[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680003807.4

[51] Int. Cl.
*A61K 31/00* (2006.01)
*A61K 31/4196* (2006.01)
*A61P 7/00* (2006.01)
*A61P 25/00* (2006.01)
*A61P 39/04* (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 1 月 23 日

[11] 公开号 CN 101111237A

[22] 申请日 2006.2.8
[21] 申请号 200680003807.4
[30] 优先权
[32] 2005. 2.10 [33] US [31] 60/651,684
[86] 国际申请 PCT/EP2006/001118 2006.2.8
[87] 国际公布 WO2006/084683 英 2006.8.17
[85] 进入国家阶段日期 2007.8.1
[71] 申请人 诺瓦提斯公司
地址 瑞士巴塞尔
[72] 发明人 G·P·卡梅尼施 H·尼克
G·格罗斯
[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所
代理人 黄革生 隗永良
权利要求书 3 页 说明书 13 页

[54] 发明名称

改善药物处置的方法

[57] 摘要

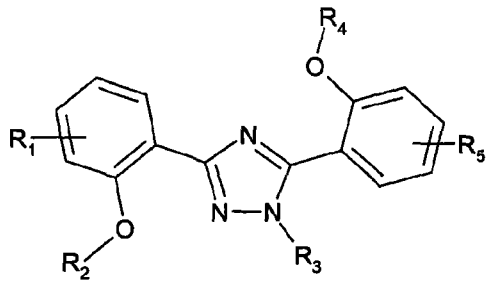
本发明提供了改善铁螯合剂的生物利用度，优选口服生物利用度和/或药物处置，例如脑渗透的方法，所述方法包括对有这类治疗需要的哺乳动物，尤其是人共施用铁螯合剂与外排蛋白抑制剂的组合。

1. 组合，包含(a)铁螯合剂和(b)至少一种外排蛋白抑制剂。

2. 根据权利要求 1 的组合，其中铁螯合剂为 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物或其可药用盐。

3. 根据权利要求 2 的组合，其中至少一种外排蛋白抑制剂选自 MDR1 抑制剂、MRP2 抑制剂和 MXR 抑制剂。

4. 根据权利要求 3 的组合，其中 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物具有式(I)及其盐：




(I)

，

其中

$R_1$ 和 $R_5$ 同时或彼此独立为氢、卤素、羟基、低级烷基、卤代-低级烷基、低级烷氧基、卤代-低级烷氧基、羧基、氨基甲酰基、*N*-低级烷基氨基甲酰基、*N*,*N*-二-低级烷基氨基甲酰基或腈；

$R_2$ 和 $R_4$ 同时或彼此独立为氢、未被取代或取代的低级烷酰基或芳酰基或可以在生理条件下被除去的基团；

$R_3$ 为氢、低级烷基、羟基-低级烷基、卤代-低级烷基、羧基-低级烷基、低级烷氧基羰基-低级烷基、$R_6R_7N$-C(O)-低级烷基、未被取代或取代的芳基或芳基-低级烷基或未被取代或取代的杂芳基或杂芳烷基；

$R_6$ 和 $R_7$ 同时或彼此独立为氢、低级烷基、羟基-低级烷基、烷氧基-低级烷基、羟基烷氧基-低级烷基、氨基-低级烷基、*N*-低级烷基氨基-低级烷基、*N*,*N*-二-低级烷基氨基-低级烷基、*N*-(羟基-低级烷基)氨基-低级烷基、*N*,*N*-二(羟基-低级烷基)氨基-低级烷基或与它们所结合的氮原子一起形成氮杂脂环。

5. 根据权利要求 4 的组合，其中 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物为 4-[3,5-双(2-羟基苯基)-[1,2,4]三唑-1-基]苯甲酸或其可药用盐。

6. 权利要求 1-5 中任一项所述的组合在制备用于治疗脑铁超负荷所致疾病的药物中的用途。

7. 药物组合物，包含权利要求 1-5 中任一项所述的组合。

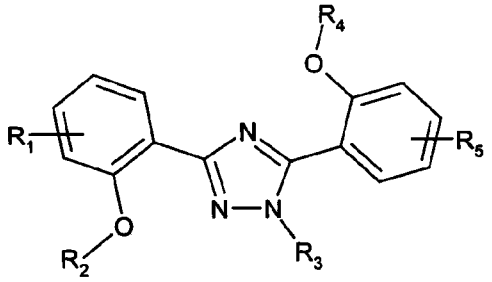
8. 根据权利要求 7 的药物组合物，包含治疗有效量的铁螯合剂与至少一种外排蛋白抑制剂的组合，所述至少一种外排蛋白抑制剂的存在量在施用后使所述铁螯合剂的生物利用度至少改善 5%。

9. 治疗因铁超负荷导致的脑疾病的方法，所述方法包括对有这类治疗需要的哺乳动物共施用铁螯合剂和至少一种外排蛋白抑制剂的组合。

10. 根据权利要求 9 的方法，其中铁螯合剂为 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物或其可药用盐。

11. 根据权利要求 10 的方法，其中至少一种外排蛋白抑制剂选自 MDR1 抑制剂、MRP2 抑制剂和 MXR 抑制剂。

12. 根据权利要求 11 的方法，其中 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物具有式(I)及其盐：




(I)

，

其中

$R_1$ 和 $R_5$ 同时或彼此独立为氢、卤素、羟基、低级烷基、卤代-低级烷基、低级烷氧基、卤代-低级烷氧基、羧基、氨基甲酰基、*N*-低级烷基氨基甲酰基、*N*,*N*-二-低级烷基氨基甲酰基或腈；

$R_2$ 和 $R_4$ 同时或彼此独立为氢、未被取代或取代的低级烷酰基或芳酰基或可以在生理条件下被除去的基团；

$R_3$ 为氢、低级烷基、羟基-低级烷基、卤代-低级烷基、羧基-低级烷基、

低级烷氧基羰基-低级烷基、$R_6R_7N$-C(O)-低级烷基、未被取代或取代的芳基或芳基-低级烷基或未被取代或取代的杂芳基或杂芳烷基;

$R_6$ 和 $R_7$ 同时或彼此独立为氢、低级烷基、羟基-低级烷基、烷氧基-低级烷基、羟基烷氧基-低级烷基、氨基-低级烷基、*N*-低级烷基氨基-低级烷基、*N*,*N*-二-低级烷基氨基-低级烷基、*N*-(羟基-低级烷基)氨基-低级烷基、*N*,*N*-二(羟基-低级烷基)氨基-低级烷基或与它们所结合的氮原子一起形成氮杂脂环。

13. 根据权利要求 12 的方法，其中 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物为4-[3,5-双(2-羟基苯基)-[1,2,4]三唑-1-基]苯甲酸或其可药用盐。

# 改善药物处置的方法

## 技术领域

本发明提供了改善铁螯合剂的处置(disposition)，尤其是脑渗透及其口服生物利用度的方法，例如，所述方法包括对有这类治疗需要的哺乳动物，尤其是人共施用铁螯合剂和至少一种外排蛋白抑制剂的组合。

## 发明背景

很多治疗剂的处置可能因所谓的“外排泵”蛋白的作用而受到影响，所述“外排泵”蛋白可主动地从细胞中排出外来物质而引起例如多药耐药效应。这些药物外排蛋白主要包括MDR (多药耐药蛋白)、MRP (多药耐药相关蛋白)和BCRP (乳腺癌抗性蛋白)类型的转运蛋白。进行过最透彻研究的一些外排蛋白包括P-糖蛋白(Pgp或MDR1)、MRP2和MXR (BCR-P)。这些蛋白质均在例如所谓的血脑屏障处表达。

未加治疗的铁超负荷可以导致严重的器官损害，特别是肝脏、心脏和内分泌器官的严重损害，并且可以导致死亡。较新的出版物指明的方向在于脑中的铁超负荷也至少部分地参与疾病，如阿尔茨海默病、痴呆和帕金森病。铁螯合剂能够动员和排泄沉积在器官中的铁，并由此降低与铁相关的发病率和死亡率。

## 发明概述

因此，改善药物处置，特别是脑中的药物处置的一种方法可以是共施用药物物质和至少一种外排蛋白抑制剂，即抑制外排蛋白功能的化合物。换言之，当将至少一种外排蛋白抑制剂与同为该特异性外排系统底物的治疗剂共施用时，可通过抑制需要克服的多种生物膜/障碍处的外排机制来提

高治疗剂的口服生物利用度和/或靶部位(例如脑)处的药理活性浓度。

本发明提供了改善铁螯合剂的药物处置，例如脑渗透和/或口服生物利用度的方法，所述方法包括对有这类治疗需要的哺乳动物，尤其是人共施用铁螯合剂和至少一种外排蛋白抑制剂的组合。施用至少一种外排蛋白抑制剂，从而其量使得铁螯合剂的生物利用度/处置与不存在外排蛋白抑制剂时相比得到改善。优选共施用的至少一种外排蛋白抑制剂和铁螯合剂的量使得所述组合具有期望的治疗效应。

本发明提供了改善取代的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物的处置，尤其是脑摄取和生物利用度的方法，所述方法包括对有这类治疗需要的哺乳动物，尤其是人共施用取代的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物或其可药用盐和任何可能的外排蛋白抑制剂的组合。

发明详述

本发明适用的铁螯合剂为那些具有药物用途，例如作为治疗疾病的治疗剂的铁螯合剂中的任意物质，所述疾病可以导致人或动物体内的铁过量或这些疾病因铁过量所致。

铁螯合剂与至少一种外排蛋白抑制剂的组合提高脑中铁螯合剂的浓度，这具有模拟缺氧的有益作用，包括但不限于增加糖酵解途径酶的表达。

铁螯合剂与至少一种外排蛋白抑制剂的组合增加铁螯合剂在肝脏中的浓度，这可治疗肝转移，尤其是在将铁螯合剂与抗癌剂组合时。

就铁螯合剂，特别是取代的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物和至少一种外排蛋白抑制剂的组合而言的术语“共施用”是指所述组分可共同作为药物组合物或作为同一单一剂型的一部分而一起施用。共施用还包括将铁螯合剂，特别是取代的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物和至少一种外排蛋白抑制剂分开、但作为同一治疗方案的一部分来施用。如果分开施用，那么这些组分不必一定在基本上相同的时间施用，尽管如果需要也可以。因此，共施用包括，例如将铁螯合剂，特别是取代的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物和至少一种外排蛋白抑制剂以单独的剂量或剂型在相同的时间施用。共施

用也包括在不同时间和以任意顺序分开施用。

本发明的铁螯合剂，特别是取代的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物可以以其可药用盐的形式使用，尤其是与碱形成的盐，如适宜的碱金属或碱土金属盐，例如钠、钾或镁盐；可药用的过渡金属盐，如锌盐；或与有机胺类形成的盐，如环胺类；如单-、二-或三-低级烷基胺类；如羟基-低级烷基胺类，例如单-、二-或三-羟基-低级烷基胺类；羟基-低级烷基-低级烷基胺类或聚羟基-低级烷基胺类。环胺类为例如吗啉、硫代吗啉、哌啶或吡咯烷。合适的单低级烷基胺类为例如乙基-和叔丁胺；二低级烷基胺类为例如二乙基-和二异丙基胺；而三低级烷基胺类为例如三甲基胺和三乙基胺。适宜的羟基-低级烷基胺类为例如单-、二-或三-乙醇胺；羟基-低级烷基-低级烷基胺类为例如 *N,N*-二甲氨基-和 *N,N*-二乙氨基乙醇；合适的聚羟基-低级烷基胺为例如葡糖胺。在其它情况中，还能够形成酸加成盐，例如与强无机酸，如无机酸，例如硫酸、磷酸或氢卤酸；与强有机羧酸，如低级烷羧酸，例如乙酸，如饱和或不饱和二羧酸，例如丙二酸、马来酸或富马酸，或如羟基羧酸，例如酒石酸或柠檬酸；或与磺酸，诸如低级烷-或取代的或未被取代的苯磺酸，例如甲-或对-甲苯磺酸。带有酸性基团，例如羧基以及碱性基团，例如氨基的式(I)的化合物还可以以内盐的形式存在，即两性离子形式或所述分子的一部分可以作为内盐存在，而另一部分作为常规的盐(normal salt)存在。

本文所用的术语“外排蛋白抑制剂”是指任何抑制 ABC 转运蛋白作用的化合物、药物或赋形剂化合物，例如在 Bakos 等人，Mol Pharmacol., 57, 760-768 (2002)和 Maarten 等人，AIDS, 16, 2295-2301 (2002)中公开的那些。

另外，可以指出，提高了铁螯合剂生物利用度的外排蛋白抑制剂可能是通过多种机制中的一种或多种起作用的。即，如本领域众所周知的那样，其可以是竞争性或非竞争性的抑制剂，或其可以通过混合机制起作用。这样的抑制剂能否影响某种铁螯合剂的外排特别取决于铁螯合剂与该外排蛋白抑制剂的相对亲合力；该铁螯合剂和该外排蛋白抑制剂的相对水溶性，

因为这可能影响当其竞争时两者在体内外排泵中的浓度；该外排蛋白抑制剂的绝对水溶性，因为其必须在体内外排泵中达到足够的浓度以有效抑制外排；以及外排蛋白抑制剂的剂量。对于本发明的目的而言，外排蛋白抑制剂是任何可提高通过口服或任何其他途径施用的铁螯合剂之系统接触的化合物，并且其是在脑和/或血脑屏障的一种或多种药物外排蛋白/活性的底物和/或抑制剂。

如上所述，本发明提供了改善铁螯合剂，特别是取代的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物的生物利用度的方法，所述方法包含共施用铁螯合剂和至少一种外排蛋白抑制剂的组合。

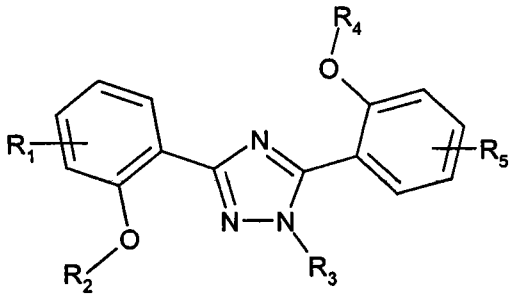
本发明提供了包含铁螯合剂与至少一种外排蛋白抑制剂的组合。

本发明还涉及包含铁螯合剂与至少一种外排蛋白抑制剂的组合在制备改善所述铁螯合剂的生物利用度，优选脑中生物利用度的药物中的用途。

本发明涉及包含铁螯合剂和至少一种外排蛋白抑制剂的药物组合物。

本发明的至少一种外排蛋白抑制剂优选为 MDR1、MRP2 和/或 MXR 抑制剂。

本发明的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物优选描述在美国专利 No. 6,465,504 B1 中。本发明的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物具有式(I)及其盐：




(I)

，

其中

$R_1$ 和 $R_5$ 同时或彼此独立为氢、卤素、羟基、低级烷基、卤代-低级烷基、低级烷氧基、卤代-低级烷氧基、羧基、氨基甲酰基、*N*-低级烷基氨基甲酰基、*N*,*N*-二-低级烷基氨基甲酰基或腈；

$R_2$ 和 $R_4$ 同时或彼此独立为氢、未被取代或取代的低级烷酰基或芳酰基或可以在生理条件下被除去的基团；

$R_3$为氢、低级烷基、羟基-低级烷基、卤代-低级烷基、羧基-低级烷基、低级烷氧基羰基-低级烷基、$R_6R_7N$-C(O)-低级烷基、未被取代或取代的芳基或芳基-低级烷基，或未被取代或取代的杂芳基或杂芳烷基；

$R_6$和 $R_7$同时或彼此独立为氢、低级烷基、羟基-低级烷基、烷氧基-低级烷基、羟基烷氧基-低级烷基、氨基-低级烷基、*N*-低级烷基氨基-低级烷基、*N*,*N*-二-低级烷基氨基-低级烷基、*N*-(羟基-低级烷基)氨基-低级烷基、*N*,*N*-二(羟基-低级烷基)氨基-低级烷基或与它们所结合的氮原子一起形成氮杂脂环(azaalicyclic ring)。

更优选本发明的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物为 4-[3,5-双(2-羟基苯基)-[1,2,4]三唑-1-基]苯甲酸或其可药用盐；将其与 MDR1、MRP2 和/或 MXR 抑制剂共施用。

如上文所披露的，可以将铁螯合剂，特别是 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物和至少一种外排蛋白抑制剂作为药物组合物共施用。可以将这些组分以任意的常规剂型共同施用，通常还与可药用载体或稀释剂一起施用。

对于口服施用而言，包含铁螯合剂，特别是 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物和至少一种外排蛋白抑制剂的药物组合物可采用溶液、混悬液、片剂、丸剂、胶囊、粉剂、微乳剂、单位剂量药包等形式。优选为片剂和明胶胶囊，其包含活性成分以及：

a)稀释剂，例如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素和/或甘氨酸；

b)润滑剂，例如硅、滑石、硬脂酸及其镁盐或钙盐和/或聚乙二醇；对于片剂还有

c)粘合剂，例如硅酸镁铝、淀粉糊、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮；如果需要

d)崩解剂，例如淀粉、琼脂、褐藻酸或其钠盐，或泡腾混合物；和/或

e)吸收剂、着色剂、矫味剂和甜味剂。

可注射组合物优选为水性等渗溶液或混悬液，最好由脂肪乳剂或混悬

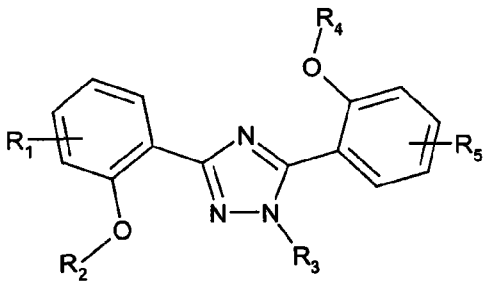
液来制备栓剂。

所述组合物可以是无菌的和/或含有佐剂，如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂、增溶剂、调节渗透压的盐和/或缓冲剂。另外，它们也可含有其他有治疗价值的物质。可分别按照常规的混合、制粒或包衣方法制备所述组合物，并可含有约 0.1-75%、优选约 1-50%的活性成分。

更具体地说，本发明提供这样的药物组合物，其包含治疗有效量的铁螯合剂，优选 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物和至少一种外排蛋白抑制剂的组合，从而所述外排蛋白抑制剂的量在施用后使铁螯合剂的生物利用度得到统计学显著性的改善。在一个实施方案中，生物利用度至少改善 5%。

本发明的药物组合物优选含有 MDR1、MRP2 和/或 MXR 抑制剂。

本发明的药物组合物优选包含式(I)的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物及其盐与 MDR1、MRP2 和/或 MXR 抑制剂的组合:



(I)

,

其中

$R_1$ 和 $R_5$ 同时或彼此独立为氢、卤素、羟基、低级烷基、卤代-低级烷基、低级烷氧基、卤代-低级烷氧基、羧基、氨基甲酰基、*N*-低级烷基氨基甲酰基、*N*,*N*-二-低级烷基氨基甲酰基或腈;

$R_2$ 和 $R_4$ 同时或彼此独立为氢、未被取代或取代的低级烷酰基或芳酰基或可以在生理条件下被除去的基团;

$R_3$ 为氢、低级烷基、羟基-低级烷基、卤代-低级烷基、羧基-低级烷基、低级烷氧基羰基-低级烷基、$R_6R_7N$-C(O)-低级烷基、未被取代或取代的芳基或芳基-低级烷基或未被取代或取代的杂芳基或杂芳烷基;

$R_6$ 和 $R_7$ 同时或彼此独立为氢、低级烷基、羟基-低级烷基、烷氧基-低级烷基、羟基烷氧基-低级烷基、氨基-低级烷基、*N*-低级烷基氨基-低级

烷基、*N*,*N*-二-低级烷基氨基-低级烷基、*N*-(羟基-低级烷基)氨基-低级烷基、*N*,*N*-二(羟基-低级烷基)氨基-低级烷基或与它们所结合的氮原子一起形成氮杂脂环。

更优选本发明的药物组合物包含为 4-[3,5-双(2-羟基苯基)-[1,2,4]三唑-1-基]苯甲酸(化合物 I)或其可药用盐的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物与 MDR1、MRP2 和/或 MXR (也称作 BCR-P)抑制剂的组合。

MRP1 抑制剂为白三烯 C4、NEM-GS、丙磺舒、呋塞米、青霉素 G 和吲哚美辛。优选本发明的 MRP1 抑制剂为丙磺舒、呋塞米、青霉素 G 和吲哚美辛。

MDR1 抑制剂为磺吡酮、利托那韦、茚地那韦、沙奎那韦。

MRP-2 抑制剂为白三烯 C4、NEM-GS、丙磺舒、吲哚美辛、青霉素 G、利托那韦、茚地那韦、沙奎那韦、呋塞米、甲氨蝶呤、磺吡酮。

本发明的一个实施方案涉及包含为 4-[3,5-双(2-羟基苯基)-[1,2,4]三唑-1-基]苯甲酸(化合物 I)或其可药用盐的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物与 MDR1 抑制剂的组合，所述 MDR1 抑制剂选自磺吡酮、利托那韦、茚地那韦和沙奎那韦。

在另一个实施方案中，本发明涉及包含为 4-[3,5-双(2-羟基苯基)-[1,2,4]三唑-1-基]苯甲酸(化合物 I)或其可药用盐的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物与 MRP-2 抑制剂的组合，所述 MRP-2 抑制剂选自白三烯 C4、NEM-GS、丙磺舒、吲哚美辛、青霉素 G、利托那韦、茚地那韦、沙奎那韦、呋塞米、甲氨蝶呤、磺吡酮。本发明优选涉及包含为 4-[3,5-双(2-羟基苯基)-[1,2,4]三唑-1-基]苯甲酸(化合物 I)或其可药用盐的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物与 MRP-2 抑制剂的组合，所述 MRP-2 抑制剂选自丙磺舒和吲哚美辛。

在另一个实施方案中，本发明涉及一种联合用药，其包含为 4-[3,5-双(2-羟基苯基)-[1,2,4]三唑-1-基]苯甲酸(化合物 I)或其可药用盐的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物与 MRP1 抑制剂的组合，所述的 MRP1 抑制剂选自白三烯 C4、NEM-GS、丙磺舒、呋塞米、青霉素 G 和吲哚美辛。

本发明优选涉及包含为 4-[3,5-双(2-羟基苯基)-[1,2,4]三唑-1-基]苯甲酸

(化合物 I)或其可药用盐的 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物与 MRP1 抑制剂的组合，所述的 MRP1 抑制剂选自丙磺舒、呋塞米、青霉素 G 和吲哚美辛。

优选铁螯合剂，特别是 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物的生物利用度得到统计学显著性的改善。在一个实施方案中，生物利用度至少改善 5%。

血脑屏障(BBB)和血-CSF 屏障(BCSFB)代表了中枢神经系统(CNS)与外周循环之间的主要界面。作为 ATP 转运蛋白[如在 BBB 和 BCSFB 中高度表达的 MDR1、MRP2 和 BCRP]底物的药物化合物，如化合物 I，可由于这些外排系统的活性而自 CNS 极为有效地除去，由此限制了其脑摄取。通过外排蛋白抑制剂抑制这些 ATP 转运蛋白中的一种或几种可以改善/增加化合物 I 与脑的接触。

可以按照本领域已知那样，通过测定曲线下面积(AUC)来评估药物生物利用度，其中 AUC 是沿纵轴(Y 轴)的血清或血浆药物浓度相对于沿横轴(X 轴)的时间作图。通常，AUC 值表示取自测试群的所有受试者的多个值，因而是整个测试群的平均值。

相对于不存在至少一种外排蛋白抑制剂的情况下施用铁螯合剂而言，共施用铁螯合剂和至少一种外排蛋白抑制剂也可增加 $C_{max}$，这是本发明提供的另一方面。$C_{max}$ 作为测试对象血清或血浆中最大药物浓度的缩写也是本领域众所周知的。

因为本发明具有利用可分开进行共施用的化合物组合来治疗的方面，所以本发明还涉及以试剂盒的形式组合不同的药物组合物。该试剂盒包含两种不同的药物组合物:

(1)包含铁螯合剂，特别是 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物加上可药用载体或稀释剂的组合物；和

(2)包含至少一种外排蛋白抑制剂加上可药用载体或稀释剂的组合物。

(1)和(2)的量在分开共同施用时使铁螯合剂，特别是 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物的脑渗透/生物利用度得到统计学显著性的改善。在一个实施方案中，生物利用度改善至少 5%。试剂盒包括容纳不同组合物的容器（如分装瓶或分装箔包装），其中每个小室含有包含(1)和(2)的多种剂型，例如

片剂。或者，与分开的含有活性成分的剂型相比不同，试剂盒可以包括分隔开的小室，每个隔室含有一个完整的剂量，所述完整的剂量进而包含不同的剂型。这种类型的试剂盒的一个例子是凸泡(blister)包装，其中每个独立的凸泡含有两片(或多片)的片剂，一片(或多片)片剂含有药物组合物(1)，而第二片(或多片)含有药物组合物(2)。一般而言，试剂盒包含不同组分施用的说明。当各组分优选以不同剂型施用，例如，口服和非胃肠道形式，以不同剂量间隔施用，或需要由处方医师定量该组合中各组分时，该试剂盒形式特别有利。在本发明的情况下，这样的试剂盒由此包含:

(1) 第 1 剂型的治疗有效量的组合物，其包含铁螯合剂，特别是 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物和可药用载体或稀释剂;

(2) 第 2 剂型的组合物，其包含至少一种外排蛋白抑制剂和可药用载体或稀释剂，所述外排蛋白抑制剂的量在施用后使铁螯合剂，特别是 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物的生物利用度得到统计学显著性的改善; 和

(3) 容纳所述第 1 剂型和第 2 剂型的容器。

在另一个实施方案中，本发明涉及至少一种外排蛋白抑制剂，特别是 MDR1、MRP2 和/或 MXR 抑制剂在制备改善铁螯合剂，优选 3,5-二苯基-1,2,4-三唑衍生物的生物利用度、优选口服或脑生物利用度的药物中的用途。

上述说明充分公开了本发明，包括其优选实施方案。对本文具体公开的实施方案的变动和改进落入以下权利要求书的范围内。无需赘述，相信本领域技术人员能够使用前面的说明来最大程度地利用本发明。因此，应理解本文的实施例仅用作举例说明，而并非以任何方式对本发明范围进行限制。

可使用本领域公知的方法，鉴定参与药物物质外排的外排蛋白，并利用例如纯化的表达高水平选择的 ABC 转运蛋白的昆虫或哺乳动物细胞或选择的细胞系的膜囊泡来确定相关的动力学参数，即，Michaelis-Menten 常数($K_m$)和最大转运蛋白活性($V_{max}$)和/或导致 $V_{max}$ 的 50%抑制的抑制剂浓度($IC_{50}$)。

实施例 1 ATP 酶测定

在本测定中，ABC 转运蛋白利用 ATP 水解作为能源而将底物移至重建细胞膜外。ATP 水解产生无机磷酸盐(Pi)，这可以通过简单的比色反应进行检测。由转运蛋白释放的 Pi 量与转运蛋白的活性成正比。含 ABC 转运蛋白的膜制备物表现出因不同转运蛋白而不同的基线 ATP 酶活性。转运的底物增加了这种基线 ATP 酶活性。正如本文(表 1)所例证的那样，化合物 I 增加了表达高水平 BCRP ($K_m$ 值约为 1 μM) 或 MRP2 ($K_m$ 值约为 10 μM)的重建膜中的 ATP 酶活性，从而提示化合物 I 由这些转运蛋白主动转运。未观察到 MDR1 外排的活化。

表 1：在化合物 I 存在下表达高水平 BCRP、MRP2 或 MDR1 的重建膜中的 ATP 酶活性

| 化合物I (μM) | ATP酶活性(nmol Pi/min/mg蛋白) | | |
|---|---|---|---|
| | MDR1 | MRP2 | BCRP |
| 0.04 | 18.7 ± 0.6 | 5.1 ± 0.6 | 32.9 ± 1.0 |
| 0.13 | 18.0 ± 0.7 | 5.4 ± 0.3 | 35.5 ± 0.8 |
| 0.40 | 17.4 ± 1.3 | 5.4 ± 0.1 | 34.2 ± 8.0 |
| 1.21 | 17.0 ± 1.0 | 5.1 ± 0.4 | 49.4 ± 0.5 |
| 3.63 | 17.3 ± 0.3 | 5.0 ± 0.0 | 61.1 ± 0.3 |
| 10.89 | 17.3 ± 0.5 | 5.2 ± 0.4 | 65.9 ± 0.1 |
| 32.67 | 17.3 ± 0.4 | 6.3 ± 0.2 | 65.7 ± 0.5 |
| 98.0 | 16.7 ± 0.5 | 8.3 ± 0.7 | 60.3 ± 1.6 |
| 基线 | 50.2 | 16.0 | 65.2 |

实施例 2 囊泡摄取测定

在本测定中，测定了内翻外取向膜囊泡的 ATP 依赖性摄入。在存在和不存在(阴性对照)不同浓度化合物 I 或众所周知的阳性对照化合物(就 MRP2 而言为苯溴马隆(Benzbromanone)，就 BCRP 而言为柳氮磺吡啶)的情况下通过将纯化的膜囊泡与已知的放射性探测底物(就 MRP2 而言为 [$^3$H]$LTC_4$ [0.2 μM]——$LTC_4$ 表示白三烯 $C_4$，就 BCRP 而言为[$^3$H]$E_1S$ [0.5 μM]——$E_1S$ 表示雌酮硫酸盐(estrange sulfate))一起孵育，间接测量了化合物 I 与 ABC 转运蛋白的相互作用。正如本文(表 2 和 3)所例证的那样，化合物 I 抑制了分别由 BCRP ($IC_{50}$ ≅ 1 μM)和 MRP2 ($IC_{50}$ ≅ 50 μM)介导的[$^3$H]$E_1S$ 以及[$^3$H]$LTC_4$ 的转运。

表 2：化合物 I 对过表达 BCRP 的分离膜囊泡中[$^3$H]$E_1S$ 囊泡摄取的影响

| 化合物 | 浓度 [μM] | 囊泡摄取 ATP活化 [pmol/mg/min] | SD | AMP活化 [pmol/mg/min] | SD |
|---|---|---|---|---|---|
| -(阴性对照) | 0 | 36.6 | 3.2 | 23.2 | 1.7 |
| 化合物I | 0.1 | 33.2 | 0.3 | 13.8 | 1.3 |
| 化合物I | 1 | 25.3 | 2.3 | 13.8 | 1.3 |
| 化合物I | 10 | 18.3 | 1.1 | 20.7 | 3.4 |
| 化合物I | 100 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 柳氮磺吡啶(阳性对照) | 7500 | 18.2 | 2.5 | 17.9 | 3.2 |

n.d =未测定

表3：化合物I对过表达MRP2的分离膜囊泡中[$^3$H]$LTC_4$囊泡摄取的影响

| 化合物 | 浓度[μM] | 囊泡摄取 ATP活化 [pmol/mg/min] | SD | AMP活化 [pmol/mg/min] | SD |
|---|---|---|---|---|---|
| -(阴性对照) | 0 | 30.3 | 0.9 | 5.4 | 0.8 |
| 化合物I | 0.1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 化合物I | 1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 化合物I | 10 | 25.6 | 1.1 | 5.4 | 0.8 |
| 化合物I | 100 | 11.5 | 0.8 | 5.8 | 0.7 |
| 苯溴马隆(阳性对照) | 3000 | 10.8 | 1.0 | 11.1 | 0.4 |

n.d =未测定

实施例 3 渗透性测定

或者，可以通过测量通过已知表达 ABC 转运蛋白的细胞如 Caco-2 细胞系的化合物渗透性来确定和估计药物物质的体外转运蛋白亲和力。通过测定通过从 Caco-2 细胞单层顶侧(AP)到基底外侧(BL)以及基底外侧到顶侧的浓度依赖性化合物转运来测定化合物 I 与 ABC 转运蛋白的相互作用。正如本文(图 4)所例证的那样，显然化合物 I 被鉴定为一种或几种主要外排系统的底物。在低化合物 I 浓度下，从顶侧到基底外侧的转运浓度显著低于从基底外侧到顶侧的转运浓度。转运为浓度依赖性的，且双向渗透性值估计汇聚于 50 μM 左右，这表明在该化合物 I 浓度下实现了彻底的外排转运蛋白饱和(表观 $K_m \cong 5$ μM)。

**表 4: 化合物 I 通过 Caco-2 细胞单层的双向转运**

| 化合物 | 浓度 [μM] | Caco-2渗透性 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $P_{app\ (AP-BL)}$ [$10^{-5}$ cm/min] | SD | | $P_{app\ (BL-AP)}$ [$10^{-5}$ cm/min] | SD | |
| 化合物I | 1 | 6.0 | 2.2 | (100) | 93.2 | 5.1 | (112) |
| 化合物I | 5 | 46.0 | 21.2 | (91) | 142.7 | 22.2 | (117) |
| 化合物I | 10 | 69.8 | 27.9 | (89) | 133.3 | 18.6 | (118) |
| 化合物I | 50 | 87.6 | 2.4 | (80) | 128.9 | 8.1 | (122) |