



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105688215 A

(43) 申请公布日 2016. 06. 22

(21) 申请号 201610030809. 8

代理人 彭鲲鹏 卢蓓

(22) 申请日 2010. 07. 06

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

61/223, 204 2009. 07. 06 US

61/306, 348 2010. 02. 19 US

A61K 45/06(2006. 01)

A61K 31/662(2006. 01)

A61P 9/10(2006. 01)

A61P 9/00(2006. 01)

(62) 分案原申请数据

201080034562. 8 2010. 07. 06

A61P 1/16(2006. 01)

A61P 17/16(2006. 01)

(71) 申请人 普莱制药有限公司

A61P 39/06(2006. 01)

地址 瑞典斯德哥尔摩

(72) 发明人 扬-奥洛夫·卡尔松

罗尔夫·安德森

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

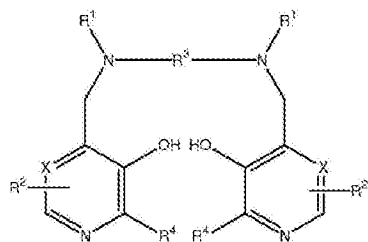
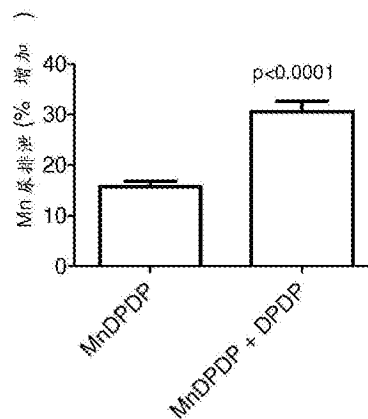
权利要求书1页 说明书16页 附图5页

(54) 发明名称

利用锰配合物化合物与所述化合物之非锰配合物形式的组合的药物组合物 and 治疗方法

(57) 摘要

本发明公开了利用锰配合物化合物与所述化合物之非锰配合物形式的组合的药物组合物 and 治疗方法, 所述药物组合物包含作为第一组分的式 (I) 的锰配合物和作为第二组分的式 (I) 的非锰配合物化合物以及任选的一种或更多种生理学上可接受的载体和 / 或赋形剂, 其中 X、R、R、R 和 R 如本文中所定义。本发明还公开了用于治疗患者病理状况 (例如由于氧衍生自由基的存在而引起的病理状况) 的方法, 包括向所述患者施用所述第一组分和所述第二组分。式



1. 足以减少锰被摄取到患者脑之量的(a)N,N'-双-(吡哆醛-5-磷酸)-乙二胺-N,N'-二乙酸(DPDP)或其盐或其非锰配合物在制备包含N,N'-双-(吡哆醛-5-磷酸)-乙二胺-N,N'-二乙酸锰(MnDPDP)或其盐的药物中的用途,

所述药物用于治疗由超氧化物自由基所造成的且选自以下的病理状况:(i)细胞毒或细胞抑制药物的损伤;(ii)缺血-再灌注引起的损伤;(iii)心肌缺血-再灌注引起的损伤;(iv)与溶栓治疗、心肺分流术或经皮腔内血管成形术相关的损伤;(v)心脏或器官移植手术所致的损伤;(vi)乙酰氨基酚诱导的急性肝衰竭;以及(vii)辐射引起的损伤,

其中(b):(a)的摩尔比为约1:1至1:10,并且(a)以约1至20 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 患者体重的量使用,任选地与一种或更多种生理学上可接受的载体和/或赋形剂一起使用。

2. 权利要求1的用途,其中所述状况是细胞毒或细胞抑制药物的损伤。

3. 权利要求2的用途,其中所述细胞毒或细胞抑制药物是癌症治疗药物。

4. 权利要求2的用途,其中所述细胞毒或细胞抑制药物包括多柔比星、奥沙利铂、5-氟尿嘧啶或紫杉醇中的至少一种。

5. 权利要求1的用途,其中所述状况是缺血-再灌注引起的损伤。

6. 权利要求1的用途,其中所述状况是心肌缺血-再灌注引起的损伤。

7. 权利要求1的用途,其中所述状况是与溶栓治疗、心肺分流术或经皮腔内血管成形术相关的损伤,或者是作为心脏或器官移植手术之结果的损伤。

8. 权利要求1的用途,其中所述状况是乙酰氨基酚诱导的急性肝衰竭。

9. 权利要求1的用途,其中所述状况是辐射引起的损伤。

10. 权利要求1-9中任一项的用途,其中(a)具有 10^8 至 10^{24} 的 K_a 值。

11. 权利要求1-10中任一项的用途,其中(b):(a)的摩尔比为约1:1至1:5。

12. 权利要求1-11中任一项的用途,其中(a)是DPDP、DPDP钙或DPDP镁或者其两者或更多者的组合或其盐。

13. 权利要求1-12中任一项的用途,其中(b)以1至2 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 患者体重的量使用。

14. 权利要求1-13中任一项的用途,其中(a)和(b)配制成用于同时施用。

15. 权利要求1-13中任一项的用途,其中(a)和(b)配制成用于依次施用。

利用锰配合物化合物与所述化合物之非锰配合物形式的组合 的药物组合物和治疗方法

[0001] 本申请是中国专利申请CN201080034562.8的分案申请,原申请是国际申请号PCT/IB2010/053097于2012年2月3日进入中国国家阶段的申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及利用作为第一组分的二吡哆基(dipyridoxyl)化合物的锰配合物(例如MnDPDP(N,N'-双-(吡哆醛-5-磷酸)-乙二胺-N,N'-二乙酸锰)或式I的其它锰配合物(下文称为锰吡哆基乙二胺衍生物或MnPLED衍生物)和作为第二组分的式I的不含锰化合物(下文称为PLED衍生物)(例如DPDP)的组合用作治疗剂的药物组合物和治疗方法。本发明的组合物和方法可用于传统上采用这些锰配合物获得治疗效果的任何治疗方法中。在一个具体的实施方案中,所述组合物可用于治疗由于体内氧衍生自由基的存在(即氧化应激)而引起的病理状况。

背景技术

[0003] 基于双吡哆基的螯合剂和其金属螯合物以及某些含锰化合物(特别是锰螯合物)在医学中的用途是已知的。参见EP0910360、US6147094、EP0936915、US6258828、EP1054670、US6310051、EP1060174和US6391895,例如,这些文献公开了某些螯合剂(特别是基于双吡哆基和氨基聚羧酸的螯合剂及其金属螯合物)可有效治疗或预防人和动物中葱环引起的心脏毒性、辐射引起的毒性、缺血再灌注引起的损伤和动脉粥样硬化,或者从更一般的观点来看,治疗或预防由于氧衍生自由基的存在(即氧化应激)引起的每种病理状况。

[0004] 长期以来,一直认为寿命短暂但是高活性的氧衍生自由基参与病理性组织损伤,尤其是在利用细胞毒素/细胞抑制剂和放疗治疗癌症患者期间(Towart等,Arch Pharmacol 1998;358(Suppl 2):R626,Laurent等,Cancer Res 2005;65:948-956,Karlsson等,Cancer Res 2006;66:598,Alexandre等,J Natl Cancer Inst 2006;98:236-244,Doroshov,J Natl Cancer Inst 2006;98:223-225)、乙酰氨基酚引起的肝衰竭(Bedda等,J Hepatol 2003;39:765-772;Karlsson,J Hepatol 2004;40:872-873)、缺血性心脏病(Cuzzocrea等,Pharmacol Rev 2001;53:135-159)和各种神经退行性疾病,包括阿尔茨海默病、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、帕金森病和多发性硬化症(Knight,Ann Clin Lab Sci.1997;27:11-25)。氧衍生自由基的过量产生还与铁过载的病理状况(Rachmilewitz等,Ann N Y Acad Sci.2005;1054:118-23),例如地中海贫血、镰状细胞贫血和输血性含铁血黄素沉着症(transfusional hemosiderosis)相关。氧衍生自由基还与肝炎引起的肝硬化(Farrell等,Anat Rec 2008;291:684-692)和噪音引起的听力损失(Wong等,Hear Res 2010;260:81-88)相关。

[0005] MnPLED衍生物之一,即N,N'-双-(吡哆醛-5-磷酸)-乙二胺-N,N'-二乙酸锰(二吡哆基二磷酸锰;MnDPDP)被批准用作人的诊断MRI造影剂。令人感兴趣的是,MnDPDP还表明可预防小鼠中几种细胞毒药物/细胞抑制药物(多柔比星、奥沙利铂、5-氟尿嘧啶和紫杉醇)的

严重副作用,而不会对这些药物的抗癌作用产生不利干扰(Towart等,1998,Laurent等,2005,Karlsson等,2006,Alexandre等,2006,Doroshov,2006)。已在正在联用亚叶酸、5-氟尿嘧啶和奥沙利铂(FOLFOX)进行姑息治疗的一名结肠癌患者中测试了MnDPDP(Yri等,Acta Oncol.2009;48:633-635)。获得自该名患者的临床前数据和结果非常具有前景,并因此已在瑞典开始了癌症患者的临床试验。第一个可行性研究已经完成,并且阳性结果已报告给瑞典卫生署(Swedish Medical Agency)。

[0006] MnDPDP还被描述为预防乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝衰竭(ALF)(Bedda等,2003;Karlsson,2004)。ALF的特征在于肝细胞大量死亡,是一种由谷胱甘肽耗竭,氧衍生自由基和线粒体损伤引起的病症。

[0007] MnDPDP是一种前药,在此意义上,它很可能必须在体内条件下代谢成N,N'-二吡哆基乙二胺-N,N'-二乙酸(MnPLED),然后才可发挥细胞保护作用(例如参见Karlsson等,Acta Radiol 2001;42:540-547)。

[0008] 锰是必需的并且是潜在的神经毒性金属。多年来一直认为在长期暴露于高水平锰的条件下,常常发生与帕金森综合征相似的锥体外系功能障碍综合征,尽管临床上它们为不同的疾病(参见Scheuhammer&Cherian,Arch Environm Contam Toxicol 1982;11:515-520)。当将诊断MR成像剂量的MnDPDP静脉内注射给人时,所施用的约80%的锰释放出来(Toft等,Acta Radiol 1997;38:677-689)。事实上,顺磁性锰的释放是MnDPDP的诊断MR成像特性的前提(Wendland,NMR Biomed 2004;17:581-594)。另一方面,MnDPDP和其去磷酸化物MnDPMP(N,N'-二吡哆基乙二胺-N,N'-二乙酸-5-磷酸)和MnPLED的治疗效果取决于完整的金属配合物(Brurok等,Biochem Biophys Res Commun.1999;254:768-721,Karlsson等,2001;42:540-547)。

[0009] PLED衍生物模拟线粒体酶锰超氧化物歧化酶(MnSOD)(Brurok等,1999)。MnSOD保护哺乳动物细胞免受超氧阴离子自由基,该超氧阴离子自由基是氧代谢的副产物,在正常有氧条件下其产量相当高;哺乳类动物的生存离不开功能性MnSOD。MnSOD是任何已知酶中转化数(turnover number)(与其底物的反应速率)最快的酶($>10^9\text{M}^{-1}\text{S}^{-1}$)(Fridovich,J Exp Biol.1998;201:1203-1209)。低分子量的MnSOD拟似物可能具有接近天然MnSOD的转化速率(Cuzzorea等,2001)。令人感兴趣的是,含过渡金属(例如锰)的生理缓冲液可能具有类似高的转化数(Culotta等,Biochim Biophys Acta.2006;1763:747-758)。然而,天然SOD酶的重要性与有利于生物体的选择过程是一致的,所述生物体精密确立了将用于超氧化物歧化的过渡金属催化剂定位于非常需要这种歧化的细胞部分(例如线粒体)的方法。此外,来自麻醉猪的心肌缺血-再灌注的结果必然地表明,完整的MnPLED(但不是锰本身)防止氧化应激,这一点可由梗死面积减小而看出(Karlsson等,2001)。超氧化物的有效失活对于预防极具破坏性的羟基自由基和过氧化亚硝酸盐的生成而言是必不可少的(Cuzzocrea等,2001)。在病理性氧化应激过程中,超氧化物自由基的形成往往超过内源性灭活能力。此外,超氧化物刺激过氧化亚硝酸盐的产生,后者将内源性SOD硝化。一旦硝化后,MnSOD和/或CuZn SOD就失去其酶活性,这是促进超氧化物积聚和超氧化物驱动的伤害的事件(Muscoli等,Br J Pharmacol 2003;140:445-460)。外源性添加MnPLED衍生物可在这种情况下重新构建保护潜力。除了强的铁结合剂之外,PLED衍生物还描述于EP 1054670、US 6310051和Rocklage等(Inorg Chem 1989;28:477-485)中,并且一些MnPLED衍生物可能具有过氧化氢

酶和谷胱甘肽还原酶的活性(Laurent等,2005),这可进一步提高其抗氧化能力。

[0010] 就诊断成像用途和其它零散用途而言,锰从MnDPDP中解离出来不是主要的毒性问题。然而,就更频繁使用而言,例如在治疗方法中,由于被摄入到中枢神经系统内,累积的锰的毒性可能是一个严重的神经毒性问题(Crossgrove和Zheng,NMR Biomed.2004;17:544-53)。因此,就更频繁的治疗使用而言,应避免使用容易解离出锰的化合物。

[0011] 为了使锰从血液分布到脑组织中,其必须跨越血-脑屏障或血-脑脊液屏障。对于脑摄入锰的机制了解甚少。然而,一些参考文献表明锰是作为游离离子(Mn^{2+}/Mn^{3+})或作为柠檬酸锰被摄取的,并且支持锰运输被主动或被动机制所促进这一假说(Rabin等,J Neurochem.1993;61:509-517;Yokel,Environ Health Perspect 2002;110 suppl 5:699-704)。锰还可以被运输到CNS中与转铁蛋白结合。然而,在MnDPDP及其去磷酸化物(还包括其它MnPLED衍生物)的情况下,锰必须可能从其相应的螯合物DPDP、DPMP或PLED(或其它PLED衍生物)中解离出来以进入脑中。

[0012] 用金属螯合剂EDTA治疗大鼠(之前曾多天全身暴露于锰)显著增加了尿中锰的排泄(Scheuhammer和Cherian,1982)。在慢性中毒的焊工中也观察到EDTA对尿锰浓度的类似作用(参见Crossgrove和Zheng,2004)。用氯化锰(II)(50mg/kg体重,腹膜内注射)治疗大鼠,每天一次,治疗1或4天,导致大脑皮层、苍白球和小脑中的锰水平分别增加至高达232%、523%和427%。这些变化与胶质细胞形态发生病理学改变相伴随。与锰螯合剂1,2-环己二胺四乙酸(CDTA)联合治疗能完全阻断该病变(参见Hazel1等,Neurosci Lett.2006;396:167-71),尽管这些作者没有报告CDTA的该作用是否归因于直接抑制锰摄取进入大脑。

[0013] 因此,虽然已知锰配合物化合物在多种治疗中提供治疗作用,但是需要开发获得所述治疗效果并同时降低与所述治疗相关的不期望副作用的方法。

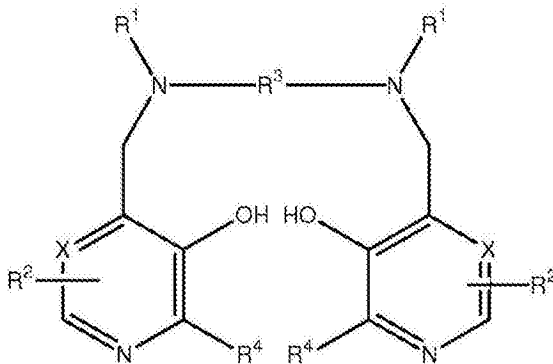
发明内容

[0014] 本发明提供了用于治疗人或非人患者病理状况的改进的药物组合物和治疗方法,并且特别提供了克服了现有技术中多种缺点的所述药物组合物和治疗方法。所述药物组合物和方法可用在本文所定义的式I的锰配合物有效的任何治疗环境中。在一个具体的实施方案中,所述药物组合物和方法可用在治疗由于氧衍生自由基的存在(即氧化应激)而引起的病症的治疗环境中。

[0015] 在一个实施方案中,本发明涉及用于治疗患者病理状况的药物组合物,其包含作为第一化合物的式I的锰配合物和作为第二组分的式I的非锰配合物化合物以及任选的一种或更多种生理学上可接受的载体和/或赋形剂,

[0016] 式I

[0017]



[0018] 其中

[0019] X表示CH或N，

[0020] R¹各自独立地表示氢或-CH₂COR⁵；[0021] R⁵表示羟基、任选羟基化的烷氧基、氨基或烷基酰胺基；[0022] R²各自独立地表示ZYR⁶，其中Z表示键或者任选被R⁷取代的C₁₋₃亚烷基或氧代亚烷基；[0023] Y表示键、氧原子或NR⁶；[0024] R⁶是氢原子、COOR⁸、烷基、烯基、环烷基、芳基或芳烷基，任选被一个或多个选自COOR⁸、CONR⁸₂、NR⁸₂、OR⁸、=NR⁸、=O、OP(O)(OR⁸)R⁷和OSO₃M的基团所取代；R⁷是羟基，任选羟基化、任选烷氧基化的烷基或氨基烷基；[0025] R⁸是氢原子或任选羟基化、任选烷氧基化的烷基；

[0026] M是氢原子或一当量的生理学上可耐受的阳离子；

[0027] R³表示任选被R⁷取代的C₁₋₈亚烷基、1,2-环亚烷基或1,2-亚芳基；以及[0028] R⁴各自独立地表示氢或C₁₋₃烷基。

[0029] 在另一个实施方案中，本发明涉及治疗患者病理状况的方法，所述病理状况包括但不限于由氧衍生自由基的存在而引起的病理状况。所述方法包括向所述患者施用上文所述的例如在本发明药物组合物中的所述第一组分和所述第二组分。

[0030] 本发明的药物组合物和方法具有出乎意料的优点，如本文所公开和证明的。例如，与在不存在所述第二不含锰组分情况下而仅施用所述第一锰配合物化合物所获得的效果相比，所述组合物和方法可增加所排泄锰的量、减少患者中游离锰的量、和/或增加体内产生的治疗性代谢产物的量。通过下文的详细描述，将更充分地理解本发明药物组合物和方法的其它优点和实施方案。

附图说明

[0031] 通过附图将更充分地理解下文的详细描述，其中：

[0032] 图1A和1B显示仅注射MnDPDP或注射MnDPDP和DPDP组合的大鼠的0-24小时尿液中的Mn含量，以μmol/kg体重(图1A)或注射剂量的百分数(图1B)表示；平均值±S.E.M.；每组n=7。

[0033] 图2显示仅注射MnDPDP或注射MnDPDP和DPDP组合的大鼠脑中中的Mn含量，表示为脑Mn/g湿重(w.w.)百分数的增加；平均值±S.E.M.；每组n=4。

[0034] 图3A和3B显示仅注射MnDPDP或注射MnDPDP和DPDP组合的大鼠中的脑Mn含量，表示

为 μg 脑Mn/g w.w.的增加(图3A)或脑Mn百分数的增加(图3B);平均值 \pm S.E.M.;每组 $n=5$,图3C显示仅注射MnDPDP或注射MnDPDP和DPDP的大鼠中的脑Zn含量;平均值 \pm S.E.M.;每组 $n=3$ 。

[0035] 图4A和4B显示增加DPDP剂量时大鼠的0-24小时Zn和Mn排泄的剂量-响应曲线(图4A);平均值 \pm S.E.M. ($n=10$),以及仅注射MnDPDP或注射MnDPDP和DPDP组合的大鼠的0-24小时Zn排泄,表示为 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重(图4B);平均值 \pm S.E.M.;每组 $n=2$ 。

[0036] 图5A-5D显示仅用紫杉醇处理或用MnDPDP \pm DPDP组合处理后的血细胞计数(分别为白细胞计数(WBC)、绝对嗜中性粒细胞计数(ANC)、单核细胞和淋巴细胞);平均值 \pm S.E.M.;每组 $n=3-5$ 。

[0037] 通过实施例将更充分地理解附图。

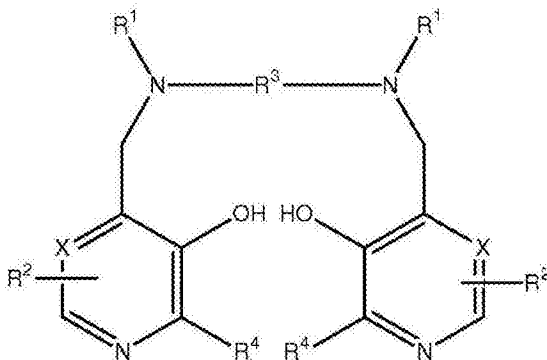
具体实施方式

[0038] 本发明涉及利用作为第一组分的上文所述的式I的锰配合物和作为第二组分的式I的非锰配合物化合物的组合的药物组合物和治疗方法。式I化合物是二吡啶基化合物并且在本文中称为PLED(吡啶基乙二胺)衍生物,但认为所述衍生物还起到PLED前药的作用,因为它们可在体内代谢形成PLED。作为金属配合物形式的这些化合物称为金属PLED衍生物,即MnPLED衍生物和金属PLED螯合物。

[0039] 本发明的药物组合物利用作为第一组分的式I的锰配合物和作为第二组分的式I的非锰配合物化合物:

[0040] 式I

[0041]



[0042] 其中

[0043] X表示CH或N,

[0044] R¹各自独立地表示氢或-CH₂COR⁵;

[0045] R⁵表示羟基、任选羟基化的烷氧基、氨基或烷基酰胺基;

[0046] R²各自独立地表示ZYR⁶,其中Z表示键或者任选被R⁷取代的C₁₋₃亚烷基或氧代亚烷基;

[0047] Y表示键、氧原子或NR⁶;

[0048] R⁶是氢原子、COOR⁸、烷基、烯基、环烷基、芳基或芳烷基,任选被一个或多个选自COOR⁸、CONR⁸₂、NR⁸₂、OR⁸、=NR⁸、=O、OP(O)(OR⁸)R⁷和OSO₃M的基团所取代;R⁷是羟基,任选羟基化、任选烷氧基化的烷基或氨基烷基;

[0049] R⁸是氢原子或任选羟基化、任选烷氧基化的烷基;

[0050] M是氢原子或一当量的生理学上可耐受的阳离子；

[0051] R^8 表示任选被 R^7 取代的 C_{1-8} 亚烷基、1,2-环亚烷基或1,2-亚芳基；以及

[0052] R^4 各自独立地表示氢或 C_{1-3} 烷基。

[0053] 在一个具体的实施方案中， R^5 是羟基、 C_{1-8} 烷氧基、乙二醇、甘油、氨基或 C_{1-8} 烷基酰胺基；Z是键或选自 CH_2 、 $(CH_2)_2$ 、CO、 CH_2CO 、 CH_2CH_2CO 和 CH_2COCH_2 的基团；Y是键； R^6 是单-或聚(羟基或烷氧基)烷基或式 $OP(O)(OR^8)R^7$ ；以及 R^7 是羟基或者未取代的烷基或氨基烷基。在另一个实施方案中， R^3 是亚乙基，并且 R^1 各自表示 $-CH_2COR^5$ ，其中 R^5 是羟基。在又一个实施方案中，所述第一组分是N,N'-双-(吡哆醛-5-磷酸)-乙二胺-N,N'-二乙酸锰或其盐(MnDPDP)，并且所述第二组分是N,N'-双-(吡哆醛-5-磷酸)-乙二胺-N,N'-二乙酸(DPDP)或者其盐或其非锰配合物。在一些更具体的实施方案中，所述第二组分是DPDP、DPDP钙(CaDPDP)或DPDP镁(MgDPDP)，或其两种或更多种的组合。

[0054] 在本发明的另一些实施方案中，所述第一组分的 K_a 值范围为 10^8 至 10^{24} 。在又一个实施方案中，所述第二组分的锌(Zn^{2+})的 K_a 值比相应的 Mn^{2+} 的 K_a 值大至少10倍。

[0055] 所述第一组分和所述第二组分可以以不同的量使用，这将在下文中进一步详细讨论。唯一必需的是，除了含锰化合物之外，还存在不含锰的化合物，即所述非复合衍生物“过剩”。然而，在一个具体的实施方案中，所包含的所述第二组分的量相对于所述第一组分是等摩尔的或者更大。在另一个实施方案中，所包含的所述第二组分的量相对于所述第一组分而言量(以摩尔计)更大。在一个更具体的实施方案中，所包含的所述第一组分和所述第二组分的范围为第一组分：第二组分的摩尔比为约1:1至1:20、1:1至1:10或1:1至1:5。在一个甚至更具体的实施方案中，所包含的所述第一组分和所述第二组分的范围为第一组分：第二组分的摩尔比为约1:2至3:4。在一个具体的实施方案中，例如用于癌症治疗，所述第一组分(例如MnDPDP)的量可为10mM MnDPDP，所述第二组分(例如DPDP)的量可为50mM DPDP，0.2ml/kg将得到的剂量为MnDPDP 2 μ mol/kg体重+DPDP 10 μ mol/kg体重，提供的摩尔比为1:5。在另一些实施方案中，含Mn化合物(例如MnDPDP)的剂量可降低。如果MnDPDP剂量降低，则可使用小于1:5的比例。

[0056] 锰由MnPLED衍生物(包括锰N,N'-双-(吡哆醛-5-磷酸)-乙二胺-N,N'-二乙酸锰(MnDPDP))中的体内释放取决于体内存在的游离或易解离的锌。锌对DPDP或其去磷酸化物的亲和力比锰的高约1000倍(Rocklage等,1989)。实验研究表明，当MnDPDP剂量比5-10 μ mol/kg的诊断成像剂量增加约2至4倍时，体内锰释放达饱和(Southon等,Acta Radiol.1997;38:708-716)。在健康志愿者用MnDPDP对心脏和肝脏成像表明，在人中的饱和剂量为10-20 μ mol/kg(Skjold等,J.Magn.Reson.Imaging 2004;20:948-952,Toft等,1997)。

[0057] 根据本发明发现，出乎意料的是，向MnPLED衍生物治疗(例如MnDPDP治疗)中添加过量的不含锰的PLED衍生物(例如DPDP)能防止MnDPDP释放神经毒性的锰。虽然还不完全理解锰被摄取到脑中的机制，但是如上文所指出的，过量的不含锰的PLED衍生物(例如DPDP)与含锰PLED衍生物(例如MnDPDP)的组合施用显著减少脑对锰的摄取。低分子量的锰螯合物(例如MnPLED衍生物)及其锌对应物将很容易地通过肾脏排泄，其由肾小球滤过率(GFR)决定，而未与低分子量螯合剂结合的锰将在体内保留相当长一段时间且排泄缓慢，并且主要通过胆道排泄(Toft等,1997)。虽然不希望受理论约束，但是认为本发明的组合保持MnPLED

螯合物形式,从而可排泄的螯合物的量增加并且被摄取到脑中的游离Mn的量减少。

[0058] 在根据本发明方法的一个实施方案中,通过组合施用二吡哆基化合物的锰配合物(即所述第一组分)与不含锰的二吡哆基化合物(即所述第二组分),Mn排泄(即尿液中的Mn)增加了至少约100%(参见下文实施例1)。实施例1表明,排泄到尿液中的锰从 $1.41\mu\text{mol}/\text{kg}$ 增加至 $2.73\mu\text{mol}/\text{kg}$,即约100%。然而,在更低的并且可能与治疗更相关的MnDPDP剂量下(最近在癌症患者中完成的瑞典可行性临床研究中使用的剂量为 $2\mu\text{mol}/\text{kg}$),由实施例4可见,预计相对增加要明显更高。在另一些实施方案中,通过组合施用二吡哆基化合物的锰配合物(即所述第一组分)与不含锰的二吡哆基化合物(即所述第二组分),Mn的排泄增加了至少约200%或至少约300%(均基于摩尔计算得到)。在另一些实施方案中,通过组合施用二吡哆基化合物的锰配合物(即所述第一组分)与不含锰的二吡哆基化合物(即所述第二组分),锰的排泄增加了至少约400%或至少约500%(均基于摩尔计算得到)。因此,在一个具体的实施方案中,通过向制剂中加入过量的DPDP或其去磷酸化物,本发明解决了在更频繁使用过程中MnDPDP或其去磷酸化物的神经毒性问题。

[0059] 另一个有利的结果是所述治疗性螯合物形式维持在增高的水平,从而可在所述组合中施用较低剂量的螯合物以获得与单独施用更大剂量螯合剂(即不存在所述不含锰化合物)的情形下相同的治疗效果。

[0060] 当临床剂量的MnPLED衍生物(例如MnDPDP)(即 $5-10\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重,静脉内施用)用作人MRI造影剂时,80%以上的与DPDP结合的锰被锌替代(Toft等,1997)。由于施用的MnDPDP剂量较小,所以解离的锰的百分比将会更大,这将在下文中讨论。MnDPDP在大鼠和狗中以相似的方式起作用(Hustvedt等,Acta Radiol.1997;38:690-699);然而,当将所述化合物施用给猪时,MnDPDP中几乎所有的锰都被锌替代,因此对猪没有细胞保护作用(Karlsson等,2001)。对于用作MRI造影剂而言,锰的替代是先决条件并因此是所希望的,如上文所述。然而,完整的锰配合物MnPLED衍生物(例如MnDPDP)及其去磷酸化物是获得治疗效果所必需的,例如,对抗各种形式的氧化应激(Brurok等,1999;Karlsson等,2001)。例如,尽管体内施用MnDPDP可保护免受各种氧化应激,例如缺血-再灌注、细胞毒性药物/细胞抑制药物和乙酰氨基酚中毒,但它不保护猪心脏免受缺血-再灌注引起的心肌梗死(Karlsson等,2001),从中可得出结论,MnDPDP的体内细胞保护作用是完整的锰配合物的固有特性。

[0061] 因此,根据本发明添加不含锰配合物化合物(例如DPDP)以稳定锰化合物(例如MnDPDP)或其去磷酸化物防止锰释放提供了另一个重要的优点,即提高疗效。例如,当静脉内注射临床相关成像剂量的MnDPDP($5-10\mu\text{mol}/\text{kg}$)时,超过80%的最初与DPDP结合的锰被释放出来,有利于成像效果。因此,低于20%的锰仍然与DPDP或其去磷酸化物结合,有利于MnDPDP的治疗活性。根据本发明,如实施例1所示,当通过向所施用的MnDPDP中添加DPDP使从配合物中释放出来的锰的量从85%降低至70%时,约30%注射剂量的MnDPDP将有利于治疗活性,从而使可获得治疗效果的Mn-螯合物的量加倍。在锰的释放主要由所添加的DPDP决定的情况下,这意味着,在存在所添加的DPDP的情况下,为了获得相等的治疗效果MnDPDP的剂量可减少50%。然而,如下文所讨论的,在某些实施方案中,在更低的并且治疗更相关的MnDPDP剂量下,所添加的DPDP的效果甚至会更加突出。反过来,这意味着向MnDPDP中添加DPDP将对MnDPDP的毒理潜力具有显著的影响。

[0062] 锌存在于所有机体组织和体液中。据估计,人体总锌含量为2-3g(Folin等,

BioMetals 1994;7:75-79)。血浆锌占机体总锌含量的约0.1%，并且施用后主要是这一小部分锌与锰竞争结合DPDP或其去磷酸化物DPMP和PLED。人体具有通过胃肠道吸收和排泄的协同调节来维持锌的动态平衡的非常高的能力(King等, J Nutr 2000;130:1360S-1366S)。因此,反复注射含过量DPDP的临床相关剂量的MnDPDP而引起缺锌的风险并不存在或者风险非常低。在具有任何缺锌倾向的情况下,该问题可通过在施用MnDPDP之间的膳食补锌而容易地解决。

[0063] 由临床前工作(Southon等,1997)和临床工作(Skjold等,2004)可见,推测体内含有10-20 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重(b.w.)的易于与MnPLED衍生物(例如MnDPDP)中的锰交换的锌是合理的。这实际上与血浆锌含量是一致的(见上文)。PLED衍生物(例如DPDP)每分子含有一个锰/锌结合位点。因此,鉴于对锌的亲合力比对所述螯合剂的高1000倍,在本发明的一个实施方案中,向MnPLED衍生物制剂(例如MnDPDP制剂)中添加剂量为1-100 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重的不含锰的化合物(例如DPDP)将防止患者施用后释放锰。

[0064] 临床前工作表明,MnDPDP静脉内施用的剂量范围为1-30 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重时降低多柔比星诱导的小鼠心肌病和猪心肌梗死(参见EP 0910360、US 6147094、EP 0936915、US 6258828、Karlsson等,2001年;Towart等,1998)。其它MnPLED衍生物在不同剂量水平时显示出效力,并且比上述剂量区间低10-100倍的剂量落在本发明的药物组合物和方法的范围内(EP 0910360、US 6147094)。考虑到物种间的差异、各种MnPLED衍生物之间效力的差异,体表和不同施用途径的差异,当施用给患者时,根据本发明的一个具体实施方案的第一组分的合适剂量范围将为约0.01-10 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重,并且根据本发明的一个具体实施方案的第二组分的合适剂量范围将为约1-100 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重。在一个更具体的实施方案中,所述第二组分以相对于所述第一组分等摩尔或更大的量施用,并且范围为约1-20 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重。在又一个具体的实施方案中,所述第一组分以约1-2 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重的量施用。

[0065] 所述药物组合物可以是包含所述第一组分(即所述Mn-PLED衍生物)和所述第二组分(即所述PLED衍生物)的即用型制剂,或者所述药物组合物可包含分开的但存在于组合施用的相关包装中的所述第一组分和所述第二组分。在这方面,所述第一组分和所述第二组分可组合或单独、同时或依次施用。

[0066] 任选地,本发明的药物组合物可包含一种或更多种生理学上可接受的载体和/或赋形剂,其形式为本领域技术人员众所周知的。在一个实施方案中,式I化合物可例如混悬或溶在任选地添加有药学上可接受的赋形剂的含水介质中。适用于所述药物组合物的赋形剂包括任何常规药用或兽用制剂赋形剂,包括但不限于稳定剂、抗氧化剂、渗透压调节剂、缓冲剂、pH调节剂、粘合剂、填充剂等。所述药物组合物可以是适于施用的形式,包括但不限于胃肠外或肠内施用。在一个具体的实施方案中,所述组合物是适于例如注射或输注的形式。因此,本发明的药物组合物可以是常规的药物施用形式,例如片剂、胶囊剂、粉末、溶液剂、混悬剂、分散体、糖浆剂、栓剂等。

[0067] 本发明的药物组合可以多种途径施用,例如口服、经皮、直肠、鞘内(intrathecally)、表面(topically)或通过吸入或注射的方式,特别是皮下、肌内、腹膜内或血管内注射。也可采用其它施用途径,包括鼓室内,并且提高产品疗效、生物利用度或耐受性的途径是优选的。可根据所用的具体制剂由本领域技术人员选择最合适的途径。

[0068] 如上文所述,可施用所述组合物用于患者病理状况的治疗性处理,特别是在其中

已知使用Mn配合物的任何方法中。在一个具体实施方案中,可施用所述组合物用于人患者或其他哺乳动物中病理状况的治疗性处理。在另一个具体实施方案中,施用本发明的组合物用于治疗由于氧衍生自由基的存在(即氧化应激)引起的病理状况。在一个实施方案中,所述药物组合物用在细胞毒或细胞抑制药物的治疗中,其中施用MnPLED衍生物以提供免受细胞毒素/细胞抑制药物的不利副作用(例如在癌症患者中)。在一个更具体的实施方案中,所述细胞毒或细胞抑制药物包括多柔比星、奥沙利铂、5-氟尿嘧啶或紫杉醇中的至少一种。本发明的方法还可包括但不限于对以下疾病的治疗:乙酰氨基酚诱导的肝衰竭,缺血性心脏病(包括在急性和选择性情况下的缺血-再灌注引起的损伤或心肌缺血-再灌注引起的损伤),与溶栓治疗相关的病症,心肺分流术(cardiopulmonary bypass),或经皮腔内血管成形术,或者是心脏或器官移植手术的结果,铁过载(例如地中海贫血、镰状细胞贫血或输血性含铁血黄素沉着症),肝炎引起的肝硬化,辐射诱导的损伤(例如由放射治疗引起的损伤),各种神经退行性疾病,包括阿尔茨海默病、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、帕金森病和多发性硬化症等。

[0069] 通过下文的实施例举例说明本发明的药物组合物和治疗方法方面的各个实施方案。

[0070] 实施例1

[0071] 本实施例测量仅接受MnDPDP的动物和接受MnDPDP和DPDP的动物的尿液中Mn排泄。

[0072] 方法

[0073] 经尾静脉之一给14只雄性Wistar大鼠(约250g)静脉内注射0.25ml 10mM的MnDPDP制剂(Teslascan™, 锰福地吡(mangafodipir), GE医疗集团)。这些大鼠中7只仅接受MnDPDP(MnDPDP),而其它7只除了接受MnDPDP之外还接受0.5ml 10mM的DPDP制剂(MnDPDP+DPDP)。注射后,立即将大鼠置于代谢笼中,收集0-24小时时间段内的尿液。为了获得尿液中锰(Mn)的基础含量,将另外两只(对照)大鼠置于代谢笼中收集相同时间段内的尿液。然后将尿液样品储存在-80℃直到进行Mn分析。分析之前,将样品解冻,用力摇动以获得均匀样品。从每个样品中取出5毫升的等分样,加入5毫升浓硝酸。然后将样品于微波炉中溶解,随后用蒸馏水稀释至终体积为50ml。通过ICP-MS(电感耦合等离子体质谱)分析每个样品的锰含量。抽取与注射给大鼠的相同的该MnDPDP样品(即0.5ml)并注射到试管中。以与尿样相同的方式处理该样品并分析其锰含量。结果以0-24小时尿液中总锰含量(表示为 $\mu\text{mol}/\text{kg} \pm \text{S.E.M.}$)和注射剂量的百分数($\pm \text{S.E.M.}$)表示。就锰排泄到尿液中而言,用未配对t检验检验了仅接受MnDPDP的动物与接受MnDPDP和DPDP的动物之间的统计学差异。小于0.05的p值被视为有统计学显著性差异。

[0074] 结果

[0075] 结果如图1A和1B所示。0.25ml MnDPDP样品(与注射的MnDPDP剂量相等)含有 $2.24 \mu\text{mol Mn}$,相当于250g大鼠的剂量为 $8.96 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重。2只对照大鼠的0-24小时尿液分别含有 0.49×10^{-5} 和 $0.357 \mu\text{mol (Mn)}/\text{kg}$ 体重(平均值= $0.426 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重)。仅注射MnDPDP的大鼠的0-24小时尿液最小基础水平($0.426 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重)含有 $1.41 \pm 0.10 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重,而注射MnDPDP和DPDP的大鼠的尿液含有显著更高量的Mn,为 $2.73 \pm 0.18 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重(图1A)。这些值相当于0-24h尿液中排泄 $15.7 \pm 1.1\%$ 和 $30.5 \pm 2.0\%$ (图1B)。因此,加入DPDP使尿液中Mn排泄加倍。静脉内注射单独的MnDPDP后0-24小时尿液中排泄的Mn百分数与之前报道的大鼠

(Hustvedt等,Acta Radiol 1997;38:690-699)和人(Toft等,1997)中的数据非常一致。本发明的结果表明,加入DPDP使MnDPDP在体内条件下稳定而避免释放Mn。这提供了几个显著的优点,因为能被脑摄入的游离Mn的量降低并且由于体内存在更多的治疗性MnDPDP而使MnDPDP的治疗指数提高。因此,本发明的组合物和方法使MnPLED衍生物治疗的毒性大大降低。

[0076] 实施例1表明,加入DPDP使Mn排泄从约15%(施用剂量 $10\mu\text{mol/kg}$ 体重MnDPDP)增加至约30%,相当于增加了约100%。在较低MnDPDP剂量(例如 $2\mu\text{mol/kg}$ 体重)下,预计相对增加大大提高,因为预计在不存在DPDP的情形下更大百分数的Mn被置换。也就是说,静脉内施用剂量为 $10\mu\text{mol/kg}$ 体重时,约80%的与DPDP结合的锰被锌置换(Toft等,1997)。当施用更小剂量(例如 $1-2\mu\text{mol/kg}$ 体重)的MnDPDP时,解离的锰的百分数甚至更大,因为在这样的低剂量下血浆锌以相对高的足以“置换”几乎所有与DPDP结合的Mn的浓度存在。该解离如下所示:



[0078] 因此,预计加入DPDP所获得的Mn排泄的相对增加远高于100%。在较低MnDPDP剂量下过剩DPDP的这种增强作用实际上是显著和出乎意料的。该有益作用同样可通过其它MnPLED衍生物与PLED衍生物的组合来实现。

[0079] 实施例2

[0080] 本实施例测量仅接受MnDPDP的动物和接受MnDPDP和DPDP的动物的脑中Mn含量。

[0081] 方法

[0082] 经尾静脉之一给8只雄性Wistar大鼠(约250g)静脉内注射 $0.25\text{ml } 10\text{mM}$ 的MnDPDP制剂(Teslascan™)。这些大鼠中4只仅接受MnDPDP(MnDPDP),而其它4只除了接受MnDPDP之外还接受 $0.5\text{ml } 10\text{mM}$ 的DPDP制剂(MnDPDP+DPDP)。为了获得大鼠脑中锰(Mn)的基础含量,将另外两只(对照)大鼠作为平行对照。24小时后,处死大鼠,剥离出脑并储存在 -80°C 直到Mn分析。分析之前,将每个脑于微波炉中溶解在 5ml 浓硝酸加 3ml 蒸馏水中,其后用蒸馏水稀释至最终体积为 50ml 。通过ICP-MS分析了每个样品的Mn含量。结果以 $\mu\text{g/g}$ 脑湿重和脑Mn含量增加百分数来表示。

[0083] 结果

[0084] 结果如图2所示。2只对照大鼠脑Mn含量分别为 0.40 和 $0.39\mu\text{g/g}$ 脑湿重。接受未补充DPDP的MnDPDP的大鼠脑中Mn含量增加了25.0%,而接受补充DPDP的MnDPDP的大鼠脑中Mn含量增加了16.9%(图2)。本发明提供的脑中Mn摄取的降低是显著和出乎意料的。

[0085] 实施例3

[0086] 本实施例测量仅接受MnDPDP的动物和接受MnDPDP和DPDP的动物的脑中Mn和Zn含量。

[0087] 方法

[0088] 给10只雄性Wistar大鼠(约250g)腹膜内注射(i.p.) $0.25\text{ml } 10\text{mM}$ 的MnDPDP制剂(Teslascan™)。这些大鼠中5只仅接受MnDPDP(MnDPDP),而其它5只除了接受MnDPDP之外还

接受0.5ml 10mM的DPDP制剂(MnDPDP+DPDP)。为了获得大鼠脑中锰(Mn)的基础含量,将实施例2中所述实验中的另外两只(对照)大鼠作为平行对照。24小时后,处死大鼠,剥离出脑并储存在-80℃直到Mn分析。还分析了3只仅接受MnDPDP的大鼠和3只接受MnDPDP+DPDP的大鼠脑中Zn含量。分析之前,将每个脑于微波炉中溶解在5ml浓硝酸加3ml蒸馏水中,其后用蒸馏水稀释至最终体积为50ml。通过ICP-MS分析了每个样品的Mn和Zn含量。结果以 $\mu\text{g/g}$ 脑湿重 \pm S.E.M和脑Mn含量增加百分数表示。就脑中Mn含量而言,用未配对的t检验检验了仅接受MnDPDP的动物与接受MnDPDP+DPDP的动物之间的统计学差异。小于0.05的p值被视为有统计学显著性差异。

[0089] 结果

[0090] 结果如图3A-3C所示。2只对照大鼠脑中Mn含量分别为0.40和0.39 $\mu\text{g/g}$ 湿重(w.w.), (由实施例2可见)。仅接受MnDPDP的大鼠脑中Mn含量增加了 $0.094 \pm 0.024 \mu\text{g/g}$ w.w., 而接受补充DPDP的MnDPDP的大鼠脑中Mn含量仅增加了 $0.022 \pm 0.01 \mu\text{g/g}$ w.w. (图3A), 相当于分别增加了23.5%和5.5% (图3B)。仅接受MnDPDP的大鼠和接受MnDPDP+DPDP的大鼠脑中Zn含量是相同的(图3C)。本发明的结果表明, 另外添加过量的DPDP使脑摄取的Mn减少了75%以上。

[0091] 实施例4

[0092] 本实施例测量接受剂量增加的DPDP的动物和仅接受MnDPDP或接受MnDPDP与DPDP组合的动物尿液中排泄的Mn和Zn。

[0093] 方法

[0094] 经尾静脉之一给10只雄性Wistar大鼠(约250g)静脉内注射0、0.125、0.250、0.500或0.750ml 10mM的DPDP制剂(Teslascan™), 相当于0、5、10、20和30 $\mu\text{mol/kg}$ 体重。另外4只大鼠静脉内仅接受0.250ml MnDPDP(10mM, 相当于10 $\mu\text{mol/kg}$)或接受0.250ml MnDPDP与0.500ml DPDP(10mM, 相当于20 $\mu\text{mol/kg}$ 体重)。注射后, 立即将大鼠置于代谢笼中, 收集0-24小时时段内的尿液。然后将尿液样品储存在-80℃直到进行Zn和Mn分析。分析之前, 将样品解冻, 强烈摇动以获得均匀样品。从每个样品中取出5毫升等分试样, 加入5毫升浓硝酸。然后将样品于微波炉中溶解, 其后用蒸馏水稀释至终体积为50ml。通过ICP-MS分析了每个样品的锌(Zn)和锰Mn含量。结果以0-24小时尿液中总Zn和Mn含量表示(表示为 $\mu\text{mol/kg}$ 体重 \pm S.E.M.)。

[0095] 结果

[0096] 结果如图4A和4B所示。接受0 $\mu\text{mol/kg}$ 体重的2只大鼠的Zn的24小时基础排泄分别为0.852和0.771 $\mu\text{mol/kg}$ 体重。10 $\mu\text{mol/kg}$ 体重DPDP剂量时0-24小时的Zn排泄大致在约4 $\mu\text{mol/kg}$ Zn处饱和(图4A)。增加DPDP剂量仅对Mn排泄产生微小影响(图4A)。与仅接受MnDPDP的2只大鼠相比较, 接受MnDPDP+DPDP的2只大鼠的Zn排泄显著增加。考虑到Zn对DPDP的亲合力是Mn的大约1000倍以及在大鼠(Hustvedt等, Acta Radiol 1997)和人(Toft等, 1997)中的研究, 使Zn排泄饱和和所需的DPDP的量出乎意料的低。此外, 单独的10 $\mu\text{mol/kg}$ 体重的MnDPDP对Zn排泄的作用相对较小也是一个出乎意料的发现。然而, 由图4A和4B明显可见, 单独的DPDP或其与MnDPDP的组合能显著增加Zn排泄, 即, 向MnDPDP中加入DPDP(相当于约10 $\mu\text{mol/kg}$ 体重)加入使其在体内条件下稳定而不释放Mn。

[0097] 从人(Toft等, 1997)和大鼠(Hustvedt等, 1997)中的研究均众所周知的事实是: 静

脉内施用剂量水平为 $10\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重的MnDPDP后仅20%或更少的来自螯合物的锰从尿液中排泄出来。还已知所述螯合物(主要是在去磷酸化为PLED后)通过肾脏排泄被迅速并基本上完全从体内消除(通过在大鼠和狗中以 ^{14}C 标记的DPDP显示,Hustvedt等,1997),其血浆清除率与GFR相近。此外,认为主要是血浆锌控制所谓的金属转移过程(Toft等,1997),在此情形下锰与锌交换。理想地,人们会因此预计接近80%的给定剂量的MnDPDP(基于 $10\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重的剂量水平而言约 $8\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重)将以锌代谢产物的形式(主要为ZnPLED)从尿液中排出。然而,如实施例4所示,施用 $10\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重的MnDPDP后高达24小时的尿液中锌的量仅相当于约 $2\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重,即,远低于80%的锌以锌代谢产物从尿液排出。Toft与合作者(Toft等,1997中的图8)提出的人药代动力学数据的粗略重新计算表明,施用 $10\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重后人的肾脏锌排泄的略高但同样为较小的数值(约 $3\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重),即来自母体物质MnDPDP的约一半螯合物必须以未知的非锌形式通过肾脏排泄而排出体外。Toft等未讨论所述“缺失”形式,但是通过血浆中游离或松散结合的锌的生物利用度有限解释了下述这一事实:当剂量从 $5\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重增加至 $10\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重时,相对较少的锌和相对较多的锰通过肾脏排泄。应当强调的是,体内条件下的金属转移可能是一个复杂的过程,其中可能涉及锌和锰与低和高分子量螯合物之间的几个平衡(Toft等,1997)。然而,考虑到锌对DPDP或其代谢产物PLED的亲和力高1000倍以上以及大多数锰(超过80%的 $10\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重的剂量的MnDPDP)从螯合物中解离出来这一事实,图4B中所示的实施例4中的本发明结果即施用 $10\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重的DPDP与相同剂量的MnDPDP相比使锌排泄加倍是未预料到的结果。

[0098] 体外ESR实验(Schmidt等,J Biol Inorg Chem 2007;7:241-248)可表明所述“缺失”形式是CaPLED以及较少程度是MgPLED。Schmidt等还报道DPDP和钙之间的稳定常数为约109,并且从该论文可间接得出结论:镁与DPDP之间的相应稳定常数稍小。在所述缺失形式是CaPLED和MgPLED的情形下,可以考虑以Ca/MgDPDP的形式将部分或全部的过量DPDP加入到所述组合中。这种做法可潜在地避免高剂量快速施用后钙和镁的急性耗竭,这可能会增加例如心血管安全性。此外,与单独的DPDP相比,很难看出所加的Ca/MgDPDP将如何对MnDPDP稳定性产生任何重大负面影响。然而,仍需要证明施用MnDPDP后CaPLED和MgPLED实际上是否通过肾脏排泄。所述缺失形式的另一个候选形式可以是铁结合形式,因为铁对DPDP和PLED均具有非常高的亲和力。然而,据报道重复剂量毒性后对大鼠、狗或猴子的血红蛋白均无影响(Larsen和Grant,Acta Radiol 1997;38:770-779),这间接否决了该候选形式。

[0099] 实施例5

[0100] 本实施例测试MnDPDP和DPDP的组合与细胞毒性药物(紫杉醇)相组合的疗效。

[0101] 方法

[0102] 为了测试所述疗效,用BALB/c雌性小鼠(15-20g)进行了初步实验,如Alexandre等,JNCI 2006;98:236-244所述。简而言之,小鼠腹膜内注射单独的载体(PBS;第1组)、单独的紫杉醇(第2组)、单独的MnDPDP(Teslascan™)或其与过量DPDP的组合(第3-5组),如下文所述:

[0103] 1. PBS(对照)

[0104] 2. 紫杉醇(20mg/kg体重)

[0105] 3. 紫杉醇(20mg/kg体重)+MnDPDP(1mg/kg体重)

[0106] 4. 紫杉醇(20mg/kg体重)+MnDPDP(1mg/kg体重)+DPDP(10mg/kg体重)

[0107] 5. 紫杉醇(20mg/kg体重)+MnDPDP(5mg/kg体重)

[0108] 每组处理5只小鼠。第0、2和4天施用紫杉醇。在第0、2、4和7天,给小鼠施用MnDPDP+DPDP。第一次注射后10天将小鼠麻醉,通过心脏穿刺将血样抽到EDTA管中,将血样1:1稀释后,在CELL-DYN Sapphire分析仪上进行血细胞计数(包括白细胞计数(WBC);绝对中性粒细胞(ANC)、单核细胞和淋巴细胞计数)。一些样品因为凝血不得不被丢弃,但是所有组均包括至少3只动物的血液。

[0109] 结果

[0110] 结果如图5A-5D所示。紫杉醇使多种白细胞减少几乎50%,1mg/kg体重MnDPDP(相当于约1.5 μ mol/kg体重)与10mg/kg体重DPDP的组合就恢复多种白细胞而言似乎与单独施用5mg/kg体重MnDPDP的效果相同(图5A)。本发明的结果表明,过量DPDP(在约15 μ mol/kg体重的情形下)使MnDPDP出乎意料地有效。

[0111] 骨髓抑制(尤其是白细胞减少)是利用细胞抑制药物/细胞毒药物(其中包括紫杉醇)治疗癌症过程中常见的严重不良反应和剂量限制事件。Alexander等(2006)最近表明,10mg/kg体重MnDPDP(Teslascan™)有效保护小鼠免受紫杉醇诱导的白细胞减少。利用与Alexander等相同的骨髓抑制小鼠模型,实施例5显示1mg/kg体重MnDPDP(相当于约1.5 μ mol/kg体重)与10mg/kg体重DPDP(相当于约15 μ mol/kg体重)的组合与单独施用5mg/kg体重MnDPDP的效果相同。重要的是,MnDPDP的这种提高的疗效适用于其中MnDPDP或其代谢产物MnPLED可显示疗效的每种适应症,例如除紫杉醇之外的细胞抑制药物/细胞毒药物治疗、放射治疗和急性心肌缺血-再灌注损伤等。

[0112] 总之,本发明表明加入相对少量的DPDP如何使MnDPDP治疗更有效得多并且神经毒性更少。所需的DPDP量(相当于约10 μ mol/kg体重的剂量)与所记载的5-10 μ mol/kg体重MnDPDP的成像剂量更加相关。因此,在提高疗效和减少神经毒性方面,所述改进的组合物可看作是含有不足量金属的金属-螯合物配合物。

[0113] 由实施例1可得出结论,在10 μ mol/kg体重的剂量水平下,加入DPDP使MnDPDP/MnPLED的体内稳定性加倍。然而,本发明的实施例和上文围绕锌驱动的MnDPDP/MnPLED金属转移的讨论提示MnDPDP的体内不稳定性与MnDPDP的剂量相互关联,即在较低剂量水平下相对更多的锰将被锌替代。因此,得出的结论是所添加的过量DPDP使MnDPDP比实施例1所表明的要有效得多。正如其它地方已经指出的,MnDPDP很可能必须代谢成MnPLED才可以发挥细胞保护作用。之前的数据(例如,Karlsson等,2001;EP 0910360;US 6147094)已经证明MnPLED要比MnDPDP有效得多,甚至在考虑代谢校正之后也是如此,预计约1/3的MnDPDP被代谢成MnPLED,如Toft等,1997所表明的。这种预计是由10 μ mol/kg体重MnDPDP的剂量水平下的药代动力学数据做出的。另一方面,在较低剂量水平下,足够的锌将很可能或多或少地与锰进行完全交换,导致MnPLED非常少或没有。这可以反过来解释为什么所添加的过量DPDP使MnDPDP的疗效增加比实施例1所表明的要高得多。

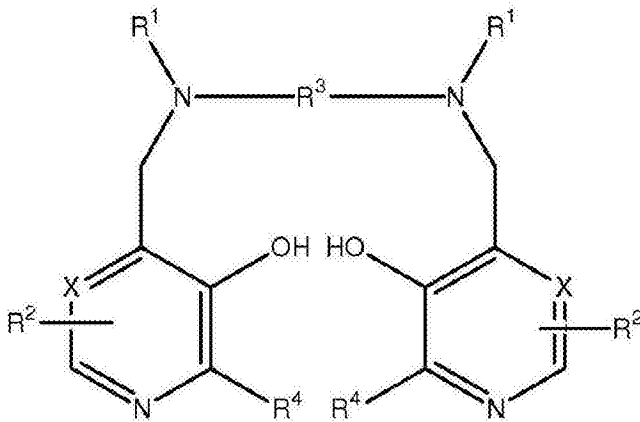
[0114] 本文所述的实施例和具体实施方案本质上仅仅是示例性的,并且不应当视为限制下文权利要求中定义的本发明范围。通过本发明的公开内容,本发明的其它具体实施方案和优点将变得显而易见,并且落在要求保护的本发明范围之内。

[0115] 以下部分对应于母案申请的权利要求书:

[0116] 1. 一种用于治疗患者病理状况的药物组合物, 其包含作为第一组分的式I的锰配合物和作为第二组分的式I的非锰配合物化合物以及任选的一种或更多种生理学上可接受的载体和/或赋形剂,

[0117] 式I

[0118]



[0119] 其中

[0120] X表示CH或N,

[0121] R¹各自独立地表示氢或-CH₂COR⁵;

[0122] R⁵表示羟基、任选羟基化的烷氧基、氨基或烷基酰胺基;

[0123] R²各自独立地表示Z⁶YR⁶, 其中Z表示键或者任选被R⁷取代的C₁₋₃亚烷基或氧代亚烷基;

[0124] Y表示键、氧原子或NR⁶;

[0125] R⁶是氢原子、COOR⁸、烷基、烯基、环烷基、芳基或芳烷基, 任选被一个或更多个选自COOR⁸、CONR⁸₂、NR⁸₂、OR⁸、=NR⁸、=O、OP(O)(OR⁸)R⁷和OSO₃M的基团所取代; R⁷是羟基, 任选羟基化、任选烷氧基化的烷基或氨基烷基;

[0126] R⁸是氢原子或任选羟基化、任选烷氧基化的烷基;

[0127] M是氢原子或一当量的生理学上可耐受的阳离子;

[0128] R⁸表示任选被R⁷取代的C₁₋₈亚烷基、1,2-环亚烷基或1,2-亚芳基; 以及

[0129] R⁴各自独立地表示氢或C₁₋₃烷基。

[0130] 2. 项1所述的药物组合物, 其中R⁵是羟基、C₁₋₈烷氧基、乙二醇、甘油、氨基或C₁₋₈烷基酰胺基; Z是键或选自CH₂、(CH₂)₂、CO、CH₂CO、CH₂CH₂CO和CH₂COCH₂的基团; Y是键; R⁶是单-或聚(羟基或烷氧基)烷基或式OP(O)(OR⁸)R⁷; 以及R⁷是羟基或未取代的烷基或氨基烷基。

[0131] 3. 项1或2所述的药物组合物, 其中R³是亚乙基, 并且R¹各自表示-CH₂COR⁵, 其中R⁵是羟基。

[0132] 4. 项1至3中任一项所述的药物组合物, 其中所述第一组分的K_a值范围为10⁸-10²⁴。

[0133] 5. 项1至4中任一项所述的药物组合物, 其中所述第二组分的锌(Zn²⁺)的K_a值比相应的Mn²⁺的K_a值大至少10倍。

[0134] 6. 项1至5中任一项所述的药物组合物, 其中所述第二组分以相对于所述第一组分的等摩尔或更大的量施用。

[0135] 7. 项1至5中任一项所述的药物组合物, 其中所包含的所述第一组分与所述第二组分的范围为第一组分: 第二组分的摩尔比为约1:1至1:20、1:1至1:10或1:1至1:5。

[0136] 8. 项1至5中任一项所述的药物组合物,其中所包含的所述第一组分与所述第二组分的范围为第一组分:第二组分的摩尔比为约1:2至3:4。

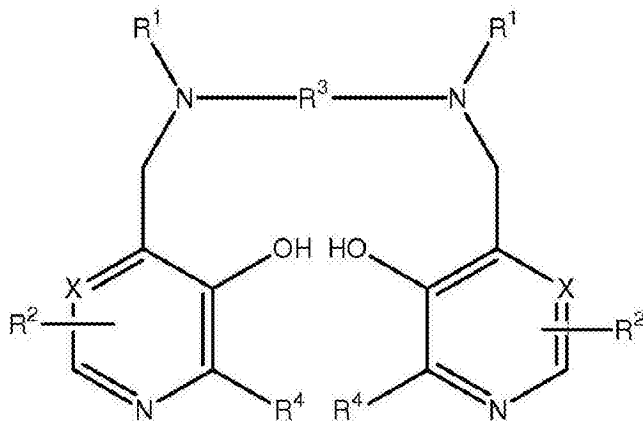
[0137] 9. 项1至8中任一项所述的药物组合物,其中所述第一组分是N,N'-双-(吡哆醛-5-磷酸)-乙二胺-N,N'-二乙酸锰或其盐(MnDPDP),并且所述第二组分是N,N'-双-(吡哆醛-5-磷酸)-乙二胺-N,N'-二乙酸(DPDP)或其盐或其非锰配合物。

[0138] 10. 项9所述的药物组合物,其中所述第二组分是DPDP、DPDP钙或DPDP镁,或者其两种或更多种的组合。

[0139] 11. 一种治疗患者病理状况的方法,包括向所述患者施用第一组分的式I的锰配合物和作为第二组分的式I的非锰配合物化合物以及任选的一种或更多种生理学上可接受的载体和/或赋形剂,

[0140] 式I

[0141]



[0142] 其中

[0143] X表示CH或N,

[0144] R¹各自独立地表示氢或-CH₂COR⁵;

[0145] R⁵表示羟基、任选羟基化的烷氧基、氨基或烷基酰胺基;

[0146] R²各自独立地表示ZYR⁶,其中Z表示键或者任选被R⁷取代的C₁₋₃亚烷基或氧代亚烷基;

[0147] Y表示键、氧原子或NR⁶;

[0148] R⁶是氢原子、COOR⁸、烷基、烯基、环烷基、芳基或芳烷基,任选被一个或多个选自COOR⁸、CONR⁸₂、NR⁸₂、OR⁸、=NR⁸、=O、OP(O)(OR⁸)R⁷和OSO₃M的基团所取代;R⁷是羟基,任选羟基化、任选烷氧基化的烷基或氨基烷基;

[0149] R⁸是氢原子或任选羟基化、任选烷氧基化的烷基;

[0150] M是氢原子或一当量的生理学上可耐受的阳离子;

[0151] R⁸表示任选被R⁷取代的C₁₋₈亚烷基、1,2-环亚烷基或1,2-亚芳基;以及

[0152] R⁴各自独立地表示氢或C₁₋₃烷基。

[0153] 12. 一种治疗患者病理状况的方法,包括向所述患者施用项1至10中任一项所述的药物组合物。

[0154] 13. 项11或12的方法,其中所述病理状况是由氧衍生自由基的存在引起的。

[0155] 14. 项11或12的方法,其中所述状况是细胞毒或细胞抑制药物的损伤。

[0156] 15. 项14的方法,其中所述细胞毒或细胞抑制药物是癌症治疗药物。

- [0157] 16. 项14的方法,其中所述细胞毒或细胞抑制药物包括多柔比星、奥沙利铂、5-氟尿嘧啶或紫杉醇中的至少一种。
- [0158] 17. 项11或12的方法,其中所述状况是缺血-再灌注引起的损伤。
- [0159] 18. 项11或12的方法,其中所述状况是心肌缺血-再灌注引起的损伤的结果。
- [0160] 19. 项11或12的方法,其中所述状况与溶栓治疗、心肺分流术或经皮腔内血管成形术相关,或者是心脏或器官移植手术的结果。
- [0161] 20. 项11或12的方法,其中所述状况是乙酰氨基酚诱导的急性肝衰竭。
- [0162] 21. 项11或12的方法,其中所述状况是铁的病理状况。
- [0163] 22. 项11或12的方法,其中所述状况是地中海贫血、镰状细胞贫血或输血性含铁血黄素沉着症。
- [0164] 23. 项11或12的方法,其中所述状况是肝炎引起的肝硬化。
- [0165] 24. 项11或12的方法,其中所述状况是辐射引起的损伤。
- [0166] 25. 项11至24中任一项所述的方法,其中所述第一组分与所述第二组分同时施用。
- [0167] 26. 项11至24中任一项所述的方法,其中所述第一组分与所述第二组分依次施用。
- [0168] 27. 项11至24中任一项所述的方法,包括施用约0.01至10 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重的所述第一组分和约1至100 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重的所述第二组分,并且其中所述第二组分以相对于所述第一组分等摩尔或更大的量施用。

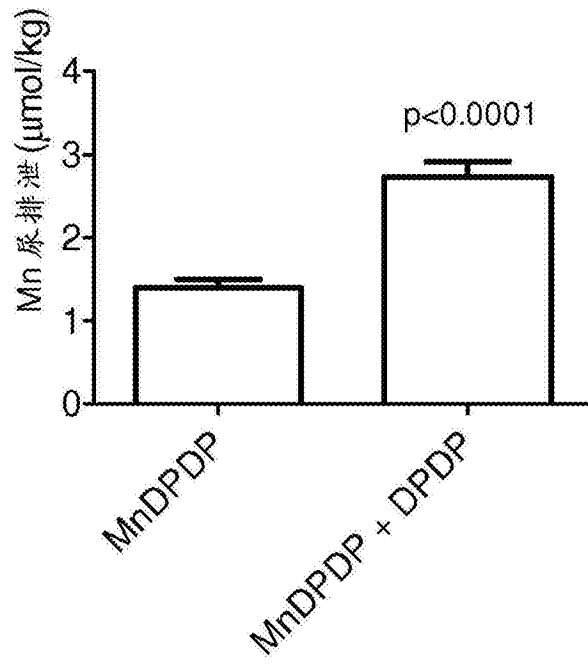


图1A

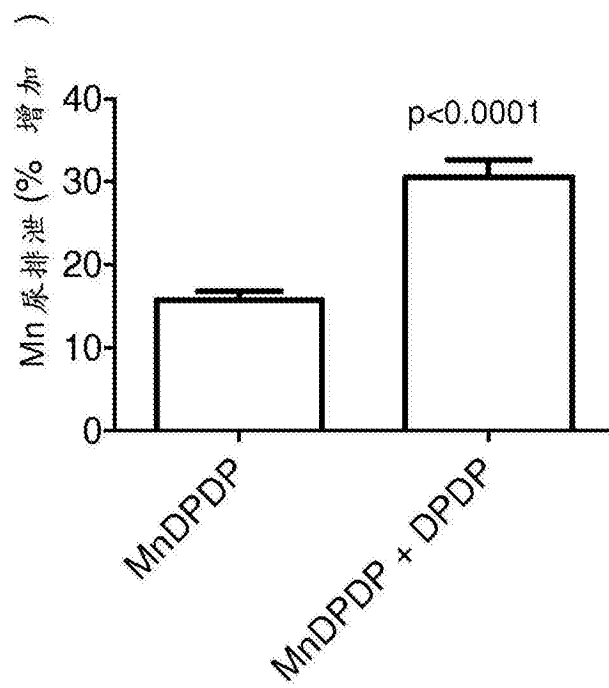


图1B

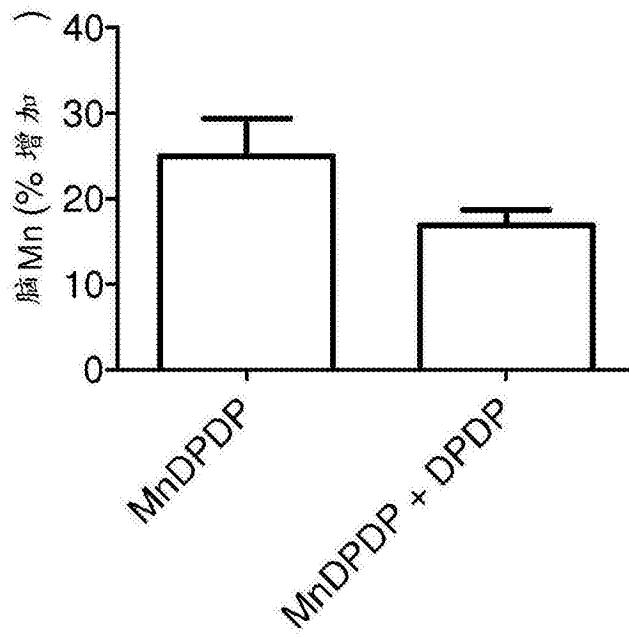


图2

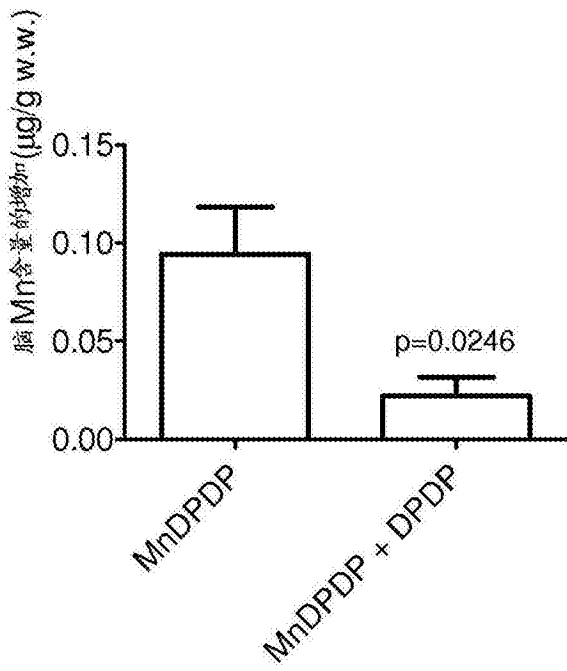


图3A

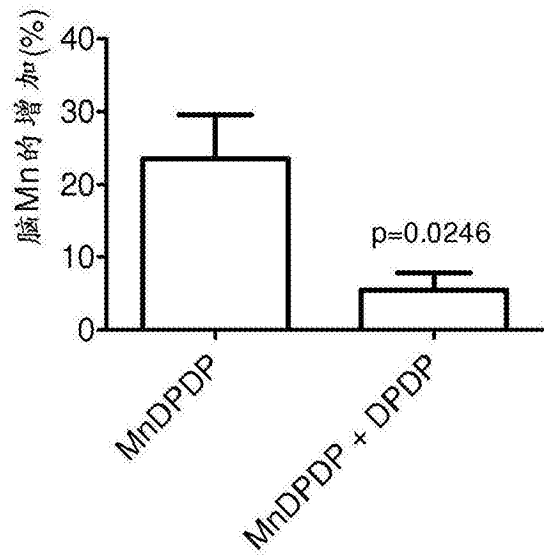


图3B

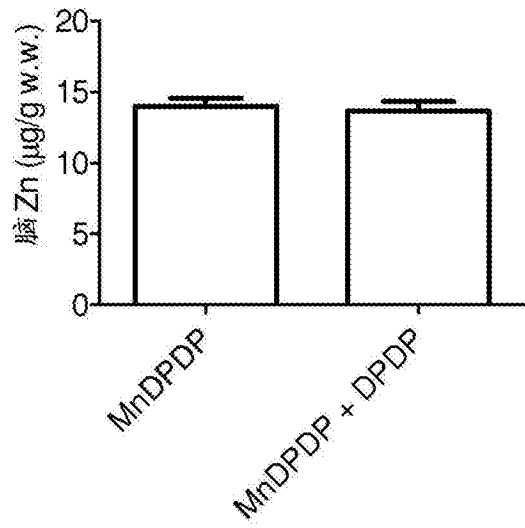


图3C

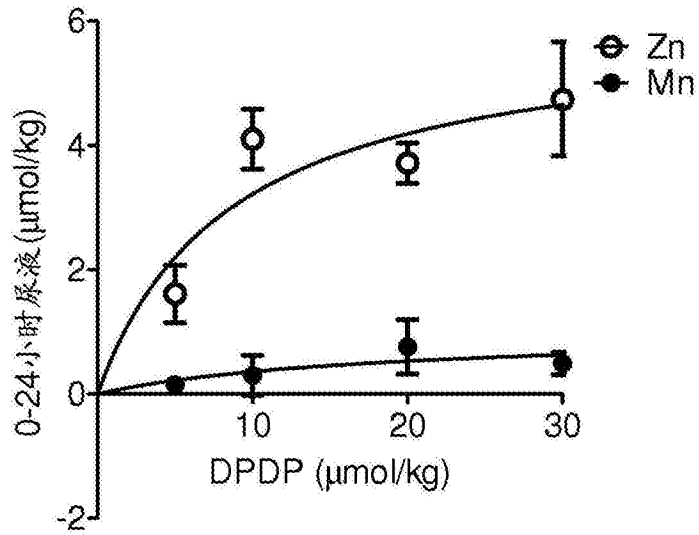


图4A

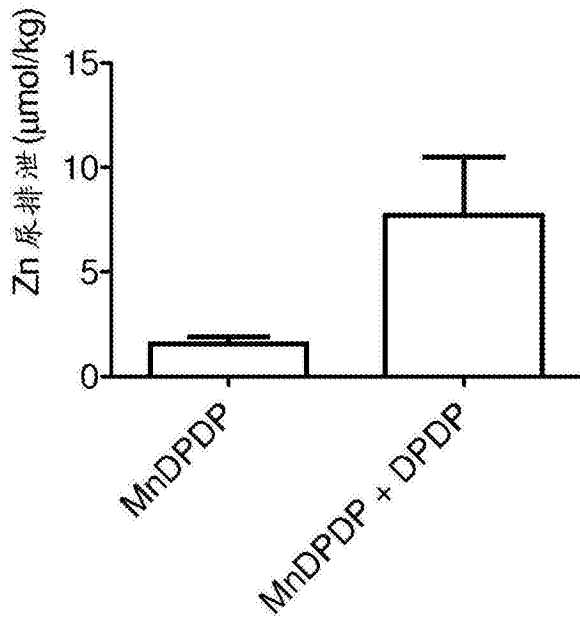


图4B

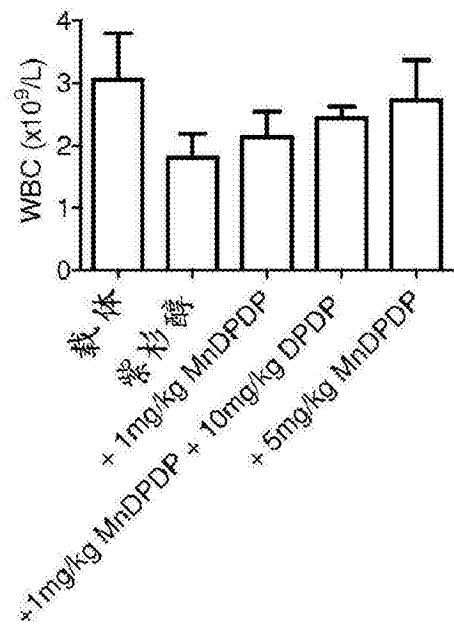


图5A

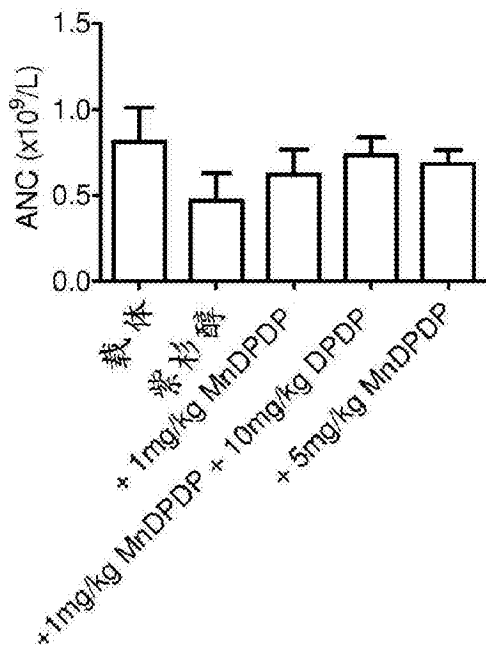


图5B

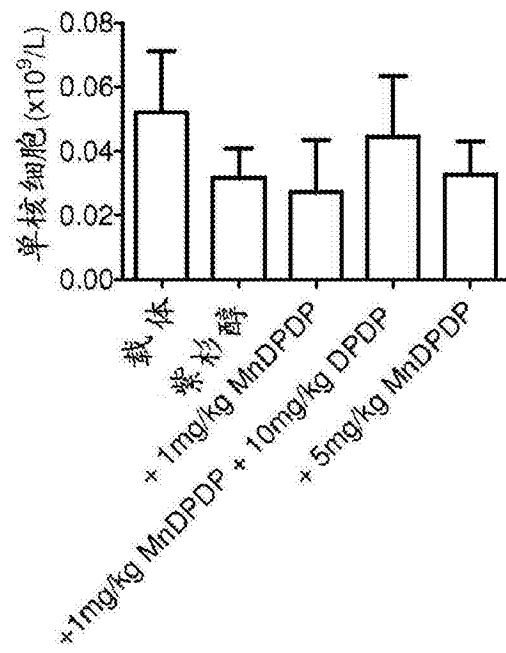


图5C

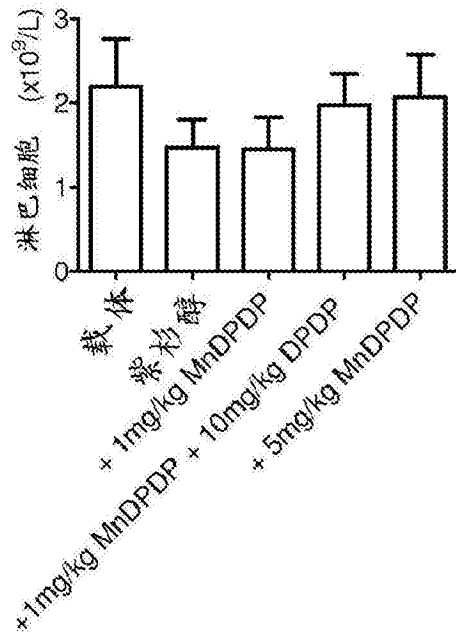


图5D