



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2214480 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 31/145 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2013.09.09
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2013.03.27
(86)	Europeisk søknadsnr	08853916.8
(86)	Europeisk innleveringsdag	2008.11.28
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2010.08.11
(30)	Prioritet	2007.11.30, US, 991517 P 2008.07.31, US, 85397
(84)	Utpekte stater	AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR
(73)	Innehaver	The Regents of the University of California, 1111 Franklin Street, 5th Floor, Oakland, CA 94607-5200, USA
(72)	Oppfinner	DOHIL, Ranjan, 12784 Toyon Mesa Court, San DiegoCA 92130, USA SCHNEIDER, Jerry, 2758 Bordeaux Avenue, La JollaCA 92037, USA
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Fremgangsmåter for å behandle steatohepatitt hos ikke-alkoholikere (NASH) ved bruk av cysteaminprodukter
(56)	Anførte publikasjoner	US-A- 4 324 743, US-A- 4 959 306, US-A1- 2005 209 441, US-A1- 2005 245 433 US-A1- 2007 078 113, US-A1- 2007 172 514, WO-A1-2007/121545 ANGULO PAUL ET AL: "Treatment of nonalcoholic fatty liver : present and emerging therapies" SEMINARS IN LIVER DISEASE,, vol. 21, no. 1, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 81-88, XP009137646 ISSN: 0272-8087, CASTRO JOSEA ET AL: "Prevention by cystamine of liver necrosis and early biochemical alterations induced by carbon tetrachloride" BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, PERGAMON, OXFORD, GB LNKD- DOI:10.1016/0006-2952(72)90249-3, vol. 21, no. 1, 1 January 1972 (1972-01-01), pages 49-52,IN1, XP025886692 ISSN: 0006-2952 [retrieved on 1972-01-01], GULBAHAR OKAN ET AL: "Treatment of non-alcoholic steatohepatitis with N-acetyl cystein" GASTROENTEROLOGY, vol. 118, no. 4 Suppl. 2 Part 2, ABS 6550, April 2000 (2000-04), XP009137620 & 101ST ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION AND THE DIGESTIVE DISEASE WEEK; SAN DIEGO, CALIFORNIA, USA; MAY 21-24, 2000 ISSN: 0016-5085 MARRAS G: "[Cysteamine and liver disease due to steatogenous diet.]" L' ARCISPEDALE S. ANNA DI FERRARA 1955 LNKD- PUBMED:13303884, vol. 8, no. 4, 1955, pages 639-644, XP001525325 ISSN: 0004-0819, REMMER H: "Arzneimitteltherapie bei Lebererkrankungen = Drug therapy of liver diseases" MEDIZINISCHE MONATSSCHRIFT FUER PHARMAZEUTEN, STUTTGART, DE, vol. 6, no. 6, 1 June 1983 (1983-06-01), pages 171-177, XP009137664 ISSN: 0342-9601, THONG-NGAM DUANGPORN ET AL: "N-acetylcysteine attenuates oxidative stress and liver pathology in rats with non-alcoholic steatohepatitis" WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, WJG PRESS, CN, vol. 13, no. 38, 1 October 2007 (2007-10-01), pages 5127-5132, XP009137638 ISSN: 1007-9327

FREMGANGSMÅTER FOR Å BEHANDLE STEATOHEPATITT HOS IKKE-ALKOHOLIKERE (NASH) VED BRUK AV CYSTEAMINPRODUKTER

Beskrivelse

OPPFINNELSENS FAGOMRÅDE

5

[0001] Oppfinnelsen vedrører generelt materialer og metoder for å behandle fettleversykdom med cysteaminer.

BAKGRUNN

10

[0002] Fettleversykdom (eller steatohepatitt) er ofte forbundet med stort alkoholinntak eller fedme, men har også andre årsaker, som for eksempel metabolske sykdommer, inkludert insulinresistens og diabetes. Fettlever oppstår på grunn av opphopning av triglyseridfett i vakuoler i levercellene, noe som fører til nedsatt leverfunksjon, noe som kan føre til skrumplever og leverkreft.

15

[0003] Ikke-alkoholisk fettleverleversykdom (NAFLD) representerer et spekter av sykdommen som oppstår uten alkoholmisbruk. Det finnes i dag ingen tilfredsstillende behandling av fettleversykdom, som for eksempel NAFLD og NASH.

20

En artikkel publisert i L'Arcisped S Anna di Ferr av Marras (1955, vol. 8, nr. 4 sider 639-644) viser at administrasjon av cysteamin (eller β -mecaptoethylamin) til rotter føret med et fettriikt kosthold for å bestemme effekten av cysteamin på kostholdsrelatert leversteatose (fettlever indusert av et fettriikt kosthold). Steatosen av dette dokumentet refererer til akkumulering av lipider i en celle.

25

Gulbahar Okan et al. har publisert en artikkel med tittelen "Treatment of non- alcoholic steatohepatitis with N-acetyl cystein" (Behandling av alkoholfrie steatohepatitt med N-acetyl cystein) i Gastroenterology, vol. 118, nr. 4, (2000, Supplement 2, del 2) som beskriver administrering av N-acetylcystein (NAC) til pasienter som lider av NASH, etter å ha gjennomgått tidligere kostholdsmodifikasjon.

30

Dette dokumentet viser at behandling med NAC reduserer nivåene av leverenzymerne ALAT og ASAT.

I World Journal of Gastroenterology (Vol. 13, nr. 38, 2007, sidene 5127-5132) viser Thong-Ngam Duangporn *et al.* administrasjon av NAC til rotter foret med fettrik mat.

Dette dokumentet viser at nivåene av ALT-serum ikke ble signifikant forbedret hos behandlede rotter (se tabell 1). Triglyserider og kolesterol var uendret i behandlede rotter. Histologisk analyse har vist at NAC-behandling har gitt blandede resultater for forbedring i steatose (fettavleiringer) og nekroinflammasjon (se tabell 2). Dokumentet bekrefter at i en annen studie, var det ingen forbedring i en gruppe behandlet med NAC, sammenlignet med de deltakerne som kun gjennomgikk kostholdsending. Publisert PCT-søknad, W02007/121545 viser bruk av S-nitrosotioler, spesielt S-NAC, i behandling av fettleversykdom. Dokumentet beskriver bruk av S-nitrosotioler, så som nitrogenoksid-donorer som kan fungere som fjerner av frie radikaler.

- 5 I Seminars in Liver Disease, (Vol. 21, nr. 1, 2001, s. 81-88), Paul Angulo *et al.* finnes det en oversiktsartikkel som omhandler behandling for fettleversykdommer, og med referanse til studier utført av Gulbahar m.fl. som omtalt ovenfor. I Medizinische Monatschrift Pharmazeuten (Vol. 6, nr. 6, 1983, sidene 171-177), beskriver Remmer hvordan cysteaminet er en av flere radikalfjernere som er nyttige ved behandling av lever-toksisitet. Denne publikasjonen bekrefter bare at det ikke er noen utskiftbarhet mellom cysteamin, cystein, glutation og deres forløpere, og viser oss videre at administrering av glutation eller forløpere til dette stoffet, for eksempel cystein, er ineffektive ved behandling av leverskade forårsaket av forgiftning.

OPPSUMMERING

20

[0004] Beskrivelsen viser cysteamin, inkludert salter eller estere, for bruk ved behandling av pasienter som lider av ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH). Behandlingen omfatter administrering av en terapeutisk effektiv mengde av en cysteamin-preparat. I én utførelsesform, er den totale daglige dose av preparatet av cysteamin omtrent 0,5-1,0 g / m². I en annen utførelsesform er preparatet av cysteamin administrert ved en frekvens av 4 eller færre ganger per dag (for eksempel en, to eller tre ganger per dag). I en utførelsesform er sammensetningen en doseringsform med forsinket eller kontrollert frigjøring, som gir økt levering av cysteamin eller derivater av cysteamin til tynntarmen. Formen med forsinket eller kontrollerte frigjøring en C_{max} av cysteamin eller cysteamin-derivat, eller en avledet biologisk aktiv metabolitt, som må være minst 35 %, 50 %, 75 %, eller høyere enn C_{max} angitt av en doseringsform med direkte dosering, som inneholder samme mengde cysteamin eller derivat av cysteamin. I enda en annen utførelse inneholder doseringen med forsinket eller kontrollert doseform, et gastrorestent belegg som frigjør cysteamin-preparatet når preparatet når tynntarmen, eller et område av mage-

tarmkanalen til individet, der pH er høyere enn pH 4,5. For eksempel kan belegget være valgt fra gruppen omfattende polymerisert gelatin, skjellakk, metakrylsyre kopolymer type C NF, cellulose-butyrat ftalat, cellulose-hydrogen-ftalat, cellulose proprionate-ftalat, polyvinylacetat-ftalat (PVAP), celluloseacetatftalat (CAP) ,

5 celluloseacetat trimellitate (CAT), hydroksypropylmetylcellulose-ftalat, hydroksypropylmetylcellulose acetat, succinat dioxypopyl metylcellulose, karboksymetyl-etylcellulose (CMEC), hydroksypropylmetylcellulose acetat succinat (HPMCAS), og akrylsyrepolymerer og kopolymerer, som typisk er dannet fra metyl-

10 akrylat, etylakrylat, metylmetakrylat og/eller etylmetakrylat med kopolymerer av akryl-og metakryl-syreestere. Preparatet kan bli administrert oralt eller parenteralt. I en annen utførelsesform gir metoden forbedring ved leverfibrose, sammenlignet med nivåene før administrering av preparatet av cysteamin. I enda en annen

15 utførelsesform, resulterer metoden i en reduksjon av fettinnholdet i leveren, en reduksjon i forekomsten av, eller progresjonen av, cirrhose, eller en reduksjon i forekomsten av leverkreft. I en utførelsesform, gir metoden en reduksjon i hepatisk aminotransferasenivå, sammenlignet med nivåene før administrering av cysteamin-preparat. I en ytterligere utførelse, resulterer administreringen i en reduksjon i

20 levertransaminaseforhøyelser på omtrent 10 % til 40 % i forhold til nivåene før behandling. I enda en annen utførelsesform kan administrering resultere i en reduksjon i nivåene av alanin- eller aspartat-aminotransferase, i pasienter som behandles, til omkring 30 %, 20 % eller 10 % over normale ALT-nivåer, eller til normale ALT-nivåer. I enda en annen utførelsesform resulterer administrering i en

25 reduksjon i serum ferritin-nivåene i forhold til nivåer før behandling med preparatet av cysteamin. Fremgangsmåten og preparatet ifølge foreliggende beskrivelse, kan også omfatte administrering av andre midler i kombinasjon cysteamin-preparat for å behandle NASH.

Den behandlede kan være voksen, ungdom eller barn.

[0005] Et aspekt ved beskrivelsen, er at dette gir en metode for behandling av

30 pasienter som lider av NASH, som omfatter administrering av en terapeutisk effektiv mengde av et preparat som inneholder et cysteamin. Metodene ifølge foreliggende beskrivelse omfatter også bruk av et cysteamin i fremstilling av et medikament for behandling av NASH, og bruk av et cysteamin i fremstilling av et medikament for administrering i kombinasjon med et andre middel for behandling av NASH. Den

35 inkluderer også bruk av av et annet legemiddel for behandling av Nash i fremstilling av et medikament som skal administreres i kombinasjon med cysteamin. Videre gis det ferdige pakker/kits som består av for behandling av NASH, eventuelt sammen

med et annet middel for behandling av NASH, og anvisning for bruk i behandling av NASH. Begrepet "fettleversykdom" kan inkludere NASH.

KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE

- 5 **[0006]** Figur 1 viser effekten av cysteamin-behandling med 0, 75 og 250 mg/kg/dag, levert intraperitonealt, på aspartataminotransferase (ASAT), hos dyr satt på fettrikt kosthold (HFD) i 8 dager. AST-nivåene på kontrolldyrene, ikke gitt fettrikt kosthold (HFD), vises også. Grafen viser gir AST-verdier fra blodprøver samlet på dag 1 i studien ("pre") og på dag 8 i studien 8 (SD8).
- 10
- [0007]** Figur 2 viser virkningen av cysteamin-behandling på 0, 75 og 250 mg/kg /dag, levert intraperitonealt, på kolesterolnivået i dyr som har fått fettrikt kosthold (HFD) i 8 dager. Kolesterolnivåene til kontrolldyr, som ikke er får et fettrikt kosthold (HFD), vises også. Grafen viser gjennomsnittlige kolesterolverdier målt på 1. dag av studien ("pre") og på 8. dag av studien (SD8).
- 15
- [0008]** Figur 3 viser virkningen av cysteamin-behandling på 0, 75 og 250 mg/kg/dag, levert intraperitonealt, på lav tetthet lipoprotein-kolesterol (LDL-kolesterol)-nivåene i dyr som har fått fettrikt kosthold (HFD) i 8 dager. LDL-kolesterolnivået for kontrolldyrene som ikke er får fettrikt kosthold (HFD), vises også. Grafen viser gjennomsnittlig LDL-kolesterolverdier fra blodprøver samlet på 1. dag av studien ("pre") og 8. dag av studien (SD8).
- 20
- [0009]** Figur 4 viser effekten av cysteamin-behandling på 0, 75 og 250 mg/kg/dag, levert intraperitonealt på laktatdehydrogenase (LDH)-nivåene i dyr som har fått fettrikt kosthold i 8 dager. LDH-nivåer for kontrolldyrene, som ikke har fått fettrikt kosthold HFD, vises også. Grafen viser gir LDH-verdier fra blodprøver samlet på dag 1 i studien ("pre"), og på dag 8 i studien (SD8).
- 25
- [0010]** Figur 5 viser virkningen av cysteamin-behandling på 0, 75 og 250 mg/kg /dag, levert gjennom drikkevannet, på kolesterolnivået i dyr som har fått fettrikt kosthold (HFD) i 8 dager. AST-nivåene på kontrolldyrene, som ikke er blitt gitt fettrikt kosthold (HFD), vises også. Grafen viser gjennomsnittlige AST-verdier $\pm$ SEM fra blodprøver samlet på 1. dag av studien ("uke 0") og på den siste dagen i den angitt uken (uke 2, 4, 6 eller 8).
- 30
- 35

[0011] Figur 6 viser virkningen av cysteamin-behandling med måldoser på 0, 25, 75 og 250 mg/kg/dag, levert via drikkevann, på LDH-nivåene i dyr som har fått fetttrik kost (HFD) i 8 uker. LDH-nivåer for kontrolldyrene, som ikke har fått fetttrik kosthold HFD, vises også. Grafen viser gjennomsnittlige LDH-verdier $\pm$ SEM fra blodprøver samlet på 1. dag av studien ("uke 0") og på den siste dagen i den angitt uken (uke 2, 4, 6 eller 8).

[0012] Figur 7 viser virkningen av cysteamin-behandling på 0, 75 og 250 mg/kg/dag, levert via drikkevann, på høy-densitet lipoprotein (HDL)-kolesterolnivået i dyr som har fått fetttrik kosthold (HFD) i 8 dager. HDL-kolesterolnivået for kontrolldyrene som ikke er får fetttrik kosthold (HFD), vises også. Grafen viser gjennomsnittlig HDL-kolesterolverdier $\pm$ SEM fra blodprøver samlet 1. dag av studien ("uke 0") og på den siste dagen i den angitte uken (uke 2, 4, 6 eller 8).

15 DETALJERT BESKRIVELSE

[0013] Som anvendt her og i de etterfølgende patentkrav, vil entallsformer "et"/"en" "og", "den" også omfatte referanser til flertallsformer, hvis ikke sammenhengen klart tilsier noe annet. Derfor vil for eksempel, referansen til "et derivat" også innebære flere slike derivater, og referanser til "en person" også innebære henvisning til inkluderer henvisning til en eller flere personer/pasienter, og så videre.

[0014] Bruken av "eller" vil også bety "og/eller", med mindre annet er oppgitt. Tilsvarende brukes "omfatte", "omfatter", "som omfatter", "inkludere", "inkludert" og "som inkluderer" om hverandre og ikke er ment å begrense betydningen.

[0015] Det er videre å bemerke at der hor det finnes beskrivelser av forskjellige utførelsesformer som bruker begrepet "som inneholder", vil de med kunnskap innenfor fagområdet forstå at i enkelte tilfeller kan en utførelsesform alternativt beskrives ved hjelp av uttrykkene "bestående hovedsakelig av" og "bestående av".

[0016] Med mindre det defineres annerledes, vil alle tekniske og vitenskapelige begreper som brukes her, ha samme betydning som den vanligvis forstås av fagfolk på området denne beskrivelsen ligger innenfor. Selv om fremgangsmåter og materialer som ligner eller tilsvarer de som er beskrevet her, kan bli brukt ved

anvendelse av de beskrevne fremgangsmåtene og preparater, er eksempelmetoder, apparater og materialer beskrevet heri.

[0017] Publikasjonene som er omtalt ovenfor, og de som gis i resten av teksten, er angitt kun for de beskrivelser de inneholder før innlevering av den foreliggende søknaden. Ingenting er her tolket som en innrømmelse av at oppfinnerne ikke har rett til å antedatere en slik beskrivelse, på grunnlag av tidligere innmeldt beskrivelse.

[0018] Beskrivelsen gir nye behandlingsformer som kan lindre symptomene forbundet med NASH hos pasienter som lider av sykdommen. Beskrivelsen angir cysteamin-preparater som gir effektiv behandling for pasienter med behandlingsbehov.

[0019] Følgende referanser vil gi en fagperson en generell definisjon av mange av uttrykkene som brukes i denne beskrivelsen: Singleton, et al, DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY (2d ed. 1994); THE CAMBRIDGE DICTIONARY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY (Walker ed., 1988); THE GLOSSARY OF GENETICS, 5TH ED., R. Rieger, et al. (eds.), Springer Verlag (1991); og Hale og Marham, THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY (1991).

[0020] Cysteamin er en forløper til proteinet glutation (GSH)-forløperen, og er for tiden godkjent av FDA for bruk ved behandling av cystinose, en ntra-lysosomal lidelse som innebærer cyctin-akkumulering. Ved cystinose, fungerer cysteamin ved å konvertere cystin til cystein og cystein-cysteamine-blandet disulfid, som deretter både kan forlate lysosomen gjennom cystein- og lysin-transportører, henholdsvis (Gahl et al, N Engl J Med 2002; 347 (2): 111-21). Innenfor cytosolen kan den blandede disulfiden reduseres gjennom reaksjonen med glutation, og cystein som frigjøres,xxx kan bli benyttet for videre GSH-syntese. Syntesen av GSH fra cystein er katalysert av to enzymer, gamma-glutamylcysteine syntetase og GSH-syntetase. Denne reaksjonsveien finnes i nesten alle celletyper, og leveren er den største produsenten og eksportøren av GSH. Det reduserte cystein-cysteaminet blandet med disulfid vil også frigjøre cysteamin, som i teorien da er i stand til å gå inn igjen i lysosomen, binde mer cystin, og gjenta prosessen (Dohil et al, J Pediatr 2006, 148 (6):. 764 -9). I en fersk studie om barn med cystinose, resulterte enteral administrasjon av cysteamin i økte cysteamin-nivåer i plasma, som senere ga langvarig effekt på reduksjon av leukocytt- cystin-nivået (Dohil et al, J Pediatr 2006, 148 (6):. 764 - 9). Dette kan ha skjedd på grunn av "resirkulering" av cysteamin når tilstrekkelige mengder

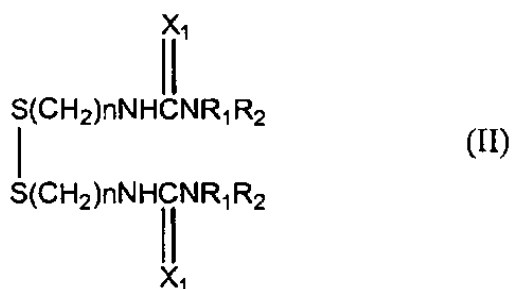
medikament nådde lysosomet. Hvis cysteamin fungerer på denne måten, vil også GSH-produksjon kunne forbedres vesentlig.

[0021] Cysteamin er en potent magesyre-sekretagog som har vært brukt på forsøksdyr å på sår på tolvfingertarmen til å oppstå. Studier på mennesker og dyr har vist at cysteamin-indusert magesyre-hypersekresjon mest sannsynlig er mediert gjennom hypergastrinemi. I tidligere studier utført på barn med cystinose, som led vanlige øvre gastrointestinale symptomer, ble det vist at en enkelt oral dose av cysteamin (11-23 mg/kg) forårsaket hypergastrinemi og en 2 til 3 gangers økning i magesyre-hypersekresjon, og en 50 % økning i serumgastrin-nivåene. Disse personene hadde symptomer som inkluderte magesmerter, halsbrann, kvalme, oppkast og anoreksi. Amerikansk Patent søknad nr. 11/990, 869 og kunngjort International publikasjon nr. WO 2007/089670, som begge hevder prioritet til Amerikansk foreløpig patentsøknad (provisional patent) nr. 60/762, 715, arkivert 26 januar 2006, viste at cysteamin-indusert hypergastrinemia oppstår, delvis, som en lokal virkning på den gastriske antrum-dominerte G-celler hos følsomme individer. Dataene tyder også på at dette er en systemisk effekt av gastrin-friggjøring ved hjelp av cysteamin. Avhengig av administreringsmetode, vil plasma-gastrinnivåene vanligvis få en topp innen 30 minutter fra intragastrisk levering, mens plasma cysteamin-nivåer vil toppe seg senere.

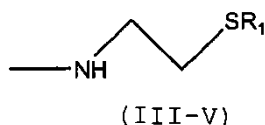
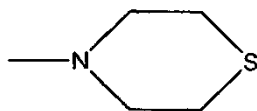
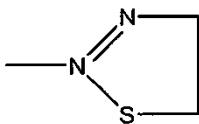
[0022] Pasienter med cystinose er pålagt å innta oral cysteamin (CYSTAGON®) hver 6. time dag og natt. Når det tas regelmessig, kan cysteamin tappe intracellulær cystin med opptil 90 % (som målt i sirkulerende hvite blodceller), og dette har vist seg å redusere utviklingstakten til nyresvikt/transplantasjon, og også fjerne behovet for tyreoidhormonbehandling. På grunn av vanskeligheter med å ta CYSTAGON®, vil en reduksjon av den nødvendige dosen, forbedre tilslutningen til behandlingsregimet. Internasjonal publikasjon nr. WO 2007/089670 viser at levering av cysteamin til tynntarmen reduserer mavesmerter og sårdannelse, øker C_{max} og øker AUC. Levering av cysteamin til tynntarmen er nyttig på grunn av forbedret absorpsjonstakt fra tynntarmen, og/eller at en mindre andel av cysteaminen blir eliminert ved første passering når den absorberes gjennom tynntarmen. En reduksjon i leukocyt cystin ble observert innen en time etter behandlingen.

[0023] Beskrivelsen viser cysteaminer som er nyttige ved behandling av fettleversykdommer og -lidelser. Cysteamin refererer generelt til cysteamin eller et cysteamin-saltt.

[0024] Cysteamin inneholder salter. I noen utførelsesformer innbefatter cysteamin-salter hydrokloridsalt, bitartrat-salter, fosforylerte derivater, og-sulfaterte derivater. Eksempler på cysteamin inkluderer 2-aminopropan-tiol-1, 1-aminopropan-tiol-2, N- og S-substituert cysteamin AET, aminoalkyl-derivater, fosfortioat, amifostin (Amerikansk patent 4.816.482). I en utførelsesform, utelukker en cysteamin spesifikt N-acetylcystein. I en utførelsesform omfatter cysteamin, strukturer som er beskrevet nedenfor:



karakterisert ved at n betegner 2 eller 3, R_1 og R_2 hver betegner et hydrogenatom, eller en alkylgruppe som eventuelt er substituert med en hydrokso-, amino-, alkylamino-eller dialkylaminogruppe, eller betegner en cykloalkyl-eller arylgruppe, og X_1 betegner en gruppe valgt fra gruppen bestående av = N-CN, = N-NR₂, = N-COR₃, = N-NR-COOR₃, = N-NR-CONH₂, = N-SO₂R₃, = CH-NO₂, -CH-SO₂R₃, = C (CN)₂, = C (CN)₃ COOR og = C (CN) CONH₂, hvor R₃ er en alkyl-eller arylgruppe. I et annet aspekt kan en cysteamin omfatte et cysteamin-radikal knyttet til hvilket som mange ulike ikke-toksiske grupper som er angitt nedenfor:



5 hvor R₁ betegner hydrogenatom, eller en rettkjedet eller en forgrenet alkyl-gruppe med 1 til 10 karbonatomer.

10 **[0025]** Farmasøytisk akseptable salter av cysteaminer er også inkludert, og omfatter farmasøytisk akseptable anioner og/eller kationer. Farmasøytisk akseptable kationer inkluderer blant annet kationer av alkaliske metaller (f.eks. ^{Li+}, ^{Na+}, ^{K+}), alkaliske jordmetallkationer (f.eks., ^{Ca²⁺}, ^{Mg²⁺}), kationer av ikke-toksiske tungmetallforbindelser og ammonium (NH⁴⁺) og substituert ammonium (N(R')₄⁺, hvor R' er hydrogen, alkyl eller substituert alkyl, *dvs.*, inkludert metyl, etyl, eller hydroksyetyl, spesifikt, trimetyl-ammonium, trietyl-ammonium, og triethanol-ammonium -kationer). Farmasøytisk akseptable anioner inkluderer blant andre

15 halogenider (f.eks. ^{Cl-}, ^{Br-}), sulfat, acetatene (f.eks, acetat, trifluoracetat), askorbater, aspartater, benzoatene, citrater, og laktat.

20 **[0026]** Cysteamin kan ha gastroresistent belegg. Et legemiddel eller en tablett med gastroresistent belegg viser generelt til et medikament eller tablett som er belagt med et stoff (gastroresistent belegg/enterodrasjert) som forblir intakt, eller i det alt vesentlige intakt, slik at stoffet eller tabletten passerer gjennom magesekken, men løser seg opp og frigjør medikamentet i tynntarmen.

25 **[0027]** Et gastroresistent belegg, eller tarmbeskyttelsesbelegg, kan være et polymermateriale, eller materialer som omslutter medikamentkjernen (f.eks

cysteamin, CYSTAGON ® eller annen cysteamin). Typisk vil en stor del av, eller hele materialet i det gastroresistente belegget være oppløst før medikamentet eller det terapeutisk aktive midlet blir frigjort fra doseringsformen, slik at man får forsinket oppløsning eller levering av medikamentets kjernestoffer. Et egnet pH-følsom polymer er en som vil oppløses i tarmmiljøer ved en høyere pH-verdi (pH større enn 4,5), slik som i tynntarmen, og derfor tillate frigjøring av den farmakologisk aktive substansen i regionene i tynntarmen, og ikke i den øvre del av GI-systemet, slik som magen.

[0028] Cysteaminet kan også omfatte ytterligere farmasøytisk akseptable bærere eller midler. En farmasøytisk akseptabel bærer eller vehikkel, refererer generelt til materialer som er egnet for administrering til et individ, der bæreren eller vehikket ikke er skadelig biologisk, eller på annen måte forårsaker uønskede effekter. Slike bærere eller vehikler er vanligvis inerte ingredienser i et medikament. Typisk vil en bærer eller vehikkel bli administrert til et individ sammen med en aktiv bestanddel, uten å forårsake noen uønskede biologiske virkninger, eller vekselvirke på en skadelig måte med noen av de andre komponenter av en farmasøytisk sammensetning den finnes i.

[0029] Et cyteamin-produkt eller et annet virkestoff kan omfatte et farmasøytisk akseptabelt salt, ester eller et annet derivat. For eksempel består salter, estere eller andre derivater av biologisk aktive former som har en tilsvarende biologisk virkning som moderforbindelsen. Salter som eksempler på dette inkluderer hydrokloridsalt og bistartrat-salter.

[0030] Et virkestoff, farmasøytisk eller annet preparat i beskrivelsen kan omfatte et stabiliserende middel. Stabiliseringsmidler, viser vanligvis til forbindelser som senker hastigheten et legemiddel degraderes med, spesielt orale farmasøytisk formler under lagring.

[0031] Som brukt i dette dokumentet, vil "terapeutisk effektiv mengde" og "effektiv mengde" vise til den mengden av forbindelsen som er tilstrekkelig for å gi lindring av symptomer, for eksempel, behandling, helbredende, forebygging og lindring av den aktuelle sykdomstilstanden, eller en økning i frekvensen av behandlingen, helbredelse, forebyggingen og lindringen av slike tilstander, typisk en statistisk signifikant forbedring i den behandlede pasientpopulasjonen. Når det vises til en individuelt virkestoff, administrert alene, viser den terapeutisk effektive dosen til kun dette stoffet. Når det vises til en kombinasjon, vil en terapeutisk effektiv dose bety den

kombinerte mengden av aktive ingredienser som gir terapeutisk effekt, enten dette administreres i kombinasjon etter hverandre eller samtidig. I en utførelsesform, vil en terapeutisk effektiv mengde av cysteamin lindre symptomer, inkludert, leverfibrose, fettinnholdet i leveren, forekomsten av eller progresjon av cirrhose, forekomsten av leverkreft, forhøyede aminotransferasenivå, for eksempel ALT og AST, økt ferritin , forhøyede nivåer av gamma-glutamyltransferase (gamma-GT), og forhøyet nivå av plasma insulin, kolesterol og triglyserider.

[0032] Ikke-alkoholisk fettleverleversykdom (NAFLD) representerer et spekter av sykdommen, som oppstår uten alkoholmisbruk. Den er karakterisert ved tilstedeværelse av steatose (fett i leveren), og kan representere en hepatisk manifestasjon av metabolsk syndrom (inkludert kraftig overvekt, diabetes og hypertriglyseridemi). NAFLD er knyttet til insulinresistens, det fører det til leversykdom hos voksne og barn, og kan til slutt føre til skrumplever (Skelly et al, J Hepatol 2001, 35:.. 195-9, Chitturi et al, Hepatology 2002; 35(2) :373-9). Alvorlighetsgraden av NAFLD spenner fra relativt godartet isolert overveiende makrovesikulær steatose (dvs. ikke-alkoholisk fettlever eller NAFL) til ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH) (Angulo et al, J Gastroenterol Hepatol 2002; 17 Suppl.: S186-90). NASH karakteriseres av histologisk tilstedeværelsen av steatose, cytologisk utposning, spredt betennelse og pericellulær fibrose (Contos et al, Adv. Anat Pathol 2002;. 9:37-51). Hepatisk fibrose som følge av NASH kan utvikle seg til skrumplever eller leversvikt, og kan i noen tilfeller kan føre til leverkreft.

[0033] Graden av insulinresistens (og hyperinsulinemia) korrelerer med alvorlighetsgraden av NAFLD, og er mer uttalt hos pasienter med NASH, enn de med kun fettlever (Sanyal et al, Gastroenterology 2001, 120 (5):. 1183 - 92). Som en følge av dette oppstår insulinmediert undertrykkelse av lipolyse, og nivåene av sirkulerende fettsyrer øker. To faktorer som er assosiert med NASH, inkluderer insulinresistens og økt levering av frie fettsyrer til leveren. Insulin blokkerer mitokondriell oksidasjon av fettsyre. Den økte genereringen av frie fettsyrer ved hepatisk reesterifisering og oksidasjon, resulterer i opphopning av intrahepatisk fett, og øker leverens sårbarhet for sekundære angrep.

[0034] Glutathione (gammaglutamyl-cysteinyl-glysin; GSH) er en stor endogen antioksidant, og utarming av denne, er implisert i utviklingen av hepatocellulær skade (Wu et al, J Nutr 2004;. 134 (3) :489-92). En slik skade er paracetamol-forgiftning, der reduserte GSH-nivåer blir utarmet i et forsøk på å konjugere og inaktivere den

hepatotoksiske metabolitten i legemidlet. Etter en giftig dose av paracetamol, vil overflødig metabolitt (N-acetyl-benzoquinoneimin) binde deg kovalent til hepatiske proteiner og enzymer, noe som fører til leverskade (Wu et al, J Nutr 2004;. 134 (3) :489-92; Prescott et al, Annu Rev Pharmacol Toxicol 1983; 23:87-101). Økte nivåer av glutathion synes derfor å ha en viss beskyttende effekt gjennom reduksjon av ROS. Glutathion i seg selv trenger ikke lett inn i cellene, selv når det gis i store mengder. Imidlertid angir glutathion forløpere do inn i cellene og enkelte GSH-forløpere slik som N-acetylcystein er blitt vist å være effektiv i behandlingen av tilstander som acetaminofen-toksisitet, ved å bremse eller hindre GSH-utarming (Prescott et al. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1983 ; 23:87-101). Eksempler på GSH-forløpere omfatter cystein, N-acetylcystein, metionin og andre svovelholdige forbindelser, så som cysteamin (Prescott et al, Int J Med Res 1976; Fire (4 Suppl) :112-7).

[0035] Cystein er en viktig begrensende faktor for GSH-syntese, og faktorer (*f.eks.*, Insulin og vekstfaktorer) som stimulerer cystein-opptak i cellene, gir vanligvis økte intracellulære GSH nivåer som resultat (Lyons et al. , Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97 (10) :5071-6, Lu SC. Curr Top Cell Regul 2000;36:95-11).

[0036] N-acetylcystein er blitt administrert til pasienter med NASH. I rapporter fra Tyrkia, viste sterkt overvektige personer med NASH som ble behandlet med N-acetylcystein i 4-12 uker en forbedring i aminotransferasenivåer og gamma-GT, selv om det var ingen rapporterte endring i individets kroppsmasseindeks (BMI) (Pamuk et al. , J Gastroenterol Hepatol 2003, 18 (10) :1220-1).

[0037] Cysteamin ($\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$) kan lett krysse cellemembraner på grunn av sin lille størrelse. I dag er cysteamin godkjent av FDA for bruk ved behandling av cystinose, en intra-lysosomal lidelse som innebærer cystin-akkumulering. Ved cystinose, fungerer cysteamin ved å konvertere cystin til cystein og cystein-cysteamine-blandet disulfid, som deretter både kan forlate lysosomen gjennom cystein- og lysin-transportører, henholdsvis (Gahl et al, N Engl J Med 2002; 347 (2): 111-21). Behandling med cysteamin har vist seg å gi senking av intracellulære cystin-nivåer av sirkulerende leukocytter (Dohil et al, J. Pediatr 2006,. 148 (6) :764-9).

[0038] Studier på mus og mennesker har vist at cysteamin er effektivt i å forebygge paracetamol-indusert hepatocellulær skade (Prescott et al, 1972 Lancet, 2 (7778):.. 652, Prescott et al, Br Med J 1978 , 1 (6116) :856-7, Mitchell et al, Clin Pharmacol Ther 1974;. 16 (4) :676-84). Cystamin og cystein har blitt rapportert å redusere

levercelle nekrose induisert av flere hepatotoksiner. (Toxicol Appl Pharmacol. 1979 Apr; 48(2):221-8). Cystamin har vist seg å forbedre leverfibrose induisert av karbontetraklorid ved hemming av vev transglutaminase (Qiu et al. Verden J Gastroenterol. 13:4328-32 2007).

5

[0039] Forekomsten av NAFLD hos barn er ukjent, på grunn av kravet om histologisk analyse av leveren for å bekrefte diagnosen (Schwimmer et al, 2006 Pediatrics; 118 (4) :1388-93). Imidlertid kan anslag over utbredelsen utledes fra pediatriske fedmedata som anvender hepatiske ultralydsundersøkelser og forhøyet

10 serumtransaminasenivåer, og det faktum at 85% av barn med NAFLD er sterkt overvektige. Data fra "National Health and Nutrition Examination Survey" (Helse- og kostholdsundersøkelse) har vist en tredobling i sterk overvekt hos barn og unge i løpet av de siste 35 årene, og data fra 2000 tyder på at 14-16% barn mellom 6-19 år alder er sterkt overvektige med en BMI > 95% (Fishbein et al, J Pediatr Gastroenterol
15 Nutr 2003; 36 (1) :54-61), og også at 85 % av barn med NAFLD er overvektige.

[0040] Hos pasienter med histologisk påvist NAFLD, serum hepatiske transaminaser, spesielt ALAT (ALT), er nivåene forhøyet fra den øvre grensen for det som er normalt, til 10 ganger dette nivået (Schwimmer et al, J Pediatr 2003; 143 (4) :500-5, Rashid
20 et al, J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000; 30 (1) :48-53). Forholdet mellom ALAT/ASAT (aspartat aminotransferase) er > 1 (område 1,5 til 1,7) som skiller seg fra alkoholholdige steatohepatitt, der forholdet er vanligvis <1. Andre unormale serologiske tester som kan være unormalt forhøyet ved NASH inkluderer gamma-glutamyltransferase (gamma-GT), og faste nivåer av plasma insulin, kolesterol og
25 triglyserider.

[0041] Den eksakte mekanismen som får NAFLD til å utvikle seg til NASH er fortsatt uklart. Fordi insulinresistens er assosiert med både NAFLD og NASH, er det postulert at andre flere faktorer er også nødvendig for å få NASH å oppstå. Dette blir referert til
30 som "two-hit" hypotesen (Dag CP. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2002; 16 (5) :663-78) og omfatter, for det første, en akkumulasjon av fett i leveren, og for det andre, at det finnes store mengder av frie radikaler med økt oksidativt stress. Makrovesikulær steatose betyr hepatisk akkumulering av triglyserider, og dette i sin tur skyldes en ubalanse mellom levering og utnyttelse av frie fettsyrer i leveren. I
35 perioder med økt kaloriinntak, vil akkumulere triglyserid og virke som en reserve-energikilde. Når kaloriene i kostholdet er utilstrekkelige, vil lagrede triglyserider (i fettvev) gjennomgå lipolyse, og fettsyrer slippes ut i sirkulasjonen og tas opp av

leveren. Oksydasjon av fettsyrer vil gi energi som kan utnyttes. Behandling av NASH dreier seg for tiden om reduksjon av de to viktigste patogenetiske faktorene, nemlig fett-akkumulering i leveren, og overdreven opphopning av frie radikaler som forårsaker oksidativt stress. Fettakkumulasjonen reduseres ved å redusere

- 5 fettinntaket samt øke kaloriforbruket. En terapeutisk tilnærming er vedvarende og jevnt vekttap. Selv om det ikke definitivt bevist, vil et > 10% tap i kroppsvekt i noen tilfeller vise seg å hepatisk fettakkumulasjon, normalisere levertransaminasen, og forbedre leverbetennelser og fibrose (Ueno et al, J Hepatol 1997, 27 (1): 103-7, Vajro et al, J Pediatr 1994; 125 (2) :239-41, Franzese et al, Dig Dis Sci 1997; 42 (7) :1428-32).

- [0042]** Reduksjon av oksidativt stress gjennom behandling med antioksidanter har også vist seg å være effektiv i noen studier. For eksempel ble sterkt overvektige barn som hadde steatose behandlet med vitamin E (400 -1000 IE/dag) i 4-10 måneder (Lavine J Pediatr 2000, 136 (6) :734-8). Til tross for ingen vesentlig endring i BMI, ble gjennomsnittlig ALAT redusert fra 175 ± 106 IE/L til 40 ± 26 IE/L ($P < 0,01$), og gjennomsnittlig ASAT redusert fra 104 ± 61 IE/L til 33 ± 11 IE/L ($P < 0,002$). Levertransaminaser økte hos de pasientene som valgte å avslutte vitamin E-behandlingen. En studie av voksne behandlet med vitamin E i ett år, viste tilsvarende reduksjon i levertransaminaser og nivåene til fibrosemarkøren TGF β (Hasegawa et al, Aliment Pharmacol Ther 2001; 15 (10) :1667-72).

- [0043]** Steatose også kan utvikle seg til steatohepatitt gjennom oksidativt stress, på grunn av reaktive oksygen-typer (ROS) og redusert antioksidantforsvar (Sanyal et al, 25 2001 Gastroenterology; 120 (5) :1183-92). ROS kan genereres i leveren på flere måter, inkludert mitokondrier, peroksomer, P450, NADPH-oksidasen og lipooksygenase (Sanyal et al, Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2005; 2 (1) :46-53). Insulinresistens og hyperinsulinisme har vist seg å øke hepatisk oksidativt stress og lipidperoksidasjon gjennom økt hepatisk CYP2E1-aktivitet (Robertson et al, Am J 30 Physiol Gastrointest Liver Physiol 2001, 281 (5): G1135-9, Leclercq et al. , J Clin Invest 2000; 105 (8) :1067-75).

- [0044]** I dag er mye av det vi vet om patogenesen av NAFLD kommet fra dyrestudier. En rekke musemodeller som får fram steatose/ steatohepatitt finnes, og 35 inkluderer genetisk endret leptin-manglende (ob/ob) og leptinresistente (db/db), og kostholdsmessig metionin/kolinmangel (MCD) -modell. Studier som sammenligner hann-og hunnrotter av ulike arter (Wistar, Sprague-Dawley, Long-Evans) med en

museart (C57BL/6), som modeller for NASH, er blitt gjennomført. Disse dyrene ble foret i 4 uker med en MCD-diett, selv forhøyning av ALAT og steatose var tydeligere i Wistar-rotter, var de samlede histologiske forandringene i leveren til musene mer konstant med endringer på forårsaket av NASH. I det siste har bruken av supra-ernæringsdietter på dyr resultert i en NAFLD modell som fysiologisk mer ligner det menneskelige fenotype. De medisinske tilstandene som vanligvis forbindes med NAFLD er sterk overvekt, type II diabetes og dyslipidemi. Disse tilstandene kan være forårsaket av at mus og rotter fores med et kosthold rikt på fett eller sukrose. Rotter matet med en > 70 % fett-rikt kosthold i tre uker utviklet pan-lobular steatose, usammenhengende betennelse, økt oksidativt stress, og økte plasma-insulinkonsentrasjoner, som tyder på insulinresistens. NASH i mus har blitt induert gjennom intragastrisk overmating.

Mus ble tilført opp til 85 % utover standardinntak i 9 uker. Musene ble overvektige med 71 % økning i endelig kroppsvekt, de viste økt hvitt fettvev, hyperglykemi, hyperinsulinemi, hyperleptinemi, glukoseintoleranse og insulinresistens. Av disse musene utviklet 46 % forhøyet ALAT (121 $\pm$ 27 mot 13 $\pm$ 1 IE/L) samt histologiske resultater som tyder på NASH. Leveren hos de overfødde musene var omtrent dobbelt så stor som forventet, beige i fargen, med mikroskopiske bevis på lipiddråper, cytoplasmavakuoler og klyngevis betennelse.

[0045] Musemodellene av NASH er skapt ved hjelp av spesifikt kosthold (mangelfullt for metionin kolin, MCD) eller intragastrisk overfôring. Disse musene utvikler de serologiske og histologisk kjennetegnene til NASH. NASH-mus er nyttige for å screene og måle effekter av cysteamin på NASH-relaterte sykdommer og lidelser. For eksempel kan effekten av behandlingen bli målt ved å dele NASH-mus i en kontrollgruppe der dyrene vil fortsette å motta kun MCD-kosthold, og tre andre behandlingsgrupper hvor musene mottar MCD-kosthold, så vel som anti-oksiderende behandling. De tre behandlingsgruppene vil motta cysteamin 50mg/kg/dag 100mg/kg/dag og sAME.

[0046] Cysteamin er et lite molekyl ($\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$) som lett kan ryste cellemembranere. Cysteamin er en kraftig magesyre-sekretagog som har vært brukt på forsøksdyr å på sår på tolvfingertarmen til å oppstå. Studier på mennesker og dyr har vist at cysteamin-indusert magesyre-hypersekresjon mest sannsynlig er mediert gjennom hypergastrinemi.

[0047] I tillegg, sulfhydryl (SH)-forbindelser, slik som cysteamin, cystamin og

glutation, er blant de viktigste og mest aktive intracellulære antioksidanter. Cysteamin beskytter dyr mot benmarg- og gastrointestinale strålingsyndromer. Begrunnelsen for viktigheten av SH-forbindelser er videre støttet av observasjoner i mitotiske celler.

Disse er de mest følsomme for strålingsskader i form av reproduktiv celledød, og er kjent for å ha det laveste nivået av SH-forbindelser. Omvendt har S-faseceller, som er de mest motstandsdyktige mot strålingsskader på bakgrunn av de samme kriteriene, viste de høyeste nivåene av iboende SH-forbindelser. I tillegg, ble mitotiske celler, når de ble behandlet med cysteamin, meget motstandsdyktige mot stråling. Det er også blitt bemerkt at cysteamin muligens direkte kan beskytte cellene mot induerte mutasjoner. Beskyttelsen er antatt å skyldes fjerning (scavenging) av frie radikaler, enten direkte eller via frigivelsen av protein-bundet GSH. Et enzym som frigjør cysteamin fra koenzym A er blitt rapportert i fuglelever og svinenyrer. Nylig har studier tydet på en beskyttende virkning av cysteamin mot hepatotoksiske midler acetaminofen, brombenzen, og falloidin.

[0048] Cystamin, i tillegg til dets rolle som et strålebeskyttende middel, har vist seg å lindre skjelvinger og forlenge livet i mus med gen-mutasjon for Huntingtons sykdom (HD). Stoffet kan fungere ved at det øker proteinaktiviteten som beskytter nerveceller, eller neuroner fra degenerering. Cystamin ser ut til å inaktivere et enzym kalt transglutaminase, og på den måten resulterer i en reduksjon av huntingtin-protein (Nature Medicine 8, 143-149, 2002). I tillegg ble cystamin funnet å øke nivåene av visse nevrobeskyttende proteiner. Men på grunn av dagens metoder og formler for levering av cystamin, vil nedbrytning og dårlig opptak kreve for høye doser.

[0049] I dag er cysteamin godkjent av FDA kun for bruk ved behandling av cystinose. Pasienter med cystinose er normalt pålagt å innta cysteamin hver 6. time. Ideelt sett ville en effektiv kontrollert-frigjøring i utformingen av cysteamin, med administrering kanskje to ganger daglig, kunne forbedre livskvaliteten for disse pasientene.

[0050] Preparatene ifølge foreliggende beskrivelse kan inneholde en hvilken som helst cysteamin eller cysteamin-salt. Virkestoffene i preparatet, dvs. cysteamin, kan administreres i form av et farmakologisk akseptabelt salt, amid, promedikament eller analog, eller som en kombinasjon av disse. Salter, amider, promedikamenter og analoger av de virkestoffene kan fremstilles ved hjelp av standardprosedyrer som er kjent for fagkyndige på området syntetisk organisk kjemi, og er beskrevet, for

eksempel av J. March, "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms og Structure , "4th Ed. (New York: Wiley-Interscience, 1992). For eksempel blir basiske addisjonssalter fremstilles fra det nøytrale stoffet ved hjelp av konvensjonelle midler, som involverer reaksjonen av en eller flere av det aktive middel er frie

- 5 hydroksylgrupper med en egnet base. Vanligvis er den nøytrale formen av stoffet oppløst i et polart organisk oppløsningsmiddel, som metanol eller etanol, og basen tilsettes dette. Det resulterende saltet vil enten utfelles, eller kan bringes ut av oppløsningen ved tilsetning av et mindre polart løsemiddel. Egnede baser for å danne basiske addisjonssalter inkluderer uorganiske baser, slik som natriumhydroksid, kaliumhydroksid, ammoniumhydroksid, kalsiumhydroksid, og trimetylamin.
- 10 Fremstilling av estere involverer funksjonalisering av hydroksylgrupper som kan være tilstede i den molekylære struktur av stoffet. Esterene er typisk acyl-substituerte derivater av frie alkoholgrupper, *dvs.*, molekyldeler som er utledet av karboksylsyrer med formel R-COOH hvor R er alkyl, og typisk er et lavere alkyl. Estere kan omformes
- 15 til frie syrer, hvis ønskelig, ved hjelp av konvensjonell hydrogenolyse- eller hydrolyseprosedyrer. Fremstilling av amider og promedikamenter kan utføres på analog måte. Andre derivater og analoger av de aktive midlene kan fremstilles ved hjelp av standardteknikker kjent for fagfolk på området syntetisk organisk kjemi, eller de kan utledes ved henvisning til relevant litteratur.

20

[0051] Metodene for preparatene i beskrivelsen gir videre gi magesaftresistente preparater som resulterer i mindre hyppig dosering (2 g. day mot 4 g./dag), økt pasient-compliance og færre gastrointestinale bivirkninger (*f.eks.* smerte, halsbrann, syreproduksjon, oppkast) og andre bivirkninger (*f.eks.* at pasientene lukter som råtne egg -. et bestemt "compliance"-problem når individene når puberteten). Beskrivelsen gir gastroresistente cysteamin-preparater (sulfhydryl/CYSTAGON ®) og cystamin-preparater.

25

- [0052]** Beskrivelsen gir metoder til bruk ved behandling av pasienter som lider av ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH).
- 30

[0053] Effektiviteten til den metode eller det preparat som er beskrevet her, kan vurderes, for eksempel ved å måle leukocyt-cystin-konsentrasjoner. Andre metoder for å måle produktiviteten til metodene i beskrivelsen, er å vurdere lindring av

35 symptomer knyttet til fettlevversykdom, inkludert leverfibrose, fettinnholdet i leveren, forekomsten av eller progresjon av cirrhose (skrumplever), forekomst av leverkreft, forhøyede lever-aminotransferasenivåer, økt alanin aminotransferase (ALT), økt

aspartat aminotransferase (AST), forhøyet serum ferritin. Justering av doseringen og terapien kan gjøres av en medisinsk spesialist, basert på for eksempel, alvorlighetsgraden av fettlever sykdommen og/eller konsentrasjonen av cystin. For eksempel vil behandling av fettlever sykdom kunne gi reduksjon i

- 5 levertransaminaseforhøyninger på omtrent 10 % til 40 % i forhold til nivåene før behandling. I en tilknyttet utførelsesform er behandlingsresultatene på alanin-aminotransferasenivåene, i pasienter som behandles, kunne være omkring 30 %, 20 % eller 10 % over normale ALT-nivåer, eller normale ALT-nivåer. I enda en annen utførelsesform kan administrering resultere i en reduksjon i nivåene av alanin- eller
- 10 aspartat-aminotransferase, i pasienter som behandles, til omkring 30 %, 20 % eller 10 % over normale ALT-nivåer, eller til normale ALT-nivåer.

- [0054]** Beskrivelsen drøfter metoder for behandling av NASH ved hjelp av cysteaminer, gjennom å redusere oksidativt stress forårsaket av reaktive
- 15 oksygentyper (ROS) i steatohepatitt. Cysteamin kan oppnå dette gjennom direkte eller indirekte evne til å øke glutathion-nivåene i leveren. Glutathion har en beskyttende effekt mot oksidativ skade, men trenger ikke selv lett inn i cellene, selv når det gis i store mengder. Forløpere til glutathion, trenger derimot inn i celler, og inkluderer cystein, N-acetylcystein, metionin og andre svovelholdige forbindelser, så som
- 20 cysteamin (Prescott et al, Int J Med Res 1976; Fire (4 Suppl) :112-7).

- [0055]** Preparatene i foreliggende beskrivelse, kan brukes i kombinasjon med et annet virkestoff, eller andre behandlinger som er nyttige i behandlingen av NASH. For eksempel kan Cysteamin-preparater administreres sammen med legemidler som
- 25 glitazoner/Tiazolidindioner som motvirker insulinresistens, inkludert mesylat (troglitazon (Rezulin ®)), rosiglitazon (Avandia ®), pioglitazon (Actos ®), samt andre stoffer, inkludert, metformin, Sulfonylurea, Alpha-glukosidasehemmere, meglitinider, vitamin E, tetrahydrolipstatin (XENICAL ™), melketistelprotein (SILIPHOS ®), og anti-virale stoffer.

30

- [0056]** Andre behandlinger som reduserer bivirkningene av cysteaminer kan kombineres med metodene og preparatene i denne beskrivelsen, for å behandle sykdommer og lidelser som er tilskrevet eller et resultat av NASH. Fosfattap i urin, for eksempel, innebærer rakitt, og det kan være nødvendig å gi et fosfattilskudd. Karnitin
- 35 tapes i urin, og blodnivåene er lave. Karnitin lar fett brukes av musklene for å gi energi. Hormontilskudd er noen ganger nødvendig. Noen ganger skjoldbruskkjertelen ikke produserer nok thyreoideahormoner. Dette gis som tyroksin (drops eller

tabletter). Insulin behandling er noen ganger nødvendig hvis diabetes oppstår, når bukspyttkjertelen ikke produserer nok insulin. Disse behandlingene er blitt sjelden nødvendig hos barn som behandles med cysteamin, siden behandlingen beskytter skjoldbruskkjertelen og bukspyttkjertelen. Enkelte unge gutter vil ha behov for testosteronbehandling hvis puberteten er forsinket. Veksthormonterapi kan være forslås dersom veksten ikke er tilstrekkelig, til tross for god hydro elektrolytt-balanse. Som følge av dette kan slik behandling kombineres med cysteamin og metodene i beskrivelsen. Andre behandlingsformer inkludert bruk av omeprazol (PRILOSEC®), kan redusere uønskede symptomer som påvirker fordøyelseskanalen.

[0057] Beskrivelsen viser cysteaminer som er nyttige ved NASH. For å administrere cysteamin i beskrivelsen til mennesker eller forsøksdyr, er det foretrukket å formulere cysteaminet i et preparat som inneholder én eller flere farmasøytisk akseptable bærere. Som angitt ovenfor, viser farmasøytisk eller farmakologisk akseptable bærere eller vehikler til molekylære enheter og preparater som ikke gir allergiske eller andre bivirkninger når de administreres ved hjelp av de rutene som er velkjente innen faget, slik som beskrevet nedenfor, eller er godkjent av US Food and Drug Administration eller et en tilsvarende utenlandsk tilsynsmyndighet, som et akseptabel tilsetningsstoff til oralt eller parenteralt administrerte legemidler. Farmasøytisk akseptable bærere omfatter ethvert klinisk nyttige løsemidler, fordelingsmiddel, belegg, antibakterielle- og soppdrepende midler, isotoniske og absorpsjonsforsinkende agenter.

[0058] Farmasøytiske bærere inkluderer farmasøytisk akseptable salter, spesielt der en basisk eller sur gruppe er tilstede i en forbindelse. For eksempel, når en sur substituent, slik som - COOH, er til stede, vil ammonium-, natrium-, kalium- og kalsiumsalter innbefattes for administrering. I tillegg vil man, når det er en syregruppe er tilstede, innbefattes som farmasøytisk akseptable estere i forbindelsen (*f.eks.* Metyl, tert-butyl, pivaloyloksymetyl-, og succinyl) som foretrukne former av forbindelsene, idet slike estere er kjent i faget for å modifisere løselighet og / eller hydrolyseprodukter egenskaper, for anvendelse som vedvarende frigjøring eller promedikament-preparater.

[0059] Når en basisk gruppe (for eksempel amino- eller en basisk heteroarylrest, slik som pyridyl) er til stede vil et surt salt, slik som hydroklorid, hydrobromid, acetat, maleat, pamoat, fosfat, metansulfonat og p- toluen-sulfonat, innbefattes som en form for administrering.

[0060] I tillegg kan forbindelsene danne oppløsninger med vann eller vanlige organiske oppløsningsmidler. Slike oppløsninger er innbefattet.

- 5 **[0061]** at cysteaminet kan administreres oralt, parenteralt, trans-okulært, intranasalt, transdermalt, transmukosalt, ved inhaleringsspray, vaginalt, rektalt eller ved intrakranial injeksjon. Begrepet parenteralt slik det blir anvendt her, innbefatter subkutane injeksjoner, intravenøs, intramuskulær, intracisternal injeksjon eller infusjonsteknikker. Administrasjon ved intravenøs, intradermal, intramuskulær, 10 intramammært, intraperitonealt, intratekalt, retrobulbart, intrapulmonær injeksjon, og/eller kirurgisk implantasjon på et bestemt område overveies også. Generelt er preparater for administrering ved hvilken som helst av de ovennevnte metoder i det vesentlige fri for pyrogener, så vel som andre urenheter som kan være skadelige for mottakeren. Videre er preparater for administrering parenteralt sterile.
- 15 **[0062]** Farmasøytiske preparater ifølge foreliggende beskrivelse inneholder et cysteamin som virkestoff, og kan inneholde farmasøytisk akseptable bærere eller tilsetningsstoffer, avhengig av administreringsmåten. Eksempler på slike bærere eller tilsetningsstoffer omfatter vann, et farmasøytisk akseptabelt organisk løsningsmiddel, 20 kollagen, polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon, en karboksyvinylpolymer, karboksymetylcellulose-natrium, natrium-polyakrylsyre, natriumalginat, vannløselig dekstran, natrium-stivelse, pektin, metylcellulose, etyl- cellulose, xantangummi, gummi arabicum, kasein, gelatin, agar, diglycerin, glyserin, propylenglykol, polyetylenglykol, vaselin, parafin, stearylalkohol, stearinsyre, humant serumalbumin 25 (HSA), mannitol, sorbitol, laktose, og et farmasøytisk akseptabelt overflateaktivt middel. Tilsetningsstoffer som brukes, er valgt ut fra de ovenfor angitte, eller, der dette er hensiktsmessig kombinasjoner derav, avhengig av doseringsformen i beskrivelsen.
- 30 **[0063]** Utforming av det farmasøytiske preparatet vil variere med valgt tilførselsvei (f.eks løsning, emulsjon). Et passende preparat omfattende cysteamin som skal administreres, kan fremstilles i en fysiologisk akseptabel vehikkel eller bærer. For løsninger eller emulsjoner, vel egnede bærere innbefatte, for eksempel, vandige eller alkoholiske /vandige oppløsninger, emulsjoner eller suspensjoner, inkludert saltvann 35 og bufrede medier. Parenterale vehikler kan omfatte natriumkloridoppløsning, melkesur Ringers dekstrose, dekstrose og natriumklorid, laktert Ringers eller fikserte

oljer. Intravenøse vehikler kan omfatte ulike tilsetningsstoffer, konserveringsmidler, eller væske, næringsstoffer eller elektrolyttmiddel.

[0064] En rekke vandige bærere, *f.eks.* vann, bufret vann, 0,4% saltvann, 0,3% glycin, eller vandige suspensjoner kan inneholde virkestoffet i blanding med eksipiensers egnet for fremstillingen av vandige suspensjoner. Slike eksipienter er suspensjonsmidler, for eksempel natrium-karboksymetylcellulose, metylcellulose, hydroksypropylmetylcellulose, natriumalginat, polyvinylpyrrolidon, tragantgummi og akasiegummi; dispergerings- eller fuktemidler kan være et naturlig forekommende fosfatid, for eksempel lecitin, eller kondensasjonsprodukter av et alkylenoksyd med fettsyrer, for eksempel polyoksyetylenstearat, eller kondensasjonsprodukter av etylenoksyd med langkjedede alifatiske alkoholer, for eksempel heptadekaetylenoksycetanol, eller kondensasjonsprodukter av etylenoksyd med partielle estere avledet fra fettsyrer og en heksitol så som polyoksyetylen-sorbitol-monooleat, eller kondensasjonsprodukter av etylenoksyd med partielle estere avledet fra fettsyrer og heksitolanhydrid, for eksempel polyetylen-sorbitan-monooleat. De vandige suspensjoner kan også inneholde ett eller flere konserveringsmidler, for eksempel etyl- eller n-propyl, p-hydroksybenzoat, ett eller flere fargemidler, ett eller flere smakstilsetninger, og ett eller flere søtningsmidler, slik som sukrose eller sakkarin.

[0065] I noen utførelsesformer kan cysteamin i denne beskrivelsen lyofiliseres for lagring, og rekonstitueres i en egnet bærer før bruk. Ethver egnet teknikk for lyofilisering og rekonstituering kan anvendes. Det er anerkjent av fagfolk på området, at lyofilisering og rekonstituering kan føre til varierende grader av virkning, og at bruksnivåer kan måtte justeres for å kompensere.

[0066] Dispergerbare pulvere og granuler egnet for fremstilling av en vandig suspensjon ved tilsetning av vann, gir den aktive forbindelse i blanding med et dispergerings- eller fuktemiddel, suspenderingsmiddel, og ett eller flere konserveringsmidler. Passende dispergerings- eller fuktingsmidler og suspenderingsmidler, er gitt eksempler på i de som allerede er nevnt ovenfor. Ytterligere eksipienter, for eksempel søtnings-, smaks- og fargemidler, kan også være tilstede.

35

[0067] I en utførelsesform angir beskrivelsen bruk av en gastroresistent cysteamin. Gastroresistente belegg forlenger frigjøringen helt til cysteaminet når tarmen,

vanligvis i tynntarmen. På grunn av det gastroresistente belegget, forbedres leveringen til tynntarmen ved å forbedre opptak av den virkestoffet, og samtidig redusere gastriske bivirkninger.

- 5 **[0068]** I andre utførelsesformer, velges belegget slik at det terapeutiske virkestoffet frigjøres når preparatet når tynntarmen, eller et område av mage-tarmkanalen til individet, der pH er høyere enn pH 4,5. Belegget kan være et pH-følsomt materiale, som forblir intakte i de lavere pH-omgivelser i magen, men som smules opp eller går i oppløsning ved den pH som vanligvis finnes i tynntarmen til pasienten. For eksempel,
- 10 begynner det gastroresistente beleggmaterialiet til å oppløses i en vandig løsning ved pH mellom ca. 4,5 og 5,5. For eksempel vil pH-følsomme materialer ikke gjennomgå betydelig oppløsning inntil doseringsformen er tømt fra magen. PH i tynntarmen øker gradvis fra omtrent 4,5 til omtrent 6,5 i tolvfingertarmen, til omtrent 7,2 i de distale deler av tynntarmen. For å gi forutsigbar oppløsning tilsvarende tynntarmens transittid
- 15 på ca. 3 timer (*f.eks.*, 2-3 timer) og gi en reproducerbar frigjøring i denne, bør belegget begynner å løses opp ved pH-området i tynntarmen. Derfor bør mengden av gastroresistent polymerbelegg være tilstrekkelig til i det alt vesentlige oppløses i løpet av de tilnærmede tre timers transittid i tynntarmen, slik som for- og midttarmen.
- 20 **[0069]** Gastroresistente belegg har vært brukt i mange år for å stanse frigivelsen av medikamenter fra orale doseringsformer. Avhengig av sammensetningen og/eller tykkelsen, vel det gastroresistente belegget være motstandsdyktig mot magesyre i det nødvendige tidsrom før de begynner å gå i oppløsning og lar medikamentet frigjøres i den nedre del av magen eller øvre del av tynntarmen. Eksempler på gastroresistente
- 25 belegg, er beskrevet i U.S. Pat. No 5225202. Som angitt i Amerikansk Pat. Nr 5225202, er noen eksempler på belegg som tidligere har vært i bruk, bivoks og glycerylmonostearat; bivoks, skjellakk og cellulose, og cetylalkohol, mastiks og skjellakk, så vel som skjellakk og stearinsyre (Amerikansk patent. Nr. 2809918); polyvinyl acetat og etylcellulose (Amerikansk Pat.r. Nr. 3835221) og nøytral
- 30 kopolymer av polymetakrylsyre syreestere (Eudragit L30D) (FW Goodhart et al, Pharm.. Tech., s. 64-71, april 1984), kopolymerer av metakrylsyre og metakrylsyre-metylester (Eudragit), eller en nøytral kopolymer av polymetakrylsyre-estere inneholdende metalliske stearater (Mehta et al, Amerikansk patent. Nr. 4728512 og 4794001). Slike belegg omfatter blandinger av fett og fettsyrer, skjellakk og sjellakk
- 35 derivater, og cellulose syre ftalater, *f.eks.*, slike som har ledig karboksyl-innhold. Se, Remington er på side 1590, og Zeitova et al. (Amerikansk Pat. No 4432966) for beskrivelser av egnede Gastroresistente beleggsammensetninger. Følgelig kan økt

adsorpsjon i tynntarmen på grunn av Gastroresistente belegg av cysteamin-preparater, gi bedre effektivitet.

[0070] Generelt består det gastroresistente belegget av et polymert materiale som forhindrer frigjøring i det lave pH-miljøet i magesekken, men som ioniserer ved en litt høyere pH-verdi, vanligvis en pH på 4 eller 5, og således oppløses tilstrekkelig i den tynntarmen til å gradvis frigjøre virkestoffet der. Følgelig er polysyrer som har en pKa i området fra omkring 3 til 5 blant de mest effektive enteriske belegningsmaterialene. Egnede Gastroresistente beleggmaterialer inkluderer polymerisert gelatin, skjellakk, metakrylsyre kopolymer type C NF, cellulose-butyrate-ftalat, cellulose-hydrogen-ftalat, cellulose propionate-ftalat, polyvinylacetat-ftalat (PVAP), celluloseacetat-ftalat (CAP), celluloseacetat trimellitate (CAT), hydroksypropylmetylcellulose-ftalat, hydroksypropylmetylcellulose acetat, succinat dioxypopyl metylcellulose, karboksymetyl-etylcellulose (CMEC), hydroksypropylmetylcellulose acetat succinat (HPMCAS), og akrylsyrepolymere og kopolymerer, som typisk er dannet fra metylakrylat, etylakrylat, metylmetakrylat og/eller etylmetakrylat med kopolymerer av akryl- og metakryl-syreestere (Eudragit NE, Eudragit RL, Eudragit RS). For eksempel kan det Gastroresistente belegget innbefatte Eudragit L30D, trietylцитrat, og hydroksypropylmetylcellulose (HPMC), hvor belegget utgjør 10 til 13 % av sluttproduktet.

[0071] I én utførelsesform vil cysteamin administreres i tablettform. Tablettene er framstilt ved å først belegge cysteaminet fullstendig. En fremgangsmåte for å forme tabletter her, er ved direkte kompresjon av de pulvere som inneholder det gastroresistent cysteaminet, eventuelt i kombinasjon med fortynningsmidler, bindemidler, smøremidler, desintegrerende midler, fargestoffer, eller stabilisatorer. Som et alternativ til direkte kompresjon, kan komprimerte tabletter fremstilles ved bruk av våt-granulering-, eller tørr-granulering-prosesser. Tabletter kan også være støpt i stedet for komprimert, der man starter med et fuktig materiale som inneholder et egnet vannoppløselig smøremiddel.

[0072] I noen utførelsesformer har cysteaminet en forsinket eller kontrollert frigjøring som gir en C_{max} på cysteaminet som er minst 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, eller 100% høyere enn C_{max} som gis av en doseringsform med direkte dosering, med samme mengde cysteamin. I noen utførelsesformer, er C_{max} opp til 75 %, 100 %, 125 % eller 150 % høyere enn C_{max} i

dosering med direkte frigjøring. $C_{\max}$ refererer til den høyeste dose av cysteamin i blodet etter dosering og gir en indikator på at medikamentet absorberes systemisk.

[0073] I noen utførelsesformer økes også AUC ved forsinket eller kontrollert

- 5 frigjøring med minst 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, eller 50 %, eller opp til omtrent 50 %, 60 %, 75 % eller 100 % i forhold til doseringsform med direkte frigjøring. AUC eller "areal under kurven" viser til den kinetisk kurven utledet når plasmakonsentrasjon versus tid måles etter dosering av et medikament.
- 10 **[0074]** Fremstillingen av forsinket, kontrollert eller vedvarende/forlenget frigjøringsformer av farmasøytiske preparater, med de ønskede farmakokinetiske kjennetegn, er kjent innen området, og kan oppnås gjennom en rekke metoder. For eksempel vil oralt kontrollerte leveringssystemer inkluderer oppløsnings-kontrollert frigjøring (*f.eks.*, Innkapsling, oppløsningskontroll, eller matrise oppløsningskontroll),
- 15 diffusjons-kontrollert frigjøring (reservoarenheter eller matriseenheter), ion-utvekslende, osmotisk kontrollert frigjøring eller gastroretentive systemer. Oppløsningskontrollert frigjøring kan oppnås, *f.eks.*, ved å forsinke oppløsningshastigheten av et medikament i mage-tarmkanalen, ved å ta medikamentet inn i et oppløsbart polymer, og så belegg medikamentpartiklene eller
- 20 granulatene med polymere materialer av varierende tykkelse. Diffusjonskontrollert frigjøring kan oppnås, *f.eks.*, ved å styre diffusjon gjennom en polymer-membran eller en polymermatrise. Osmotisk kontrollert frigjøring kan oppnås, *f.eks.*, ved å kontrollere løsningsmidelets tilstrømning på tvers av en semipermeabel membran, som i sin tur bærer stoffet utenfor gjennom en laser-boret åpning. De osmotiske og
- 25 hydrostatiske trykkforskjellene på begge sider av membranen vil styre væsketransport. Langvarig gastrisk retensjon kan oppnås ved, *f.eks.*, å endre tettheten på formuleringene, bioadhesjonen til mageslimhinnen, og økende flytid i magen. For ytterligere detaljer, se Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Wise, red., Marcel Dekker, Inc., New York, NY (2000), inkludert som
- 30 referanse i denne avtalen i sin helhet, *f.eks.* Kapittel 22 ("An Overview of Controlled Release Systems").

[0075] Konsentrasjonen av cysteamin i disse formuleringene kan variere sterkt, for eksempel fra mindre enn omtrent 0,5%, vanligvis ved eller minst omkring 1% til så

35 mye som 15 eller 20 vekt% og er valgt først og fremst basert på væskevolum, produksjons-egenskaper, viskositeter, etc., i samsvar med den spesifikke administrasjonsmåten som er valgt. Aktuelle metoder for fremstilling av

administrerbare preparater, er kjente eller åpenbare for fagfolk på området, og er beskrevet i mer detalj i f.eks. Remington 's Pharmaceutical Science, 15th Ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa (1980).

- 5 **[0076]** Cysteaminet er til stede i en terapeutisk effektiv mengde, vanligvis, i enhetsdoseform. Mengden av cysteamin som administreres, vil selvfølgelig være avhengig av alder, vekt og generell tilstand til pasienten, alvorlighetsgraden til tilstanden som blir behandlet, og vurderingen til foreskrivende - lege. Egnede terapeutiske mengder vil være kjent for fagfolk på området og/eller er beskrevet i de
- 10 vedlagte referansetekstene og litteraturen. Aktuelle doser som ikke er gastroresistente er omkring 1,35 g/m² kroppsoverflate, og administreres 4-5 ganger per dag. I en utførelsesform, administreres dosen enten en gang per dag eller flere ganger per dag. Cysteaminet kan administreres en, to eller tre eller fire eller fem ganger per dag. I noen utførelsesformer kan en effektiv dose av cysteamin være innen området 0,01
- 15 mg til 1000 mg per kg (mg/kg) kroppsvekt pr dag. Videre kan den effektive dosen være 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, og kan øke med 25 mg / kg trinnvis opp til 1000
- 20 mg / kg, eller kan være i området mellom hvilke som helst to av de ovennevnte verdiene. I noen utførelsesformer blir cysteamin administrert ved en total daglig dose på fra omtrent 0,25 g / m² til 4,0 g / m² kroppsoverflate, f.eks. minst ca. 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 eller 2 g/m², eller opp til ca 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,
- 25 eller 3,5 g/m². I noen utførelsesformer kan cysteamin administreres i en total daglig dose på omtrent 1-1,5 g/m² kroppsoverflate, eller 0,5-1 g/m² kroppsoverflate, eller omtrent 0,7-0,8 g/m² kroppsoverflate, eller ca 1,35 g/m² kroppsoverflate. Salter av det samme virkestoffet kan variere med hensyn til molekylvekt, avhengig av type og vekt av saltets funksjonelle gruppe. For administrasjon av doseringsformen, f.eks. en
- 30 tablett eller kapsel eller en annen oral doseringsform, som omfatter det gastroresistente cysteaminet, brukes en totalvekt i området fra omkring 100 mg til 1000 mg. Doseringsformen administreres oralt til en pasient som lider av NASH, hvor en cysteamin ville være indikert. Administrasjonen kan fortsette i minst tre måneder, seks måneder, ni måneder, ett år, to år, eller mer.

35

[0077] Sammensetninger som er nyttige for administrasjon kan formuleres med opptak eller absorpsjonforsterkere for å øke deres effektivitet. Slik forsterkere

inkluderer for eksempel salicylat, glykokolat/linoleat, glykolat, aprotinin, bacitracin, SDS, og kaprat. Se, *f.eks.*, Fix (J. Pharm. Sci., 85:1282-1285, 1996) og Oliyai og Stella (Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32:521-544, 1993).

- 5 **[0078]** Det gastroresistente cysteaminet kan omfatte forskjellige hjelpestoffer, som vel kjent innen den farmasøytiske teknikken, forutsatt at slike hjelpestoffer ikke har en destabiliserende effekt på noen av komponentene i preparatet. Således kan hjelpestoffer, slik som bindemidler, fyllstoffer, fortynningsmidler, desintegrerende midler, smøremidler, fyllstoffer og bærere, være kombinert med cysteamin. For faste
- 10 preparater, er fortynningsmidler vanligvis nødvendig for å øke kvantumet av en tablett, slik at en praktisk størrelse gis til komprimering. Egnede fortynningsmidler omfatter dikalsiumfosfat, kalsiumsulfat, laktose, cellulose, kaolin, mannitol, natriumklorid, tørr stivelse og pulverisert sukker. Bindemidler brukes for å gi kohesive
- 15 kvaliteter (holde sammen) til en tablettformulering, og således sikre at en tablett forblir intakt etter komprimering. Egnede bindemiddel-materialer inkluderer, stivelse (inkludert maisstivelse og pregelatinisert stivelse), gelatin, sukkere (inkludert sukrose, glukose, dekstrose og laktose), polyetylenglykol, voks, og naturlige og syntetiske gummier, f.eks, Akasie natriumalginat, polyvinylpyrrolidon, celluloseholdige
- 20 polymerer (inkludert hydroksypropylcellulose, hydroksypropylmetylcellulose, metylcellulose og hydroksyetylcellulose) og Veegum. Smøremidler brukes for å lette tablett framstillingen. Eksempler på egnede smøremidler inkluderer for eksempel magnesiumstearat, kalsiumstearat og stearinsyre, og er vanligvis til stede på ikke mer enn som omtrent 1 vekt-prosent i forhold til tablettvekten. Disintegranter er brukt for
- 25 å lette oppløsningen av tablett eller "oppsmuldringen" etter administrering, og er generelt stivelser, leirer, celluloser, alginer, gummier og tverrbundne polymerer. Om ønsket kan det farmasøytiske preparat som skal administreres også inneholde mindre mengder av ikke-toksiske hjelpesubstanser så som fuktemidler eller emulgeringsmidler, pH-bufringsmidler, for eksempel natriumacetat, sorbitan-monolaurat, trietanolamin-natriumacetat, trietanolaminoleat og. Om ønskelig kan man
- 30 også tilsette smaks-, farge- og/eller søtningsmidler. Andre valgfrie komponenter for inkorporering i et oral preparat, som er beskrevet her, inkluderer konserveringsmidler, suspensjonsmidler og tykningsmidler. Fyllstoffer innbefatter, for eksempel, uoppløselige materialer slik som silisiumdioksyd, titanoksyd, aluminiumoksyd, talkum, kaolin, pulverisert cellulose, mikrokrySTALLinsk cellulose, så vel som oppløselige stoffer,
- 35 så som mannitol, urea, sukrose, laktose, dekstrose, natriumklorid, og sorbitol.

[0079] Et farmasøytisk preparat kan også omfatte et stabiliserende middel, slik som

hydroksypropyl-metylcellulose eller polyvinylpyrrolidon, som beskrevet i amerikansk Pat . Nr. 4301146. Andre stabiliseringsmidler inkluderer cellulosepolymerer, slik som hydroksy-propylcellulose, hydroksy-etylcellulose, metyl-cellulose, etylcellulose, celluloseacetat, celluloseacetatftalat, celluloseacetat-trimellitate,

- 5 hydroksypropylmetylcellulose-ftalat, mikrokrySTALLinsk cellulose og karboksymetylcellulose-natrium, og vinyl-polymerer og-kopolymerer slik som polyvinyl acetat, polyvinylacetat ftalat, vinylacetat krotonsyre kopolymer og etylen-vinylacetat-kopolymerer. Det stabiliserende middelet er tilstede i en mengde som er effektiv for å gi den ønskede stabiliserende virkning, som regel betyr dette at forholdet mellom
- 10 cysteamin og det stabiliserende middel er minst ca 1:500 vekt/vekt, mer vanlig 1:99 vekt/vekt.

- [0080]** Tablettene kan framstilles ved å først trekke cysteaminet fullstendig med gastroresistent middel. En fremgangsmåte for å framstille tabletter her, er ved direkte
- 15 kompresjon av de pulvere som inneholder det gastroresistent cysteaminet, eventuelt i kombinasjon med fortynningsmidler, bindemidler, smøremidler, desintegrerende midler, fargestoffer, eller stabilisatorer. Som et alternativ til direkte kompresjon, kan komprimerte tabletter framstilles ved bruk av våt-granulering-, eller tørr-granulering-prosesser. Tabletter kan også være støpt i stedet for komprimert, der man starter
- 20 med et fuktig materiale som inneholder et egnet vannoppløselig smøremiddel.

- [0081]** I en alternativ utførelsesform er de gastroresistente cysteaminene granulert og granulatet komprimeres til en tablett, eller fylles i en kapsel. Kapselmateriale kan være enten harde eller myke, og vil typisk være forseglet, for eksempel med eller
- 25 gelatinbundet. Tabletter og kapsler for oral bruk vil generelt inkludere en eller flere vanlige eksipienter som angitt i dette dokumentet.

- [0082]** For administrasjon av doseringsformen, f.eks. en tablett eller kapsel eller som omfatter det gastroresistente cysteaminet, brukes en totalvekt i området fra
- 30 omkring 100 mg til 1000 mg. Doseringsformen administreres oralt til en pasient som lider av NASH.

- [0083]** Preparatene i foreliggende beskrivelse, kan brukes i kombinasjon med et annet virkestoff, eller andre behandlinger som er nyttige i behandlingen av NAFL og
- 35 NASH. For eksempel kan antioksidanter som glycyrrhizin, Schisandra ekstrakt, askorbinsyre, glutatation, silymarin, liponsyre, og d-alfa-tokoferol, og parenteral administrering til individet glycyrrhizin, askorbinsyre, glutatation, og vitamin B-kompleks

administreres i kombinasjon (enten samtidig i en enkelt sammensetning, eller i separate sammensetninger). Alternativt kan en kombinasjon av terapeutiske midler administreres sekvensielt.

- 5 **[0084]** Effektiviteten til en metode eller preparat i beskrivelsen kan vurderes ved å måle fettsyreinnhold og metabolisme i leveren. Justering av doseringen og terapien kan gjøres av en medisinsk spesialist, basert på for eksempel, alvorlighetsgraden av NASH.
- 10 **[0085]** I tillegg kan ulike promedikamenter bli "aktivert" ved bruk av gastroresistent cysteamin. Promedikamenter er farmakologisk inerte, gjør ikke noe i seg selv i kroppen, men når de har blitt absorbert, brytes promedikamentet ned. Den promedikament-tilnærmingen har vært brukt med hell i et antall terapeutiske områder som omfatter antibiotika, antihistaminer og ved sårbehandlinger. Fordelen med å
- 15 bruke promedikamenter, er at virkestoffet er kjemisk kamuflert og ingen virkestoffer frigjøres før stoffet har passert ut av tarmen og inn i cellene i kroppen. For eksempel bruker mange promedikamenter S-S bindinger. Svake reduksjonsmidler, for eksempel cysteamin, reduserer disse bindingene og frigjør stoffet. Følgelig vil preparatene i denne beskrivelsene være nyttige i kombinasjon med pro-medikamenter for
- 20 tidsbestemt frigjøring av medikament. I dette aspekt, kan et pro-medikament administreres etterfulgt av administrering av et gastroresistent cysteamin-preparat ifølge foreliggende beskrivelse (på et ønsket tidspunkt) for å aktivere pro-medikamentet.

EKSEMPLER

25 **SAMMENLIGNENDE EKSEMPEL 1**

- [0086] Formulering av gastroresistent cysteamin.** Internasjonal publikasjon nr. WO 2007/089670 beskrev administrasjon av cysteamin til cystinose-pasienter som ved hjelp av nasoenterisk sonde, for bestemme effekten av enterisk administrasjon på
- 30 forbedringer i cystinose-pasienter. WO 2007/089670 viste at enterisk administrasjon av cysteamin forbedret absorpsjonshastigheten av cysteaminet, og økte plasma cysteamin-nivåer. Enterisk administrasjon reduserte også nivåene av cystin i leukocytter. Disse resultatene viste at enterisk cysteamin var mer effektivt enn oralt administrert cysteamin.

[0087] Et gastroresistent preparat av cysteamin (CYSTAGON-EC) ble utviklet for å oppnå mer effektiv og enklere administrasjon. CYSTAGON ® kapsler (Sandoz Laboratories Inc., PA, USA) ble gastroresistent ved anvendelse av en Model 600 Wurster beleggingsenhet med et 4/6 " beleggingskammer. Beleggmaterialet er Eudragit L30 D-55, Rohm GmbH & Co KG, Darmstadt, Tyskland) og det gastroresistente stoffet ble innkapslet (The Coating Place Inc, Verona, WI, Føderal fasilitet nummer 2.126.906). Kapslene ble produsert ved bruk av FDA-godkjente anlegg og materialer.

[0088] Gastroresistent belegg ble testet *in vitro* for å verifisere uoppløseligheten til kapslene i magesyre. Testing ble utført ved å plassere kapslene i 100 ml 0,1 N HCl-oppløsning i 2 timer ved 37 ° C. Kapslene anses å være akseptable når mindre enn 10 % av cysteaminet frigjøres. Etter 2 timer ble pH i oppløsningen heves til pH 6,8 med NaHCO₃ -buffer. Kapslene anses å være akseptable dersom minst 80 % av cysteaminet blir frigjort 2 timer.

[0089] Seks voksne kontrollsubjekter og seks pasienter med cystinose er blitt studert ved bruk av CYSTAGON-EC. Plasma cysteamin-nivåene var høyere når pasienten tok CYSTAGON-EC enn da de tok det vanlige cysteaminet (CYSTAGON ®) forberedelse. I tillegg, når cystinose-pasientene tok CYSTAGON-EC holdt cystinnivåene i de hvite blodlegemene i 12 timer seg på ca <0.2, og vanligvis under 1 nmol av halv-cystin/mg protein, noe som tyder på at denne nye formuleringen av cysteamin er effektiv når den gis to ganger daglig.

EKSEMPEL 2

[0090] Administrering av Cysteamin til pasienter som lider av fettlevversykdom. Administrering av cysteamin har vist seg å lindre symptomer på cystinose ved å redusere nivåene av skadelig cystin. For å bestemme effekten av cysteamin på fibrosen som forårsaker leverskader i NASH pasienter, ble en åpen-etikett, ikke-randomisert pilotstudie av 12 barn og unge med ikke-alkoholisk fettlevversykdom som ble behandlet med gastroresistent cysteamin utført.

[0091] Pasienter med diagnosen NASH, som har gjort endringer i livsstilen (for eksempel kosthold og trening) i minst tre måneder, blir brukt for studien. En full sykehistorie og fysisk undersøkelse blir samlet inn. En symptomscore utviklet for syre-peptisk sykdom, og som tidligere er brukt på barn som tar cysteamin, anvendes.

Blodprøver tas for leverfunksjonene, inkludert levertransaminaser, alkalisk fosfatase, bilirubin og gamma-GT. Blodprøver tas også for komplett blodprosent, ESR, CRP, fastende insulin og fastende lipid- og kolesterol- profil, markører for oksidativt stress og leverfibrose (totalt 15 ml) Pasientenes vekt registreres.

5

[0092] Studiens inngangsnivå for ALT er definert som ≥ 60 IE/L, og vellykket respons på behandlingen er normalisering eller $> 35\%$ reduksjon i hepatisk transaminasenivå. En normal ALT-nivå er definert som 40 IE/L. Individer som starter å ta gastroresistent cysteamin to ganger daglig med en total daglig dose på 1 g/m^2 kroppsoverflate, med

10 maksimaldose på 1000 mg to ganger daglig. Pasienter med cystinose tar normalt ta 1-
1,5 g/m^2 kroppsoverflate/dag.

[0093] Alle individer som klager på gastro-intestinale plager kan får sin daglige dose redusert med 10 %. Hvis GI-symptomer vedvarer i tre dager, til tross for en 10

15 reduksjon i dosen, vil en ytterligere 10 % reduksjon av siden tillates (til maksimalt 50 % av den opprinnelige dosen).

Hvis symptomene vedvarer til tross for maksimal reduksjon i gastroresistent cysteamindose, blir individet fjernet fra studien.

20 **[0094]** Hvis symptomene er alvorlige, kan individer avslutte studien når som helst. Hvis pasientene var satt på syredempende terapi som protonpumpehemmere, blir de bedt om å avslutte behandlingen en uke før de startet på gastroresistent cysteamin. Pasienter behandles i første omgang for tre måneder, og i maksimalt seks måneder, med gastroresistent cysteamin. Hvis en 10 - 25% reduksjon i levertransaminase-

25 nivåene blir funnet, blir behandlingen forlenget i ytterligere 3 måneder. Hvis det derimot er en $<10\%$ reduksjon i ALT-nivå etter 3 måneders terapi, vil individet ikke lenger ta del i undersøkelsen. Hvis det er en forbedring i serum levertransaminase-

30 nivåene ($> 35\%$) etter seks måneders behandling, vil pasientene følges i ytterligere seks måneder med en, fysisk undersøkelse og de samme blodprøvene gjennomført

hver måned. Jenter som har menstruasjon vil få utført en blod-graviditetstest i starten, og så hver måned i løpet av studien. Dersom det er hensiktsmessig, rådes pasientene til å beskytte seg med dobbel barriere-metoden mot graviditet.

[0095] Pasienter blir bedt om å skrive dagbok over symptomer, og vil også komme til

35 GCRC/klinikk for å få informasjon som er adskilt fra pasientens identitet i legemiddelstudien. En symptomscore utviklet for syre-peptisk sykdom, og som tidligere er brukt på barn som tar cysteamin, anvendes. Hver 4. uke får pasienter

utført nye blodprøver inkludert leverfunksjonstester, komplett blodprosent, og plasma cysteamin-nivåer (10 ml). Ved avslutningen av studien, får pasientene gjentatt alle baseline laboratorietester.

EKSEMPEL 3

- 5 **[0096]** Effekten av et cysteamin ble evaluert i en kostholdbasert dyremodell av ikke-alkoholisk fettlever sykdom (NAFLD), generelt utført som beskrevet i Otagawa et al. , Am. J.Pathol, 170 (3): 967-980 (2007). New Zealandske hvite hann-kaniner ble foret med fettrik kost (HFD) som inneholdt 20 % maisolje og 1,25 % kolesterol, for å indukere kliniske og histologiske trekk som er karakteristisk for NAFLD og ikke-
- 10 alkoholisk steatohepatitt (NASH). En pilotstudie av 7-dagers varighet ble utført med intraperitoneal (IP) dosering av cysteamin bitartrat på en tidsplan med administrasjon hver 8. time (q8h) på to dosenivåer: 75 eller 250 mg / kg / dag. En lengre studie, av 8 ukers varighet, ga cysteamin-bitartrat igjennom drikkevannet ved 25, 75 eller 250 mg/kg/dag.
- 15
- [0097]** Som nærmere omtalt nedenfor, viste data fra begge studiene at cysteamin-behandling ga en forbedring i nivåene til hepatisk transaminase (ASAT, eller AST) sammenlignet med HFD i ubehandlet kontrollgruppe. AST-forhøyning regnes som en av de klareste markørene på leverbetennelse i NAFLD og NASH. Sammenlignet med HFD-
- 20 diett kontroll dyr, ble ASAT redusert 1,6 til 1,9 ganger med cysteaminbehandling, dvs., reduksjoner på 37-47 %, henholdsvis. Dataene viste også at behandling cysteamin var forbundet med gunstige endringer i LDH, en generell markør på vevsskade, samt positive forandringer i lipidprofil-markører som total kolesterol, LDL-kolesterol og HDL-kolesterol, sammenlignet med HFD kontrollgrupper. Forbedringene som observeres i
- 25 disse kaninmodeller, støtter konklusjonen om at cysteamin-behandling av menneskelig ikke-alkoholisk fettlever sykdom (NAFLD) inkludert NASH, kan gi kliniske forbedringer.
- [0098] Pilotstudie.** I pilotstudien ble to forskjellige dosenivåer av cysteamin levert
- 30 intraperitonealt (IP) hver 8. time (Q8H i 7 dager til New Zealandske hvite kaniner foret med en fettrik diett (HFD). Hann-kaniner mellom 2,5 og 3,5 kg ble delt inn i følgende grupper: 1) kontroll standardkosthold, to dyr, 2) kontroll HFD, to dyr, 3) lav dose cysteamin bitartrat, 75 mg/kg/dag, HFD, fire dyr, og 4) høydose cysteamin bitartrat, 250 mg/kg/dag, HFD, 4 dyr. Endepunktene inkluderte daglige standard
- 35 kliniske observasjoner, kvantitativt daglig matforbruk, kroppsvekt på studie-dag (SD) -1, 2, 5 og 8 (obduksjonsdag), og blodprøver tatt på SD-1 og SD8 for evaluering av

utvalgte klinisk kjemiske mål (alanin aminotransferase (ALAT), aspartat aminotransferase (AST), amylase, lipase, total kolesterol, triglyserider, laktat dehydrogenase (LDH), høy densitets lipoprotein kolesterol (HDL-kolesterol) og lav densitets lipoprotein kolesterol (LDL-kolesterol), og fullstendig hematologisk analyse.

5 Dyrene ble avlivet på SD8.

[0099] Ingen farmakologisk viktige forskjeller ble funnet i forbindelse med de kliniske observasjoner, kroppsvekt eller hematologiske verdiene ved baseline SD-1 og SD8. De målte verdiene for ALT, amylase, lipase, Triglyserider og HDL-kolesterol var ikke
10 forskjellig mellom gruppene gjennom de syv dagene av studien. Imidlertid ble økninger observert i totalt kolesterol, LDL-kolesterol og LDH -verdier i disse dyrene foret med HFD.

[0100] Viktigere, sammenlignet med HFD kontrollgruppen, viste gruppene behandlet
15 med cysteamin forbedringer i fire serum kjemi verdier: AST, totalkolesterol, LDL-kolesterol, og LDH.

[0101] AST har blitt fremhevet som en av de beste markørene på leverbetennelse i NASH, og anses som en bedre markør enn ALAT. Sammenlignet med
20 HFD kontrollgruppen, ble det observert en reduksjon i gjennomsnittlige AST-verdier på SD8 i høydose cysteamin-gruppen (250 mg/kg/dag), slik som vist i figur 1. Den gjennomsnittlige AST-verdien for kontroll- HFD-gruppen var 19,0 IE/L, mens kaniner som mottok 250 mg/kg/dag cysteamin, viste en 1,9 ganger økning i denne verdien til 10,0 IE/L, eller kun 47 % av kontrollverdien av HFD-verdi. Fordi det var bare to
25 dyrene i kontrollgruppen for HFD, var det ikke mulig å foreta statistiske sammenligninger. Imidlertid indikerte sammenligning av AST resultatene av 75 mg/kg/dag -gruppen på SD8, mot de for 250 mg/kg/dag cysteamin -dyrene, at høy-dose cysteamin-gruppen var signifikant forskjellig fra gruppen med lav dose av Mann-Whitney U-test, $p = 0,03$. Disse dataene viste at cysteamin-behandling med 250
30 mg/kg/dag med dette regimet, hadde en positiv innvirkning på AST-verdiene.

[0102] Gjennomsnittlige serum totale kolesterolverdier ved baseline (SD-1), varierte fra 42,5 til 55,25 mg/dl på tvers av alle grupper, som er innenfor laboratoriets historiske intervall for vanlige kaniner på 20-78 mg/dl. På SD8, ble kaniner som
35 mottok cysteamin på enten 75 eller 250 mg/kg/dag funnet å ha mindre økning i gjennomsnittlig totalkolesterol i forhold til HDF kontrollgruppen, som vist i figur 2.. Kontrollkaninene i gruppe 2 på HFD hadde en gjennomsnittlig totalkolesterolverdi på

842 mg/dl på SD8, omtrent en 20-dobling fra baseline. For kaninene i gruppe 3, som mottok 75 mg/kg/dag av cysteamin hadde en gjennomsnittlig verdi på 652 mg/dL, som er en 12 gangers økning i forhold til baseline, eller 23% mindre økning i forhold til HFD kontrollgruppen. Kaninene i Gruppe 4, som mottok 250 mg/kg/dag av cysteamin, hadde en gjennomsnittsverdi på 347 mg/dL på SD8, noe som kun er en 7,5-gangers økning i forhold til baseline-verdiene, eller 59 % mindre økning enn HFD kontrollverdiene. Disse data viste at cysteamin-behandling gir i en klart doseavhengig reduksjon i økningen av serum totalt kolesterol på grunn av HFD-diett.

- 10 **[0103]** LDL-kolesterolverdier så også ut til å bli påvirket av cysteamin-dosering. Som vi så for markøren for totalt kolesterol, ble økningen i LDL-kolesterol observert i kontrollgruppen, betydelig redusert i de kaninene som ble behandlet med cysteamin med doser på enten 75 eller 250 mg/kg/dag, som vist i figur 3. Gjennomsnittlig LDL-kolesterolverdier ved baseline (SD-1), varierte fra 9,5 til 18 mg/dl, som er innenfor laboratoriets historiske intervall på 4 til 19 mg/dl. På SD8 kontrollgruppen HFD-kaninen en gjennomsnittsverdi på 272,5mg/dL, en 29 ganger økning i forhold til baseline. Kaninene i Gruppe 3, behandlet med 75 mg/kg/dag av cysteamin, hadde en gjennomsnittsverdi på 210mg/dL på SD8, noe som er kun en 12 gangers økning i forhold til baseline-verdiene, eller 23 % mindre økning enn HFD kontrollverdiene.
- 15 Kaninene i gruppe 4, som mottok 250 mg/kg/dag, hadde en gjennomsnittlig verdi på 150.5 mg/dL, som kun er en 14 gangers økning i forhold til baseline, eller 45% mindre økning i forhold til HFD kontrollgruppen. Disse data viste at cysteamin-behandling gir i en klart doseavhengig reduksjon i økningen av LDL-kolesterol på grunn av HFD-diett.
- 20
- 25 **[0104]** LDH-verdiene viste en tilsvarende trend: kaninene som mottok cysteamin med en dose på ente 75 eller 250 mg/kg/dag hadde en mindre økning i LDH enn HDF kontrollgruppen, som vist i figur 4. Kontrollkaninene i gruppe 2 på HFD hadde en gjennomsnittlig LDH-verdi på 190 mg/dl på SD8, som er 1,7 ganger baseline-verdiene. Kaninene i gruppe 3 (75 mg/kg/dag) av cysteamin, hadde en
- 30 gjennomsnittsverdi på 128 mg/dL på SD8, noe som var en reduksjon på 1,2 ganger i forhold til baseline-verdiene, eller 33 % mindre økning enn HFD kontrollverdiene. Kaninene i gruppe 4 (250 mg / kg / dag) hadde middelveier på 77,5 IE/L på SD8, noe som var en 3,1 angers nedgang sammenlignet med baseline-verdiene, eller 59% av kontrollen HFD verdier på SD8. Disse dataene viste at cysteamin-behandling gir i
- 35 en doseavhengig reduksjon i disse LDH-verdiene i forhold til kontrollkaninene foret med HDF.

[0105] Dataene viser at behandling av kaniner matet en HFD med cysteamin bitartrat med enten 75 eller 250 mg/kg/dag IP på en Q8H-timeplan, ga forbedring i nivåene av leverentransaminase (AST), en viktig markør for leverbetennelse og skader ved

5 NAFLD. Cysteamin-behandling var også assosiert med endringer i det biokjemiske serummarkørene totalt kolesterol, LDL-kolesterol, og LDH. Totalt sett støtter data den konklusjonen at cysteamin-behandling av menneskelig ikke-alkoholisk fettlevversykdom (NAFLD) så som NASH, kan gi kliniske forbedringer.

10 **[0106]** 8-ukers studie. Hensikten med denne studien var å evaluere effekten av cysteamin-behandling i en dyremodell av NADLF og NASH i hvite New Zealandske hannkaniner foret med fettrik kost (HFD) som inneholdt 20 % maisolje og 1,25 % kolesterol, for å produsere kliniske og histologiske trekk som er karakteristisk for NAFLD og NASH.

15 **[0107]** Studiedesignet inkluderte fem grupper med åtte kaniner. To kontrollgrupper fikk ikke cysteamin i drikkevannet: en kontrollgruppe som ble matet konvensjonell kaninfôr, og en annen kontrollgruppe som ble matet med HFD. I tre grupper av kaniner matet med HFD, ble cysteamin bitartrat tilsatt i drikkevannet i

20 konsentrasjoner beregnet til å levere enten 25, 75 eller 250 mg/kg/dag. Drikkevann var klargjort frisk hver dag. basert på informasjon om stabilitet i romtemperatur for cysteamin bitartrat i dette konsentrasjonsområdet.

[0108] Observasjoner løpet av studien inkluderte to ganger ukentlig veiing av

25 kaninene, daglig mat og vannforbruk, og daglige kliniske observasjoner. Blodprøver ble tatt før starten av studien, og ved uke 2, 4, 6 og 8 for fullt spekter av hematologiske parametere, og et utvalgt spekter av serum-kjemi, inkludert ALAT, ASAT, amylase, lipase, totalt kolesterol, triglyserider, LDH, HDL-kolesterol, og LDL-kolesterol.

30 **[0109]** I alle gruppene som fikk de HFD, begynte kliniske observasjoner som grovere pels og roligere atferd å bli observert rundt midten av uke 8, mens tegn på gulsott begynte å dukke opp tidligere, i midten av uke 6. Noen dyr viste mørk eller rød farge på urinen i de samme tidsrammene, noe som tyder på mulige galleblokkeringer

35 (kolestase). Gjennom hele studien, viste dyr foret med HFD mye oftere løs avføring sammenlignet med dyr på standarddiett. Dyr på HFD viste også histologiske trekk som tydet på NAFLD. Tre dyr i Gruppe 4, gruppen med mellom-dose cysteamin, døde på

studier eller ble avlivet fordi de var døende på SD 51, 55 og 56. Ett dyr i gruppe 5, høy-dose-gruppen, ble avlivet fordi det var døende på SD 55. Disse dødsfallene i studien så ut til å kunne være forbundet med avansert NAFLD.

- 5 **[0110]** kroppsvektsdata viste at dyr på standard diett og HFD økte i vekt med cirka samme takt i løpet av de første 6 ukene av studien. Men, ved begynnelsen av uke syv, begynte dyrene på HFD å gå ned i vekt i forhold til standarddiett. Kroppsvektene til de cysteamin-behandlede dyrene syntes å være parallelle til kontrollgruppen med HFD-dyr. Data over matforbruk viste at dyrene som ble føret HFD, spiste mindre mat enn
- 10 de som var på standarddiett etter den første uken av studien, noe som ville kunne forventes på grunn av høyere kaloriinnhold i HFD. Matforbruk i de behandlede grupper og HFD kontrollgruppen var lignende. Rundt uke 6 spiste dyrene på HFD er omtrent 15 til 30 % av mengden av mat som ble konsumert av dyrene på standarddiett, basert på arealet under kurven (AUC).
- 15 **[0111]** Vannforbruket fulgte et lignende mønster. Alle dyrene som ble føret HFD, drakk mindre vann enn de som var på standarddiett, sannsynligvis på grunn av høyere innhold av fuktighet i HFD. Basert på AUC, forbrukte HFD-gruppen ca. 65% av vannet som ble konsumert av dyrene på standarddiett. Gruppene som drakk
- 20 cysteamin-holdig vann som drakk om lag to tredjedeler av vannet konsumert av HFD kontrollgruppen. Disse dataene tyder på at cysteamin-holdig vann kan ha vært noe mindre velsmakende enn kontrollvannet til disse kaninene.
- [0112]** hematologiske data avslørte ikke farmakologisk viktige forandringer gjennom
- 25 studien. Det var en tendens til noe økt antall hvite blodceller (WBC) i kontrollkaninene matet HFD, i forhold til standarddiett kontrollgruppe, først og fremst på grunn av lymfocytter. De cysteamin-behandlede gruppene lignet på HFD kontrollgruppen.
- [0113]** Serum-kjemidata viste forskjeller i kontrolldyrene føret med HFD i forhold til
- 30 kontrolldyr på standarddiett. Ved slutten av studien (uke 8), hadde de HFD førede kontroll-dyr i gruppe 2 økt i AST (2,6 ganger), lipase (6,6-ganger), kolesterol (64-ganger), triglyserid (3,8 ganger), LDH (3 ganger), HDL-kolesterol (2,3 ganger), og LDL-kolesterol (55 ganger) i forhold til kontrollverdiene ved standarddiett (gruppe 1). Amylase og ALAT-verdier var uendret.
- 35 **[0114]** AST har blitt holdt fram som en bedre markør enn ALAT. Ved 8 uker, matet kontrolldyr den HFD hadde en gjennomsnittlig verdi på AST 117.1 E / L, en 2,6

ganger økning i forhold til kontrolldyr matet en standard diett, som vist i figur 5.. Men de gjennomsnittlige AST-verdiene i både lav-dose (25 mg/kg/dag) og høy-dose (250 mg/kg/dag) cysteamin-behandling ble redusert i forhold til kontrolldyrene på HFD.

Dyrene i gruppe 3 (250 mg / kg / dag) hadde gjennomsnittlige AST-verdier på kun 62,5 IE/L, en 1,9 ganger økning i forhold til kontrollgruppen, eller 47% reduksjon. På samme måte hadde dyrene i gruppe 5 (250 mg/kg/dag) en gjennomsnittlig AST-verdi som var en 1,6 gangers økning i forhold til HDF kontrollgruppen, en reduksjon på 35 %. Tatt i betraktning vanskelighetene med å vurdere medikamentavgivelse ved å tilsette cysteamin i drikkevann, er det bemerkelsesverdig at disse reduksjonene i AST verdiene ble forbundet med to av de tre cysteamin behandlingsgruppene. Lignende reduksjoner i AST ble også funnet i pilotstudien.

[0115] Som observert i pilotstudien, ble reduksjon i LDH ble også observert i denne studien hos dyr behandlet med cysteamin. Som vist i figur 6, var gjennomsnittlig LDH-verdi ved uke 8 375 IE/L i gruppe 2 med HFD kontrolldyr. Eksponering for cysteamin resulterte i en reduksjon i LDH-verdiene ved alle tre dosenivåene i de behandlede dyrene, sammenlignet med gruppe 2 HFD kontrolldyr. I gruppe 5, høy-dose (250 mg/kg/dag) -gruppen, var gjennomsnittlig LDH-verdi ved uke 8 140 IE/L, nesten identisk med gruppe 1 kontrollgruppen med standarddiett, som var 125,6 IE/L. Denne forskjellen mellom den HFD kontrollgruppes LDH-verdi, og høydose cysteamin (250 mg/kg/dag) -verdien, var statistisk signifikant med Mann-Whitney U-test, $p = 0,03$. Disse data viste at cysteamin-behandling gir i en klar reduksjon i økningen av LDL-kolesterol på grunn av HFD-diett.

[0116] Det er velkjent at HDL-kolesterolnivået er en positiv indikatorer på sunne lipidprofiler. Kaniner er kjent for å være en spesielt god modell for menneskelig lipidprofil, fordi de har baseline forholdstall som ligner på de som finnes i mennesker, og de er ansett som en god modell for hjerte- og karsykdommer i mennesker. Derfor var det bemerkelsesverdig at i denne studien, viste dyr behandlet med høydose cysteamin (250 mg/kg / dag), en gunstig økning i HDL-kolesterol sammenlignet med både standard-diett kontroll-gruppen, så vel som den HFD kontrollgruppen, som vist i figur 7. I uke 8, var gjennomsnittlig HDL-kolesterolverdien i gruppen med 250 mg/kg/dag cysteamin 58,3 mg/dL,, noe som er en 1,6 gangers økning i forhold til HFD kontrollgruppens gjennomsnittverdi på 36,9 mg/dL, og en 3,7 gangers økning i forhold til kontrollgruppen på standarddiett som er 15,7 mg/dL.

[0117] Til sammen viste de innsamlede dataene i denne 8-ukers studien, at kaniner

matet med HFD utviklet kliniske og serologiske kjennetegn på leversykdom tilknyttet til NAFLD og NASH. Cysteamin-doseringen i vannflaskene førte sannsynligvis til varierende levering av medikamentet til de behandlede dyrene. Likevel ble det funnet at to av de samme serum-kjemi markørene som ble forbedret i pilotstudien, også ble

5 forbedret i denne 8-ukers studien når cysteamin var til stede: ASAT og LDH. Disse ble ansett som viktige funn gitt at ASAT anses å være den beste markøren for betennelse ved NASH hos mennesker, og at reduksjon i LDH trolig også indikerer mindre betennelse, og sannsynligvis beskyttelse mot cytotoxiskitet i disse dyrene.

- 10 **[0118]** Et annet bemerkelsesverdig funn i dette langtids-studien var at cysteamin-behandling var assosiert med en gunstig økning i serum HDL-kolesterolet.

Patentkrav

1. Cysteamin, inkludert salter, for bruk i behandling av pasienter som lider av ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH).

5

2. Cysteaminet for anvendelse i henhold til krav 1 er cysteamin eller et cysteamin-salt.

3. Cysteaminet for anvendelse i henhold til krav 1 eller 2, karakterisert ved at
10 cysteaminet er administrert ved en total daglig dose på

I) 0,5-2,0 g/m², eller

Ii) 0,5-1,0 g/m².

4. Cysteamin for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, karakterisert
15 ved at cysteaminet er administrert med en frekvens på:

i) fire eller færre ganger per dag, eller,

ii) tre ganger per dag, eller,

iii) to ganger per dag, eller,

20 iv) en gang per dag.

5. Cysteamin for anvendelse i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 4, i en doseform med forsinket frigjøring eller kontroller frigjøring.

25

6. Cysteamin for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 5, som resulterer i en av følgende endringer:

i) forbedring i leverfibrose, sammenlignet med nivåene før administrering av sammensetningen av cysteamin.

ii) en reduksjon av fettinnholdet i leveren; eller

iii) en reduksjon i forekomsten av, eller progresjon av, skrumplever, eller

iv) en reduksjon i forekomsten av hepatocellulær karsinom, eller

5 v) en reduksjon i hepatisk aminotransferase-nivåer, sammenlignet med nivåene før administrering av cysteamin, eller.

vi) en reduksjon i serum ferritin-nivåene i forhold til nivåer før behandling med preparat av cysteamin.

10 **7.** Cysteamin for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 5, gir positive resultater av behandling, i form av reduksjon av hepatisk aminotransferase-nivå:

8.Cysteamin for anvendelse i henhold til krav 6 eller 7, der hepatisk aminotransferase er valgt ut fra gruppen bestående av aspartat aminotransferase og
15 alaninaminotransferase.

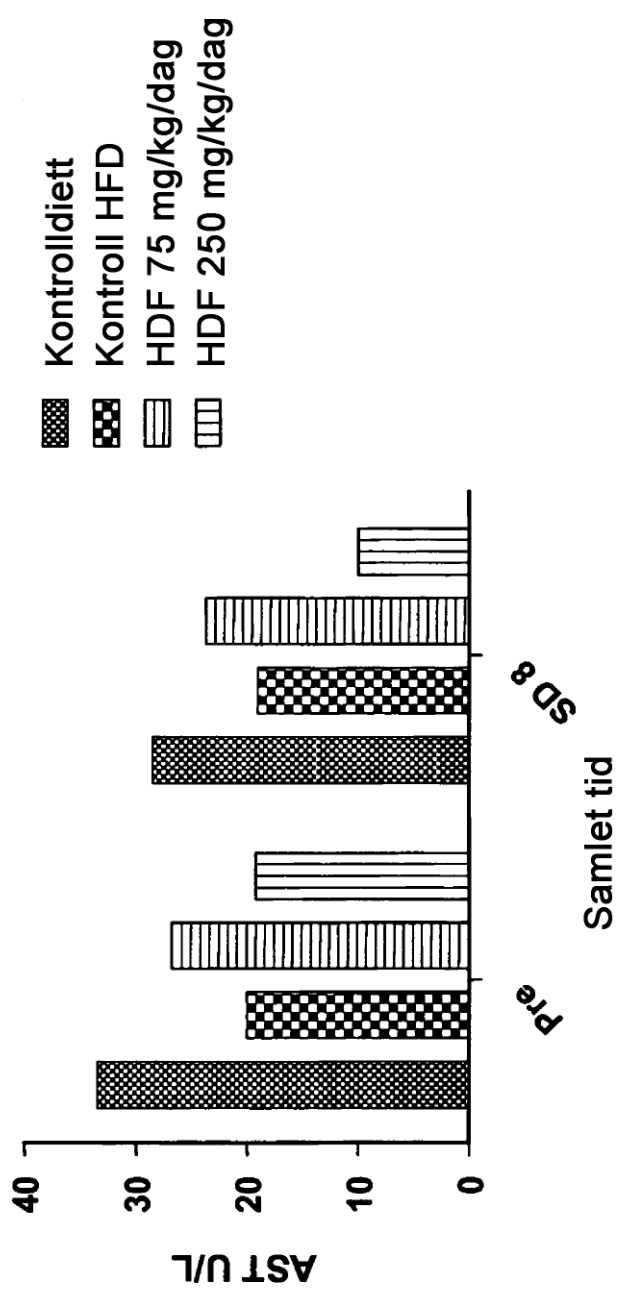
9. Cysteamin for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 8, der pasienten er et barn eller ungdom.

20 **10.** Bruk av cysteamin eller cysteamin-salter, for framstilling av medikament for behandling av ikke-alkoholisk steatohepatitt (NASH).

11.Bruk av krav 10, hvor legemidlet er en doseringsform med forsinket frigjøring.

25 **12.** Cysteamin for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 10 eller 11, der cysteaminet er administrert med en frekvens på to ganger hver dag

13. Cysteamin for anvendelse ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 5, der cysteaminet er administrert med en frekvens på to ganger hver dag

**FIG. 1**

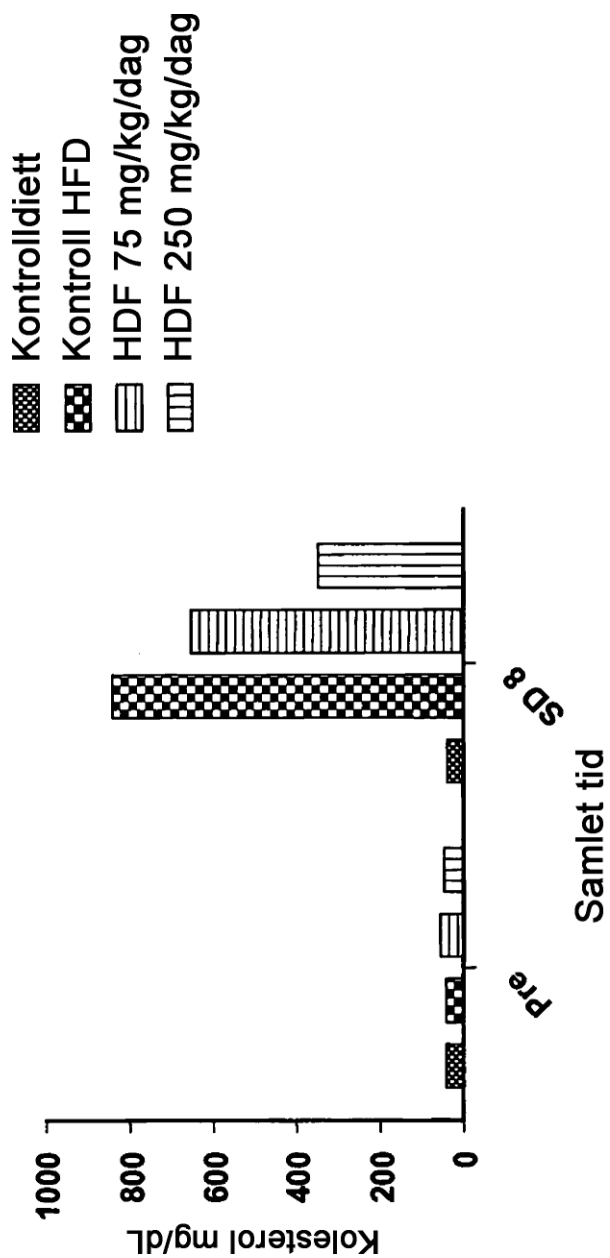


FIG. 2

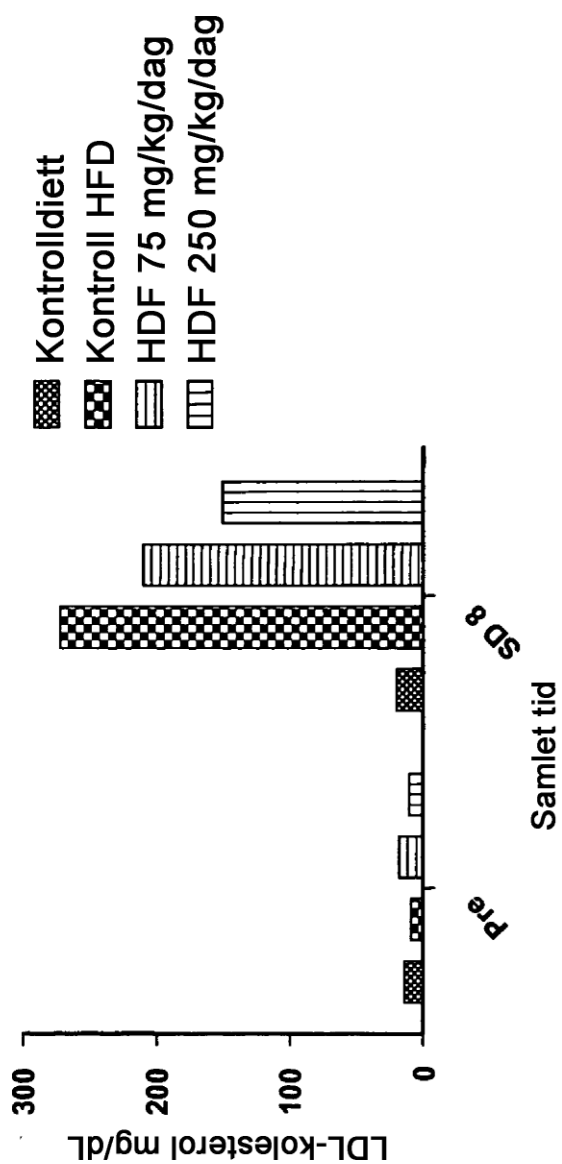


FIG. 3

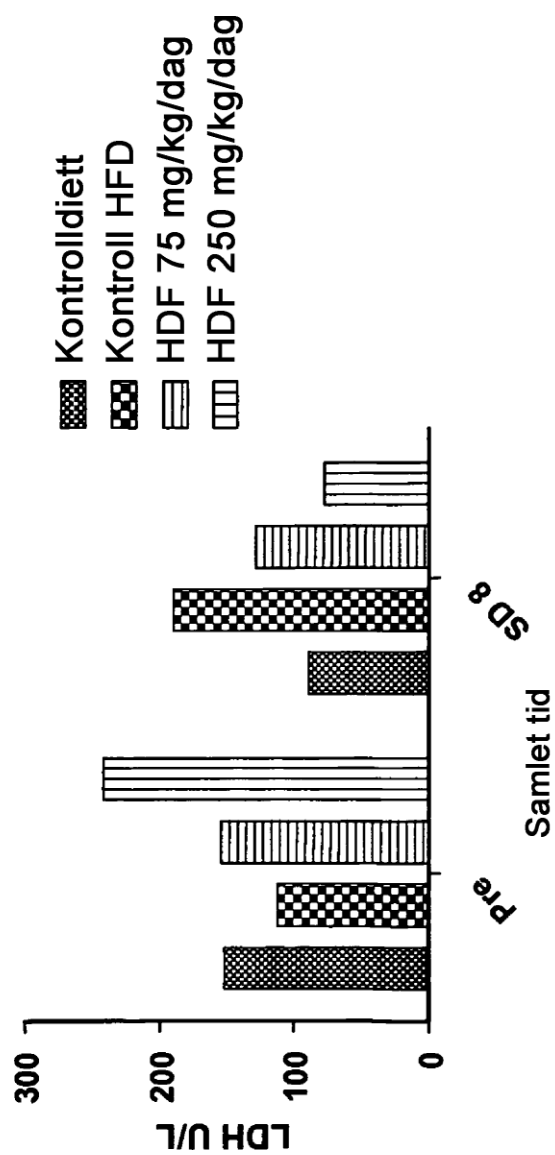
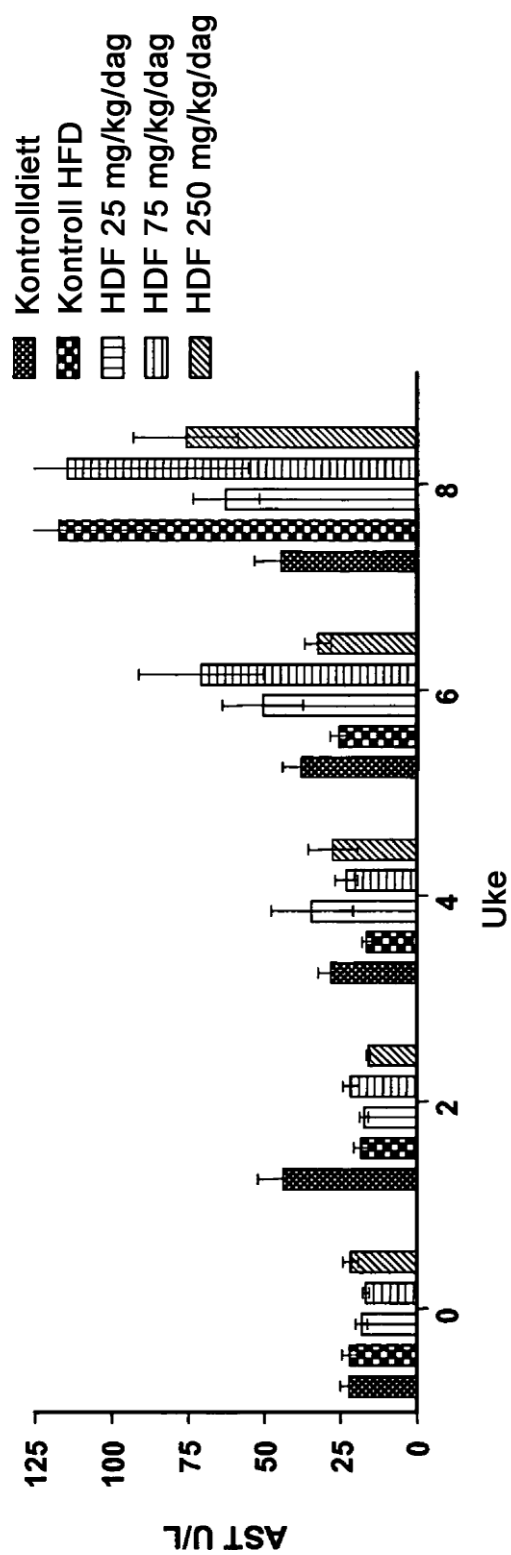
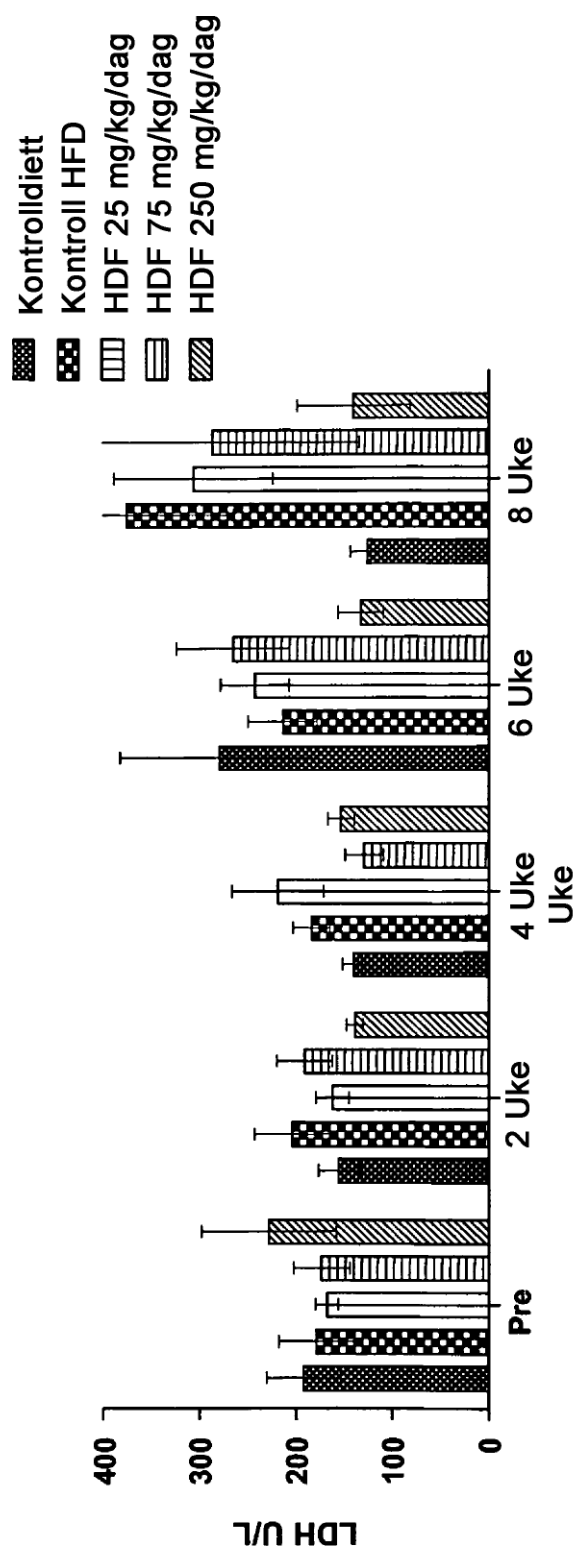


FIG. 4

**FIG. 5**

**FIG. 6**

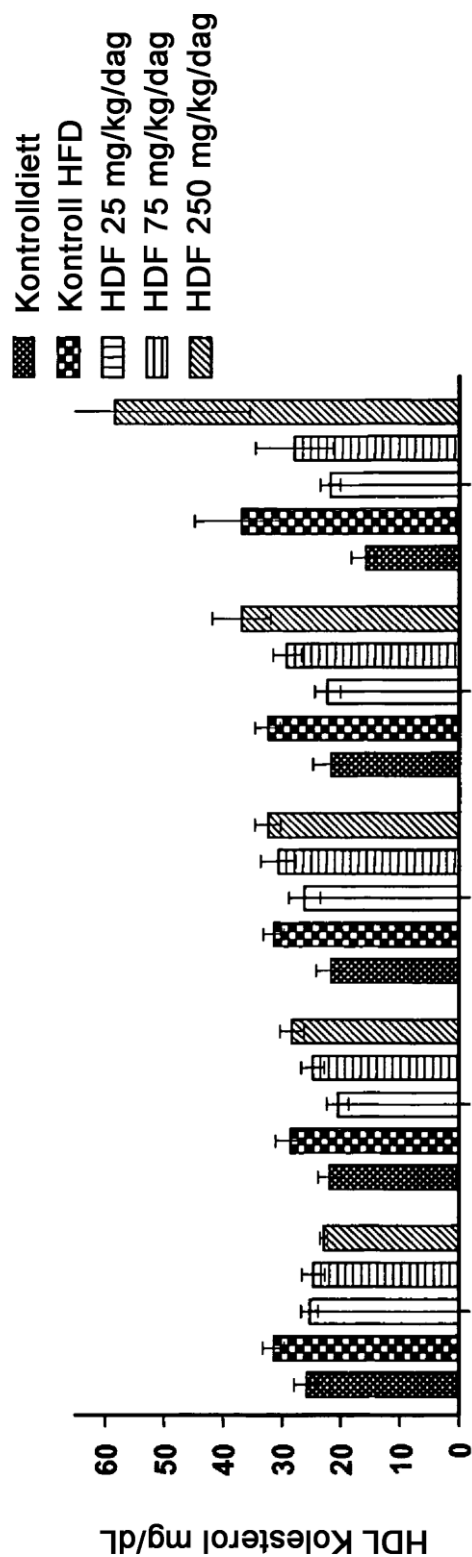


FIG. 7