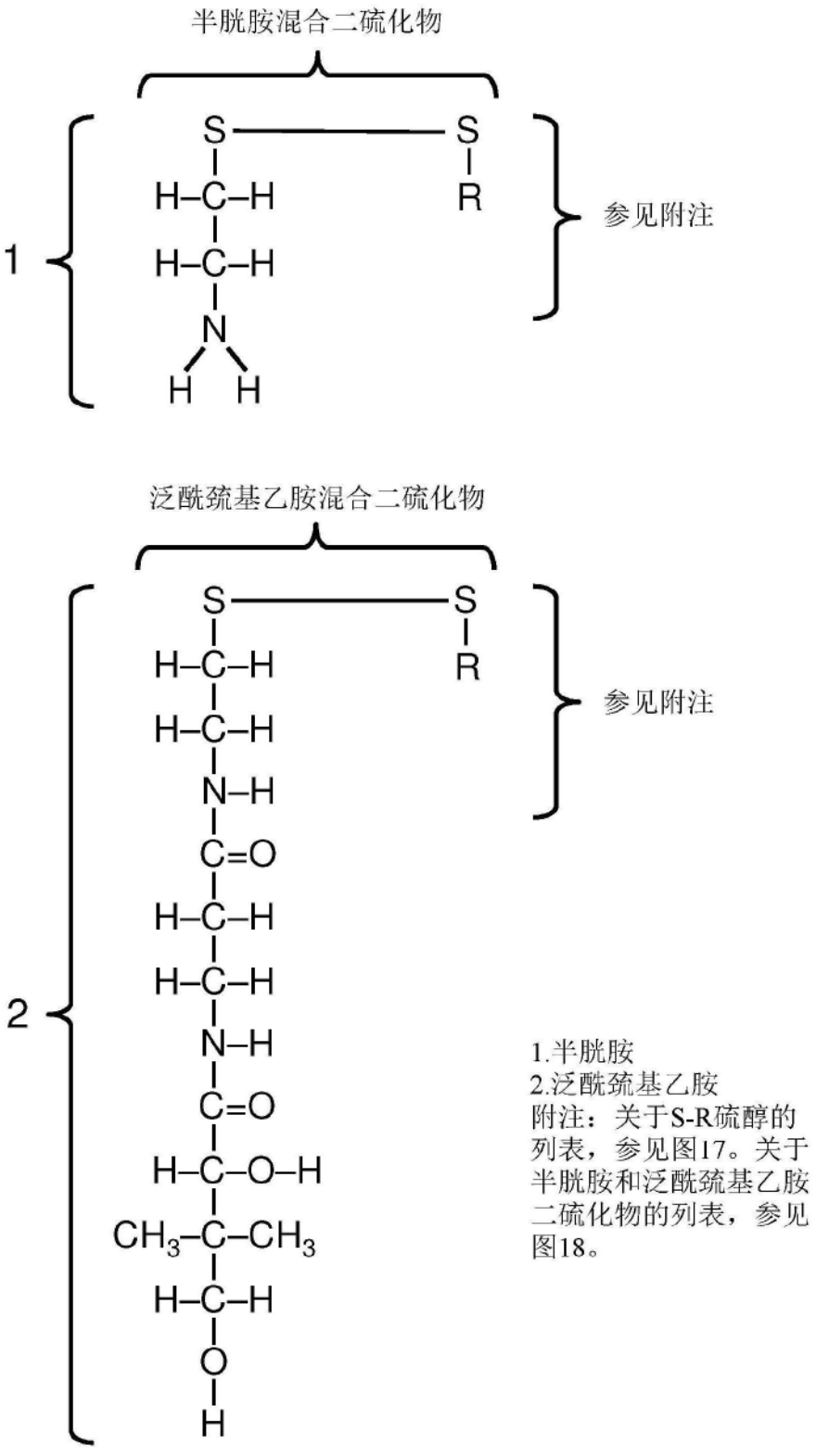

半胱胺混合二硫化物
1
参见附注
泛酰巯基乙胺混合二硫化物
2
参见附注
1.半胱胺
2.泛酰巯基乙胺
附注：关于S-R硫醇的列表，参见图17。关于半胱胺和泛酰巯基乙胺二硫化物的列表，参见图18。

图2

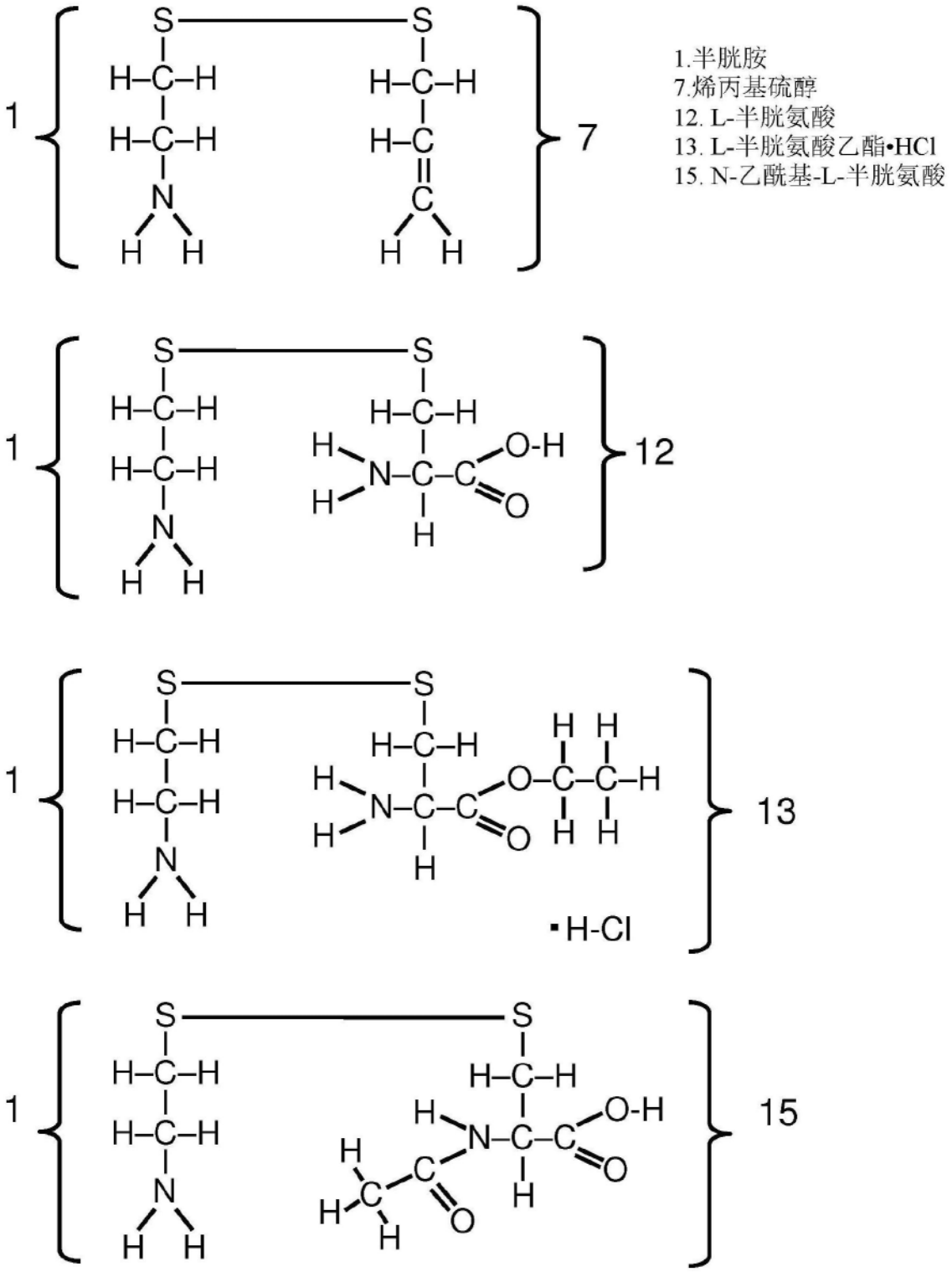

1.半胱胺
7.烯丙基硫醇
12. L-半胱氨酸
13. L-半胱氨酸乙酯•HCl
15. N-乙酰基-L-半胱氨酸
1
7
12
13
•H-Cl
15

图3

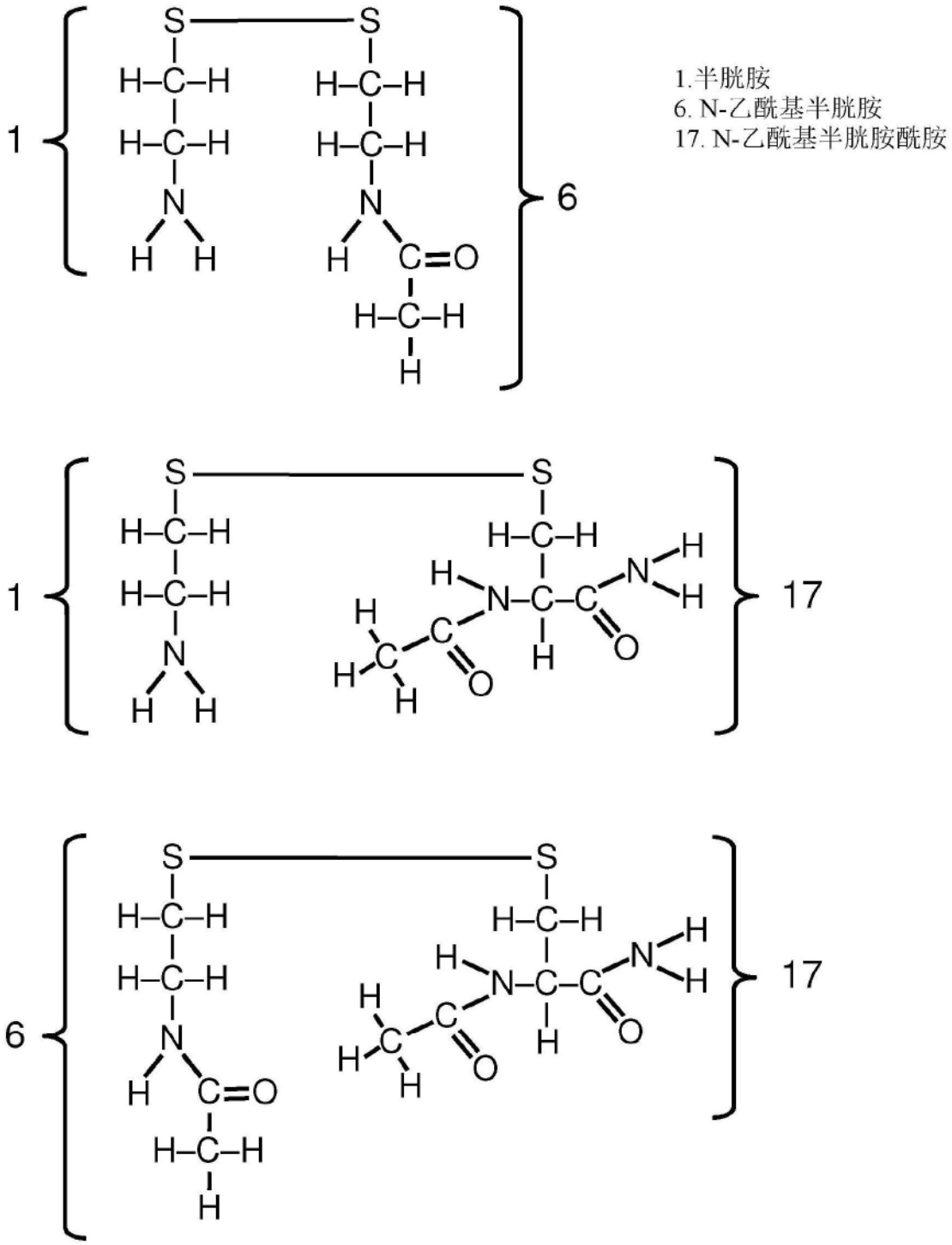


图4

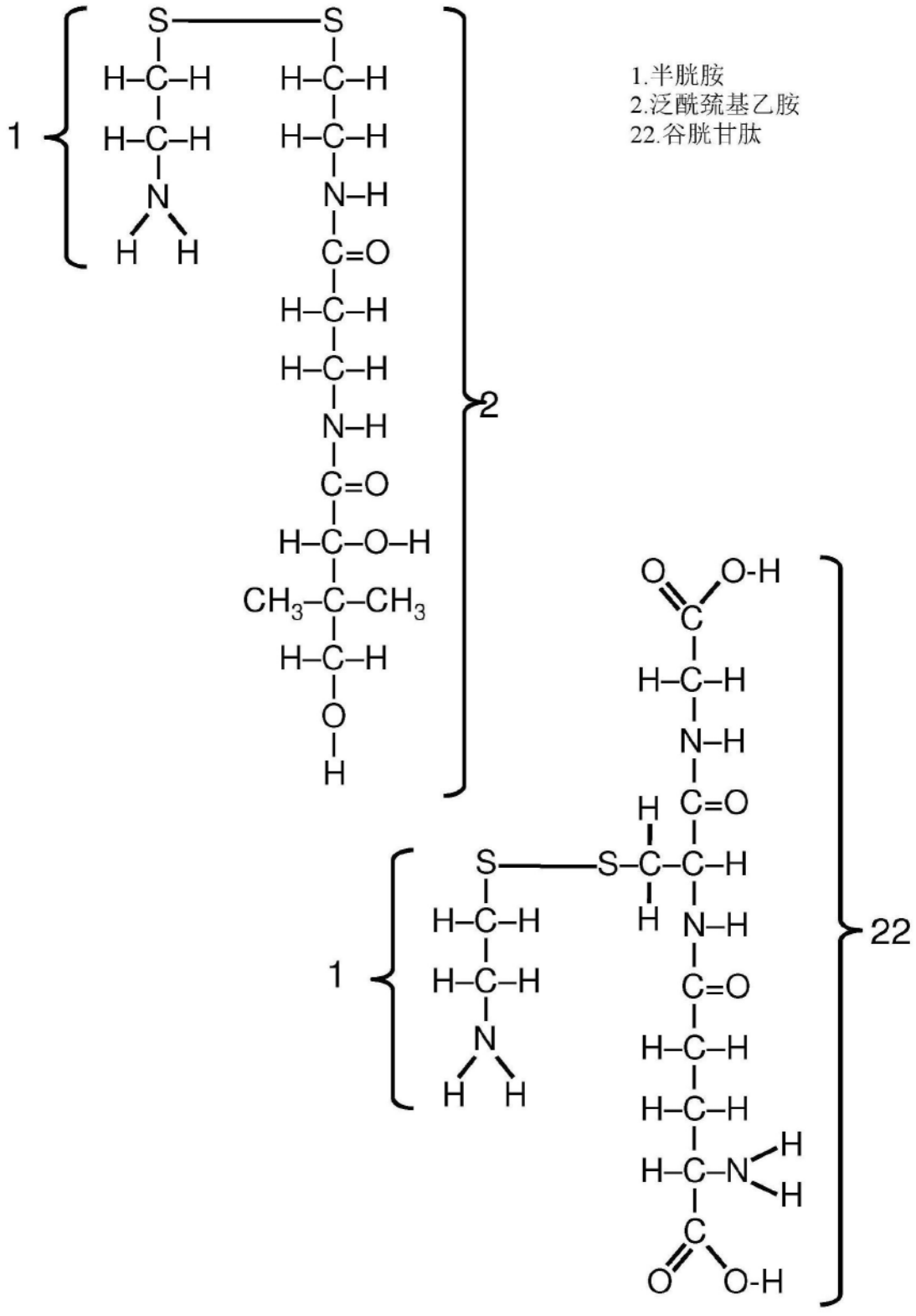


图5

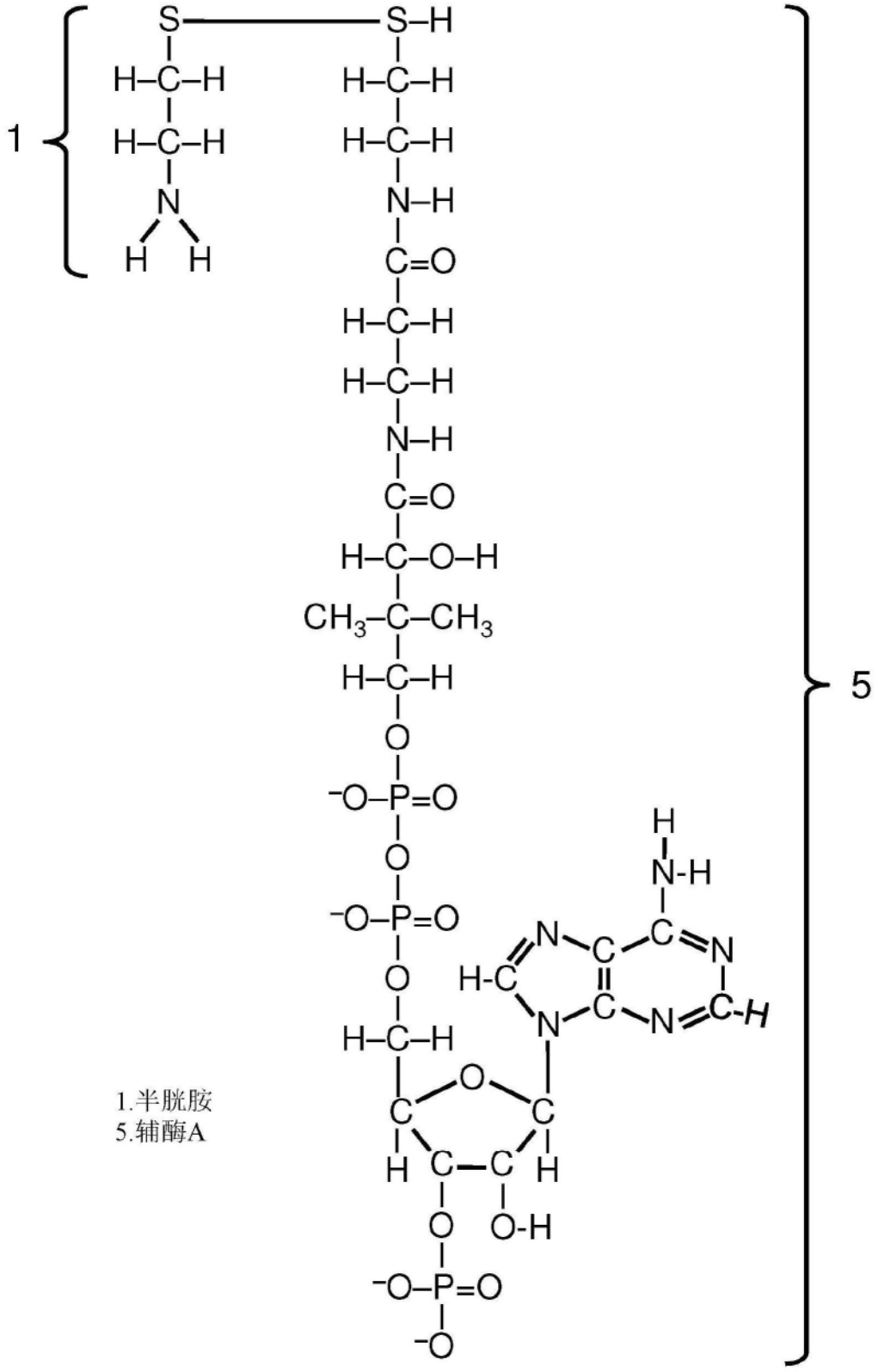


图6

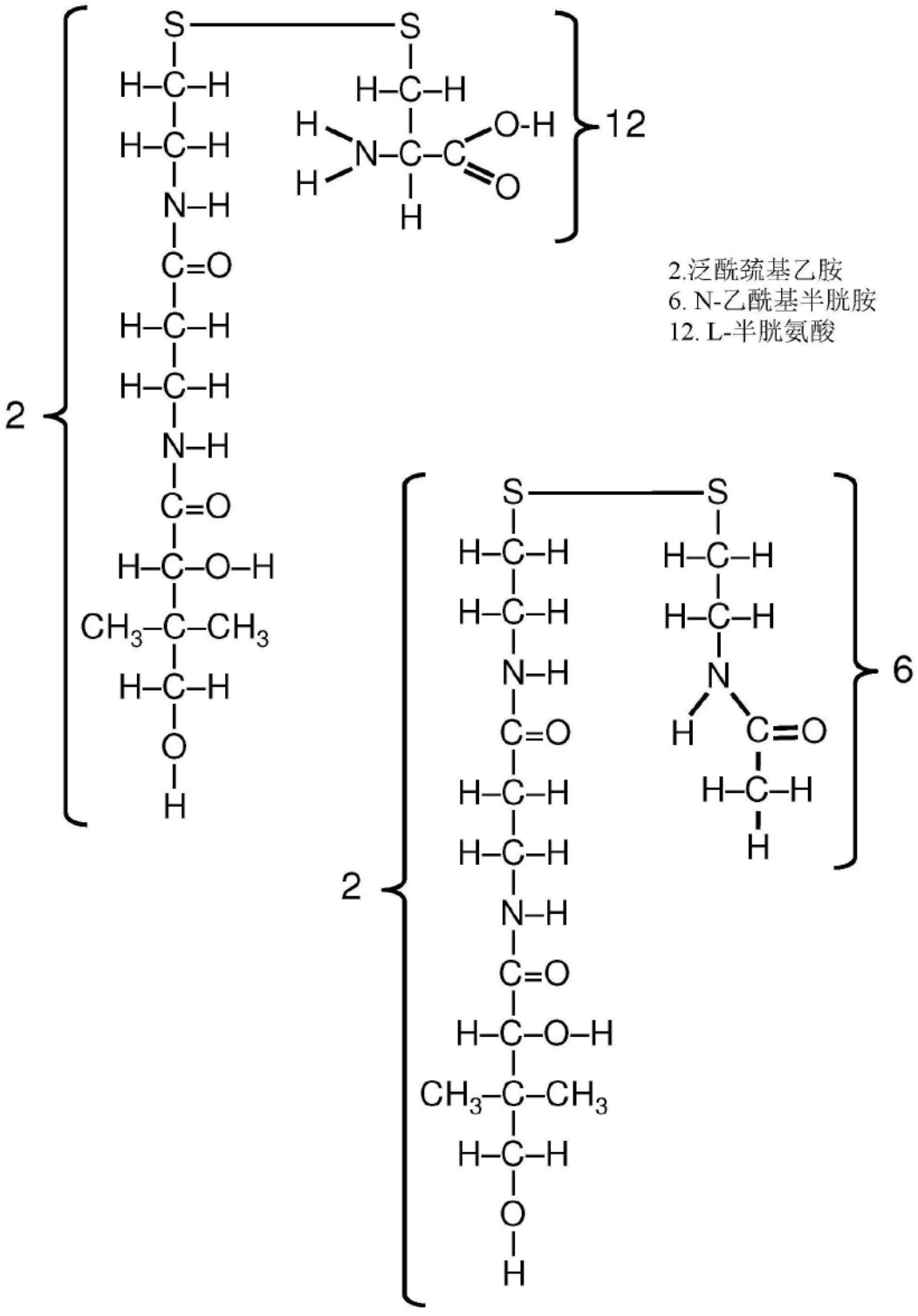


图7

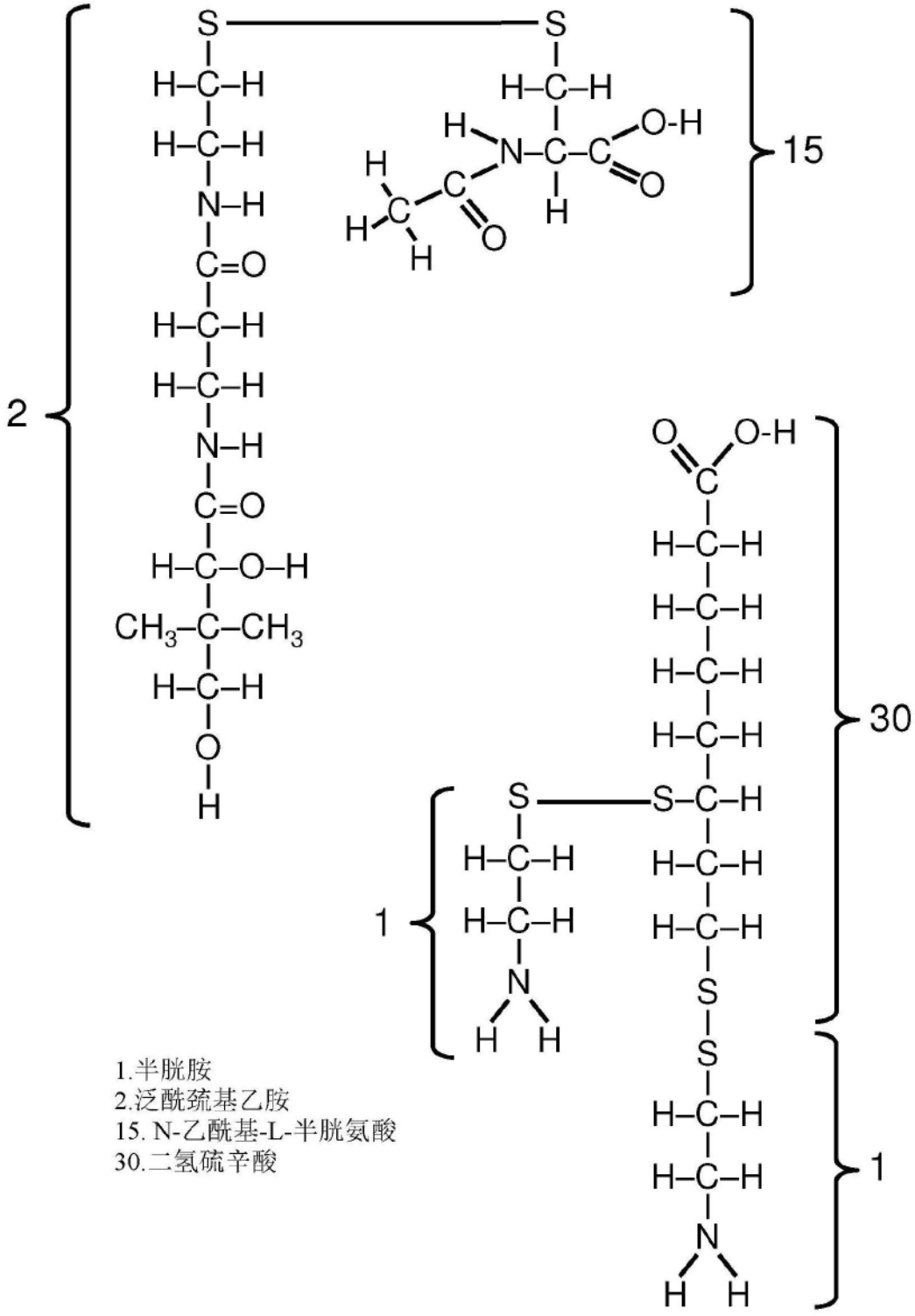


图8

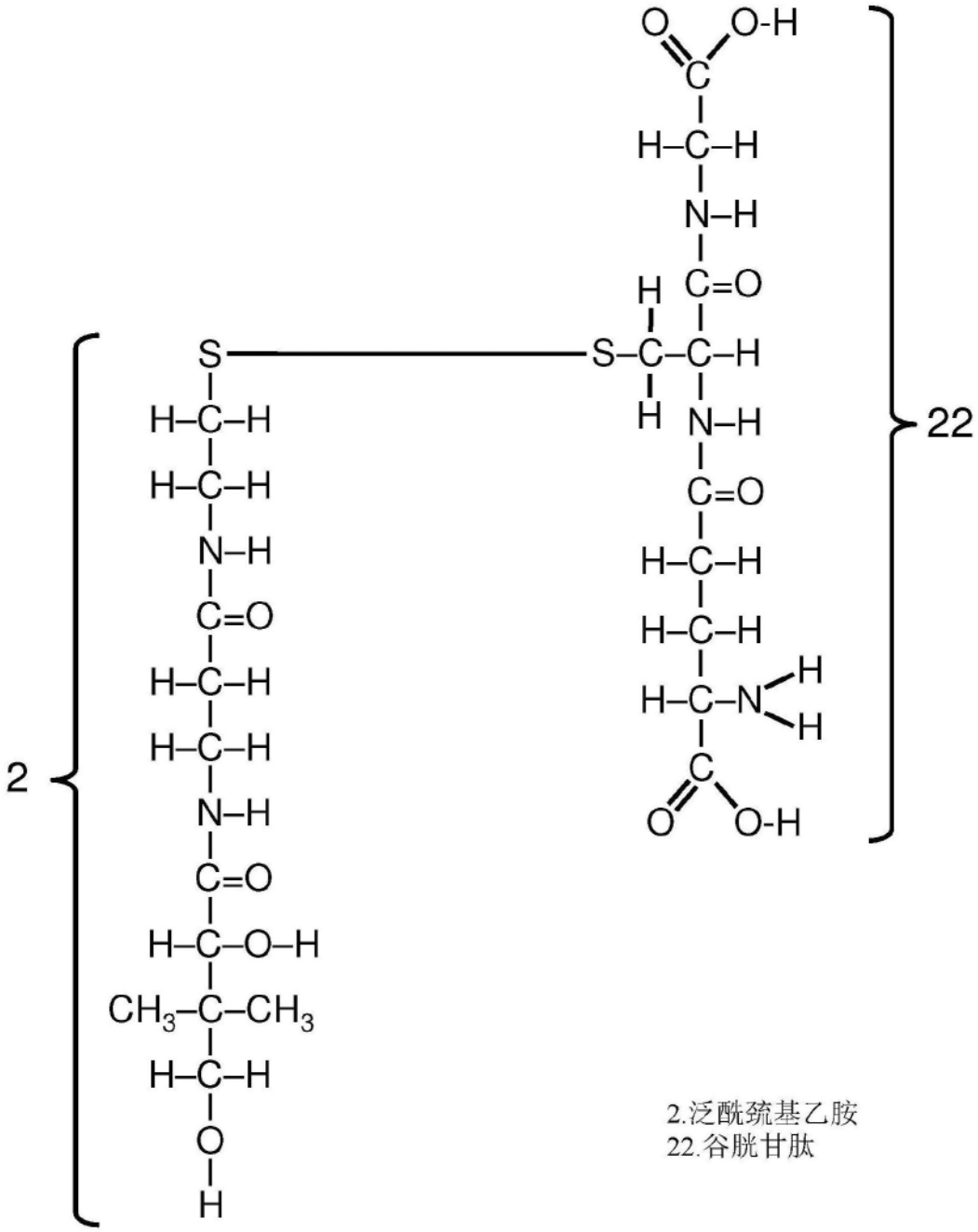


图9

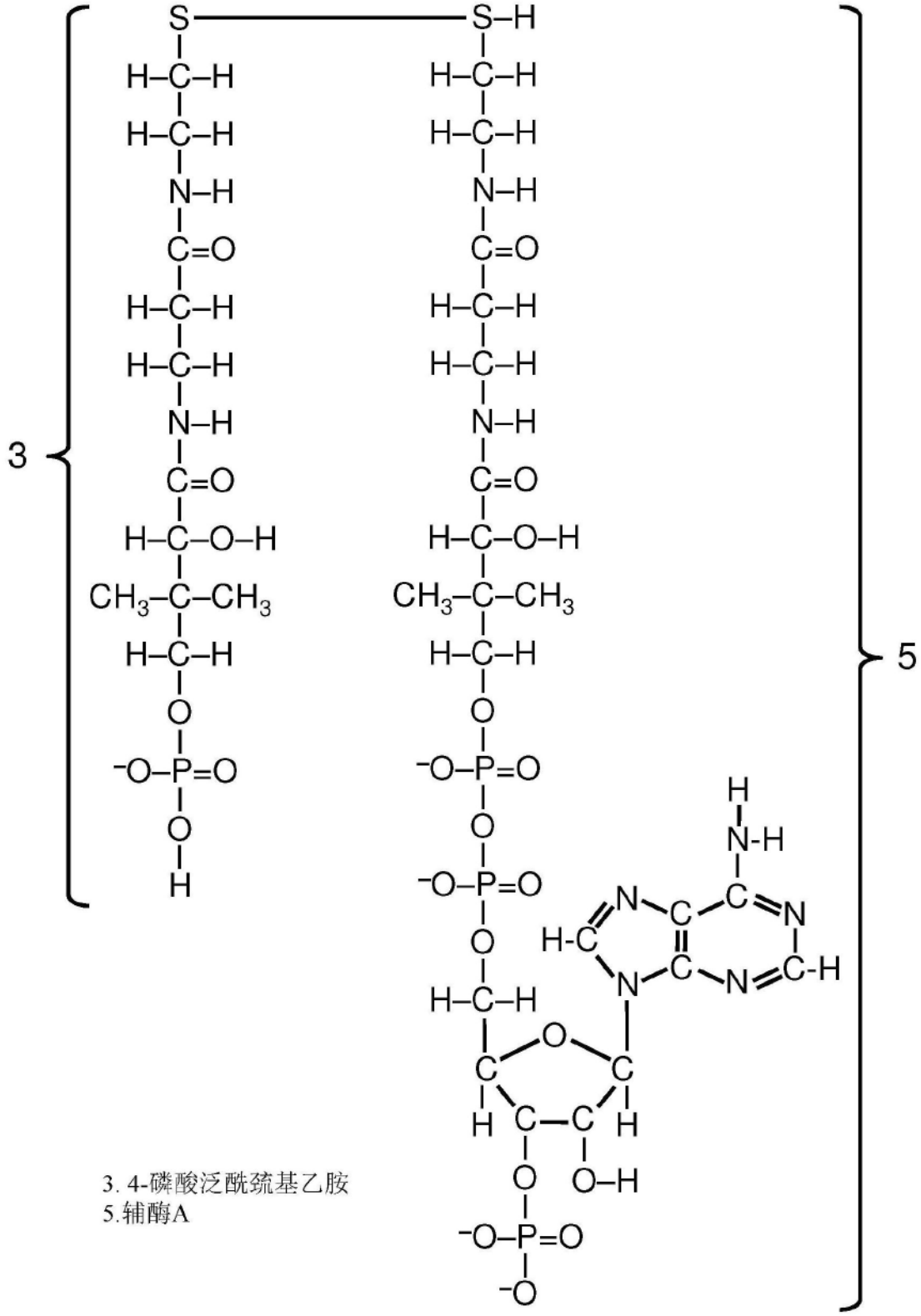


图10

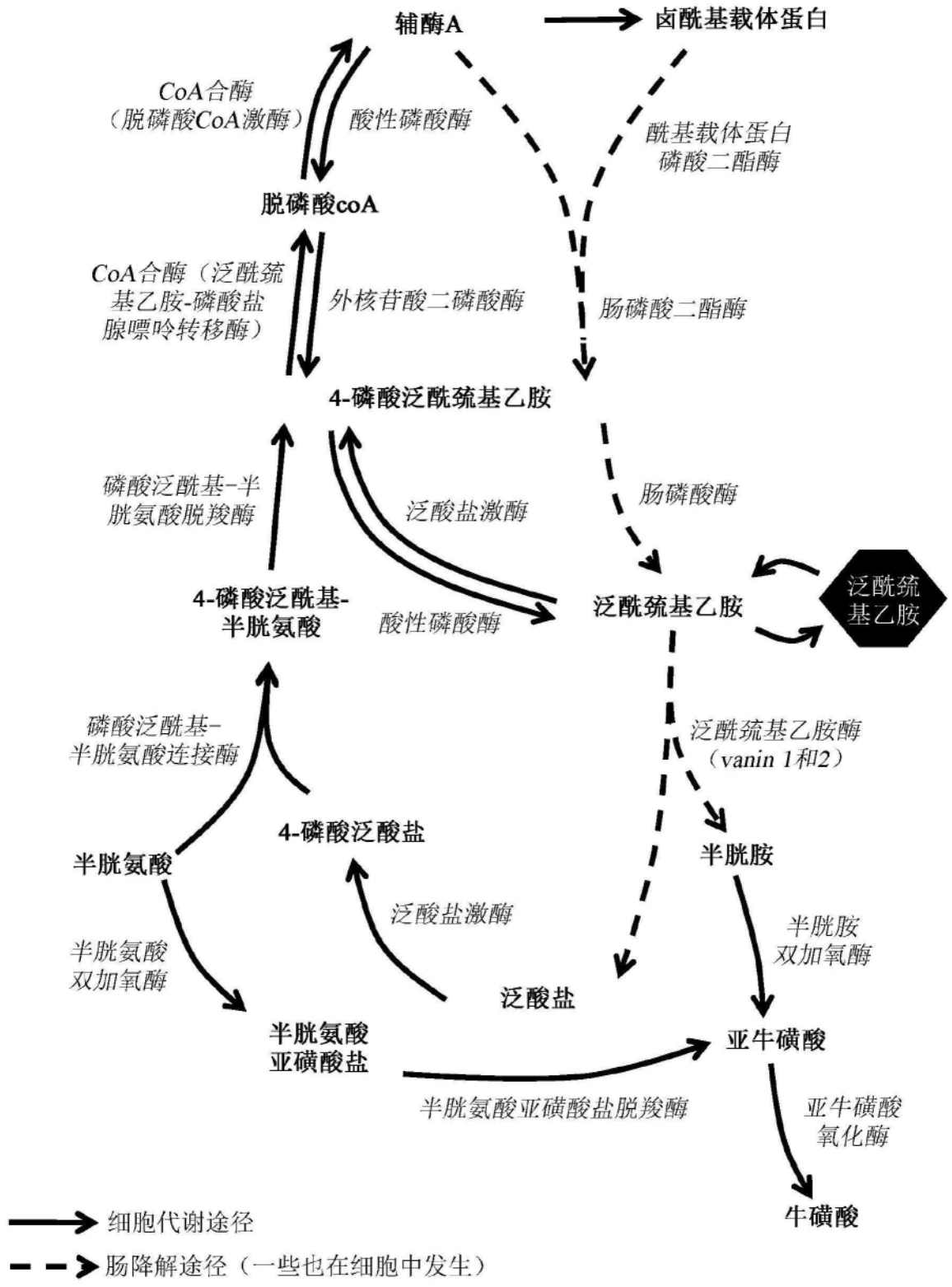
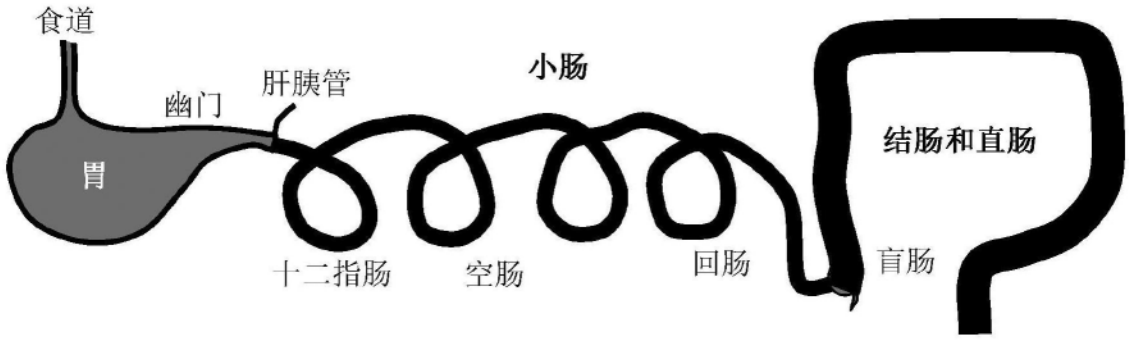

辅酶A
卤酰基载体蛋白
CoA合酶
（脱磷酸CoA激酶）
酸性磷酸酶
酰基载体蛋白
磷酸二酯酶
脱磷酸coA
CoA合酶（泛酰巯
基乙胺-磷酸盐
腺嘌呤转移酶）
外核苷酸二磷酸酶
肠磷酸二酯酶
4-磷酸泛酰巯基乙胺
磷酸泛酰基-半
胱氨酸脱羧酶
泛酸盐激酶
肠磷酸酶
泛酰巯
基乙胺
4-磷酸泛酰基-
半胱氨酸
酸性磷酸酶
泛酰巯基乙胺
磷酸泛酰基-
半胱氨酸连接酶
泛酰巯基乙胺酶
（vanin 1和2）
4-磷酸泛酸盐
半胱胺
半胱氨酸
泛酸盐激酶
半胱胺
双加氧酶
半胱氨酸
双加氧酶
泛酸盐
半胱氨酸
亚磺酸盐
亚牛磺酸
半胱氨酸亚磺酸盐脱羧酶
亚牛磺酸
氧化酶
牛磺酸
细胞代谢途径
肠降解途径（一些也在细胞中发生）

图11



		胃	小肠	结肠和直肠
解剖学	长度：	0.25-0.3米	3.5-3.8米	1.5米
	直径：	1–1.3厘米（幽门）	2–3厘米	8厘米
	表面积：	<1平方米	30平方米	2平方米
	静脉回流：	肝（门脉循环）	肝（门脉循环）	肝，除了回流到心脏的⅔直肠
生理学	pH:	1–2（在一餐后为4-5）	5.5–6.5（十二指肠） 6.5–7.4（空肠、回肠）	5.7 – 7.2
	GSH水平：	非常低	高（在胆汁中为3-4）	中等
	食物通过时间：	1-40分钟禁食 餐后3-5小时	3-4小时	15-40小时
	肠细菌：	稀疏（每毫升100-10,000个）	稀疏（每毫升100-10,000个），直到回肠	致密（每毫升约一千亿个）

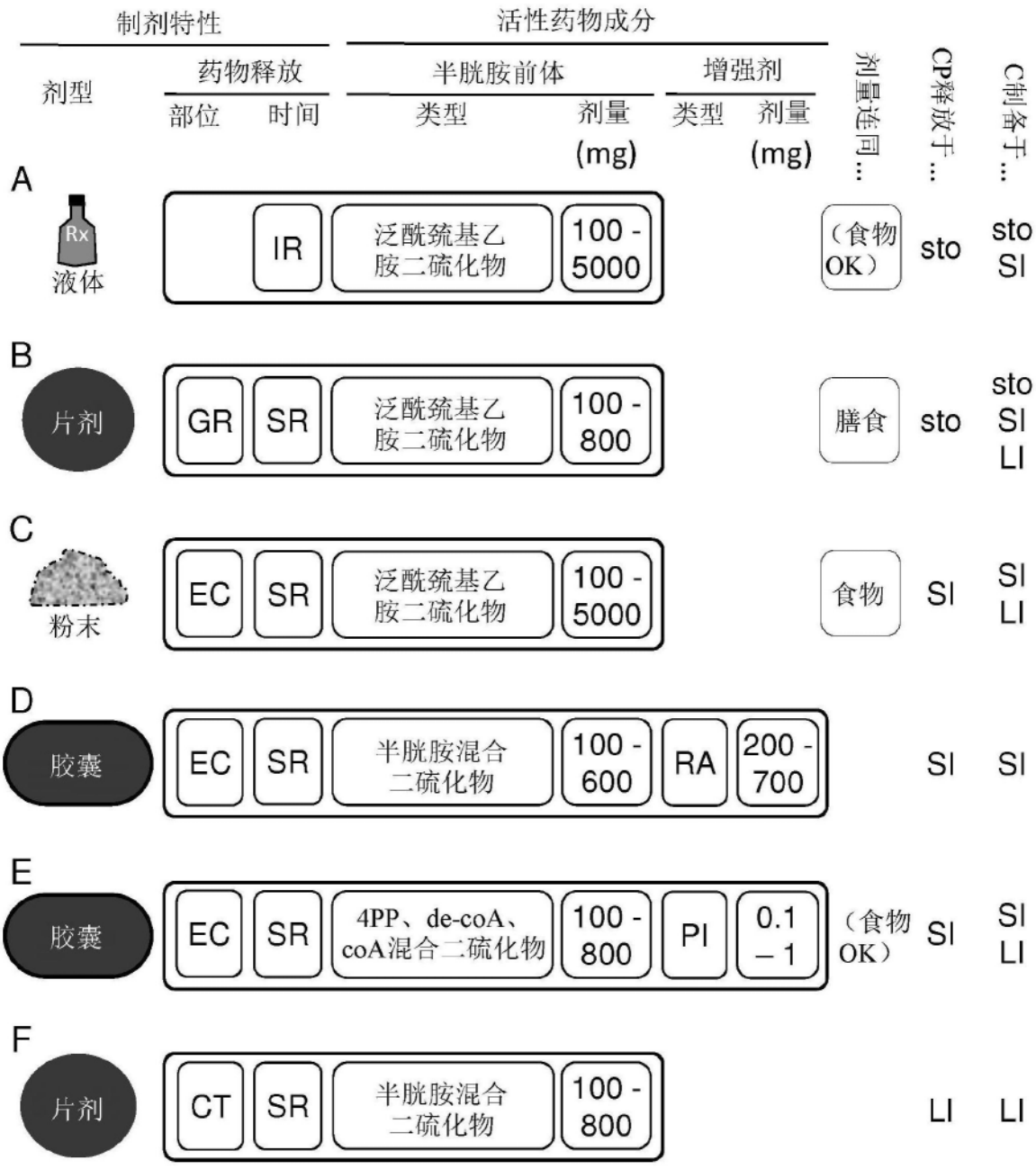
半胱胺形成和吸收		RNA	蛋白质	RNA	蛋白质	RNA	蛋白质
泛酰巯基乙胺酶	VNN1:	2	低	91-153	0-中等	13	0-低
	VNN2:	10	低	3	中等	3 - 29	0-低
	VNN3:	1	高	0	高	0 - 5	中等-高
转运蛋白	OCT1:	0	中等	0	中等	0 – 1	中等
	OCT2:	0	0	0	0	0	0
	OCT3:	4	中等	2 – 3	中等	2 – 4	中等-高

图12

缩写：4PP=4-磷酸泛酰巯基乙胺；dp-coA=脱磷酸-coA；coA=辅酶A；
RA=还原剂；PI=泛酰巯基乙胺酶诱导剂

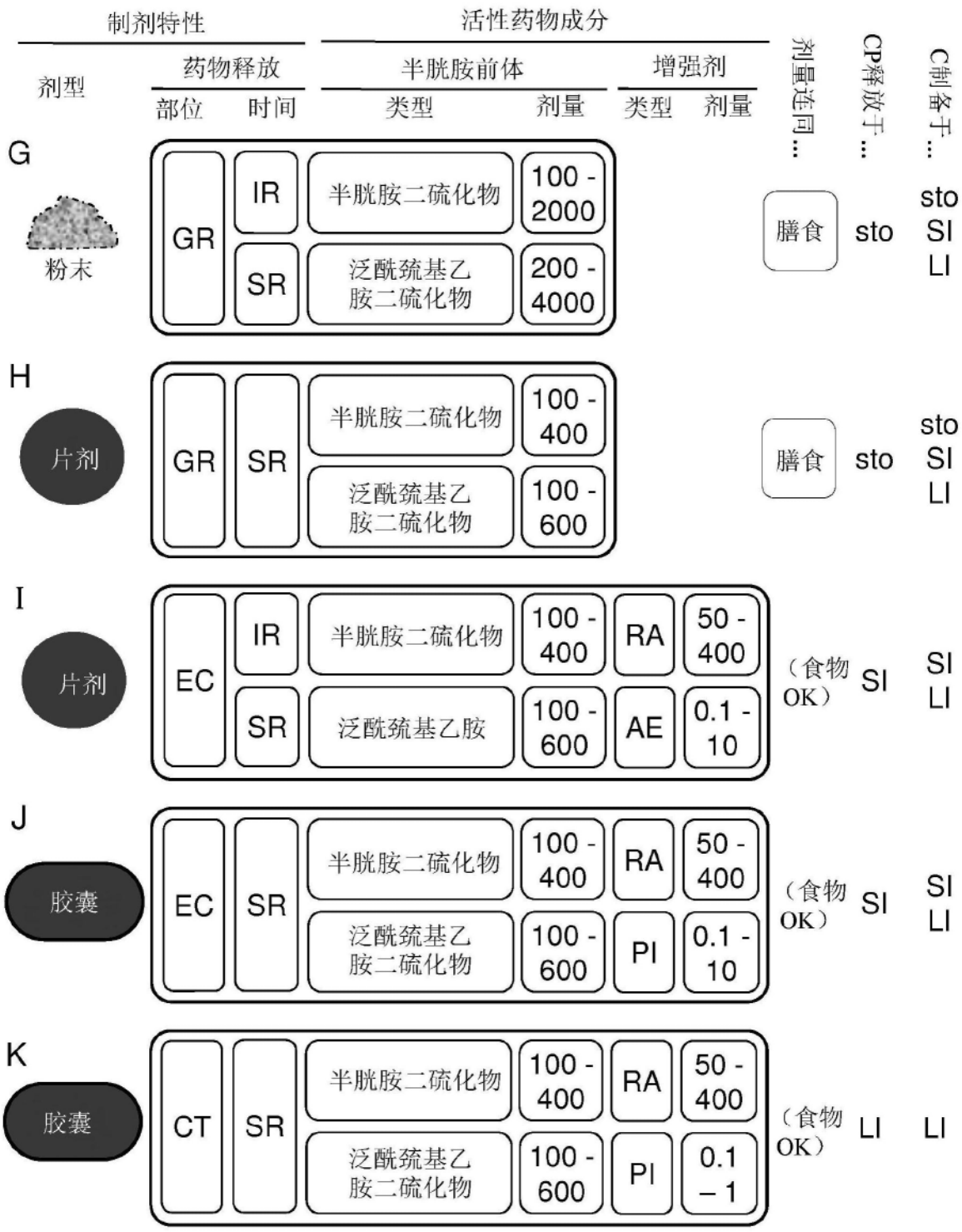


图13



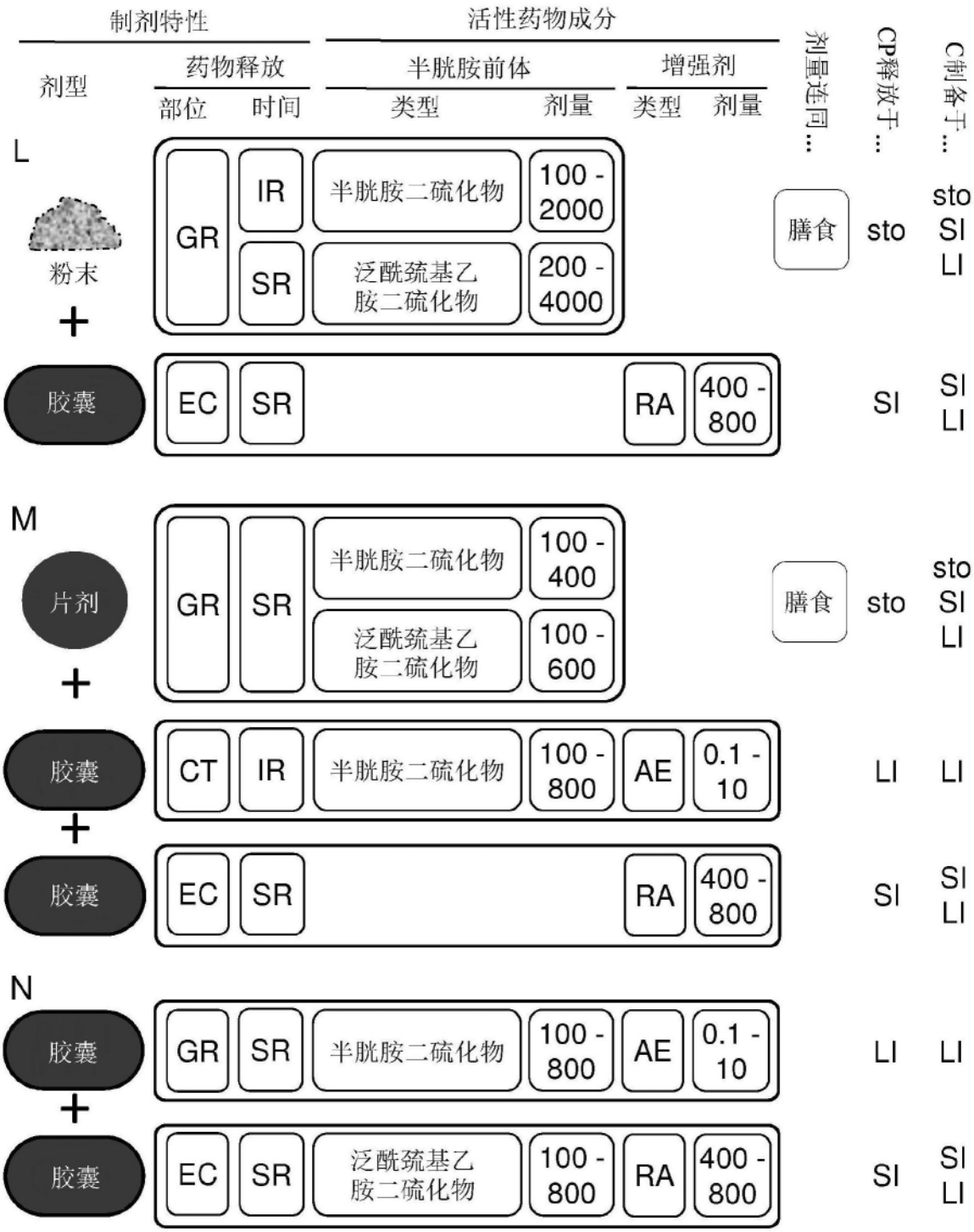
GR：胃滞留，IR：立即释放，SR：持续释放，EC：肠溶包衣，
CT：结肠靶向，4PP：4-磷酸泛酰巯基乙胺，
de-coA：脱磷酸辅酶A；RA：还原剂，PI：泛酰巯基乙胺酶诱导剂，
sto：胃，SI：小肠，LI：大肠，CP：半胱胺前体，C：半胱胺。

图14



关于缩写参见图13。AE：吸收增强剂。剂量以毫克为单位。

图15



关于缩写参见图13和14。剂量以毫克为单位。

图16

编号	硫醇（常用名）	CAS编号	化学式	MW
1	半胱胺	60-23-1	C2 H7 N S	77.15
2	泛酰巯基乙胺	496-65-1	C11 H22 N2 O4 S	278.37
3	4-磷酸泛酰巯基乙胺	2226-71-3	C11 H23 N2 O7 P S	358.35
4	脱磷酸辅酶A	3633-59-8	C21 H35 N7 O13 P2 S	687.55
5	辅酶A	85-61-0	C21 H36 N7 O16 P3 S	1075.99
6	N-乙酰基半胱胺	1190-73-4	C4 H9 N O S	119.185
7	烯丙基硫醇	870-23-5	C3 H6 S	74.145
8	糠基硫醇	98-02-2	C5 H6 O S	114.165
9	苄基硫醇	100-53-8	C7 H8 S	124.203
10	硫代萜品醇	71159-90-5	C10 H18 S	170.31
11	3-巯基丙酮酸	2464-23-5	C3 H4 O3 S	119.12
12	L-半胱氨酸	52-90-4	C3 H7 N O2 S	121.15
13	L-半胱氨酸乙酯HCl	868-59-7	C5 H11 N O2 S * HCl	185.672
14	L-半胱氨酸甲酯HCl	18598-63-5	C4 H9 N O2 S *HCl	171.646
15	N-乙酰基-L-半胱氨酸	7218-04-4	C5 H9 N O3 S	163.195
16	N-乙酰半胱氨酸乙酯	59587-09-6	C7 H13 N O3 S	191.25
17	N-乙酰半胱氨酸酰胺	38520-57-9	C5 H10 N O2 S	162.21
18	L-高半胱氨酸	6027-13-0	C4 H9 N O2 S	135.185
19	半胱氨酰甘氨酸	19246-18-5	C5 H10 N2 O3 S	178.21
20	γ-谷氨酰半胱氨酸	686-58-8	C8 H14 N2 O5 S	250.272
21	γ-谷氨酰半胱氨酸乙酯	114627-30-4	C10 H18 N2 O5 S	278.325
22	谷胱甘肽	70-17-8	C10 H17 N3 O6 S	307.32
23	谷胱甘肽单乙酯	118421-50-4	C12 H21 N3 O6 S	335.377
24	谷胱甘肽二乙酯	97451-40-6	C14 H25 N3 O6 S	363.43
25	巯基乙基葡糖酰胺	3786-84-3	C8 H17 N O6 S	255.289
26	硫代水杨酸	147-93-3	C7 H6 O2 S	154.186
27	硫代半胱氨酸	5652-32-4	C3 H7 N O2 S2	153.223
28	硫普罗宁	1953-02-2	C5 H9 N O3 S	163.195
29	二乙基二硫代氨基甲酸	147-84-2	C5 H11 N S2	149.277
	二硫醇（常用名）	**CAS编号**	**化学式**	**MW**
30	二氢硫辛酸	462-20-4	C8 H16 O2 S2	208.341
31	内消旋-2,3-二巯基丁二酸	304-55-2	C4 H6 O4 S2	182.218
32	2,3-二巯基丙磺酸	74-61-3	C3 H8 O3 S3	188.289
33	2,3-二巯基-1-丙醇	59-52-9	C3 H8 S2 O	124.225
34	布西拉明	65002-17-7 R	C17 H13 N O3 S2	223.313

图17

二硫化物表1A
半胱胺二硫化物

硫醇	MW（道尔顿）	半胱胺产率		
		编号	百分比	步骤
1 + 2	353.52	2	43.6%	1/2
1 + 3	433.50	2	35.6%	1/3
1 + 4	762.70	2	20.2%	1/4
1 + 5	1151.14	2	13.4%	1/4+
1 + 6	194.34	2	79.4%	1/2
1 + 7	149.30	1	51.7%	1
1 + 8	189.32	1	40.8%	1
1 + 11	194.27	1	39.7%	1
1 + 12	196.60	1	39.3%	1
1 + 9	199.35	1	38.7%	1
1 + 33	199.38	1	38.7%	1
1 + 18	210.34	1	36.7%	1
1 + 29	224.43	1	34.4%	1
1 + 27	228.37	1	33.8%	1
1 + 26	229.34	1	32.5%	1
1 + 17	237.36	1	32.4%	1
1 + 28	238.35	1	32.4%	1
1 + 15	238.35	1	31.4%	1
1 + 10	245.46	1	31.3%	1
1 + 14	246.80	1	30.5%	1
1 + 19	253.36	1	30.0%	1
1 + 31	257.37	1	30.0%	1
1 + 13	260.82	1	29.6%	1
1 + 32	263.44	1	29.3%	1
1 + 16	266.40	1	29.0%	1
1 + 30	283.49	1	27.2%	1
1 + 34	298.46	1	25.8%	1
1 + 20	325.42	1	23.7%	1
1 + 25	330.44	1	23.3%	1
1 + 21	353.48	1	21.8%	1
1 + 35	359.54	1	21.5%	1
1 + 22	382.47	1	20.2%	1
1 + 23	410.53	1	18.8%	1
1 + 24	438.58	1	17.6%	1

二硫化物表1B
泛酰巯基乙胺二硫化物

硫醇	MW（道尔顿）	半胱胺产率		
		编号	百分比	步骤
2 + 2	554.74	2	27.8%	2/2
2 + 3	634.72	2	24.3%	2/3
2 + 4	693.92	2	16.0%	2/4
2 + 5	1352.36	2	11.4%	2/4+
2 + 6	395.56	2	39.0%	2/2
2 + 7	350.52	1	22.0%	2
2 + 8	390.54	1	19.8%	2
2 + 11	395.49	1	19.5%	2
2 + 12	397.52	1	19.4%	2
2 + 9	400.57	1	19.3%	2
2 + 33	400.60	1	19.3%	2
2 + 18	411.56	1	18.7%	2
2 + 29	425.65	1	18.1%	2
2 + 27	429.59	1	18.0%	2
2 + 26	430.56	1	17.9%	2
2 + 17	438.58	1	17.6%	2
2 + 28	439.57	1	17.6%	2
2 + 15	439.57	1	17.6%	2
2 + 10	446.68	1	17.3%	2
2 + 14	448.02	1	17.2%	2
2 + 19	454.58	1	17.0%	2
2 + 31	458.59	1	16.8%	2
2 + 13	462.04	1	16.7%	2
2 + 32	464.66	1	16.6%	2
2 + 16	467.62	1	16.5%	2
2 + 30	484.71	1	15.9%	2
2 + 34	499.68	1	15.4%	2
2 + 20	526.64	1	14.6%	2
2 + 25	531.66	1	14.5%	2
2 + 21	554.70	1	13.9%	2
2 + 35	560.76	1	13.8%	2
2 + 22	583.69	1	13.2%	2
2 + 23	611.75	1	12.6%	2
2 + 24	639.80	1	12.1%	2

图18

二硫化物表1C
4-磷酸泛酰巯基乙胺二硫化物

硫醇	MW（道尔顿）	半胱胺产率		
		编号	百分比	步骤
3 + 3	714.70	2	21.6%	3/3
3 + 4	1043.90	2	14.8%	3/4
3 + 5	1432.34	2	10.8%	3/4+
3 + 6	475.54	2	32.4%	3/2
3 + 7	430.50	1	17.9%	3
3 + 8	470.52	1	16.4%	3
3 + 11	475.47	1	16.2%	3
3 + 12	477.50	1	16.2%	3
3 + 9	480.55	1	16.1%	3
3 + 33	480.58	1	16.1%	3
3 + 18	491.54	1	15.7%	3
3 + 29	505.63	1	15.3%	3
3 + 27	509.57	1	15.1%	3
3 + 26	510.54	1	15.1%	3
3 + 17	518.56	1	14.9%	3
3 + 28	519.55	1	14.8%	3
3 + 15	519.55	1	14.8%	3
3 + 10	526.66	1	14.6%	3
3 + 14	528.00	1	14.6%	3
3 + 19	534.56	1	14.4%	3
3 + 31	538.57	1	14.3%	3
3 + 13	542.02	1	14.2%	3
3 + 32	544.64	1	14.2%	3
3 + 16	547.60	1	14.1%	3
3 + 30	564.69	1	13.7%	3
3 + 34	579.66	1	13.3%	3
3 + 20	606.62	1	12.7%	3
3 + 25	611.64	1	12.6%	3
3 + 21	634.68	1	12.2%	3
3 + 35	640.74	1	12.0%	3
3 + 22	663.67	1	11.6%	3
3 + 23	691.73	1	11.2%	3
3 + 24	719.78	1	10.7%	3

二硫化物表1D
脱磷酸辅酶A二硫化物

硫醇	MW（道尔顿）	半胱胺产率		
		编号	百分比	步骤
4 + 4	1373.10	2	11.2%	4/4
4 + 5	1761.54	2	8.8%	4/4+
4 + 6	804.74	2	19.2%	4/2
4 + 7	759.70	1	10.2%	4
4 + 8	799.72	1	9.6%	4
4 + 11	804.67	1	9.6%	4
4 + 12	806.70	1	9.6%	4
4 + 9	809.75	1	9.5%	4
4 + 33	809.78	1	9.5%	4
4 + 18	820.74	1	9.4%	4
4 + 29	834.83	1	9.2%	4
4 + 27	838.77	1	9.2%	4
4 + 26	839.74	1	9.2%	4
4 + 17	847.76	1	9.1%	4
4 + 28	848.75	1	9.1%	4
4 + 15	848.75	1	9.1%	4
4 + 10	855.86	1	9.0%	4
4 + 14	857.20	1	9.0%	4
4 + 19	863.76	1	8.9%	4
4 + 31	867.77	1	8.9%	4
4 + 13	871.22	1	8.9%	4
4 + 32	873.84	1	8.8%	4
4 + 16	876.80	1	8.8%	4
4 + 30	893.89	1	8.6%	4
4 + 34	908.86	1	8.5%	4
4 + 20	935.82	1	8.2%	4
4 + 25	940.84	1	8.2%	4
4 + 21	963.88	1	8.0%	4
4 + 35	969.94	1	8.0%	4
4 + 22	992.87	1	7.8%	4
4 + 23	1020.93	1	7.6%	4
4 + 24	1048.98	1	7.4%	4

图19

二硫化物表1E
辅酶A二硫化物

硫醇	MW（道尔顿）	半胱胺产率		
		编号	百分比	步骤
5 + 5	2149.98	2	7.2%	4+/4+
5 + 6	1193.18	2	12.9%	4+/2
5 + 7	1148.14	1	6.7%	4+
5 + 8	1188.16	1	6.5%	4+
5 + 11	1193.11	1	6.5%	4+
5 + 12	1195.14	1	6.5%	4+
5 + 9	1198.19	1	6.4%	4+
5 + 33	1198.22	1	6.4%	4+
5 + 18	1209.18	1	6.4%	4+
5 + 29	1223.27	1	6.3%	4+
5 + 27	1227.21	1	6.3%	4+
5 + 26	1228.18	1	6.3%	4+
5 + 17	1236.20	1	6.2%	4+
5 + 28	1237.19	1	6.2%	4+
5 + 15	1237.19	1	6.2%	4+
5 + 10	1244.30	1	6.2%	4+
5 + 14	1245.64	1	6.2%	4+
5 + 19	1252.20	1	6.2%	4+
5 + 31	1256.21	1	6.1%	4+
5 + 13	1259.66	1	6.1%	4+
5 + 32	1262.28	1	6.1%	4+
5 + 16	1265.24	1	6.1%	4+
5 + 30	1282.33	1	6.0%	4+
5 + 34	1297.30	1	5.9%	4+
5 + 20	1324.26	1	5.8%	4+
5 + 25	1329.28	1	5.8%	4+
5 + 21	1352.32	1	5.7%	4+
5 + 35	1358.38	1	5.7%	4+
5 + 22	1381.31	1	5.6%	4+
5 + 23	1409.37	1	5.5%	4+
5 + 24	1437.42	1	5.4%	4+

二硫化物表1F
N-乙酰基半胱胺二硫化物

硫醇	MW（道尔顿）	半胱胺产率		
		编号	百分比	步骤
6 + 6	236.37	2	65.3%	2/2
6 + 7	191.33	1	40.3%	2
6 + 8	231.35	1	33.3%	2
6 + 11	236.31	1	32.6%	2
6 + 12	238.34	1	32.4%	2
6 + 9	241.39	1	32.0%	2
6 + 33	241.41	1	32.0%	2
6 + 18	252.37	1	30.6%	2
6 + 29	266.46	1	29.0%	2
6 + 27	270.41	1	28.5%	2
6 + 26	271.37	1	28.4%	2
6 + 17	279.40	1	27.6%	2
6 + 28	280.38	1	27.5%	2
6 + 15	280.38	1	27.5%	2
6 + 10	287.50	1	26.8%	2
6 + 14	288.83	1	26.7%	2
6 + 19	295.39	1	26.1%	2
6 + 31	299.40	1	25.8%	2
6 + 13	302.86	1	25.5%	2
6 + 32	305.47	1	25.3%	2
6 + 16	308.44	1	25.0%	2
6 + 30	325.53	1	23.7%	2
6 + 34	340.50	1	22.7%	2
6 + 20	367.46	1	21.0%	2
6 + 25	372.47	1	20.7%	2
6 + 21	395.51	1	19.5%	2
6 + 35	401.58	1	19.2%	2
6 + 22	424.51	1	18.2%	2
6 + 23	452.56	1	17.0%	2
6 + 24	480.61	1	16.1%	2

图20

表2A：产生2个半胱胺的含二硫化物

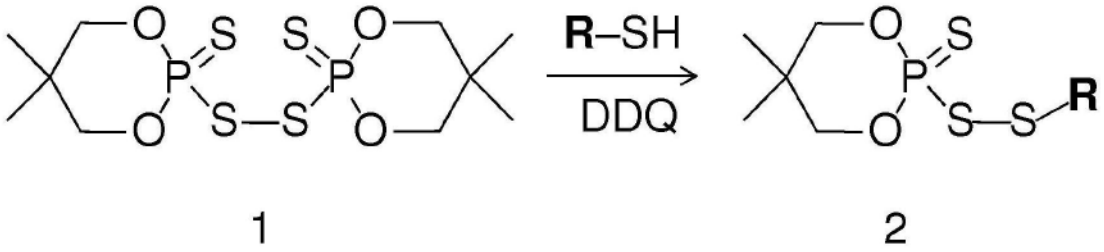
二硫醇+硫醇+硫醇	MW范围（道尔顿）	半胱胺产率（范围）
30 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇1-6中的任一种)	358.64 - 2,356.32	6.5% - 43%
31 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇1-6中的任一种)	332.52 - 2,330.20	6.6% - 46.4%
32 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇1-6中的任一种)	338.59 - 2,336.27	6.6% - 45.6%
33 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇1-6中的任一种)	274.53 - 2,272.21	6.8% - 56.2%
34 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇1-6中的任一种)	373.61 - 2,371.30	6.5% - 41.3%
实例：30 + 1 + 1	358.64	43.0%（1/1步）
实例：30 + 1 + 2	559.86	27.6%（1/2步）
实例：30 + 2 + 2	761.08	20.3%（2/2步）

表2B：产生1个半胱胺的含二硫化物

二硫醇+硫醇+硫醇	MW范围（道尔顿）	半胱胺产率（范围）
30 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇7-35中的任一种)	355.64 – 1,643.76	0.047 – 0.217
31 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇7-35中的任一种)	329.51 – 1,617.64	0.048 – 0.234
32 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇7-35中的任一种)	335.58 – 1,623.71	0.048 – 0.230
33 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇7-35中的任一种)	271.52 – 1,559.65	0.049 – 0.284
34 +(硫醇1-6中的任一种)+(硫醇7-35中的任一种)	370.61 – 1,658.73	0.047 – 0.208
实例：30 + 1 + 16	472.74	16.3%（1步）
实例：30 + 2 + 16	673.96	11.4%（2步）
实例：30 + 1 + 16	388.63	19.9%（1步）

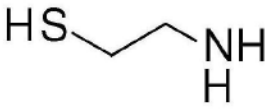
图21

步骤1：活化硫醇

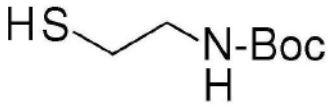


1 2

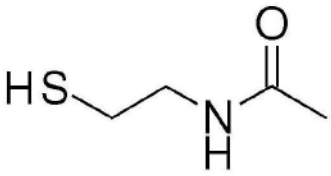
R–SH =



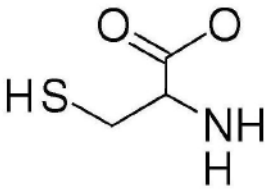
3



4



5



6

7

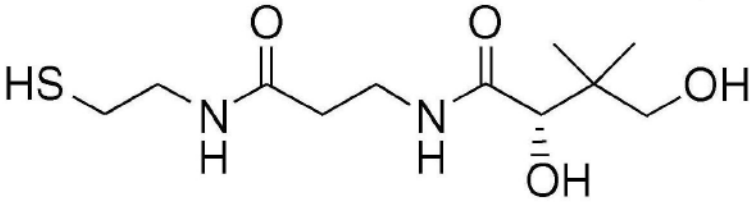


图22

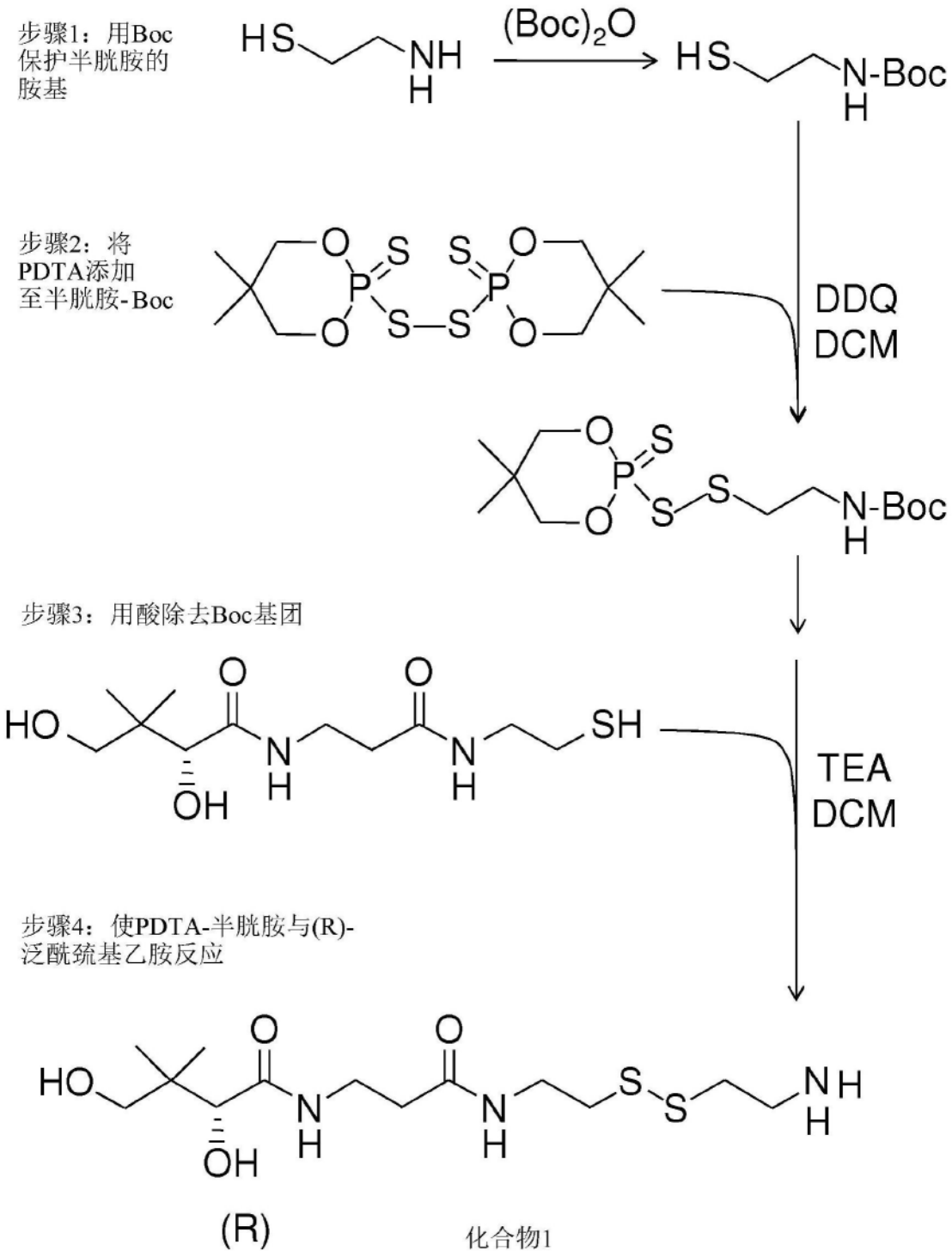

步骤1：用Boc保护半胱胺的胺基
(Boc)2O
N-Boc
步骤2：将PDTA添加至半胱胺-Boc
DDQ
DCM
步骤3：用酸除去Boc基团
TEA
DCM
步骤4：使PDTA-半胱胺与(R)-泛酰巯基乙胺反应
(R)
化合物1

图23

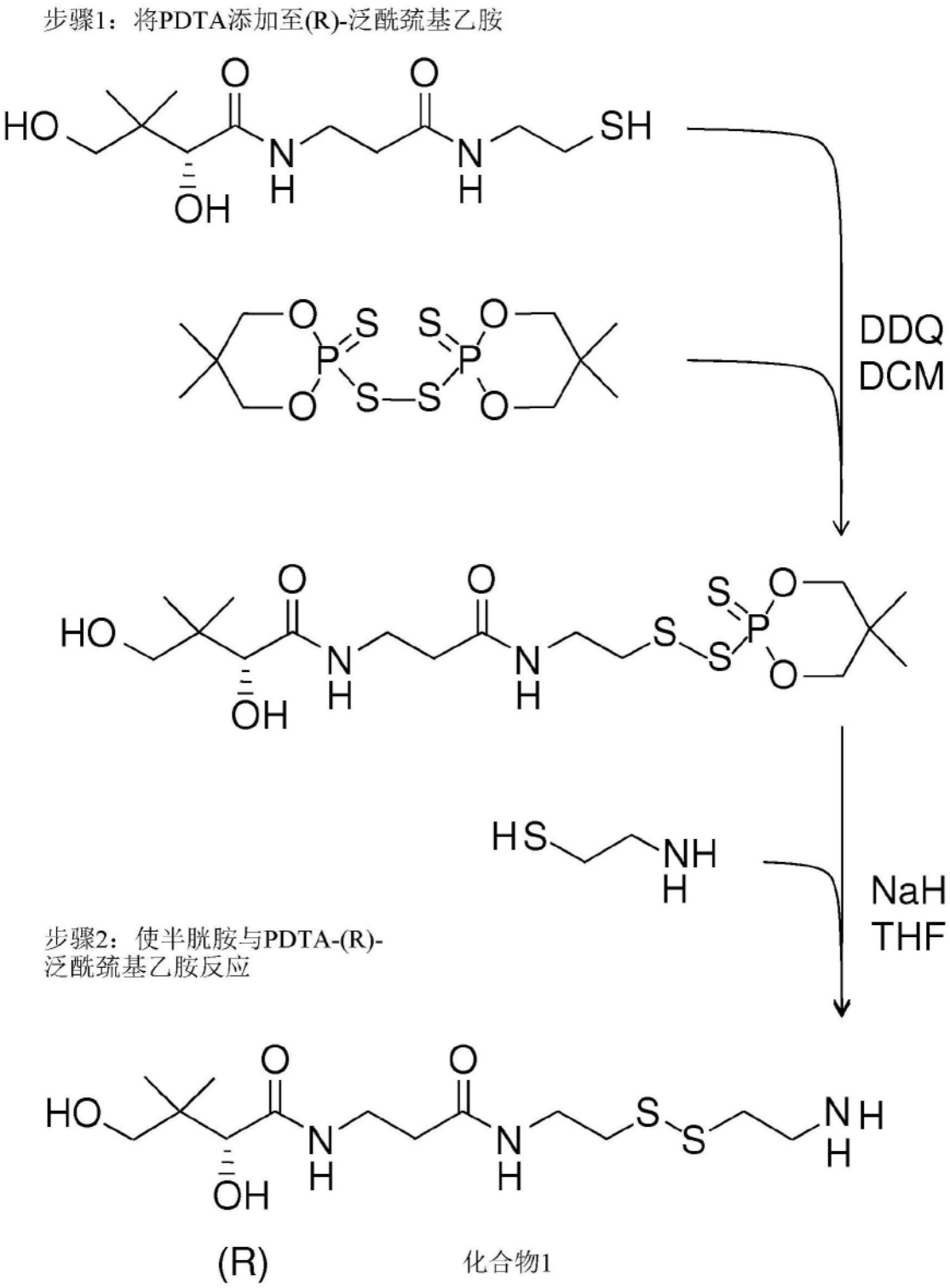
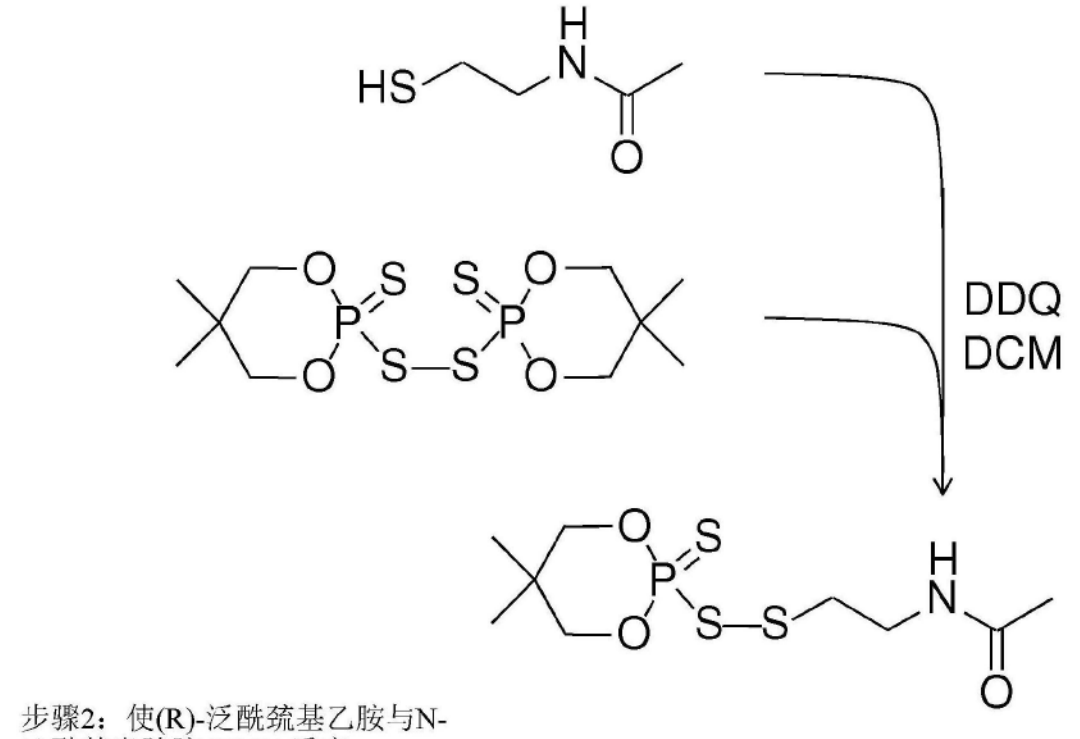
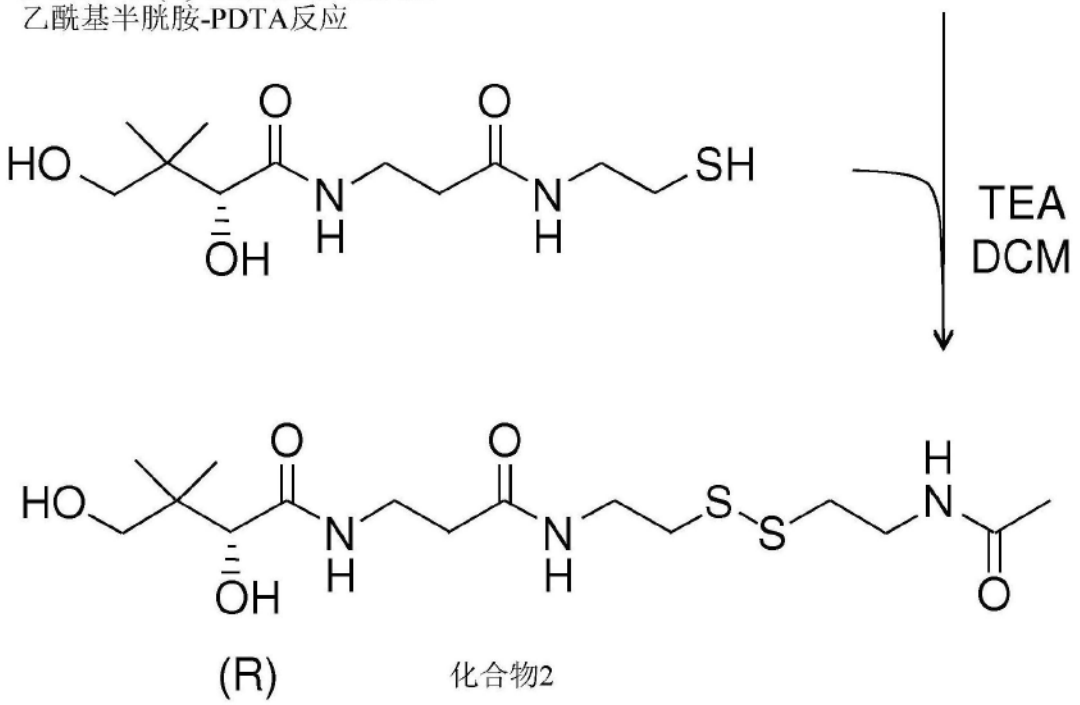

步骤1：将PDTA添加至(R)-泛酰巯基乙胺
DDQ
DCM
NaH
THF
步骤2：使半胱胺与PDTA-(R)-泛酰巯基乙胺反应
(R)
化合物1

图24

步骤1：将PDTA添加至N-乙酰基半胱胺



步骤2：使(R)-泛酰巯基乙胺与N-乙酰基半胱胺-PDTA反应



(R) 化合物2

图25

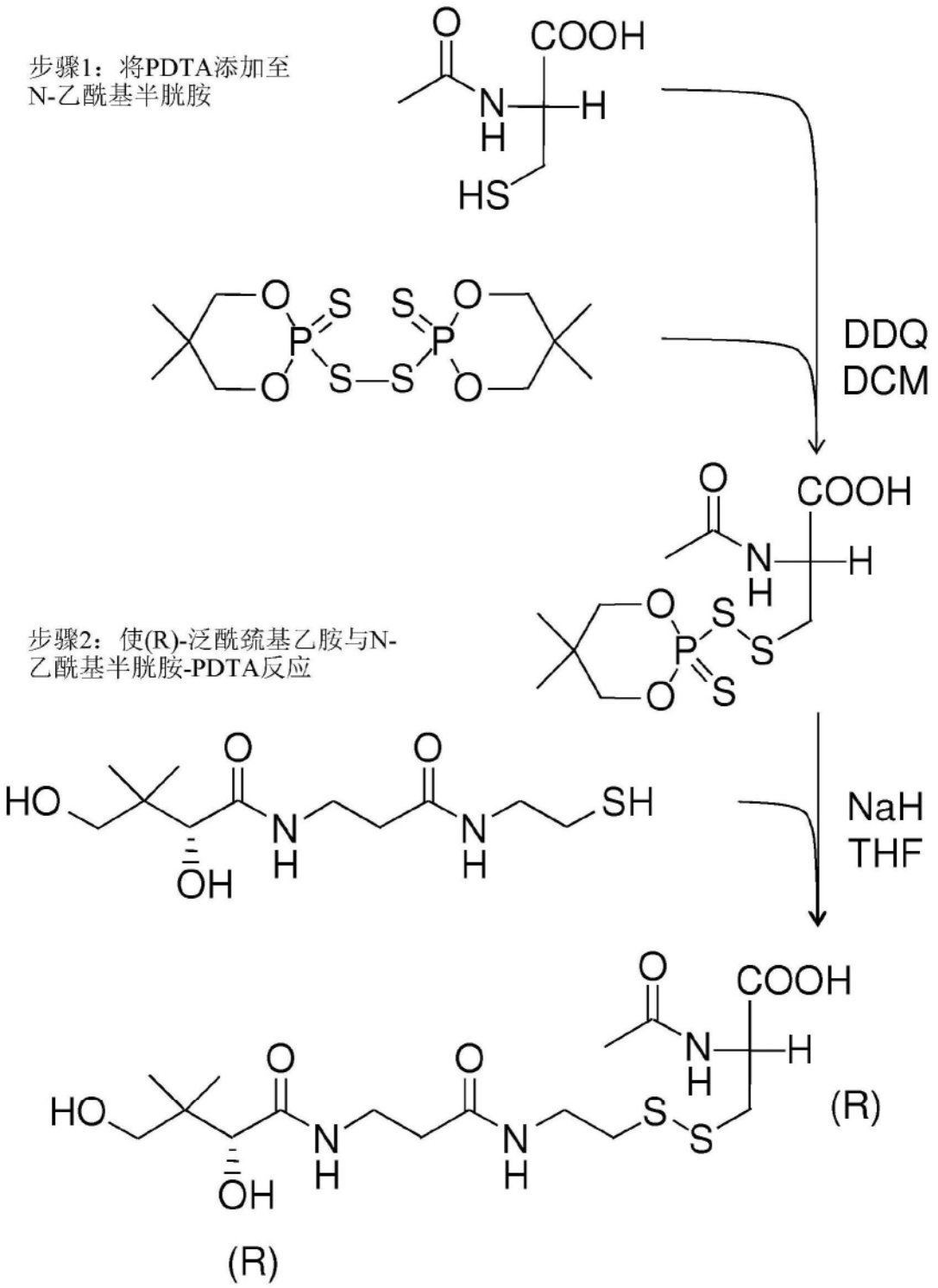
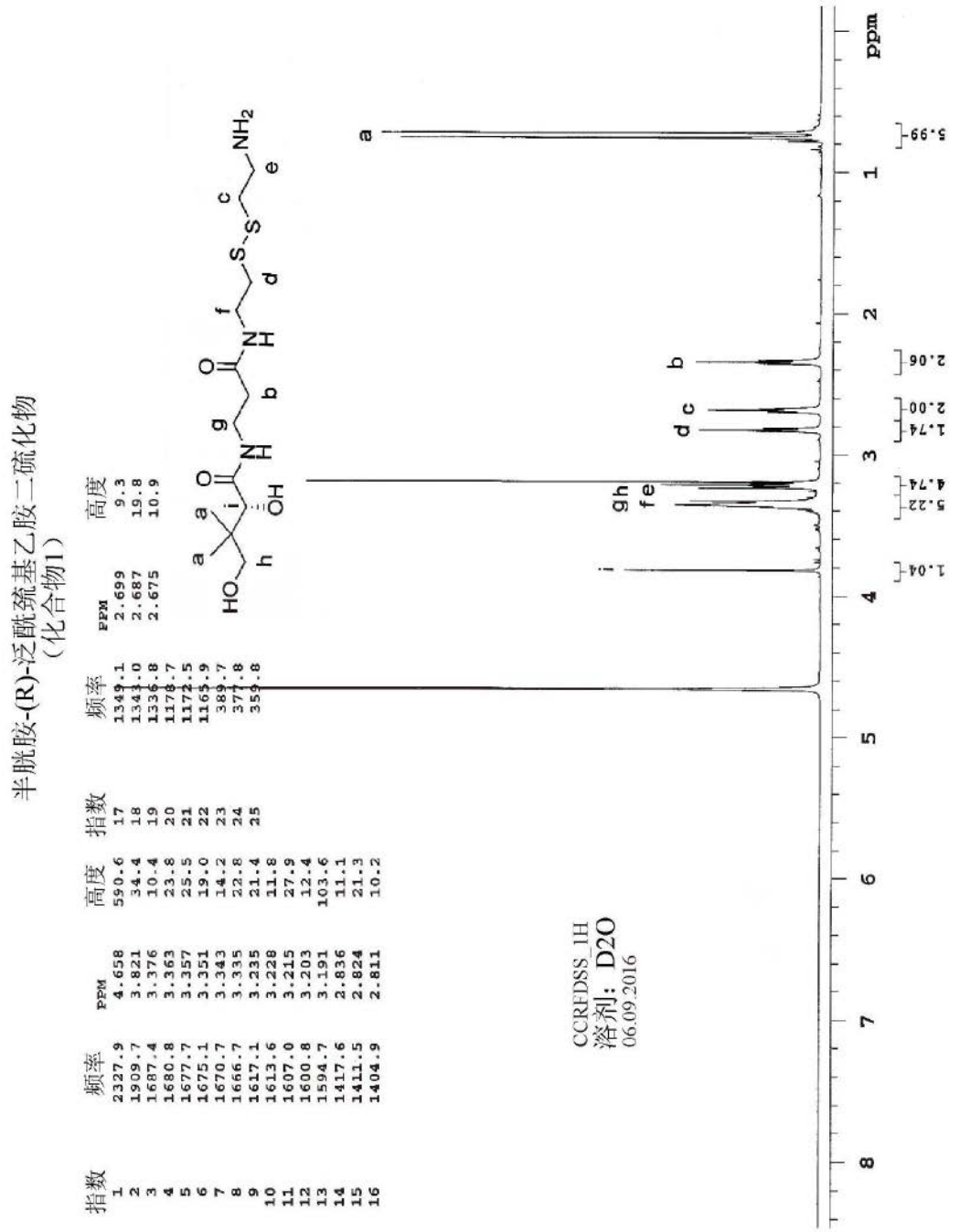

步骤1：将PDTA添加至
N-乙酰基半胱胺
COOH
HS
DDQ
DCM
步骤2：使(R)-泛酰巯基乙胺与N-
乙酰基半胱胺-PDTA反应
HO
OH
SH
NaH
THF
(R)
(R)

图26



指数	频率	PPM	高度	指数	频率	PPM	高度
1	2327.9	4.658	590.6	17	1349.1	2.699	9.3
2	1909.7	3.821	34.4	18	1343.0	2.687	19.8
3	1687.4	3.376	10.4	19	1336.8	2.675	10.9
4	1680.8	3.363	23.8	20	1178.7		
5	1677.7	3.357	25.5	21	1172.5		
6	1675.1	3.351	19.0	22	1165.9		
7	1670.7	3.343	14.2	23	389.7		
8	1666.7	3.335	22.8	24	377.8		
9	1617.1	3.235	21.4	25	359.8		
10	1613.6	3.228	11.8				
11	1607.0	3.215	27.9				
12	1600.8	3.203	12.4				
13	1594.7	3.191	103.6				
14	1417.6	2.836	11.1				
15	1411.5	2.824	21.3				
16	1404.9	2.811	10.2				

图27

N-乙酰基半胱胺-(R)-泛酰巯基乙胺二硫化物
（化合物2）

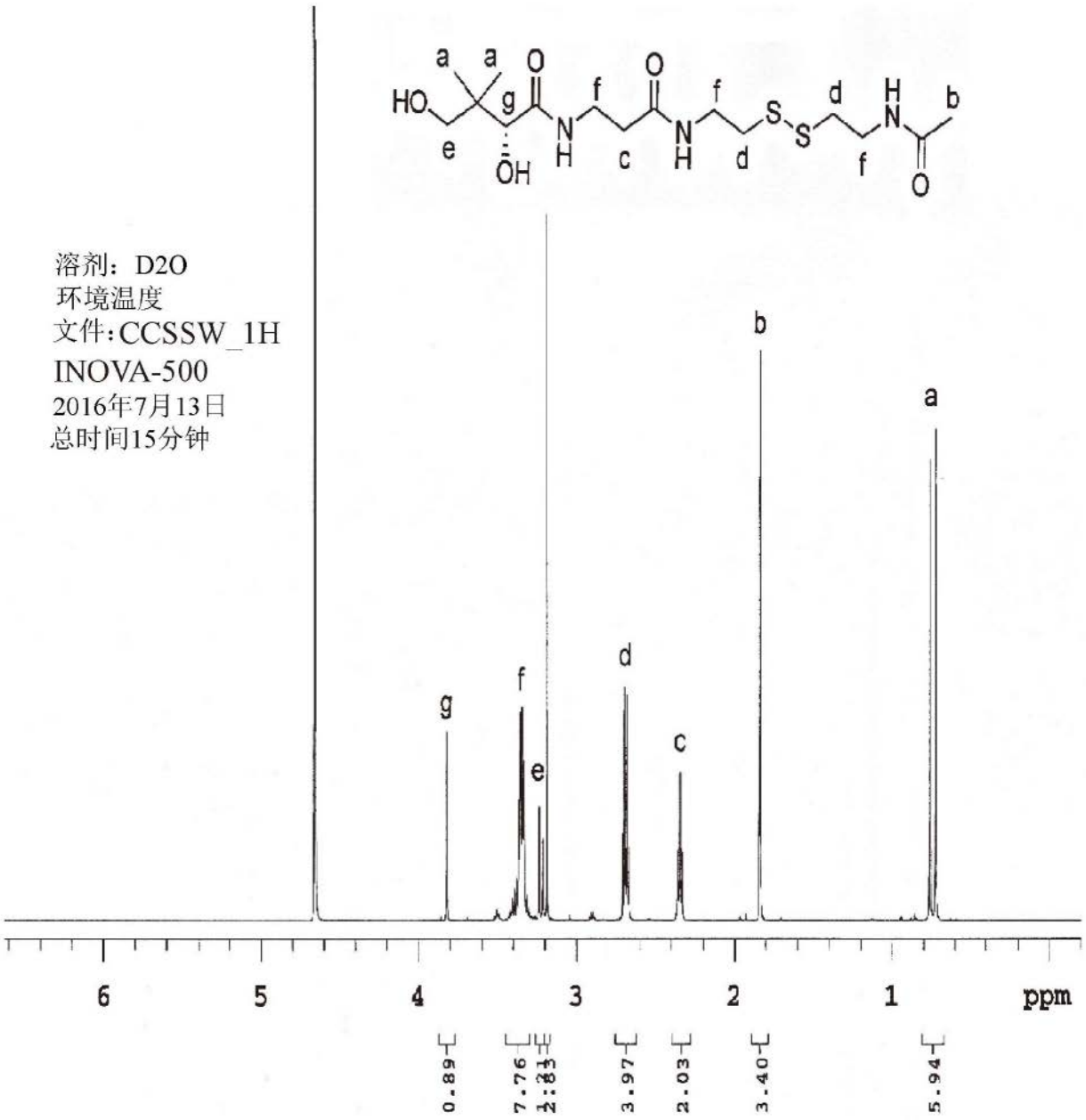


图28

N-乙酰基-L-半胱氨酸-(R)-泛酰巯基乙胺二硫化物

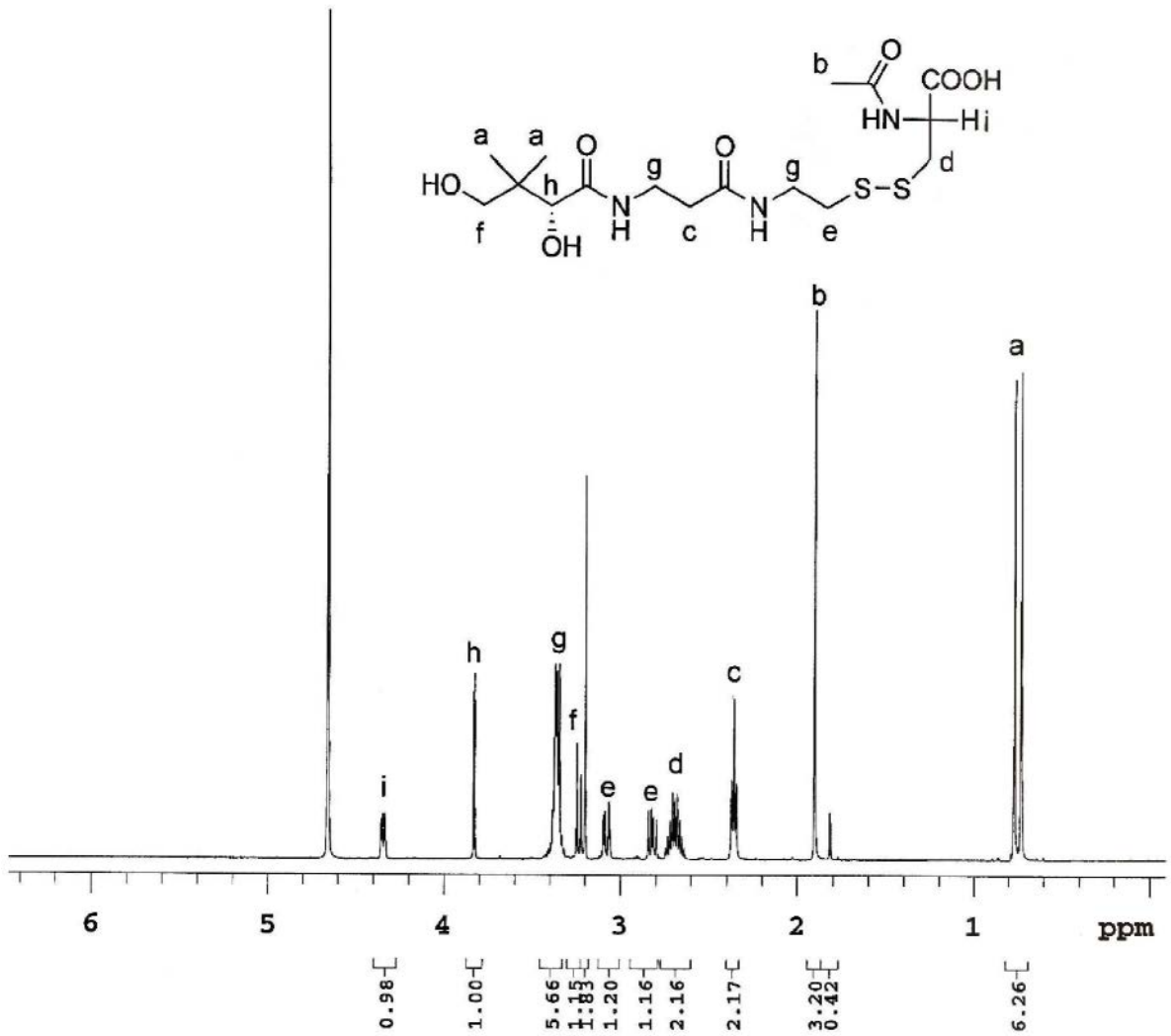


图29

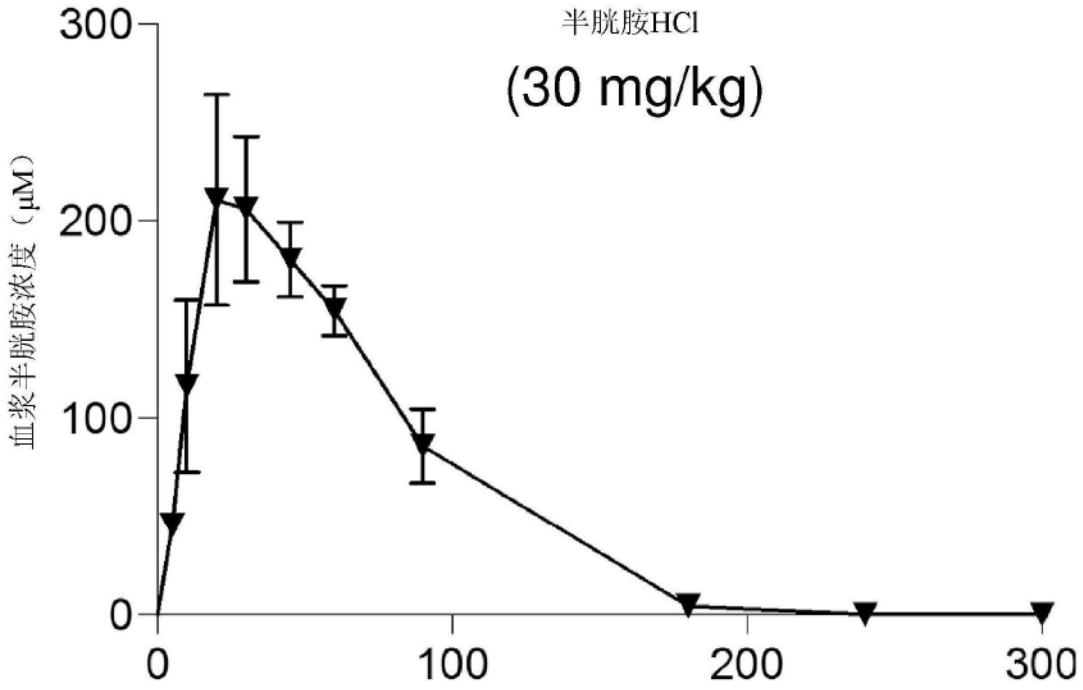

半胱胺HCl
(30 mg/kg)
血浆半胱胺浓度（μM）
300
200
100
0
0
100
200
300

图30A

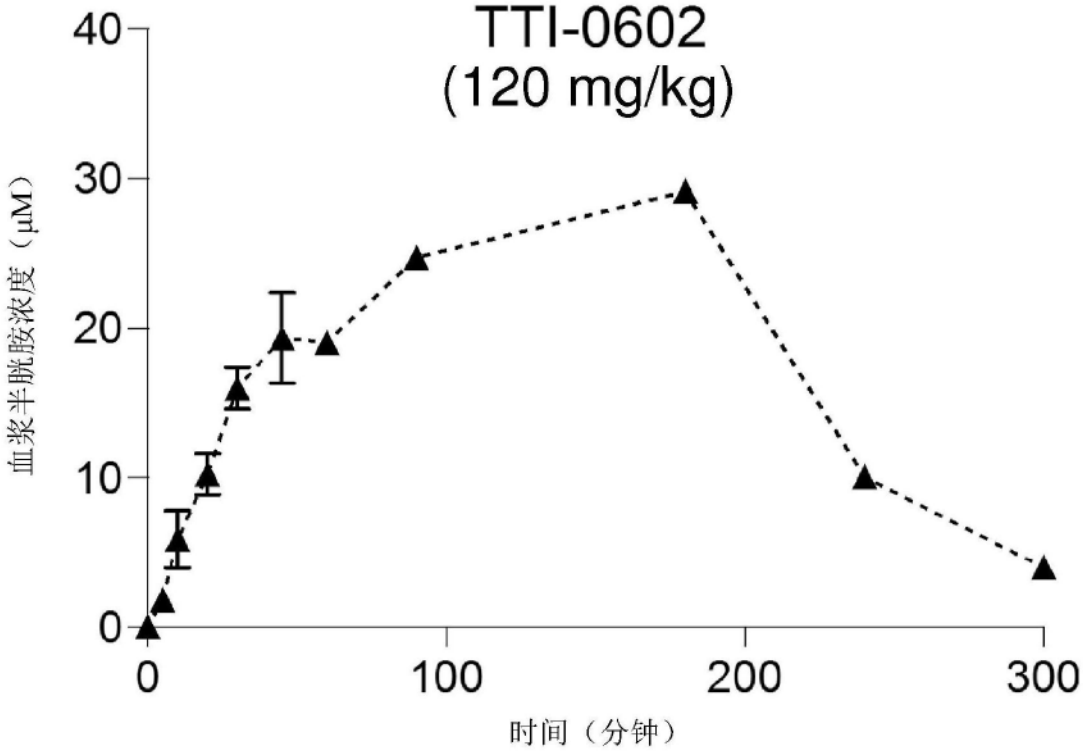

TTI-0602
(120 mg/kg)
血浆半胱胺浓度（μM）
40
30
20
10
0
0
100
200
300
时间（分钟）

图30B

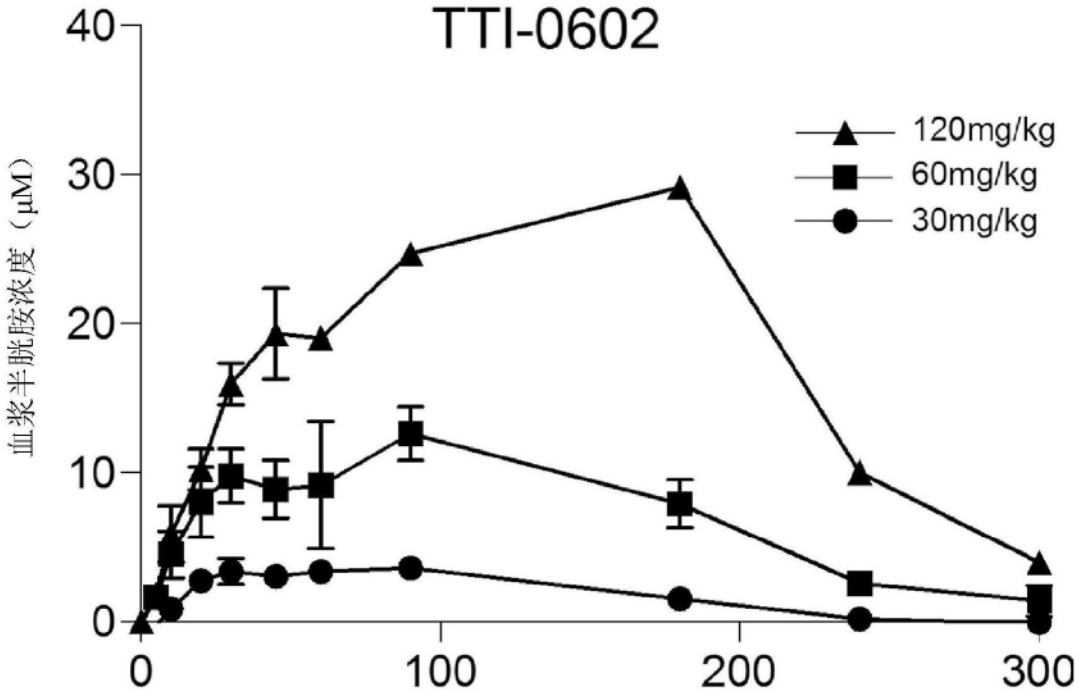

TTI-0602
120mg/kg
60mg/kg
30mg/kg
血浆半胱胺浓度（μM）
40
30
20
10
0
0
100
200
300

图31A

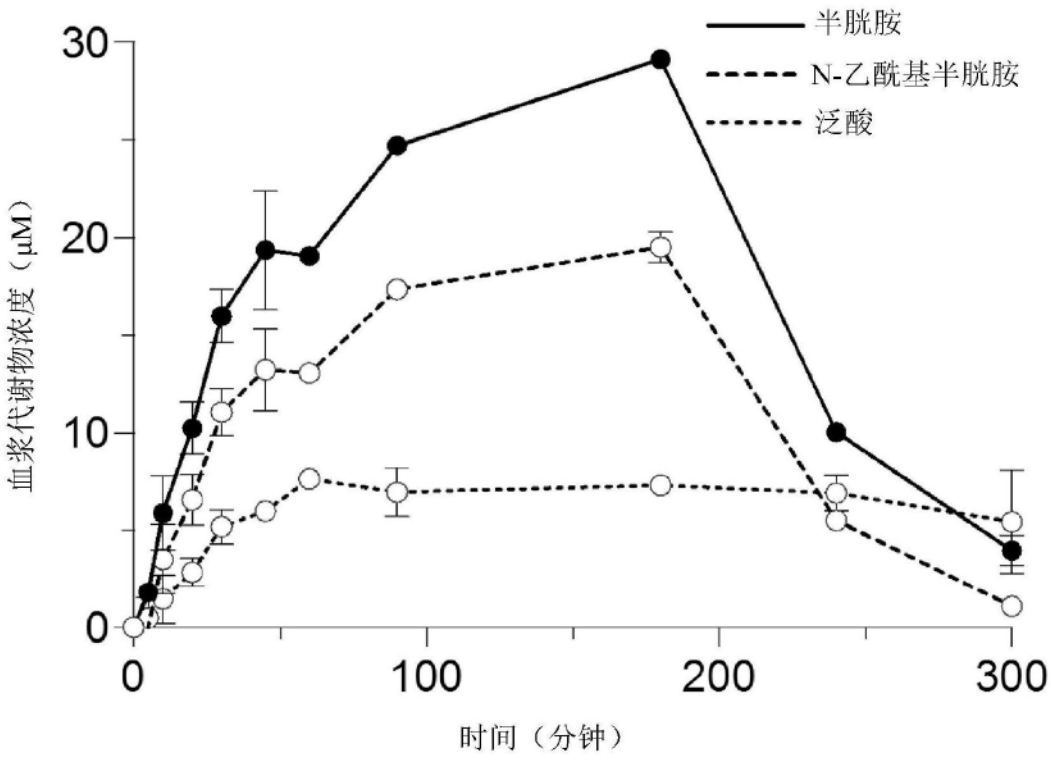

半胱胺
N-乙酰基半胱胺
泛酸
血浆代谢物浓度（μM）
30
20
10
0
0
100
200
300
时间（分钟）

图31B

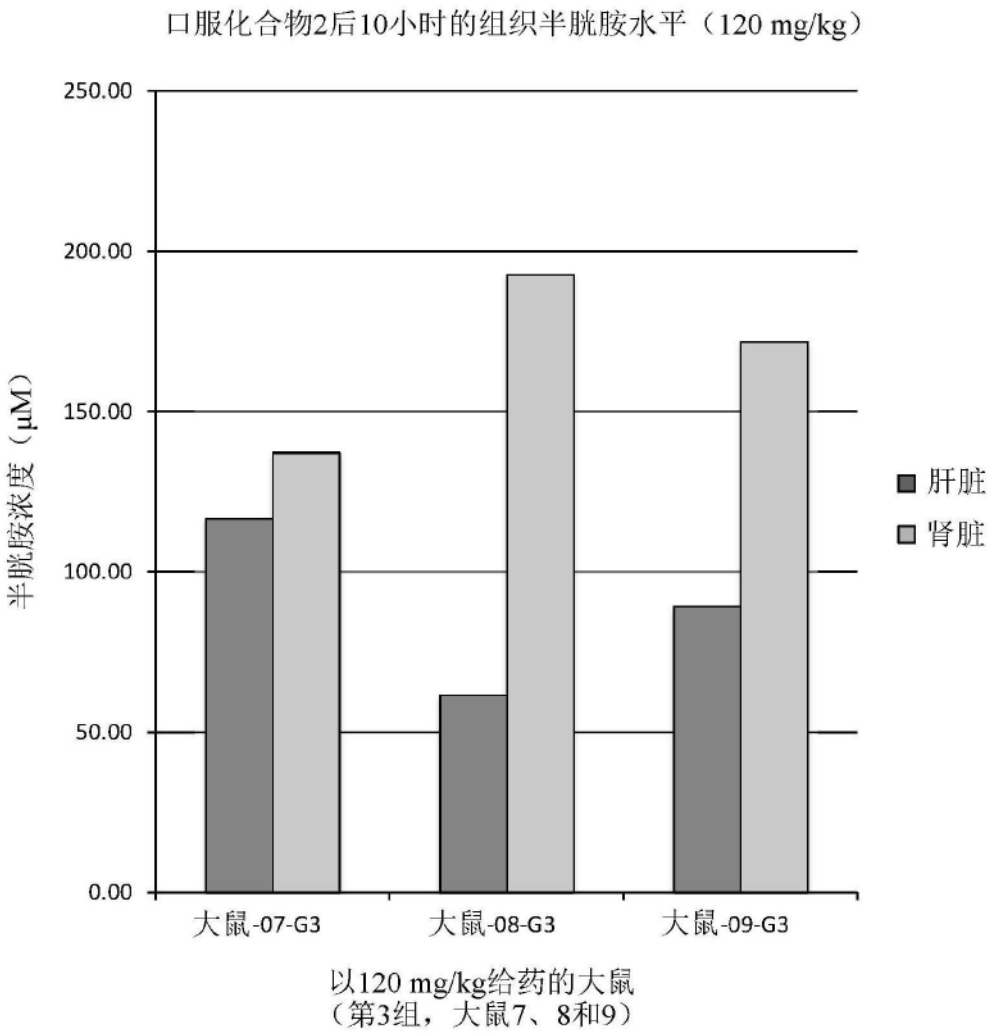

口服化合物2后10小时的组织半胱胺水平（120 mg/kg）
250.00
200.00
150.00
100.00
50.00
0.00
半胱胺浓度（μM）
大鼠-07-G3
大鼠-08-G3
大鼠-09-G3
肝脏
肾脏
以120 mg/kg给药的大鼠
（第3组，大鼠7、8和9）

图32

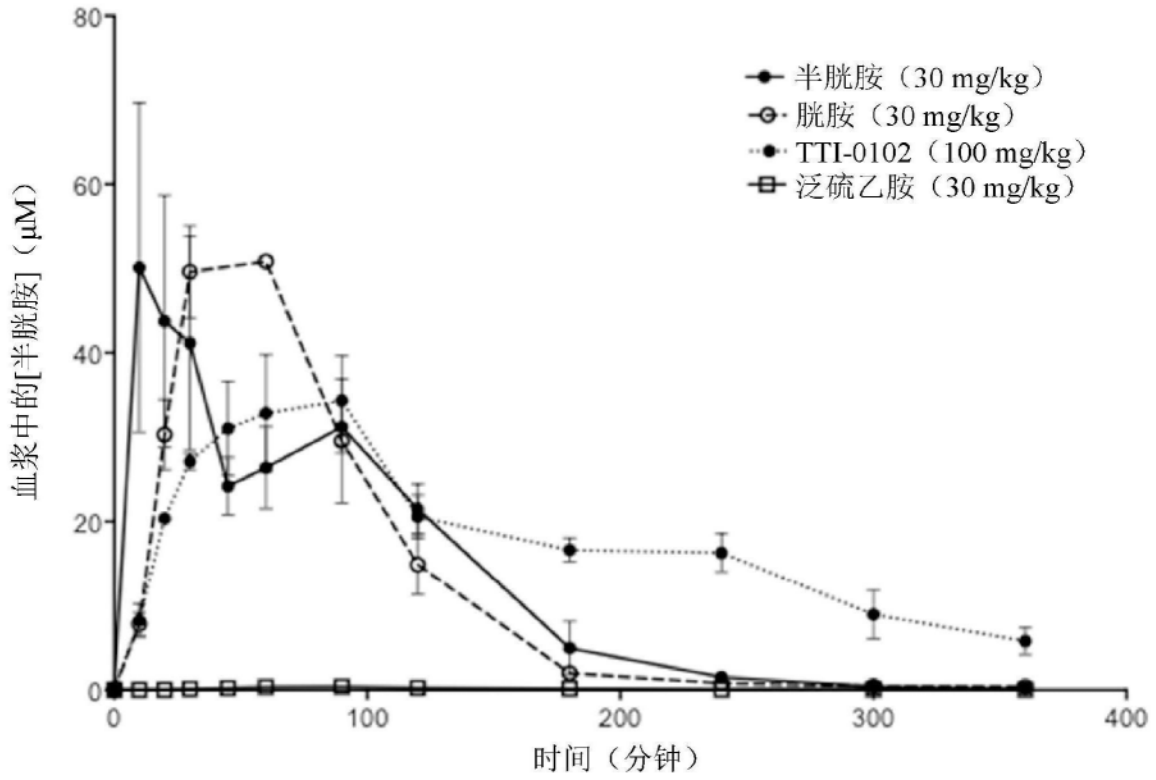

半胱胺（30 mg/kg）
胱胺（30 mg/kg）
TTI-0102（100 mg/kg）
泛硫乙胺（30 mg/kg）
血浆中的[半胱胺]（μM）
时间（分钟）
0
20
40
60
80
0
100
200
300
400

图33

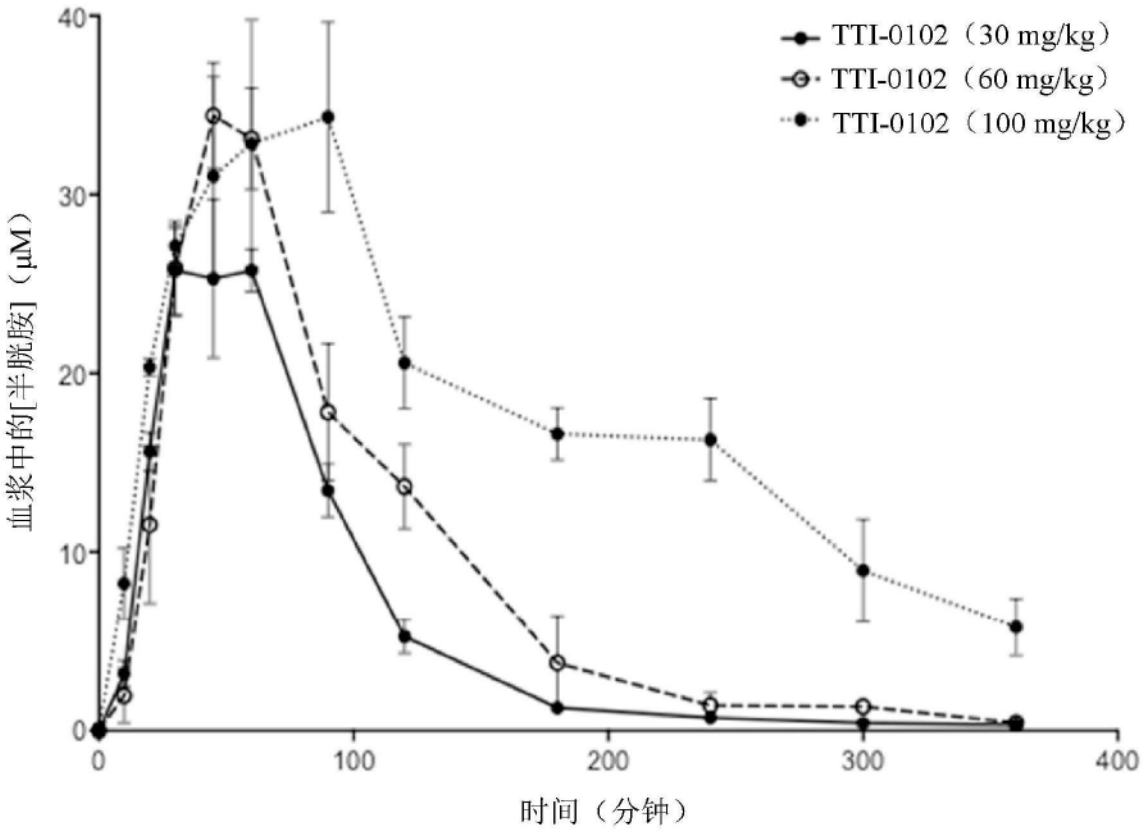


图34A

	半胱胺 HCl	TTI-01 30 mg/kg	TTI-01 60 mg/kg	TTI-01 100 mg/kg
C_{max} (μM)	55.3 ± 29.8	29.4 ± 4.3	34.4 ± 5.1	34.4 ± 7.6
C_{max} (μg/L)	4.3 ± 2.3	2.3 ± 0.3	2.6 ± 0.4	2.6 ± 0.6
T_{max} (min)	17 ± 11	45 ± 15	45	75 ± 21
AUC_{last} (min*μg/L)	365 ± 57	175 ± 3	252 ± 51	499 ± 1.5
吸收 $t_{1/2}$ (min)	1	26	48	86
MRT_{last} (min)	78 ± 20	73 ± 4	88 ± 11	142 ± 15

图34B

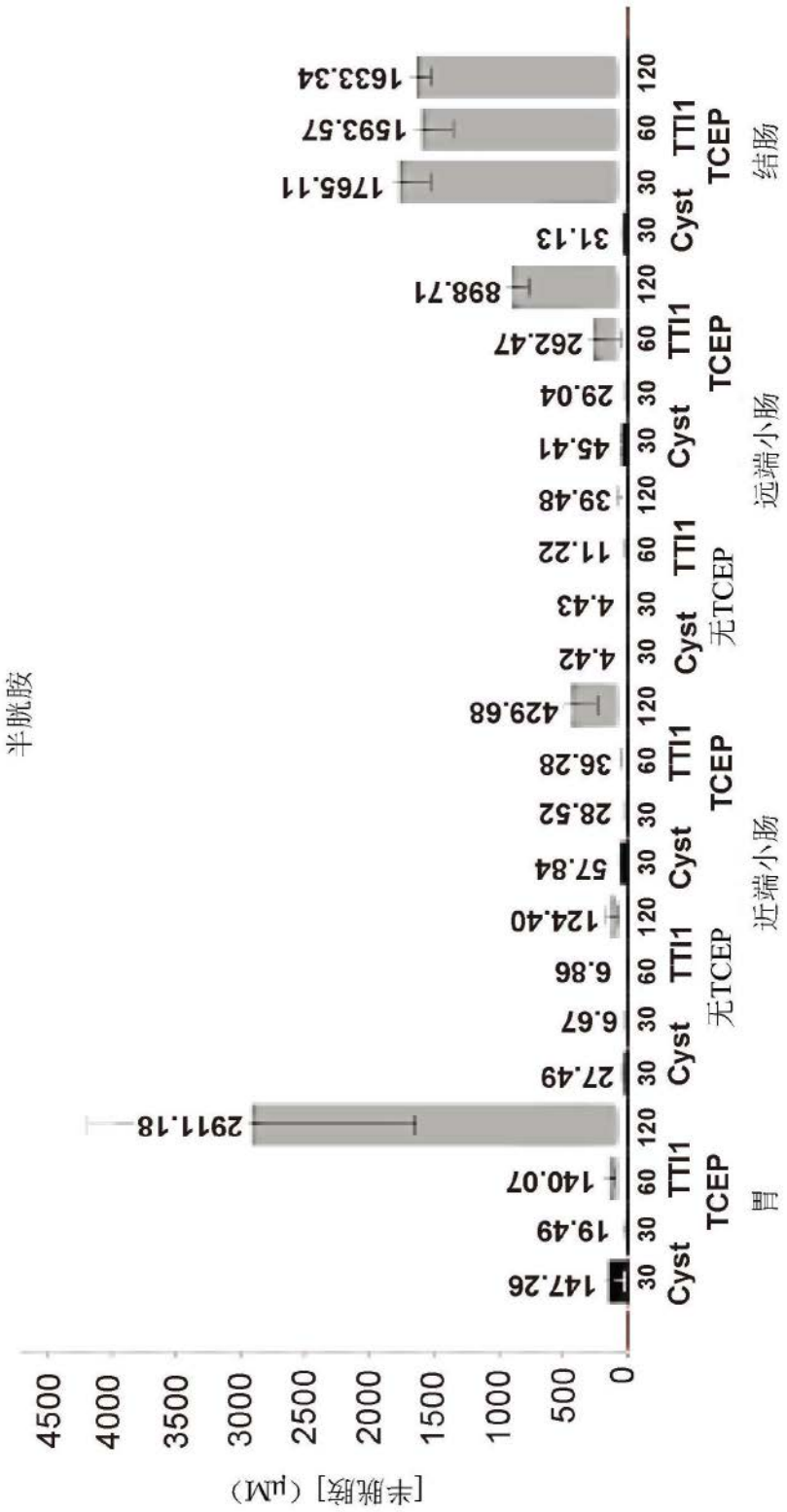

半胱胺
[半胱胺] (μM)
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
147.26
19.49
140.07
2911.18
27.49
6.67
6.86
124.40
57.84
28.52
36.28
429.68
4.42
4.43
11.22
39.48
45.41
29.04
262.47
898.71
31.13
1765.11
1593.57
1633.34
30 30 60 120 30 30 60 120 30 30 60 120 30 30 60 120 30 30 60 120 30 30 60 120
Cyst TTI1 Cyst TTI1 Cyst TTI1 Cyst TTI1 Cyst TTI1 Cyst TTI1
TCEP 无TCEP TCEP 无TCEP TCEP TCEP
胃 近端小肠 近端小肠 远端小肠 远端小肠 结肠

图35A

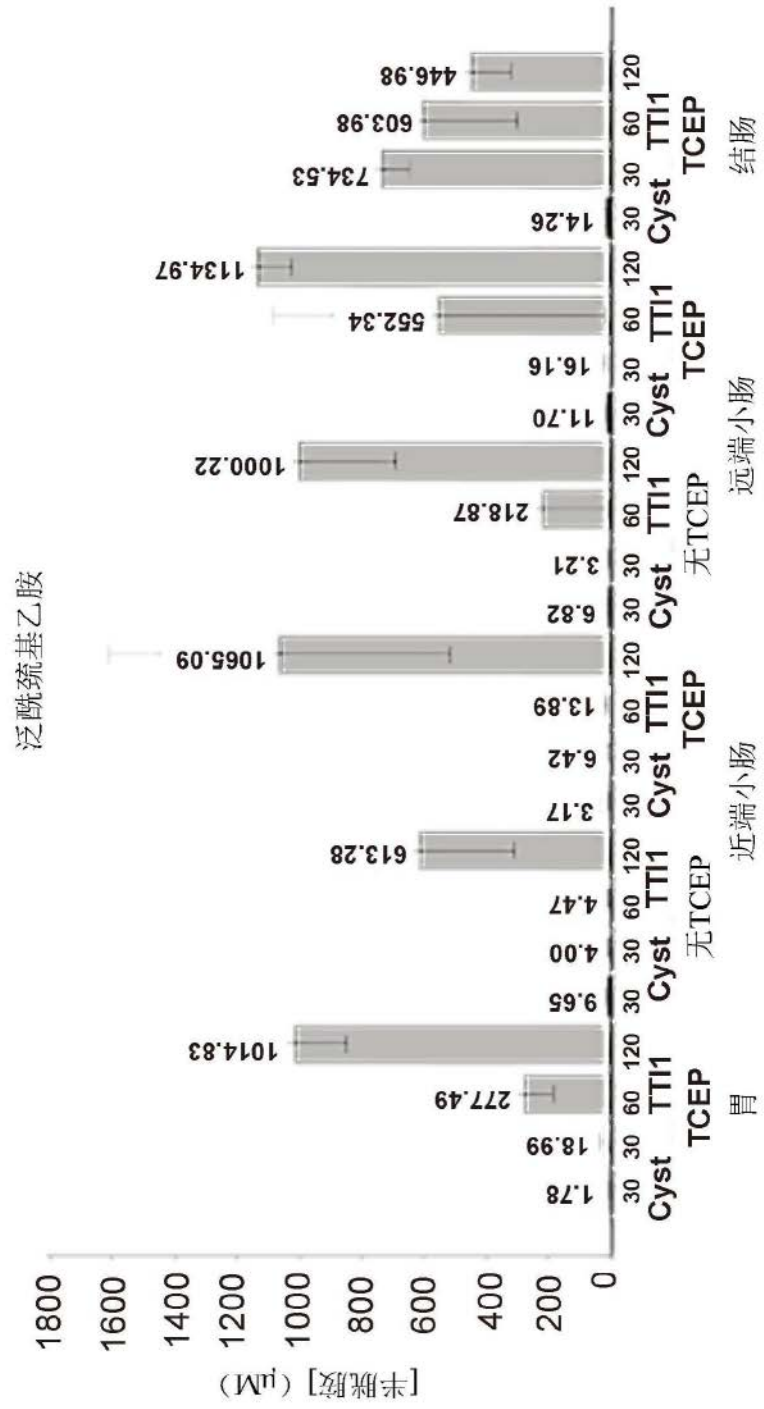

泛酰巯基乙胺
[半胱胺] (μM)
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
胃
近端小肠
远端小肠
结肠
无TCEP
TCEP
Cyst
TTI1
30
60
120
1.78
18.99
277.49
1014.83
9.65
4.00
4.47
613.28
3.17
6.42
13.89
1065.09
6.82
3.21
218.87
1000.22
11.70
16.16
552.34
1134.97
14.26
734.53
603.98
446.98

图35B

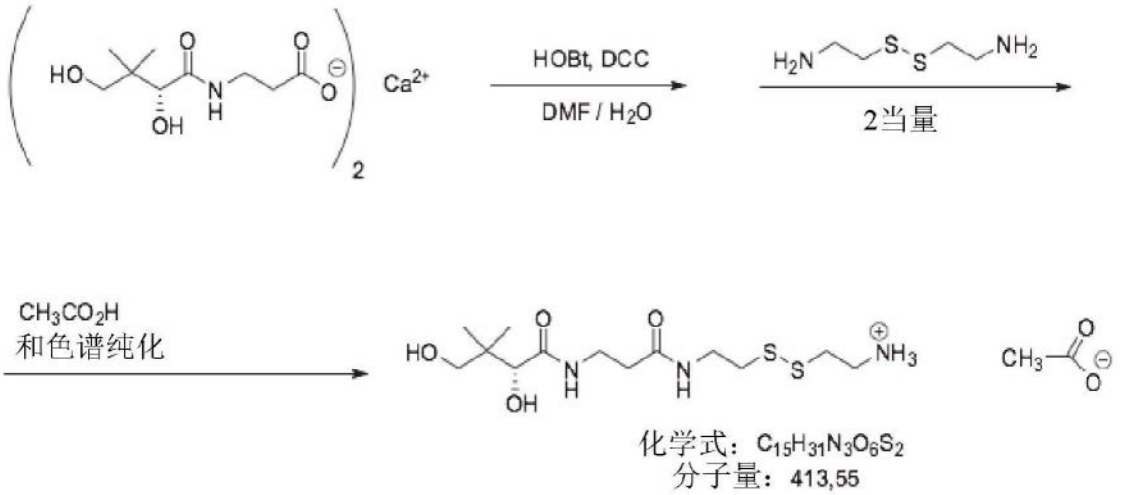

HOBt, DCC
DMF / H2O
2当量
CH3CO2H
和色谱纯化
化学式：C15H31N3O6S2
分子量：413,55

图36A

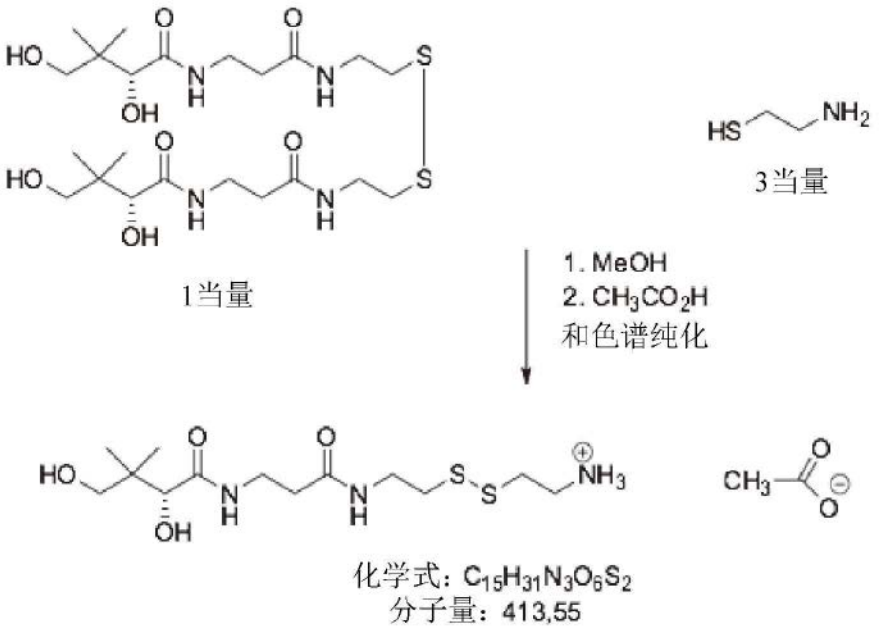

1当量
3当量
1. MeOH
2. CH3CO2H
和色谱纯化
化学式：C15H31N3O6S2
分子量：413,55

图36B

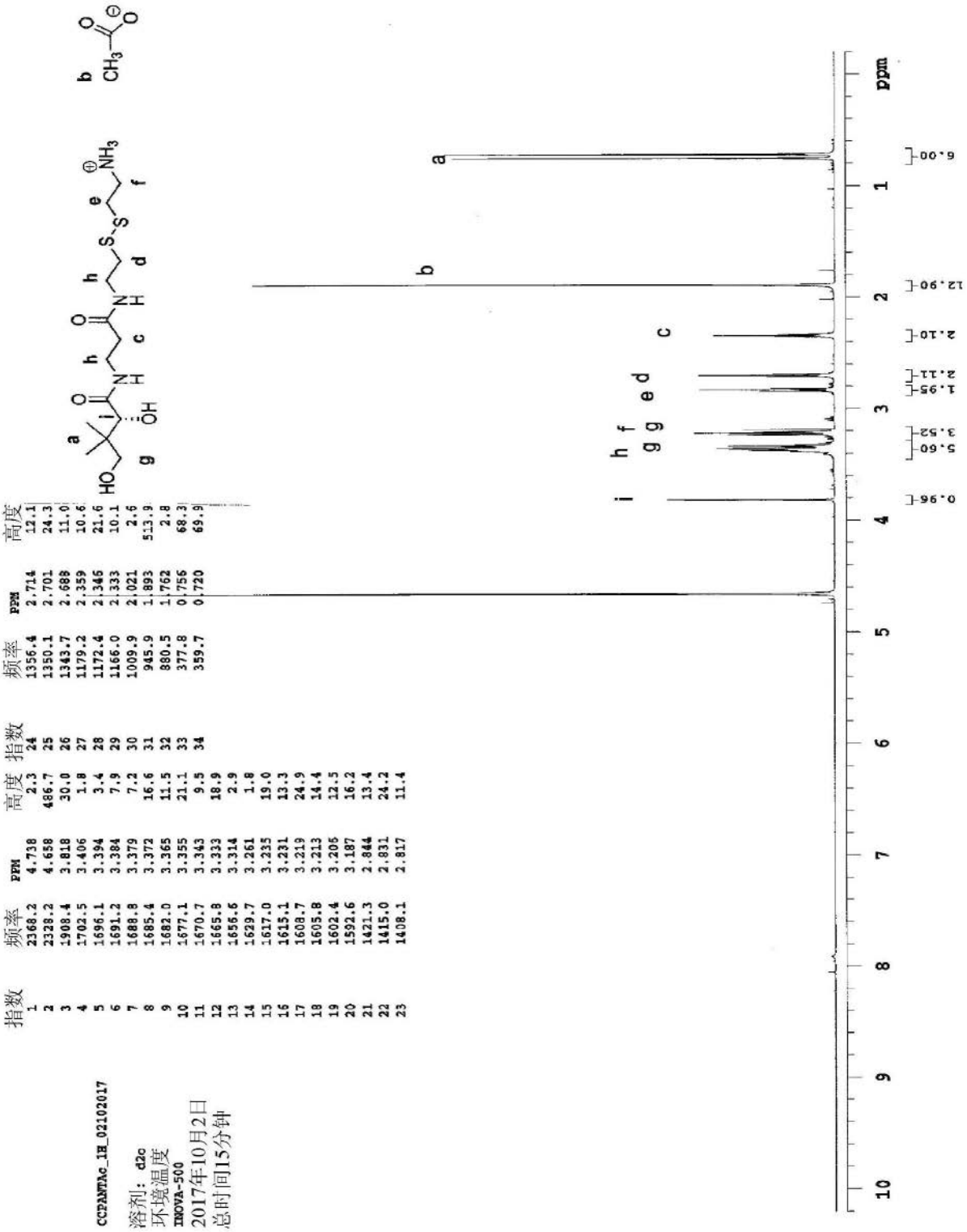
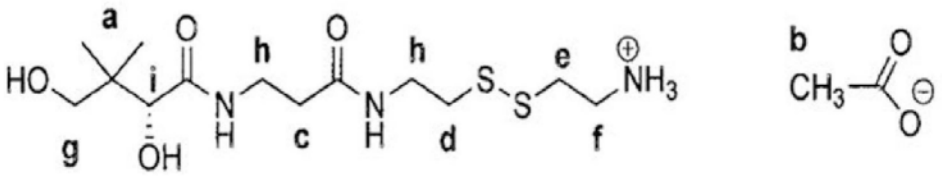

CCPAMPAc_1H_02102017
溶剂：d2o
环境温度
INOVA-500
2017年10月2日
总时间15分钟
ppm

图37



泛酰巯基乙胺-半胱胺二硫化物乙酸盐

峰	预测值	观察值
a	6	6.00
b	3	12.90
c	2	2.10
d	2	2.11
e	2	1.95
f + ½g	3	3.52
½g + h	5	5.60
I	1	0.96

图38