

發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 97146491

※ 申請日期： 97.11.28

※IPC 分類： A61K³¹/198 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61P¹/16

使用半胱胺產物治療非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法

(2006.01)

METHODS OF TREATING NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS
(NASH) USING CYSTEAMINE PRODUCTS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美國加利福尼亞大學董事會

THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

代表人：(中文/英文)

契瑞 席爾佛曼

SILVERMAN, CHERYL

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國加州奧克蘭市法蘭克林街1111號12樓

1111 FRANKLIN ST., 12TH FL., OAKLAND, CA 94607-5200, U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

三、發明人：(共 2 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 蘭堅 道希爾
DOHIL, RANJAN
2. 傑瑞 舒尼德
SCHNEIDER, JERRY

國 籍：(中文/英文)

1. 英國 U.K.
2. 美國 U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2007年11月30日；60/991,517

2. 美國；2008年07月31日；61/085,397

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

本揭示案大體而言係關於治療脂肪肝病症，該治療包含投與包含半胱胺產物之組合物。本揭示案提供投與腸溶性包覆之半胱胺組合物以治療脂肪肝病症，諸如非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肪肝炎(NASH)。

六、英文發明摘要：

The disclosure relates, in general, to treatment of fatty liver disorders comprising administering compositions comprising cysteamine products. The disclosure provides administration of enterically coated cysteamine compositions to treat fatty liver disorders, such as non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH).

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明大體而言係關於使用半胱胺產物治療脂肪肝病之物質及方法。

本申請案主張2007年11月30日申請之美國臨時申請案第60/991,517號及2008年7月31日申請之美國臨時申請案第61/085,397號之優先權，其各自之揭示內容全部以引用之方式併入本文中。

【先前技術】

脂肪肝病(或脂肪肝炎)通常與過度飲酒或肥胖相關，但亦具有其他原因，諸如代謝不足，包括胰島素抵抗及糖尿病。脂肪肝由肝細胞空泡中三酸甘油酯脂肪累積引起，從而導致肝功能下降，且可能導致肝硬化或肝癌。

非酒精性脂肪肝病(NAFLD)代表一類在無酒精濫用之情況下出現之疾病。目前尚無用於諸如NAFLD及NASH之脂肪肝病之令人滿意的治療可利用。

【發明內容】

本揭示案提供一種治療患有脂肪肝病之個體之方法，該方法包含投與治療有效量之半胱胺組合物。在一實施例中，脂肪肝病選自由以下各病組成之群：非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、由肝炎引起之脂肪肝病、由肥胖引起之脂肪肝病、由糖尿病引起之脂肪肝病、由胰島素抵抗引起之脂肪肝病、由高甘油三酯血症引起之脂肪肝病、無 β 脂蛋白血症、肝糖貯積病、韋伯-克

里斯欣病(Weber-Christian disease)、沃爾曼氏病(Wolmans disease)、妊娠急性脂肪肝及脂質營養不良。在另一實施例中，半胱胺組合物之每日總劑量為約0.5-1.0 g/m²。在又一實施例中，以每天4次或小於4次之頻率(例如，每天一、兩或三次)投與半胱胺組合物。在一實施例中，組合物為向小腸提供增加之半胱胺或半胱胺衍生物傳遞之延遲或控制釋放劑型。延遲或控制釋放形式可提供比含有相同量之半胱胺或半胱胺衍生物之立即釋放劑型提供之C_{max}高至少約35%、50%、75%或以上的半胱胺或半胱胺衍生物或其生物學活性代謝物之C_{max}。在又一實施例中，延遲或控制釋放劑型包含當組合物到達小腸或個體之胃腸道之pH值超過約pH 4.5之區時釋放半胱胺組合物的腸溶包衣。舉例而言，該包衣可選自由以下各物組成之群：聚合明膠、蟲膠、C型NF甲基丙烯酸共聚物、酞酸丁酸纖維素、酞酸氫纖維素、酞酸丙酸纖維素、聚乙酸乙烯酞酸酯(PVAP)、酞酸乙酸纖維素(CAP)、偏苯三酸乙酸纖維素(CAT)、酞酸羥丙基甲基纖維素、乙酸羥丙基甲基纖維素、琥珀酸二氧基丙基甲基纖維素、羧甲基乙基纖維素(CMEC)、琥珀酸乙酸羥丙基甲基纖維素(HPMCAS)及通常由丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯及/或甲基丙烯酸乙酯與丙烯酸酯及甲基丙烯酸酯之共聚物形成的丙烯酸聚合物及共聚物。組合物可經口或非經腸投與。在另一實施例中，該方法使得肝纖維化與投與半胱胺組合物之前的程度相比得到改善。在又一實施例中，該方法使得肝脂肪含量減小、

肝硬化發病率或進展減小或肝細胞癌發病率減小。在一實施例中，該方法使得肝轉胺酶含量與投與半胱胺組合物之前的含量相比降低。在另一實施例中，投藥使得肝轉胺酶與治療之前的含量相比減少約10%至40%。在又一實施例中，投藥使得所治療患者之丙胺酸或天冬胺酸轉胺酶含量減小至高於正常ALT含量約30%、20%或10%或減小至正常ALT含量。在又其他實施例中，投藥使得血清鐵蛋白含量與用半胱胺組合物治療之前的含量相比減小。本揭示案之方法及組合物亦可包括與半胱胺組合物組合投與第二藥劑來治療脂肪肝病。個體可為成年人、青少年或兒童。

在一態樣中，本揭示案提供一種治療患有包括NAFLD或NASH之脂肪肝病之患者的方法，該方法包含投與治療有效量之包含半胱胺產物之組合物。本揭示案之方法亦包括使用半胱胺產物製備供治療脂肪肝病用之藥物及使用半胱胺產物製備供與治療脂肪肝病之第二藥劑組合投藥用之藥物。亦包括使用治療脂肪肝病之第二藥劑製備供與半胱胺產物組合投藥用之藥物。進一步提供套組，該等套組包含治療脂肪肝病之半胱胺產物、視情況以及治療脂肪肝病之第二藥劑及用於治療脂肪肝病之說明書。術語"脂肪肝病"可包括或不包括NASH。

【實施方式】

除非上下文另有明確說明，否則如本文和附加申請專利範圍中所使用，單數形式"一"及"該"包括複數個提及物。因此，舉例而言，提及"一衍生物"包括複數種該等衍生

物，且提及"一個體"包括提及一或多位個體等。

又，除非另有說明，否則使用"或"意謂"及/或"。類似地，"包含"、"包括"可互換使用且不意欲具有限制性。

進一步應理解，當各實施例之描述使用術語"包含"時，熟習此項技術者應理解在一些特定情況下，或者可使用語言"基本上由……組成"或"由……組成"來描述實施例。

除非另有定義，否則本文中所使用之所有技術及科學術語均具有與熟習本揭示案所屬之技術之一般技術者通常所理解相同之含義。雖然與本文中所述之方法及物質類似或等效之方法及物質可用於實施所揭示之方法及組合物，但本文中僅對例示性方法、裝置及物質加以描述。

上文及整篇文章中所討論之公開案僅針對本申請案之申請日期之前的揭示內容而提供。本文在任何方面皆不應理解為承認本發明者由於先前揭示案而無權使該揭示案具有優先權。

本揭示案提供可減輕患脂肪肝病患者之與脂肪肝病相關之症狀的新穎治療劑。本揭示案提供半胱胺組合物，該等組合物向需要治療之患者提供有效療法。

以下參考文獻向熟習此項技術者提供本揭示案中所使用之許多術語之一般定義：Singleton等人，*DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY*(第2版，1994)；*THE CAMBRIDGE DICTIONARY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY* (Walker編，1988)；*THE GLOSSARY OF GENETICS*，第5版，R. Rieger等人，(編)，Springer

Verlag (1991)；及 Hale 及 Marham, THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY (1991)。

半胱胺為蛋白質麩胱甘肽(GSH)前驅體之前驅體，且目前已獲FDA批准用於治療胱胺酸症，一種溶酶體內胱胺酸貯積症。在胱胺酸症中，半胱胺藉由使胱胺酸轉化為半胱胺酸及半胱胺酸-半胱胺混合二硫化物起作用，半胱胺酸及二硫化物兩者隨後均能夠分別經由半胱胺酸及離胺酸轉運體離開溶酶體(Gahl等人，N Engl J Med 2002；347 (2)：111-21)。在細胞溶質內，混合二硫化物可藉由其與麩胱甘肽反應來還原且可使用所釋放之半胱胺酸進一步GSH合成。由半胱胺酸之GSH合成由兩種酶 γ -麩胺醯半胱胺酸合成酶及GSH合成酶催化。幾乎所有細胞類型中均發生該路徑，其中肝為GSH之主要生產者及輸出者。經還原之半胱胺酸-半胱胺混合二硫化物亦將釋放半胱胺，半胱胺在理論上隨後能夠再進入溶酶體中，結合更多胱胺酸並重複該過程(Dohil等人，J Pediatr 2006；148 (6)：764-9)。在最近患有胱胺酸症之兒童研究中，腸內投與半胱胺使得血漿半胱胺含量增加，此接著引起降低白血球胱胺酸含量之功效延長(Dohil等人，J Pediatr 2006；148 (6)：764-9)。此可歸因於當適量藥物到達溶酶體時半胱胺之"再循環"。若半胱胺以此種方式起作用，則GSH產生亦可明顯增加。

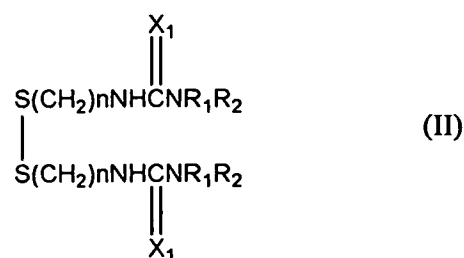
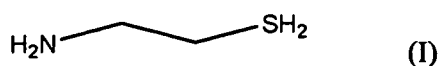
半胱胺為已用於實驗室動物中來誘發十二指腸潰瘍之有效胃酸促分泌素；人類及動物中之研究已展示半胱胺誘發之胃酸分泌過多很可能經由高胃泌素血症介導。在先前在

患有胱胺酸症之經受普通上胃腸道症狀之兒童中進行的研究中，展示半胱胺之單次口服的劑量(11-23 mg/kg)引起高胃泌素血症且胃酸分泌過多升高2至3倍且血清胃泌素含量升高50%。該等個體所經受之症狀包括腹痛、胃灼熱、噁心、嘔吐及厭食。主張2006年1月26日申請之美國臨時專利申請案第60/762,715號之優先權的美國專利申請案第11/990,869號及公開國際公開案第WO 2007/089670號(所有均全部以引用之方式併入本文中)展示半胱胺誘發之高胃泌素血症在易患病個體中部分地以對胃竇主要G細胞之局部效應方式出現。資料亦提示此亦為由半胱胺所致之胃泌素釋放之全身性效應。視投藥途徑而定，血漿胃泌素含量通常在胃內傳遞後30分鐘內出現峰值，而血漿半胱胺含量在之後出現峰值。

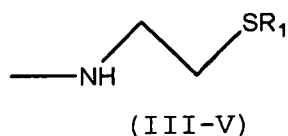
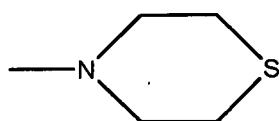
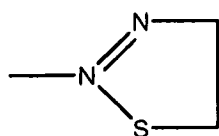
患有胱胺酸症之個體需要在一整天內每6小時攝取口服半胱胺(CYSTAGON®)。當有規律地服用時，半胱胺會耗盡細胞內胱胺酸高達90%(如以循環白血球所量測)且已展示其減緩腎衰竭/移植之進展速率且亦免除對甲狀腺替代療法之需要。由於服用CYSTAGON®存在困難，因此減少所需要之給藥改進治療方案之順適性(adherence)。國際公開案第WO 2007/089670號證明向小腸傳遞半胱胺減少胃痛苦及潰瘍，增加 C_{max} 且增加AUC。由於小腸吸收率改進及/或當經由小腸吸收時經歷肝首關消除之半胱胺減少，因此向小腸傳遞半胱胺為適用的。在治療1小時內觀察到白血球胱胺酸減少。

本揭示案提供適用於治療脂肪肝疾病及病症之半胱胺產物。半胱胺產物通常指半胱胺、胱胺或其生物學活性代謝物或半胱胺或胱胺之組合且包括半胱胺或胱胺鹽、酯、醯胺、烷基化合物、前藥、類似物、磷酸化合物、硫酸化合物或由諸如標記(例如，用放射性核素或多種酶標記)或共價聚合物連接(諸如聚乙二醇化(由聚乙二醇衍生))之技術形成之其其他經化學修飾形式。

半胱胺產物包括半胱胺、胱胺、生物學活性代謝物、由諸如酯化、烷基化(例如，C1、C2或C3)、標記(例如，用放射性核素或多種酶標記)、共價聚合物連接(諸如聚乙二醇化(由聚乙二醇衍生))之技術形成之化合物經化學修飾形式或其混合物。在一些實施例中，半胱胺產物包括(但不限於)鹽酸鹽、酒石酸氫鹽、磷酸衍生物及硫酸衍生物。其他半胱胺產物之實例包括2-胺基丙烷硫醇-1、1-胺基丙烷硫醇-2、N-及S-取代半胱胺、AET、胺基烷基衍生物、硫代磷酸酯、胺磷汀(amifostine)(美國專利4,816,482)。在一實施例中，半胱胺產物尤其不包括N-乙醯半胱胺酸。在一實施例中，半胱胺產物包含(但不限於)下述結構：



其中 n 表示 2 或 3， R_1 及 R_2 各自表示氫原子或視情況經羥基、胺基、烷基胺基或二烷基胺基取代之烷基或表示環烷基或芳基且 X_1 表示選自由以下各基組成之群之基團： $=N-CN$ 、 $=N-NO_2$ 、 $=N-COR_3$ 、 $=N-NR-COOR_3$ 、 $=N-NR-CONH_2$ 、 $=N-SO_2R_3$ 、 $=CH-NO_2$ 、 $-CH-SO_2R_3$ 、 $=C(CN)_2$ 、 $=C(CN)COOR_3$ 及 $=C(CN)CONH_2$ ，其中 R_3 為烷基或芳基。在另一態樣中，半胱胺產物可包含與若干如下所述之無毒基團鍵聯之半胱胺基團：



其中 R_1 表示氫原子或具有 1 至 10 個碳原子之直鏈或支鏈烷基。

亦包括半胱胺產物之醫藥學上可接受之鹽且該等鹽包含醫藥學上可接受之陰離子及/或陽離子。醫藥學上可接受之陽離子尤其包括鹼金屬陽離子(例如， Li^+ 、 Na^+ 、 K^+)、鹼土金屬陽離子(例如， Ca^{2+} 、 Mg^{2+})、無毒重金屬陽離子

及銨離子(NH^{4+})及經取代銨離子(N(R')^{4+} ，其中 R' 為氫、烷基或經取代烷基，亦即包括甲基、乙基或羥基乙基，尤其三甲基銨陽離子、三乙基銨陽離子及三乙醇銨陽離子)。醫藥學上可接受之陰離子尤其包括鹵離子(例如， Cl^- 、 Br^-)、硫酸根、乙酸根(例如，乙酸根、三氟乙酸根)、抗壞血酸根、天冬胺酸根、苯甲酸根、檸檬酸根及乳酸根。

半胱胺產物可腸溶性包覆。腸溶性包覆之藥物或錠劑通常指經某種物質("腸溶包衣")包覆之藥物或錠劑，該種物質保持完整或大體上完整以致藥物或錠劑穿過胃但在小腸中溶解及釋放藥物。

腸溶包衣可為包裹藥物核心(例如，胱胺、半胱胺、CYSTAGON®或其他半胱胺產物)之一或多種聚合物物質。實質量或所有腸溶包衣物質通常在藥物或治療活性劑自劑型釋放之前溶解，從而實現藥物核心之延遲溶解或傳遞。合適的pH敏感聚合物為將溶解於pH值水準較高(pH值大於4.5)之腸環境中(諸如小腸中)且因此允許藥理學上活性物質在小腸區域而不在胃腸(GI)道上部(諸如胃)中釋放之聚合物。

半胱胺產物亦可包括其他醫藥學上可接受之載劑或媒劑。醫藥學上可接受之載劑或媒劑通常指適於向個體投與之物質，其中載劑或媒劑不為生物學有害的或引起不想要之效應。該等載劑或媒劑通常為藥物之惰性成分。載劑或媒劑通常與活性成分一起向個體投與而不引起任何不想要之生物效應或以有害方式與含有載劑或媒劑之醫藥組合物

之任何其他組分相互作用。

半胱胺酸產物或其他活性成分可包含醫藥學上可接受之鹽、酯或其他衍生物。舉例而言，鹽、酯或其他衍生物包含具有與母體化合物相比類似之生物效應之生物學活性形式。例示性鹽包括鹽酸鹽及酒石酸氫鹽。

本揭示案之活性成分、醫藥或其他組合物可包含穩定劑。穩定劑通常指降低醫藥降解速率之化合物，尤其降低口服醫藥調配物在儲存環境條件下之降解速率之化合物。

如本文中所使用，"治療有效量"或"有效量"係指足以使得症狀改善、例如治療、治癒、預防或改善相關醫學病狀或增加治療、治癒、預防或改善該等病狀之速率，通常在所治療之患者群體中提供統計上顯著的改善的化合物的量。當提及單獨投與之個別活性成分時，治療有效劑量僅指該成分。當提及組合時，治療有效劑量係指組合投與(包括連續或同時投與)產生治療效應之活性成分之組合量。在一實施例中，治療有效量之半胱胺酸產物改善以下症狀，包括(但不限於)肝纖維化、肝脂肪含量、肝硬化發病率或進展、肝細胞癌發病率、肝轉胺酶(諸如ALT及AST)含量增加、血清鐵蛋白增加、 γ -麩胺醯轉化酶(γ -GT)含量升高及血漿胰島素、膽固醇及三酸甘油酯含量升高。

非酒精性脂肪肝病(NAFLD)代表一類在無酒精濫用之情況下出現之疾病。其特徵在於存在脂肪變性(肝脂肪)且可能代表代謝症候群(包括肥胖症、糖尿病及高甘油三酯血症)之肝表現形式。NAFLD與胰島素抵抗相關，其在成年

人及兒童中引起肝病且可能最終導致肝硬化(Skelley等人，J Hepatol 2001；35：195-9；Chitturi等人，Hepatology 2002；35 (2)：373-9)。NAFLD之嚴重程度在相對良性之獨立性主要大泡性脂肪變性(亦即，非酒精性脂肪肝或NAFL)至非酒精性脂肪肝炎(NASH)範圍內(Angulo等人，J Gastroenterol Hepatol 2002；17增刊：S186-90)。NASH之特徵在於組織上存在脂肪變性、細胞學球囊化(cytological ballooning)、彌散性發炎及細胞外周纖維化(Contos等人，Adv Anat Pathol 2002；9：37-51)。由NASH引起之肝纖維化可進展為肝硬化或肝功能衰竭，且在一些情況下可導致肝細胞癌。

胰島素抵抗(及高胰島素血症)之程度與NAFLD之嚴重程度相關，在患有NASH之患者中比在患有簡單脂肪肝之患者中明顯(Sanyal等人，Gastroenterology 2001；120 (5)：1183-92)。因此，發生胰島素介導之脂解抑止且循環脂肪酸之含量增加。與NASH相關之兩個因素包括胰島素抵抗及游離脂肪酸向肝之傳遞增加。胰島素阻斷線粒體脂肪酸氧化。用於肝再酯化及氧化之游離脂肪酸之產生增加使得肝內脂肪累積且增加肝對繼發性損傷之易損性。

麩胱甘肽(γ -麩胺醯-半胱胺醯基-甘胺酸；GSH)為主要內源性抗氧化劑且其耗盡牽涉發生肝細胞損傷(Wu等人，J Nutr 2004；134 (3)：489-92)。一種該損傷為乙醯胺苯酚中毒，其中為接合及失活藥物之肝毒性代謝物，還原GSH含量變得耗盡。毒性劑量之乙醯胺苯酚後，過量代謝物

(N-乙醯基-苯醌亞胺)與肝蛋白質及酶共價結合，從而導致肝損傷(Wu等人，J Nutr 2004；134 (3)：489-92；Prescott等人，Annu Rev Pharmacol Toxicol 1983；23：87-101)。因此，麩胱甘肽含量增加似乎經由降低ROS而具有一定的保護效應。麩胱甘肽本身即使以大量給予時亦不能容易地進入細胞中。然而，麩胱甘肽前驅體進入細胞中且已展示一些諸如N-乙醯半胱胺酸之GSH前驅體藉由減緩或阻止GSH耗盡而有效治療諸如乙醯胺苯酚毒性之病狀(Prescott等人，Annu Rev Pharmacol Toxicol 1983；23：87-101)。GSH前驅體之實例包括半胱胺酸、N-乙醯半胱胺酸、甲硫胺酸及其他含硫化合物，諸如半胱胺(Prescott等人，J Int Med Res 1976；4(4增刊)：112-7)。

半胱胺酸為GSH合成之主要限制因子且該等刺激細胞攝取半胱胺酸之因子(例如，胰島素及生長因子)通常使得細胞內GSH含量增加(Lyons等人，Proc Natl Acad Sci USA 2000；97 (10)：5071-6；Lu SC. Curr Top Cell Regul 2000；36：95-11)。

已向患有NASH之患者投與N-乙醯半胱胺酸。在來自Turkey之報告中，經N-乙醯半胱胺酸治療4-12週之患有NASH之肥胖個體即使個體體重指數不存在所報導之變化亦展示轉胺酶含量及 γ -GT改善(Pamuk等人，J Gastroenterol Hepatol 2003；18 (10)：1220-1)。

半胱胺(HS-CH₂-CH₂-NH₂)歸因於其小尺寸能夠容易地橫穿細胞膜。目前，半胱胺僅獲FDA批准用於治療胱胺酸

症，一種溶酶體內胱胺酸貯積症。在胱胺酸症中，半胱胺藉由使胱胺酸轉化為半胱胺酸及半胱胺酸-半胱胺混合二硫化物起作用，半胱胺酸及二硫化物兩者隨後均能夠分別經由半胱胺酸及離胺酸轉運體離開溶酶體(Gahl等人，N Engl J Med 2002；347 (2)：111-21)。已展示用半胱胺治療使得循環白血球中之細胞內胱胺酸含量降低(Dohil等人，J. Pediatr 2006；148 (6)：764-9)。

小鼠及人類中之研究展示半胱胺有效預防乙醯胺苯酚誘發之肝細胞損傷(Prescott等人，Lancet 1972；2 (7778)：652；Prescott等人，Br Med J 1978；1 (6116)：856-7；Mitchell等人，Clin Pharmacol Ther 1974；16 (4)：676-84)。已報導胱胺及半胱胺酸降低數種肝毒素誘發之肝細胞壞死(Toxicol Appl Pharmacol. 1979年4月；48 (2)：221-8)。已展示胱胺經由抑制組織轉麩醯胺酸酶改善四氯化碳誘發之肝纖維化(Qiu等人，World J Gastroenterol. 13：4328-32, 2007)。

由於為確認診斷需要組織上分析肝，因此尚不知NAFLD在兒童中之發病率(Schwimmer等人，Pediatrics 2006；118 (4)：1388-93)。然而，可自使用肝超音波檢查術獲得之兒科肥胖資料及升高之血清轉胺酶含量及85%患有NAFLD之兒童肥胖之知識推斷發病率之估算值。來自美國國家健康和營養調查(National Health and Nutrition Examination Survey)之資料揭露在過去35年裏兒童及青少年肥胖症之發病率增加三倍；來自2000之資料提示14-16%之6-19歲之兒童肥胖，其中BMI>95%(Fishbein等人，J Pediatr Gastroenterol

Nutr 2003 ; 36 (1) : 54-61)以及85%患有NAFLD之兒童肥胖之事實。

在患有組織學上證明之NAFLD之患者中，血清肝轉胺酶(尤其丙胺酸轉胺酶(ALT))含量自正常值上限升高至該含量之10倍(Schwimmer等人，J Pediatr 2003 ; 143 (4) : 500-5 ; Rashid等人，J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000 ; 30 (1) : 48-53)。ALT/AST(天冬胺酸轉胺酶)之比率 >1 (在1.5-1.7範圍內)，其不同於該比率通常 <1 之酒精性脂肪肝炎。NASH可能異常升高之其他異常血清學測試包括 γ -麩胺醯轉化酶(γ -GT)及血漿胰島素、膽固醇及三酸甘油酯之禁食含量。

NAFLD發展為NASH之確切機制仍不清楚。因為胰島素抵抗與NAFLD及NASH相關，所以推斷NASH出現亦需要其他額外因素。此稱為"雙項符合"假說("two-hit" hypothesis)(Day CP. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2002 ; 16 (5) : 663-78)且第一包括肝內脂肪累積及第二存在大量氧化壓力增加之自由基。大泡性脂肪變性代表三酸甘油酯之肝累積，且三酸甘油酯肝累積又歸因於向肝傳遞游離脂肪酸與肝利用游離脂肪酸之間的不平衡。在熱量攝取增加之時間裏，三酸甘油酯將積累並充當儲備能源。當飲食熱量不足時，儲備三酸甘油酯(於脂肪中)經歷脂解且脂肪酸釋放進入循環中並由肝溶解。脂肪酸氧化將產生能量以供利用。NASH之治療目前圍繞降低兩個主要病原因子展開，即肝內脂肪累積及引起氧化壓力之自由基過度累積。藉由減少脂肪攝取以及增加熱量消耗降低脂肪累積。一種治療方法為持續且

穩定地減輕體重。雖然尚未最終證明，但在一些病例中，已展示>10%體重減輕降低肝脂肪累積，使肝轉胺酶正常化且改善肝發炎及纖維化(Ueno等人，J Hepatol 1997；27 (1)：103-7；Vajro等人，J Pediatr 1994；125 (2)：239-41；Franzese等人，Dig Dis Sci 1997；42 (7)：1428-32)。

亦展示經由用抗氧化劑治療降低氧化壓力在一些研究中為有效的。舉例而言，用維生素E(400-1000國際單位(IU)/天)治療患有脂肪變性之肥胖兒童4-10個月(Lavine J Pediatr 2000；136 (6)：734-8)。不管BMI存在任何重大變化，平均ALT含量皆自 175 ± 106 IU/L減小至 40 ± 26 IU/L($P<0.01$)且平均AST含量皆自 104 ± 61 IU/L至 33 ± 11 IU/L($P<0.002$)。選擇中止維生素E療法之患者的肝轉胺酶增加。使用維生素E之歷時1年之成年人研究證明類似肝轉胺酶以及纖維化指標TGF β 含量降低(Hasegawa等人，Aliment Pharmacol Ther 2001；15 (10)：1667-72)。

脂肪變性亦可能經由反應性氧物質(ROS)及抗氧化防禦降低所致之氧化壓力發展為脂肪肝炎(Sanyal等人，Gastroenterology 2001；120 (5)：1183-92)。ROS可在肝內經由多種路徑生成，該等路徑包括線粒體、過氧化酶體、細胞色素P450、NADPH氧化酶及脂肪加氧酶(Sanyal等人，Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2005；2 (1)：46-53)。已展示胰島素抵抗及胰島素過多增加肝氧化壓力及由肝CYP2E1活性增加所致之脂質過氧化(Robertson等人，Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2001；281 (5)：

G1135-9; Leclercq等人, J Clin Invest 2000; 105 (8): 1067-75)。

目前, 大部分關於NAFLD病理之瞭解由動物研究產生。存在許多展示脂肪變性/脂肪肝炎之小鼠模型且包括基因變異瘦素缺乏(ob/ob)或瘦素抵抗(db/db)及飲食甲硫胺酸/膽鹼缺乏(MCD)模型。進行作為NASH模型之比較不同品系雄性及雌性大鼠(Wistar、Sprague-Dawley、Long-Evans)與某種小鼠品系(C57BL/6)之研究。餵食該等動物MCD飲食4週; 雖然ALT升高及脂肪變性在Wistar大鼠中更明顯, 但小鼠之肝之總體組織學變化因NASH所致之變化而更持久。新近, 在動物中使用超營養飲食已產生生理學上更類似人類表型之NAFLD模型。最通常與NAFLD相關之醫病狀為肥胖症、II型糖尿病及血脂異常。該等病狀可藉由餵食小鼠及大鼠高脂肪或蔗糖飲食誘發。餵食>70%富脂肪飲食3週之大鼠顯現全小葉脂肪變性、斑點發炎、氧化壓力增強且提示胰島素抵抗之血漿胰島素濃度增加。已經由胃內過量餵食誘發NASH小鼠。餵食小鼠85%超過其標準攝取9週。小鼠變得肥胖, 最終體重增加71%; 其證明白色脂肪組織增加、高血糖症、高胰島素血症、高瘦素血症、葡萄糖不耐受症及胰島素抵抗。在該等小鼠中, 46%發展增加之ALT(121 ± 27 對 13 ± 1 U/L)以及提示NASH之組織學特徵。過度餵食小鼠之肝為所預期之約兩倍大, 顏色為米色, 微觀證據證明存在脂質小滴、細胞質液泡及發炎群集。

經由特定飲食(甲硫胺酸膽鹼缺乏, MCD)或胃內過度餵

食產生NASH小鼠模型。該等小鼠顯現NASH之血清學及組織學特徵。NASH小鼠適用於篩選及量測半胱胺對NASH相關疾病及病症之效應。舉例而言，治療之效應可藉由將NASH小鼠分成動物將僅繼續接受MCD飲食對照組及小鼠將接受MCD飲食以及抗氧化劑療法之三個其他治療組來量測。三個療法組將每天接受半胱胺50 mg/kg，每天100 mg/kg及sAME。

半胱胺為能夠容易地橫穿細胞膜之小分子($\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$)。半胱胺為已用於實驗室動物中來誘發十二指腸潰瘍之有效胃酸促分泌素；人類及動物中之研究已展示半胱胺誘發之胃酸分泌過多很可能經由高胃泌素血症介導。

另外，諸如半胱胺、胱胺及麩胱甘肽之巰基(SH)化合物為最重要且活性之細胞內抗氧化劑。半胱胺保護動物以免出現骨髓及胃腸輻射症候群。關於SH化合物之重要性之基本原因進一步得到有絲分裂細胞中之觀察證明。該等有絲分裂細胞就細胞生殖死亡而言最易受輻射損傷且注意到具有最低含量之SH化合物。反之，使用相同標準最抗輻射損傷之S期細胞已證明固有SH化合物之含量最高。另外，當用半胱胺處理有絲分裂細胞時，其變得極抗輻射。亦已注意到，半胱胺可能直接保護細胞以免誘發突變。認為該保護藉由直接清除自由基或經由釋放蛋白質結合GSH清除自由基來產生。在禽類肝及豬腎中已報導自輔酶A釋放半胱胺之酶。最近，已出現證明半胱胺針對肝毒劑乙醯胺苯酚、溴苯及鬼筆毒環肽之保護效應的研究。

胱胺除作為輻射防護劑之作用外亦可見在基因突變為亨廷頓舞蹈病(Huntington's disease, HD)之小鼠中減輕顫抖且延長壽命。該藥物可藉由增加保護神經細胞或神經元以免退化之蛋白質之活性起作用。胱胺似乎使稱為轉麩醯胺酸酶之酶失活且從而使得亨廷頓蛋白(huntingtin protein)減少(Nature Medicine 8, 143-149, 2002)。另外，可見胱胺增加某些神經保護蛋白之含量。然而，歸因於目前傳遞胱胺之方法及調配物，降解及不良攝取亦需要過量給藥。

目前，半胱胺經FDA批准僅用於治療胱胺酸症。患有胱胺酸症之患者通常需要每6小時服用半胱胺。理想地，大概每日兩次投與有效控制釋放半胱胺製劑將改善該等患者之生活品質。

本揭示案不限於特定半胱胺或胱胺鹽或酯或衍生物；本揭示案之組合物可含有任何半胱胺或胱胺、半胱胺或胱胺衍生物或半胱胺或胱胺之組合。組合物中之活性劑(亦即，半胱胺或胱胺)可以藥理學上可接受之鹽、酯、醯胺、前藥或類似物形式或以其組合投與。活性劑之鹽、酯、醯胺、前藥及類似物可使用熟習合成有機化學之技術者已知及例如 J. March, "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure", 第4版(New York: Wiley-Interscience, 1992)描述之標準程序製備。舉例而言，使用常規方式由中性藥物製備鹼性加成鹽，包括使一或多個活性劑之游離羥基與合適鹼反應。通常將藥物之中性形式溶解於諸如甲醇或乙醇之極性有機溶劑中且向其中

添加鹼。所得鹽沈澱或可藉由添加較少極性溶劑使之析出溶液。形成鹼性加成鹽之合適鹼包括(但不限於)無機鹼，諸如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣、三甲胺或其類似物。製備酯包括使藥物分子結構內可存在之羥基官能化。該等酯通常為游離醇基之鹽基取代衍生物，亦即，自式R-COOH羧酸衍生之部分，其中R為烷基且通常為低碳烷基。必要時，可藉由使用習知氫解或水解程序使酯再轉化為游離酸。製備鹽胺及前藥可以類似方式進行。活性劑之其他衍生物及類似物可使用熟習合成有機化學之技術者已知之標準技術製備或可藉由參考相干文獻推導出。

本揭示案之組合物之方法進一步提供使得給藥頻率減小(每天2次對每天4次)、患者順應性增加及胃腸副作用(例如，疼痛、胃灼熱、產酸、嘔吐)及其他副作用(例如，患者聞起來如臭雞蛋，一個當個體進入青春期的特有的順應性問題)減少的腸溶性包覆之組合物。本揭示案提供腸溶性包覆之半胱胺組合物(巰基/CYSTAGON®)及胱胺組合物。

本揭示案提供治療脂肪酸肝病之方法，該等脂肪酸肝病包括(但不限於)非酒精性脂肪酸肝病(NAFLD)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、由肝炎引起之脂肪肝病、由肥胖引起之脂肪肝病、由糖尿病引起之脂肪肝病、由胰島素抵抗引起之脂肪肝病、由高甘油三酯血症引起之脂肪肝病、無 β 脂蛋白血症、肝糖貯積病、韋伯-克里斯欣病、沃爾曼氏

病、妊娠急性脂肪肝及脂質營養不良。

可例如藉由量測白血球胱胺酸濃度評定本文中所述之方法或組合物的效力。本揭示案之方法之功效的其他量測包括評定與脂肪肝病相關之症狀之減輕，包括(但不限於)肝纖維化、肝脂肪含量、肝硬化之發病率或進展、肝細胞癌之發病率、肝轉胺酶含量之升高、丙胺酸轉胺酶(ALT)之增加、天冬胺酸轉胺酶(AST)之增加及血清鐵蛋白之升高。劑量調整及療法可由醫學專業人員視例如脂肪肝病之嚴重程度及/或胱胺酸之濃度而定。舉例而言，脂肪肝病之治療可使得肝轉胺酶與治療之前的含量相比減少約10%至40%。在相關實施例中，治療使得所治療患者之丙胺酸轉胺酶含量減小至高於正常ALT含量約30%、20%或10%或減小至正常ALT含量(≥ 40 iu/L)。在另一實施例中，用半胱胺產物治療使得患者之天冬胺酸轉胺酶含量減小至高於正常AST含量約30%、20%或10%或重新回到正常AST含量。

在一實施例中，本揭示案提供使用半胱胺產物經由減小脂肪肝炎中由反應性氧物質(ROS)引起之氧化壓力治療NAFL的方法。半胱胺可經由其直接或間接增強肝內麩胱甘肽含量之能力實現該目的。麩胱甘肽具有針對氧化損傷之保護效應而本身即使以大量治療給予時亦不容易地進入細胞中。然而，麩胱甘肽之前驅體進入細胞中且包括半胱胺酸、N-乙醯基半胱胺酸、s-腺苷甲硫胺酸(SAMe)及其他含硫化合物(諸如半胱胺)。

本揭示案之組合物可與適用於治療NAFLD或NASH或其

他脂肪酸肝病之第二藥劑或其他療法組合使用。舉例而言，半胱胺產物組合物可與以下藥物一起投與：諸如抗擊胰島素抵抗之格列酮類 (glitazones)/ 噻唑啉二酮類 (thiazolidinediones) 包括甲磺酸鹽 (曲格列酮 (troglitazone) (REZULIN®))、羅格列酮 (rosiglitazone) (AVANDIA®)、吡格列酮 (pioglitazone) (ACTOS®)，以及其他藥劑，包括(但不限於)二甲雙胍 (metformin)、磺醯脲類 (Sulfonylureas)、 α -葡萄糖苷酶抑制劑、美格列奈 (Meglitinide)、維生素E (vitamin E)、四氫利普司他汀 (tetrahydrolipstatin) (XENICAL™)、乳薊蛋白 (milk thistle protein) (SILIPHOS®) 及抗病毒。

可使降低半胱胺產物之副作用之其他療法與本揭示案之方法及組合物組合來治療起因於 NAFLD 或 NASH 或由 NAFLD 或 NASH 引起之疾病及病症。尿磷損失例如導致佝僂病且可能有必要給予磷補充物。卡尼汀 (Carnitine) 隨尿損失且血液含量低。卡尼汀允許脂肪由肌肉使用來提供能量。有時必需補充激素。有時，甲狀腺將不產生足夠甲狀腺激素。其以甲狀腺素 (滴劑或錠劑) 給予。有時，若出現糖尿病，當胰腺不產生足夠胰島素時，胰島素療法為必需的。該等治療在用半胱胺產物治療之兒童中已變得幾乎不為必需的，因為治療保護甲狀腺及胰腺。若青春期的較遲，則一些青春期的少年需要睪酮治療。即使存在良好的氫電解質平衡，若生長不夠，則亦可能須作生長激素療法治療。因此，該等療法可與本揭示案之半胱胺產物組合物及方法組合。包括使用奧美拉唑 (omeprazole) (PRILOSEC®) 之其

他療法可減少影響消化道之不利症狀。

本揭示案提供適用於治療脂肪肝疾病及病症之半胱胺產物。為向人類或測試動物投與本揭示案之半胱胺產物，較佳調配半胱胺產物為包含一或多種醫藥學上可接受之載劑之組合物。如上文所述，醫藥學上或藥理學上可接受之載劑或媒劑係指當使用如下文所述之此項技術熟知之途徑投與時不產生過敏性或其他不良反應或經美國食品與藥物管理局(Food and Drug Administration)或外國對應管理局批准作為經口或非經腸投與之醫藥之可接受添加劑的分子實體及組合物。醫藥學上可接受之載劑包括任何及所有臨床上適用之溶劑、分散介質、包衣、抗菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑及其類似物。

醫藥載劑包括醫藥學上可接受之鹽，尤其當化合物中存在鹼性或酸性基團時。舉例而言，當存在諸如-COOH之酸性取代基時，涵蓋銨鹽、鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽及其類似鹽用於投藥。另外，當存在酸性基團時，涵蓋化合物之醫藥學上可接受之酯(例如，甲酯、第三丁酯、特戊醯氧甲酯、琥珀醯酯及其類似物)作為化合物之較佳形式，此項技術已知該等酯改變用作持續釋放或前藥調配物之溶解特性及/或水解特性。

當存在鹼性基團(諸如胺基或鹼性雜芳基，諸如吡啶基)時，則涵蓋酸性鹽作為投藥形式，該等酸性鹽諸如鹽酸鹽、氫溴酸鹽、乙酸鹽、順丁烯二酸鹽、雙羥苯酸鹽、磷酸鹽、甲烷磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽及其類似物。

另外，化合物可與水或普通有機溶劑形成溶劑合物。亦涵蓋該等溶劑合物。

半胱胺產物組合物可經口、非經腸、經眼、鼻內、經皮、經黏膜、由吸入噴霧、陰道、直腸或顱內注射劑投與。如本文中所使用之術語非經腸包括皮下注射、靜脈內、肌肉內、腦池內注射或輸注技術。亦涵蓋藉由靜脈內、真皮內、肌肉內、乳房內、腹膜內、鞘內、眼球後、肺內注射及/或手術植入特定部位投藥。用於由任何上述方法投與之組合物通常基本上不含熱原質以及會對接受者造成傷害之其他雜質。另外，非經腸投與之組合物為無菌的。

含有半胱胺產物作為活性成分之本揭示案之醫藥組合物視投藥途徑而定可含有醫藥學上可接受之載劑或添加劑。該等載劑或添加劑之實例包括水、醫藥學上可接受之有機溶劑、膠原、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮、聚羧乙烯、羧甲基纖維素鈉、聚丙烯酸鈉、海藻酸鈉、水可溶性葡聚糖、羧甲澱粉鈉、果膠、甲基纖維素、乙基纖維素、三仙膠、阿拉伯膠、酪蛋白、明膠、瓊脂、雙甘油、甘油、丙二醇、聚乙二醇、凡士林(Vaseline)、石蠟、硬脂醇、硬脂酸、人類血清白蛋白(HSA)、甘露糖醇、山梨糖醇、乳糖、醫藥學上可接受之界面活性劑及其類似物。視本揭示案之劑型而定，所使用之添加劑酌情選自(但不限於)以上各物或其組合。

醫藥組合物之調配物將根據所選擇之投藥途徑而變化

(例如，溶液、乳液)。待投與之包含半胱胺產物之適當組合物可在生理學上可接受之媒劑或載劑中製備。對於溶液或乳液，合適的載劑包括(例如)水性或醇性/水性溶液、乳液或懸浮液，任何均包括生理食鹽水及緩衝介質。非經腸媒劑可包括氯化鈉溶液、林格氏右旋糖(Ringer's dextrose)、右旋糖及氯化鈉、乳酸林格氏液(lactated Ringer's)或不揮發油狀物。靜脈內媒劑可包括多種添加劑、防腐劑或流體、營養物或電解質補充劑。

多種水性載劑(例如水、緩衝水、0.4%生理食鹽水、0.3%甘胺酸)或水性懸浮液可含有與適於製造水性懸浮液之賦形劑混合之活性化合物。該等賦形劑為懸浮劑，例如羧甲基纖維素鈉、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、海藻酸鈉、聚乙烯吡咯啉酮、黃耆膠及阿拉伯樹膠；分散劑或潤濕劑可為天然存在之磷脂，例如卵磷脂或氧化烯與脂肪酸之縮合產物(例如聚氧乙烯硬脂酸酯)或氧化乙烯與長鏈脂族醇之縮合產物(例如十七伸乙基氧鯨蠟醇)或氧化乙烯與由脂肪酸與己糖醇獲得之偏酯之縮合產物(諸如聚氧乙烯山梨糖醇單油酸酯)或氧化乙烯與由脂肪酸與己糖醇酸酐獲得之偏酯之縮合產物(例如聚乙烯脫水山梨糖醇單油酸酯)。水性懸浮液亦可含有一或多種防腐劑(例如，對羥基苯甲酸乙酯或對羥基苯甲酸正丙酯)、一或多種著色劑、一或多種調味劑及一或多種甜味劑(諸如蔗糖或糖精)。

在一些實施例中，本揭示案之半胱胺產物可凍乾以便儲

存並在使用之前於合適載劑中復原。可採用任何合適的凍乾及復原技術。熟習此項技術者瞭解凍乾及復原可導致不同程度之活性損失且可能必須調節用量來補償。

適於藉由添加水製備水性懸浮液之可分散性散劑及顆粒劑提供與分散劑或潤濕劑、懸浮劑及一或多種防腐劑混合之活性化合物。合適的分散劑或潤濕劑及懸浮劑例如為以上已提及之試劑。亦可存在其他賦形劑，例如甜味劑、調味劑及著色劑。

在一實施例中，本揭示案提供腸溶性包覆之半胱胺產物組合物之用途。腸溶包衣延長釋放直至半胱胺產物到達腸道，通常小腸。由於腸溶包衣，因此向小腸傳遞得到改善，從而改善活性成分之攝取同時減少胃副作用。

在一些實施例中，選擇包衣物質以使當劑型到達小腸或pH值大於pH 4.5之區時釋放治療活性劑。包衣可為pH值敏感物質，該物質在胃之較低pH值環境中保持完整，而在患者小腸中常見之pH值下崩解或溶解。舉例而言，腸溶包衣物質在約4.5至約5.5之pH值下開始溶解於水溶液中。舉例而言，pH值敏感物質在劑量排出胃之前不會經歷明顯溶解。小腸之pH值自十二指腸球部處之約4.5至約6.5逐步增加至小腸遠部處之約7.2。為提供對應於約3小時(例如，2-3小時)之小腸穿行時間之可預測溶解並允許在其中可重複釋放，包衣應在小腸內之pH值範圍內開始溶解。因此，腸溶聚合物包衣之量應足以在小腸內(諸如近端腸及中間腸)約3小時之穿行時間期間大體上溶解。

很多年來，腸溶包衣已用於阻滯藥物自經口可攝取劑型釋放。視組成及/或厚度而定，腸溶包衣在開始崩解及允許藥物釋放於胃下部或小腸上部之前所需之時間裏耐胃酸。一些腸溶包衣之實例揭示於美國專利第5,225,202號中，該專利以引用之方式完全併入本文中。如美國專利第5,225,202號中所陳述，先前採用之包衣之一些實例為蜂蠟及單硬脂酸甘油酯；蜂蠟、蟲膠及纖維素；及鯨蠟醇、乳香及蟲膠以及蟲膠及硬脂酸(美國專利第2,809,918號)；聚乙酸乙烯酯及乙基纖維素(美國專利第3,835,221號)；及聚甲基丙烯酸酯之中性共聚物(Eudragit L30D)(F. W. Goodhart等人，Pharm. Tech.，第64-71頁，1984年4月)；甲基丙烯酸與甲基丙烯酸甲酯之共聚物(Eudragits)或含有金屬硬脂酸鹽之聚甲基丙烯酸酯之中性共聚物(Mehta等人之美國專利第4,728,512號及第4,794,001號)。該等包衣包含脂肪及脂肪酸、蟲膠及蟲膠衍生物以及纖維素酸酐酸酯(例如具有游離羧基內含物之酐酸酯)之混合物。關於合適腸溶包衣組合物之描述，參見Remington's，第1590頁及Zeitova等人(美國專利第4,432,966號)。因此，由半胱胺產物組合物之腸溶包衣所致之小腸吸收之增加可使功效得到改善。

腸溶包衣通常包含阻止半胱胺產物在胃之低pH值環境中釋放但在稍高pH值(pH值通常為4或5)下電離且從而充分溶解於小腸中以逐步在其中釋放活性劑之聚合物質。因此，最有效腸溶包衣物質為pKa在約3至5範圍內之多元酸。合

適的腸溶包衣物質包括(但不限於)聚合明膠、蟲膠、C型NF甲基丙烯酸共聚物、酞酸丁酸纖維素、酞酸氫纖維素、酞酸丙酸纖維素、聚乙酸乙烯酞酸酯(PVAP)、酞酸乙酸纖維素(CAP)、偏苯三酸乙酸纖維素(CAT)、酞酸羥丙基甲基纖維素、乙酸羥丙基甲基纖維素、琥珀酸二氧基丙基甲基纖維素、羧甲基乙基纖維素(CMEC)、琥珀酸乙酸羥丙基甲基纖維素(HPMCAS)及通常由丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯及/或甲基丙烯酸乙酯與丙烯酸酯及甲基丙烯酸酯之共聚物形成的丙烯酸聚合物及共聚物(Eudragit NE、Eudragit RL、Eudragit RS)。舉例而言，腸溶包衣可包含Eudragit L30D、檸檬酸三乙酯及羥丙基甲基纖維素(HPMC)，其中包衣佔最終產物之10%至13%。

在一實施例中，半胱胺產物組合物以錠劑形式投與。錠劑係藉由首先腸溶性包覆半胱胺產物來製造。本文中形成錠劑之方法係藉由視情況與稀釋劑、黏合劑、潤滑劑、崩解劑、著色劑、穩定劑或其類似物組合直接壓縮含有腸溶性包覆之半胱胺產物之粉末。作為直接壓縮之替代，壓縮錠劑可使用濕式造粒或乾式造粒方法製備。錠劑亦可由含有合適水可溶性潤滑劑之濕物質起始模製而非壓縮。

在一些實施例中，半胱胺產物組合物為提供比含有相同量之半胱胺產物之立即釋放劑型提供的 C_{max} 高至少約35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或100%的半胱胺產物之 C_{max} 的延遲或控制釋放劑型。在一些實施例中，該 C_{max} 比立即釋放劑型之 C_{max} 高

多達約75%、100%、125%或150%。 $C_{\max}$ 係指給藥後血液中半胱胺產物之最大劑量且提供藥物全身性吸收之指標。

在一些實施例中，延遲或控制釋放劑型之AUC相對於立即釋放劑型亦增加至少約20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%或高達約50%、60%、75%或100%。AUC或"曲線下面積"係指當藥物給藥後量測相對於時間之血漿藥物濃度時獲得之動力學曲線。

具有想要的藥物動力學特性之醫藥組合物之延遲、控制或持續/延緩釋放形式的製備在此項技術中為已知的且可由多種方法實現。舉例而言，經口控制傳遞系統包括溶解控制釋放(例如，膠囊化溶解控制或基質溶解控制)、擴散控制釋放(儲集器裝置或基質裝置)、離子交換樹脂、滲透性控制釋放或胃滯留系統。溶解控制釋放可例如藉由減緩藥物在胃腸道中之溶解速率、將藥物合併於不可溶性聚合物中及用不同厚度之聚合物質包覆藥物粒子或顆粒劑來實現。擴散控制釋放可例如藉由控制經由聚合膜或聚合基質之擴散來實現。滲透控制釋放可例如藉由控制穿過半透薄膜(其又攜帶藥物向外穿過雷射鑽孔)之溶劑內流來實現。膜任一側之滲透性及流體靜壓力差異控制流體輸送。延長之胃滯留可藉由例如改變調配物之密度、生物黏著於胃黏膜或增加在胃中之漂浮時間來實現。關於其他細節，請參見Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Wise編，Marcel Dekker, Inc., New York, NY (2000)，其全部以引用之方式併入本文中，例如第22章("An Overview

of Controlled Release Systems")。

該等調配物中半胱胺產物之濃度可例如自小於約0.5%(通常約1%或至少約1%)廣泛變化至高達15重量%或20重量%且主要根據所選擇之特定投藥模式基於泵量、製造特性、黏度等選擇。製備可投與之組合物之實際方法為熟習此項技術者已知且顯而易見且更詳細地描述於(例如)Remington's Pharmaceutical Science, 第15版, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980)中。

半胱胺產物以治療有效量存在於組合物中；組合物通常呈單位劑型。所投與之半胱胺產物之量當然將視個體之年齡、體重及一般狀況、所治療之病狀之嚴重程度及處方醫師之判斷而定。合適的治療量將為熟習此項技術者所知及/或描述於相干參考文本及文獻中。目前非腸溶性包覆之劑量為每平方公尺體表面積約1.35 g且每天投與4-5次。在一態樣中，每天投與一次劑量或每天投與多次。半胱胺產物可每天投與一次、兩次或三次或四次或五次。在一些實施例中，半胱胺產物之有效劑量可在每天每公斤體重0.01 mg至1000 mg(mg/kg)範圍內。另外，有效劑量可為0.5 mg/kg、1 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg、25 mg/kg、30 mg/kg、35 mg/kg、40 mg/kg、45 mg/kg、50 mg/kg、55 mg/kg、60 mg/kg、70 mg/kg、75 mg/kg、80 mg/kg、90 mg/kg、100 mg/kg、125 mg/kg、150 mg/kg、175 mg/kg、200 mg/kg，且可以25 mg/kg增量增加至1000 mg/kg，或可介於任何兩個上述值之間的範圍

內。在一些實施例中，半胱胺產物以每平方公尺體表面積約0.25 g至每平方公尺體表面積4.0 g之每日總劑量投與，例如至少約0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9或2 g/m²，或高達約0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.2、2.5、2.7、3.0或3.5 g/m²。在一些實施例中，半胱胺產物可以每平方公尺體表面積約1-1.5 g、每平方公尺體表面積0.5-1 g或每平方公尺體表面積約0.7-0.8 g或每平方公尺體表面積約1.35 g之每日總劑量投與。具有相同活性成分之鹽或酯之分子量可視鹽或酯部分之類型及重量而變化。對於該劑型(例如，包含腸溶性包覆之半胱胺產物之錠劑或膠囊或其他口服劑型)之投藥，使用約100 mg至1000 mg範圍之總重量。該劑型經口向患有將須作半胱胺產物治療之脂肪肝病(包括但不限於NAFLD及NASH)之患者投與。投藥可持續至少3個月、6個月、9個月、1年、2年或更長。

適用於投藥之組合物可與攝取或吸收增強劑一起調配以增加其功效。該等增強劑包括(例如)水楊酸鹽、甘膽酸鹽/亞油酸鹽、乙醇酸鹽、抑肽酶、桿菌肽、SDS、癸酸鹽及其類似物。參見，例如Fix(J. Pharm. Sci., 85:1282-1285, 1996)以及Oliyai及Stella(Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32:521-544, 1993)。

腸溶性包覆之半胱胺產物可包含多種如醫藥技術中所熟知之賦形劑，只要該等賦形劑不展示對組合物中之任何組

分產生失穩效應。因此，可使諸如黏合劑、膨化劑、稀釋劑、崩解劑、潤滑劑、填充劑、載劑及其類似物之賦形劑與半胱胺產物組合。對於固體組合物，稀釋劑通常為增加錠劑體積所必需以為壓縮提供切實可行的尺寸。合適的稀釋劑包括磷酸二鈣、硫酸鈣、乳糖、纖維素、高嶺土、甘露糖醇、氯化鈉、無水澱粉及糖粉。黏合劑用於賦予錠劑調配物黏著性質且從而確保錠劑在壓縮後保持完整。合適的黏合劑物質包括(但不限於)澱粉(包括玉米澱粉及預膠凝化澱粉)、明膠、糖(包括蔗糖、葡萄糖、右旋糖及乳糖)、聚乙二醇、蠟以及天然及合成樹膠(例如阿拉伯膠)、海藻酸鈉、聚乙烯吡咯啉酮、纖維素聚合物(包括羥基丙基纖維素、羥丙基甲基纖維素、甲基纖維素、羥基乙基纖維素及其類似物)以及維格姆(Veegum)。潤滑劑用於促進錠劑製造；合適的潤滑劑之實例包括(例如)硬脂酸鎂、硬脂酸鈣及硬脂酸，且通常以相對於錠劑重量不超過約1重量%存在。崩解劑用於投藥後促進錠劑崩解或"分解"且通常為澱粉、黏土、纖維素、海藻膠、樹膠或交聯聚合物。必要時，待投與之醫藥組合物亦可含有較小量之無毒助劑物質，諸如潤濕劑或乳化劑、pH緩衝劑及其類似物，例如乙酸钠、脫水山梨糖醇單月桂酸酯、三乙醇胺乙酸钠、三乙醇胺油酸酯及其類似物。必要時，亦可添加調味劑、著色劑及/或甜味劑。併入本文中之口服調配物中之其他可選組分包括(但不限於)防腐劑、懸浮劑、增稠劑及其類似物。填充劑包括(例如)不溶性物質，諸如二氧化矽、二氧

化鈦、氧化鋁、滑石、高嶺土、粉末纖維素、微晶纖維素及其類似物；以及可溶性物質，諸如甘露糖醇、脲、蔗糖、乳糖、右旋糖、氯化鈉、山梨糖醇及其類似物。

如美國專利第4,301,146號中所揭示，醫藥組合物亦可包含穩定劑，諸如羥丙基甲基纖維素或聚乙烯吡咯啉酮。其他穩定劑包括(但不限於)纖維素聚合物，諸如羥丙基纖維素、羥乙基纖維素、甲基纖維素、乙基纖維素、乙酸纖維素、酞酸乙酸纖維素、偏苯三酸乙酸纖維素、酞酸羥丙基甲基纖維素、微晶纖維素及羧甲基纖維素鈉；及乙烯基聚合物及共聚物，諸如聚乙酸乙烯酯、酞酸聚乙酸乙烯酯、乙烯基乙酸巴豆酸共聚物及乙烯-乙酸乙烯共聚物。穩定劑以有效提供想要的穩定效應之量存在，此通常意謂半胱胺產物與穩定劑之比率為至少約1:500 w/w，更通常約1:99 w/w。

錠劑可藉由首先腸溶性包覆半胱胺產物來製造。本文中形成錠劑之方法係藉由視情況與稀釋劑、黏合劑、潤滑劑、崩解劑、著色劑、穩定劑或其類似物組合直接壓縮含有腸溶性包覆之半胱胺產物之粉末。作為直接壓縮之替代，壓縮錠劑可使用濕式造粒或乾式造粒方法製備。錠劑亦可由含有合適水可溶性潤滑劑之濕物質起始模製而非壓縮。

在一替代實施例中，造粒腸溶性包覆之半胱胺產物且將造粒物壓縮為錠劑或填充為膠囊。膠囊物質可為硬質或軟質且通常諸如用明膠帶或其類似物密封。口服使用之錠劑

及膠囊通常將包括一或多種如本文中所論述之常用賦形劑。

對於該劑型(亦即，包含腸溶性包覆之半胱胺產物之錠劑或膠囊)之投藥，使用約100 mg至1000 mg範圍之總重量。該劑型經口向患有通常將須作半胱胺產物治療之病狀(包括但不限於NAFLD及NASH)之患者投與。

本揭示案之組合物可與適用於治療NAFL及NASH之其他療法組合使用。舉例而言，可組合(以單一組合物或以分開的組合物同時)投與抗氧化劑，諸如甘草素、五味子提取物、抗壞血酸、麩胱甘肽、水飛薊素、硫辛酸及d- α -生育酚及非經腸向個體投與之甘草素、抗壞血酸、麩胱甘肽及維生素B錯合物。或者，可相繼投與治療劑之組合。

本揭示案之方法或組合物之效力可藉由量測肝中之脂肪酸含量及代謝來評定。劑量調整及療法可由醫學專業人員視例如NAFL之嚴重程度而定。

另外，多種前藥可藉由使用腸溶性包覆之半胱胺來"活化"。前藥為藥理學上惰性的，其本身不在體內起作用，但一旦其經吸收，前藥即分解。前藥方法已成功用於許多治療劑領域，包括抗生素、抗組胺劑及潰瘍治療劑。使用前藥之優點在於活性劑在化學上經掩飾且直至藥物穿出腸管及進入身體細胞之後活性劑才釋放。舉例而言，許多前藥使用S-S鍵結。諸如半胱胺之弱還原劑還原該等鍵結並釋放藥物。因此，本揭示案之組合物適用於與延時釋放藥物之前藥組合。在該態樣中，可投與前藥，接著投與本揭

示案之腸溶性包覆之半胱胺組合物(在想要之時間)來激活前藥。

應理解，雖然本揭示案已結合其特定實施例描述，但上文描述以及下文實例意欲說明而非限制本揭示案之範疇。本揭示案範疇內之其他態樣、優點及修飾對熟習本揭示案之技術者而言將顯而易見。

實例

實例1

腸溶性包覆之半胱胺之調配。

國際公開案第WO 2007/089670號描述使用鼻腸管向胱胺酸症患者投與半胱胺以確定經腸投藥對改善胱胺酸症患者之功效。WO 2007/089670展示經腸投與半胱胺改善半胱胺之吸收率並增加血漿半胱胺含量。經腸投藥亦減小白血球中之胱胺酸之含量。該等結果展示經腸半胱胺比經口投與之半胱胺有效。

產生半胱胺腸溶性包覆之製劑(Cystagon-EC)以更有效且更易投與。使用具有4/6"包衣腔室之Model 600 Wurster包覆裝置腸溶性包覆CYSTAGON®膠囊(Mylan Laboratories Inc., PA, USA)。包衣物質為Eudragit L30 D-55(Rohm GmbH & Co KG, Darmstadt, Germany)且包裹EC化合物(The Coating Place Inc, Verona, WI，聯邦設備機構編號2126906)。使用FDA批准之設備及物質製造膠囊。

活體外測試腸溶包衣以證實膠囊在胃酸中之不可溶性。藉由在37°C下將膠囊置放於100 mL 0.1 N HCL溶液中2小

時進行測試。若小於10%之半胱胺釋放，則膠囊視為可接受的。2小時後，用 NaHCO_3 緩衝液使溶液之pH值上升至pH 6.8。若在2小時內至少80%之半胱胺釋放，則膠囊視為可接受的。

已使用 Cystagon-EC 研究 6 位成年對照個體及 6 位患有胱胺酸症之患者。血漿半胱胺含量在患者服用 Cystagon-EC 時比其服用普通半胱胺(CYSTAGON®)製劑時高。另外，當胱胺酸症患者服用 Cystagon-EC 時，經過 12 小時，最低白血球胱胺酸含量仍為每毫克蛋白質約 $<0.2 \text{ nmol}$ 且通常小於 1 nmol 半胱胺酸，提示當每日給藥兩次時，半胱胺之該新穎調配物有效。

實例 2

向患有脂肪肝病之患者投與半胱胺。已展示投與半胱胺藉由減小損傷性胱胺酸之含量減輕胱胺酸症之症狀。為確定半胱胺對引起 NASH 患者肝損傷之纖維化之效應，進行 12 位用腸溶性包覆之半胱胺治療之患有非酒精性脂肪病之兒童及青少年的開放標籤非隨機初步研究。

使用已進行生活方式改變(諸如飲食及鍛煉)至少 3 個月之確診 NASH 之患者進行研究。進行全面病史及身體檢查。使用設計用於酸性胃病(acid-peptic disease)及先前用於服用半胱胺之兒童之症狀評分。抽血用於肝功能，包括肝轉胺酶、鹼性磷酸酯酶、膽紅素及 γ -GT。亦抽血用於全血球計數(complete blood count)、ESR、CRP、禁食胰島素

及禁食脂質及膽固醇分布，氧化壓力及肝纖維化指標(總計15 ml)。記錄患者體重。

ALT之研究進入含量定義為 ≥ 60 iu/L且療法之成功反應為使肝轉胺酶含量正常或減小 $>35\%$ 。正常ALT含量定義為40 iu/L。個體以每日兩次腸溶性包覆之半胱胺起始，每日總劑量為每平方公尺體表面積1 g，最大劑量為每日兩次1000 mg。患有胱胺酸症之患者通常服用每天每平方公尺體表面積1-1.5 g。

任何自訴重大消化系統症狀之個體可使他/她的半胱胺每日劑量減少10%。若即使劑量減小10%，GI症狀亦持續3天，則應允許劑量再減小10%(至最大值為原始劑量之50%)。若即使EC-半胱胺劑量最大幅度地減小，症狀亦持續，則自該研究中移除個體。

若症狀嚴重，則個體可在任何時間點退出研究。若患者處於諸如質子泵抑制劑之酸抑止療法，則在其開始EC-半胱胺之前要求其中止療法1週。最初用EC-半胱胺治療患者3個月，且最長6個月。若偵測到肝轉胺酶含量減小10-25%，則將治療再延長3個月。然而，若3個月療法後ALT含量降低 $<10\%$ ，則個體不應再參與研究。若6個月療法後血清肝轉胺酶含量改善($>35\%$)，則用身體檢查再監測患者6個月，且每兩個月進行相同血液測試。行經女性在研究開始時及期間每個月均應進行血液妊娠測試。適當時，建議患者使用雙阻隔法進行避孕預防措施。

要求患者堅持症狀日記且亦應去GCRC/診所以獲得不知

患者之研究藥物之身份之資訊。使用設計用於酸性胃病 (acid-peptic disease) 及先前用於服用半胱胺之兒童之症狀評分。患者每4週應進行重複血液測試，包括肝功能測試、全血球計數及血漿半胱胺含量(10 ml)。研究結束時，患者應重複所有基線實驗室測試。

實例3

在非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 飲食動物模型中評估半胱胺產物之效應，通常如 Otogawa 等人，Am. J. Pathol., 170 (3) : 967-980 (2007) 中所述進行。餵食雄性新西蘭白兔含有20%玉米油及1.25%膽固醇之高脂肪飲食 (HFD) 以誘發表示 NAFLD 及非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之特徵之臨床及組織學特徵。使用以兩個每天 75 mg/kg 或 250 mg/kg 之劑量水準每8小時時程 (Q8H) 腹膜內 (IP) 給藥半胱胺酒石酸氫鹽進行持續時間為7天之初步研究。持續時間為8週之更長研究以每天 25 mg/kg、75 mg/kg 或 250 mg/kg 於飲用水中傳遞半胱胺酒石酸氫鹽。

如下文進一步詳細論述，兩個研究之資料展示半胱胺治療使肝轉胺酶 (天冬胺酸轉胺酶或 AST) 含量與 HFD 未治療對照組相比得到改善。AST 升高視為 NAFLD 及 NASH 中肝發炎之最佳指標之一。與 HFD 飲食對照動物相比，經半胱胺治療 AST 含量減小 1.6 至 1.9 倍，亦即，相應減小 37% 至 47%。資料亦展示半胱胺治療與 HFD 對照組相比與 LDH (組織損傷之總體指標) 之有益變化及脂質分布指標 (諸如，總膽固醇、LDL-膽固醇及 HDL-膽固醇) 之有益變化相關。該

等兔子模型中所觀察到之改善支持包括NASH之人類非酒精性脂肪肝疾病(NAFLD)之半胱胺治療可能賦予臨床益處之結論。

初步研究。在初步研究中，藉由每8小時(Q8H)經由腹膜內(IP)途徑向餵食高脂肪飲食(HFD)之新西蘭白兔歷時7天來傳遞兩個不同劑量水準之半胱胺。將介於2.5至3.5 kg之間的雄性兔子分為以下各組：1)對照標準飲食，2隻動物，2)對照HFD，2隻動物，3)低劑量半胱胺酒石酸氫鹽，每天75 mg/kg，HFD，4隻動物，及4)高劑量半胱胺酒石酸氫鹽，每天250 mg/kg，HFD，4隻動物。終點包括每日標準臨床觀察，定量每日食物消耗，研究時間(Study Day，SD)第-1天、第2天、第5天及第8天(驗屍當天)之體重，且在SD-1及SD8收集血液樣品以評估所選擇之臨床化學(丙氨酸轉胺酶(ALT)、天冬胺酸轉胺酶(AST)、澱粉酶、脂肪酶、總膽固醇、三酸甘油酯、乳酸脫氫酶(LDH)、高密度脂蛋白膽固醇(HDL-膽固醇)及低密度脂蛋白膽固醇(LDL-膽固醇))及全面血液學概況。在SD8時處死動物。

關於SD-1及SD8時基線下所獲得之臨床觀察、體重或血液學值，未見藥理學重大差異。在研究之7天裏ALT、澱粉酶、脂肪酶、三酸甘油酯及HDL-膽固醇所觀察到之值在各組之間並無不同。然而，在彼等餵食HFD之動物中觀察到總膽固醇、LDL-膽固醇及LDH值增加。

重要地，與HFD對照組相比，用半胱胺治療之組展示以下四個血清化學值改善：AST、總膽固醇、LDL-膽固醇及

LDH。

AST顯示為NASH中肝發炎之最佳指標且視為優於ALT之指標。如圖1中所示，與HFD對照組相比，在SD8時在高劑量半胱胺組(每天250 mg/kg)中觀察到平均AST值減小。對照HFD組之平均AST值為19.0 U/L，而每天接受250 mg/kg半胱胺之兔子展示該值減小1.9倍至10.0 U/L或僅為對照HFD值之47%。因為對照HFD組中僅2隻動物，所以不可能進行統計比較。然而，比較SD8時每天75 mg/kg之組之AST結果與每天250 mg/kg半胱胺動物之AST結果表明，由Mann-Whitney U檢驗高劑量半胱胺組在統計上與低劑量組不同， $p=0.03$ 。該等資料展示該方案每天250 mg/kg之半胱胺治療對於AST值產生正面影響。

所有組之平均血清總膽固醇值基線(SD-1)在42.5至55.25 mg/dL範圍內，在正常兔子之實驗室歷史範圍20-78 mg/dL內。如圖2中所示，SD8時，可見每天接受75或250 mg/kg半胱胺之兔子與對照HFD組相比平均總膽固醇增加較小。SD8時，HFD之組2中之對照兔子具有842 mg/dL之平均總膽固醇值，比其基線值增加約20倍。每天接受75 mg/kg半胱胺之組3兔子具有652 mg/dL之平均值，僅比其基線值增加約12倍或與HFD對照相比增量少23%。SD8時，每天接受250 mg/kg半胱胺之組4中之兔子具有347 mg/dL之平均值，僅比其基線值增加約7.5倍或與HFD對照值相比增量少59%。該等資料展示半胱胺治療使得歸因於HFD飲食之血清總膽固醇增加明顯劑量依賴型減小。

LDL-膽固醇值似乎亦受半胱胺給藥影響。如圖3中所示，由總膽固醇指標可見，對照HFD組中所觀察到之LDL-膽固醇增加在經每天75或250 mg/kg半胱胺治療之兔子中顯著減小。所有組之基線平均LDL-膽固醇值在9.5至18 mg/dL範圍內，在4至19 mg/dL之實驗室歷史範圍內。SD8時，對照HFD兔子具有272.5 mg/dL之平均值，比基線增加約29倍。SD8時，每天經75 mg/kg半胱胺治療之組3中之兔子具有210 mg/dL之平均值，與相應基線值相比僅增加約12倍或與HFD對照相比增量少23%。每天經250 mg/kg治療之組4中之兔子具有150.5 mg/dL之平均LDL-膽固醇值，與其基線值相比僅增加約14倍或與HFD對照相比增量少45%。該等資料展示半胱胺治療使得歸因於HFD飲食之LDL-膽固醇增加顯著減小。

如圖4中所示，LDH值展示類似趨勢：每天接受75或250 mg/kg半胱胺之兔子之LDH的增加比對照HFD兔子小。SD8時，組2中之對照HFD兔子具有190 U/L之平均LDH值，比其基線值增加1.7倍。SD8時，組3中之兔子(每天75 mg/kg)具有128 U/L之平均值，與其基線值相比減小1.2倍或減小SD8時之對照HFD值之33%。SD8時，組4中之兔子(每天250 mg/kg)具有77.5 U/L之平均值，與其基線值相比減小3.1倍或減小SD8時之對照HFD值之59%。該等資料展示半胱胺治療使得該等LDH值與餵食HFD之對照兔子相比劑量依賴性降低。

資料展示以Q8H時程用每天腹膜內75或250 mg/kg半胱胺

酒石酸氫鹽治療餵食HFD之兔子使NAFLD中之肝發炎及損傷之重要指標肝轉胺酶(AST)含量得以改善。半胱胺治療亦與生物化學血清指標總膽固醇、LDL-膽固醇及LDH之有益變化相關。總之，資料支持半胱胺治療可賦予患有諸如NASH之NAFLD之人類患者臨床益處之結論。

8週研究。該研究之目的在於評估半胱胺治療在NAFLD及NASH動物模型中之效應，其中餵食雄性新西蘭白兔含有20%玉米油及1.25%膽固醇之高脂肪飲食(HFD)來產生表示NAFLD及NASH之特徵之臨床及組織學特徵。

研究設計包括5個8隻兔子之組。兩個對照組在其飲用水中不接受半胱胺：一個對照組餵食習知兔子食物且另一對照組餵食HFD。在3個餵食HFD之兔子組中，在飲用水中引入適於每天傳遞25、75或250 mg/kg之濃度的半胱胺酒石酸氫鹽。基於該濃度範圍內半胱胺酒石酸氫鹽之室溫穩定性資訊每日新鮮製備飲用水。

研究期間之觀察包括每週兩次體重、每日食物及水消耗及每日臨床觀察。在研究起始之前及第2、4、6及8週收集血液樣品用於全面血液學參數及選定的血清化學，包括ALT、AST、澱粉酶、脂肪酶、總膽固醇、三酸甘油酯、LDH、HDL-膽固醇及LDL-膽固醇。

在所有接受HFD之組中，約第8週中間時開始觀察到諸如粗糙毛皮及安靜行為之臨床觀察，而第6週中間早期開始出現黃疸病徵。一些動物在前述時間段內出現深色或紅色尿，提示可能膽汁阻塞(膽汁淤滯)。整個研究中，HFD

動物與標準飲食動物相比更通常展示軟便。HFD動物亦展示提示NAFLD之組織學特徵。3隻組4(中劑量半胱胺組)中之動物研究中死亡或在SD 51、55及56垂死時處死。1隻組5(高劑量組)中之動物在SD 55垂死時處死。研究中之該等死亡似乎與晚期NAFLD相關。

體重資料展示標準飲食及HFD動物在研究之前6週期間體重以大致相同的速率增加。然而，自第7週開始，與標準飲食相比，HFD動物開始體重減輕。半胱胺治療動物之體重似乎與對照HFD動物之體重相似。食物消耗資料展示研究第一週以後，餵食HFD之動物消耗比餵食標準飲食之動物少之食物，歸因於HFD之較高含熱量，此情況為可預見的。治療組及HFD對照組之食物消耗相仿。截止約第6週，基於曲線下面積(AUC)HFD動物僅消耗標準飲食動物所消耗之食物量的約15%至30%。

水消耗資料遵循類似模式。所有HFD動物消耗比標準飲食動物少之水，估計可能歸因於HFD之較高含水量。基於AUC，對照HFD組消耗標準飲食動物所消耗之水的約65%。飲用含半胱胺之水之組消耗HFD對照組所消耗之水的約三分之二。該等資料將提示含半胱胺水對該等兔子而言可能在一定程度上比對照水不可口。

整個研究中，血液學資料並未顯露藥理學上重大的改變。與標準飲食對照相比，餵食HFD之對照兔子存在白血球(WBC)計數稍增加之趨勢，主要係歸因於淋巴細胞。半胱胺治療組類似於HFD對照組。

血清化學資料反映餵食HFD之對照動物與標準飲食對照動物不同。研究結束時(第8週)，組2中之HFD對照動物與標準飲食對照值(組1)相比以下參數均增加：AST(2.6倍)、脂肪酶(6.6倍)、膽固醇(64倍)、三酸甘油酯(3.8倍)、LDH(3倍)、HDL-膽固醇(2.3倍)及LDL-膽固醇(55倍)。澱粉酶及ALT值無變化。

AST視為比ALT佳之肝發炎指標。如圖5中所示，第8週時，餵食HFD之對照動物具有117.1 U/L之平均AST值，與餵食標準飲食之對照動物相比增加2.6倍。然而，低劑量(每天25 mg/kg)與高劑量(每天250 mg/kg)半胱胺治療組之平均AST值與對照HFD動物相比降低。組3動物(每天25 mg/kg)具有僅62.5 U/L之平均AST值，相對於HFD對照組降低1.9倍，降低47%。類似地，組5動物(每天250 mg/kg)具有僅75.7 U/L之平均AST值，相對於HFD對照降低1.6倍，降低35%。鑒於藉由於飲用水中供應半胱胺評定藥物傳遞存在困難，值得注意的是AST值之該等降低與三個半胱胺治療組中之兩個相關。初步研究中亦可見AST之類似降低。

如初步研究中所觀察，在該研究中經半胱胺治療之動物亦觀察到LDH降低。如圖6中所示，第8週時，組2 HFD對照動物之平均LDH值為375 U/L。暴露於半胱胺使得治療動物與組2 HFD對照相比在所有三個劑量水準下LDH值均降低。在組5(高劑量(每天250 mg/kg)組)中，第8週之平均LDH值為140 U/L，幾乎與125.6 U/L之組1標準飲食對照組

平均LDH值相等。HFD對照LDH值與高劑量半胱胺(每天250 mg/kg)值之間的該差異由Mann-Whitney U檢驗在統計上為顯著的， $p=0.03$ 。該等資料展示半胱胺治療顯著減小由HFD引起之LDH增加。

充分認識到HDL-膽固醇含量為健康脂質概況之正指示。已知兔子為用於人類脂質概況之尤其良好的模型，因為其具有與人類中可見之比率類似之基線比率且其視為人類心血管疾病之良好模型。因此，值得注意的是在該研究中，如圖7中所示，經高劑量半胱胺(每天250 mg/kg)治療之動物與標準飲食對照組以及HFD對照組相比展示HDL膽固醇之有益增加。在第8週時，每天250 mg/kg半胱胺組之平均HDL-膽固醇值為58.3 mg/dL，比36.9 mg/dL之HFD對照平均值增加1.6倍，且比15.7 mg/dL之對照標準飲食值增加3.7倍。

總之，該8週研究中所收集之資料展示餵食HFD之兔子發展與符合NAFLD及NASH之肝病相關之臨床及血清學特徵。於水瓶中之半胱胺給藥很可能產生可變的向治療動物藥物傳遞。儘管如此，可見兩個初步研究中得到改善之相同血清化學指標在半胱胺存在下在該8週研究中亦改善：AST及LDH。鑒於AST視為人類NASH中之發炎之最佳指標及LDH減小很可能亦反映在該等動物中發炎程度較小且很可能免受細胞毒性，該等結果視為重要的研究結果。

該較長時間之研究中之另一值得注意的研究結果為半胱胺治療與血清HDL-膽固醇含量之有益升高相關。

預期熟習此項技術者可想到如以上說明性實例中所陳述之本發明之很多修改及變化。因此，僅附加申請專利範圍中所出現之該等限制才應限制本發明。

【圖式簡單說明】

圖1展示每天腹膜內傳遞0、75及250 mg/kg之半胱胺治療對餵食高脂飲食(HFD)8天之動物之天冬胺酸轉胺酶(AST)含量的效應。亦展示未餵食HFD之對照動物之AST含量。該圖描繪來自研究第-1天("預先")及研究第8天(SD8)所收集之血液樣品之平均AST值。

圖2展示每天腹膜內傳遞0、75及250 mg/kg之半胱胺治療對餵食HFD 8天之動物之膽固醇含量的效應。亦展示未餵食HFD之對照動物之膽固醇含量。該圖描繪來自研究第-1天("預先")及研究第8天(SD8)所收集之血液樣品之平均膽固醇值。

圖3展示每天腹膜內傳遞0、75及250 mg/kg之半胱胺治療對餵食HFD 8天之動物之低密度脂蛋白膽固醇(LDL-膽固醇)含量的效應。亦展示未餵食HFD之對照動物之LDL-膽固醇含量。該圖描繪來自研究第-1天("預先")及研究第8天(SD8)所收集之血液樣品之平均LDL-膽固醇值。

圖4展示每天腹膜內傳遞0、75及250 mg/kg之半胱胺治療對餵食HFD 8天之動物之乳酸脫氫酶(LDH)含量的效應。亦展示未餵食HFD之對照動物之LDH含量。該圖描繪來自研究第-1天("預先")及研究第8天(SD8)所收集之血液樣品之平均LDH值。

圖 5 展示每天經由飲水傳遞 0、25、75 及 250 mg/kg 靶劑量之半胱胺治療對餵食 HFD 8 週之動物之 AST 含量的效應。亦展示未餵食 HFD 之對照動物之 AST 含量。該圖描繪來自研究第 -1 天 ("第 0 週") 及所指示之週 (第 2、4、6 或 8 週) 最後一天所收集之血液樣品的平均 AST 值 $\pm$ SEM。

圖 6 展示每天經由飲水傳遞 0、25、75 及 250 mg/kg 靶劑量之半胱胺治療對餵食 HFD 8 週之動物之 LDH 含量的效應。亦展示未餵食 HFD 之對照動物之 LDH 含量。該圖描繪來自研究第 -1 天 ("第 0 週") 及所指示之週 (第 2、4、6 或 8 週) 最後一天所收集之血液樣品的平均 LDH 值 $\pm$ SEM。

圖 7 展示每天經由飲水傳遞 0、25、75 及 250 mg/kg 靶劑量之半胱胺治療對餵食 HFD 8 週之動物之高密度脂蛋白膽固醇 (HDL-膽固醇) 含量的效應。亦展示未餵食 HFD 之對照動物之 HDL-膽固醇含量。該圖描繪來自研究第 -1 天 ("第 0 週") 及所指示之週 (第 2、4、6 或 8 週) 最後一天所收集之血液樣品的平均 HDL-膽固醇值 $\pm$ SEM。

十、申請專利範圍：

P.1-3

1. 一種包含半胱胺或胱胺或其醫藥學上可接受之鹽之組合物之用途，其係用於製造供治療患有非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 或非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之患者用之藥物。
2. 如請求項 1 之用途，其中該藥物係經調配使半胱胺或胱胺或其醫藥學上可接受之鹽之每日總劑量為 $0.5-2.0 \text{ g/m}^2$ 。
3. 如請求項 1 之用途，其中該藥物係經調配使半胱胺或胱胺或其醫藥學上可接受之鹽之每日總劑量為約 $0.5-1.0 \text{ g/m}^2$ 。
4. 如請求項 1 之用途，其中該藥物係經調配使其以每天 4 次或 4 次以下之頻率投與。
5. 如請求項 4 之用途，其中該藥物係經調配使其每天投與兩次。
6. 如請求項 1 之用途，其中該藥物包含經調配而做為提供增加半胱胺或胱胺或其醫藥學上可接受之鹽向小腸傳遞之延遲或控制釋放劑型之組合物。
7. 如請求項 6 之用途，其中該延遲或控制釋放劑型包含當該組合物到達小腸或個體之胃腸道之 pH 值超過約 pH 4.5 之區時釋放該半胱胺組合物的腸溶包衣。
8. 如請求項 7 之用途，其中該組合物包含選自由以下各物組成之群之包衣：聚合明膠、蟲膠、C 型 NF 甲基丙烯酸共聚物、酞酸丁酸纖維素、酞酸氫纖維素、酞酸丙酸纖維素、聚乙酸乙烯酞酸酯 (PVAP)、酞酸乙酸纖維素

(CAP)、偏苯三酸乙酸纖維素(CAT)、酞酸羥丙基甲基纖維素、乙酸羥丙基甲基纖維素、琥珀酸二氧基丙基甲基纖維素、羧甲基乙基纖維素(CMEC)、琥珀酸乙酸羥丙基甲基纖維素(HPMCAS)及通常由丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯及/或甲基丙烯酸乙酯與丙烯酸酯及甲基丙烯酸酯之共聚物形成的丙烯酸聚合物及共聚物。

9. 如請求項1之用途，其中該包含組合物之藥物係經口投與。
10. 如請求項1之用途，其中該包含組合物之藥物非經腸投與。
11. 如請求項1之用途，其中該藥物使得肝纖維化與以半胱胺或胱胺或其醫藥學上可接受之鹽治療之前的程度相比得到改善。
12. 如請求項1之用途，其中該藥物使得肝脂肪含量減小。
13. 如請求項1之用途，其中該藥物使得肝硬化之發病率或進展減小。
14. 如請求項1之用途，其中該藥物使得肝細胞癌之發病率減小。
15. 如請求項1之用途，其中該藥物使得肝轉胺酶含量與投與該半胱胺組合物之前的含量相比降低。
16. 如請求項1之用途，其中該藥物使得肝轉胺酶與治療之前的含量相比減少約10%至40%。
17. 如請求項1之用途，其中該藥物使得丙胺酸轉胺酶含量與以半胱胺或胱胺或其醫藥學上可接受之鹽治療之前的

含量相比減小。

18. 如請求項1之用途，其中該藥物使得天冬胺酸轉胺酶含量與以半胱胺或胱胺或其醫藥學上可接受之鹽治療之前的含量相比減小。
19. 如請求項1之用途，其中該組合物使得血清鐵蛋白含量與用半胱胺或胱胺或其醫藥學上可接受之鹽治療之前的含量相比降低。
20. 如請求項1之用途，其中該半胱胺或胱胺或其醫藥學上可接受之鹽係與適用於治療脂肪肝病之第二藥劑一起投與。
21. 如請求項1之用途，其中該患者為兒童或青少年。

十一、圖式：

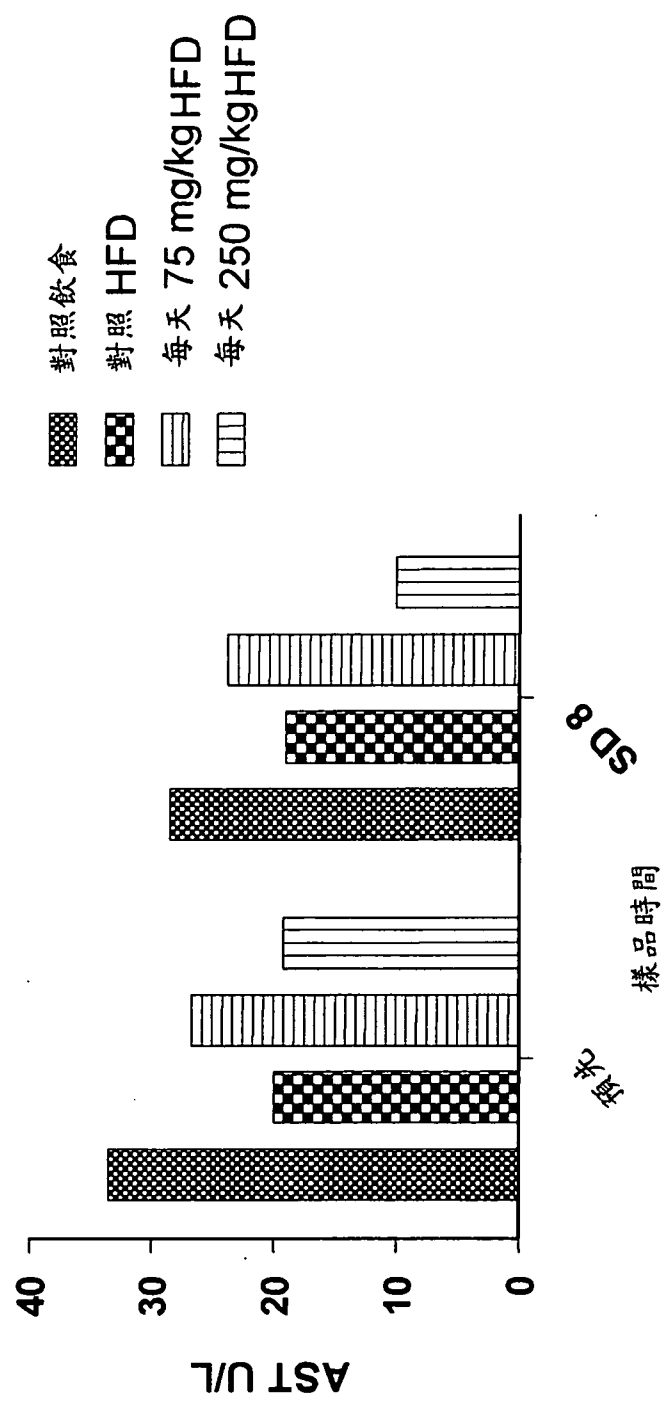


圖1

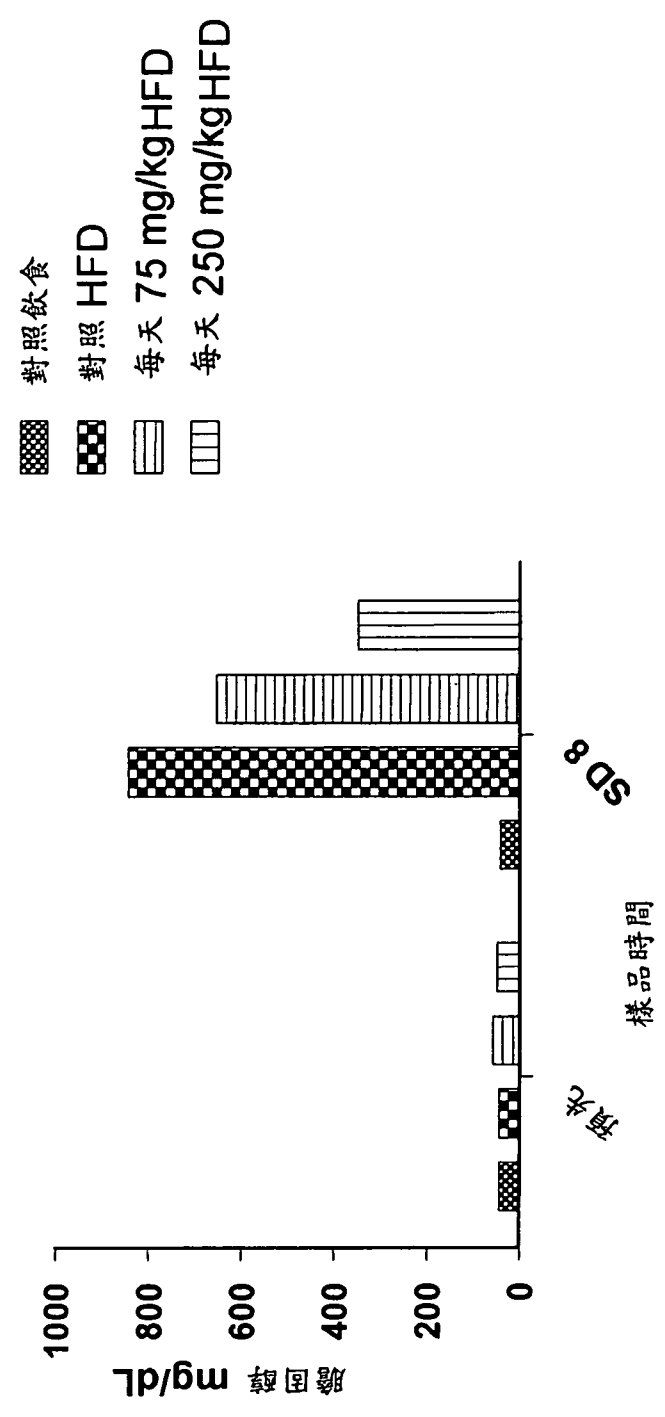


圖2

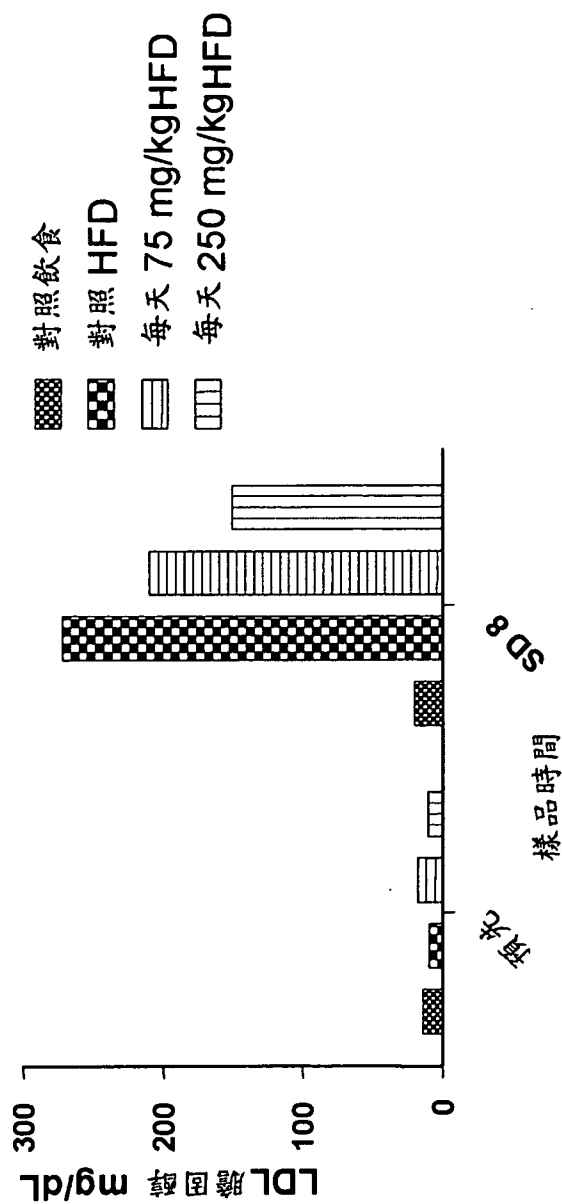


圖3

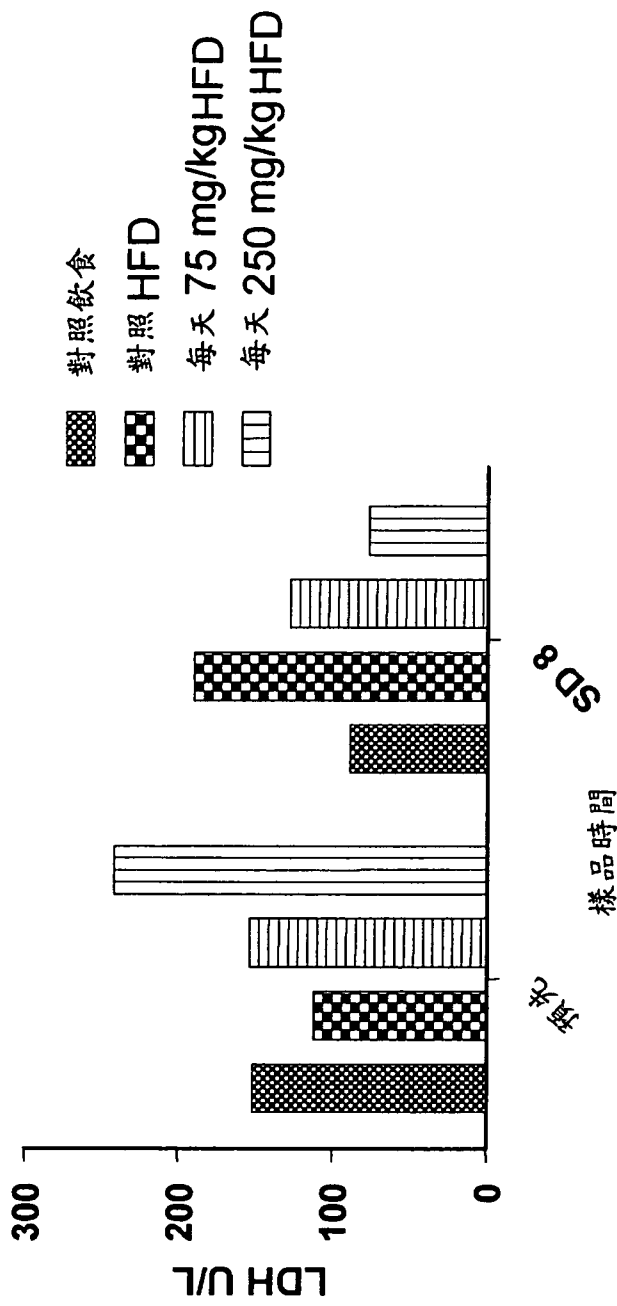


圖4

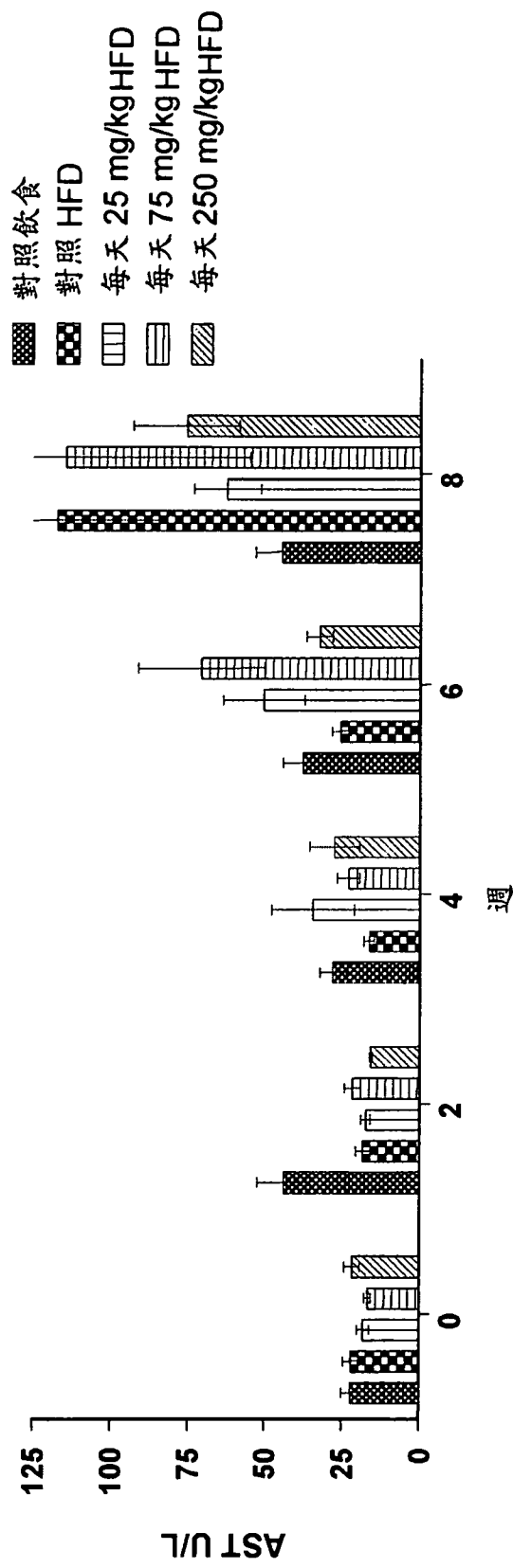


圖5

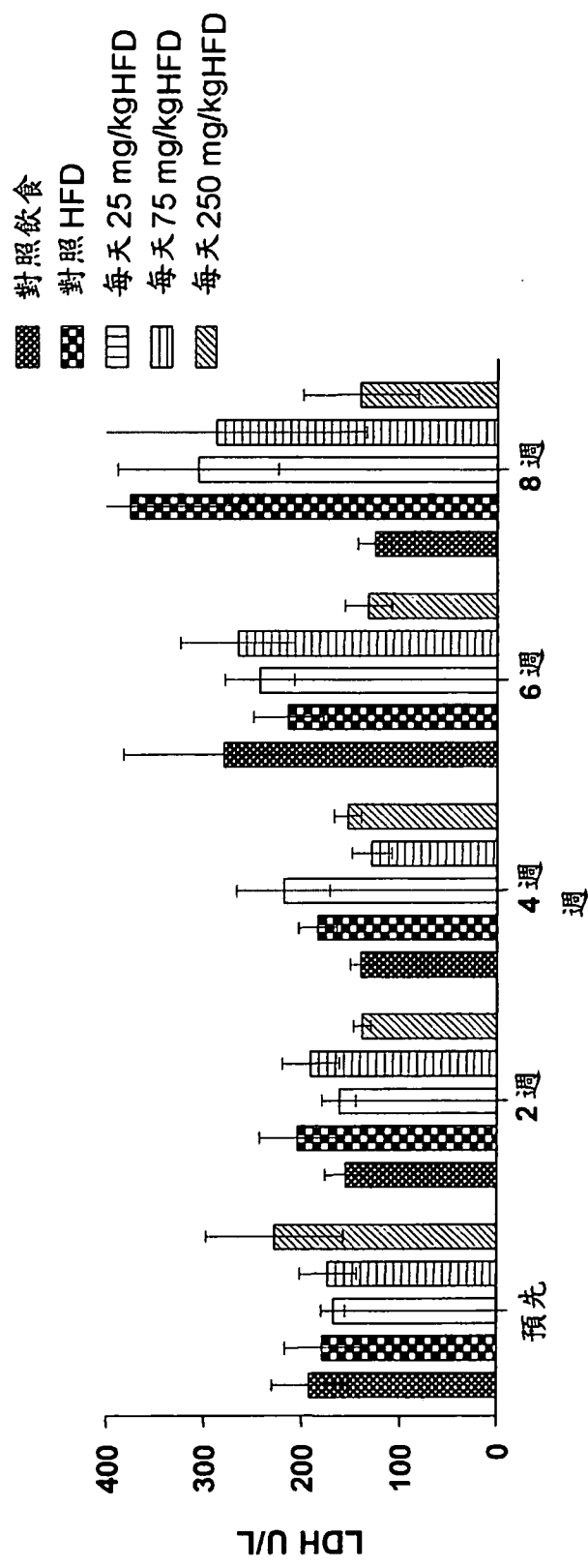


圖6

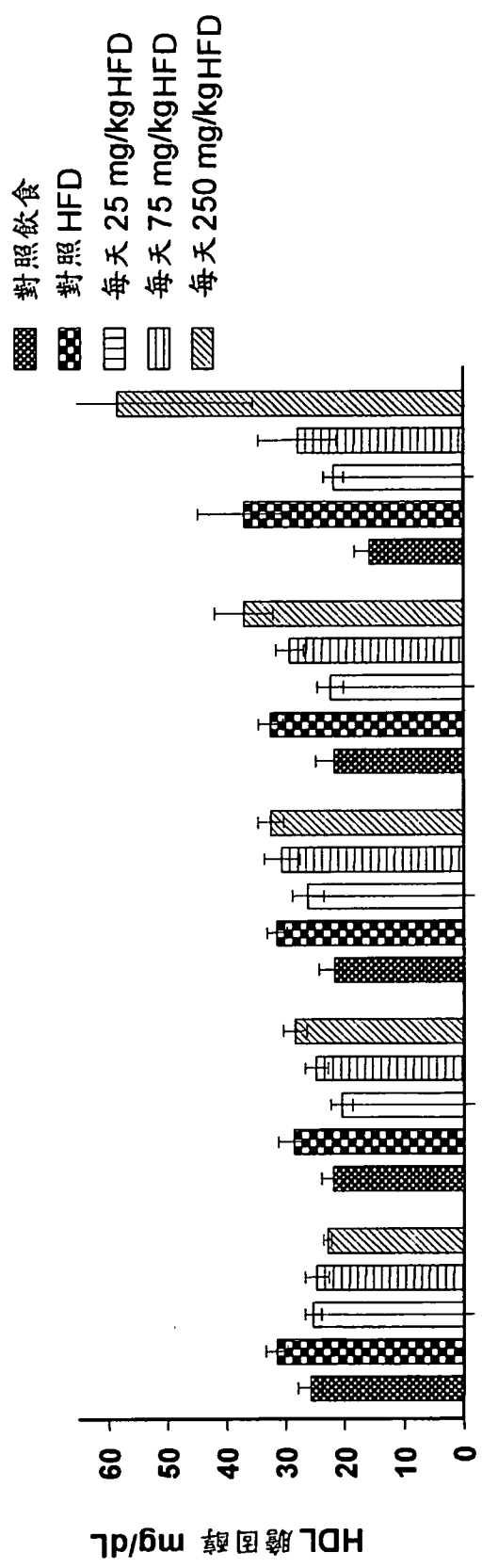


圖7