

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 31/4188 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880015193.0

[43] 公开日 2010年3月24日

[11] 公开号 CN 101678002A

[22] 申请日 2008.5.7

[21] 申请号 200880015193.0

[30] 优先权

[32] 2007.5.8 [33] US [31] 60/916,622

[32] 2007.12.14 [33] US [31] 61/013,743

[86] 国际申请 PCT/US2008/005875 2008.5.7

[87] 国际公布 WO2008/140724 英 2008.11.20

[85] 进入国家阶段日期 2009.11.9

[71] 申请人 先灵公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 M·亚布塔瑞夫 P·史塔克基维契

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 段晓玲 黄可峻

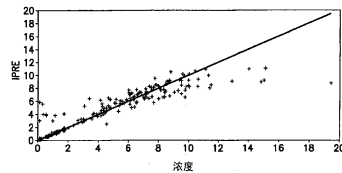
权利要求书4页 说明书40页 附图2页

[54] 发明名称

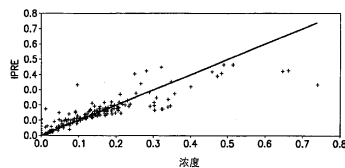
使用含有替莫唑胺的静脉注射用配制剂的治疗方法

[57] 摘要

本发明涉及使用含有替莫唑胺的静脉注射用配制剂经特定输注时间治疗增生性病症的方法及药品。这些方法及药品尤其适用于不能吞咽口服配制剂的患者。这些方法及药品还对已接受其它治疗性处理的患者提供额外便利。



A



B

1. 用于治疗患有增生性病征的患者的方法，包括向患者施用包含替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂的步骤，其中所述配制剂通过约1小时至约2小时静脉内输注而施用。

2. 用于治疗患有增生性病征的患者的方法，包括通过约1小时至约2小时静脉内输注而向患者施用包含替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂的步骤，其中施用的单次剂量为 150 mg/m^2 的所述配制剂实现约5.5至约 $10.6 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 的替莫唑胺的算术最大血浆浓度(C_{max})及约137至约916 ng/mL 的MTIC的算术最大血浆浓度(C_{max})。

3. 如权利要求2的方法，其中替莫唑胺的算术平均最大血浆浓度(C_{max})为约 $7.4 \text{ } \mu\text{g/mL}$ ，且MTIC的平均最大血浆浓度(C_{max})为约320 ng/mL 。

4. 用于治疗患有增生性病征的患者的方法，包括通过约1小时至约2小时静脉内输注而向有此需要的患者施用包含替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂的步骤，其中单次剂量为 150 mg/m^2 的所述配制剂的替莫唑胺血浆浓度随施用后的时间作图显示约17.6至约 $37.0 \text{ } (\mu\text{g}\cdot\text{hr})/\text{mL}$ 的替莫唑胺算术AUC(自时间零点至无限时点)，且MTIC的血浆浓度随时间作图显示约481至约2639 $(\text{ng}\cdot\text{hr})/\text{mL}$ 的MTIC算术AUC(自时间零点至无限时点)。

5. 如权利要求4的方法，其中替莫唑胺的算术平均AUC(自时间零点至无限时点)为约 $25(\mu\text{g}\cdot\text{hr})/\text{mL}$ ，且MTIC的算术平均AUC(自时间零点至无限时点)为约1004 $(\text{ng}\cdot\text{hr})/\text{mL}$ 。

6. 用于治疗患有增生性病征的患者的方法，包括通过约1小时至约2小时静脉内输注而向有此需要的患者施用包含替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂的步骤，其中施用的单次剂量为 150 mg/m^2 的所述配制剂实现：

约5.5至约 $10.6 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 的替莫唑胺算术最大血浆浓度(C_{max})，及约137至约916 ng/mL 的MTIC算术最大血浆浓度(C_{max})；且

其中替莫唑胺的血浆浓度随时间作图显示约17.6至约 $37.0 \text{ } (\mu\text{g}\cdot\text{hr})/\text{mL}$ 的替莫唑胺算术AUC(自时间零点至无限时点)，且MTIC的血浆浓度随时间作图显示约481至约2639 $(\text{ng}\cdot\text{hr})/\text{mL}$ 的MTIC算术AUC(自时间零点至无限时点)。

7.如权利要求6的方法，其中替莫唑胺的算术平均最大血浆浓度(C_{max})为约7.4 μg/mL，而MTIC的平均最大血浆浓度(C_{max})为约320 ng/mL；且其中替莫唑胺的算术平均AUC(自时间零点至无限时点)为约25 (μg.hr)/mL，而MTIC的算术平均AUC(自时间零点至无限时点)为约1004 (ng.hr)/mL。

8.如权利要求1至7中任一项的方法，其中所述增生性病症选自：癌、肉瘤、神经胶质瘤、黑素瘤、肺癌、甲状腺滤泡性癌、胰腺癌、未分化星状细胞瘤、胰腺癌、膀胱癌、骨髓发育不良、前列腺癌、睾丸癌、淋巴瘤、白血病、蕈样真菌病、头部及颈部癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌和/或结肠癌及食道癌。

9.如权利要求8的方法，其中所述增生性病症为神经胶质瘤。

10. 如权利要求8的方法，其中所述增生性病症为黑素瘤。

11. 如权利要求8的方法，其中所述增生性病症为肺癌。

12. 如权利要求8的方法，其中所述增生性病症为非小细胞肺癌。

13. 如权利要求8的方法，其中所述增生性病症为淋巴瘤。

14. 如权利要求8的方法，其中所述增生性病症为头部及颈部癌。

15. 如权利要求8的方法，其中所述增生性病症为卵巢癌。

16. 如权利要求8的方法，其中所述增生性病症为结肠直肠癌和/或结肠癌。

17. 如权利要求8的方法，其中所述增生性病症为食道癌。

18. 如权利要求1至17中任一项的方法，其中所述配制剂通过约1.25小时至约1.75小时的静脉内输注而施用。

19. 如权利要求1至17中任一项的方法，其中所述配制剂通过约1.35小时至约1.65小时的静脉内输注而施用。

20. 如权利要求1至17中任一项的方法，其中所述配制剂通过约1.45小时至约1.55小时的静脉内输注而施用。

21. 如权利要求1至17中任一项的方法，其中所述配制剂通过约1.5小时(90分钟)的静脉内输注而施用。

22. 如权利要求1至21中任一项的方法，其中使用泵静脉内输注替莫唑胺或其医药学上可接受的盐。

23. 如权利要求1至22中任一项的方法，其中所述配制剂进一步含有：(a)至少一种水性稀释剂；和(b)至少一种足以基本上溶解所述替莫唑

胺的溶解增强剂，其中该溶解增强剂选自尿素、L-组氨酸、L-苏氨酸、L-天冬酰胺、L-丝氨酸及L-谷氨酰胺。

24. 如权利要求1至22中任一项的方法，其中所述配制剂进一步含有甘露糖醇、L-苏氨酸、聚山梨酸酯-80、脱水柠檬酸钠及盐酸。

25. 如权利要求23或24的方法，其中所述配制剂为冻干粉末。

26. 如权利要求25的方法，其中将所述冻干粉末在无菌水中重构。

27. 如权利要求26的方法，其中在无菌水中重构的所述配制剂含有2.5 mg/mL的替莫唑胺。

28. 如权利要求25的方法，其中所述冻干粉末容纳在含有100 mg替莫唑胺的小瓶内且其中该冻干粉末在41 mL无菌水中重构。

29. 如权利要求1至28中任一项的方法，其中所述配制剂以每日75 mg/m²的剂量施用，历时42个连续日。

30. 如权利要求29的方法，其中所述患者还接受伴随的病灶处的放射疗法。

31. 如权利要求30的方法，其中所述伴随的病灶处的放射疗法由在30个部分中施用60 Gy组成。

32. 如权利要求1至28中任一项的方法，其中所述配制剂以每日150-200 mg/m²的剂量施用，在28天周期中历时5个连续日。

33. 如权利要求1至28中任一项的方法，其中所述配制剂以每日150-200 mg/m²的剂量施用，在14天周期中历时7个连续日。

34. 如权利要求1至33中任一项的方法，进一步包括施用一种或多种其它治疗剂的步骤。

35. 如权利要求34的方法，其中所述一种或多种其它治疗剂以静脉内施用。

36. 用于治疗增生性病症的制造药品，其包含：

(a)含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的医药配制剂，其中该配制剂为冻干粉末形式；和

(b)产品信息，其包含以约1.5小时(90分钟)静脉内输注而施用该医药配制剂的说明书。

37. 如权利要求34的药品，其中所述产品信息进一步包含通过以每日75 mg/m²的剂量历时42个连续日静脉内输注而施用该配制剂的说明书。

38. 如权利要求35的药品，其中所述产品信息进一步包含施用伴随

的病灶处的放射疗法的说明书。

39. 如权利要求36的药品，其中所述伴随的病灶处的放射疗法由在30个部分中施用60 Gy组成。

40. 如权利要求34的药品，其中所述产品信息进一步包含通过以每日150-200 mg/m²的剂量在28天周期中历时5个连续日静脉内输注而施用该配制剂的说明书。

41. 如权利要求34的药品，其中所述产品信息进一步包含通过以每日150-200 mg/m²的剂量在14天周期中历时7个连续日静脉内输注而施用该配制剂的说明书。

42. 如权利要求1至22中任一项的方法，其中所述方法进一步包括口服施用包含替莫唑胺的配制剂。

使用含有替莫唑胺的静脉注射用配制剂的治疗方法

技术领域

本发明涉及使用含有替莫唑胺(temozolomide)的静脉注射用配制剂经特定输注时间治疗增生性病征的方法及药品。这些方法及药品尤其适用于不能吞咽口服配制剂的患者。这些方法及药品还对已接受其它治疗性处理的患者提供额外便利。

背景技术

脑肿瘤占有所有恶性疾病的约2%。Stupp等人, J. Clin. Onc., 20(5):1375-1382 (2002)。在美国, 每年确诊超过17,000个病例, 且有约13,000个相关死亡病例。治疗恶性神经胶质瘤的标准方案涉及在可行时通过外科切除术减瘤(cytoreduction), 接着在使用或不使用辅助化疗的情况下, 进行放射疗法(RT)。前文所述Stupp等人的文献。

替莫唑胺或TMZ(由Schering Corp.以Temodar®的商标在美国销售, 且以Temodal®的商标在欧洲销售)为一种核准用于治疗脑肿瘤的化疗剂。替莫唑胺的化学名称为3,4-二氢-3-甲基-4-氧代咪唑[5,1-d]-不对称-四嗪-8-甲酰胺(参见美国专利 No. 5,260,291)。在生物条件下, 替莫唑胺经由pH依赖性水解降解成其活性代谢物MTIC(3-甲基-(三氮烯-1-基)咪唑-4-甲酰胺)。替莫唑胺或MTIC的细胞毒性被认为主要归因于DNA的烷基化作用。烷基化(甲基化)作用主要发生在鸟嘌呤的O⁶及N⁷位置处。

Temodar®胶囊目前在美国指示用于治疗新近确诊患有多形性成胶质细胞瘤以及难治的未分化星状细胞瘤的成年患者, 即经使用亚硝基脲及丙卡巴肼(procarbazine)的疗法治疗而疾病恶化首次复发的患者。Temodal®胶囊目前在欧洲被核准用于治疗患有恶性神经胶质瘤, 例如经标准疗法后复发或恶化的多形性成胶质细胞瘤或未分化星状细胞瘤。

由于疾病恶化或年龄, 接受TMZ治疗的患者亚群在吞咽口服配制剂上有困难。吞咽困难可引起不良的患者顺应性, 并且在某些情况下, 患者完全不能服用口服配制剂, 因而造成药物仅达到低于最佳的治疗效果。因此, 亟需开发TMZ的静脉注射用(IV)配制剂及施用此类配制剂的方法。该配制

剂将为吞咽困难患者提供替代性给药途径。此外，该配制剂将对已接受其它治疗剂的患者提供明显的便利性。

为取得TMZ的IV配制剂的管理性许可，必需进行大型临床功效研究，或进行口服(PO)及IV配制剂之间的生物等值研究。为达到生物等值，TMZ与MTIC两者在IV施用后的药代动力学(PK)分布必须与经PO施用后的药代动力学分布相等。特别地，经IV施用所获的TMZ及MTIC的药代动力学参数最大血浆浓度(C_{max})及血浆浓度-时间曲线下的总面积(AUC)必须与经PO施用所获的那些相匹配，并具有90%置信区间(即在80-125%比率)。尽管已知TMZ及MTIC用于经口施用的PK分布(参见例如Baker, *Clinical Cancer Research*, 5:309-317 (1999))，但尚未知用于IV施用的PK分布。

与建立口服及IV配制剂的生物等值有关的因素为TMZ的生物可利用率。一般而言，经口施用药物的生物可利用率可不同于同一药物静脉内施用生物可利用率。这是由于首次通过效应和/或不完全吸收。例如，当经口施用药物时，其首先被吸收至胃肠道内。所吸收的药物穿过胃肠道膜进入心血管静脉中，这些静脉又载运其到达肝脏且随后到达心脏。心脏随后分配药物进入全身血液循环中。当药物通过肝脏时，其可被代谢且所吸收药物的较小部分将进入全身循环中，由此降低药物的生物可利用率。另一方面，IV施用使药物直接注入全身循环中且因此避免首次通过效应。

尽管TMZ的经口生物可利用率及PK分布是建立生物等值中的重要因素，但其并不预示IV PK分布。因此，明显需要测定TMZ及MTIC的静脉内PK分布。该测定将适用于建立生物等值和适用于支持TMZ的IV配制剂的管理性许可。

发明内容

目前已发现TMZ在人类中展示出高的口服生物可利用率(96%；范围：89-100%；n=13个患者)。还已发现静脉内经约0.6小时至约2.9小时输注含有TMZ的配制剂预料不到地与TMZ及MTIC的经口PK分布相配。

因此，本发明提供使用含有替莫唑胺的静脉注射用配制剂经特定输注时间治疗增生性病征的方法。这些方法可用以治疗具有吞咽困难和/或接受使用一种或多种其它治疗剂的治疗的患者。

在某些实施方案中，经约0.6小时至约2.9小时输注静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，经约0.8小时至约2.5小时输注静脉注射用配制剂。在

某些实施方案中，经约1小时至约2小时输注静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，经约1小时至约1.75小时输注静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，经约1.25小时至约1.75小时输注静脉注射用配制剂。在其它实施方案中，经约1.35小时至约1.65小时输注静脉注射用配制剂。在其它实施方案中，经约1.45小时至约1.55小时输注静脉注射用配制剂。在其它实施方案中，经约1.5小时输注静脉注射用配制剂。

在某些实施方案中，所述方法用于治疗患有选自以下各病的增生性病征的患者：癌（carcinoma）、肉瘤、神经胶质瘤、成胶质细胞瘤、脑癌、脑肿瘤、黑素瘤、肺癌、甲状腺滤泡性癌、胰腺癌、未分化星状细胞瘤、膀胱癌、骨髓发育不良、前列腺癌、睾丸癌、淋巴瘤、白血病、蕈样真菌病、头部及颈部癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌和/或结肠癌、或食道癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为脑肿瘤。在某些方面，所述脑肿瘤为神经胶质瘤。在某些方面，所述神经胶质瘤为未分化星状细胞瘤或多形性成胶质细胞瘤。在其它实施方案中，所述增生性病征为黑素瘤。在某些实施方案中，所述增生性病征为肺癌。在某些方面，所述肺癌为非小细胞肺癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为肉瘤。在某些实施方案中，所述增生性病征为脑癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为甲状腺滤泡性癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为胰腺癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为膀胱癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为骨髓发育不良。在某些实施方案中，所述增生性病征为前列腺癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为睾丸癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为淋巴瘤。在某些实施方案中，所述增生性病征为白血病。在某些实施方案中，所述增生性病征为蕈样真菌病。在某些实施方案中，所述增生性病征为头部及颈部癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为乳腺癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为卵巢癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为结肠直肠癌和/或结肠癌。在某些实施方案中，所述增生性病征为食道癌。

在某些实施方案中，静脉注射用配制剂含有水性稀释剂、溶解增强剂、赋形剂、增量剂（bulking agent）、缓冲剂或pH值调节剂中的一种或多种。

在某些实施方案中，所述方法进一步包含施用一种或多种其它治疗剂。在某些实施方案中，静脉内施用一种或多种其它治疗剂。

在某些实施方案中，治疗增生性病征的方法包括根据给药方案施用静

脉注射用配制剂。在某些实施方案中，给药方案基于待治疗的状况。在某些实施方案中，给药方案基于获自患者的样品中的O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA转移酶(MGMT)基因的甲基化状态。在其它实施方案中，给药方案基于获自患者的样品中存在或不存在MGMT蛋白。在其它实施方案中，给药方案基于获自患者的样品中所检测的MGMT蛋白的含量或酶活性。

在某些实施方案中，在包装有包含替莫唑胺的医药配制剂的产品信息上描述治疗增生性病征的上述方法中的一种或多种，其中配制剂经设计用于经约1小时至约2小时、优选经约1.25至约1.75小时、优选经约1.5小时静脉内输注施用。产品信息还可描述任何如上所述的替莫唑胺给药方案。

在一优选实施方案中，本发明包括治疗患有增生性病征的患者的方法，其包括向该患者施用含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂的步骤，其中通过约1小时至约2小时静脉内输注而施用配制剂，且其中施用150 mg/m²的配制剂的单次剂量以获得在约5.5至约10.6 µg/mL范围的替莫唑胺的算术最大血浆浓度(C_{max})及在约137至约916 ng/mL范围的MTIC的算术最大血浆浓度(C_{max})。在一实施方案中，替莫唑胺的算术平均最大血浆浓度(C_{max})为约7.4 µg/mL且MTIC的平均最大血浆浓度(C_{max})为约320 ng/mL。

在另一优选实施方案中，本发明包括治疗患有增生性病征的患者的方法，其包括向有此需要的患者通过约1小时至约2小时静脉内输注而施用含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂的步骤，其中在施用单次剂量为150 mg/m²的配制剂后替莫唑胺的血浆浓度随时间的曲线图得到范围在约17.6至约37.0 (µg.hr)/mL的替莫唑胺的算术AUC(自时间零点至无限时点)，且MTIC的血浆浓度随时间的曲线图得到范围在约481至约2639 (ng.hr)/mL的MTIC的算术AUC(自时间零点至无限时点)。在一实施方案中，替莫唑胺的算术平均AUC(自时间零点至无限时点)为约25 (µg.hr)/mL且MTIC的算术平均AUC(自时间零点至无限时点)为约1004 (ng.hr)/mL。

在另一优选实施方案中，本发明包括治疗患有增生性病征的患者的方法，其包括向有此需要的患者通过约1小时至约2小时静脉内输注而施用含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂的步骤，其中施用单次剂量为150 mg/m²的配制剂实现：(a)范围在约5.5至约10.6 µg/mL的替莫唑胺的算术最大血浆浓度(C_{max})及范围在约137至约916 ng/mL的MTIC的算术最大血浆浓度(C_{max})；和(b)其中替莫唑胺的血浆浓度随时间的曲线图得到

范围在约17.6至约37.0 ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}$)/mL的替莫唑胺的算术AUC(自时间零点至无限时点), 且MTIC的血浆浓度随时间的曲线图得到范围在约481至约2639 ($\text{ng}\cdot\text{hr}$)/mL的MTIC的算术AUC(自时间零点至无限时点)。在一实施方案中, 替莫唑胺的算术平均最大血浆浓度(C_{max})为约7.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 且MTIC的平均最大血浆浓度(C_{max})为约320 ng/mL ; 且其中替莫唑胺的算术平均AUC(自时间零点至无限时点)为约25 ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}$)/mL且MTIC的算术平均AUC(自时间零点至无限时点)为约1004 ($\text{ng}\cdot\text{hr}$)/mL。

在一优选实施方案中, 增生性病征为神经胶质瘤或黑素瘤, 且经由约1.5小时静脉内输注来施用配制剂。

在某些实施方案中, 使用泵静脉内输注含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂。

在某些实施方案中, 含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂进一步含有: (a)至少一种水性稀释剂; 和(b)至少一种足以基本上溶解替莫唑胺的溶解增强剂, 其中所述溶解增强剂选自尿素、L-组氨酸、L-苏氨酸、L-天冬酰胺、L-丝氨酸及L-谷氨酰胺。在某些实施方案中, 配制剂进一步含有: 如权利要求1-22中任一项所述的方法, 其中配制剂进一步含有甘露糖醇、L-苏氨酸、聚山梨酸酯 (polysorbate) -80、脱水柠檬酸钠及盐酸。

在某些实施方案中, 含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂进一步含有聚山梨酸酯80、L-苏氨酸及甘露糖醇。

在某些实施方案中, 含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂为冻干粉末。在某些实施方案中, 于无菌水中重构 (reconstitute) 冻干粉末。在某些实施方案中, 重构配制剂含有2.5 mg/mL 替莫唑胺。

在某些实施方案中, 以每日75 mg/m^2 的剂量施用配制剂, 历时42个连续日。在其它实施方案中, 以每日150-200 mg/m^2 的剂量施用配制剂, 在28天周期内历时5个连续日。在其它实施方案中, 以每日150-200 mg/m^2 的剂量施用配制剂, 在14天周期内历时7个连续日。(所述剂量基于体表面积)。

在某些实施方案中, 接受含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的配制剂的患者进一步接受伴随的病灶处的放射疗法。在某些实施方案中, 伴随的病灶处的放射疗法由在30个部分中施用60 Gy组成。

本发明还包括治疗增生性病征的制造药品, 其包括: (a)含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的医药配制剂, 其中该配制剂呈冻干粉末形式;

和含有经由约1.5小时(90分钟)静脉内输注来施用医药配制剂的说明书的产品信息。在一实施方案中,所述产品信息进一步包括经由以每日75 mg/m²的剂量历时42个连续日静脉内输注来施用配制剂的说明书。在一实施方案中,产品信息进一步包括施用伴随的病灶处的放射疗法的说明书。在一实施方案中,伴随的病灶处的放射疗法由在30个部分中施用60 Gy组成。在另一实施方案中,所述产品信息进一步包含经由以每日150-200 mg/m²的剂量在28天周期内历时5个连续日静脉内输注来施用配制剂的说明书。在另一实施方案中,所述产品信息进一步包含经由以每日150-200 mg/m²的剂量在14天周期内历时7个连续日静脉内输注来施用配制剂的说明书。

在任何的上述方法中,本发明可进一步包含经口施用包含替莫唑胺的配制剂。

附图说明

图1展示了在施用PO之后的群体药代动力学模型来表征TMZ和MTIC二者的配置。

图2展示了TMZ(图2A)及MTIC(图2B)的血浆浓度图。IPRE为个别预测值。CONC为浓度。线表示统一(unity)线。

具体实施方式

为了能够充分地理解本文中所述的本发明,阐明以下具体实施方式。

除非另作定义,否则本文中所用的所有技术及科学术语都具有与本领域普通技术人员通常所了解的含义相同的含义。尽管类似或等效于本文所述的方法及材料可用于实施或测试本发明,但适当的方法及材料描述如下。材料、方法及实施例仅为例示性且不意欲作为限制。本文中所提及的所有公开、专利及其它文献以引用的方式全部并入本文中。

在整个本说明书中,词语“包含”或变体如“包括”或“含有”应理解为意味包括所述整体(integer)或整体组但不排除任何其它整体或整体组。

为进一步定义本发明,本文中提供以下术语及定义。

术语“医药学上可接受的载剂或佐剂”指可向患者连同替莫唑胺一起施用且不破坏其药理学活性的无毒载剂或佐剂。

术语“治疗”或“处理”意欲表示减轻或缓解哺乳动物(诸如人类)的细胞增生性病征的症状或改良与细胞增生性病征相关联的可确定测量值。

术语“患者”指动物,包括哺乳动物(例如人类)。

术语“增生性病征”可为赘瘤(neoplasm)。这种赘瘤为良性或恶性的。

术语“赘瘤”指细胞的新近异常生长或比正常繁殖更快的异常细胞生长。赘瘤产生可呈良性或恶性的非结构化肿块(肿瘤)。

术语“良性”指非癌性肿瘤,例如其细胞并不侵入周围组织或转移至远距离部位。

术语“恶性”指有癌性、转移性、侵入邻近组织或不再处于正常细胞生长控制下的肿瘤。

术语“脑肿瘤”包括胶质瘤、多形性成胶质细胞瘤、室管膜瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、神经胶质瘤、少突神经胶质细胞瘤及脑膜瘤。

术语“生物利用率”指来自药品的活性成份或活性部分被吸收且在作用部位上变得可利用的速率及程度。

术语“生物等值”指当在经适当设计的试验中在相似条件下施用相同摩尔剂量时,在医药等效物或医药替代物中的活性成份或活性部分在药物作用位点变得可利用的速率及程度的不存在显著差异。

术语“药代动力学”指药物由身体吸收、分配、代谢及排出的过程。药代动力学参数包括“最大血浆浓度”或“C_{max}”及“在血浆浓度时间曲线下的面积”或“AUC”。

术语“血浆浓度”指所研究患者的血液的血浆组份中的活性成份浓度。

术语“水性稀释剂”指适用于注射进入患者中的水性流体。

为实现本发明的目的,术语“重量百分比”或“wt%”是基于配制剂的总重量来计算的。

术语“样品”指获自或分离自肿瘤组织、脑组织、脑脊髓液、血液、血浆、血清、淋巴、淋巴结、脾脏、肝脏、骨髓或任何含有MGMT蛋白或MGMT基因的核酸的其它生物样本的样本。

术语“MGMT”指O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶。MGMT也称为O⁶-烷基鸟嘌呤-DNA-烷基转移酶(AGAT)。

术语“GM-CSF”表示蛋白质,其(a)具有基本上与由Lee等人,Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82:4360 (1985)所描述的成熟(即缺少信号肽)人类

GM-CSF的序列一致的氨基酸序列且(b)具有原生GM-CSF所共有的生物活性。

术语“基本上相同的氨基酸序列”表示所述序列相同或相差一个或多个并未基本上削弱生物活性的氨基酸变化(缺失、添加、取代)。

治疗增生性病征的方法

本发明提供了经由向患者以约0.6小时至约2.9小时施用替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的静脉注射用配制剂来治疗患有增生性病征的患者的方法。

增生性病征包括(但不限于)癌、肉瘤、神经胶质瘤、成胶质细胞瘤、脑癌、脑肿瘤、黑素瘤、肺癌、甲状腺滤泡性癌、胰腺癌、未分化星状细胞瘤、膀胱癌、骨髓发育不良、前列腺癌、睾丸癌、淋巴瘤、白血病、蕈样真菌病、头部及颈部癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠直肠及癌/或结肠癌或食道癌。

在某些实施方案中,所述方法用于治疗脑肿瘤、神经胶质瘤、黑素瘤、肺癌、淋巴瘤、结肠直肠癌和/或结肠癌、头部及颈部癌、乳腺癌、卵巢癌或食道癌。在某些实施方案中,所述方法用于治疗脑肿瘤。在某些实施方案中,所述方法用于治疗神经胶质瘤。在某些方面,神经胶质瘤为未分化星状细胞瘤或多形性成胶质细胞瘤。在其它实施方案中,所述方法用于治疗黑素瘤。在某些实施方案中,所述方法用于治疗肺癌。在某些方面,肺癌为非小细胞肺癌。在某些实施方案中,所述方法用于治疗淋巴瘤。在某些实施方案中,所述方法用于治疗结肠直肠癌和/或结肠癌。在某些实施方案中,所述方法用于治疗头部及颈部癌。在某些实施方案中,所述方法用于治疗乳腺癌。在某些实施方案中,所述方法用于治疗卵巢癌。在某些实施方案中,所述方法用于治疗食道癌。

在某些实施方案中,本发明的方法用于经由约0.6小时至约2.9小时施用静脉注射用配制剂来治疗患有增生性病征的患者。在其它实施方案中,以约0.8小时至约2.5小时输注静脉注射用配制剂。在某些实施方案中,以约0.9小时至约2小时输注静脉注射用配制剂。在其它实施方案中,以约1.25小时至约1.75小时输注静脉注射用配制剂。在优选实施方案中,以约1.35小时至约1.65小时输注静脉注射用配制剂。在更优选实施方案中,以约1.45小时至约1.55小时输注静脉注射用配制剂。在更优选实施方案中,以约1.5

小时施用静脉注射用配制剂。在这些实施方案的某些方面，所述增生性病征选自癌、肉瘤、神经胶质瘤、成胶质细胞瘤、脑癌、脑肿瘤、黑素瘤、肺癌、甲状腺滤泡性癌、胰腺癌、未分化星状细胞瘤、膀胱癌、骨髓发育不良、前列腺癌、睾丸癌、淋巴瘤、白血病、蕈样真菌病、头部及颈部癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌和/或结肠癌或食道癌。在某些方面，增生性病征为脑肿瘤。在某些方面，增生性病征为神经胶质瘤。在某些方面，增生性病征为未分化星状细胞瘤或多形性成胶质细胞瘤。在其它方面，增生性病征为黑素瘤。在某些方面，增生性病征为肺癌。在其它方面，肺癌为非小细胞肺癌。在某些方面，增生性病征为癌。在某些方面，增生性病征为肉瘤。在某些方面，增生性病征为脑癌。在某些方面，增生性病征为甲状腺滤泡性癌。在某些方面，增生性病征为胰腺癌。在某些方面，增生性病征为膀胱癌。在某些方面，增生性病征为骨髓发育不良。在某些方面，增生性病征为前列腺癌。在某些方面，增生性病征为睾丸癌。在某些方面，增生性病征为淋巴瘤。在某些方面，增生性病征为白血病。在某些方面，增生性病征为蕈样真菌病。在某些方面，增生性病征为头部及颈部癌。在某些方面，增生性病征为乳腺癌。在某些方面，增生性病征为卵巢癌。在某些方面，增生性病征为结肠直肠癌和/或结肠癌。在某些方面，增生性病征为食道癌。

用于所述方法中的静脉注射用配制剂

用于本发明的方法中的静脉注射用配制剂含有替莫唑胺或其医药学上可接受的盐。合适的医药学上可接受的盐包括(但不限于)由以下酸所制备的盐：例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸、马来酸、柠檬酸、乙酸、酒石酸、琥珀酸、草酸、苹果酸、谷氨酸、扑酸以及与列于 *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977) 中的医药学上可接受的盐相关的其它酸。

在某些实施方案中，替莫唑胺或其医药学上可接受的盐在配制剂中以范围在约1 wt%至约50 wt%的量存在。在优选实施方案中，替莫唑胺或其医药学上可接受的盐在配制剂中以范围在约2 wt%至约30 wt%的量存在。在更优选实施方案中，替莫唑胺或其医药学上可接受的盐在配制剂中以范围在约4 wt%至约16 wt%的量存在。

在某些实施方案中，本发明的静脉注射用配制剂进一步含有至少一种

水性稀释剂及至少一种足以基本上溶解替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的溶解增强剂。

根据此实施方案，溶解于医药配制剂中的替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的百分比可在约50%至约100%的范围。在优选实施方案中，百分比在约75%至约100%的范围。在更优选实施方案中，百分比为约100%。

合适的水性稀释剂包括(但不限于)水、生理盐水、5%葡萄糖溶液及其混合物。

合适的溶解增强剂包括(但不限于)尿素、L-组氨酸、L-苏氨酸、L-天冬酰胺、L-丝氨酸、L-谷氨酰胺或其混合物。

溶解增强剂提高替莫唑胺或其医药学上可接受的盐溶解于一种或多种水性稀释剂中的速率。在至少一种水性稀释剂中于25 mg小瓶中用溶解剂完全溶解替莫唑胺或其医药学上可接受的盐所花费的时间可在约30秒至约90秒的范围。在优选实施方案中，溶解时间在约30秒至约60秒的范围。在更多实施方案中，溶解时间为约30秒。

在某些实施方案中，将尿素用作溶解增强剂。根据此实施方案，溶解增强剂可在配制剂中以范围在约4 wt%至约60 wt%的量存在。在优选实施方案中，溶解增强剂可以范围在约8 wt%至约30 wt%的量存在。在更优选实施方案中，溶解增强剂可以范围在约12 wt%至约22 wt%的量存在。

在某些实施方案中，溶解增强剂为L-组氨酸、L-苏氨酸、L-天冬酰胺、L-丝氨酸、L-谷氨酰胺或其混合物。根据此实施方案，溶解增强剂可以范围在约2 wt%至约60 wt%的量存在。在优选实施方案中，溶解增强剂可以范围在约4 wt%至约40 wt%的量存在。在更优选实施方案中，溶解增强剂可以范围在约8 wt%至约20 wt%的量存在。

在某些实施方案中，溶解增强剂仅为L-组氨酸。根据此实施方案，溶解增强剂可以范围在约1 wt%至约30 wt%的量存在。在优选实施方案中，溶解增强剂可以范围在约2 wt%至约20 wt%的量存在。在更优选实施方案中，溶解增强剂可以范围在约4 wt%至约10 wt%的量存在。

在某些实施方案中，本发明的静脉注射用配制剂进一步含有至少一种赋形剂。赋形剂可用于增加替莫唑胺的溶解度。合适赋形剂包括(但不限于)聚山梨酸酯、聚乙二醇(PEG)、丙二醇、聚山梨酸酯或其合适的混合物。

在某些实施方案中，赋形剂为聚山梨酸酯。合适的聚山梨酸酯包括(但不限于)具有范围在约500克/摩尔至约1900克/摩尔的平均分子量的聚山梨

酸酯。在优选实施方案中，聚山梨酸酯具有范围在约800克/摩尔至约1600克/摩尔的平均分子量。在更优选实施方案中，聚山梨酸酯具有范围在约1000克/摩尔至约1400克/摩尔的平均分子量。聚山梨酸酯的实例包括(但不限于)聚山梨酸酯20、聚山梨酸酯21、聚山梨酸酯40、聚山梨酸酯60、聚山梨酸酯61、聚山梨酸酯65、聚山梨酸酯81、聚山梨酸酯85及聚山梨酸酯120。在优选实施方案中，聚山梨酸酯为聚山梨酸酯20、聚山梨酸酯80或其混合物。

在某些实施方案中，赋形剂为PEG。合适PEG包括(但不限于)具有范围在约200克/摩尔至约600克/摩尔的平均分子量的PEG。在优选实施方案中，PEG具有范围在约200克/摩尔至约500克/摩尔的平均分子量。在更优选实施方案中，PEG具有范围在约200克/摩尔至约400克/摩尔的平均分子量。PEG的实例包括(但不限于)PEG 200、PEG 300、PEG 400、PEG 540及PEG 600。

在某些实施方案中，赋形剂为丙二醇。丙二醇为具有约76.1克/摩尔的分子量的小分子。

在某些实施方案中，赋形剂在静脉注射用配制剂中以范围在约1 wt%至约50 wt%的量存在。在优选实施方案中，赋形剂以范围在约2 wt%至约30 wt%的量存在。在更优选实施方案中，赋形剂以范围在约4 wt%至约16 wt%的量存在。

在某些实施方案中，本发明的静脉注射用配制剂进一步含有至少一种增量剂。合适的增量剂包括(但不限于)甘露糖醇、乳糖、蔗糖、氯化钠、海藻糖、右旋糖、淀粉、羟乙基淀粉(hydroxyethylstarch)(羟乙基淀粉(hetastarch))、纤维素、环糊精、甘氨酸及其混合物。在此实施方案的某些方面，增量剂为甘露糖醇。

在某些实施方案中，增量剂在静脉注射用配制剂中以范围在约20 wt%至约80 wt%的量存在。在优选实施方案中，增量剂以范围在约35 wt%至约65 wt%的量存在。在更优选实施方案中，增量剂以范围在约40 wt%至约56 wt%的量存在。

在某些实施方案中，本发明的静脉注射用配制剂进一步含有至少一种缓冲剂。合适的缓冲剂包括(但不限于)柠檬酸盐缓冲剂、乳酸锂、乳酸钠、乳酸钾、乳酸钙、磷酸锂、磷酸钠、磷酸钾、磷酸钙、马来酸锂、马来酸钠、马来酸钾、马来酸钙、酒石酸锂、酒石酸钠、酒石酸钾、酒石酸钙、

琥珀酸锂、琥珀酸钠、琥珀酸钾、琥珀酸钙、乙酸锂、乙酸钠、乙酸钾、乙酸钙及其混合物。

在某些实施方案中，缓冲剂为柠檬酸盐缓冲剂。合适的柠檬酸盐缓冲剂包括(但不限于)单水合柠檬酸锂、单水合柠檬酸钠、单水合柠檬酸钾、单水合柠檬酸钙、二水合柠檬酸锂、二水合柠檬酸钠、二水合柠檬酸钾、二水合柠檬酸钙、三水合柠檬酸锂、三水合柠檬酸钠、三水合柠檬酸钾、三水合柠檬酸钙、四水合柠檬酸锂、四水合柠檬酸钠、四水合柠檬酸钾、四水合柠檬酸钙、五水合柠檬酸锂、五水合柠檬酸钠、五水合柠檬酸钾、五水合柠檬酸钙、六水合柠檬酸锂、六水合柠檬酸钠、六水合柠檬酸钾、六水合柠檬酸钙、七水合柠檬酸锂、七水合柠檬酸钠、七水合柠檬酸钾及七水合柠檬酸钙。

在某些实施方案中，缓冲剂在静脉注射用配制剂中以范围在约5 wt%至约60 wt%的量存在。在优选实施方案中，缓冲剂以范围在约10 wt%至约40 wt%的量存在。在更优选实施方案中，缓冲剂以范围在约15 wt%至约28 wt%的量存在。

在某些实施方案中，本发明的静脉注射用配制剂进一步含有pH值调节剂。合适pH值调节剂包括(但不限于)盐酸、氢氧化钠、柠檬酸、磷酸、乳酸、酒石酸、琥珀酸及其混合物。在某些实施方案中，pH值调节剂为盐酸。

在某些实施方案中，pH值调节剂在静脉注射用配制剂中以范围在约1 wt%至约20 wt%的量存在。在优选实施方案中，pH调节剂以范围在约2 wt%至约12 wt%的量存在。在更优选实施方案中，pH调节剂以范围在约4 wt%至约8 wt%的量存在。

在某些实施方案中，本发明的静脉注射用配制剂的pH值在约2.5至约6.0的范围。在优选实施方案中，pH值在约3.0至约4.5的范围。在更优选实施方案中，pH值在约3.8至约4.2的范围。

在某些实施方案中，静脉注射用配制剂含有替莫唑胺、水性稀释剂、尿素、盐酸、至少一种柠檬酸盐缓冲剂及甘露糖醇。

在某些实施方案中，静脉注射用配制剂含有替莫唑胺、尿素、盐酸、柠檬酸盐缓冲剂、甘露糖醇及选自水、生理盐水、5%葡萄糖溶液及其混合物的水性稀释剂。在此实施方案的某些方面，替莫唑胺以范围在约1 wt%至约50 wt%的量存在，盐酸以范围在约1 wt%至约20 wt%的量存在，一种

或多种柠檬酸盐缓冲剂以范围在约5 wt%至约60 wt%的量存在，尿素以范围在约4 wt%至约60 wt%的量存在且甘露糖醇以范围在约10 wt%至约85 wt%的量存在。

在某些实施方案中，静脉注射用配制剂含有替莫唑胺、聚山梨酸酯、盐酸、至少一种柠檬酸盐缓冲剂、甘露糖醇、水及选自L-组氨酸、L-苏氨酸、L-天冬酰胺、L-丝氨酸及L-谷氨酰胺的溶解增强剂。在此实施方案的某些方面，替莫唑胺以范围在约1 wt%至约50 wt%的量存在，盐酸以范围在约1 wt%至约20 wt%的量存在，一种或多种柠檬酸盐缓冲剂以范围在约5 wt%至约60 wt%的量存在，聚山梨酸酯以范围在约1 wt%至约50 wt%的量存在，溶解增强剂以范围在约2 wt%至约60 wt%的量存在且甘露糖醇以范围在约15 wt%至约85 wt%的量存在。

在某些实施方案中，静脉注射用配制剂含有替莫唑胺、聚山梨酸酯、盐酸、至少一种柠檬酸盐缓冲剂、甘露糖醇、水及L-苏氨酸。在此实施方案的某些方面，静脉注射用配制剂含有替莫唑胺、聚山梨酸酯80、盐酸、柠檬酸钠缓冲剂、甘露糖醇、水及L-苏氨酸。

可根据美国专利6,987,108中所描述的方法制备本发明的静脉注射用配制剂，该专利全文以引用的方式并入本文中。

给药方案

根据给药方案向患者施用本发明的静脉注射用配制剂。应了解，对于任何特殊患者的特定给药方案将视多种因素而定，这些因素包括物种、年龄、体重、体表面积、身高、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、排泄速率、药物组合、所治疗的特定疾病、状况严重程度、患者的肾及肝功能、所使用的特定活性成份或其盐及主治医师的判断。

在某些实施方案中，根据表1中所呈现的给药方案之一向患者施用本发明的静脉注射用配制剂以治疗增生性病征。在某些实施方案中，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期内历时5天。在其它实施方案中，给药方案为每日100 mg/m²，在21天周期内历时14天。在其它实施方案中，给药方案为每日150 mg/m²，在14天周期内历时7天。在其它实施方案中，给药方案为每日75 mg/m²，在56天周期内历时42天。

在这些实施方案的某些方面，所述增生性病征选自癌、肉瘤、神经胶质瘤、成胶质细胞瘤、脑癌、脑肿瘤、黑素瘤、肺癌、甲状腺滤泡性癌、

胰腺癌、未分化星状细胞瘤、膀胱癌、骨髓发育不良、前列腺癌、睾丸癌、淋巴瘤、白血病、蕈样真菌病、头部及颈部癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌和/或结肠癌或食道癌。在某些方面，增生性病征为脑肿瘤。在某些方面，增生性病征为神经胶质瘤。在某些方面，增生性病征为未分化星状细胞瘤或多形性成胶质细胞瘤。在其它方面，增生性病征为黑素瘤。在某些方面，增生性病征为肺癌。在其它方面，肺癌为非小细胞肺癌。在某些方面，增生性病征为癌。在某些方面，增生性病征为肉瘤。在某些方面，增生性病征为脑癌。在某些方面，增生性病征为甲状腺滤泡性癌。在某些方面，增生性病征为胰腺癌。在某些方面，增生性病征为膀胱癌。在某些方面，增生性病征为骨髓发育不良。在某些方面，增生性病征为前列腺癌。在某些方面，增生性病征为睾丸癌。在某些方面，增生性病征为淋巴瘤。在某些方面，增生性病征为白血病。在某些方面，增生性病征为蕈样真菌病。在某些方面，增生性病征为头部及颈部癌。在某些方面，增生性病征为乳腺癌。在某些方面，增生性病征为卵巢癌。在某些方面，增生性病征为结肠直肠癌和/或结肠癌。在某些方面，增生性病征为食道癌。

表1

TMZ给药方案及剂量强度					
方案编号	给药方案	给药时间表	总剂量 (毫克/平方米/4周)	剂量/周 (毫克/平方米)	剂量强度
1	5/28	150-200 mg/m ² , 5天/28天周期(200 mg)	1000	250	1
2	高剂量250 mg/m ² , 历时5/28	250 mg/m ² , 5/28, 伴随的w/a生长因子	1250	312	1.2
3	14/28	100 mg/m ² , 14天/28天周期	1400	350	1.4
4	高剂量300 mg/m ² , 历时5/28	300 mg/m ² , 5/28, 伴随的w/a生长因子	1500	375	1.5
5	21/28	75 mg/m ² , 21天/28天周期	1575	393.75	1.6
6	42/56	75 mg/m ² , 6周/8周周期	3150	393.75	1.6
7	21/28	85 mg/m ² , 21天/28天周期	1785	446.25	1.8
8	高剂量350 mg/m ² , 历时5/28	350 mg/m ² , 5/28, 伴随的w/a生长因子	1750	437.5	1.8
9	14天给药/7天不 给药	100 mg/m ² , 14天/21天周期	1400*	467	1.9
10	高剂量400 mg/m ² , 历时5/28	400 mg/m ² , 5/28, 伴随的w/a生长因子	2000	500	2.0
11	7/7	150 mg/m ² , 7天/14天周期	2100	525	2.1
12	21/28	100 mg/m ² , 21天/28天周期	2100	525	2.1
13	14/28	150 mg/m ² , 14天/28天周期	2100	525	2.1

14	连续给药	75 mg/m ² , 每日	2100	525	2.1
15	高剂量450 mg/m ² , 历时5/28	450 mg/m ² , 5/28, 伴随的w/a 生长因子	2250	562.5	2.25
16	14天给药/7天不 给药	150 mg/m ² , 14天/21天周期	2100*	700	2.8
17	连续给药	100 mg/m ² , 每日	2800	700	2.8
18	高剂量250 mg/m ² , 历时7/7	250 mg/m ² , 7/7, 伴随的w/a 生长因子	3500	875	3.5
19	高剂量300 mg/m ² , 历时7/7	300 mg/m ² , 7/7, 伴随的w/a 生长因子	4200	1050	4.2

*表示在3周周期内所接受的总剂量

在某些实施方案中, 本发明的方法用于治疗神经胶质瘤。在某些实施方案中, 根据表1中所呈现的给药方案之一向患有神经胶质瘤的患者施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中, 给药方案为每日150-200 mg/m², 在28天周期内历时5天。在其它实施方案中, 给药方案为每日100 mg/m², 在21天周期内历时14天。在其它实施方案中, 给药方案为每日150 mg/m², 在14天周期内历时7天。在其它实施方案中, 给药方案为每日75 mg/m², 在56天周期内历时42天。

在某些实施方案中, 本发明的方法用于治疗黑素瘤。在某些实施方案中, 根据表1中所呈现的给药方案之一向患有黑素瘤的患者施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中, 给药方案为每日150-200 mg/m², 在28天周期内历时5天。在其它实施方案中, 给药方案为每日100 mg/m², 在21天周期内历时14天。在其它实施方案中, 给药方案为每日150 mg/m², 在14天周期内历时7天。在其它实施方案中, 给药方案为每日75 mg/m², 在56天周期内历时42天。

在某些实施方案中, 本发明的方法用于治疗肺癌。在此实施方案的某

些方面，肺癌为非小细胞肺癌。在某些实施方案中，根据表1中所呈现的给药方案之一向患有肺癌的患者施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期内历时5天。在其它实施方案中，给药方案为每日100 mg/m²，在21天周期内历时14天。在其它实施方案中，给药方案为每日150 mg/m²，在14天周期内历时7天。在其它实施方案中，给药方案为每日75 mg/m²，在56天周期内历时42天。

在某些实施方案中，本发明的方法用于治疗淋巴瘤。在某些实施方案中，根据表1中所呈现的给药方案之一向患有淋巴瘤的患者施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期内历时5天。在其它实施方案中，给药方案为每日100 mg/m²，在21天周期内历时14天。在其它实施方案中，给药方案为每日150 mg/m²，在14天周期内历时7天。在其它实施方案中，给药方案为每日75 mg/m²，在56天周期内历时42天。

在某些实施方案中，本发明的方法用于治疗头部及颈部癌。在某些实施方案中，根据表1中所呈现的给药方案之一向患有头部及颈部癌症的患者施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期内历时5天。在其它实施方案中，给药方案为每日100 mg/m²，在21天周期内历时14天。在其它实施方案中，给药方案为每日150 mg/m²，在14天周期内历时7天。在其它实施方案中，给药方案为每日75 mg/m²，在56天周期内历时42天。

在某些实施方案中，本发明的方法用于治疗卵巢癌。在某些实施方案中，根据表1中所呈现的给药方案之一向患有卵巢癌的患者施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期内历时5天。在其它实施方案中，给药方案为每日100 mg/m²，在21天周期内历时14天。在其它实施方案中，给药方案为每日150 mg/m²，在14天周期内历时7天。在其它实施方案中，给药方案为每日75 mg/m²，在56天周期内历时42天。

在某些实施方案中，本发明的方法用于治疗结肠直肠癌和/或结肠癌。在某些实施方案中，根据表1中所呈现的给药方案之一向患有结肠直肠癌和/或结肠癌的患者施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期内历时5天。在其它实施方案中，给药方案为每日100 mg/m²，在21天周期内历时14天。在其它实施方案中，给药

方案为每日150 mg/m²，在14天周期内历时7天。在其它实施方案中，给药方案为每日75 mg/m²，在56天周期内历时42天。

在某些实施方案中，本发明的方法用于治疗食道癌。在某些实施方案中，根据表1中所呈现的给药方案之一向患有食道癌的患者施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期内历时5天。在其它实施方案中，给药方案为每日100 mg/m²，在21天周期内历时14天。在其它实施方案中，给药方案为每日150 mg/m²，在14天周期内历时7天。在其它实施方案中，给药方案为每日75 mg/m²，在56天周期内历时42天。

施用一种或多种其它治疗剂的方法

在某些实施方案中，本发明的方法包括施用替莫唑胺的静脉注射用配制剂及一种或多种其它治疗剂。可经由任何途径施用一种或多种其它治疗剂。在某些实施方案中，静脉内施用一种或多种其它治疗剂。在此实施方案的某些方面，经由静脉内注射施用一种或多种其它治疗剂。在其它方面，经由静脉内输注施用一种或多种其它治疗剂。

合适的其它治疗剂包括(但不限于)生长因子、一种或多种聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂、O⁶-苄基鸟嘌呤(O⁶BG)、止吐剂、类固醇、法呢基蛋白质转移酶抑制剂、P-糖蛋白(P-gp)抑制剂、周期素(cyclin)依赖性激酶(CDK)抑制剂、检查点激酶-1(CHK-1)抑制剂、其它抗增生剂或抗癌剂及改变替莫唑胺的分布以实现功效和/或安全性的药剂。

在某些实施方案中，与生长因子组合施用静脉注射用配制剂。合适的生长因子包括(但不限于)GM-CSF、G-CSF、IL-1、IL-3、IL-6或红细胞生成素。非限制性生长因子包括Epogen®(阿法依伯汀(epoetin alfa))、Procrit®(阿法依伯汀)、Neupogen®(非格司亭(filgrastim)，一种人类G-CSF)、Aranesp®(高糖基化重组阿法达贝泊汀(darbepoetin alfa))、Neulasta®(也称为Neupopeg，聚乙二醇化重组非格司亭，乙二醇化非格司亭)、Albupoietin™(长效红细胞生成素)及Albugranin™(白蛋白G-CSF，一种长效G-CSF)。在某些实施方案中，生长因子为G-CSF。

在某些实施方案中，与聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂组合施用静脉注射用配制剂。可在施用本发明的单位剂型之前、同时或之后施用PARP抑制剂。合适的PARP抑制剂包括CEP-6800(Cephalon; 描述于Miknyoczki

等人, *Mol Cancer Ther*, 2(4):371-382 (2003)中); 3-氨基苯甲酰胺(也称为3-AB; Inotek; 描述于Liaudet等人, *Br J Pharmacol*, 133(8):1424-1430 (2001)中); PJ34(Inotek; 描述于Abdelkarim等人, *Int J Mol Med*, 7(3):255-260 (2001)中); 5-碘-6-氨基-1,2-苯并吡喃酮(也称为INH(2)BP; Inotek; 描述于Mabley等人, *Br J Pharmacol*, 133(6):909-919 (2001)中); GPI 15427(描述于Tentori等人, *Int J Oncol*, 26(2):415-422 (2005)中); 1,5-二羟基异喹啉(也称为DIQ; 描述于Walisser及Thies, *Exp Cell Res*, 251(2):401-413 (1999)中); 5-氨基异喹啉酮(也称为5-AIQ; 描述于Di Paola等人, *Eur J Pharmacol*, 492(2-3):203-210 (2004)中); AG14361 (描述于Bryant和Helleday, *Biochem Soc Trans*, 32(Pt 6):959-961 (2004); Veuger等人, *Cancer Res*, 63(18):6008-6015 (2003); 和Veuger等人, *Oncogene*, 23(44):7322-7329 (2004)); ABT-472 (Abbott); INO-1001 (Inotek); AAI-028 (Novartis); KU-59436 (KuDOS; 描述于Farmer等人, "Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy," *Nature*, 434(7035):917-921 (2005)); 和描述于如下的那些: Jagtap等人, *Crit Care Med*, 30(5):1071-1082 (2002); Loh等人, *Bioorg Med Chem Lett*, 15(9):2235-2238 (2005); Ferraris等人, *J Med Chem*, 46(14):3138-3151 (2003); Ferraris等人, *Bioorg Med Chem Lett*, 13(15):2513-2518 (2003); Ferraris等人, *Bioorg Med Chem*, 11(17):3695-3707 (2003); Li和Zhang *IDrugs*, 4(7):804-812 (2001); Steinhagen等人, *Bioorg Med Chem Lett*, 12(21):3187-3190 (2002)); WO 02/06284 (Novartis); 和 WO 02/06247 (Bayer)。

在某些实施方案中, 与O⁶-苄基鸟嘌呤(O⁶BG)组合施用静脉注射用配制剂以增强造血毒性。可在施用本发明的静脉注射用配制剂之前、同时或之后施用O⁶BG。

在某些实施方案中, 与止吐剂组合施用静脉注射用配制剂。合适的止吐剂包括(但不限于)帕洛诺司琼(Palonosetron)、托烷司琼(Tropisetron)、昂丹司琼(Ondansetron)、格拉司琼(Granisetron)、贝美司琼(Bemesetron)或其混合物。在某些实施方案中, 在一剂量单位中活性止吐物质的量为2至10 mg, 而在一剂量单位中5至8 mg活性物质的量尤其优选。日剂量通常包含2至20 mg的活性物质的量, 尤其优选为5至16 mg的活性物质的量。在某些实施方案中, 可单独或与类固醇(例如地塞米松(dexamethasone))组合连同止吐剂一起施用神经激肽-1拮抗剂(NK-1拮抗剂)(例如阿瑞匹坦

(aprepitant)。在其它实施方案中，与NK-1拮抗剂单独组合或连同类固醇一起组合施用静脉注射用配制剂。

在某些实施方案中，与法呢基蛋白质转移酶抑制剂组合施用静脉注射用配制剂。

在某些实施方案中，与P-gp抑制剂组合施用静脉注射用配制剂。合适的P-gp抑制剂包括放线菌素D(Actinomycin D)、胺碘酮(Amiodarone)、阿伐他汀(Atorvastatin)、溴隐亭(Bromocriptine)、卡维地洛(Carvedilol)、克拉霉素(Clarithromycin)、氯丙嗪(Chlorpromazine)、秋水仙碱(Colchines)、环孢霉素(Cyclosporine)、去甲舍曲林(Desmethylsertraline)、双嘧达莫(Dipyridamole)、多柔比星(Doxorubicin)、依米丁(Emetine)、红霉素(Erythromycin)、埃索美拉唑(Esomeprazole)、非诺贝特(Fenofibrate)、氟哌噻吨(Flupenthixol)、氟西汀(Fluoxetine)、茚地那韦(Indinavir)、伊曲康唑(Itraconazole)、酮康唑(Ketoconazole)、兰索拉唑(Lansoprazole)、甲氟喹(Mefloquine)、醋酸甲地孕酮(Megestrol acetate)、美沙酮(Methadone)、10,11-桥亚甲基二苯并环庚烷、奈非那韦(Nelfinavir)、尼卡地平(Nicardipine)、奥美拉唑(Omeprazole)、泮托拉唑(Pantoprazole)、帕罗西汀(Paroxetine)、喷他佐辛(Pentazocine)、吩噻嗪(phenothiazines)、孕酮(Progesterone)、普罗帕酮(Propafenone)、奎尼丁(Quinidine)、利舍平(Reserpine)、利托那韦(Ritonavir)、沙奎那韦(Saquinavir)、舍曲林(Sertaline)、西罗莫司(Sirolimus)、螺内酯(Spironolactone)、他克莫司(Tacrolimus)、他莫西芬(Tamoxifen)、伐司朴达(Valspodar)、维拉帕米(Verapamil)、长春花碱(Vinblastine)、维生素E-TGPS、吡啶衍生物(例如GF120918、FK506、VX 710、LY335979、PSC-833、GF-102,918及其它类固醇)及公开于美国专利6,703,400中的P-gp抑制剂(该专利内容以引用的方式全部并入本文中)。

在某些实施方案中，与CDK抑制剂组合施用静脉注射用配制剂。合适CDK抑制剂包括黄皮利多(flavopiridol)、奥罗莫新(olomoucine)、罗斯维汀(roscovitine)、于美国专利7,119,200、美国专利7,161,003、美国专利7,166,602、美国专利7,196,078、美国专利6,107,305、K. S. Kim等人, J. Med. Chem. 45(2002) 3905-3927、WO 02/10162、WO 0164653及WO 0164656中所公开的CDK抑制剂，所有这些文献以引用的方式全部并入本文中。

在某些实施方案中，与CHK-1抑制剂组合施用静脉注射用配制剂。合适的CHK-1抑制剂包括XL-844、公开于Sanchez, Y.等人(1997) Science 277:

1497 1501和Flaggs, G等人(1997) Current Biology 7:977 986; 美国专利Nos. 6,413,755, 6,383,744,和6,211,164;和国际公开Nos. WO 01/16306, WO 01/21771, WO 00/16781,和WO 02/070494)中的CDK-1抑制剂,所有这些文献以引用的方式全部并入本文中。

适用于本发明的其它CDK及CHK抑制剂描述于WO2007/044449; WO2007/044441; WO2007/044426; WO2007/044420; WO2007/044410; WO2007/044407; WO2007/044401; 和WO2007/041712中,其所有以引用的方式全部并入本文中。

在其它实施方案中,连同另一抗赘生剂一起施用静脉注射用配制剂。合适抗赘生剂包括(但不限于)乌拉莫司汀(Uracil Mustard)、氮芥(Chlormethine)、环磷酰胺、异环磷酰胺(Ifosfamide)、美法仑(Melphalan)、苯丁酸氮芥(Chlorambucil)、哌泊溴烷(Pipobroman)、曲他胺(Triethylenemelamine)、三乙基硫代磷胺、白消安(Busulfan)、卡莫司汀(Carmustine)、洛莫司汀(Lomustine)、链佐星(Streptozocin)、达卡巴嗪(Dacarbazine)、甲胺喋呤(Methotrexate)、5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil)、氟尿昔(Floxuridine)、阿糖胞苷(Cytarabine)、6-巯基嘌呤(6-Mercaptopurine)、6-硫代鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨(Fludarabine phosphate)、喷司他丁(Pentostatine)、吉西他滨(Gemcitabine)、长春花碱(Vinblastine)、长春新碱(Vincristine)、长春地辛(Vindesine)、博来霉素(Bleomycin)、放线菌素(Dactinomycin)、道诺霉素(Daunorubicin)、多柔比星(Doxorubicin)、表柔比星(Epirubicin)、伊达比星(Idarubicin)、紫杉醇(Paclitaxel)、光辉霉素(Mithramycin)、脱氧助间型霉素(Deoxycoformycin)、丝裂霉素-C(Mitomycin-C)、L-天冬酰胺酶、干扰素(Interferons)、依托泊苷(Etoposide)、替尼泊苷(Teniposide)、17 α -炔雌醇(17 α -Ethinylestradiol)、二乙基己烯雌酚(Diethylstilbestrol)、睾酮(Testosterone)、泼尼松(Prednisone)、氟甲睾酮(Fluoxymesterone)、屈他雄酮丙酸酯(Dromostanolone propionate)、睾内酯(Testolactone)、醋酸甲地孕酮(Megestrolacetate)、它莫西芬(Tamoxifen)、甲泼尼龙(Methylprednisolone)、甲基睾酮(Methyltestosterone)、泼尼龙(Prednisolone)、曲安西龙(Triamcinolone)、氯烯雌醚(Chlorotrianisene)、羟孕酮(Hydroxyprogesterone)、氨基鲁米特(Aminoglutethimide)、雌莫司汀(Estramustine)、醋酸甲羟孕酮(Medroxyprogesteroneacetate)、亮丙瑞林

(Leuprolide)、氟他胺(Flutamide)、托瑞米芬(Toremifene)、戈舍瑞林(Goserelin)、顺铂(Cisplatin)、卡铂(Carboplatin)、羟基脲(Hydroxyurea)、安吡啶(Amsacrine)、丙卡巴肼(Procarbazine)、米托坦(Mitotane)、米托蒽醌(Mitoxantrone)、左旋咪唑(Levamisole)、温诺平(Navelbene)、安美达锭(Anastrozole)、来曲唑(Letrozole)、卡西他滨(Capecitabine)、瑞洛昔芬(Reloxafine)、屈洛昔芬(Droloxafine)、六甲嘧胺(Hexamethylmelamine)、奥赛力铂(Oxaliplatin) (Eloxatin®)、易瑞沙(Iressa)(吉非替尼(gefinitib), Zd1839)、XELODA®(卡西他滨)、Tarceva®(尔洛替尼(erlotinib))、阿扎胞苷(Azacitidine)(5-氮胞苷; 5-AzaC)及其混合物。

在某些实施方案中,可连同其它抗癌剂一起施用静脉注射用配制剂,例如公开于美国专利 5,824,346, 5,939,098, 5,942,247, 6,096,757, 6,251,886, 6,316,462, 6,333,333, 6,346,524, 和6,703,400中的抗癌剂,所有这些专利以引用的方式全部并入本文中。

评估MGMT基因的甲基化状态的方法

作为烷基化剂的替莫唑胺通过与DNA结合而在结构上使DNA螺旋结构变形以防止DNA转录及转译来造成细胞死亡。在正常细胞中,烷基化剂的损害作用可由细胞DNA修复酶(特别是MGMT)来修复。MGMT的含量在肿瘤细胞中有所不同,甚至在同一类型的肿瘤中也不同。编码MGMT的基因通常不突变或缺失。相反地,MGMT在肿瘤细胞中的低含量归因于表观遗传修饰(epigenetic modification); MGMT启动子区被甲基化,由此抑制MGMT基因转录且防止MGMT表达。

美国公开20060100188(其全文以引用的方式并入本文中)公开了治疗患者的癌症的方法,其包含根据基于患者的MGMT含量改良的给药方案和/或时间表来施用替莫唑胺。

在某些实施方案中,给药方案基于获自患者的样品中的MGMT基因的甲基化状态。在某些实施方案中,通过测定MGMT基因是否甲基化来评估甲基化状态。在其它实施方案中,通过定量测量MGMT基因的甲基化水平来评估甲基化状态。在其它实施方案中,通过测定MGMT蛋白质是否表达来评估甲基化状态。在其它实施方案中,通过测定在患者样品中所表达的MGMT蛋白质含量或测量MGMT的酶活性来评估甲基化状态。

可使用任何本领域技术人员已知的方法进行MGMT基因是否甲基化

的评估。适用于检测基因或核酸的甲基化的技术包括(但不限于)由Ahrendt等人, J. Natl. Cancer Inst., 91:332-339 (1999); Belsinky等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 95:11891-11896 (1998), Clark等人, Nucleic Acids Res., 22:2990-2997 (1994); Herman等人, Proc Natl Acad Sci U.S.A., 93:9821-9826 (1996); Xiong and Laird, Nucleic Acids Res., 25:2532-2534 (1997); Eads等人, Nuc. Acids. Res., 28:e32 (2002); Cottrell等人, Nucleic Acids Res., 32:1-8 (2004)所描述的技术。

甲基化特异性PCR(MSP)可不依赖于使用甲基化敏感性限制酶而迅速评估实际上CpG岛内任一组CpG位点的甲基化状态。参见MSP; Herman等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93(18):9821-9826 (1996); Esteller等人, Cancer Res., 59:793-797 (1999)); 还参见1998年7月28日发布的美国专利No. 5,786,146; 2000年1月25日发布的美国专利No. 6,017,704; 2001年3月13日发布的美国专利No. 6,200,756; 和2001年7月24日发布的美国专利No. 6,265,171; 2004年8月10日发布的美国专利No. 6,773,897; 其每一者的全文以引用的方式并入本文中。MSP检定(assay)需要使用亚硫酸氢钠初步修饰DNA,使所有未甲基化但不甲基化的胞嘧啶转化成尿嘧啶,且随后使用相对于未甲基化DNA的对甲基化有特异性的引物进行扩增。MSP仅需要少量DNA,对给定CpG岛位点的0.1%甲基化等位基因敏感,且可在从石蜡包埋的样品中所提取的DNA上进行。MSP排除先前基于PCR的方法所固有的假阳性结果,所述基于PCR的方法依靠差异限制酶切割来区分甲基化与未甲基化DNA。此方法极为简单且可用于少量组织或少量细胞上。如本领域技术人员将了解的,若编码MGMT的基因并未甲基化,则MGMT蛋白被表达且可如本文中以下所详述般加以检测(例如通过蛋白质印迹法、免疫组织化学技术或针对MGMT活性的酶促检定等)。

适用于本发明的此实施方案以测量MGMT蛋白在患者样品中的含量的蛋白质印迹检定的例示性实例呈现于Li等人的美国专利No. 5,817,514中,该专利全文以引用的方式并入本文中。Li等人描述能够特异性结合于原生人类MGMT蛋白或具有经烷基化的活性位点的人类MGMT蛋白的单克隆抗体。

适用于本发明的此实施方案以测量MGMT蛋白在患者样品中的含量的免疫组织化学技术的例示性实例呈现于美国专利No. 5,407,804中,该专利全文以引用的方式并入本文中。公开了能够特异性结合于单细胞制剂

(免疫组织化学染色检定)中及细胞萃取(免疫检定)中的MGMT蛋白的单克隆抗体。描述了与细胞图像的数字化联系的荧光读出装置的使用且此举允许定量测量在患者及对照样品(包括(但不限于)肿瘤活组织检查样品)中的MGMT含量。

适用于测量MGMT蛋白的酶活性的技术包括(但不限于)由以下文献所描述的方法: Myrnes等人, *Carcinogenesis*, 5:1061-1064 (1984); Futscher等人, *Cancer Comm.*, 1: 65-73 (1989); Kreklaw等人, *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 297(2):524-530 (2001); 和Nagel等人, *Anal. Biochem.*, 321(1):38-43 (2003), 这些文献全文全部并入本文中。

可经由测量MGMT蛋白来评估在获自患者的样品中表达的MGMT蛋白的含量, 例如通过使用对MGMT有特异性的抗体进行蛋白质印迹法, 参看, 例如美国专利No. 5,817,514。还可通过对限定数目的患者细胞使用免疫组织化学技术测量MGMT蛋白来评估在样品中表达的MGMT的含量, 例如使用对MGMT有特异性的经标记抗体并比较由相同限定数目的已知表达MGMT的正常淋巴细胞所表达的MGMT含量(参见, 例如描述有用的定量免疫组织化学检定的Yarosh的美国专利No. 5,407,804)。或者, 可通过酶促检定(即甲基化DNA的O⁶或N⁷鸟嘌呤位置的能力)评估MGMT的含量。在这些方法的每一者中, 将所表达的MGMT蛋白的测量含量与由已知表达MGMT的正常淋巴细胞所表达的MGMT蛋白含量相比。将患者MGMT蛋白含量分类如下: 低=0-30%由正常淋巴细胞所表达的MGMT; 中等=31-70%由正常淋巴细胞所表达的MGMT; 和高=71-300%或更高的由正常淋巴细胞所表达的MGMT。将患者MGMT含量分类如下: 低=0-30%正常淋巴细胞的MGMT酶活性; 中等=31-70%正常淋巴细胞的MGMT酶活性; 和高=71-300%或更高的正常淋巴细胞的MGMT酶活性。

可评估MGMT的比活性且其基于与已知表达MGMT的细胞系的比较而分类如下: 低=小于20 fmol/mg; 中等=20-60 fmol/mg; 或高=大于60 fmol/mg; 其中MGMT的比活性在LOX细胞中为6-9 fmol/mg, 在DAOY细胞中为60-100 fmol/mg且在A375细胞中为80-150 fmol/mg。

可经由定量测量编码MGMT的基因的甲基化来评估甲基化水平。称为COBRA的定量技术(Xiong等人, *Nuc. Acids Res.*, 25:2532-2534 (1997))可用于此测定。还可使用Eads等人, *Nuc. Acids Res.*, 28(8):e32 (2000); 美国专利No. 6,331,393的“甲基化荧光检定(methyl light)”技术。将编码MGMT

的基因在患者细胞中的甲基化水平与相等数目的已知表达MGMT的正常淋巴细胞的甲基化水平相比较。如本领域技术人员将理解的,表达MGMT的正常淋巴细胞具有低水平的MGMT基因甲基化;相反地,具有高水平的MGMT基因甲基化的细胞表示低含量的MGMT蛋白(参看,例如Costello等人, *J. Biol. Chem.*, 269(25):17228-17237 (1994); Qian等人, *Carcinogen*, 16(6):1385-1390 (1995))。将患者甲基化的MGMT基因水平分类如下:低=MGMT基因的启动子区中的0-20% CpGs被甲基化;中等=MGMT基因的启动子区中的21-50% CpGs被甲基化;和高=MGMT基因的启动子区中的51-100% CpGs被甲基化。

COBRA可用于在少量染色体组DNA中定量测量特定基因位点上的DNA甲基化水平。使用限制酶消化作用来展现经亚硫酸氢钠处理的DNA的PCR产物中的甲基化依赖性序列差异。(Tano等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87:686-690 (1990)描述了人类MGMT基因的分离及序列)。在DNA甲基化水平的宽谱上以线性定量方式由消化与未消化PCR产物的相对量来表示初始DNA样品中的甲基化水平。此技术可可靠地应用于获自显微解剖的石蜡包埋型组织样品的DNA。COBRA因此组合使用了便利性、精确定量及与石蜡切片兼容的有效特征。

适用于评估MGMT mRNA的含量的RT-PCR检定的例示性实例描述于Watts等人, *Mol. Cell. Biol.*, 17 (9):5612-5619 (1997)中。简言之,通过异硫氰酸胍(guanidium)细胞溶解,接着通过5.7 M CsCl梯度在205,000×g下离心2.5小时来分离总细胞RNA。在Beckman TL-100分光光度计中通过测量在260 nm下的吸光率来量化RNA。通过将40 μl包含200 ng RNA; 1 × PCR缓冲液(10 mM Tris [pH 8.3], 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂); 各1 mM的dATP、dCTP、dGTP及dTTP; 200 pmol无规六聚物、40 U RNasin及24 U禽成髓细胞瘤病毒逆转录酶(Boehringer Mannheim, Indianapolis, Ind.)的反应混合物在42°C下培育60分钟来使总细胞RNA逆转录。随后通过在99°C下培育10分钟停止反应。通过将80 μl扩增反应缓冲液(1 × PCR缓冲液、25 pmol MGMT特异性引物和/或对照序列及2 U Taq DNA聚合酶)添加至20 μl逆转录反应混合物中,接着在94°C下培育5分钟; 94°C下历时1分钟、60°C下历时15秒且72°C下历时1分钟,循环30次; 在72°C下最后延长5分钟; 且迅速冷却至4°C来进行MGMT特异性PCR。例如,可使用来自MGMT基因的外显子4(nt 665至684)的上游引物序列。核苷酸位置可衍生自cDNA序列

(Tano等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:686-690 (1990)). 可将对照引物序列用于同一cDNA反应(例如组蛋白3.3基因的引物)。为了进行分析, 将10%的个别PCR产物经由3%琼脂糖凝胶分离并通过溴化乙锭染色进行目测。

基于MGMT基因的甲基化状态来治疗患有增生性病征的患者的方法

本发明提供了使用替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的静脉注射用配制剂来治疗患有增生性病征的患者的方法。在某些实施方案中, 使用静脉注射用配制剂治疗患有选自以下各病的增生性病征的患者: 癌、肉瘤、神经胶质瘤、脑癌、脑肿瘤、黑素瘤、肺癌、甲状腺滤泡性癌、胰腺癌、膀胱癌、骨髓发育不良、前列腺癌、睾丸癌、淋巴瘤、白血病、蕈样真菌病、头部及颈部癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌和/或结肠癌或食道癌。在某些实施方案中, 增生性病征为脑肿瘤。在某些方面, 脑肿瘤为神经胶质瘤。在某些方面, 神经胶质瘤为未分化星状细胞瘤或多形性成胶质细胞瘤。在其它实施方案中, 增生性病征为黑素瘤。在某些实施方案中, 增生性病征为肺癌。在某些方面, 肺癌为非小细胞肺癌。在某些实施方案中, 增生性病征为癌。在某些实施方案中, 增生性病征为肉瘤。在某些实施方案中, 增生性病征为脑癌。在某些实施方案中, 增生性病征为甲状腺滤泡性癌。在某些实施方案中, 增生性病征为胰腺癌。在某些实施方案中, 增生性病征为膀胱癌。在某些实施方案中, 增生性病征为骨髓发育不良。在某些实施方案中, 增生性病征为前列腺癌。在某些实施方案中, 增生性病征为睾丸癌。在某些实施方案中, 增生性病征为淋巴瘤。在某些实施方案中, 增生性病征为白血病。在某些实施方案中, 增生性病征为蕈样真菌病。在某些实施方案中, 增生性病征为头部及颈部癌。在某些实施方案中, 增生性病征为乳腺癌。在某些实施方案中, 增生性病征为卵巢癌。在某些实施方案中, 增生性病征为结肠直肠癌和/或结肠癌。在某些实施方案中, 增生性病征为食道癌。

根据给药方案施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中, 给药方案基于检测样品中的甲基化的MGMT基因。当在获自患有增生性病征的患者的样品中检测到MGMT基因的甲基化时, 给药方案为每日150-200 mg/m², 在28天周期中历时5天。当并未检测到甲基化时, 给药方案为(i)每日100 mg/m², 在21天周期中历时14天; (ii)每日150 mg/m², 在14天周期中历时7

天；或(iii)每日100 mg/m²，在28天周期中历时21天。在某些实施方案中，样品为肿瘤活组织检查样品。在某些实施方案中，使用MSP检测MGMT基因。

在某些实施方案中，给药方案基于样品中所检测的MGMT基因的甲基化程度或水平。当甲基化程度或水平低时，给药方案为(i)每日85 mg/m²，在28天周期中历时21天；(ii)每日350 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(iii)每日100 mg/m²，在21天周期中历时14天；(iv)每日400 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(v)每日150 mg/m²，在14天周期中历时7天；(vi)每日100 mg/m²，在28天周期中历时21天；(vii)每日150 mg/m²，在28天周期中历时14天；(viii)每日75 mg/m²；(ix)每日450 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(x)每日150 mg/m²，在21天周期中历时14天；(xi)每日100 mg/m²；(xii)每日250 mg/m²，在14天周期中历时7天，并与生长因子结合；或(xiii)每日300 mg/m²，在14天周期中历时7天，并与生长因子结合。在某些方面，给药方案为(i)每日100 mg/m²，在21天周期中历时14天；(ii)每日400 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(iii)每日150 mg/m²，在14天周期中历时7天。当甲基化程度或水平为中等时，给药方案为(i)每日100 mg/m²，在28天周期中历时14天；(ii)每日300 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(iii)每日75 mg/m²，在28天周期中历时21天；或(iv)每日75 mg/m²，在56天周期中历时42天。当甲基化程度或水平为高时，给药方案为(i)每日150-200 mg/m²，在28天周期中历时5天；或(ii)每日250 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合。在某些实施方案中，样品为肿瘤活组织检查样品。在某些实施方案中，使用MSP检测MGMT基因。

在其它实施方案中，给药方案基于MGMT蛋白的存在或不存在。当在获自患有增生性病征的患者的样品中并未检测到MGMT蛋白时，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期中历时5天。当检测到MGMT蛋白时，给药方案选自(i)每日100 mg/m²，在21天周期中历时14天；(ii)每日150 mg/m²，在14天周期中历时7天；或(iii)每日100 mg/m²，在28天周期中历时21天。在某些实施方案中，样品为肿瘤活组织检查样品。在某些实施方案中，使用蛋白质印迹法免疫检定、免疫组织化学技术或针对MGMT蛋白的酶促检定检测MGMT蛋白。

在其它实施方案中，给药方案基于样品中所检测的MGMT蛋白的含量

或活性。当与正常淋巴细胞的含量或酶活性相比，获自患者的样品中所检测的MGMT蛋白的含量或酶活性为低时，给药方案为(i)每日150-200 mg/m²，在28天周期中历时5天；或(ii)每日250 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合。当MGMT蛋白的含量或酶活性为中等时，给药方案为(i)每日100 mg/m²，在28天周期中历时14天；(ii)每日300 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(iii)每日75 mg/m²，在28天周期中历时21天；或(iv)每日75 mg/m²，在56天周期中历时42天。当获自患者的样品中所检测的MGMT蛋白的含量或酶活性为高时，给药方案选自(i)每日100 mg/m²，在21天周期中历时14天；(ii)每日150 mg/m²，在14天周期中历时7天；或(iii)每日100 mg/m²，在28天周期中历时21天。在某些实施方案中，样品为肿瘤活组织检查样品。

基于MGMT基因的甲基化状态治疗患有神经胶质瘤的患者的方法

本发明还提供了使用替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的静脉注射用配制剂治疗患有神经胶质瘤的患者的方法。根据给药方案施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中，给药方案基于检测样品中的甲基化的MGMT基因。当在获自患有神经胶质瘤的患者的样品中检测到MGMT基因的甲基化时，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期中历时5天。当并未检测到甲基化时，给药方案为(i)每日100 mg/m²，在21天周期中历时14天；(ii)每日150 mg/m²，在14天周期中历时7天；或(iii)每日100 mg/m²，在28天周期中历时21天。在某些实施方案中，样品为肿瘤活组织检查样品。在某些实施方案中，使用MSP检测MGMT基因。

在某些实施方案中，给药方案基于样品中所检测的MGMT基因的甲基化程度或水平。当甲基化程度或水平低时，给药方案为(i)每日85 mg/m²，在28天周期中历时21天；(ii)每日350 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(iii)每日100 mg/m²，在21天周期中历时14天；(iv)每日400 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(v)每日150 mg/m²，在14天周期中历时7天；(vi)每日100 mg/m²，在28天周期中历时21天；(vii)每日150 mg/m²，在28天周期中历时14天；(viii)每日75 mg/m²；(ix)每日450 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(x)每日150 mg/m²，在21天周期中历时14天；(xi)每日100 mg/m²；(xii)每日250 mg/m²，在14天周期中历时7天，并与生长因子结合；或(xiii)每日300 mg/m²，在14天周

期中历时7天，并与生长因子结合。在某些方面，给药方案为(i)每日100 mg/m²，在21天周期中历时14天；(ii)每日400 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(iii)每日150 mg/m²，在14天周期中历时7天。当甲基化程度或水平为中等时，给药方案为(i)每日100 mg/m²，在28天周期中历时14天；(ii)每日300 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(iii)每日75 mg/m²，在28天周期中历时21天；或(iv)每日75 mg/m²，在56天周期中历时42天。当甲基化程度或水平为高时，给药方案为(i)每日150-200 mg/m²，在28天周期中历时5天；或(ii)每日250 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合。在某些实施方案中，样品为肿瘤活组织检查样品。在某些实施方案中，使用MSP检测MGMT基因。

在其它实施方案中，给药方案基于MGMT蛋白的存在或不存在。当在获自患有神经胶质瘤的患者的样品中并未检测到MGMT蛋白时，给药方案为每日150-200 mg/m²，在28天周期中历时5天。当检测到MGMT蛋白时，给药方案选自(i)每日100 mg/m²，在21天周期中历时14天；(ii)每日150 mg/m²，在14天周期中历时7天；或(iii)每日100 mg/m²，在28天周期中历时21天。在某些实施方案中，样品为肿瘤活组织检查样品。在某些实施方案中，使用蛋白质印迹免疫检定、免疫组织化学技术或针对MGMT蛋白的酶促检定检测MGMT蛋白。

在其它实施方案中，给药方案基于样品中所检测的MGMT蛋白的含量或活性。当与正常淋巴细胞的含量或酶活性相比，获自患者的样品中所检测的MGMT蛋白的含量或酶活性为低时，给药方案为(i)每日150-200 mg/m²，在28天周期中历时5天；或(ii)每日250 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合。当MGMT蛋白的含量或酶活性为中等时，给药方案为(i)每日100 mg/m²，在28天周期中历时14天；(ii)每日300 mg/m²，在28天周期中历时5天，并与生长因子结合；(iii)每日75 mg/m²，在28天周期中历时21天；或(iv)每日75 mg/m²，在56天周期中历时42天。当获自患者的样品中所检测的MGMT蛋白的含量或酶活性为高时，给药方案选自(i)每日100 mg/m²，在21天周期中历时14天；(ii)每日150 mg/m²，在14天周期中历时7天；或(iii)每日100 mg/m²，在28天周期中历时21天。在某些实施方案中，样品为肿瘤活组织检查样品。

基于MGMT基因的甲基化状态治疗患有黑素瘤的患者的方法

本发明还提供了使用替莫唑胺或其医药学上可接受的盐的静脉注射用配制剂治疗患有黑素瘤的患者的方法。根据给药方案施用静脉注射用配制剂。在某些实施方案中,给药方案基于检测样品中的甲基化MGMT基因。当在获自患有黑素瘤的患者的样品中检测到MGMT基因的甲基化时,给药方案为每日150-200 mg/m²,在28天周期中历时5天。当并未检测到甲基化时,给药方案为(i)每日100 mg/m²,在21天周期中历时14天;(ii)每日150 mg/m²,在14天周期中历时7天;或(iii)每日100 mg/m²,在28天周期中历时21天。在某些实施方案中,样品为肿瘤活组织检查样品。在某些实施方案中,使用MSP检测MGMT基因。

在某些实施方案中,给药方案基于样品中所检测的MGMT基因的甲基化程度或水平。当甲基化程度或水平低时,给药方案为(i)每日85 mg/m²,在28天周期中历时21天;(ii)每日350 mg/m²,在28天周期中历时5天,并与生长因子结合;(iii)每日100 mg/m²,在21天周期中历时14天;(iv)每日400 mg/m²,在28天周期中历时5天,并与生长因子结合;(v)每日150 mg/m²,在14天周期中历时7天;(vi)每日100 mg/m²,在28天周期中历时21天;(vii)每日150 mg/m²,在28天周期中历时14天;(viii)每日75 mg/m²;(ix)每日450 mg/m²,在28天周期中历时5天,并与生长因子结合;(x)每日150 mg/m²,在21天周期中历时14天;(xi)每日100 mg/m²;(xii)每日250 mg/m²,在14天周期中历时7天,并与生长因子结合;或(xiii)每日300 mg/m²,在14天周期中历时7天,并与生长因子结合。在某些方面,给药方案为(i)每日100 mg/m²,在21天周期中历时14天;(ii)每日400 mg/m²,在28天周期中历时5天,并与生长因子结合;(iii)每日150 mg/m²,在14天周期中历时7天。当甲基化程度或水平为中等时,给药方案为(i)每日100 mg/m²,在28天周期中历时14天;(ii)每日300 mg/m²,在28天周期中历时5天,并与生长因子结合;(iii)每日75 mg/m²,在28天周期中历时21天;或(iv)每日75 mg/m²,在56天周期中历时42天。当甲基化程度或水平为高时,给药方案为(i)每日150-200 mg/m²,在28天周期中历时5天;或(ii)每日250 mg/m²,在28天周期中历时5天,并与生长因子结合。在某些实施方案中,样品为肿瘤活组织检查样品。在某些实施方案中,使用MSP检测MGMT基因。

在其它实施方案中,给药方案基于MGMT蛋白的存在或不存在。当在获自患有黑素瘤的患者的样品中并未检测到MGMT蛋白时,给药方案为每日150-200 mg/m²,在28天周期中历时5天。当检测到MGMT蛋白时,给药

方案选自(i)每日100 mg/m², 在21天周期中历时14天; (ii)每日150 mg/m², 在14天周期中历时7天; 或(iii)每日100 mg/m², 在28天周期中历时21天。在某些实施方案中, 样品为肿瘤活组织检查样品。在某些实施方案中, 使用蛋白质印迹免疫检定、免疫组织化学技术或针对MGMT蛋白的酶促检定检测MGMT蛋白。

在其它实施方案中, 给药方案基于样品中所检测的MGMT蛋白的含量或活性。当与正常淋巴细胞的含量或酶活性相比, 获自患者的样品中所检测的MGMT蛋白的含量或酶活性为低时, 给药方案为(i)每日150-200 mg/m², 在28天周期中历时5天; 或(ii)每日250 mg/m², 在28天周期中历时5天, 并与生长因子结合。当MGMT蛋白的含量或酶活性为中等时, 给药方案为(i)每日100 mg/m², 在28天周期中历时14天; (ii)每日300 mg/m², 在28天周期中历时5天, 并与生长因子结合; (iii)每日75 mg/m², 在28天周期中历时21天; 或(iv)每日75 mg/m², 在56天周期中历时42天。当获自患者的样品中所检测的MGMT蛋白的含量或酶活性为高时, 给药方案选自(i)每日100 mg/m², 在21天周期中历时14天; (ii)每日150 mg/m², 在14天周期中历时7天; 或(iii)每日100 mg/m², 在28天周期中历时21天。在某些实施方案中, 样品为肿瘤活组织检查样品。

在其它实施方案中, 本发明中所述的任何替莫唑胺静脉注射用配制剂可含有用于治疗增生性病症的制造药品。所述药品还包括含有通过约0.6小时至约2.9小时或根据本文中所述的任何给药方案静脉内输注而施用配制剂的说明书的产品信息, 所述给药方案包括(但不限于)(a)每日150-200 mg/m², 在28天周期中历时5天; (b)每日250 mg/m², 在28天周期中历时5天, 并与生长因子结合; (c)每日100 mg/m², 在28天周期中历时14天; (d)每日300 mg/m², 在28天周期中历时5天, 并与生长因子结合; (e)每日75 mg/m², 在28天周期中历时21天; (f)每日75 mg/m², 在56天周期中历时42天; (g)每日85 mg/m², 在28天周期中历时21天; (h)每日350 mg/m², 在28天周期中历时5天, 并与生长因子结合; (i)每日100 mg/m², 在21天周期中历时14天; (j)每日400 mg/m², 在28天周期中历时5天, 并与生长因子结合; (k)每日150 mg/m², 在14天周期中历时7天; (l)每日100 mg/m², 在28天周期中历时21天; (m)每日150 mg/m², 在28天周期中历时14天; (n)每日75 mg/m²; (o)每日450 mg/m², 在28天周期中历时5天, 并与生长因子结合; (p)每日150 mg/m², 在21天周期中历时14天; (q)每日100 mg/m²; (r)每日250

mg/m², 在14天周期中历时7天, 并与生长因子结合; 和(s)每日300 mg/m², 在14天周期中历时7天, 并与生长因子结合。

可通过将所需替莫唑胺静脉注射用配制剂及产品信息组合于一包装中来制造本发明的药品, 所述产品信息包含通过约0.6小时至约2.9小时或根据本文中所述的任何给药方案静脉内输注来施用配制剂的说明书。

为了更充分地理解本发明, 列举以下实施例。这些实例仅为实现说明的目的且不应以任何方式将其解释为限制本发明的范畴。

实施例

实施例1

开发群体药代动力学模型以表征TMZ与MTIC二者继PO施用后的分布。使用获自研究(参见Middleton, Journal of Clinical Oncology, 15(1):158-166 (2000))的经口数据估算描述TMZ及MTIC的吸收、分布、代谢及排泄的药代动力学参数。使用具有一级吸收、TMZ的单室分布、TMZ的一级消除、MTIC的单室分布及MTIC的一级消除的PK模型。Drugs and Pharmaceutical Sciences, 第15卷: Pharmacokinetics, Gibaldi及Perrier, 第二版, 1982。描述模型的数学方程式展示于图1中。

在展示于图中的方程式中, k_a 为吸收速率常数, F 为继经口施用药物后TMZ的生物可利用性, k_t 为描述TMZ转化成MTIC的速率常数, V_1 为TMZ于人体中的分布体积, V_2 为MTIC于人体中的分布体积, k_m 为MTIC的消除速率常数, $MW_{t_{比率}}$ 为TMZ的分子量与MTIC的分子量的比率, A_1 为胃肠道(GIT)中TMZ的量, C_2 为TMZ的血浆浓度且 C_3 为MTIC的血浆浓度。

由后检查技术证实经口PK模型。通过使用第二研究[参见Beale等人, Cancer Chemother. Pharmacol., 44:389-394 (1999)]模拟数据且比较模拟结果与实际结果来执行此技术。表2展示此比较的结果。

表2

模拟结果对比实际研究结果			
n=12, 剂量= 150 mg/m ²			
TMZ	模拟 n=14	实际 n=12	模拟 n=1400
平均Cmax	8.9	8.8	8.8

标准差	1.64	4.28	1.87
最小Cmax	6.4	2.6	4.2
最大Cmax	11.6	16.8	15.6
平均AUC	29.0	24.8	29.8
标准差	5.31	5.09	5.00
最小AUC	20.7	17.7	17.1
最大AUC	40.5	35.4	48.2
MTIC	模拟 n=14	实际 n=12	模拟 n=1400
平均Cmax	0.27	0.20	0.35
标准差	0.109	0.091	0.176
最小Cmax	0.12	0.06	0.06
最大Cmax	0.52	0.38	1.41
平均AUC	0.91	0.59	1.09
标准差	0.318	0.138	0.495
最小AUC	0.50	0.36	0.27
最大AUC	1.40	0.80	3.85

图2展示继经口施用TMZ后所预测及观测到的TMZ(图2A)及MTIC(图2B)的血浆浓度图。

此比较展示所用经口PK模型良好地描述了获自第二研究的实际经口PK数据。

一旦检验经口PK模型后,将其改良以得到IV PK模型。特别地,将描述TMZ的吸收组份的来自经口PK模型的方程式替换为描述TMZ的输注速率的方程式。具体地,移除图1中所描述的第一方程式且将第二方程式替换为以下方程式:

$$\frac{dC_2}{dt} = \frac{K_0}{V_1} - k_1 \times C_2,$$

其中 K_0 为IV输注速率。在得到IV PK模型时，作出两个假设。第一，该模型假定不存在首次通过效应。即，一旦TMZ被吸收，其就在全身循环中变得可利用。第二，该模型假定因为TMZ直接输注入全身循环中，所以生物可利用率F等于1。然而，TMZ的经口生物可利用率(F)未知。

为验证IV PK模型，在二向交叉试验性生物可利用率研究中测定首次通过效应及经口生物可利用率。其为经设计以比较IV与PO替莫唑胺在患有在组织学上经确认为原发性CNS恶性疾病的成年患者中的相对生物可利用率的第1阶段随机化开放标记型试验性研究。研究遵照药物临床试验质量管理规范(Good Clinical Practice)来进行。在1或2个中心计划招收多达18个患者(以获得12个可评估患者)。在2个中心招收13个患者(7个在中心1, 6个在中心2)。所有13个患者包括于药代动力学及安全分析中。在用于安全评估的治疗结束后跟踪患者23天。

在满足所有研究资格要求之后，使这些患者在4周治疗周期期间接受替莫唑胺5天(第1天至第5天)。在第1、2及5天时，使患者以PO给药形式接受替莫唑胺(200毫克/平方米/天)。在第3及4天时，使患者以一天PO给药且另一天IV给药的方式接受替莫唑胺(150毫克/平方米/天)。通过根据随机码在第3天或第4天时输注1小时(使用输液泵)进行IV给药。在第3及第4天进行药代动力学评估以测定替莫唑胺及MTIC在血浆中的浓度。将经对数转换的Cmax及AUC的药代动力学数据及统计分析概括于表3中。

表3: 来自试验性研究的TMZ及MTIC的PK的统计分析

	个体数	参数	施用模式 ^a		个体内 % CV	治疗 比较	比率估计 (%) ^c	90% C.I.
			IV 平 均值 ^b	PO 平均值 ^b				
MTIC	n=12 ^d	AUC (ng.hr/mL) ^e	607	580	8	IV/PO	104	99-111
		Cmax (ng/mL)	214	179	18	IV/PO	119	105-136
TMZ	n=13	AUC (ng.hr/mL)	21.5	20.7	10	IV/PO	104	97-112
		Cmax (ng/mL) ^e	7.1	6.2	20	IV/PO	114	100-131

a: 在PK取样日时所施用的TMZ剂量(PO和IV二者)为150毫克/平方米/天。

b: 基于模型(最小平方)的平均值

c: IV与PO施用的平均值比率

d: 由于在研究点不当取样, 因而从分析中排除来自个体编号No. 007的经口与IV治疗的MTIC的PK数据

e: $AUC = \text{用于个体分布且 } r^2 \geq 0.9 \text{ 的 } AUC(I) \text{ 且等于用于个体分布且 } r^2 < 0.9 \text{ 的 } AUC(tf)$

此试验性研究显示, 在人类中TMZ的经口生物可利用率为96%(范围: 89-100%, $n=13$)。

实施例2

使用IV PK模型及Pharsight试验模拟器进行临床试验模拟。进行多个模拟方案以评估不同经口生物利用率及TMZ将需要输注入全身血液循环中的总时间以匹配继经口施用后所获得的 C_{max} 及AUC。重复各模拟100次且将成功概率定义为研究通过四种生物等值标准(C_{max} TMZ、 C_{max} MTIC、AUC TMZ及AUC MTIC)的次数。IV施用的 C_{max} 及AUC的置信区间在用于经口施用的80-125%内。表4展示这些模拟的结果。

表4

	总研究效率(Overall Study Power): 满足所有4种标准*			
	成功概率			
	1小时输注时间		1.5小时输注时间	
	F=0.9	F=1.0	F=0.9	F=1.0
n = 20	5	52	52	93
n = 24	4	73	43	99
n = 28	13	82	66	100
n = 32	10	88	73	99
n = 36	13	89	62	97
n = 40	10	93	64	100
n = 50	15	96	80	98

*四种标准为: C_{max} TMZ、 C_{max} MTIC、AUC TMZ及AUC MTIC。

使用IV PK模型的模拟结果显示, 若总的经口TMZ生物利用率(F)

大于或等于90%(即 $F=0.9-1.0$), 则将不需要调节IV剂量。模拟结果还显示, 匹配TMZ及MTIC的经口PK分布的最优IV输注时间为1.5小时。

实施例3

表5中提供根据本发明的静脉注射用配制剂。根据美国专利6,987,108的方法制备配制剂且pH值为约4。

表5

组份	量(mg/mL)	功能
替莫唑胺	2.5	活性成份
聚山梨酸酯80	3.0	赋形剂
L-苏氨酸USP	4.0	溶解增强剂
甘露糖醇USP	15.0	增量剂
二水合柠檬酸钠USP	5.88	缓冲剂
盐酸NF	1.48	pH值调节剂
水	适量添加至1 mL	水性稀释剂

实施例4

将22个患有原发性CNS恶性疾病的患者招募至临床生物等值研究中且根据本发明的方法进行治疗。认为19个患者为药代动力学可评估的。此研究为经口及IV TMZ的PK的随机化开放标记型2向交叉研究。以150-200 mg/m²的剂量经由约1.5小时静脉内输注来施用实施例3的IV配制剂。

将患者分成两组, 使一组接受治疗A且另一组接受治疗B。使治疗A患者在28天周期的第1、2及5天时接受经口TMZ(200 mg/m²), 在第3天时接受IV TMZ(150 mg/m²)且在第4天时接受经口TMZ(150 mg/m²)。使治疗B患者在28天周期的第1、2及5天时接受经口TMZ(200 mg/m²), 在第3天时接受经口TMZ(150 mg/m²)且在第4天时接受IV TMZ(150 mg/m²)。在第3及第4天根据本领域技术人员已知的方法测定TMZ及MTIC的C_{max}及AUC。

在IV及经口施用替莫唑胺及其代谢物MTIC后的平均血浆浓度-时间数据分别呈现于表6和7中。

表6 平均(CV%)替莫唑胺浓度-时间数据

时间(小时)	IV ^a (n=19)		PO ^a (n=19)	
	平均值($\mu\text{g/mL}$)	CV(%)	平均值($\mu\text{g/mL}$)	CV(%)
0	0	0	0	0
0.25	2.38 b	39	2.11	129
0.5	3.67	30	5.32	51
1	5.49	23	6.05	34
1.25	6.59 b	23	6.12 b	25
1.5	7.08	22	5.77	24
1.75	6.10	23	5.36 b	25
2	5.60	22	4.89	18
2.5	4.59	21	4.00	19
3	3.86 b	18	3.44	18
4	2.81	23	2.41	19
6	1.20	22	1.17	23
8	0.59	26	0.56	29

IV=静脉内施用; PO=经口施用。
a: 在药代动力学取样日时所施用的TMZ剂量(PO与IV二者)为150毫克/平方米/天。
b: n=18

表7 平均(CV%)MTIC浓度-时间数据

时间(小时)	IV ^a (n=19)		PO ^a (n=19)	
	平均值(ng/mL)	CV(%)	平均值(ng/mL)	CV(%)
0	0	0	0	0
0.25	77.0 b	73	108	187
0.5	144	63	234	94
1	234	62	247	60
1.25	287 b	64	246 b	53
1.5	309	62	227	48
1.75	254	59	240 b	61
2	226	48	211	60
2.5	173	50	171	58
3	155 b	47	144	60
4	105	54	114	64
6	49.7	54	47.4	62
8	23.0	69	22.6	69

IV=静脉内施用; PO=经口施用。

a: 在药代动力学取样日时所施用的TMZ剂量(PO与IV二者)为150毫克/平方米/天。

b: n=18

继IV及经口施用替莫唑胺后的替莫唑胺及MTIC的平均血浆药代动力学参数概括于表8中。

表8 在向患有原发性CNS恶性疾病的受试者静脉内及经口施用替莫唑胺后的替莫唑胺及其代谢物MTIC的平均(CV%)药代动力学参数

分析物	TMZ 给药 ^a	t _{1/2} (小时)	Tmax ^b (小时)	Cmax (对TMZ为 μg/mL) (对MTIC为 ng/mL)	tf (小时)	AUC(tf) (对TMZ为 μg-hr/mL) (对MTIC为 ng-hr/mL)	AUC(I) (对TMZ为 μg-hr/mL) (对MTIC为 ng-hr/mL)
TMZ (n=19)	IV	1.82 (11)	1.50 (0.92-2.00)	7.44 (21)	8.00 (0)	23.4 (18)	25.0 (18)
	PO	1.91 (14)	1.00 (0.25-2.00)	7.68 (19)	8.00 (0)	22.0 (14)	23.6 (14)
MTIC (n=19)	IV	1.82 (11)	1.50 (1.25-1.75)	320 (61)	8.00 (0)	941 (53)	1004 (54)
	PO	1.80 (10)	1.00 (0.25-2.00)	333 (62)	8.00 (0)	944 (60)	1004 (60)

TMZ=替莫唑胺; MTIC=单乙基三氮烯基咪唑甲酰胺; PO=经口施用; IV=静脉内施用;
t_{1/2}=末相半衰期; Cmax=最大观测血浆浓度; Tmax=到达Cmax的时间; tf=样品最终可计量的时间; AUC(tf)=在浓度-时间曲线下自0小时至样品最终可计量的时间的面积;
AUC(I)=在浓度-时间曲线下自0小时至无限时点的面积。
a: 在药代动力学取样日时所施用的TMZ剂量(PO与IV)为150毫克/平方米/天。
b: 中值(范围)

替莫唑胺及其代谢物MTIC的Cmax、AUC(tf)及AUC(I)参数的治疗剂量估算值(IV/PO)及90% CI呈现于表9中。基于在向药代动力学可评估受试者(n=19)IV(1.5小时输注)及经口施用替莫唑胺之后统计比较替莫唑胺及MTIC的Cmax、AUC(tf)及AUC(I)值,发现两种制剂是生物等值的。替莫唑胺及MTIC的Cmax、AUC(tf)及AUC(I)的90% CI在80至125%的公认生物等值准则内。

表9 在向患有原发性CNS恶性疾病的个体(群体=PE)静脉内及经口施用替莫唑胺之后，替莫唑胺及其代谢物MTIC的相对生物可利用率

检定	参数	施用模式 ^a		比率估计 ^c (%)	90% 置信区间
		IV平均值 ^b	PO平均值 ^b		
MTIC (n=19)	Cmax (ng/mL)	276	282	98	91-105
	AUC(tf) (ng·hr/mL)	837	815	103	98-108
	AUC(I) (ng·hr/mL)	891	864	103	98-108
TMZ (n=19)	Cmax (µg/mL)	7.29	7.54	97	91-102
	AUC(tf) (µg·hr/mL)	23.1	21.8	106	103-109
	AUC(I) (µg·hr/mL)	24.6	23.4	105	102-108

TMZ=替莫唑胺；MTIC=单乙基三氮烯基咪唑甲酰胺；AUC(I)=在浓度-时间曲线下自0小时至无限时点的面积；Cmax=最大观测血浆浓度；PO=经口施用；IV=静脉内施用。

PE: 药代动力学可评估个体。排除个体107、121及122。

a: 在药代动力学取样日时所施用的TMZ剂量(PO与IV二者)为150毫克/平方米/天。

b: 基于模型(最小平方)的平均值

c: IV与PO施用的平均值比率。

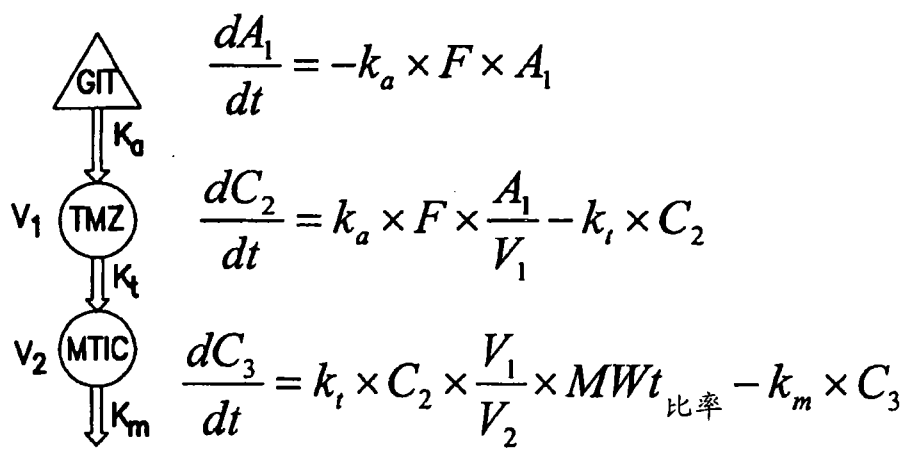


图 1

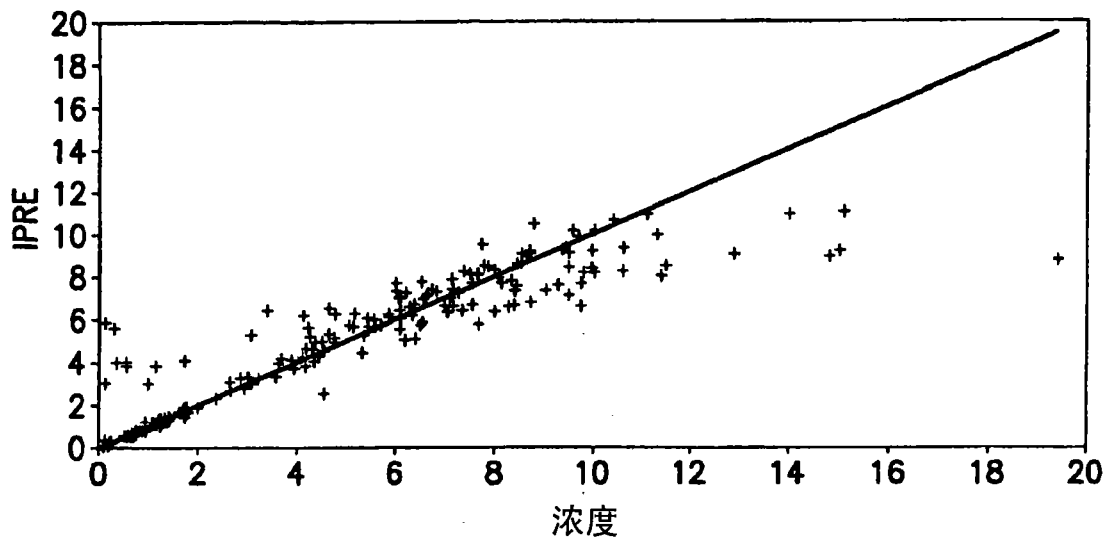


图 2A

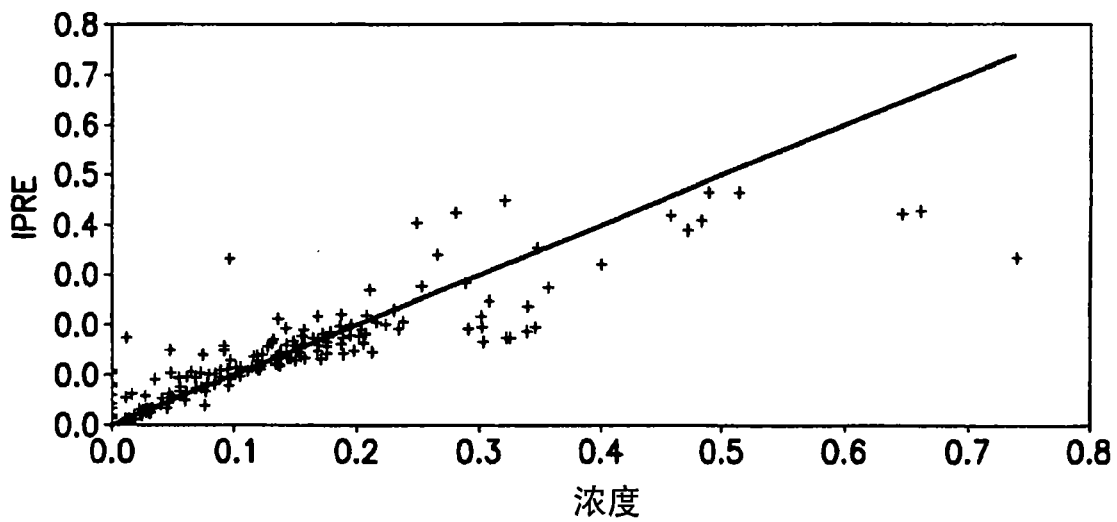


图 2B