

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780037964.1

[51] Int. Cl.

C07K 5/06 (2006.01)  
C07K 5/08 (2006.01)  
C07C 309/15 (2006.01)  
C07D 207/16 (2006.01)  
C07D 209/20 (2006.01)  
C07D 217/24 (2006.01)

[43] 公开日 2009年12月9日

[11] 公开号 CN 101600730A

[51] Int. Cl. (续)

C07D 233/64 (2006.01)  
C07D 291/02 (2006.01)  
C07D 333/24 (2006.01)  
C12P 11/00 (2006.01)  
A61K 38/07 (2006.01)  
A61K 38/08 (2006.01)  
A61P 25/28 (2006.01)

[22] 申请日 2007.10.12

[21] 申请号 200780037964.1

[30] 优先权

[32] 2006.10.12 [33] US [31] 60/851,039

[32] 2007.4.12 [33] US [31] 60/911,459

[86] 国际申请 PCT/IB2007/004704 2007.10.12

[87] 国际公布 WO2009/019534 英 2009.2.12

[85] 进入国家阶段日期 2009.4.10

[71] 申请人 贝鲁斯健康(国际)有限公司

地址 瑞士洛桑

[72] 发明人 康贤琦 穆罕默德·阿特凡尼

本诺特·巴查德

阿卜杜拉希姆·伯茨德

斯蒂法尼·兹布拉特

索菲·莱维斯克 大卫·米格尼奥特

伊莎贝尔·瓦拉德 武信福

丹尼尔·德罗姆

[74] 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司

代理人 武晶晶 郑霞

权利要求书 22 页 说明书 119 页

[54] 发明名称

递送 3-氨基-1-丙磺酸的方法、化合物、  
组合物和载体

[57] 摘要

本发明涉及用于在受治疗者，优选人类受治疗者中，递送 3-氨基-1-丙磺酸(3APS)的方法、化合物、组合物和载体。本发明包括体外或体内产生或者生成 3APS 的化合物。优选的化合物包括 3APS 的氨基酸前体药物，用于包括但不限于预防和  
治疗阿尔茨海默病。

1. 一种选自下述组的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物:

a) 式 I 化合物:



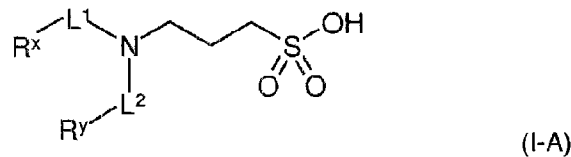
其中

B 是药物动力学调节部分, 该部分任选地直接地或者通过另外的连接基团 L 间接地结合至 A;

A 是 3-氨基-1-丙磺酸部分; 并且

L 是可裂解型键合, 用于共价地且可分离地、经由  $\text{NH}_2$  基团将 B 偶联至 A, 借此 L 可以是直接的键或者是提供可裂解型键合的另外化学结构;

b) 式 I-A 化合物:

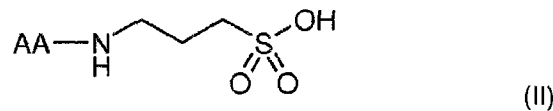


其中,

$\text{R}^x$  和  $\text{R}^y$  独立地选自氢和保护基, 其中  $\text{R}^x$  和  $\text{R}^y$  不都是氢; 并且

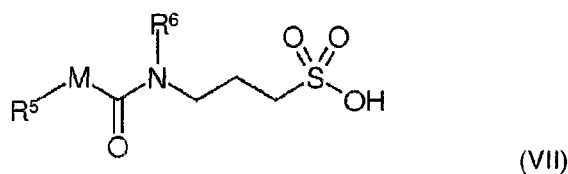
$\text{L}^1$  和  $\text{L}^2$  各自为可裂解型键合; 其中, 当  $\text{R}^x$  是 H 时  $\text{L}^1$  不存在, 并且当  $\text{R}^y$  是 H 时则  $\text{L}^2$  不存在;

c) 式 II 化合物:



其中, AA 是天然或非天然氨基酸残基或含有 2、3 或更多个天然或非天然氨基酸残基的肽;

d) 式 VII 化合物:



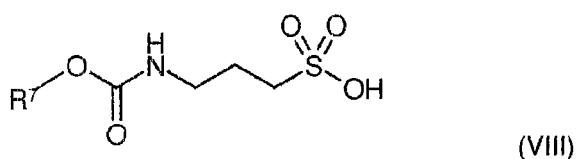
其中,

$R^5$  是选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基、 $NH(C_1$ - $C_6$  烷基)、 $N(C_1$ - $C_6$  烷基) $_2$  和  $C(O)(C_1$ - $C_6$  烷基)的取代或未取代的基团;

$R^6$  是氢或者选自  $C(O)NH_2$ 、 $C(O)NH(C_1$ - $C_6$  烷基)、 $C(O)N(C_1$ - $C_6$  烷基) $_2$  和  $C(O)(C_1$ - $C_6$  烷基)的取代或未取代的基团; 或者  $R^5$  和  $R^6$  与相邻的碳原子一起形成取代的或未取代的  $C_3$ - $C_{12}$  杂环烷基;

M 选自由氧、硫、氮或者不存在所组成的组;

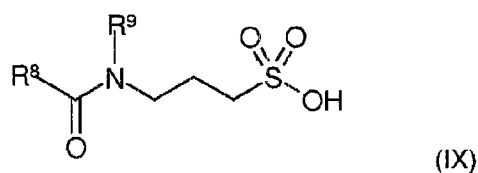
e) 式 VIII 化合物:



其中,

$R^7$  是取代的或未取代的基团, 其选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基、 $C_7$ - $C_{12}$  芳烷基、 $C_7$ - $C_{12}$  杂芳烷基及其组合;

f) 式 IX 化合物:

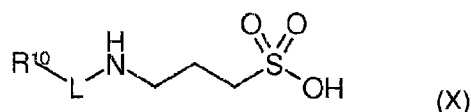


其中,

$R^8$  是选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基的取代或未取代的基团；并且

$R^9$  是氢或者取代或未取代的  $C(O)(C_1$ - $C_6$  烷基)、 $C(O)NH_2$ 、 $C(O)NH(C_1$ - $C_6$  烷基)或  $C(O)N(C_1$ - $C_6$  烷基) $_2$ ；或者  $R^8$  和  $R^9$  与相邻碳原子一起形成取代的或未取代的  $C_3$ - $C_{12}$  杂环烷基；

g) 式 X 化合物:

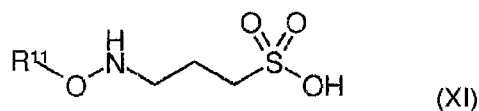


其中，

$R^{10}$  是糖类、糖类衍生物或糖类衍生多元醇的残基，例如， $C_{5-6}$  饱和或者部分或全部未饱和的环烷基基团，任选并优选地含有 -O- 基团，其被 3 至 5 个各自独立地选自 -OH、-OAc、- $CH_2OH$ 、- $OCH_3$ 、- $CH_2OAc$  和 =O 的取代基所取代；

L 是连接部分或者不存在，例如，可为饱和的或未饱和的烷基、优选低级烷基，其任选地被一个或多个 -O- 和/或 -NH- 基团所中断，而且任选地被一个或多个 =O、-OH 和/或 - $NH_2$  基团取代；

h) 式 XI 化合物:

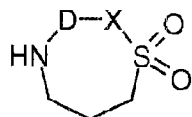


其中，

$R^{11}$  是氢或选自  $C_1-C_{12}$  烷基、 $C_2-C_{12}$  烯基、 $C_2-C_{12}$  炔基、 $C_3-C_{15}$  环烷基、 $C_3-C_{15}$  杂环烷基、 $C_6-C_{15}$  芳基、 $C_5-C_{15}$  杂芳基、 $C(O)R^{12}$  和  $C(O)OR^{13}$  的取代或未取代的基团；并且

$R^{12}$  和  $R^{13}$  独立地选自取代或未取代的  $C_1-C_{12}$  烷基、 $C_2-C_{12}$  烯基、 $C_2-C_{12}$  炔基、 $C_3-C_{15}$  环烷基、 $C_3-C_{15}$  杂环烷基、 $C_6-C_{15}$  芳基和  $C_5-C_{15}$  杂芳基；

i) 式 XII 化合物:

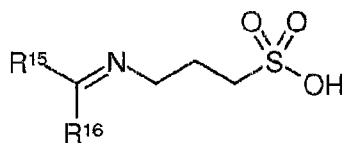


(XII)

其中,

D 是羰基、氨基酸残基、或取代的亚甲基基团；并且 X 选自 O、NH 和 S；

j) 式 XIII 化合物:

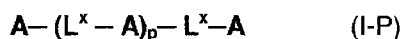


(XIII)

其中,

$R^{15}$  和  $R^{16}$  独立地选自氢或者选自  $C_1-C_{12}$  烷基、 $C_2-C_{12}$  烯基、 $C_2-C_{12}$  炔基、 $C_3-C_{15}$  环烷基、 $C_3-C_{15}$  杂环烷基、 $C_6-C_{15}$  芳基和  $C_5-C_{15}$  杂芳基的取代的或未取代的基团；以及

k) 式 I-P 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物:



其中:

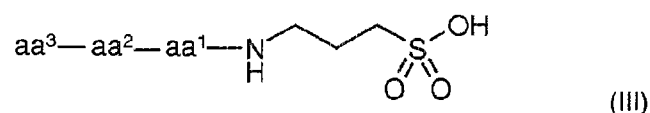
A 是 3-氨基-1-丙磺酸部分;

$L^x$ 是可裂解型键合，用于共价地且可分离地将两个相邻 3APS 部分偶联在一起，并且

$p$  是 0、或可从 1 至 5 变化的整数，例如 2、3、4 或 5。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中所述式 II 化合物选自如下所组成的组：

a) 式 III 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物：

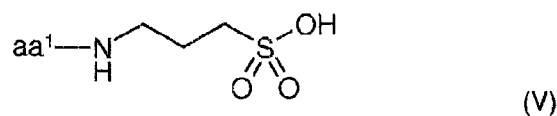


其中：

$\text{aa}^1$  是天然或非天然氨基酸残基；

$\text{aa}^2$  和  $\text{aa}^3$  各自独立地是天然或非天然氨基酸残基或不存在；

b) 式 IV 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物：

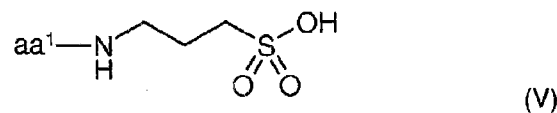


其中：

$\text{aa}^1$  是天然或非天然氨基酸残基；

$\text{aa}^2$  是天然或非天然氨基酸残基或不存在；

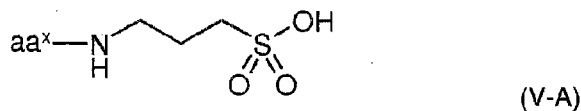
c) 式 V 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物：



其中：

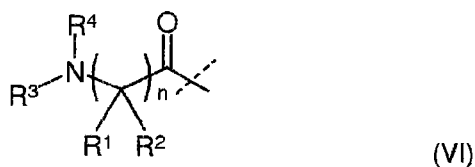
$\text{aa}^1$  是天然或非天然氨基酸； 以及

d) 式 V-A 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物：



其中， $aa^x$  是氨基酸残基，该氨基酸残基选自缬氨酸、脯氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、D-甲硫氨酸、丝氨酸、丙氨酸、D-丙氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、组氨酸、氨基异丁酸、苯基甘氨酸、色氨酸、酪氨酸、O-苄基丝氨酸、O-苄基谷氨酰胺、或  $\gamma$ -氨基丁酸。

3. 如权利要求 2 所述的化合物，其中所述  $aa^1$ 、 $aa^2$  和  $aa^3$  是式 VI 的氨基酸残基：



其中：

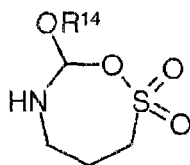
$R^1$  和  $R^2$  各自独立地选自由 H 和取代或未取代的基团所组成的组，所述取代或未取代的基团选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基、 $NH(C_1$ - $C_6$  烷基)、 $N(C_1$ - $C_6$  烷基) $_2$  和  $C(O)(C_1$ - $C_6$  烷基)；或者  $R^1$  和  $R^2$  与相邻碳原子一起形成取代的或未取代的  $C_3$ - $C_{12}$  杂环烷基；

$R^3$  选自由 H 和取代的或未取代的基团所组成的组，所述取代或未取代的基团选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基、 $C(O)(C_1$ - $C_6$  烷基)和  $C(O)(C_6$ - $C_{10}$  芳基)；或者当至少两个氨基酸残基存在时， $R^3$  是两个氨基酸残基间的键；

$R^4$  选自由 H 和取代的或未取代的基团所组成的组，所述取代或未取代的基团选自  $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_2$ - $C_6$  烯基、 $C_2$ - $C_6$  炔基；或者  $R^1$  和  $R^4$  与相邻碳和氮原子一起形成  $C_3$ - $C_{10}$  杂环烷基；并且

$n$  是选自 1 至 10 的整数。

4. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中所述式 XII 化合物是式 XII-A 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物:



(XII-A)

其中,

$R^{14}$  是取代的或未取代的基团, 其选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基。

5. 如权利要求 1 所述的化合物, 其中所述式 I-P 化合物选自下列所组成的组:

a) 式 I-P2 化合物及其药学上可接受的盐、酯和溶剂化物:



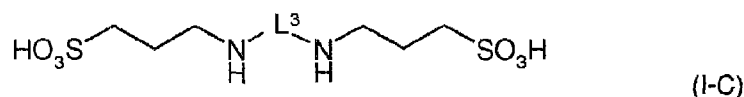
其中:

$m$  为 2 至 5 的整数;

$A$  为 3-氨基-1-丙磺酸部分;

$L^y$  为多价载体部分, 用于共价地和可分离地在  $A$  的氨基或者磺酸端偶联 2 至 5 个  $A$  部分, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物;

b) 式 I-C 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物:



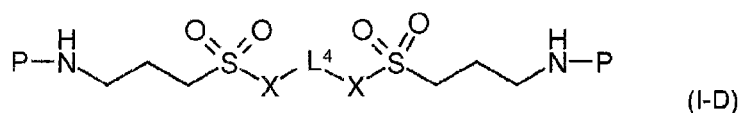
(I-C)

其中,  $L^3$  为二价连接体, 其使用与本文所述相同的或不同的键合, 在



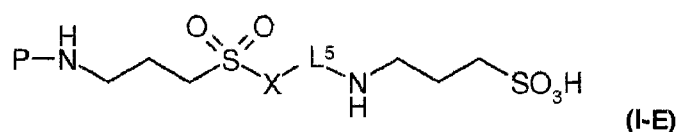
它们的氨基基团上连接两个 3APS 分子，所述键合包括但不限于酰胺键合和氨基甲酸酯键合；

c) 式 I-D 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物：



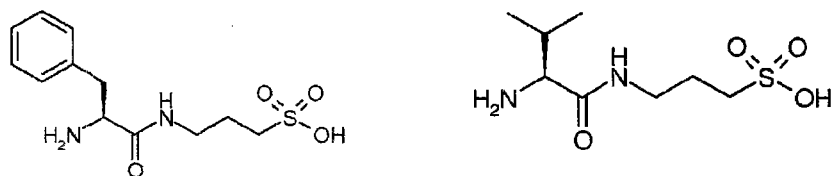
其中， $L^4$  为二价连接体，其使用与本文所述的相同或不同的键合，在它们的磺酸基团上连接两个 3APS 分子，所述键合包括但不限于当 X 是氧时的酯键合或酸酐键合，或者当 X 是氮(NH 或 NR)时的磺酰胺键合，或者当 X 是硫时的硫代磺酸酯键合，P 是氢或者 N-保护基团；以及

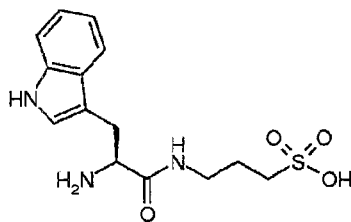
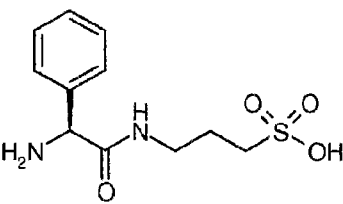
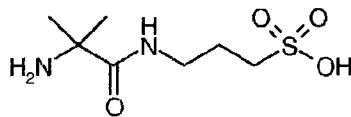
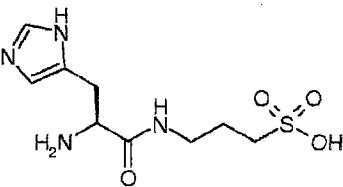
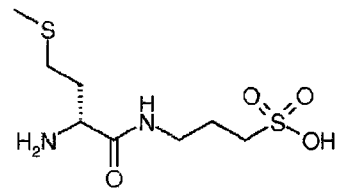
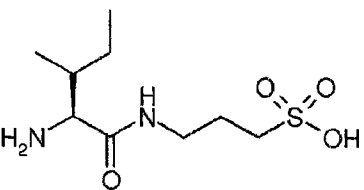
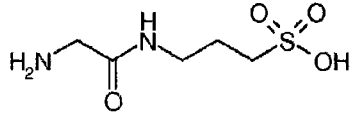
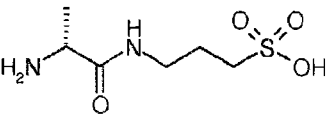
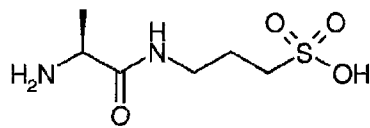
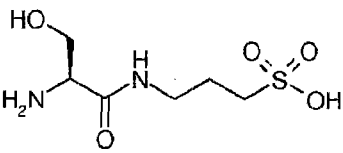
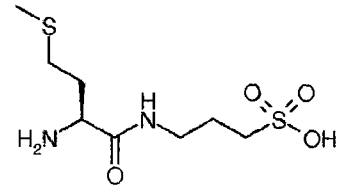
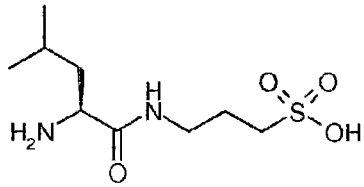
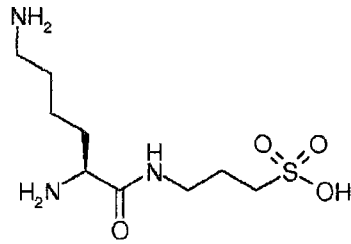
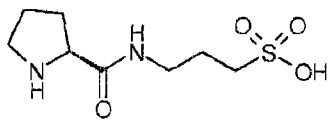
d) 式 I-E 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物：

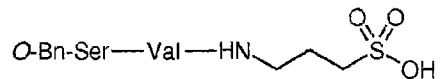
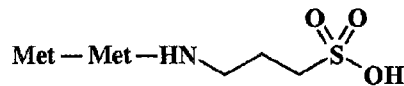
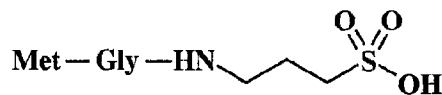
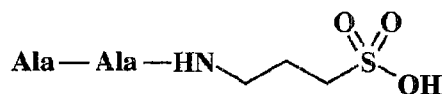
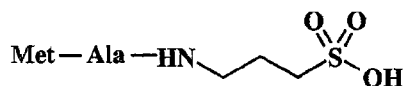
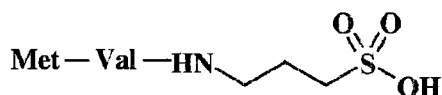
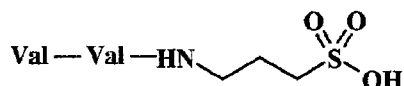
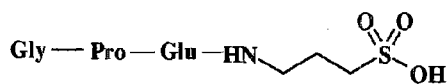
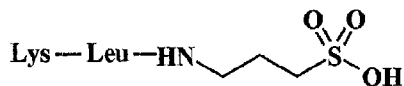
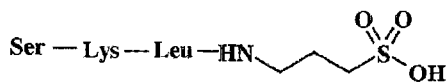
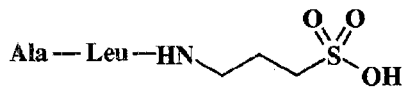
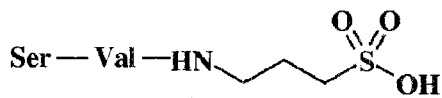
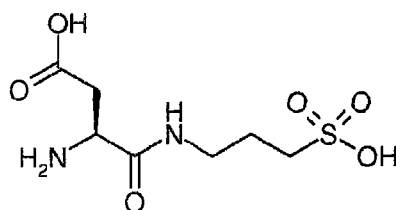
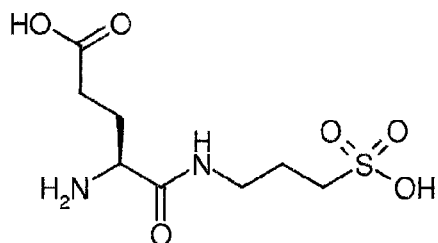
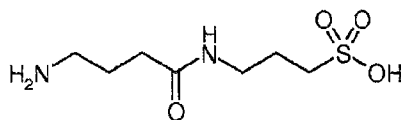
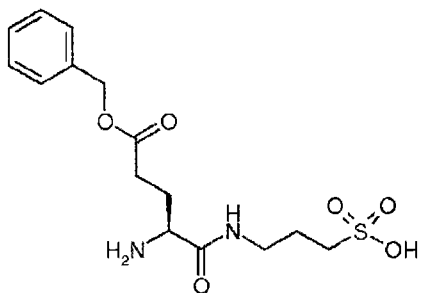
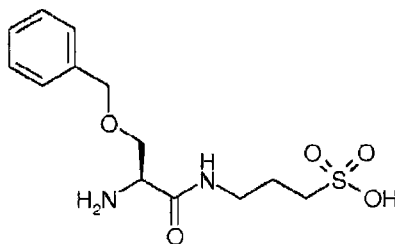
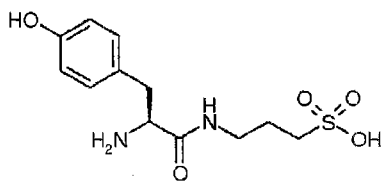


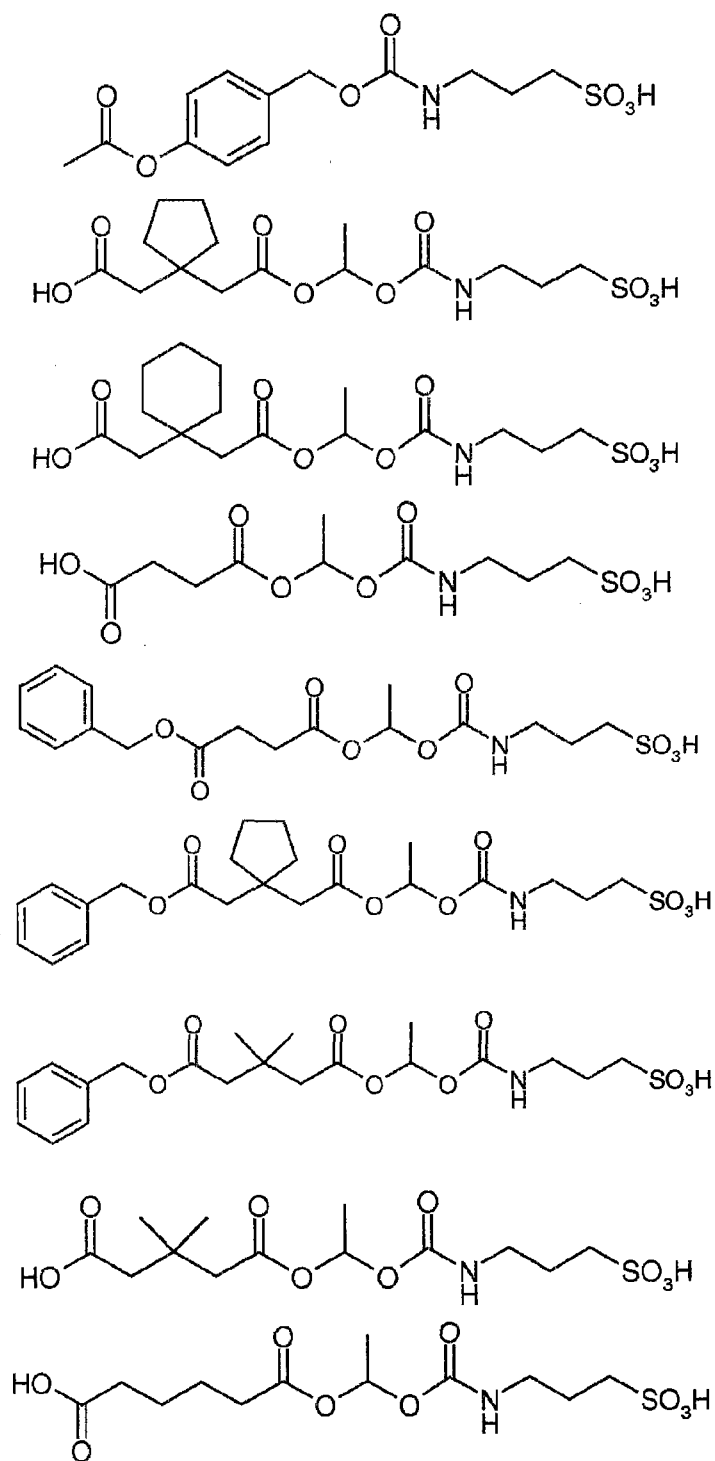
其中， $L^5$  为二价连接体，其使用式 I-C 中所定义的键合在一个 3APS 的氨基基团上并使用式 I-D 中所定义的键合在另一个 3APS 的磺酸基团上连接两个 3APS 分子，P 是氢或者本文所定义的 N-保护基。

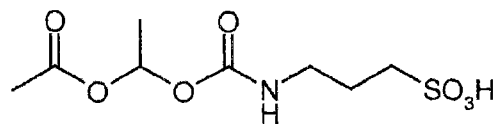
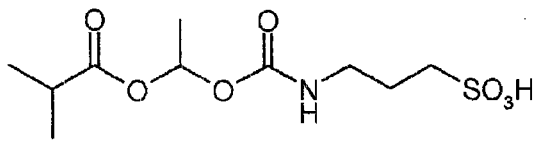
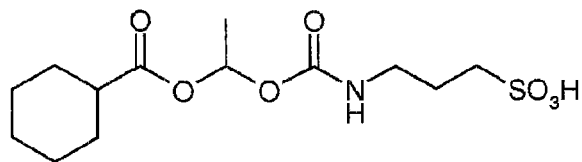
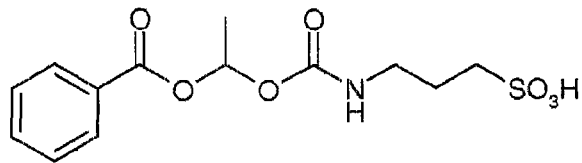
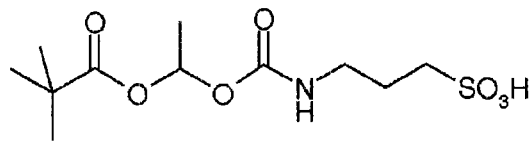
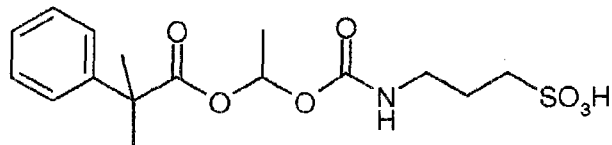
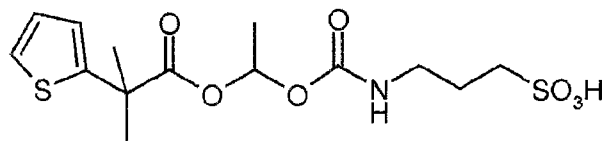
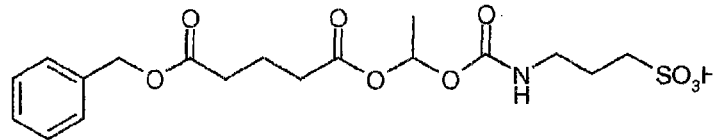
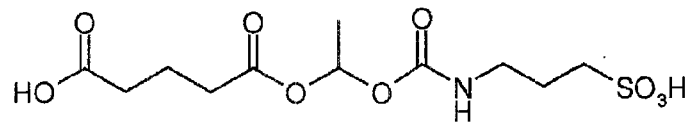
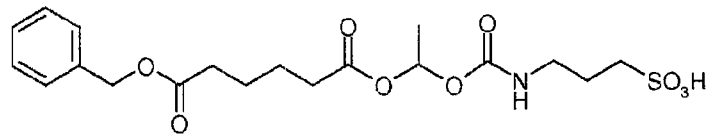
6. 如权利要求 1 所述的化合物，其中所述化合物选自下列所组成的组：

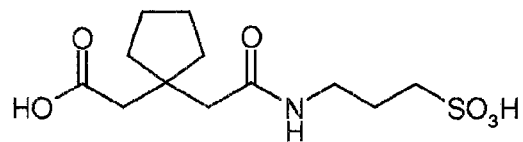
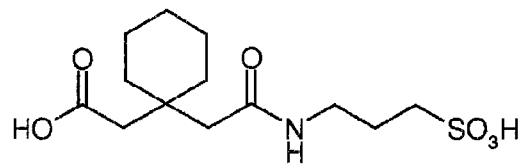
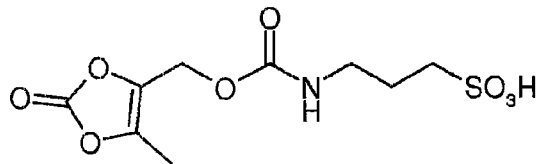
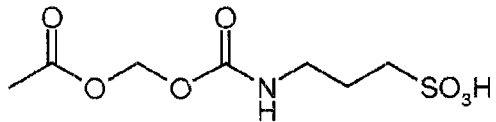
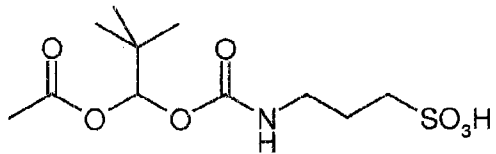
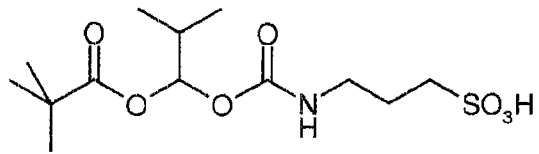
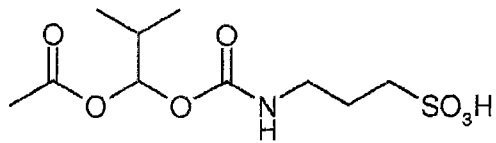
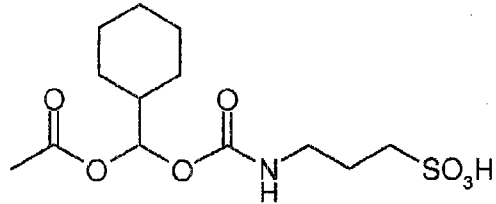
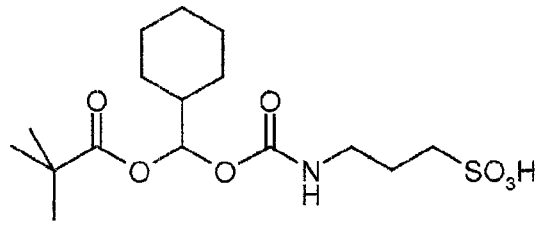


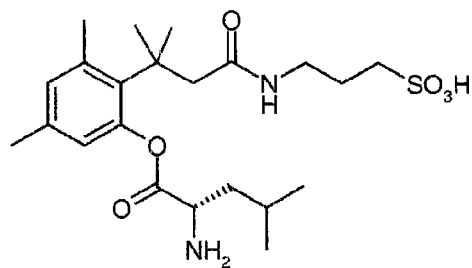
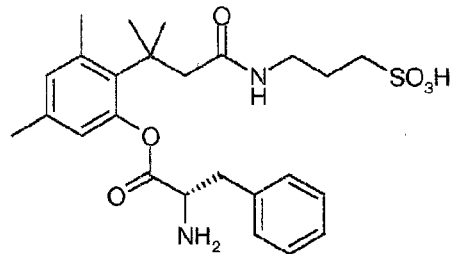
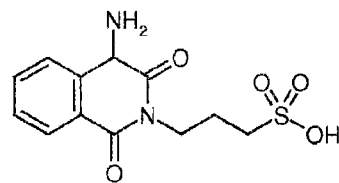
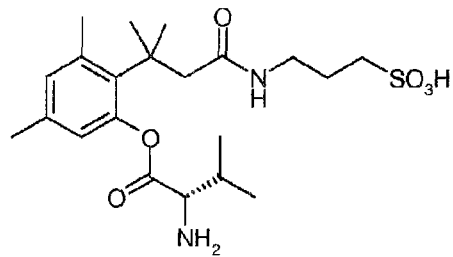
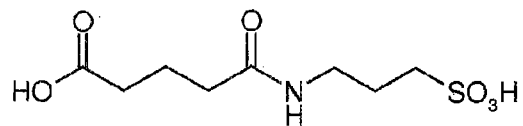
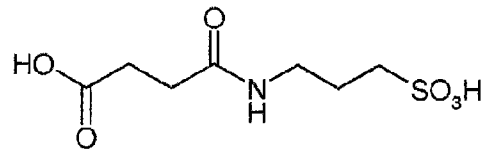
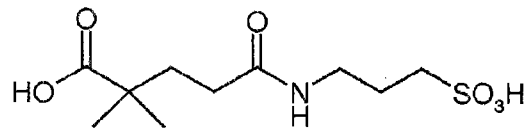
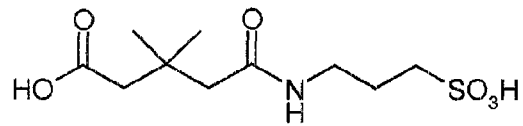


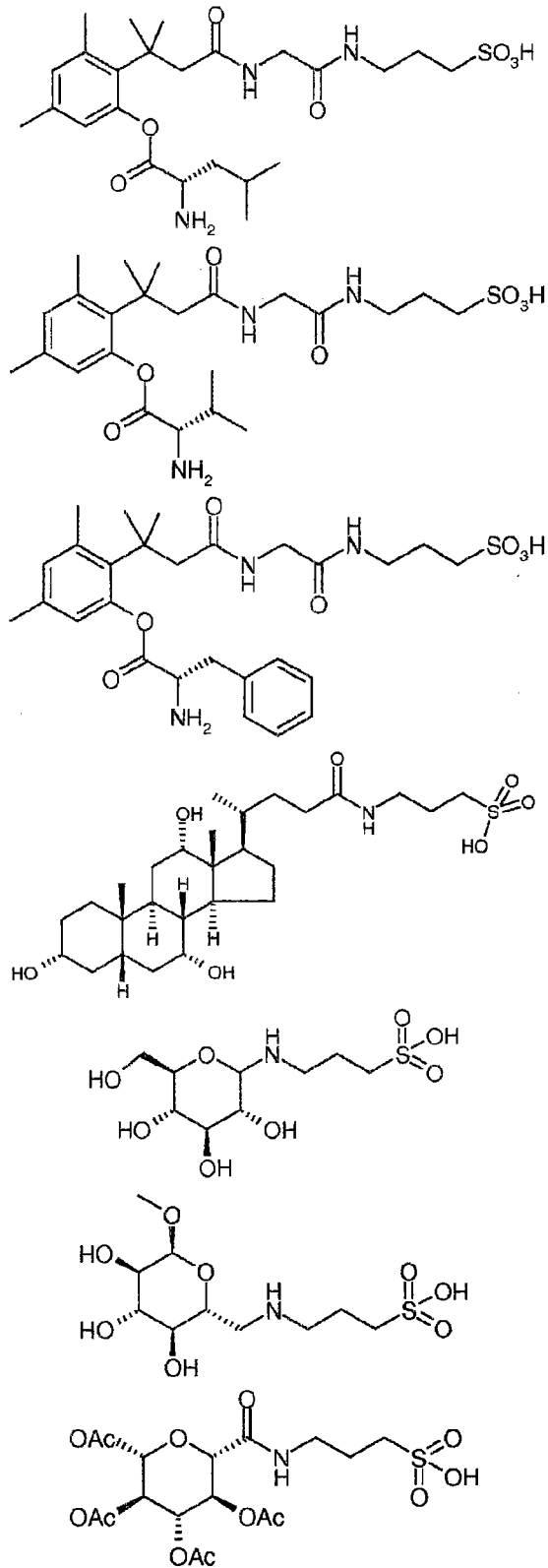




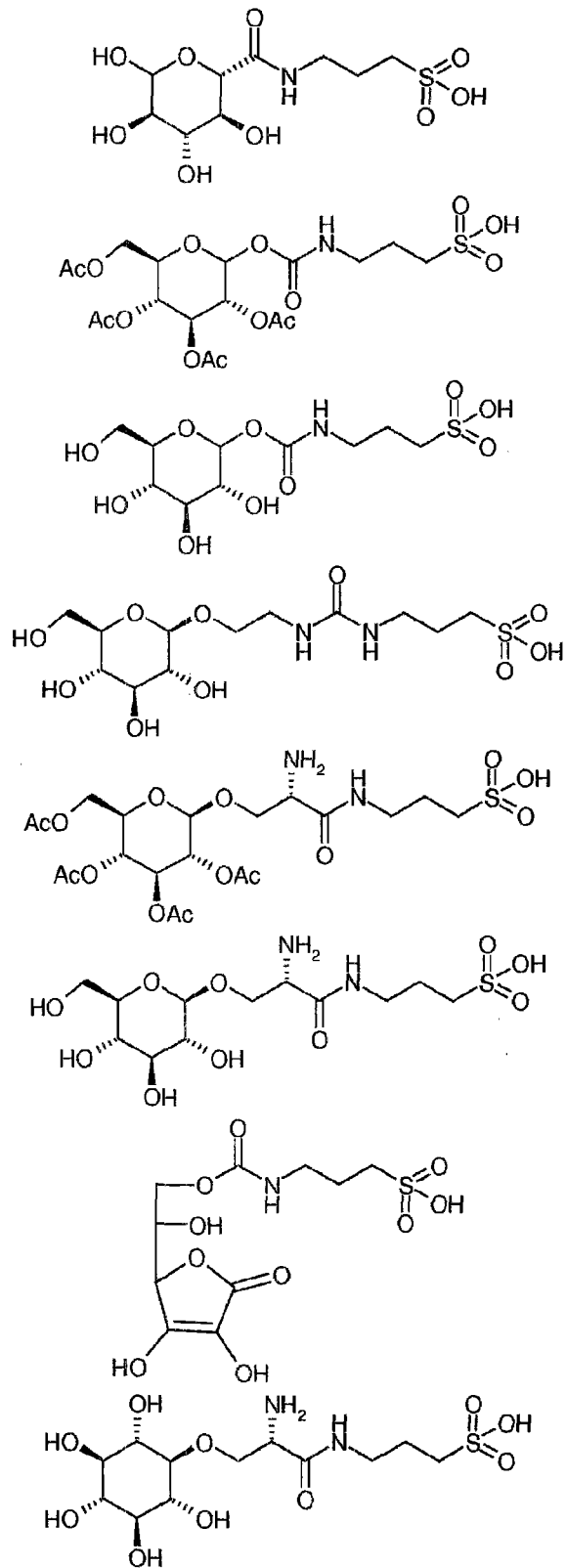


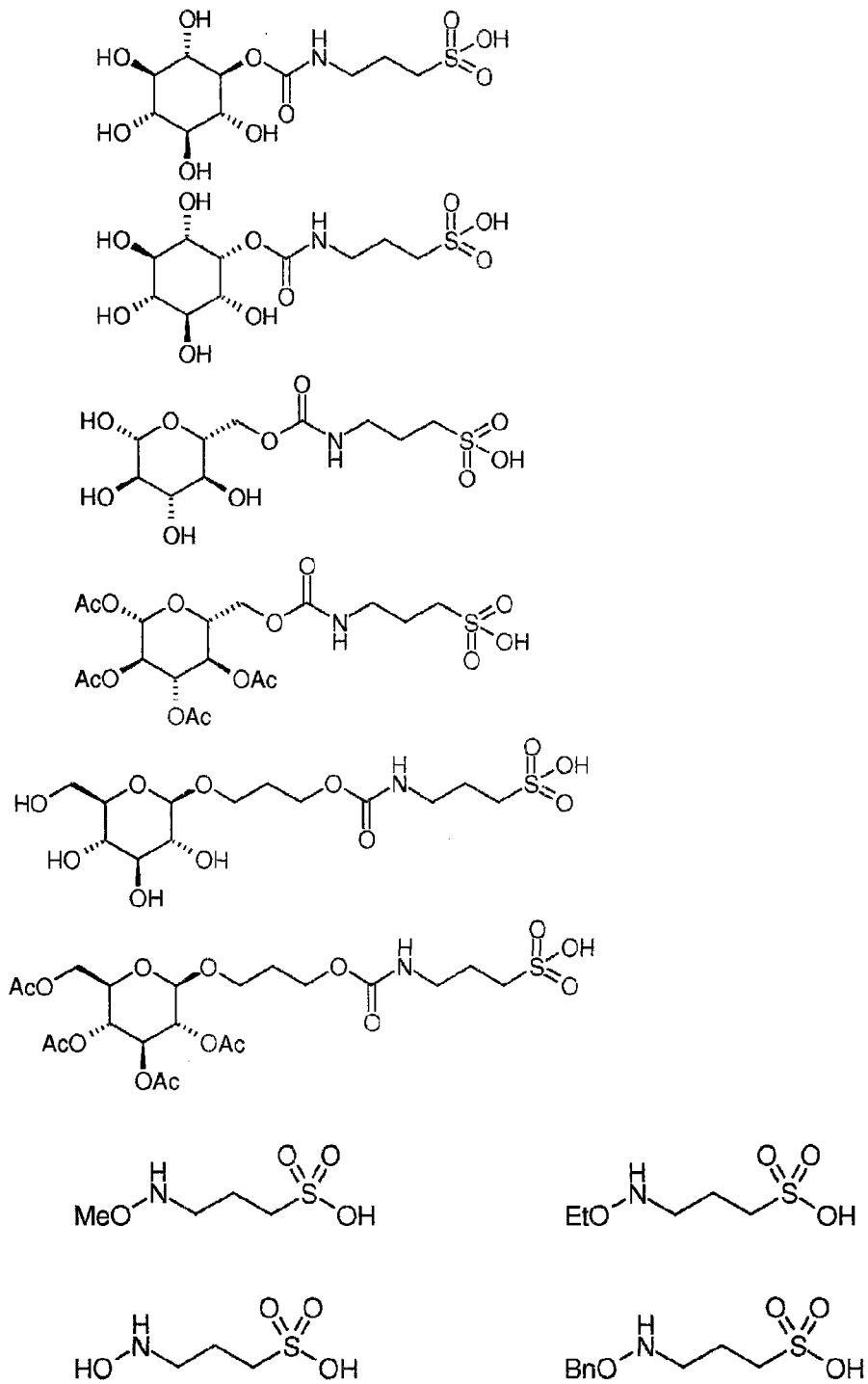


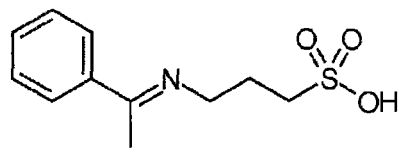
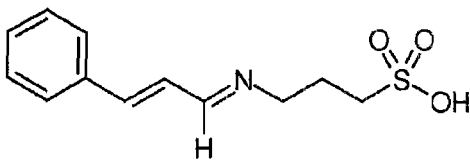
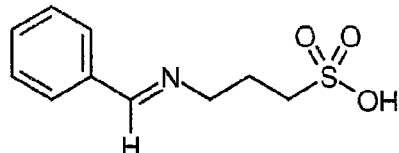
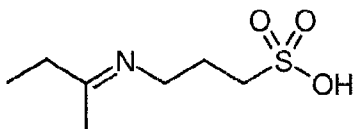
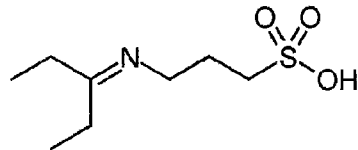
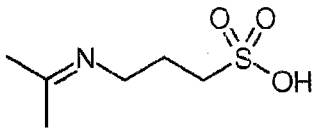
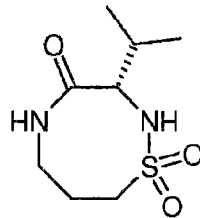
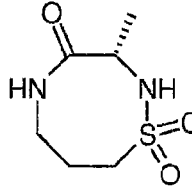
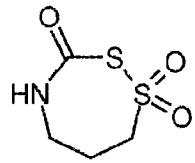
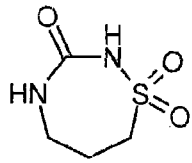
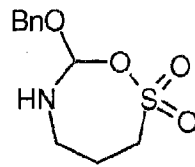
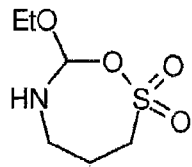
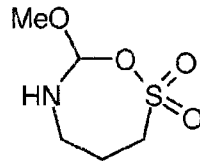
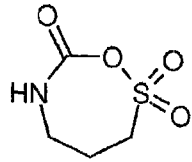


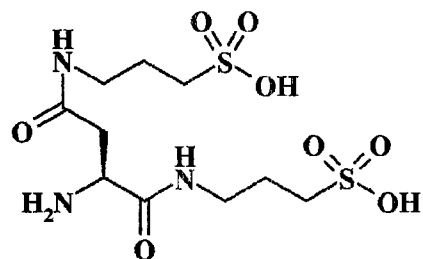
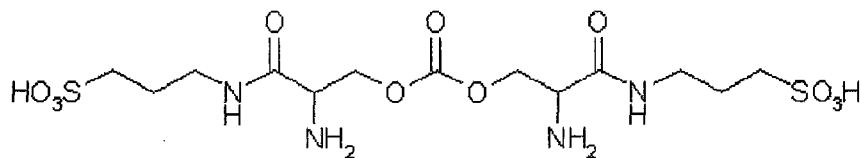
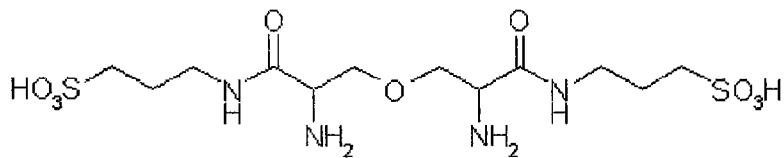
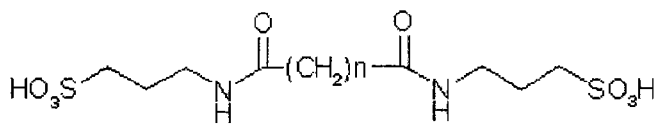
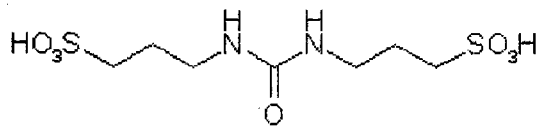
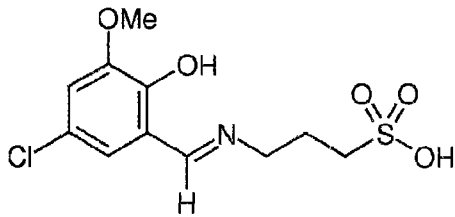
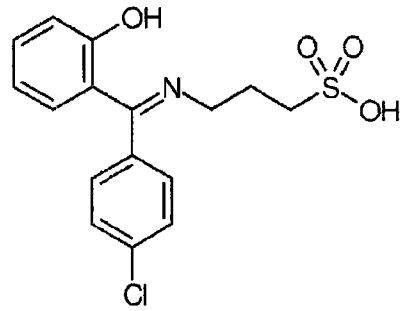
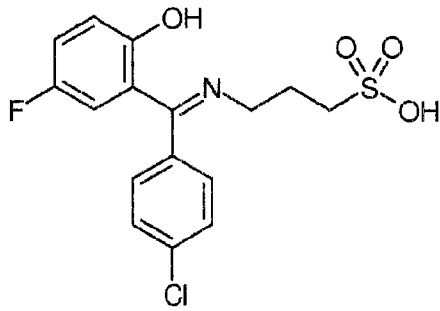


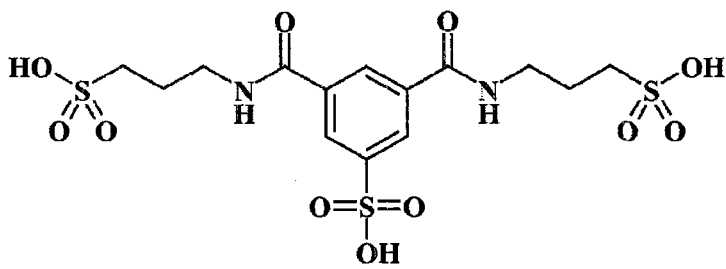
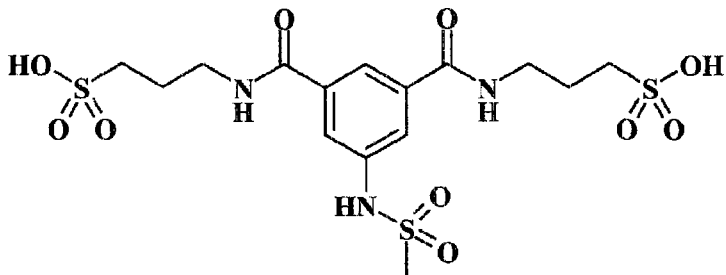
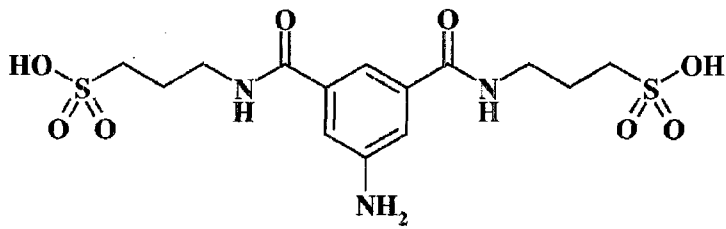
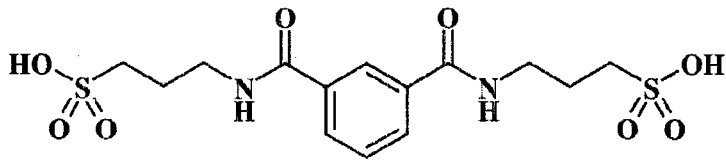
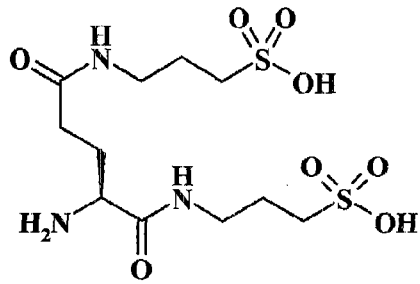




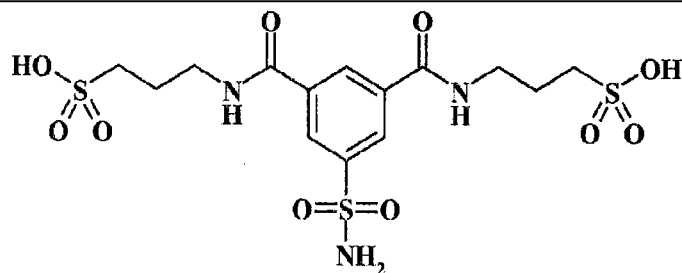






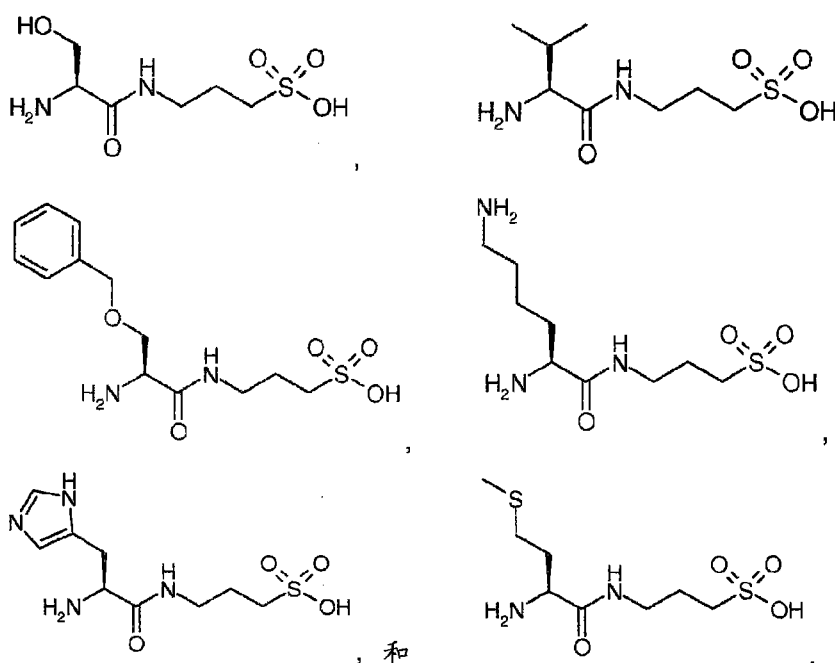


和



7. 一种药物组合物，其包含权利要求1的化合物以及药学上可接受的载体。

8. 如权利要求7所述的药物组合物，其中所述化合物选自下列所组成的组：



或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

9. 一种3-氨基-1-丙磺酸的前体药物，其中所述前体药物是权利要求1的化合物。

10. 一种治疗或预防阿尔茨海默病、轻度认知损害唐氏综合征、具有荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血、脑淀粉样血管病、退化性痴呆、血管性和退化性起源混合型痴呆、与帕金森氏病相关的痴呆、与进行性核上麻痹相关的痴呆、与皮质基底退化相关的痴呆、或者弥漫性路易体类型的阿尔茨海默病的方法，该方法包括对有相应需要的人类受治疗者施用治疗上

有效量的权利要求 1 的化合物。

11. 一种用于将权利要求 1 的化合物转化为 3-氨基-1-丙磺酸的方法，该方法包括将所述化合物与将所述化合物在体外或体内代谢为 3APS 的酶相接触。

12. 如权利要求 11 所述的方法，该方法包括将所述化合物与血浆、血液和/或脑细胞相接触。

13. 一种用于在人类受治疗者中增加 3APS 的治疗性生物分布的方法，该方法包括减少当对人类受治疗者施用 3APS 时发生的 3APS 代谢。

14. 如权利要求 13 所述的方法，其中所述代谢是首过代谢。

15. 一种用于在人类受治疗者中减少或预防 3APS 的胃肠道不耐性副作用的方法，该方法包括减少当对人类受治疗者施用 3APS 时发生的 3APS 代谢。

16. 如权利要求 15 所述的方法，其中 3APS 是以在对所述人类受治疗者施用后产生或生成 3APS 的 3APS 前体药物的形式施用的。

17. 如权利要求 16 所述的方法，其中所述前体药物是权利要求 10 的前体药物。

18. 如权利要求 13 所述的方法，其中 3APS 是通过如下方式施用的：经呼吸系统，气管内，鼻内，经由粘膜或粘膜下，经由耳，经直肠或经阴道，或者经植入体、喷雾剂、鼻喷剂、咀嚼胶、滴眼剂、滴耳剂、栓剂、灌肠剂、或者阴道用乳膏或洗剂。

19. 如权利要求 13 所述的方法，其中 3APS 的生物利用率、3APS 的 AUC、3APS 的大脑水平、3APS 的 CSF 水平、3APS 的  $C_{\max}$ 、3APS 的  $T_{\max}$  或 3APS 的生物吸收中至少一种被提高。

20. 如权利要求 13 所述的方法，其中阿尔茨海默病被治疗或预防。

21. 如权利要求 13 所述的方法，该方法提高所述人类受治疗者大脑中 3APS 的水平。

22. 如权利要求 19 所述的方法，其中 3APS 的口服 AUC 被提高了至少 20%。

## 递送 3-氨基-1-丙磺酸的方法、化合物、组合物和载体

### 相关申请

本申请要求 2006 年 10 月 12 日提交的美国临时专利申请第 US60/851,039 号以及 2007 年 4 月 12 日提交的美国临时专利申请第 US 60/911,459 号的优先权，其通过引用并入本文。

### 技术领域

本发明涉及用于在受治疗者，优选人类受治疗者中，递送 3-氨基-1-丙磺酸 (3APS) 的方法、化合物、组合物和载体。本发明包括体外或体内产生或者生成 3APS 的化合物。优选的化合物包括 3APS 的氨基酸前体药物，用于包括但不限于预防和治疗阿尔茨海默病。

### 背景技术

阿尔茨海默病 (AD) 是一种主要与老龄化相关的大脑进行性退化性疾病。2000 年 AD 在美国的患病率接近 450 万人。据估计，约十分之一的 65 岁以上个体及近一半的 85 岁以上个体患有阿尔茨海默病。仅在美国，每年大约 360,000 例患者被诊断为患有 AD。

AD 的临床表现，特征为记忆、认知、推理、判断和定向的丧失。随着病情的发展，运动、感知及语言的能力也受到影响，直至存在多重认知功能的全面损害。这些认知的丧失逐渐地发生，但是通常在四至十二年的时间内导致严重的损害和最终的死亡。

阿尔茨海默病表征为大脑内的两个主要病理学观察：神经原纤维缠结和 $\beta$ 淀粉样（或神经炎）斑，主要由被称作 A $\beta$ 的肽片段聚集体所组成。患有 AD 的个体表现为在大脑（ $\beta$  淀粉样斑）和脑血管（ $\beta$  淀粉样血管病）中的特征性  $\beta$ -淀粉样沉淀以及神经原纤维缠结。神经原纤维缠结不仅发生于阿尔茨海默病中，也发生在其他痴呆诱导的疾病中。

3-氨基-1-丙磺酸 (3APS, Tramiprosate, Alzhemed™) 是一种用于治疗

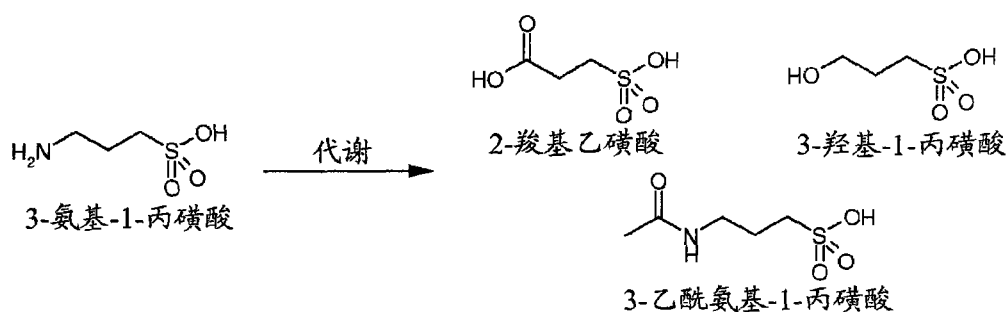


阿尔茨海默病、有前途的试验性候选产品，目前在北美和欧洲处于 III 期临床试验阶段 (Wright, T. M., *Drugs of Today* (2006), 42(5): 291-298)。该产品由 Neuchem 公司 (拉瓦尔市, 魁北克省, 加拿大) 开发, 据信它通过结合至可溶性 A $\beta$  肽来减少大脑内淀粉样蛋白的沉积和/或负荷而发挥作用。为了提高 3APS 的治疗有效性, 期望提高 3APS 的生物利用率、稳定性和/或穿过血脑屏障。这些及其他需要可以通过本文的前体药物形式 3-氨基-1-丙磺酸 (3APS)、药物组合物和其治疗各种医学疾病的用途的公开而得到满足。

早期的代谢稳定性研究已证实 3APS 不存在体外代谢。这些研究包括: 3APS 在混合的人肝细胞, 人、大鼠和犬肝脏微粒体, 人肠内微生物系, 混合的人肝脏细胞液, 以及人类芳胺 N-乙酰化转移酶中的代谢稳定性 (参见实施例 4 和 5)。

### 发明概述

令人惊奇地, 目前已发现 3APS 在体内和体外都被代谢。的确, 如更详细的下文中所描述的, 最近的体内研究表明了 3APS 的大量代谢, 特别是首过和/或系统的代谢。从至少一种类型的生物种类中鉴定出三个潜在的代谢物: 2-羧基乙磺酸、3-羟基-1-丙磺酸和 3-乙酰氨基-1-丙磺酸。进一步的研究证实小鼠、大鼠、犬、和人类中 2-羧基乙磺酸是 3APS 唯一的主要代谢物。

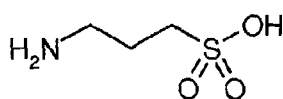


不希望被理论所束缚, 据推测 3APS 的代谢主要是由转氨酶和/或单胺氧化酶所导致的, 产生了作为主要代谢物的 2-羧基乙磺酸和作为次要代谢物的 3-羟基-1-丙磺酸。N-乙酰-3-氨基丙磺酸是另一个可能的次要代谢物, 而且据信它是由乙酰化 3APS 的酶产生的。这些推测得到了体外实验 (参见, 例如, 实施例 5) 的支持, 实验表明在原代神经元培养基中 3APS 向

2-羧基乙磺酸的转化被氨基己烯酸（一种经典的 GABA 转氨酶抑制剂）显著地抑制。丙酰苄胺异烟肼，一种单胺氧化酶抑制剂，同样减少 2-羧基乙磺酸（来自 3APS）的形成，但程度较小。

因此本发明的一方面涉及了能通过将 3APS 相关代谢（例如，首过代谢）最小化而递送 3APS 的化合物和组合物，更特别涉及会阻滞或保护 3APS 氨基以便于 3APS 避免被例如转氨酶和/或单胺氧化酶代谢的化合物。

本发明包括在受治疗者，优选在人类受治疗者中，递送 3-氨基-1-丙磺酸或其盐的方法、化合物、组合物和载体。3-氨基-1-丙磺酸（又称作 3APS, Tramiprosate, Alzhemed™）具有这样的结构：



3APS

一方面，本发明涉及在受治疗者中用药后产生或生成 3APS 的化合物或组合物。在一种实施方案中，产生或生成 3APS 的化合物是 3APS 的氨基酸前体药物。在另一种实施方案中，产生或生成 3APS 的化合物是 3APS 的氨基甲酸酯前体药物。在另一种实施方案中，产生或生成 3APS 的化合物是 3APS 的酰胺前体药物。在另一种实施方案中，产生或生成 3APS 的化合物是 3APS 的糖类衍生的前体药物。在另一种实施方案中，产生或生成 3APS 的化合物是 N-羟基前体药物。在另一种实施方案中，产生或生成 3APS 的化合物是环状双重保护的前体药物。在另一种的实施方案中，产生或生成 3APS 的化合物是 3APS 聚合物（例如，由两个或更多连接在一起的 3APS 组成的分子）。在另一种的实施方案中，产生或生成 3APS 的化合物是 3APS 寡二聚物（gemini dimer）。在某些实施方案中，能够在体外或体内产生或者生成 3APS 的 3APS 氨基酸前体药物具有本文所公开的一般或特定分子式或者结构之一。本发明包括了这些化合物、含有这些化合物的药物组合物、以及在治疗各种医学疾病如阿尔茨海默病中应用这样的化合物或组合物的方法

本发明还涉及含有本发明化合物的药物组合物。

本发明另外涉及一种提高 3APS 治疗有效性的方法，包括对受治疗者，优选人类受治疗者，施用有效量的本发明的前体药物。

本发明还提供了将本发明化合物转化为 3APS 的方法。3APS 的转化和/或产生包括将本发明的任意化合物与例如血液、血浆和/或脑细胞接触。该转化可发生于体外或体内。该转化还可发生在能够裂解胺键的酶存在的条件下，所述的酶如肽酶，或者适合于本文其他结构的其他酶，包括在血液、血浆和/或大脑中发现的那些。

本发明还提供了根据本发明的化合物用于制造药品的用途。本发明还提供了本发明化合物用于治疗或预防阿尔茨海默病、轻度认知损害、唐氏综合征、具有荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血、脑淀粉样血管病、其他退化性痴呆、血管性和退化性起源混合型痴呆、与帕金森氏病相关的痴呆、与进行性核上麻痹相关的痴呆、与皮质基底退化相关的痴呆、或者弥漫性路易体型阿尔茨海默病的用途。本发明还提供了治疗或预防上述疾病的方法，包括对有相应需要的受治疗者，优选人类受治疗者，施用治疗上有效量的本发明化合物或者含有它的组合物。更优选地，所述的疾病为阿尔茨海默病。因此，本发明的一个相关方面涉及通过对有相应需要的人类受治疗者施用有效量的本发明化合物或组合物，在人类受治疗者中预防和/或治疗阿尔茨海默病。

在另一种实施方案中，本发明包括经由粘膜或粘膜下、鼻（鼻内）、口腔、或眼，例如通过鼻用喷雾剂、咀嚼胶、或滴眼剂；经由耳，例如通过滴耳剂；通过使用植入物；经直肠，例如以栓剂或灌肠剂；经阴道，例如通过乳膏或洗剂；或通过呼吸系统，例如通过鼻内或气管内吸入而施用 3APS。

在另一方面，本发明包括经由任何模式和/或载体（包含本文所公开的全部模式和/或载体）施用本发明的化合物，例如，经由鼻、粘膜，经皮地，经贴剂地等施用 3APS 前体药物。

在各种方面，本发明涉及下列编号的方面：

方面 1. 一种式 I 化合物或其药学上可接受的盐或者溶剂化物：

## B-L-A (I)

其中

B 是药物动力学调节部分，该部分任选地，直接或者通过另外的连接基团 L 间接结合至 A；

A 是 3-氨基-1-丙磺酸部分（即被结合至 L-B 的 3APS），以及

L 是用于共价地且可分离地将 B 偶联至 A（优选并通常经由 NH<sub>2</sub> 基团）的可裂解型键合，或者不存在，借此 L 可以是直接的键或者提供可裂解型键合的另外化学结构。

方面 2. 根据方面 1 的化合物，其中

L 是当在体外或体内代谢或者水解时产生 3APS 的键合，和/或

B 是对人类受治疗者施用式 I 化合物后增加 3APS 治疗性生物分布的部分。

方面 3. 根据方面 1 的化合物，其中 B 是 3-氨基-1-丙磺酸部分。

方面 4. 根据方面 1 的化合物，其中

B 是氨基酸或肽，以及

L 是可水解的键合。

方面 5. 根据方面 1 的化合物，它是下文所述式(I)、(I-A)、(I-C)、(I-D)、(I-E)、(I-P)、(I-P2)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)、(VII)、(VIII)、(IX)、(X)、(XI)、(XII)、(XII-A)或(XIII)的化合物，或其药学上可接受的盐。

方面 6. 一种含有方面 1 化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。

方面 7. 一种用于治疗或预防阿尔茨海默病、轻度认知损害唐氏综合征、具有荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血、脑淀粉样血管病、退化性痴呆、血管性和退化性起源混合型痴呆、与帕金森氏病相关的痴呆、与进行性核上麻痹相关的痴呆、与皮质基底退化相关的痴呆、或者弥漫性路易体阿尔茨海默病的方法，包括对有相应需要的人类受治疗者施用治疗上有效量的方面 1 化合物。

方面 8. 一种将方面 1 化合物转化为 3APS 的方法，包括使所述化合物

与使所述化合物在体外或体内代谢为 3APS 的酶接触。

方面 9. 根据方面 8 的方法, 包括使所述化合物与血浆、血液和/或脑细胞接触。

方面 10. 一种在人类受治疗者中增加 3APS 的治疗性生物分布的方法, 包括减少对人类受治疗者施用 3APS 时发生的 3APS 代谢, 例如首过代谢。

方面 11. 一种减少 3APS 在人类受治疗者中副作用(例如, 减少或预防胃肠道不耐性)的方法, 包括减少对人类受治疗者施用 3APS 时发生的 3APS 代谢, 例如首过代谢。

方面 12. 根据方面 10 的方法, 其中 3APS 是以 3APS 前体药物的形式施用的, 该前体药物在被施用于所述人类受治疗者后产生或生成 3APS。

方面 13: 根据方面 10 的方法, 其中前体药物是式 I 化合物或其药学上可接受的盐或者溶剂化物:



其中

B 是药物动力学调节部分, 该部分任选地, 直接或者通过另外的连接基团 L 间接结合至 A;

A 是 3-氨基-1-丙磺酸部分(即被结合至 L-B 的 3APS), 以及

L 是用于共价地且可分离地将 B 偶联至 A(优选并通常经由  $\text{NH}_2$  基团)可裂解型键合, 或者不存在, 借此 L 可以是直接的键或者提供可裂解型键合的另外化学结构。

方面 14. 根据方面 10 的方法, 其中 3APS 通过呼吸系统, 气管内, 鼻内, 经由粘膜或粘膜下, 经由耳, 经直肠, 或经阴道, 或通过植入物、喷雾剂、鼻用喷雾剂、咀嚼胶、滴眼剂、滴耳剂、栓剂、或阴道用乳膏或洗剂施用。

方面 15. 根据方面 10 的方法, 其中, 3APS 的生物利用率、3APS 的 AUC、3APS 的大脑水平、3APS 的 CSF 水平、3APS 的  $C_{\text{max}}$ 、3APS 的  $T_{\text{max}}$ 、和/或 3APS 的生物吸收被提高。

方面 16. 根据方面 10 的方法, 其中, 阿尔茨海默病被治疗或预防。

方面 17. 根据方面 10 的方法, 其中, 在选取的人体组织中 3APS 有效治疗性水平被提高。

方面 18. 根据方面 17 的方法, 它提高所述人类受治疗者大脑中 3APS 的水平。

方面 19. 根据方面 10 的方法, 它提高 3APS 的治疗有效性。

方面 20. 根据方面 10 的方法, 它减少 3APS 的首过代谢。

方面 21. 根据方面 10 的方法, 它减少 3APS 的副作用。

方面 22. 根据方面 10 的方法, 其中, 3APS 的口服 AUC 被增加了至少 20%。

方面 23. 一种在人类受治疗者中增加 3APS 治疗性生物分布的方法, 包括以前体药物的形式或者以 3APS 季二聚体形式施用 3APS。

方面 24. 一种在人类受治疗者中增加 3APS 治疗性生物分布的方法, 包括非口服或非肠道施用 3APS。

方面 25. 根据方面 10 的方法, 其中, 应用将 3APS 的肝首过代谢最小化的途径 (经皮, S.C., 鼻内, 等) 或载体 (贴剂, 植入物, 喷雾剂, 制剂, 等) 递送 3APS。

方面 26. 根据方面 1 的化合物, 其中, 所述的可裂解型键合被选定用于在体外或体内产生或生成 3APS 或 3APS 衍生物, 例如, 其中键合是可水解或酶促裂解的。

方面 27. 根据方面 1 的化合物, 其中, 所述的药物动力学调节部分被选定用于对人类受治疗者施用式 I 化合物时增加 3APS 的治疗性生物分布。

方面 28. 一种式 I 前体药物或其药学上可接受的盐、代谢物或溶剂化物:



其中

B 是药物动力学调节部分, 该部分任选地, 直接或者通过另外的连接

基团 L 间接结合至 A;

A 是 3-氨基-1-丙磺酸部分 (即被结合至 L-B 的 3APS), 以及

L 是用于共价地且可分离地将 B 偶联至 A (优选并通常经由  $\text{NH}_2$  基团) 可裂解型键合, 或者不存在, 借此 L 可以是直接的键或者提供可裂解型键合的另外化学结构

其中, 所述前体药物的代谢物可以是 3APS 和/或其他代谢物, 包括但不限于本文其他地方 (例如实施例中) 鉴定的代谢物。

当阅读下列示例性但不解释为限制本发明范围的优选实施方案的非限制性描述时, 本发明另外的目的、优点和特征将会变得更显然。

### I. 定义

本文所用的全部技术和科学术语具有同本发明所属领域中普通技术人员通常所理解的相同的含义。为了方便, 下面提供了本文所用的某些术语和短语的含义。

对于在本文通过引用所并入的出版物、专利、和专利申请中的术语定义与本说明书中所阐述的定义相反的情况, 以本说明书中定义为准。本文所用的章节标题只是为了组织的目的而使用, 并不解释为限制所公开主题。

应当注意的是, 单数形式的一 (a)、一 (an) 和该 (the) 包括两个以上的指示物, 文中另有明确说明除外。因此, 例如, 提及包含“一种化合物”的组合物则包括了两种或更多化合物的混合物。同样应当注意的是, 术语“或”通常应用的是其包括了“和/或”的含义, 文中另有明确说明除外。

本文的化学结构是根据本领域已知的常规标准而绘制的。因此, 在所绘制的原子 (诸如碳原子) 表现为具有未满足价键时, 即使没有清楚地绘出氢原子, 也认为该价键是由氢原子来满足的。应当将氢原子解释为该化合物的部分。

符号“-”通常代表链中两个原子间的键。因此,  $\text{CH}_3\text{-O-CH}_2\text{-CH(R}_i\text{)-CH}_3$  代表 2-取代的-1-甲氧丙烷化合物。此外, 符号“-”代表取代基连接至化合物的位置。因此, 例如芳基( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )-烷基表示在烷基部分上被连接至化合物的芳烷基基团, 例如苄基。

当表示多个取代基被连接至一个结构时，应当理解为，该取代基可以是相同或不同的。因此，例如，“任选用 1、2 或 3 个  $R_q$  基团取代的  $R_m$ ”表示  $R_m$  是用 1、2 或 3 个  $R_q$  基团取代的，此处的  $R_q$  基团可以是相同或不同的。

如本文所用的，术语“本发明的化合物”及等同的表达是指用于至少一个本发明目的的本文所提及的化合物，例如，下列结构式包含的那些：诸如 (I)、(I-A)、(I-C)、(I-D)、(I-E)、(I-P2)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)、(VII)、(VIII)、(IX)、(X)、(XI)、(XII)、(XII-A) 和 (XIII)，而且包括本文所提及的特定化合物，诸如 A1 至 A35、C1 至 C26、B1 至 B14、H1 至 H4、G1 至 G11、S1 至 S14 和 D1 至 D8 等，及它们的药学上可接受的盐和溶剂化物。本文的实施方案可以排除一个或多个的本发明化合物。化合物也可以用它们的化学结构和/或化学名确认。当化学结构与化学名冲突时，化学结构决定该化合物的身份。本文所述的化合物可包含一个或多个的手性中心和/或双键，所以，可以作为立体异构体诸如双键异构体（即几何异构体）、对映体或非对映异构体存在。因此，本文所公开的化学结构包含了示例性化合物所有可能的对映体和立体异构体，包括立体异构体纯的形式（例如，几何异构体纯的，对映体纯的，或者非对映异构体纯的）以及对映体的和立体异构体的混合物。可以应用技术人员熟知的分离技术或手性合成技术将对映体的和立体异构体的混合物拆分成它们的组成对映体或立体异构体，然后将手性盐或酯用常规手段交换或裂解以回收所需的异构体，所述技术例如手性色谱法（诸如手性 HPLC）、免疫检验技术，或者应用分别形成可用常规方法（诸如色谱法、蒸馏、结晶或升华）分离的非对映异构体混合物的共价（诸如，Mosher 酯）和非共价（诸如：手性盐）结合手性试剂，。化合物还可以几种互变异构的形式存在，包括烯醇式、酮式、和其混合物。因此，本文所描述的化学结构包含了示例性化合物的所有可能的互变异构形式。所公开的化合物还包括同位素标记化合物，该化合物中一个或多个原子具有与自然界中发现最丰富的原子量不同的原子量。可加入本发明化合物中的同位素实例包括，但不限于， $^2\text{H}$  (D)， $^3\text{H}$  (T)， $^{11}\text{C}$ ， $^{13}\text{C}$ ， $^{14}\text{C}$ ， $^{15}\text{N}$ ， $^{18}\text{O}$ ， $^{17}\text{O}$  等。化合物可以未溶剂化形式以及溶剂化形式，包括水合形式存在。一般地，



化合物可能是水合的或溶剂化的。某些化合物可能以多晶型或无定形形式存在。通常，就本文所考虑的用途而言，所有的物理形式是等同的，而且预期在本发明的范围内。此外，当说明示例化合物的部分结构时，括号或等同物表示部分结构连接至分子其余部分的位置。

术语“前体药物”及等同表达是指可在体外或体内直接或者间接转化为活性形式的物质(参见,例如, R. B. Silverman, 1992, “The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Act(药物设计和药物作用的有机化学),” Academic Press, 第八章; Bundgaard, Hans;编辑. 荷兰(1985), "Design of Prodrugs (前体药物的设计)". 360 页. Elsevier, 阿姆斯特丹; Stella, V.; Borhardt, R.; Hageman, M.; Oliyai, R.; Maag, H.; Tilley, J. (编辑) (2007), "Prodrugs: Challenges and Rewards(前体药物: 挑战与回报), XVIII, 1470 页. Springe)。对于特定的药剂而言, 前体药物可用于改变生物分布(例如, 使通常不进入蛋白酶的活性部位的药剂进入蛋白酶的活性部位)或药物动力学。各种各样的基团已被用于修饰化合物, 以形成前体药物, 例如酯、醚、磷酸酯等。当对受治疗者施用前体药物时, 该基团被酶促地或非酶促地, 还原地, 氧化地, 或水解地, 或以其他方式裂解, 以展现活性形式。如本文所用的, “前体药物”包括其药学上可接受的盐、或药学上可接受的溶剂化物以及前述的任何的晶形。尽管非必须, 但前体药物常常是药理学上无活性的, 直至被转化为母体药物。

术语“孪二聚体”以及等同的表达是指一种合成化合物, 该化合物含有偶联在一起的、至少两部分的相同药剂或药物。关于孪二聚体的背景, 参见: Hammell D C, Hamad M, Vaddi H K, Crooks P A, Stinchcomb A L. A duplex "Gemini" prodrug of naltrexone for transdermal delivery (一种用于经皮递送的纳曲酮双“孪”前体药物). J Control Release. 2004. 97(2):283-90。在优选的实施方案中, 本发明的孪二聚体是由两个键合的 3APS 分子制成的, 该分子可在体外或体内直接或者间接地被转化, 以释放至少一个, 优选地两个, 药学上活性的 3APS 分子。

术语“氨基甲酸酯”是指被结合至氨基以形成含有(-OC(O)N(或 NH)-)基的基团的氧羰基残基(-OC(O)-)。氨基甲酸酯基团可以是仲胺(NH)或

叔胺(N)。在章节 II-B(a)中,该术语被进一步地定义。

术语“酰胺”是指含有被连接至胺基以形成含有(-C(O)N(或 NH)-)基的基团的羰基(-C(O)-)的有机化合物。酰胺基团可以是仲胺(NH)或叔胺(N)。在章节 II-A 中,该术语被进一步地定义。术语“非氨基酸酰胺”是指一种酰胺基团,其中羰基(-C(O)-)没有形成部分的氨基酸残基。在章节 II-B(b)中,该术语被进一步地定义。

术语“糖类衍生的”是指其中连接至例如 3APS 的基团本身是或衍生自多羟基醛、多羟基酮、或多元醇,可以经简单的化学转变(例如水解、氧化或还原)而变化为这类基团的有机基团的化合物。这些基团包括,例如,糖、淀粉、纤维素和胶。在章节 II-C 中,该术语被进一步地定义。术语“N-羟基-衍生的”是指含有羟基或羟基衍生基团(例如,烷氧基、苄氧基、苯氧基、酰氧基,等)以形成(RO-N(或 NH)-)的化合物。在章节 II-D(a)中,该术语被进一步地定义。

术语“环状双保护的”是指其中保护基结合至 3APS 的胺和磺酸的化合物。在章节 II-D(b)中,该术语被进一步地定义。

术语“酯”是指式可由 RCOOR (羧酸酯)或式 RSO<sub>3</sub>R' (磺酸酯)表示的化合物,其中,基团 R 可以是,例如,3APS 或其 3-氨基丙烷部分,而基团 R'可以是另一个有机基团。这些化合物通常分别由羧酸或磺酸与醇间反应所形成,通常伴有水的消除。

术语“氨基酸”一般是指含有羧基和氨基的有机化合物。术语“氨基酸”包括了“天然的”和“非自然的(unnatural)”或者“非天然(non-natural)”氨基酸。此外,术语氨基酸包括 O-烷基化或 N-烷基化氨基酸,以及具有含氮或氧原子侧链的氨基酸(例如 Lys, Orn, 或 Ser),该侧链中氮或氧原子已被酰化或烷基化。氨基酸可以是纯的 L 或 D 异构体或 L 与 D 异构体的混合物,包括外消旋混合物。总之,氨基酸是以式 V 的残基表示。

术语“天然氨基酸”及等同表达是指在天然产生的蛋白质中常见的 L-氨基酸。天然氨基酸的实例非限制性地包括,丙氨酸(Ala),半胱氨酸(Cys),天冬氨酸(Asp),谷氨酸(Glu),苯丙氨酸(Phe),甘氨酸(Gly),组氨酸(His),异亮氨酸(Ile),赖氨酸(Lys),亮氨酸(Leu),甲硫氨酸(Met),天冬酰胺(Asp),

脯氨酸(Pro), 谷氨酰胺(Gln), 精氨酸(Arg), 丝氨酸(Ser), 苏氨酸(Thr), 缬氨酸(Val), 色氨酸(Trp), 酪氨酸(Tyr),  $\beta$ -丙氨酸( $\beta$ -ALA), 以及  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)。

术语“非自然氨基酸 (unnatural amino acid)”是指天然氨基酸的任何衍生物, 包括D构型, 以及 $\alpha$ -和 $\beta$ -氨基酸衍生物。术语“非自然氨基酸(unnatural amino acid)”和“非天然氨基酸 (non-natural amino acid)”本文可互换使用, 而且意味着包含相同的部分。应当注意的是, 本文被分类为非天然氨基酸的某些氨基酸, 例如羟基脯氨酸, 可天然地在某种有机体或特殊蛋白质中发现。具有许多不同保护基、适于在固相肽合成中直接应用的氨基酸是可商业途径获得的。除了二十种最常见的天然氨基酸, 可以根据本发明使用如下实例的非天然氨基酸和氨基酸衍生物(括号内为通常的缩写): 2-氨基酸己二酸(Aad), 3-氨基己二酸( $\beta$ -Aad), 2-氨基丁酸 (2-Abu),  $\alpha,\beta$ -脱氢-2-氨基丁酸(8-AU), 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACPC), 氨基异丁酸(Aib), 3-氨基异丁酸( $\beta$ -Aib), 2-氨基-噻唑啉-4-羧酸, 5-氨基戊酸(5- Ava), 6-氨基己酸(6-Ahx), 2-氨基庚酸(Ahe), 8-氨基辛酸(8-Aoc), 11-氨基十一烷酸(11-Aun), 12-氨基十二烷酸(12-Ado), 2-氨基苯甲酸(2-Abz), 3-氨基苯甲酸(3-Abz), 4-氨基苯甲酸(4-Abz), 4-氨基-3-羟基-6-甲基庚酸(Statine, Sta), 氨基氧乙酸(Aoa), 2-氨基四氢化萘-2-羧酸(ATC), 4-氨基-5-环己基-3-羟基戊酸(ACHPA), 对-氨基苯丙氨酸(4-NH<sub>2</sub>-Phe), 2-氨基庚二酸(Apm), 联苯丙氨酸(Bip), 对-溴代苯丙氨酸(4-Br-Phe), 邻-氟代苯丙氨酸(2-F-Phe), 间-氟代苯丙氨酸(3-F-Phe), 对-氟代苯丙氨酸(4-F-Phe), 间-氟代酪氨酸(3-F-Tyr), 高丝氨酸(Hse), 高苯丙氨酸(Hfe), 高酪氨酸(Htyr), 羟基赖氨酸(Hyl), 别-羟基赖氨酸(aHyl), 5-羟基色氨酸(5-OH-Trp), 3-或4-羟基脯氨酸(3-或4-Hyp), 对-碘代苯丙氨酸(4-I-Phe), 3-碘代酪氨酸(3-I-Tyr), 二氢吡啶-2-羧酸(Idc), 异锁链素(Ide), 别-异亮氨酸

(a-Ile), 异吡啶甲酸(Inp), *N*-甲基异亮氨酸(MeIle), *N*-甲基赖氨酸(MeLys), 间-甲基酪氨酸(3-Me-Tyr), *N*-甲基缬氨酸(MeVal), 1-萘丙氨酸(1-Nal), 2-萘丙氨酸(2-Nal), 对-硝基苯丙氨酸(4-NO<sub>2</sub>-Phe), 3-硝基酪氨酸(3-NO<sub>2</sub>-Tyr), 正亮氨酸(Nle), 正缬氨酸(Nva), 鸟氨酸(Orn), 邻-磷酸酪氨酸(H<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>-Tyr), 八氢吡啶-2-羧酸(Oic), 青霉胺(Pen), 五氟苯丙氨酸(F<sub>5</sub>-Phe), 苯基甘氨酸(Phg), 哌可酸(Pip), 炔丙基甘氨酸(Pra), 焦谷氨酸(PGLU), 肌氨酸(Sar), 四氢异喹啉-3-羧酸(Tic), 噻吩基丙氨酸, 以及噻唑烷-4-羧酸(硫代脯氨酸, Th)。

如本文所用的, 术语“无环的”是指没有环体系的有机部分。

术语“脂肪族基团”包括特征为直链或支链、通常具有 1 至 15 个碳原子的有机部分。脂肪族基团包括非环的烷基基团、烯基基团和炔基基团。

如本文所用的, 术语“烷基”是指具有一至十二个碳原子的饱和烃类, 包括直链的、支链的以及环状的烷基基团。烷基基团的实例非限制性地包括, 甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、异丙基、叔丁基、仲丁基、异丁基、环丙基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基等。术语烷基包括未取代的烷基基团和取代的烷基基团。其中 *n* 是 2 至 12 的整数的术语“C<sub>1</sub>-C<sub>n</sub>烷基”, 是指具有 1 至指定数“*n*”个碳原子的烷基基团。

如本文所用的, 术语“烯基”是指具有二至十二个碳原子的不饱和烃类, 包括直链的、支链的、以及环状的非芳香烯基基团, 并且包含一至六个碳-碳双键。烯基基团的实例非限制性地包括, 乙烯基、烯丙基、1-丙烯-2-基、1-丁烯-3-基, 1-丁烯-4-基、2-丁烯-4-基、1-戊烯-5-基、1,3-戊二烯-5-基、环戊烯、环己烯、乙基环戊烯、乙基环己烯等。术语烯基包括未取代的烯基基团和取代的烯基基团。术语“C<sub>2</sub>-C<sub>n</sub>烯基”, 其中 *n* 是 3 至 12 的整数, 是指具有 2 至指定数“*n*”个碳原子的烯基基团。

如本文所用的, 术语“炔基”是指具有二至十二个碳原子的不饱和烃类, 包括直链的、支链的、以及环状的非芳香炔基基团, 并且包含一至六个碳-碳三键。炔基基团的实例非限制性地包括, 乙炔基、1-丙炔-3-基、1-丁炔-4-基、2-丁炔-4-基、1-戊炔-5-基、1,3-戊二炔-5 基等。术语炔基包括未取代的炔基基团和取代的炔基基团。术语“C<sub>2</sub>-C<sub>n</sub>炔基”, 其中 *n* 是 3 至 12

的整数，是指具有 2 至指定数“n”个碳原子的炔基基团。

除非另外规定了碳数，本文所用的，如在“低级脂肪族的”、“低级烷基”、“低级烯基”和“低级炔基”中的“低级”含义为该部分具有至少一个（对于烯基和炔基，二个）和等于或少于 6 个碳原子。

术语“环烷基”、“脂环的”、“碳环的”及等同的表述是指在具有三至十五元环的单个、螺（共享一个原子）、或稠合（共享至少一个键）碳环体系中包含饱和的或部分未饱和的碳环的基团。环烷基基团的实例包括，但不限于，环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯-1-基、环戊烯-2-基、环戊烯-3-基、环己基、环己烯-1-基、环己烯-2-基、环己烯-3-基、环庚基、双环[4,3,0]壬烷基、降冰片基及类似物。术语环烷基包括未取代的环烷基基团和取代的环烷基基团。术语“C<sub>3</sub>-C<sub>n</sub> 环烷基”，其中 n 是 4 至 15 的整数，是指具有 3 至指定数“n”个碳原子的环烷基基团。除另外规定碳数，本文所用的“低级环烷基”基团在它们的环结构中具有至少 3 个和等于或小于 8 个的碳原子。

术语“杂环烷基”及等同的表达是指在具有三至十五元环的单个、螺（共享一个原子）、或稠合（共享至少一个键）碳环体系中包含饱和的或部分未饱和的碳环并包括了一至六个杂原子（例如，N, O, S, P）或者含有这样杂原子的基团（例如，NH, NR<sub>x</sub>（R<sub>x</sub> 是烷基、酰基、芳基、杂芳基或环烷基），PO<sub>2</sub>, SO, SO<sub>2</sub>, 及类似物）的基团。杂环烷基基团可以是在有这种可能的位置上由 C-连接的或者杂原子-连接的（例如，通过氮原子）。杂环烷基基团的实例包括，但不限于，吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢二噻吩基、四氢吡喃基、四氢硫代吡喃基、哌啶基、吗啉基、硫代吗啉基、噻噁烷基、哌嗪基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、高哌啶基、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基、氧杂氮杂庚烷基、二氮杂庚烷基、硫杂氮杂庚烷基、1,2,3,6-四氢吡啶基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、二氢吲哚基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二噁烷基、1,3-二氧戊环基、吡唑啉基、二噻烷基、二硫戊环基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二氢呋喃基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、3-氮杂双环[3,1,0]己烷基、3-氮杂双环[4,1,0]庚烷基、3H-吲哚基、喹啉基、以及糖及类似物。术语杂环烷基包括未取代的杂环烷基基团和取代的杂环烷基基团。术语“C<sub>3</sub>-C<sub>n</sub> 杂环烷基”，其中 n 是 4 至 15 的整数，是

指在环结构中具有 3 至指定数“n”个原子，包含至少一个如上所述的杂基团或原子的杂环烷基基团。除另外规定碳数外，本文所用的“低级杂环烷基”基团在它们的环结构中具有至少 3 个和等于或小于 8 个的碳原子。

术语“芳基”和“芳环”是指在共轭单环的或多环（稠合或未稠合）的体系中具有“ $4n+2$ ” $\pi$  (pi) 电子（这里 n 为 1 至 3 的整数）、且具有六至十四个环原子的芳香基团。多环的环体系包括至少一个芳香环。芳基可以是直接地连接的或者通过  $C_1$ - $C_3$  烷基基团（也称作芳基烷基或芳烷基）而连接的。芳基基团的实例非限制性地包括，苯基、苄基、乙氧苯基、1-苯乙基、甲苯基、萘基、联苯基、三联苯基、茚基、苯并环辛烯基、苯并环庚烯基、萹基、茺基、茛基、菲基、蒽基及类似物。术语芳基包括了未取代芳基基团和取代的芳基基团。术语“ $C_6$ - $C_n$  芳基”，其中 n 是 6 至 15 的整数，是指在环结构中具有 6 至指定数“n”个原子，包括至少一个如上所述的杂基团或原子的芳基基团。

术语“杂芳基”和“杂芳基环”是指在共轭单环的或多环（稠合或未稠合）的体系中具有“ $4n+2$ ” $\pi$  (pi) 电子（这里 n 为 1 至 3 的整数）、且具有五至十四元环，包括了一至六个杂原子（例如，N, O, S）或者含有这样杂原子的基团（例如， $NH$ ,  $NR_x$  ( $R_x$  是烷基、酰基、芳基、杂芳基或环烷基)， $SO$  及类似物）的芳香基团。多环的环体系包括至少一个杂芳香环。杂芳基基团可以是直接地连接的或者通过  $C_1$ - $C_3$  烷基基团（也被称为杂芳基烷基或杂芳烷基）。在有这种可能的位置上，杂芳基基团可以是 C-连接的或杂原子（例如，通过氮原子）连接的。杂芳基基团的实例非限制性地包括，吡啶基、咪唑基、嘧啶基、吡唑基、三唑基、四唑基、呋喃基、噻吩基；异噁唑基、噻唑基、噁唑基、异噻唑基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、吲哚基、异吲哚基、苯并二氢吡喃基、异苯并二氢吡喃基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噌啉基、吲唑基、中氮茚、酞嗪基、哒嗪基、吡嗪基、三嗪基、异吲哚基、蝶啶基、嘌呤基、噁二唑基、噻二唑基、呋咕基、苯并呋咕基、苯并苯硫基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹唑啉基、喹嗪基、喹诺酮基、异喹诺酮基、喹噁啉基、萘啶基、呋喃并吡啶基、吡唑基、菲啶基、吡啶基、伯啶基、菲咯啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁嗪基、二苯

并呋喃基，及类似物。术语杂芳基包括未取代的杂芳基基团和取代的杂芳基基团。术语“C<sub>5</sub>-C<sub>n</sub>杂芳基”，其中n是6至15的整数，是指在环结构中具有5至指定数“n”个原子的，包含至少一个如上所述的杂基团或原子杂芳基基团。

术语“杂环”或“杂环的”包括杂环烷基和杂芳基基团。杂环的实例非限制地包括，吡啶基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并硫代呋喃基、苯并苯硫基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并异噁唑基、苯并异噻唑基、苯并咪唑啉基、吡唑基、4 $\alpha$ H-吡唑基、吡啶基、苯并二氢吡喃基、苯并吡喃基、噌啉基、十氢喹啉基、2H,6H-1,5,2-二噻嗪基、二氢呋喃并[2,3-b]四氢呋喃、呋喃基、呋喃基、咪唑烷基、咪唑啉基、咪唑基、1H-吡唑基、假吡啶基(indolenyl)、二氢吡啶基、中氮茛基、吡啶基、3H-吡啶基、异苯并呋喃基、异苯并二氢吡喃基、异吡唑基、异二氢吡啶基、异吡啶基、异喹啉基、异噻唑基、异噁唑基、亚甲基二氧苯基、吗啉基、萘啶基、八氢异喹啉基、噁二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、噁唑烷基、噁唑基、噁唑烷基、嘧啶基、菲啶基、菲咯啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噻噻基(phenoxathiinyl)、吩噻嗪基、酞嗪基、哌嗪基、哌啶基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、胡椒基、蝶啶基、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并噁唑、吡啶并咪唑、吡啶并噻唑、吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基、吡咯啉基、2H-吡咯基、吡咯基、喹唑啉基、喹啉基、4H-喹唑啉基、喹噁啉基、奎宁环基、四氢呋喃基、四氢异喹啉基、四氢喹啉基、四唑基、6H-1,2,5-噻二嗪、1,2,3-噻二唑、1,2,4-噻二唑、1,2,5-噻二唑、1,3,4-噻二唑、噻蒎基、噻唑基、噻吩基、噻吩并噻唑基、噻吩并噁唑基、噻吩并咪唑基、噻吩基、三嗪基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,5-三唑基、1,3,4-三唑基、咕吨基及类似物。术语杂环包括了未取代的杂环基团和取代的杂环基团。

本文所用的术语“胺”或“氨基”是指式—NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>未取代的或取代的部分，其中R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>各自独立地是氢、烷基、芳基、或杂环基，或者，R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>同它们所连接的氮原子一起形成杂环。术语氨基包括其中氮原子被共价结合

至至少一个碳原子或杂原子的化合物或部分。因此，本文所用的术语“烷基氨基”和“二烷基氨基”表示分别具有一个和至少两个  $C_1-C_6$  烷基基团连接其上的胺基基团。术语“芳基氨基”和“二芳基氨基”包括其中氮被分别结合到至少一个或两个芳基基团的基团。术语“酰胺”或“氨基羰基”包括含有被结合到羰基或硫代羰基基团的碳上的氮原子的化合物或部分。如本文所述，术语酰基氨基是指被直接连接至酰基基团上的氨基基团。

术语“硝基”表示  $-NO_2$ ；术语“卤代”和“卤素”是指溴、氯、氟或碘取代基；术语“硫醇基”、“硫基”或“巯基”表示  $-SH$ ；以及术语“羟基”或“羟”表示  $-OH$ ；术语“烷硫基”是指具有硫氢基连接其上的烷基。适合的烷硫基基团包括带有 1 至约 12 个碳原子、优选 1 至约 6 个碳原子的基团。本文所用的术语“烷羧基”表示具有一个羧基连接其上的烷基基团。

本文所用的术语“烷氧基”或“低级烷氧基”表示带有一个氧原子连接其上的烷基基团。代表性烷氧基基团包括具有 1 至约 6 个碳原子的基团，例如，甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等。烷氧基基团的实例包括甲氧基、乙氧基、异丙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基、氟甲氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基、氯甲氧基、二氯甲氧基、三氯甲氧基基团等。术语烷氧基包括取代的或未取代的烷氧基基团，等，以及全卤代烷氧基基团。

术语“羰基”或“羧基”包括含有经双键连接至氧原子的碳的化合物和部分。含有羰基部分的实例包括醛、酮、羧酸、酰胺、酯、酸酐等。

术语“酰基”是指通过它的碳原子而被连接到氢（即，甲酰基）、脂肪族基团（ $C_1-C_6$  烷基， $C_1-C_6$  烯基， $C_1-C_6$  炔基，例如，乙酰基）、环烷基基团（ $C_3-C_8$  环烷基）、杂环基团（ $C_3-C_8$  杂环烷基和  $C_5-C_6$  杂芳基）、芳香基团（ $C_6$  芳基，例如，苯甲酰基）及类似物的羰基。酰基基团可以是未取代的或取代的酰基基团（例如，水杨酰）。

应当理解为，“取代”或“以...取代”包括了隐含的条件，即这种取代是遵循被取代原子和取代基的允许价键，而且取代得到了稳定的化合物，例如，它不自发进行转变，诸如通过重排、环化、消除等。如本文所用的，术语“取代的”含义为包括了有机化合物的所有允许取代基。在更广阔的方面，允许的取代基包括有机化合物的无环的和环状的、支链的和无支链的、



碳环的和杂环的、芳香的和非芳香的取代基。允许的取代基可以是一个或多个。术语“取代的”，当与上述的任何基团相联系时，是指在一个或多个的位置上被取代基取代的基团，该取代基诸如氨基（包括简单的氨基，单和二烷基氨基，单和二芳基氨基，以及烷芳基氨基），酰基氨基（包括氨基甲酰基，和脲基），烷羰氧基，芳羰氧基，烷氧羰氧基，烷氧羰基，羧基，羧酸酯，氨基羰基，单和二烷基氨基羰基，氰基，叠氮基，卤素，羟基，硝基，三氟甲基，硫基，烷硫基，芳硫基，烷硫代羰基，硫代羧酸酯，低级烷基，低级烯基，低级炔基，环烷基，杂环烷基，芳基，杂芳基，低级烷氧基，芳氧基，芳氧羰氧基，苄氧基，苄基，亚硫酰基，烷亚硫酰基，磺酰基，硫酸酯，磺酸酯，磺酰胺，磷酸酯，磷酰，亚磷酰，氧代，胍，亚胺基，甲酰基，及类似物。如果允许，任何上述取代基可以被进一步取代，例如，如果该基团包含烷基基团、芳基基团或其他。

术语“溶剂化物”是指本发明的化合物与一种或多种溶剂分子（无论是有机还是无机的）的物理缔合。这种物理缔合包括氢键结合。在某些情况下，溶剂化物是能够分离的，例如，当一个或多个的溶剂分子被掺入到结晶固体的晶格内时。“溶剂化物”包括溶液相的和可分离的溶剂化物。示例性溶剂化物包括水合物、乙醇化物、甲醇化物，半乙醇化物及类似物。

化合物的“药学上可接受的盐”表示化合物的盐是药学上可接受的化合物。理想的化合物盐保留或改进如本文所述母体化合物游离酸和碱的生物学有效性和性质，或者利用该分子上内在的碱性、酸性或带电的官能性，并且不是生物学上或其他方面所不期望的。药学上可接受的盐的实例还被描述于，例如，Berge等，“药学的盐”，*J. Pharm. Sci.* 66, 1-19 (1977)。这些盐包括：

(1) 酸加成盐，通过加入无机酸（例如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、氨基磺酸、硝酸、磷酸、碳酸盐形成剂及类似物）在碱性或带正电荷的官能性上形成；或者通过有机酸形成，有机酸例如乙酸、丙酸、乳酸、草酸、乙醇酸、特戊酸、叔丁基乙酸、 $\beta$ -羟基丁酸、戊酸、己酸、环戊丙酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-

乙烷-二磺酸、2-羟乙磺酸、环己氨基磺酸、苯磺酸、磺氨酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑磺酸、3-苯基丙酸、十二烷基磺酸、十二烷基硫酸、油酸、棕榈酸、硬脂酸、月桂酸、扑酸(帕莫酸)、十六烷酸(palmoic acid)、泛酸、乳糖酸、褐藻酸、半乳糖二酸、乳糖醛酸、葡糖酸、葡庚糖酸、谷氨酸、萘甲酸、羟基萘甲酸(hydroxynapthoic acid)、水杨酸、抗坏血酸、硬脂酸、粘康酸及类似物;

(2) 碱加成盐, 当母体化合物存在的酸性质子被包括碱金属离子(例如, 锂、钠、钾)、碱土金属离子(例如, 镁、钙、钡)或其他金属离子(例如铝、锌、铁及类似物)的金属离子所替换, 或者络合于有机碱(例如氨、乙胺、二乙胺、乙二胺、N,N'-二苄基乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇、N-甲基葡糖胺、哌嗪、氯普鲁卡因、普鲁卡因、胆碱、赖氨酸及类似物)时形成。

通过常规的化学方法, 从含有碱性或酸性部分的母体药剂可合成药学上可接受的盐。通常, 这种盐是通过将这些药剂的游离酸或碱形式与化学等当量的适宜碱或酸在水中或有机溶剂中、或者两者的混合物中反应而制备的。盐可以在药剂的最终分离或纯化过程中原位制备, 或者将游离酸或碱形式的已纯化的本发明化合物单独地与所期望的相应碱或酸反应并分离由此形成的盐而制备。术语“药学上可接受的盐”还包括含有共价结合至阴离子基团的阳离子基团的两性离子化合物, 它们被作为是“内盐”。

作为本发明的化合物, 包括了所述化合物的所有酸、盐、碱、以及其他离子的和非离子的形式。例如, 如果本文一种化合物表示为一种酸, 该化合物的盐形式也包括在内。同样地, 如果一种化合物表示为一种盐, 那么酸和/或碱形式也包括在内。

“A $\beta$ ”、“A $\beta$ ”或“ $\beta$ -淀粉样”定义为 $\beta$ 分泌酶介导 $\beta$ 淀粉样前体蛋白(APP)裂解所得到的任何的肽, 包括例如37、38、39、40、41、42以及43个氨基酸的肽, 并且从 $\beta$ 分泌酶裂解位点延长至氨基酸37、38、39、40、41、42或43。它还包括上述肽的N-末端截短类型, 诸如焦谷氨酸形式pE3-40、pE3-42、pE3-43、pE11-42、pE11-43及类似形式。为了便于命名, “A $\beta$ <sub>1-42</sub>”本文可以称为“A $\beta$ (1-42)”或简称为“A $\beta$ <sub>42</sub>”(而且, 对于本文所述的任何其他

淀粉样肽,也是一样地)。如本文所用的,术语“ $A\beta$ ”、“ $A\beta$ ”、“ $\beta$ -淀粉样”“淀粉样- $\beta$ ”是同义的,共同是指在 APP 的  $\beta$ -和  $\gamma$ -裂解位点间序列的截短和未截短的肽类型。

术语“淀粉样- $\beta$  疾病”或“淀粉样- $\beta$  相关疾病”可被用于轻度认知损害;血管性痴呆;早期阿尔茨海默病;阿尔茨海默病,包括偶发性(非遗传性)阿尔茨海默病和家族性(遗传性)阿尔茨海默病;年龄相关的认知衰退;大脑淀粉样血管病变("CAA");遗传性大脑出血;老年性痴呆;唐氏综合征;包涵体肌炎("IBM");或年龄相关性黄斑退化 ("ARMD")、轻度认知损害 ("MCI")、大脑淀粉样血管病("CAA")、年龄相关性黄斑变性退化(ARMD)。

“AUC”是曲线下的面积,该曲线表示受治疗者的生物样品中浓度作为对受治疗者施用化合物后时间的函数。生物样品的实例包括生物的流体如血浆和血液,或者器官匀浆如大脑或肝匀浆。应用诸如液相色谱-串联质谱(LC/MS/MS)的方法,以各种时间间隔测量生物样品中化合物的浓度,并计算浓度对时间曲线下的面积,可以确定 AUC。计算药物浓度对时间曲线 AUC 的适宜方法是本领域内熟知的。关于本文公开的内容,3APS 的 AUC 可通过在对受治疗者口服施用式(I)、(I-A)、(I-C)、(I-D)、(I-E)、(I-P)、(I-P2)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)、(VII)、(VIII)、(IX)、(X)、(XI)、(XII)或(XII-A)的化合物后,检测受治疗者血浆、血液或大脑匀浆中 3APS 浓度确定,。除本文另外说明外;如实施例 4 中进一步所定义的, AUC 表示  $AUC_{0-\infty}$ 。

“生物利用率”是指在对患者施用药物或其前体药物后达到受治疗者体循环的药物的速度和数量,并且可通过评估例如药物的血浆或血液浓度对时间分布来确定。用于表征血浆或血液浓度与时间曲线的参数包括曲线下面积(AUC)、达峰浓度的时间( $T_{max}$ )、以及最大药物浓度( $C_{max}$ )。生物利用率常被表示为 F(%),是指特定施用模式(例如,口服)的化合物 AUC 对 IV 施用后化合物 AUC 的百分比。

“生物等效性”是指对患者施用相同剂量药物或前体药物后药物的吸收速度和程度的等效性。如本文所用的,如果两种分布的平均响应率 90%的置信区间在 0.8 至 1.25 限值内,则两种血浆或血液浓度分布是生物等效的。平均响应包括分布的至少一种特征参数如  $C_{max}$ 、 $T_{max}$  和 AUC。

“ $C_{max}$ ”是对受治疗者施用一定剂量的药物或前体药物后，受治疗者的生物样品中药物的最大浓度。

“ $T_{max}$ ”是对受治疗者施用一定剂量的药物或前体药物后，受治疗者的生物样品中达到最大药物浓度 ( $C_{max}$ ) 的时间。

本文所用的术语“有效量”是指对患者单或多剂量施用后，在进行诊断或治疗的患者中提供所期望效果的化合物量或剂量。作为本领域的技术人员，主治诊断医师通过应用已知的技术和通过观察类似状况下获得的结果，能够容易地确定有效量。在确定化合物施用的有效量或剂量时，主治诊断医师考虑许多因素，包括，但不限于：受治疗者的大小、年龄以及总健康状况；所涉及的特定疾病；疾病的牵涉程度或严重度；个体受治疗者的反应；施用的特定化合物；施用模式；施用制品的生物利用率特征；选定的用药方案；同步药物治疗的使用；以及其他相关情况。

本文所用的术语“3APS 的治疗性生物分布”是指影响 3APS 治疗活性的、一个或多个的 3APS 药物动力学参数。这种药物动力学 (PK) 参数实例包括但不限于：3APS 的生物利用率、3APS 的 AUC、3APS 的大脑水平、3APS 的 CSF 水平、3APS 的  $C_{max}$ 、3APS 的  $T_{max}$ 、和/或 3APS 的生物吸收等。

本文所用的术语“被提高的 (或类似术语，例如提高的、在...中的提高，等) 3APS 治疗有效性”以及“被增强的 (或类似术语，例如，增强的，增强，等) 3APS 治疗有效性”是指提高的 3APS 有效性，例如通过列于上面“3APS 的治疗性生物分布”之下的一个或多个参数测量提高例如 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、125%等，乃至更高，例如，2、或 4 倍，乃至更高 (当对受治疗者例如动物或人类施用时)，这种提高是相对于以水溶液的形式、口服施用等摩尔剂量的 3APS。优选地，相对于以 2005 年 4 月 12 日提交的、USSN 11/103,656 的表 3 制剂口服施用 3APS，这样%提高也可实现。有效性还可以例如根据对疾病如阿尔茨海默病特征的作用 (例如根据大脑中斑或者  $A\beta$  负荷的减少)，或者根据选定疾病表现 (例如记忆丧失、认知、推理、判断、定向等) 的改善来检测，参见 2005 年 4 月 12 日提交的 USSN 11/103,656，详述了如何检测对这种疾

病特征的作用。

术语“减少 3APS 的代谢”（或者相关的术语，如减小、较少、降低的、减少的、被降低的，等）是指 3APS 在胃肠道或肝脏中首过代谢的程度或量减少例如 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、或甚至 100%（通过对受治疗者非口服施用的方式，或用特殊的口服制剂或者以前体药物的形式），这种减少是相对于以水溶液形式口服施用等摩尔剂量 3APS 时所发生的 3APS 代谢的程度或量的。优选地，相对于以 2005 年 4 月 12 日提交的 USSN 11/103,656 的表 3 制剂口服施用 3APS，这样%减少也可实现。

术语“3APS 的副作用减少”是指 3APS 一种或多种副作用的量或严重度减少例如 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、或 99.9%、或甚至 100%，这种减少是相对于以水溶液形式、口服施用等摩尔剂量的 3APS 时所显示的 3APS 副作用量或严重度。优选地，相对于以 2005 年 4 月 12 日提交的 USSN 11/103,656 的表 3 制剂口服施用 3APS，这样%减少也可实现。

更一般地，术语减少等、提高等在本文的上下文中是指百分比的变化，例如，变化 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、125%等，乃至更高，例如 2、或 4 倍，乃至更高。

2005 年 4 月 12 日提交的 USSN 11/103,656 中所有的药物动力学数据都通过引用并入本文，包括实施例 1 和表 3 的数据，例如，用于形成本发明所取得效果的比较基础。

当提及产生“3APS”（例如，从制剂或前体药物中释放）时，包括了所有形式的 3APS，例如其溶剂化物，其离子离解形式，其带电荷形式，等。

“药学上可接受的”是指该术语所描述的药物、药品、惰性成分等，适合用于与人和低等动物的组织相接触，而没有异常毒性、不相容性、不稳定性、刺激性、变态反应等，与合理的利益/风险比率相称。它优选地指联邦或州政府管理机构批准或可批准的、或者在美国药典或其他通常公认的药典中所列出的用于动物和更特别地用于人类的化合物或组合物。

“药学上可接受的载体”是指与化合物一起被施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或载体。

“药物组合物”是指至少一种化合物和至少一种借此将所述化合物施用于患者的药学上可接受的载体。

“预防 (preventing)”或“预防 (prevention)”意图指至少减少获得疾病或病症 (即, 引起至少一种在患者中尚未发展的疾病临床症状, 该患者可能被暴露于或易患该疾病, 但是尚未经历或表现该疾病的症状) 的风险可能性 (易感性)。

任何疾病或病症的“治疗 (treating)”或“治疗 (treatment)”是指, 在一些实施方案中, 改善至少一种疾病或病症 (即, 停止或减少疾病或其至少一种临床症状的发展)。在某些实施方案中, 治疗 (treating)”或“治疗 (treatment) 是指改善至少一种可以是或者可不是患者可分辨的物理参数。在某些实施方案中, 治疗 (treating)”或“治疗 (treatment) 是指物理上 (例如, 可分辨症状的稳定)、生理上 (物理参数的稳定)、或者两者地抑制疾病或病症。某些实施方案中, 治疗 (treating)”或“治疗 (treatment) 是指推迟疾病或病症的发作。术语“治疗”是指在治疗或改善损伤、病理或病状中成功的任何指标, 包括任何客观的或主观的参数, 诸如减轻; 缓解; 减少症状或者使受治疗者更耐受损伤、病理学或病状; 减缓退化或衰退的速度; 使退化的终点削弱性更小; 改善受治疗者的身体或精神的状态; 或者在一些情况下, 预防痴呆的发作。症状的治疗或改善可以基于客观的或主观的参数; 包括体检、精神学评价、或者认知检验如 CDR、MMSE、DAD、ADAS-Cog 或本领域已知的另一种检验。例如, 通过延缓认知衰退速度或减少其程度, 本发明的方法成功地治疗受治疗者的痴呆。

“治疗上有效量”表示为了治疗或预防疾病对患者施用, 足以影响这种疾病治疗或预防的化合物的量。“治疗上有效量”可以改变, 取决于化合物, 疾病及其严重度, 和待治疗或预防疾病患者的年龄、体重等。

现在将具体参考化合物和方法的某些实施方案。所公开的实施方案意图不是限制本发明。

在另一方面, 本发明包括 3APS 的施用, 它不经由透皮贴剂, 或不通

过以组合物例如洗剂、乳膏、溶液、凝胶或固体形式而局部施用，或不通过皮下、静脉下或腹腔内注射，或者不是脊柱内，或大脑内地。

## II. 本发明的化合物

本发明涉及用于在受治疗者，优选人类受治疗者中，递送 3-氨基-1-丙磺酸或其盐（本文也称作 3APS）的方法、化合物和组合物。本发明包括在体外或体内产生或者生成 3APS 的化合物。

在优选的实施方案中，本发明化合物包括一旦在人类中施用将产生或者生成 3APS 的前体药物。不希望被理论所束缚，在一些方面，根据本发明的前体药物包含被共价但可分离地（例如通过下面的键合 L）连接至 3APS 的“药物动力学调节部分”（例如下面的 B），一旦在血液、血浆或其他特定组织（例如，大脑）中它会被裂解，从而释放 3APS。

因此，一方面，本发明涉及式 I 化合物及其药学上可接受的盐、代谢物和溶剂化物：



其中：

B 是药物动力学调节部分，其任选地也直接或者通过另外的连接基团 L 间接结合至 A；

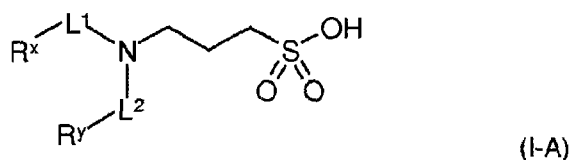
A 是 3-氨基-1-丙磺酸部分（即被结合至 L-B 的 3APS），以及

L 是可裂解型键合，用于共价地且可分离地将 B 偶联至 A（优选并通常经由  $\text{NH}_2$  基团），或者不存在，借此 L 可以是直接的键或者提供可裂解型键合的另外化学结构。

适合的药物动力学调节部分（例如 B）的部分包括氨基酸或肽部分，氨基甲酸酯部分，非氨基酸酰胺部分，糖类衍生部分及类似物如肌醇衍生部分，N-羟基及其衍生物（例如，其中，OH 中的 H 被 OH 保护基置换）。B 还可包含环状双重保护的 3APS 分子和前体（例如，其中部分连接 3APS 的  $\text{NH}_2$  和  $\text{SO}_3\text{H}$ ，例如亚磺酸，硫醇，硫化物，二硫化物等）及其组合。更一般地，B 部分包括 N-保护基。B 还可以本身是 3APS 分子（参见季二聚体）。

适合的键合 L 可以是如本文所述例如被本文所提到的酶或血液、血浆和或脑细胞中其他酶在体外或体内裂解的任何一种。键合通常包含已知可如此裂解的键，诸如但不限于肽，酰胺，酯，硫化物，二硫化物，氨基甲酸酯 (carboxamate)，脲，-N-O-等的键，以及在本文所公开结构中示例性说明的其他键，所有这些都适于作为通常化合物中的键合，L。使用本领域熟知的水解的、酶促的（例如，肽酶、脂酶）或基于代谢的检测和检验，可在体外和/或体内评估连接体 (linker) 的实际裂解性。由于描述了可用于本发明的各种连接体，国际 PCT 申请 WO 91/14434、公开的申请 US 2005/0096317、US 2006/0046967 以及与本发明同时提交的临时申请 US 60/xxx,xxx 全部通过引用并入本文。

另一方面，本发明涉及式 I-A（及其盐、酯和溶剂化物）



其中，

$R^x$  和  $R^y$  独立地选自氢和保护基，其中  $R^x$  和  $R^y$  不都是氢；以及

$L^1$  和  $L^2$  各自为一种可裂解型键合；其中，当  $R^x$  是 H 时， $L^1$  不存在，以及当  $R^y$  是 H 时， $L^2$  不存在。

术语“保护基团”是指抑制和减少 3APS 中的氨基的代谢的基团。保护基团的实例非限制性地包括，氨基酸残基，氨基甲酸酯，非氨基酸酰胺，糖类衍生的残基，N-羟基-衍生的残基，环状双重保护基，及类似物。

根据优选的实施方案，本发明的化合物显示许多有利的性质。在一种实施方案中，化合物是一种绕过与 3APS 本身施用相关的肝和/或消化道（例如肠 (gut)，胃，肠 (intestine)）首过代谢的前体药物，由此提高相比于施用等摩尔 3APS 本身的 3APS 的生物分布和/或生物利用率。绕过肝的首过代谢改进、改善或提高 3APS 的药物动力学参数诸如 3APS 的 AUC、 $C_{max}$  和/或  $T_{max}$ 。在一种实施方案中，化合物是一种显示出相比于施用等摩尔 3APS 本身，提高了胃肠道吸收的前体药物。在一种实施方案中，化合物是



提供 3APS 随时间缓慢释放的前体药物。在另一种实施方案中，化合物是一种相比于施用等摩尔 3APS 本身时，提高 3APS 的大脑水平的前体药物。在另一种实施方案中，化合物是一种减少与施用 3APS 本身相关的副作用的前体药物。例如，在优选的实施方案中，前体药物显示比 3APS 更佳的胃肠道耐受性。

在优选的实施方案中，本发明的化合物和/或组合物取得了如下益处的一种或多种：(1) 减少对患者施用 3APS 的摩尔剂量（例如，因为当相比于 3APS 时改善了吸收，或者因为 3APS 首过代谢减少）；(2) 避免了与口服施用 3APS 相关的、常见的副作用如胃肠道刺激；(3) 改善 3APS 穿越 BBB；(4) 减少与 3APS 相关的副作用（例如，通过减少胃肠的问题或者通过提高 3APS 到达大脑的相对数量）；(5) 提高 3APS 在目的组织或流体（例如，大脑，CSF）中的浓度或水平。对于本领域的技术人员而言，其他的益处是显然的。

本发明涉及本发明化合物的盐形式以及酸/碱形式。例如，本发明不仅涉及本文所示作为盐的化合物的特定盐形式，而且本发明还包括其他药学上可接受的化合物的盐、以及酸和/或碱形式。本发明还涉及如本文所示化合物的盐形式。本发明的化合物还表示于下面的表 1、表 2、表 3、表 4 和表 4B 中。

本发明的化合物可显示多晶现象。根据本发明，化合物的多晶型物可通过不同条件下结晶而制备。例如，使用不同的溶剂或不同的溶剂混合物重结晶；在不同的温度下结晶；在结晶过程中从非常快到非常慢冷却的各种冷却模式。多晶型物还可通过在加热或熔化前体药物后逐渐或快速冷却获得。多晶型物的存在可以通过固体探针 NMR 光谱法、IR 光谱法、差热扫描热法、粉末 X 射线衍射或其他这类技术来测定。

本发明的化合物还可以溶剂化物的形式而存在，例如，水合物，乙醇化物，正丙醇化物（*n*-propanalate），异丙醇化物，1-丁醇化物，2-丁醇化物，以及其他生理学上可接受的溶剂的溶剂化物，诸如在 *国际协调会议 (ICH) 产业指南, Q3C 杂质: 残留溶剂 (1997)* 中所描述的第 3 类溶剂化物。本发明包括了每一种溶剂及其混合物。

根据本发明，前体药物的氨基酸或肽部分、氨基甲酸酯部分、非氨基酸酰胺部分、糖类衍生的部分和类似物（例如肌醇衍生的、N-羟基部分及衍生物）或者任何其他药物动力学调节部分，包括环状双重保护 3APS 及前体（例如，亚磺酸，硫醇，硫化物，二硫化物，等），以及其组合，在胃肠道吸收前（例如，在胃或肠内腔内）和/或在胃肠道吸收后（例如，在哺乳动物肠组织、血液、肝脏、或其他合适组织中），是可被裂解的。在某些实施方案中，在载运穿过肠粘膜屏障的过程中，3APS 仍然是共价地连接至药物动力学调节部分以提供防止体循环前（presystemic）代谢的保护。在某些实施方案中，根据本发明，药物动力学调节部分在肠或肝的细胞（例如，肠细胞，肝细胞）内基本上不被代谢为相应的 3APS，但是一旦在体循环内就生成母体 3APS 分子。在某些实施方案中，只有一旦在大脑内，即在它已通过血脑屏障（BBB）之后，至少一些被施用的前体药物生成相应的 3APS。根据本发明，在胃肠道吸收后，前体药物药物动力学调节部分的裂解可使这些前体药物通过主动转运、被动扩散、或者通过主动和被动过程的组合而被吸收至体循环。因此，在某些实施方案中，在对患者口服施用包含根据本发明的相应化合物和药学上可接受的载体的药物组合物、制剂或剂型之后，本发明的药物组合物、制剂或剂型能够在患者血浆或血液中维持 3APS 的治疗有效浓度至少 1 小时，至少 2 小时，至少 3 小时，至少 4 小时，至少约 8 小时，至少约 12 小时，至少约 16 小时，至少约 20 小时，而且在有些实施方案中，至少约 24 小时的时间段。在有些实施方案中，本发明的药物组合物、制剂或剂型能够提高 3APS 的  $T_{max}$  至少 2 倍，或者至少 3、4、5、6、7、8、9 或 10 倍或更多。

根据本发明的某些化合物的药物动力学调节部分可以被化学地和/或酶促地裂解。在哺乳动物的胃、肠内腔、肠组织、血液、肝、大脑或者其他任何适合组织内存在一种或多种酶，可酶促地裂解化合物的氨基酸或肽的部分。如果药物动力学调节部分在被胃肠道吸收后裂解，那么根据本发明的某些化合物可能有机会从大肠被吸收到体循环。在某些实施方案中，药物动力学调节部分在被胃肠道吸收后或在穿过 BBB 后裂解。

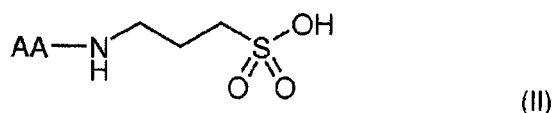
尽管本文讨论了特定的化学结构，包括化合物的所有的一般结构式和

特定名称和式的运行原理，但除另外的特别说明外，本发明不受限于任何这类的原理。因此，本发明包括了所有新型化合物的全部用途，不考虑运行的机理或原理。

### II-A. 氨基酸前体药物

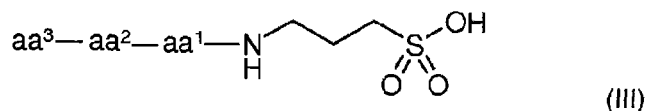
在一种优选的实施方案中，本发明的化合物是一旦被施用在人体中将会产生或生成 3APS 的氨基酸前体药物。优选的前体药物包括通过酰胺键被连接至 3APS 氨基的氨基酸残基。氨基酸残基可以在体内被酶如肽酶、或者通过任何其他机理裂解，以释放 3APS 的胺基。

更具体地，本发明的一个方面涉及式 (II) 化合物，及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物：



其中，AA 是天然或非天然氨基酸残基，或者含有 2、3 个或更多天然或非天然氨基酸残基的肽。

本发明的其他方面涉及式 (III) 化合物，及其药学上可接受的盐或溶剂化物：

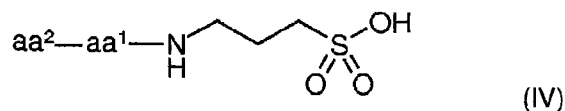


其中：

$\text{aa}^1$  是天然或非天然氨基酸残基；

$\text{aa}^2$  和  $\text{aa}^3$  各自独立地为天然或非天然氨基酸残基，或者不存在。

本发明的进一步方面涉及式 (IV) 化合物，及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物：

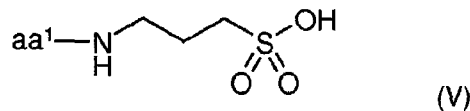


其中：

$\text{aa}^1$  是天然或非天然氨基酸残基；

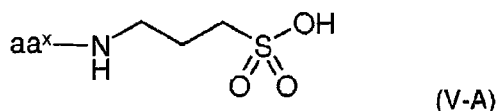
$aa^2$  是天然或非天然氨基酸残基，或者不存在。

本发明更进一步方面涉及式 (V) 化合物，及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物：



其中  $aa^1$  是天然或非天然氨基酸残基。

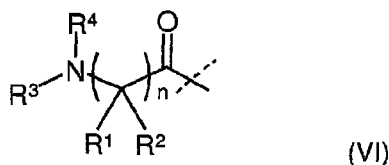
本发明另外涉及式 (V-A) 化合物，及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物：



其中  $aa^x$  是选自缬氨酸、脯氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、D-甲硫氨酸、丝氨酸、丙氨酸、D-丙氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、组氨酸、氨基异丁酸、苯基甘氨酸、色氨酸、酪氨酸、O-苄基丝氨酸、O-苄基谷氨酰胺和  $\gamma$ -氨基丁酸的氨基酸残基。

在优选的实施方案中， $aa^x$  是选自缬氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸和 O-苄基丝氨酸的氨基酸残基，或者其药学上可接受的盐或溶剂化物。

在一种实施方案中，氨基酸残基是经由酸末端偶联的 (C-偶联的)。在一种实施方案中，氨基酸残基是天然氨基酸残基，或者其盐或酯。在另一种实施方案中，氨基酸残基是非天然氨基酸残基，或者其盐或酯。在另一种实施方案中，氨基酸残基不是苯丙氨酸，例如在单个氨基被连接至 N 原子的情况下，在任何其他情况下也同理。在另一种实施方案中，式 II、式 III、式 IV、式 V、或式 V-A 的天然或非天然氨基酸残基任选地用式 (VI) 表示：



其中：

$R^1$  和  $R^2$  各自独立地选自由 H 和选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基、 $NH(C_1$ - $C_6$

烷基)、 $N(C_1-C_6\text{烷基})_2$ 和 $C(O)(C_1-C_6\text{烷基})$ 的取代或未取代的基团所组成的组;或者, $R^1$ 和 $R^2$ 与相邻碳原子一起形成取代的或未取代的 $C_3-C_{12}$ 杂环烷基;

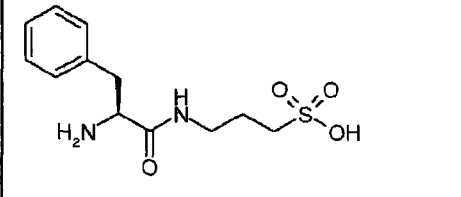
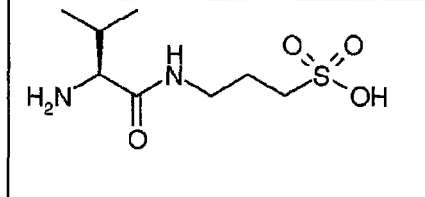
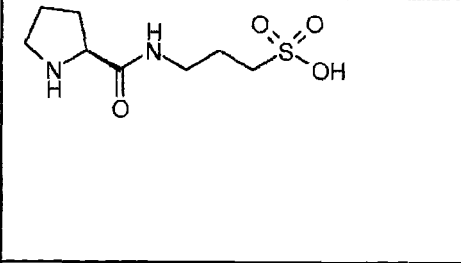
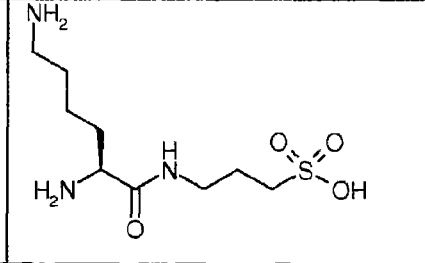
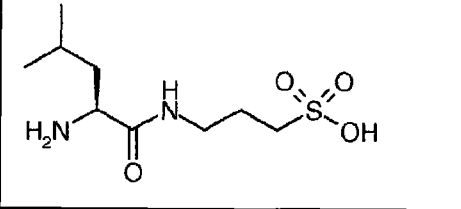
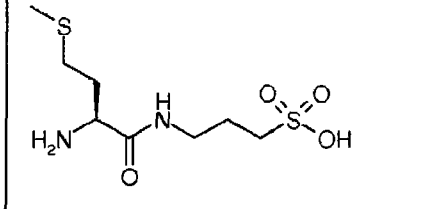
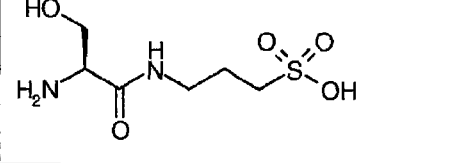
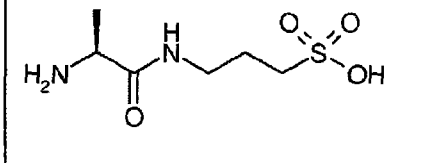
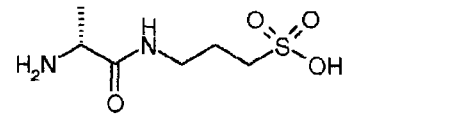
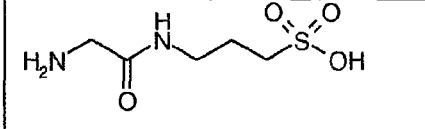
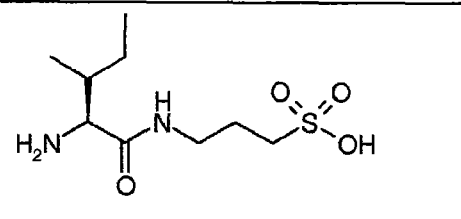
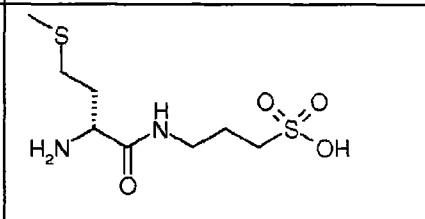
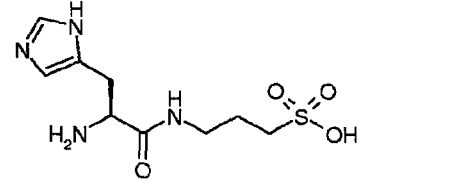
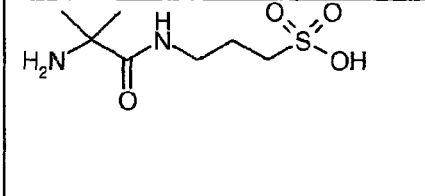
$R^3$ 选自由H和选自 $C_1-C_{12}$ 烷基、 $C_2-C_{12}$ 烯基、 $C_2-C_{12}$ 炔基、 $C_3-C_{15}$ 环烷基、 $C_3-C_{15}$ 杂环烷基、 $C_6-C_{15}$ 芳基、 $C_5-C_{15}$ 杂芳基、 $C(O)(C_1-C_6\text{烷基})$ 和 $C(O)(C_6-C_{10}\text{芳基})$ 的取代或未取代的基团所组成的组;或者当至少两个氨基酸残基存在时, $R^3$ 是在两个氨基酸残基间的键;

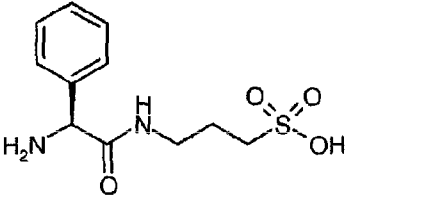
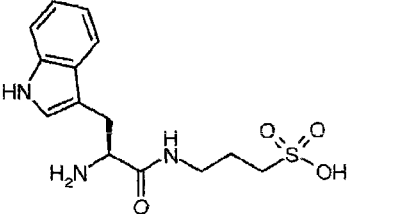
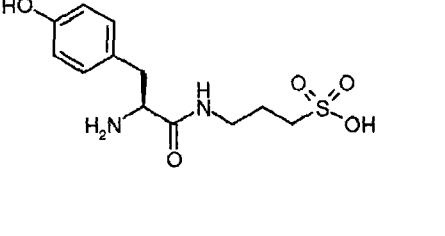
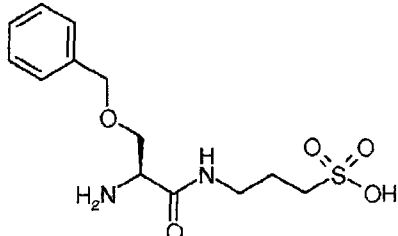
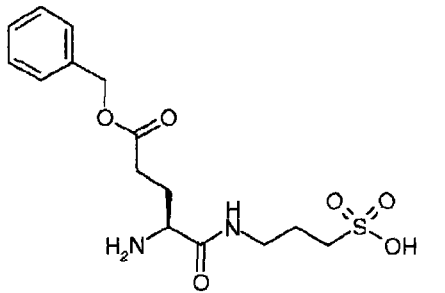
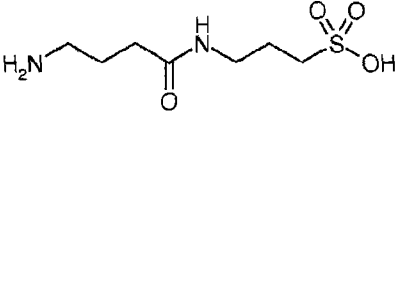
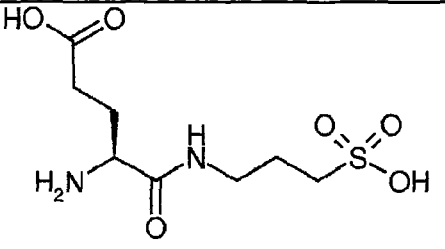
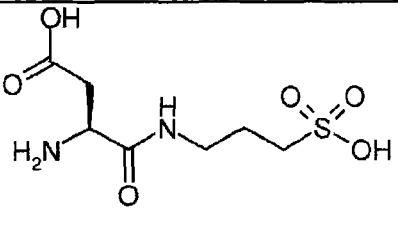
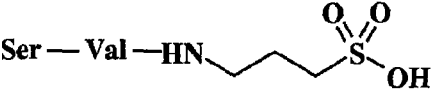
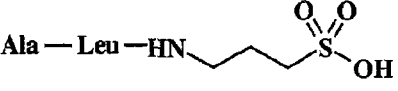
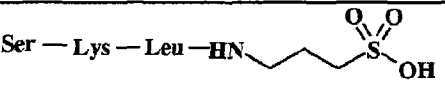
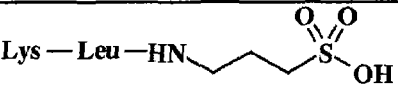
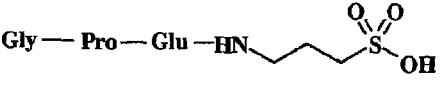
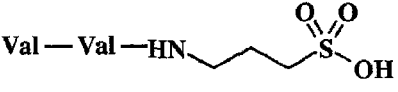
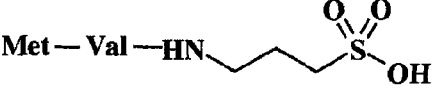
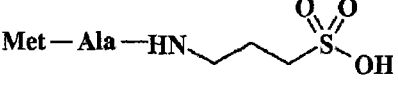
$R^4$ 选自由H和选自 $C_1-C_6$ 烷基、 $C_2-C_6$ 烯基、 $C_2-C_6$ 炔基的取代或未取代的基团所组成的组;或者 $R^1$ 和 $R^4$ 与相邻碳和氮原子一起形成 $C_3-C_{10}$ 杂环烷基;以及n是1、2或3,或者更大的数。


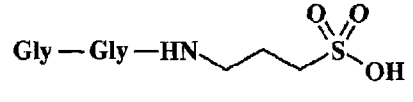

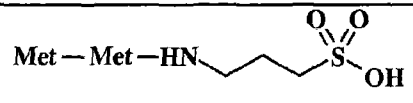
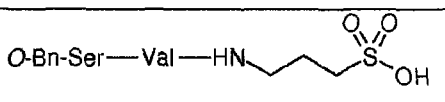
在一种实施方案中,本发明的化合物包含式VI的氨基酸残基,其中 $R^2$ 是H,并且所有其他的基团如前所述。在另一种实施方案中,本发明的化合物包含式VI的氨基酸残基,其中 $R^2$ 和 $R^3$ 各自为H,并且所有其他的基团如前所述。在另一种实施方案中,本发明的化合物包含式VI的氨基酸残基,其中,当 $R^2$ 和 $R^3$ 各自为H时,那么 $R^1$ 不是芳基取代的 $C_1$ 烷基。在另一种实施方案中,本发明的化合物包含式VI的氨基酸残基,其中,当 $R^2$ 和 $R^3$ 各自为H时,那么 $R^1$ 不是 $-CH_2$ 芳基基团。在另一种实施方案中,本发明的化合物包含式VI的氨基酸残基,其中,当 $R^2$ 是H而且 $R^3$ 是H或键时,那么 $R^1$ 不是 $-CH_2$ 苯基基团。在另一种实施方案中,本发明提供了式V化合物,条件为 $aa^1$ 不是苯丙氨酸。在另一种实施方案中,本发明提供了式IV化合物,条件为 $aa^1$ 和 $aa^2$ 不都是D-苯丙氨酸。在另一种实施方案中,本发明提供了式IV化合物,条件为 $aa^1$ 和 $aa^2$ 不都是L-苯丙氨酸。在另一种实施方案中,本发明提供了式IV化合物,条件为当 $aa^1$ 和 $aa^2$ 中一个是D-苯丙氨酸时,那么另一个不是D-苯丙氨酸或D-酪氨酸。在另外一种实施方案中,本发明提供了式IV化合物,条件为当 $aa^1$ 和 $aa^2$ 中一个是L-苯丙氨酸时,那么另一个不是D-苯丙氨酸或者L或D-酪氨酸。

表 1: 根据本发明的示例性氨基酸前体药物

ID	结构	ID	结构

<b>A1</b>	 <chem>NC(=O)C(c1ccccc1)NCCS(=O)(=O)O</chem>	<b>A2</b>	 <chem>NC(=O)C(C)C(C)NCCS(=O)(=O)O</chem>
<b>A3</b>	 <chem>NC(=O)C1CCCN1NCCS(=O)(=O)O</chem>	<b>A4</b>	 <chem>NC(=O)C(CCN)NCCS(=O)(=O)O</chem>
<b>A5</b>	 <chem>NC(=O)C(C)C(C)CNCCS(=O)(=O)O</chem>	<b>A6</b>	 <chem>NC(=O)C(C)CSNCCS(=O)(=O)O</chem>
<b>A7</b>	 <chem>NC(=O)C(C)OCCNCCS(=O)(=O)O</chem>	<b>A8</b>	 <chem>NC(=O)C(C)CCNCCS(=O)(=O)O</chem>
<b>A9</b>	 <chem>NC(=O)C(C)CCNCCS(=O)(=O)O</chem>	<b>A10</b>	 <chem>NC(=O)CCNCCS(=O)(=O)O</chem>
<b>A11</b>	 <chem>NC(=O)C(C)C(C)CNCCS(=O)(=O)O</chem>	<b>A12</b>	 <chem>NC(=O)C(C)CSNCCS(=O)(=O)O</chem>
<b>A13</b>	 <chem>NC(=O)C(C)CN1C=NC=C1NCCS(=O)(=O)O</chem>	<b>A14</b>	 <chem>NC(=O)C(C)(C)CNCCS(=O)(=O)O</chem>

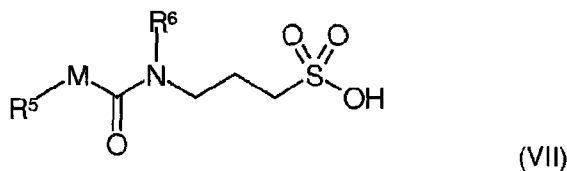
<b>A15</b>		<b>A16</b>	
<b>A17</b>		<b>A18</b>	
<b>A19</b>		<b>A20</b>	
<b>A21</b>		<b>A22</b>	
<b>A23</b>		<b>A24</b>	
<b>A25</b>		<b>A26</b>	
<b>A27</b>		<b>A28</b>	
<b>A29</b>		<b>A30</b>	

<b>A31</b>		<b>A32</b>	
<b>A33</b>		<b>A34</b>	
<b>A35</b>			

优选的根据本发明的氨基酸前体药物为化合物 A2、A4、A6、A7 和 A18 (如上述所述), 及其药学上可接受的盐和溶剂化物。

### II-B. 氨基甲酸酯、非氨基酸酰胺及相关的前体药物

本发明的某些方面涉及式 (VII) 化合物, 及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物:



其中,

$\text{R}^5$  是选自  $\text{C}_1$ - $\text{C}_{12}$  烷基、 $\text{C}_2$ - $\text{C}_{12}$  烯基、 $\text{C}_2$ - $\text{C}_{12}$  炔基、 $\text{C}_3$ - $\text{C}_{15}$  环烷基、 $\text{C}_3$ - $\text{C}_{15}$  杂环烷基、 $\text{C}_6$ - $\text{C}_{15}$  芳基、 $\text{C}_5$ - $\text{C}_{15}$  杂芳基、 $\text{NH}(\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  烷基)、 $\text{N}(\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  烷基)<sub>2</sub>、或  $\text{C}(\text{O})(\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  烷基) 的取代或未取代的基团;

$\text{R}^6$  是氢或者选自  $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  烷基)、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  烷基)<sub>2</sub>、或  $\text{C}(\text{O})(\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  烷基) 的取代或未取代的基团; 或者  $\text{R}^5$  和  $\text{R}^6$  与相邻的碳原子一起形成取代的或未取代的  $\text{C}_3$ - $\text{C}_{12}$  杂环烷基;

$\text{M}$  是选自由氧、硫和氮 ( $\text{NH}$  或  $\text{N}(\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  烷基)) 所组成的组, 或者不存在。

本发明涉及本发明化合物的盐形式和酸/碱形式。例如, 本发明不仅涉及本文所示为盐的化合物的特定盐形式, 而且本发明还包括该化合物其他药学上可接受的盐, 以及酸和/或碱形式。本发明还涉及本文所示的化合物盐形式。



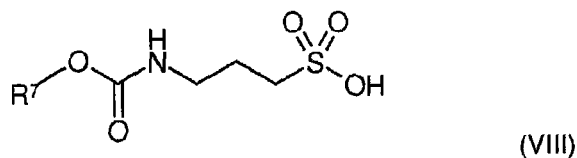
在一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中,当 M 不存在而且 R<sup>6</sup> 是 H 时,那么 R<sup>5</sup> 不是 1-(4-异丁基苯基)乙基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中,当 R<sup>6</sup> 为 H 而且 M 是 NH 或不存在时,那么 R<sup>5</sup> 不是 1-(4-异丁基苯基)乙基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中,当 R<sup>6</sup> 是 H 而且 M 是 NH 时,那么 R<sup>5</sup> 不是苄基、二苯甲基、己基、十二烷基、金刚烷基和叔丁基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中,当 R<sup>6</sup> 是 H 而且 M 是 NH 时,那么 R<sup>5</sup> 不是氢、1,4-二氢-5,6-二甲基-4-氧-2-嘧啶基、和 5-乙氧羰基-1-戊基 (penthyl)。在另一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中,当 M 是 NH 且 R<sup>5</sup> 和 R<sup>6</sup> 与相邻碳原子一起形成取代的或未取代的 C<sub>3-12</sub> 杂环烷基时,那么该杂环烷基不是苯并咪唑-2-酮、四氢-2,4,6-三氧-1,3,5-三嗪、2,4-二氧-1-咪唑烷、2,4-二氧-(二或四氢)-苯并[g]蝶啶、4,10-二氢-10-甲基-2,4-二氧代嘧啶并[4,5b]喹啉、2-氧-1-咪唑烷基、以及 3,4-二氢-2,4-二氧-1 (2H) 嘧啶。在另一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中,当 M 是 NH 时,那么 R<sup>5</sup> 和 R<sup>6</sup> 未与相邻的碳原子一起形成取代的或未取代的 C<sub>3-12</sub> 杂环烷基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中当 R<sup>6</sup> 是 H 而且 M 是 O 时,那么 R<sup>5</sup> 不是叔丁基和苄基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中,当 R<sup>6</sup> 是 H 和 M 是 O 时,那么 R<sup>5</sup> 不是异丁基和 9H-芴-9-基甲基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中,当 R<sup>6</sup> 是 H 而 M 是不存在时,那么 R<sup>5</sup> 不是苄基、苯基、3-吡啶基、3-N-甲基吡啶盐、甲基、三氟甲基、五氟乙基、五氟苯基、和叔丁基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 VII 化合物,其中,当 R<sup>6</sup> 是 H 而且 M 不存在时,那么 R<sup>5</sup> 不是正丁基、异丁基、正丙基、异丙基、乙烯基、2-丙烯基、2-(1-癸烯基)、2-(1-十二烯基)、1-(8-十一烯基)、辛烷基、癸烷基、十一烷基、十三烷基、十五烷基、十七烷基、4-(N-氧-2,2,6,6-四甲哌啶基)、5-(1,3-二氢-1,3-二氧-2-苯并咪唑基)、4-硝基苯基、和 3-苯氧基苯基。

#### a) 氨基甲酸酯前体药物

在一些优选的实施方案中,本发明的化合物是一旦在人类中施用将产生或者生成 3APS 的氨基甲酸酯前体药物。优选的前体药物包括经由氨基甲酸酯键(-OC(O)-NH-)连接至 3APS 的胺基团的氧羰基残基(OC(O)-)。胺残基可以在体内被酶或通过任何其他机理(包括水解)所裂解,以释放 3APSA

的胺基。在一种优选的实施方案中，本发明的化合物是一旦在人中施用就会产生或生成 3APS 的氨基甲酸酯前体药物。

更具体地，本发明的某些方面涉及式 (VIII) 化合物，及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物：



其中，

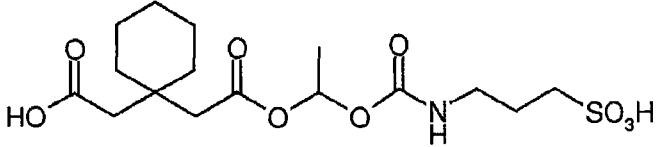
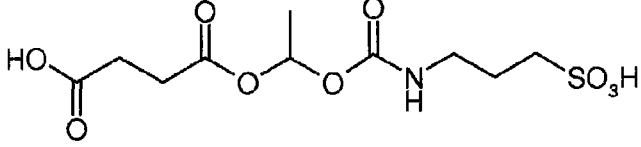
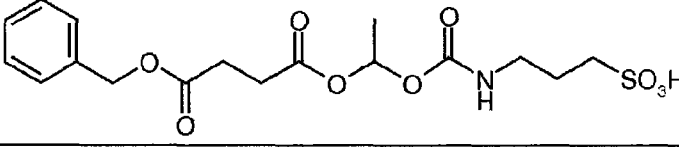
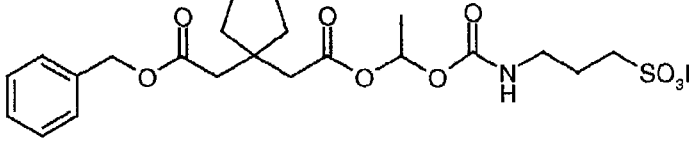
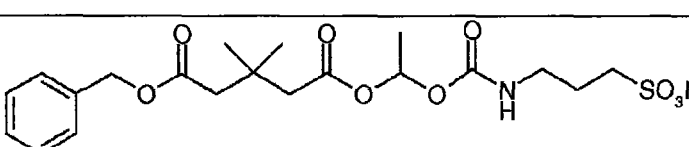
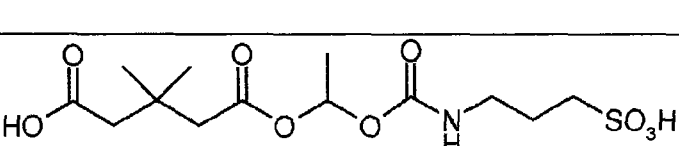
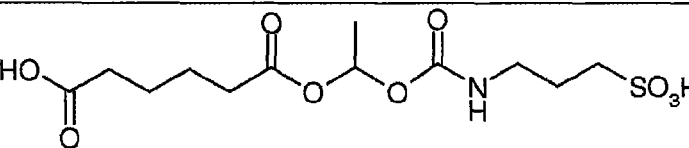
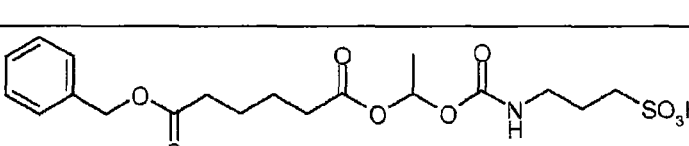
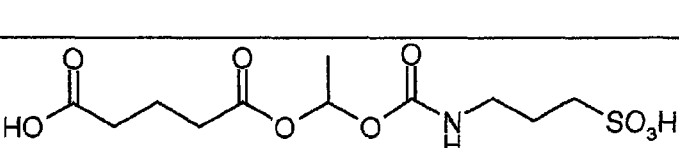
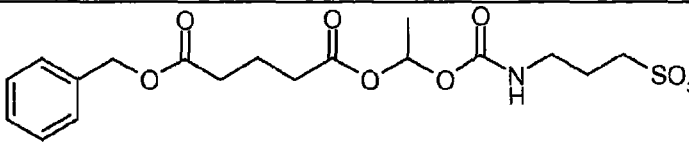
$R^7$  是选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基、 $C_7$ - $C_{12}$  芳烷基、 $C_7$ - $C_{12}$  杂芳烷基、及其组合的取代或未取代的基团，。

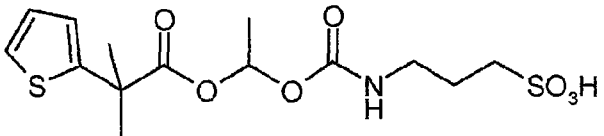
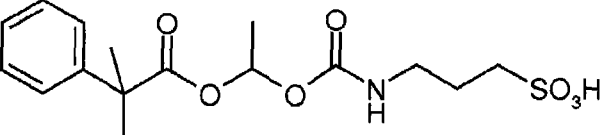
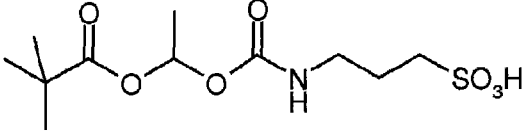
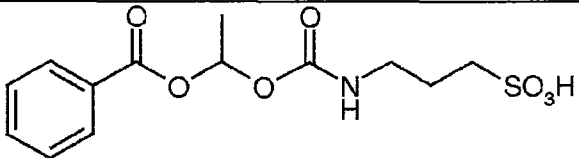
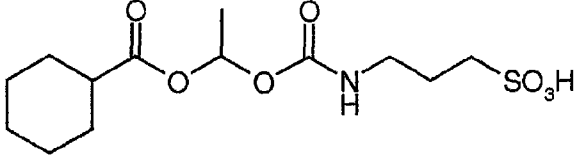
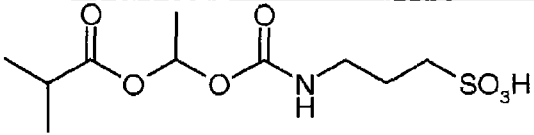
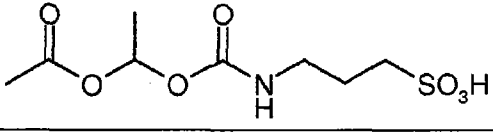
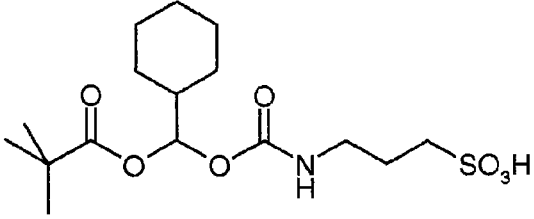
在一种实施方案中， $R^7$  定义为取代的或未取代的 1-(烷羧基)烷基基团。在另一种实施方案中， $R^7$  是取代的或未取代的苄基基团。在另一种实施方案中， $R^7$  是取代的或未取代的杂环烷基亚甲基基团。在另一种实施方案中，本发明提供了式 VIII 化合物，条件为  $R^7$  不是叔丁基或苄基。在另一种实施方案中，本发明提供了式 VIII 化合物，条件为  $R^7$  不是异丁基或 9H-芴-9-基甲基。

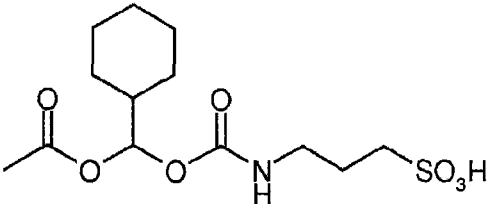
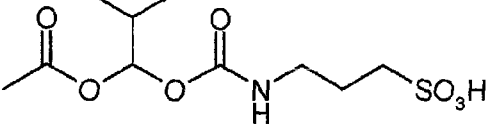
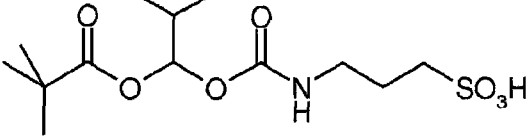
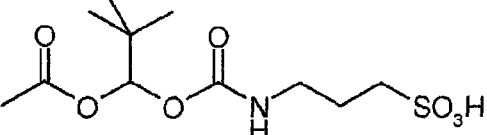
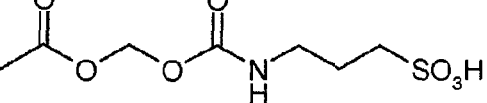
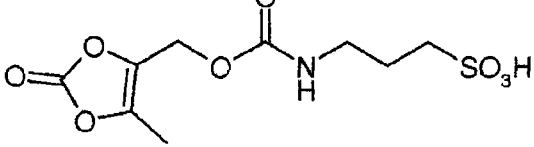
本发明涉及本发明化合物的盐形式和酸/碱形式。例如，本发明不仅涉及本文所示为盐的化合物的特定盐形式，本发明还包括化合物的其他药学上可接受的盐、以及酸和/或碱形式。本发明还涉及如本文所示的化合物盐形式。本发明化合物还示于下面表 2 中。

表 2: 根据本发明的示例性氨基甲酸酯

ID	结构
C1	
C2	

C3	
C4	
C5	
C6	
C7	
C8	
C9	
C10	
C11	
C12	

C13	
C14	
C15	
C16	
C17	
C18	
C19	
C20	

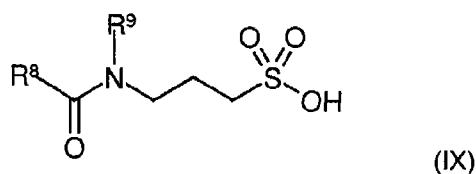
C21	
C22	
C23	
C24	
C25	
C26	

#### b) 非氨基酸酰胺前体药物

在一些实施方案中，本发明化合物是一旦对人施用将会产生或生成 3APS 的非氨基酸酰胺前体药物。优选的前体药物包括经由酰胺键连接至 3APS 的胺基团的含羰基的残基。含羰基的残基在体内可被酶或者被任何其他机理裂解，以释放 3APS 的胺基团。

优选的前体药物包括经由酰胺键连接至 3APS 的胺基团的含羰基的残基，而且这种含羰基的基团具有诸如羧酸或醇的亲核体，能够内部裂解酰胺键。氨基酸残基可在体内被酶或被任何其他机理裂解，以释放 3APS 的胺基团。

更具体地，本发明某些方面涉及式 (IX) 化合物，及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物：



其中,

$R^8$  是选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基的取代或未取代的基团; 以及

$R^9$  是氢或者取代的或未取代的  $C(O)(C_1$ - $C_6$  烷基)、 $C(O)NH_2$ 、 $C(O)NH(C_1$ - $C_6$  烷基)或  $C(O)N(C_1$ - $C_6$  烷基) $_2$ ; 或者  $R^8$  和  $R^9$  与相邻碳原子一起形成取代的或未取代的  $C_3$ - $C_{12}$  杂环烷基。

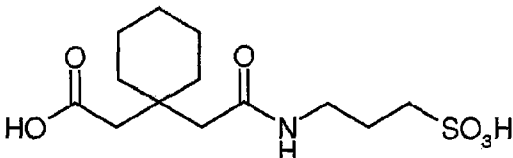
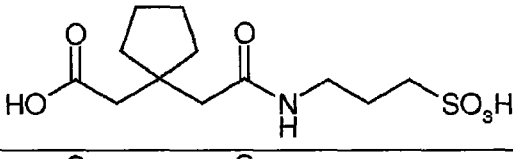
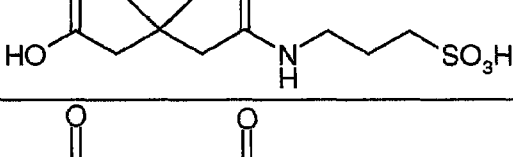
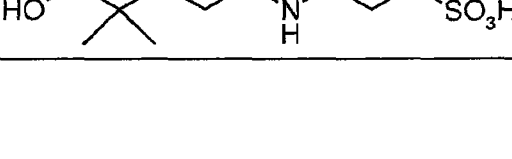
在一种实施方案中,  $R^8$  是取代的  $C_1$ - $C_{12}$  烷基。在另一种实施方案中,  $R^8$  是被选自羟基羰基、烷氧羰基、烷羰氧基、取代或未取代的 2-羟基苯基、取代或未取代的 2-烷羰氧苯基或其组合的取代基所取代的  $C_1$ - $C_{12}$  烷基。在另一实施方案中,  $R^8$  是取代的或未取代的苄基基团。在另一种实施方案中,  $R^8$  选自表 3 中所描述的基团。

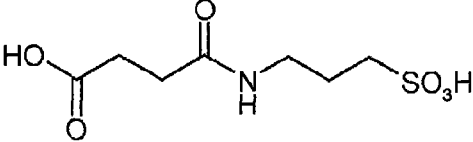
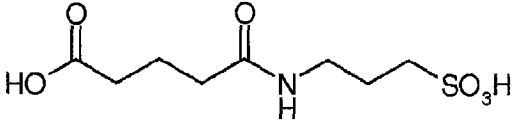
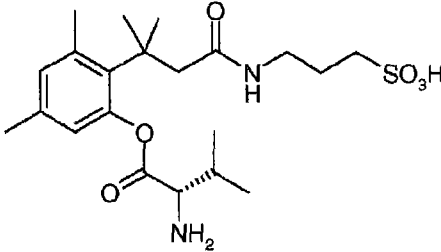
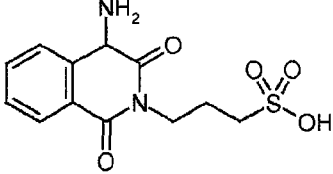
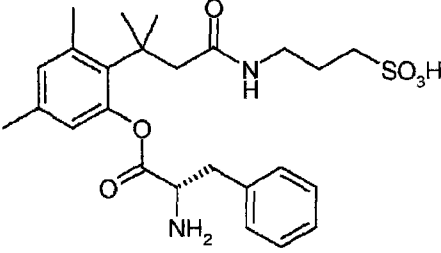
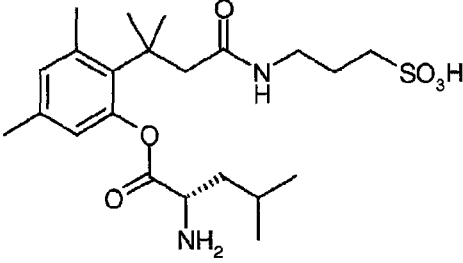
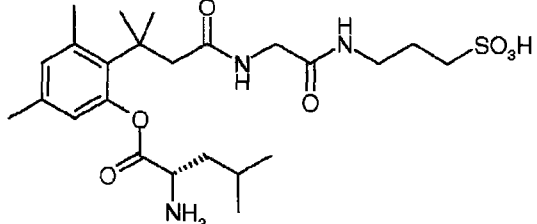
在一种实施方案中, 本发明的化合物是式 IX 化合物, 其中  $R^9$  是 H。在另一种实施方案中, 本发明的化合物是式 IX 化合物, 其中  $R^8$  和  $R^9$  与相邻碳原子一起形成取代的或未取代的  $C_3$ - $C_{12}$  杂环烷基。在另一种实施方案中, 本发明的化合物是式 IX 化合物, 其中  $R^8$  和  $R^9$  与相邻的碳原子一起形成取代的或未取代的邻苯二甲酰亚胺。在另一种实施方案中, 本发明的化合物是式 IX 化合物, 其中  $R^8$  和  $R^9$  与相邻的碳原子一起形成取代的或未取代的  $C_3$ - $C_{12}$  杂环烷基, 其中所述的杂环不是邻苯二甲酰亚胺。在另一种实施方案中, 本发明提供了式 IX 化合物, 其中, 当  $R^9$  是 H 时, 那么  $R^8$  不是苄基、苯基、3-吡啶基、3-N-甲基吡啶盐、甲基、三氟甲基、五氟乙基、三氟苯基、以及叔丁基。在另一种实施方案中, 本发明提供了式 IX 化合物, 其中, 当  $R^9$  是 H 时, 那么  $R^8$  不是正丁基、异丁基、正丙基、异丙基、乙烯基、2-丙烯基、2-(1-癸烯基)、2-(1-十二烯基)、1-(8-十一烯基)、辛烷基、癸烷基、十一烷基、十三烷基、十五烷基、十七烷基、4-(N-氧-2,2,6,6-四甲基哌啶基)、5-(1,3-二氢-1,3-二氧-2-苯并咪唑基)、4-硝基苯基、以及 3-苯氧苯基。在另一种实施方案中, 本发明提供了式 IX 化合物, 其中,  $R^8$  选自正丁基、异丁基、正丙基、异丙基、乙烯基、2-丙烯基、2-(1-癸烯基)、

2-(1-十二烯基)、1-(8-十一烯基)、辛烷基、癸烷基、十一烷基、十三烷基、十五烷基、十七烷基、4-(N-氧-2,2,6,6-四甲基哌啶基)、5-(1,3-二氢-1,3-二氧-2-苯并呋喃基)、4-硝基苯基、和3-苯氧苯基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 IX 化合物,其中,当  $R^9$  是 H 时,那么  $R^8C(O)$  不是 24-氧代胆甾烷-24-基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 IX 化合物,其中,当  $R^9$  是 H 时,那么  $R^8C(O)$  不是(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ )-3-羟基-24-氧代胆甾烷-24-基、(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,12 $\alpha$ )-3,12-二羟基-24-氧代胆甾烷-24-基、(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ )-3,7-二羟基-24-氧代胆甾烷-24-基、或(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ )-3,7,12-三羟基-24-氧代胆甾烷-24-基。在另一种实施方案中,本发明提供了式 IX 化合物,其中, $R^8C(O)$  选自(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ )-3-羟基-24-氧代胆甾烷-24-基、(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,12 $\alpha$ )-3,12-二羟基-24-氧代胆甾烷-24-基、(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ )-3,7-二羟基-24-氧代胆甾烷-24-基、和(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ )-3,7,12-羟基-24-氧代胆甾烷-24-基。

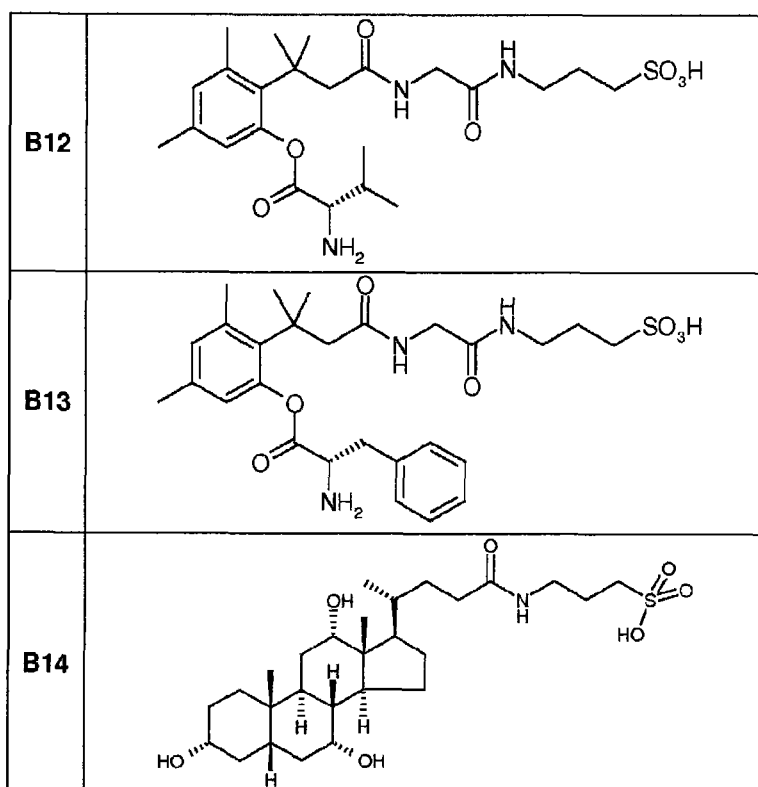
本发明涉及本发明化合物的盐形式和酸/碱形式。例如,本发明不仅涉及本文所示为盐的化合物的特定盐形式,本发明还包括化合物的其他药学上可接受的盐、以及酸和/或碱形式。本发明还涉及如本文所示化合物的盐形式。本发明化合物还示于下面表 3 中。

表 3: 本发明的示例性非氨基酸酰胺前体药物

ID	结构
B1	
B2	
B3	
B4	

B5	 <chem>OS(=O)(=O)CCCN(CCCC(=O)O)C(=O)O</chem>
B6	 <chem>OS(=O)(=O)CCCN(CCCCC(=O)O)C(=O)O</chem>
B7	 <chem>OS(=O)(=O)CCCN(C(C)C(C)C(=O)N(C)C)C(C)C1=CC=C(C)C=C1C</chem>
B8	 <chem>OS(=O)(=O)CCCN1C(=O)N(C1=O)c2ccccc2</chem>
B9	 <chem>OS(=O)(=O)CCCN(C(C)C(C)C(=O)N(C)C1=CC=CC=C1)C(C)C1=CC=C(C)C=C1C</chem>
B10	 <chem>OS(=O)(=O)CCCN(C(C)C(C)C(=O)N(C)C)C(C)C1=CC=C(C)C=C1C</chem>
B11	 <chem>OS(=O)(=O)CCNC(=O)N(C(C)C(C)C(=O)N(C)C)C(C)C1=CC=C(C)C=C1C</chem>

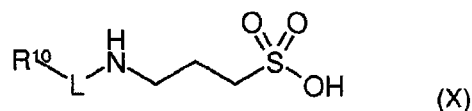




### II-C. 糖类衍生的前体药物

在一些优选实施方案中，本发明化合物是一旦在人中施用将会产生或生成 3APS 糖类衍生的前体药物。根据本文所公开的本发明，优选的前体药物包括经由键合（例如，酰胺、氨基甲酸酯、脲、或可裂解型烷基基团）被连接至 3APS 的胺基团的糖类或多元醇类似物残基。在一种实施方案中，糖类衍生的部分是，例如，一种糖类衍生物诸如己糖，戊糖，糖类衍生的多元醇，肌醇或肌醇衍生的部分，糖类衍生的羧酸，抗坏血酸，核酸，或核苷酸。键合和/或糖类衍生的残基在体内可被酶或者被任何其他机理裂解，以释放 3APS 的胺基团。

更具体地，本发明某些方面涉及式 (X) 化合物，及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物：



其中，

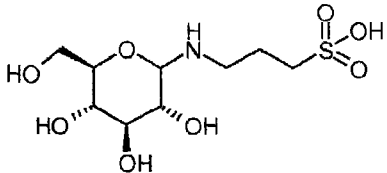
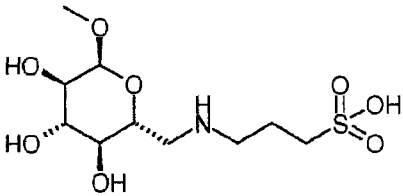
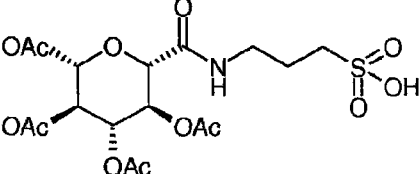
$R^{10}$  是糖类、糖类衍生物或糖类衍生多元醇的残基，例如，任选并优选地含有被各自独立地选自 -OH、-OAc、-CH<sub>2</sub>OH、-OCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>OAc 或 =O 的 3 至 5 个取代基所取代的 -O- 基团的 C<sub>5,6</sub> 饱和或者部分或全部未饱和的环烷基基团。

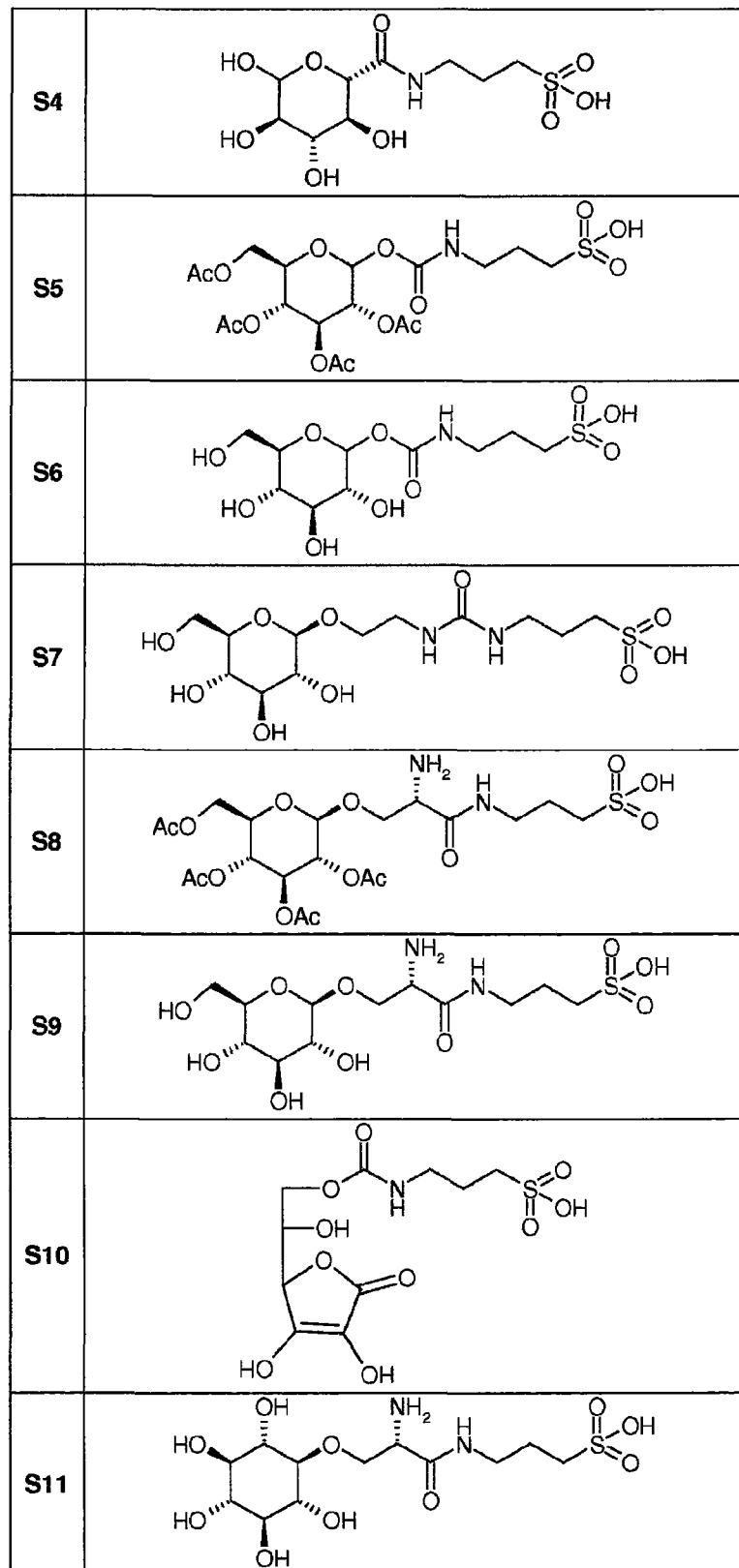
L 是连接部分或者不存在，例如，任选被一个或多个 -O- 和/或 -NH- 基团中断并任选被一个或多个 =O、-OH 和/或 -NH<sub>2</sub> 基团取代的饱和或未饱和的烷基基团、优选低级烷基基团。

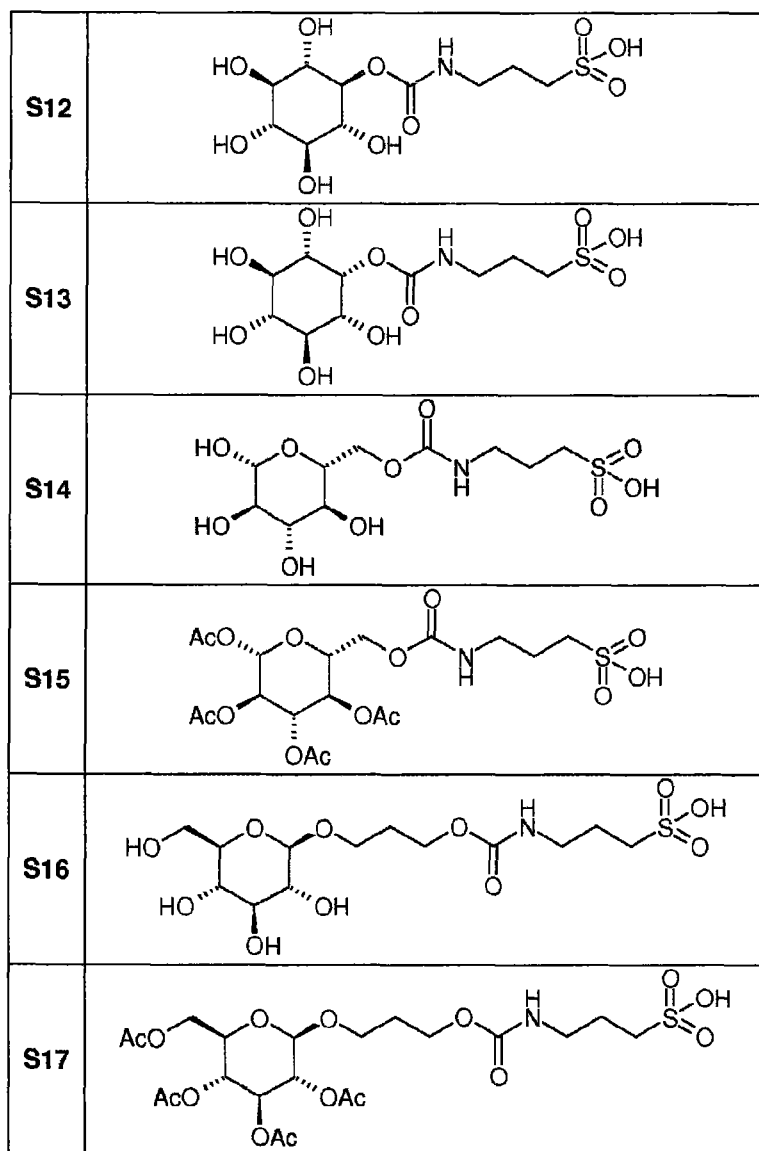
在一种实施方案中，本发明提供了式 X 化合物，其中，当 L 不存在时，那么  $R^{10}$  不是 2-脱氧-2-D-葡萄糖。

本发明涉及本发明化合物的盐形式和酸/碱形式。例如，本发明不仅涉及本文所示为盐的化合物的特定盐形式，本发明还包括其他药学上可接受的盐、以及化合物的酸和/或碱形式。本发明还涉及如本文所示化合物的盐形式。本发明化合物还示于下面表 4A 中。

表 4A: 根据本发明的示例性糖类衍生的前体药物

ID	结构
S1	
S2	
S3	



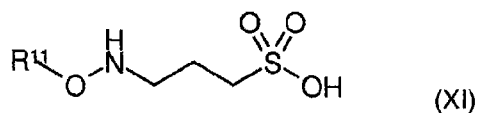


#### II-D. 其他的前体药物

在一些优选实施方案中，作为一旦在人中施用将会产生或生成 3APS 的前体药物，本发明的化合物是 3APS 的 N-羟基前体药物及衍生物、环状双重保护的前体药物、前体。

##### a) N-羟基-衍生的前体药物

更具体地，本发明某些方面涉及式 (XI) 化合物，及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物：



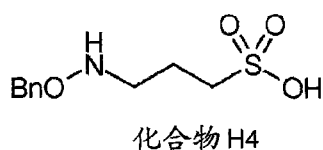
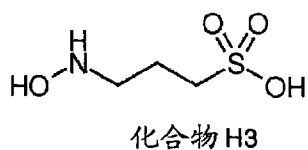
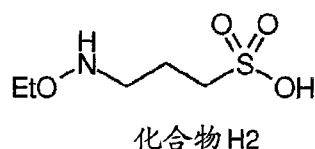
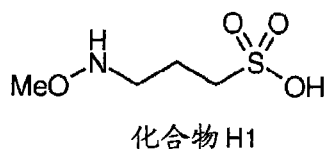
其中,

$R^{11}$  是氢或选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基、 $C(O)R^{12}$ 、和  $C(O)OR^{13}$  的取代或未取代的基团; 以及

$R^{12}$  和  $R^{13}$  独立地选自取代或未取代的  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基。

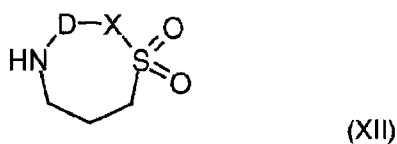
在一种实施方案中, 本发明提供了式 XI 化合物, 其中,  $R^{11}$  不是羟基。

本发明的化合物包括化合物:



#### b) 环状双重保护的前体药物

更具体地, 本发明某些方面涉及式 (XII) 化合物, 及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物:

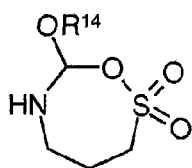


其中,

D 是羰基、氨基酸残基、或取代的亚甲基基团; 以及

X 选自 O、NH 和 S。

更具体地，本发明某些方面涉及式 (XII-A) 化合物，及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物：

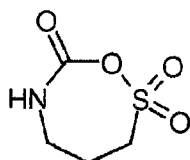


(XII-A)

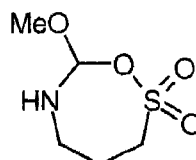
其中，

$R^{14}$  是选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基的取代或未取代的基团。

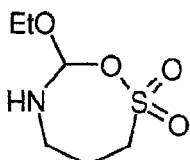
本发明化合物包括下列化合物：



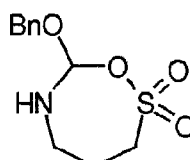
化合物 D1



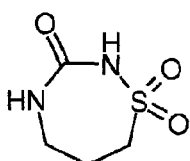
化合物 D2



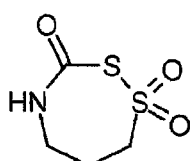
化合物 D3



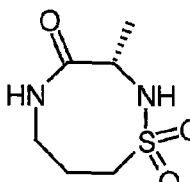
化合物 D4



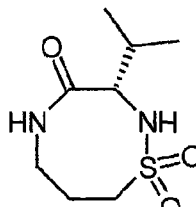
化合物 D5



化合物 D6



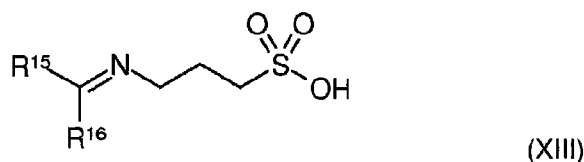
化合物 D7



化合物 D8

## c) 亚胺前体药物

更具体地, 本发明某些方面涉及式 (XIII) 化合物, 及其药学上可接受的盐、酯或溶剂化物:

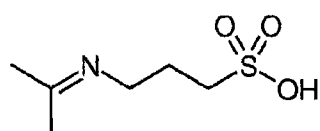


其中,

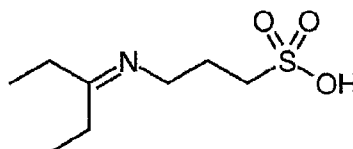
$R^{15}$  和  $R^{16}$  独立地选自氢或者选自  $C_1$ - $C_{12}$  烷基、 $C_2$ - $C_{12}$  烯基、 $C_2$ - $C_{12}$  炔基、 $C_3$ - $C_{15}$  环烷基、 $C_3$ - $C_{15}$  杂环烷基、 $C_6$ - $C_{15}$  芳基、 $C_5$ - $C_{15}$  杂芳基的取代或未取代的基团。

在一种实施方案中, 本发明提供了式 XIII 化合物, 其中, 当  $R^{15}$  和  $R^{16}$  都是取代的或未取代的芳基时, 那么  $R^{15}$  和  $R^{16}$  中至少一个是在邻位上被羟基取代的。在另一种实施方案中, 本发明提供了式 XIII 化合物, 其中, 当  $R^{15}$  和  $R^{16}$  都是取代的或未取代的芳基时, 那么  $R^{15}$  和  $R^{16}$  中一个也没有在邻位被羟基取代的。

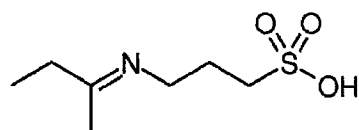
本发明化合物包括下列化合物:



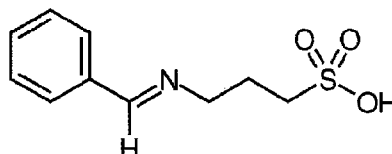
化合物 M1



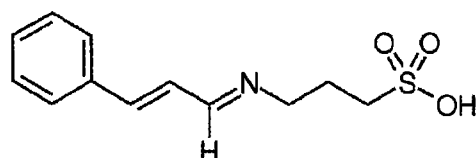
化合物 M2



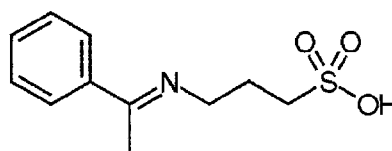
化合物 M3



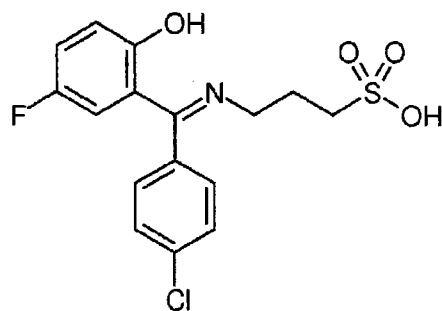
化合物 M4



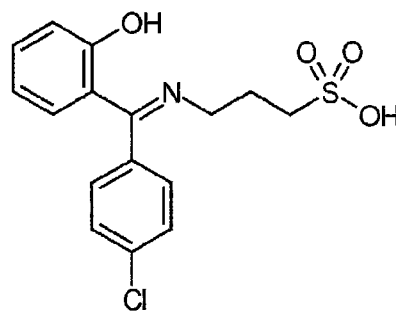
化合物 M5



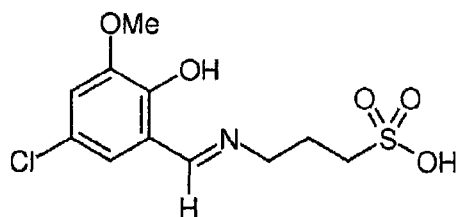
化合物 M6



化合物 M7



化合物 M8

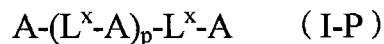


化合物 M9

在一些优选的实施方案中，作为一旦在人中施用将会产生或生成 3APS 的前体药物，本发明的化合物包括在本文章节 II-A 至 II-D 中所述的任何前体药物的组合。本发明进一步涉及在章节 II-A 至 II-D 中所提及的任何前体药物的磺酸前体，包括磺酸酯、磺酰胺、亚磺酸、硫化物、二硫化物及类似物。

### II-E. 寡聚物及季二聚物

在另一种实施方案中，本发明的式 I 化合物可以包括被连接在一起的两个或更多个 3APS 分子。因此，本发明的另一个方面涉及 3APS 的聚合物，即含有，或者基本组成为，或组成为用可裂解型键合连接在一起的两个或更多个 3APS 分子的分子。因此，本发明的另一个方面涉及式 I-P 化合物：及其药学上可接受的盐、酯、代谢物和溶剂化物，



其中：

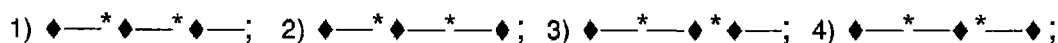
A 是 3-氨基-1-丙磺酸部分；

$L^x$  是可裂解型键合，用于共价地且可分离地将两个相邻 3APS 部分偶联在一起，而且

p 是 0、或 1 至 5 的整数。



本领域技术人员易于理解的是，对于三个或更多个 3APS 部分偶联在一起，可存在大量可能的变化或方向（可能性的数量为  $2^{n-1}$ ， $n$  等于 3 时为三聚体（4 种可能性）， $n=4$  时为四聚体（8 种可能性），等）。的确，如下文用季二聚体详细示例的，这种连接可以经由 3APS 分子的  $\text{NH}_2$  基团或  $\text{SO}_3\text{H}$  基团获得。例如，关于 3APS 三聚体（即三个分子的 3APS），存在 4 种不同的可能性：



符号" $\blacklozenge$ "表示 3APS 分子的  $\text{NH}_2$  基团，符号"—"为 3APS 分子的  $\text{SO}_3\text{H}$  基，和符号"\*"表示键合的位置。

可选地，本发明涉及式 I-P2 化合物及其药学上可接受的盐、酯和溶剂化物，：



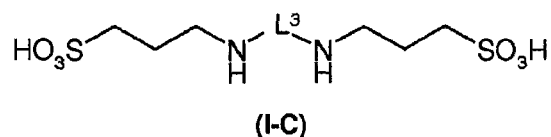
其中：

$m$  为从 2 至 5 的整数；

$A$  为 3-氨基-1-丙磺酸部分；

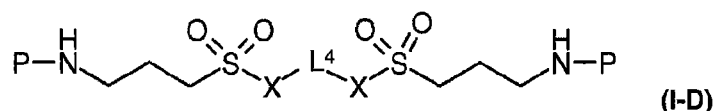
$\text{L}^y$  为多价载体部分，用于共价和可分离地在  $A$  的氨基或者磺酸端上偶联两个至五个  $A$  部分。

在优选的实施方案中，式 I-P 化合物包含或者是“季二聚体”，即它们包含用可裂解型键合连接在一起的两个 3APS 分子。因此，另一个方面，本发明涉及式 I-C 化合物（及其盐、酯和溶剂化物）：



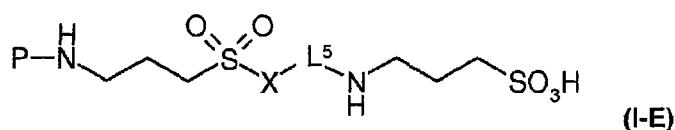
其中， $\text{L}^3$  为在它们的氨基基团上使用如本文所述相同的或不同的键合连接两个分子 3APS 的二价连接体，包括，但不限于，酰胺键合和氨基甲酸酯键合。

另一个方面，本发明涉及式 I-D 化合物（及其盐、酯和溶剂化物）：



其中， $L^4$ 为在它们的磺酸基团上使用如本文所述的相同或不同的键合连接两个3APS分子的二价连接体，包括，但不限于，酯键合或酸酐键合（此处X是氧）、或磺酰胺键合（此处X是氮（NH或NR））或硫代磺酸酯键合（此处X是硫）。P是氢或者如本文所述的N-保护基。

另一方面，本发明涉及式I-E化合物（及其盐、酯和溶剂化物）：



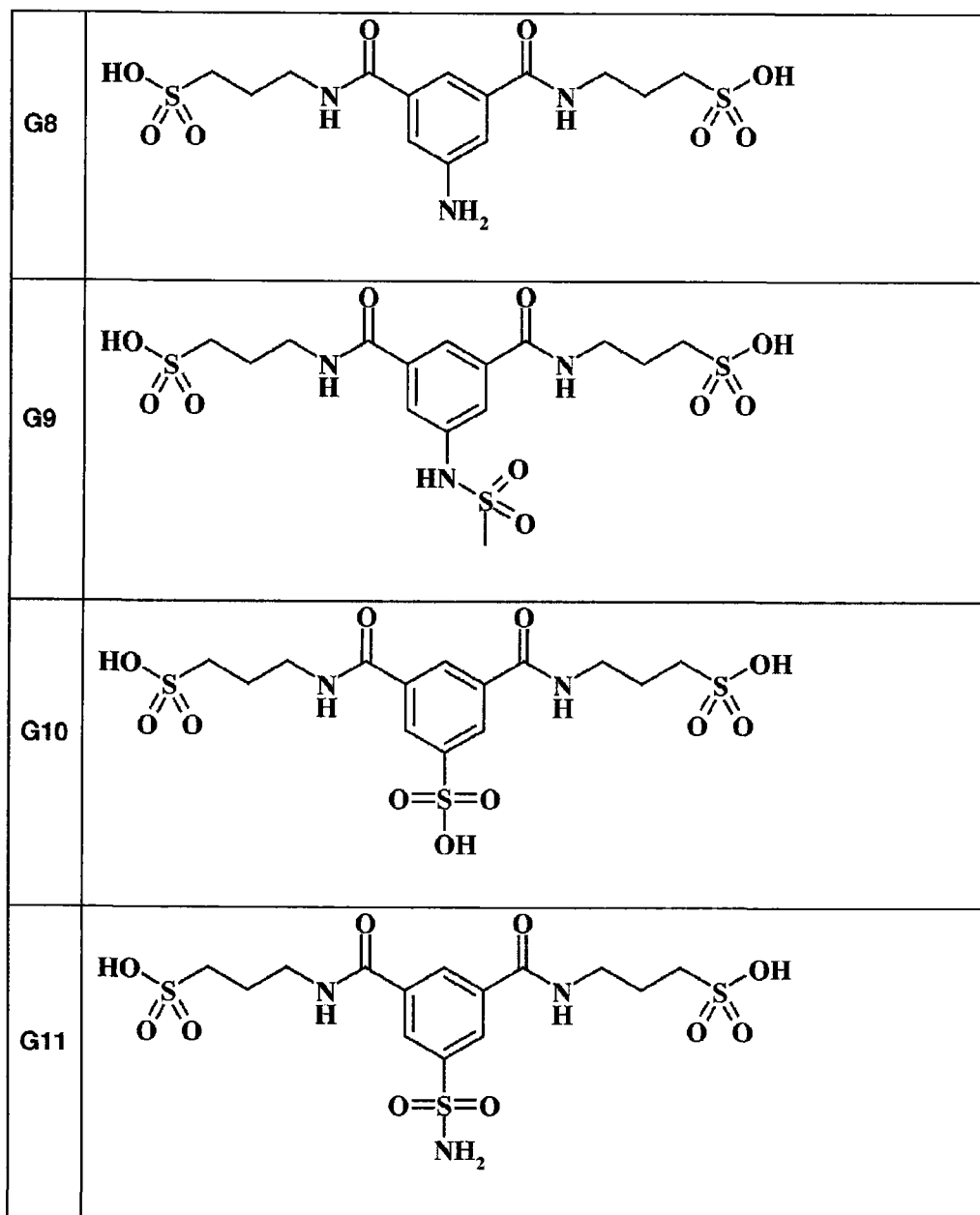
其中， $L^5$ 为在一个3APS的氨基基团上使用如式I-C中所述的键合和在另一个3APS的磺酸基团上使用如式I-D中所述的键合连接两个3APS分子的二价连接体。P是氢或者如本文所述的N-保护基。

在优选的实施方案中，选择连接体 $L^x$ 、 $L^3$ 、 $L^4$ 、或 $L^5$ 、或者载体部分 $L^y$ ，以便于二个、三个、四个或五个被连接的3APS部分可在体外或体内直接地或间接地转化，释放两个、三个、四个或五个药理学活性的3APS分子。释放母体3APS分子的能力是可以检测的，而且在许多情况下，它是可预计的。更优选地，连接体被设计为通过它们的氮原子结合3APS分子（用于改进抗首过代谢的保护），但是如上文中所示例的，经由它们磺酸酯基团的氧原子（例如，通过一种酯类型的键合）或者经它们的硫原子（例如，连接二聚体的磺酰胺）结合3APS分子也是有可能的。上述的各种排列同样可能的。本领域的技术人员将能够选择适宜的连接体和键合位点，并检测所得产品的功效和在各种化学和/或生物学条件下裂解的能力。本发明化合物还示于下面表4B中。

表4B：根据本发明的示例性季二聚体

ID	结构

G1	
G2	
G3	
G4	
G5	
G6	
G7	



本发明涉及本发明化合物的盐形式和酸/碱形式。例如，本发明不仅涉及本文所示为盐的化合物的特定盐形式，本发明还包括其他药学上可接受的盐、以及化合物的酸和/或碱形式。本发明还涉及如本文所示化合物盐的形式。

### III. 本发明化合物的合成

一般而言，本发明的所有化合物都可以使用易于获得的和/或可常规制备的原料、试剂和常规的合成程序，通过下文实施例中所示方法和/或其他常规方法制备。在这些反应中，还可以利用本身是已知的、但本文未提及的变体。在实施例章节中描述了制备本发明化合物的某些新的和示例性方法。这类方法在本发明的范围内。还包括具有相同的一般性质的本文所述化合物的功能和结构等效物，其中，对取代基进行一种或多种不负面影响化合物的基本性质或效用的简单变化。

更具体地，本发明的氨基酸前体药物可以通过下文实施例 1-A 和通用反应路线中（诸如，例如在路线 1 和 2 中所述的）所示的方法或通过其改进来制备。

本发明的氨基甲酸酯前体药物可以用下文实施例 1-B 中所示的方法或通过其改进来制备。

本发明的非氨基酸前体药物可以通过下文实施例 1-C 和在一般反应路线中（诸如，例如，路线 1 和 2 中所述的酰胺偶联步骤）所示的方法或通过其改进来制备。

糖类衍生的前体药物可以通过下文实施例 1-D 中所示的方法，或者通过取决于所用键合（氨基甲酸酯、脲、酰胺，等）的已知的偶联反应，或者通过其改进来制备。

N-羟基前体药物及它们的衍生物可以通过胺基团的氧化，以及通过需要在需要时烷基化这种 N-羟基基团来制备。对于熟练技术人员而言，完成这些反应的程序是易于获得的和已知的

环状双重保护前体药物依据这种基团环化的标准程序（取决于所用的 D 和 X 基团）制备。

根据本文所述的在所提供的特定程序中说明的合成路线和方案，可以容易地制备本发明的化合物。但是，本领域的技术人员应当认识到，可以使用生成本发明化合物的其他合成途径，下述的仅作为实例提供，而不是对本发明的限制。参见，例如，R. Larock 的“Comprehensive Organic

Transformation (有机转化大全)”, VCH 出版社 (1989)。应进一步认识到, 作为本领域标准的各种保护和脱保护策略 将被使用(参见, 例如 Greene 和 Wuts 的“Protective Groups in Organic Synthesis (有机合成中的保护基)”, (1991))。相关领域的技术人员应当认识到, 任何特定保护基(例如, 氨基、羟基、巯基以及羧基保护基)的选择将取决于被保护部分对于后续反应条件的稳定性, 并且懂得适当的选择。

下面大量的化学文献示例进一步说明了本领域技术人员的知识: JP. Greenstein 和 M. Winitz, 的“氨基酸化学 (Chemistry of the Amino Acids)”, John Wiley & Sons Inc., 纽约(1961); J. March 的“高等有机化学: 反应、机理和结构 (Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure), 第四版, John Wiley & sons (1992); T. D. Ocain 等, *J. Med. Chem.*, 31, 2193-99 (1988); E. M. Gordon 等, *J. Med. Chem.* 31, 2199-10 (1988); M. Bodansky 和 A. Bodanszky 的“肽合成的实用 (Practice of Peptide Synthesis), Springer-Verlag, 纽约(1984); G. M. Coppola 和 H. F. Schuster 的“不对称合成: 使用氨基酸构建手性分子 (Asymmetric Synthesis: Construction of Chiral Molecules Using Amino Acids)”John Wiley & Sons, 公司, 纽约(1987); J. Jones 的“肽的化学合成 (The Chemical Synthesis of Peptides)”, 牛津大学出版社, 纽约(1991); 以及 P. D. Bailey 的“肽化学入门 (Introduction of Peptide Chemistry)”, John Wiley & Sons Inc., 纽约 (1992)。

本发明化合物的合成优选地在溶剂中进行。适合的溶剂在环境室温和压力下为液态, 或者在反应中所用温度和压力条件下仍然是液态。溶剂的选择是本领域技术人员的一般技能范围内的, 而且取决于反应条件, 例如, 温度, 试剂和原料的性质, 试剂和原料的溶解性及稳定性, 反应的类型及类似因素。根据情况, 可以将溶剂蒸馏或脱气。溶剂可以是, 例如, 脂肪族烃类(例如, 己烷, 庚烷, 石脑油, 石油醚, 环己烷或甲基环己烷)和卤代烃(例如, 二氯甲烷, 氯仿, 四氯化碳, 二氯乙烷, 氯苯或者二氯苯); 芳香烃(例如, 苯, 甲苯, 四氢萘, 乙苯, 或二甲苯); 醚类(例如, 二甘醇二甲醚, 甲叔丁醚, 甲叔戊醚, 乙叔丁醚, 二乙基醚, 二异丙醚, 四

氢呋喃或甲基四氢呋喃，二氧六环，二甲氧乙烷，或者二乙二醇二甲醚)；酰胺(例如，*N,N*-二甲基甲酰胺，*N,N*-二甲基乙酰胺)；腈(例如，乙腈)；酮(例如，丙酮)；酯(例如，乙酸甲酯，或乙酸乙酯)；醇(例如，甲醇，乙醇，异丙醇)；水，及其混合物。

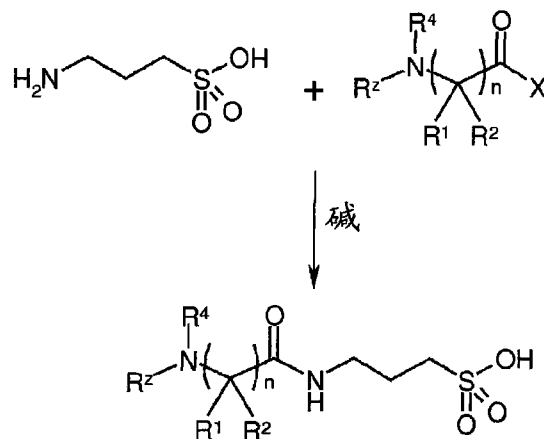
“活化酯”及等同表达可以用式 COX 表示，此处 X 是一种离去基团，该基团的代表性实例包括 *N*-羟基硫代琥珀酰亚胺基和 *N*-羟基琥珀酰亚胺基团；吸电子基团(例如，对硝基、五氟代、五氯代、对氰基或对三氟甲基)取代的芳氧基基团；以及通过碳二亚胺或其他常规偶联试剂活化以形成酸酐或混合酸酐(例如-OCOR<sup>a</sup>或-OCNR<sup>a</sup>NHR<sup>b</sup>，本文 R<sup>a</sup>和 R<sup>b</sup>独立地为 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>烷基(例如，环己基)、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>全氟代烷基或者 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基团)的羧酸。活化酯可以是原位合成，或者可以是可分离的试剂。酯的离去基团可以是，例如，硫代琥珀酰亚胺酯，五氟代硫代苯酚酯，硫代四氟苯酚，取代或未取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基(诸如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基或己基)，或者取代或未取代的 C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>芳基或杂环基团(诸如 2-氟乙基，2-氯乙基，2-溴乙基，2,2-二溴乙基，2,2,2-三氯乙基，3-氟丙基，4-氯丁基，甲氧甲基，1,1-二甲基-1-甲氧甲基，乙氧甲基，*N*-丙氧甲基，异丙氧甲基，*N*-丁氧甲基，叔丁氧甲基，1-乙氧乙基，1-甲基-1-甲氧乙基，1-(异丙氧)乙基，3-甲氧丙基-4-甲氧丁基，氟甲氧甲基，2,2,2-三氯乙氧甲基，双(2-氯乙氧)甲基，3-氟丙氧甲基，4-氯丁氧乙基，二溴甲氧乙基，2-氯乙氧丙基，氟甲氧丁基，2-甲氧乙氧甲基，乙氧甲氧乙基，甲氧乙氧丙基，甲氧乙氧丁基，苄基、苄乙基、3-苄丙基，4-苄丁基， $\alpha$ -萘甲基， $\beta$ -萘甲基，二苄甲基，三苄甲基， $\alpha$ -萘基二苄甲基

(naphthylidiphenylmethyl)，9-蒎甲基，4-甲基苄基，2,4,6-三甲基苄基，3,4,5-三甲基苄基，4-甲氧苄基，4-甲氧苄基二苄甲基，2-硝基苄基，4-硝基苄基，4-氯代苄基，4-溴代苄基，4-氰基苄基，4-氰基苄基二苄甲基或双(2-硝基苄基)甲基基团)。

### III. 根据本发明的氨基酸前体药物的示例性合成

下面路线用于示例说明的目的，而不是限制性的。3-氨基-1-丙磺酸与首个氨基酸的偶联可以一般用方案1表示：

方案1：



其中， $R^1$ 、 $R^2$ 和 $R^4$ 如前面所公开的， $R^z$ 是 $R^3$ 或者保护基团，并且X是活化酯的离去基团。

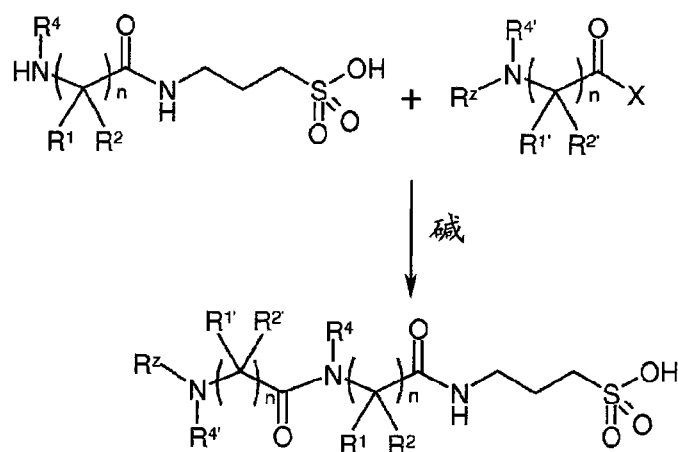
在方案1中，3-氨基-1-丙磺酸的单氨基酸前体药物是通过它的游离氨基（或者保护的磺酸酯变体）与所需氨基酸的活化酯（它可以是N-保护的）反应来制备的。活化酯的C(O)X基团可以是酰卤、混合酸酐、琥珀酰亚胺酯，或者可以通过肽偶联剂（例如，碳二亚胺（诸如EDC（1-（3-二甲氨基丙基）-3-二异丙基乙基碳二亚胺））和鎓盐类（诸如HATU（O-氮杂苯并三氮唑-1-基）*N,N,N',N'*-四甲基六氟磷酸脲）））在碱（例如，胺（诸如DIPEA（*N,N*-二异丙基乙基胺），氢氧化物（诸如氢氧化钠），碳酸酯类（诸如碳酸钾），等）以及任选地催化剂（例如4-（二甲氨基）吡啶（DMAP）、1-羟基苯并三氮唑（HOBt））存在下活化的羧酸。碱和催化剂的选择主要取决于活化酯的性质。

在此阶段，保护基团（氨基上的 $R^z$ 或者在 $R^1$ 和 $R^2$ 基团中杂原子上存在的保护基团）可以除掉。如果需要进一步偶联氨基酸，除氨基以外杂原子上的保护基团不可以除掉（见方案2）。氧原子的保护基团可包括苄基和硅



烷基醚、缩醛和酯，氮的保护基团可包括氨基甲酸酯和苄衍生物。用常用的程序可将它们裂解（参见，例如，Greene 和 Wuts (1991)，同上）。

方案 2:



其中  $R^1$ 、 $R^2$  和  $R^4$  分别地定义为  $R^1$ 、 $R^2$  和  $R^4$ ，但可以或可以不与上面方案中的  $R^1$ 、 $R^2$  和  $R^4$  相同，而且  $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^4$ 、 $R^2$  和  $X$  如前面所公开的。

方案 2 用于生产含有两个或更多个连接至 3APS 的氨基酸的前体药物。偶联的条件通常与方案 1 中所述的相同。随着每个偶联步骤间胺基团的脱保护，后续的氨基酸以同样的方式被添加。如果在残基杂原子上存在其他保护基，那么可在最后的化学步骤中将它们除掉。

一般而言，在反应完全后，根据标准技术，从反应混合物中分离产品。例如，用蒸发或过滤（如果产物是固体时），任选地在减压下，除掉溶剂。在反应完成后，可向残留物加入水，以得到酸性的或碱性的水层，并且过滤沉淀化合物，但是当处理水敏感化合物时应小心地进行。同样地，可以将水同疏水性溶剂一起加至反应混合物，以萃取目标化合物。可以用水清洗有机层，无水硫酸镁或硫酸钠干燥，并蒸发溶剂从而得到目标化合物。因此，必要时可将得到的目标化合物纯化，例如，用重结晶、再沉淀、色谱法，或者通过添加一种酸或碱将其转化成盐。

#### IV. 通过最小化或减少肝首过代谢而递送 3APS 的替代途径和载体

如下文所述，本发明一个方面涉及减少 3APS 肝首过代谢的施用新途径（例如，经皮，皮下，鼻内等）和新的药物载体（例如，贴剂，植入物，喷雾剂，制剂（包括用于口服施用的））

### 经皮的药物递送装置

以经皮途径递送药物是逐渐关注的领域，提供了使药物延长地、稳定地输入血液的优点。3APS 经皮递送是本发明的一种优选实施方案，因为它可以避免与 3APS 施用相关的肝首过代谢，并因此提高了 3APS 的治疗有效性。经皮递送还有助于避免与注射相关的疼痛，并且可提高用药的依从性。

因此，本发明的某些方面涉及一种递送根据本发明的化合物（优选地 3APS）的方法以改善化合物在治疗认知障碍中有效性。本发明另外涉及一种递送依据本发明的化合物（优选地 3APS）的方法，其中该化合物可以是以经皮贴剂施用的。

根据本发明的本发明的经皮药物递送装置可以使用技术人员熟知的技术和组件来制造。经皮药物递送装置主要包括可任选地包括着色聚酯薄膜的背衬层，药物储库，控制药物从系统递送至皮肤表面速度的微孔膜，以及将递送系统附着到受治疗者的粘合剂。任选地，该粘合剂可包括药物，因此，对受治疗者应用贴剂时提供了更直接的化合物团。

经皮的药物递送装置还通常包括将待递送药物掺入其中的载体（诸如液体，凝胶，或固体基质，或者压敏性粘合剂）。然后，将含有药物的载体置于皮肤上，药物连同任何的佐剂和赋形剂一起被递送至皮肤。通常，与受治疗者皮肤没有接触的载体部分用背衬覆盖。背衬用于保护载体（以及载体中所含的组份，包括药物）隔离周围环境，并且防止药物递送装置的成份丢失至周围环境。因为已知角质层水化作用增强某些药物透过皮肤的运输，所以为了在药物递送装置覆盖部位保持湿度，有时需要背衬具有相对较低的湿气转移速度。为了在长期穿戴过程中（例如超出一天的时期）通过允许皮肤呼吸而保持被覆盖皮肤的健康，还需要背衬具有相对高的透氧性。此外，由于背衬与载体的组份，包括药物和任何佐剂以及赋形剂相接触，为了背衬保持其结构的完整性、拉伸强度以及对皮肤的舒适性，背衬对这种组份稳定是非常重要的。还需要背衬不从载体中吸收药物或其他

赋形剂。在制备某些储库型经皮的药物递送装置时，还需要背衬在相对自身和各种其他聚合物底物而言较低的温度下可以热封。已发现用于经皮药物递送装置中的背衬材料包括金属箔、金属化塑料薄膜、以及单层和多层聚合物薄膜（参见美国专利 5,264,219）。

在经皮贴剂构造中有用的膜是本领域内已知的，而且包括但不限于，可以从 3M 买到的 CoTran™膜，诸如 COTRAN™ 9701、9702、9705、9706、9715、9716、9726，以及 COTRAN™ 9728 膜。在经皮贴剂构造中有用的背衬是本领域内已知的，而且包括但不限于，可以从 3M 买到的背衬材料，诸如 COTRAN™和 SCOTCHPAK™背衬。同样地，内衬是本领域内熟知的，并且可从许多商业来源获得。任选地，胶凝剂可以任选以最多 20%体积添加。胶凝剂包括，但不限于：交联丙烯酸聚合物（诸如“卡波姆”系列的聚合物，例如，可以商品名 CARBOPOL™购买的羧酸聚烯烃）；亲水性聚合物（诸如聚乙烯氧化物、聚乙烯-聚丙烯共聚物以及聚乙烯醇）；纤维素聚合物（诸如羟丙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素，邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素酯，以及甲基纤维素）；咀嚼胶（诸如黄耆和黄原胶）；褐藻酸钠；以及明胶。

本领域内技术人员将容易地确定背衬层、药物储库、膜、载体、背衬、渗透促进剂、胶凝剂等适当组合和/或浓度。必要时，可参考关于该主题的大量出版物，包括专利文献，诸如 EP 1 602 367，US 2005/019384，US 2005/0074487 和 US 2005/175680，都描述了经皮药物递送装置及相关内容。例如，穿过人皮肤的药物吸收可用于确定具有特定载体或载体的经皮递送的可行性。例如，使用玻璃扩散池，可体外检测根据本发明的化合物（优选 3APS）穿过人表皮的渗透。因此，通过使用本文所公开的和本领域已知的制剂作为渗透促进剂，可实现化合物吸收的优化。其他熟知的检测和检验包括渗透性速度研究，吸收研究，扩散检验，用于穿过人表皮渗透的时间-过程分布（time-course profiling for penetration across human epidermis），刺激性研究，等。

临床研究表明，3APS 口服用药约 100 和/或 150mg 每日两次，对认知障碍如 AD 可产生有益的治疗。由于根据本发明的化合物（优选 3APS）的

经皮施用被认为经历减少的首过代谢，因此，当经皮施用时 3APS 的剂量可减小。另一方面，经皮施用有助于通过避免与口服施用该药物相关的常见副作用如胃肠道刺激来提高 3APS 的剂量。

经皮剂型的优点包括因施用减少的可能性而改善受治疗者的依从性。例如，可配制一种本发明的经皮贴剂，以提供一天、两天、三天、四天、五天、六天或七天的用药。在一种示例性实施方案中，在需要更换贴剂前，经皮贴剂提供了约三天的用药。在另一个示例性实施方案中，在需要更换贴剂前，经皮贴剂提供了七天的用药。此外，可以用根据本发明的化合物的任何需要剂量配制经皮的剂量。例如，经皮剂量可提供与口服施用 100mg 每日两次、150mg 每日两次、200mg 每日两次、250mg 每日两次、300mg 每日两次、350mg 每日两次、或 400mg 每日两次等同的剂量。因而，在所需时段，例如四个星期，可对受治疗者施用具有与口服施用 150mg 每日两次等同剂量的经皮贴剂，然后，在所需时段，可施用具有与口服施用 200mg 每日两次等同剂量的一贴或多贴。

在本发明中还包括一种药盒，它可包含所需的贴剂供给，例如经皮贴剂的一个月供给。任选地，可将药盒组织成多个例如三个不同标识（编号，着色或类似标识）的部分，其中，第一部分的内含物首先施用，然后施用第二部分的内含物，这之后施用第三部分的内含物。替代地，药盒可包含贴剂和口服制剂的组合。

#### V. 受治疗者及患者群

术语“受治疗者”包括其中可能发生 A $\beta$ -淀粉样变性，或者易患 A $\beta$ -淀粉样疾病例如阿尔茨海默病等的活有机体。受治疗者的实例包括人类、鸡、鸭、北京鸭、鹅、猴、鹿、牛、兔、绵羊、山羊、犬、猫、小鼠、大鼠、及其转基因的品种。术语“受治疗者”优选地包括易患特征为神经细胞死亡的状态的动物，例如哺乳动物，例如人类。该动物可以是疾病的动物模型，例如带有阿尔茨海默氏型神经病理的转基因小鼠。在优选的实施方案中，受治疗者是哺乳动物，更优选地为人类受治疗者。

术语“人类受治疗者”包括易于从 3APS 施用受益的，更具体地，易患有或被诊断患有淀粉样- $\beta$  相关疾病和/或罹患神经退化疾病诸如阿尔茨海默病、帕金森氏病等的那些人。

在本发明的某些实施方案中，人类受治疗者需要本发明方法的治疗，并且基于这种需要而被选定。需要治疗的受治疗者是领域公认的，而且包括已被鉴定为患有  $\beta$ -淀粉样沉积相关疾病或病症，具有这种疾病或病症的症状，或有这种疾病或病症的风险，而且基于诊断（例如医学诊断）预计将受益于治疗（例如，治愈，康复，预防，减轻，缓和，改变，补救，改善，改进，或影响该疾病或病症、疾病或病症的症状、或疾病或病症的风险）的受治疗者。

例如，人类受治疗者可以是 30 岁以上的人，40 岁以上的人，50 岁以上的人，60 岁以上的人，70 岁以上的人，80 岁以上的人，85 岁以上的人，90 岁以上的人，或者 95 岁以上的人。受治疗者可以是女人，包括绝经后正在接受激素（雌激素）替代疗法的女人。受治疗者还可以是男人。在另一种实施方案中，受治疗者小于 40 岁。

在优选的实施方案中，受治疗者是具有阿尔茨海默氏型神经病理的人类受治疗者。目前患有阿尔茨海默病的个体可以从特征痴呆以及下面描述的风险因子的存在识别出来。此外，许多基于认知和神经学检测的诊断性检测可用于鉴定患有 AD 的个体。例如，如本文所述的，罹患阿尔茨海默病的个体是可以通过临床痴呆分级(CDR)量表、简易智能状态检查

(MMSE)、阿尔茨海默病评价量表认知分量表(ADAS-Cog)、或者本领域已知的其他检测诊断的。根据合适度量（包括 MMSE 和 ADAS，以及设计用于评价更普通人群的其他度量）的基线得分可用于发现危险人群。鉴定风险组的另一个方法利用了尿中神经丝蛋白的检验；参见，例如 Munzar 等，*Neurology and Clinical Neurophysiology*, 2002 卷，第 1 期。还可以通过筛选记忆丧失或与前阿尔茨海默氏症候学相关的其他困难的早期征兆、阿尔茨海默病家族史、具有轻度认知障碍 (MCI) 的患者、遗传性风险因素、年龄、性别、以及预测高风险阿尔茨海默病的其他已知特征，从人群中选出高风险阿尔茨海默病患者。

术语“预防 (prevention)”或“预防 (preventing)”也被用于描述对有风险 (或易于) 患有这种疾病或病状的受治疗者施用本发明的化合物或组合物。愿意接受疾病或病状预防治疗的患者包括有疾病或病状风险但尚未表现症状的个体以及目前已表现症状的患者。对于阿尔茨海默病而言, 如果他或她活得足够长, 实际上任何人都有患阿尔茨海默病的风险。因此, 本发明的方法可预防性施用于普通人群, 无需受治疗患者的任何风险评估。但是, 本发明的方法尤其适用于确定有阿尔茨海默病已知风险的个体。这种个体包括已经受这种疾病的人的亲属, 以及通过遗传或生物化学标记分析确定其风险的人, 所述生物化学标记包括通过成像方法 (例如 MRI、PET、SPECT 等) 诊断的大脑黄斑。这种成像方法的实例被讨论于, Burggren 等, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2002 卷, 第 2 期, 第 385-393 页, 和 Sair 等, *Neuroradiology*, 第 46 卷, 第 93-104 页 (2002)。在学术文献中鉴定或提出的阿尔茨海默病诱变因素包括但不限于, 使个体易患阿尔茨海默病的基因型; 使个体易患阿尔茨海默病的环境因素; 使个体易患阿尔茨海默病的病毒和细菌因子感染史; 以及使个体易患阿尔茨海默病的血管因素。指向阿尔茨海默病的风险遗传标记包括 APP 基因中的突变, 特别是在位点 717 和位点 670 以及 671 的突变, 分别被称作哈代 (Hardy) 和瑞典式突变 (参见, Hardy 等, *TINS* 20, 154-158 (1997))。其他的风险标记是在早老素基因 PS1 和 PS2 以及 ApoE4 的突变, AD 家族史, 高胆固醇症或动脉粥样硬化。通过诊断性大脑成像技术例如检测大脑活动性、黄斑沉积或大脑萎缩的技术, 可显示个体处于风险。也可通过认知检测诸如临床痴呆分级 ("CDR")、阿尔茨海默病评价量表-认知 ("ADAS-Cog")、痴呆致残性评价 ("DAD") 或简易智能状态检查 ("MMSE") 和/或本领域已知的任何其他检验, 来显示人类个体处于风险。

在另一种实施方案中, 人类受治疗者未表现阿尔茨海默病症状。在另一种实施方案中, 受治疗者至少 40 岁而且未表现阿尔茨海默病症状。在另一种实施方案中, 受治疗者至少 40 岁而且表现出一种或多种的阿尔茨海默病症状。

通过应用本发明的方法及化合物，受治疗者血浆或脑脊髓液（CSF）中淀粉样 $\beta$ 肽的水平可从治疗前的水平被显著减低约10%至约100%，或者甚至约50%至约100%，例如15、25、40、60、70、75、80、90、95或99%。因此，在某些实施方案中，人类受治疗者在根据本发明的方法治疗前可具有升高的血液和/或CSF中淀粉样 $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$ 肽的水平。例如， $A\beta_{40}$ 水平大于约10pg/mL，或者大于约20pg/mL，或者大于约35pg/mL，或者甚至大于约40pg/mL；并且 $A\beta_{42}$ 水平为30pg/mL至约200pg/mL，或者甚至约500pg/mL。同样地，根据一些实施方案，当与治疗前水平相比时，本发明的方法和化合物有助于使大脑中 $A\beta$ 黄斑或 $A\beta$ 沉积的大小和/或数量减少约10%至约100%，或者约50%至约100%，例如，15、25、40、60、70、75、80、90、95或99%。

#### VI. 药物组合物

优选地，使用本领域熟知的技术和方法将本发明化合物在施用前配制成药物组合物。因此，在另一种实施方案中，本发明涉及含有根据本文任何式的一种或多种有效量的化合物和药学上可接受的载体的药物组合物（例如，溶液，混悬液或乳液），以及使用和制造这种药物组合物的方法。

将药物组合物配制成适合施用（口服，胃肠外，（IV, IM, depo-IM, SC, 和 depo SC），舌下，鼻内（吸入），鞘内，局部，或直肠）。适合的药学上可接受的载体非限制性包括，用于口服、胃肠外、鼻、粘膜、经皮、局部、鞘内、直肠、血管内（IV）、动脉内（IA）、肌肉（IM）以及皮下（SC）施用途径的任何无免疫原性药物载体或稀释剂，诸如磷酸盐缓冲盐水（PBS）。同样地，本发明包括这类化合物，该化合物已被冻干，而且该化合物可被重建以形成用于施用的药学上可接受的制剂，如通过静脉、肌肉或皮下注射。施用还可以是皮内或经皮的。

载体可以是溶剂或分散介质，含有例如水、乙醇、多元醇（例如甘油、丙二醇以及液态聚乙二醇，及类似物），其适宜的混合物，和植物油。可维持适当的流动性，例如，通过使用涂层如卵磷脂，通过在分散剂时维持所需粒度，以及通过使用表面活性剂。通过各种抗细菌和抗真菌剂，例如，对羟基苯甲酸酯类，氯丁醇，苯酚，抗坏血酸，硫柳汞等，可以实现防止

微生物作用。在许多情况下，在组合物中包括等渗剂，例如，糖，氯化钠，或多元醇诸如甘露糖和山梨醇。通过在组合物中包含可延缓吸收的试剂，例如单硬脂酸铝或明胶，能够使可注射组合物的吸收延长。

优选地，本发明的化合物可口服施用。本发明的制剂包括适于口服施用的那些。制剂可方便地以单位剂量形式的形式提供，并且可以通过药学领域熟知的任何方法制备。制备这些制剂或组合物的方法包括，将本发明的化合物与药学上可接受的载体（例如，惰性的稀释剂或可同化食用性载体）以及，任选地，一种或多种辅助成份相结合的步骤。一般而言，制剂的制备是将本发明的化合物与液态载体或细粉的固体载体或两者均一地且紧密地相结合，然后必要时，使产品成形。治疗剂在这种治疗上有用的组合物中的量是获得合适剂量的量。

适于口服施用的本发明制剂可以是胶囊（硬或软壳明胶胶囊）、扁胶囊、丸剂、片剂、锭剂、粉剂、颗粒剂、微丸、糖锭剂例如包衣的（例如肠衣的）或未包衣的形式，或者作为含水或不含水的液体中的溶液或混悬液，或为水包油或油包水液态乳液，或为酞剂或者糖浆、或者作为软锭剂（使用了惰性基质，如明胶和甘油，或者蔗糖和阿拉伯胶）、或者作为漱口剂及类似物，每一种都含有预定量的、作为活性成分的本发明化合物。本发明化合物还可以大药丸、干药糖剂或糊剂的形式施用，或者直接掺入受治疗者的膳食中。此外，在某些实施方案中，可配制这些微丸，以（a）提供即时的或快速的释放（即在它们上面没有包衣）；（b）被包衣，例如，提供随时间的持续药物释放；或者（c）包覆肠衣，为更佳的胃肠耐受性。

在本发明口服施用的固态剂型中，活性成分与一种或多种药学上可接受的载体相混合，所述载体如枸橼酸钠或磷酸二钙或者下列任何物质：填充剂或扩充剂（extenders），诸如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇或硅酸；粘合剂，诸如，例如，羧甲纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖或阿拉伯胶；湿润剂，诸如甘油；崩解剂，诸如琼脂-琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、褐藻酸、某些硅酸盐、和碳酸钠；溶解延缓剂，诸如石蜡；吸收促进剂，诸如季铵盐化合物；润湿剂，诸如，例如，鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯；吸收剂，诸如高岭土和膨润土；润滑剂，诸如滑石、



硬脂酸钙、硬脂酸镁、固态聚乙二醇、十二烷基硫酸钠、及其混合物；和着色剂。在胶囊、片剂和丸剂的情况下，药物组合物还可包含缓冲剂。使用诸如乳糖或奶糖、以及高分子量聚乙二醇及类似物这些赋形剂，相似类型的固体组合物还可用作软和硬明胶胶囊内的填充剂。

经口的组合物主要包括液体溶液、乳液、混悬液及类似物。适于这种组合物制备的药学上可接受的载体是本领域熟知的。糖浆、酞剂、乳液和混悬液的载体的通常组份包括乙醇、甘油、丙二醇、聚乙二醇、液态蔗糖、山梨醇和水。对于混悬液，通常的悬浮剂包括甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、黄芪胶和藻酸钠；通常的润湿剂包括卵磷脂和多乙氧基醚；和通常的防腐剂包括尼泊金甲酯和苯甲酸钠。经口液体组合物还可以包含一种或多种的组份，诸如甜味剂、调味剂以及以上公开的着色剂。

适于可注射使用的药物组合物包括无菌水溶液（当可水溶时）或分散体、以及用于临时配制无菌可注射溶液或分散体的无菌粉。无论如何，组合物必须是无菌的，而且必须是流动的，其程度为存在容易注射性

（syringability）。在制造和储存条件下，它必须是稳定的，而且必须是可抗微生物诸如细菌和真菌的污染作用而保存的。无菌可注射溶液可通过将所需量的治疗剂，按照所需，与上面列举组分的一种或它们的组合一起，加入到合适溶剂中，然后过滤除菌来制备。通常，通过将治疗剂加入含有基底分散体介质和上面所列的所需其他成分的无菌载体中来制备分散体。在制备用于无菌可注射溶液的无菌粉时，制备的方法是从其前面的过滤除菌溶液真空干燥且冷冻干燥生产活性成分（即治疗剂）外加任何额外所需成分的粉末。

还提供了适于作为气雾剂通过吸入施用的药物制剂。这些制剂含有所需的本文任何式的化合物或者这种化合物众多固体颗粒的溶液或混悬液。可将所期望的制剂置于小室内并雾化。雾化可通过压缩空气或通过超生能实现，以形成众多含有药剂或盐的液滴或者固体粒子。液滴或固体粒子应当具有范围是约 0.5 至约 5 微米的粒度。以本领域已知的任何合适方式诸如微粉化处理本文所述任何式的固体药剂或其盐可获得固体粒子。固体粒

子或液滴的大小为，例如，约1至约2微米。在这个方面，可使用市售的喷雾器来实现这个目的。

适于作为喷雾剂施用的药物制剂可以是以液体的形式，在含水载体中，该制剂含有水溶性的本文所述任何式的药剂或其盐。当进行雾化时，可存在表面活性剂，该表面活性剂使制剂表面张力降低至足以导致期望粒度范围内的液滴的形成。

本发明的组合物还可局部地施用于受治疗者，例如通过在受治疗者的表皮或上皮组织直接涂上或展开该组合物，或者经由“贴剂”经皮用药。这种组合物包括，例如，洗剂、乳膏、溶液、凝胶和固体。这些局部用组合物可包含有效量（通常至少约0.1%或者约1%至约5%）的本发明药剂。局部施用的适宜载体一般作为连续薄膜而在皮肤适当位置上保留，并且抵抗由排汗或在水中浸泡导致的去除。通常，载体性质是有机的，并且能够使治疗剂分散或溶入其中。载体可包括药学上可接受的润肤剂、乳化剂、增稠剂、溶剂及类似物。

用于达到系统性递送主题药剂的其他组合物包括舌下、口腔和鼻用的剂型。这种组合物一般含有一种或多种的可溶性填充物质，诸如蔗糖、山梨醇和甘露醇；和粘合剂，诸如阿拉伯胶、微晶纤维素、羧甲基纤维素和羟丙甲基纤维素。以上公开的助流剂、润滑剂、甜味剂、着色剂、抗氧化剂和调味剂也可包括其中。本发明的化合物也可胃肠外、腹腔内、脊柱内或大脑内施用。对于这种组合物，可将本发明化合物在甘油、液态聚乙二醇、及其混合物中，和在油中制备。在常规储存和使用条件下，这些制品可含有防腐剂，以防止微生物的生长。

为了非胃肠外施用而施用本发明化合物，将该化合物用一种防止其失活的材料包衣或者共同施用是有用的。例如，可以以适宜的载体，例如脂质体或稀释剂对受治疗者施用本发明化合物。药学上可接受的稀释剂包括盐水和含水的缓冲溶液。脂质体包括水包油包水 CGF 乳液以及常规的脂质体。

根据本发明的药物组合物还可通过常规的方法包衣，一般用 pH 或时间依赖型包衣，以使本发明化合物在所期望位置附近或以各种时间释放，

以延长所需的作用。这种剂型一般包括，但不限于乙酸邻苯二甲酸纤维素酯、聚乙烯乙酸邻苯二甲酸酯、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素酯、乙基纤维素、蜡以及虫胶中一种或多种。

可将本发明化合物包装为药盒的一部分，所述试剂盒任选地包括容器（例如，包装，盒子，小瓶，等）。药盒可根据本文所述的方法商业上使用，而且可包括本发明方法使用说明书。另外的药盒组份可包括酸、碱、缓冲剂、无机盐、溶剂、抗氧化剂、防腐剂、或金属螯合剂。另外的药盒组份可以以纯组合物，或者以含水的或有机的加入了一种或多种的额外药盒组份的溶液存在。任何的或所有的药盒组份任选地另外含有缓冲剂。

### VII. 剂量

释放根据本发明的化合物时，剂型可在体内施用至人类患者后提供相应的3APS。应理解，适当的剂量取决于普通熟练医师、兽医或研究者的知识范围内的许多因素（例如，参见Wells等编辑的《药物治疗手册》

（Pharmacotherapy Handbook），第二版，Appleton和Lange，斯坦福市，康涅狄格州.(2000); PDR药典, Tarascon Pocket Pharmacopoeia (塔拉司孔袖珍药典) 2000, 精装版, Tarascon出版社, Loma Linda, 加利福尼亚州(2000))。本发明化合物的剂量可变化，例如，取决于各种因素，包括所用特定药剂的活性，受治疗者的年龄、体重、总的健康、性别以及饮食，施用的时间，施用的途径，排泄的速度，以及任何药物的组合，如适用，执业者期望的化合物对受治疗者所具有的作用，以及化合物的性质（例如，生物利用率，稳定性，效力，毒性，等）。使用本文所述的检验可确定这种适当的剂量。当对人施用一种或多种本发明化合物时，医师可以，例如，起初开出相对较低剂量的处方，随后增加剂量直至获得适当的反应。

示例性剂量包括化合物的毫克或微克数每公斤受治疗者或样本重量（例如约50微克每公斤至约500毫克每公斤，约1毫克每公斤至约100毫克每公斤，约1毫克每公斤至约50毫克每公斤，约1毫克每公斤至约10毫克每公斤，或约3毫克每公斤至约5毫克每公斤）。另外的示例性剂量包括，约5至约500mg、或约25至约300mg、或约25至约200mg，优选地，约50至150mg，更优选地，约50、约100、约50mg约200mg或约

250mg 的剂量，而且优选地，每日一次或每日两次，或者更低或更高的量。作为对比，3APS 本身的示例性剂量包括每公斤受治疗者约 2-3 毫克 3APS（每日两次）。同样参见 2005 年 4 月 12 日提交的 US 11/103,656，其通过引用并入本文。

为了施用的方便和剂量的均一，以剂量单位形式配置胃肠外组合物一般是有利的。术语“单位剂量形式”是指物理上的离散单位，适于作为人类受治疗者和其他哺乳动物的单一剂量，每个单位含有计算产生期望治疗作用的预定量的活性物质，以及合适的药物载体。在一种实施方案中，以单位剂量形式制备根据本发明的组合物，每个剂量含有从约 50mg 至约 500mg，更优选地约 100mg 至约 300mg 的根据本发明的化合物。同样参见 2005 年 4 月 12 日提交的 US 11/103,656，其通过引用并入本文。本发明剂量单位形式的规格是可改变的，而且受支配于和直接地取决于(a) 治疗剂的独特特征以及要取得的特定治疗作用，和(b) 配制这种治疗剂以治疗受治疗者中淀粉样沉积的领域中内在的限制。

使用已知的方法、以有效实现预期目的（例如预防或治疗 AD，获得特定的 3APS 水平，等）的剂量和时段，可实现本发明化合物和组合物对待治疗的受治疗者的施用。剂量方案可调整，以提供最佳的治疗反应。例如，每日可施用几个分开的剂量，或者按治疗情况的迫切性所指示的，按比例地减少剂量。

在一种实施方案中，以足以抑制受治疗者（优选人类受治疗者）中淀粉样沉积的治疗有效剂量施用本发明化合物。当涉及淀粉样沉积时，相对于未治疗受治疗者，“治疗上有效的”剂量抑制淀粉样沉积，例如，至少约 20%，或者至少约 40%，甚至至少约 60%，或者至少约 80%。

在一种实施方案中，本发明化合物以治疗上有效预防或治疗阿尔茨海默病的剂量施用。当涉及阿尔茨海默病时，“治疗上有效的”剂量使认知功能稳定或防止认知功能的进一步降低（即，预防、减缓或停止疾病的进展）。

## VII. 化合物、组合物及剂型的应用

本发明的另一个方面涉及通过施用有效量的本发明化合物抑制神经细胞死亡的方法。另外一方面，本发明涉及对患有 A $\beta$  淀粉样相关疾病例如阿尔茨海默病的受治疗者提供神经保护的方法，该方法包括对受治疗者施用有效量的本发明化合物以提供神经保护。如本文所用的，术语“神经保护”包括保护受治疗者神经细胞避免细胞死亡，该细胞死亡可能导致下列过程的启动，例如但不限于：细胞骨架的去稳定化；DNA 片段化；水解酶如磷脂酶 A2 的活化；半胱天冬酶、钙激活蛋白酶和/或钙激活核酸内切酶的活化；巨噬细胞介导的炎症；钙内流入细胞；细胞中膜电位改变；导致细胞间交流下降或不存在的细胞联结的破坏；以及细胞死亡中所涉及的基因表达的活化

根据一种优选的实施方案，本发明化合物和组合物用于下述一种或多种：预防阿尔茨海默病，治疗阿尔茨海默病，或改善阿尔茨海默病症状，调节淀粉样  $\beta$  (A $\beta$ ) 肽的产生或水平，预防、减少或抑制受治疗者中淀粉样沉积，以及治疗或预防淀粉样相关的疾病。

使用下列任何机理（该清单意味着示例说明性的而不是限制性的），本发明的化合物和药物组合物可发挥改善  $\beta$ -淀粉样相关疾病进程的作用：减慢  $\beta$ -淀粉样纤维形成或沉积的速度；减小  $\beta$ -淀粉样沉积的程度；抑制、减少或预防淀粉样纤维的形成；抑制  $\beta$  淀粉样诱导的神经退化或细胞毒性；抑制淀粉样诱导的炎症；增强大脑中  $\beta$ -淀粉样的清除；增强大脑中 A $\beta$  的降解；或者有助于淀粉样蛋白在纤维中组织之前清除，和降低 CSF 或血浆中 A $\beta$ 42:A $\beta$ 40 的比率。在另一种实施方案中，本发明涉及一种改善患 AD 的受治疗者认知的方法。该方法包括施用有效量的本发明治疗性化合物，以使受治疗者的认知改善。使用本领域已知的方法诸如临床痴呆分级 ("CDR")、简易智能状态检查 ("MMSE")、痴呆致残性评估 ("DAD")、以及阿尔茨海默病评价量表-认知 ("ADAS-Cog")，受治疗者的认知可进行检测。如果在使用本发明方法治疗的受治疗者相比于安慰剂组成员、历史对照的表现之间，或者同一受治疗者后续检查之间存在可测量的差异，那么本发明环境中的认知的改善是存在的。本发明还涉及一种通过对受治疗者施用

有效量的本发明治疗性化合物，治疗、减慢或停止与认知障碍有关的 $\beta$ 淀粉样相关疾病的方法，其中，通过上述任何检验法测量的受治疗者的认知年衰退得到改善。

应当理解，无论值和范围在本文何处提供，例如，在受治疗者群的年龄、剂量、和血液水平中，这些值和范围所包括的全部值和范围意味着包含在本发明的范围内。此外，在这些数值和范围中的所有值还可以是范围的上限值或下限值。

### VIII. 联合疗法

在某些实施方案中，根据本发明的化合物和组合物可以在联合疗法中与至少一种其他的治疗剂一起使用。根据本发明的前体药物化合物和至少一种其他治疗剂可以加和地，或者在某些实施方案中协同地起作用。在某些实施方案中，本发明的化合物可以与另一种治疗剂的施用同时施用。在某些实施方案中，本发明化合物可以在另一种治疗剂的施用之前或之后施用。所述至少一种其他的治疗剂可以有效地治疗相同的或不同的疾病、病症、或病状。

本发明的方法包括一种或多种本发明的化合物或药物组合物和一种或多种其他治疗剂的施用，条件是联合施用不会抑制一种或多种本发明化合物的治疗功效和/或不产生不利的联合作用。

在某些实施方案中，本发明的组合物可以与另一种治疗剂的施用同时施用，所述另一种治疗剂可以作为含有本发明的化合物的相同药物组合物的一部分，或者来自含有本发明化合物的不同的组合物。在某些实施方案中，本发明的化合物可以在另一种治疗剂的施用之前或之后施用。在某些联合疗法的实施方案中，联合疗法包括本发明组合物与含有另一种治疗剂的组合物的施用之间的交替，例如，以使与特定药物相关的副作用最小化。当本发明的化合物是与另一种潜在地可产生副作用（包括但不限于毒性）的治疗剂同时施用时，该治疗剂可以有利地以降于引起副作用的阈值之下的剂量施用。

在某些实施方案中，药物组合物可进一步地包含增强、调节和/或控制释放，生物利用率、治疗功效、治疗效力、稳定性及类似性质的物质。例

如，为了增强本发明化合物的治疗功效，该化合物可与一种或多种的活性剂共同施用，以提高该化合物从胃肠道的吸收或扩散，或者抑制药物在体循环中的降解。在某些实施方案中，至少一种本发明化合物可与具有增强 3APS 治疗功效的药理作用的活性剂共同施用。

在某些实施方案中，本发明的化合物或药物组合物包括另一种可以非处方或凭处方获得的治疗药物，或者可与其一起对患者施用。美国专利申请第 2005/0031651 号 (通过引用并入本文) 提供了可根据本发明联合使用的“治疗性药物”的长但非穷尽目录。与本发明化合物或药物组合物一起使用的、优选的治疗性药物是在预防或治疗阿尔茨海默病或其症状方面有用的治疗性药物，包括但不限于多奈哌齐(Aricept™)，美金刚(Namenda™)，卡巴拉汀(Exelon™)，加兰他敏(Reminyl™与 R-氟比洛芬(Flurizan™)。根据本发明的化合物和组合物还可以与疫苗和抗体相组合，用于预防或治疗 AD。

在另一实施方案中，本发明化合物与 3APS 共同施用。

#### IX. 检验本发明化合物的标准方法

使用各种体外检验或体内检验，可以对根据本发明的化合物进行分析、检测或验证，以便确定它们的安全性、生物利用率、神经保护、它们的递送 3APS 能力，等。下面是为评价本化合物而进行的生物检验类型的示例性说明。

##### *i) 前体药物体内酶促裂解的测定*

对于口服施用的前体药物，通常期望该前体药物在胃肠道内时保持完整 (即，未裂解)，而在体循环内被裂解 (即，释放母体药物)。通过胃肠道吸收前体药物的机理和动力学可以至少部分地确定稳定性的有用水平。通过体循环中前体药物和母体药物的药物动力学可以至少部分地确定不稳定性的有用水平。通常，在 Caco-2 S9 和/或胰酶检验中较稳定，而在大鼠血浆、人血浆、大鼠肝 S9、和/或人肝 S9 制品中较不稳定的前体药物可以用作口服施用的前体药物。检测前体药物体外酶促裂解的结果可用于选择体内检验的前体药物。

##### *ii) 前体药物的体内生物利用率*

提供的相应母体药物的生物利用率大于以相同途径（例如，口服施用）对患者施用的、等摩尔母体药物所提供的生物利用率的前体药物可用作治疗剂。使用本领域熟知的方法，可以在体内（人和实验室动物）测量本发明化合物以及所释放 3APS 的生物利用率。本文的实施例 3 提供了一种评价小鼠中生物利用率的示例性方法。

#### *iii) 体内检验：动物模型*

对于根据本发明化合物的功效和/或效力，可使用各种动物模型。例如，某些转基因动物模型已有人描述，例如，美国专利第 5,877,399; 5,612,486; 5,387,742; 5,720,936; 5,850,003; 5,877,015, 和 5,811,633 号，以及 Ganes 等(《自然》1995, 373:523)中。优选的是显示出与 AD 病理生理相关的特征 的动物模型。对本文所述的转基因小鼠施用本发明化合物抑制剂，提供了一种证明该化合物抑制活性的替代方法。药学上有效载体中的化合物的施用和以适当治疗量达到靶组织的施用途径同样是优选的。

#### *iv) 毒性*

可以监测各种不同的参数来评估毒性。这种参数的实例包括，但不限于，细胞增殖，通过基因或蛋白表达分析来监测毒理学响应的细胞通路的活化，DNA 片段化，细胞膜组成的改变，膜渗透性，死亡受体或下游信号传导通路组分（例如，半胱天冬酶）的活化，一般应力的响应，NF- $\kappa$ B 活化和对有丝分裂的响应。使用相关的检验来检验凋亡（一种程序性细胞死亡的过程）和坏死，包括 cGMP 形成和 NO 形成。

在细胞培养或实验动物中通过标准药学方法可以测定本发明化合物和组合物的毒性与治疗功效，例如，测定 LD50（50%群体致死的剂量）和 ED50（50%群体治疗上有效的剂量）。毒性与治疗作用的剂量比率是治疗系数，而且可表示为比率 LD50/ED50，通常，治疗系数越大，越有效。尽管可以使用表现毒副作用的药剂，为了将对未患病细胞的损害最小化并，借此，减小副作用，应当小心地设计将该药剂靶向于患病组织的递送系统。

#### *v) 神经保护*



下面是可进行以评估抑制性药剂是否具有抗神经细胞损伤或疾病的保护作用的生物学检验类型的示例性说明。

#### *a. 形态学改变*

许多细胞类型中的凋亡是与被改变的形态学外观相关联的。这种改变的实例包括，但不限于，质膜发泡，细胞形状改变，基质粘附性质丧失。这种改变易于用光学显微镜检测到。用染色体的裂解和解体同样地可检测正在凋亡的细胞。这些改变可用光学显微镜和/或 DNA 或染色质特异性染料检测。

#### *b. 被改变的膜渗透性*

正在凋亡的细胞膜常常变得可渗透逐渐增加。使用活体染料（例如，碘化丙啶和锥虫蓝），可以容易地检测在膜性质方面的这种改变。可用染料检测坏死细胞的存在。例如，某些方法利用了可从 Molecular Probes 公司获得的绿色荧光 LIVE/DEAD™ 细胞毒性试剂盒#2。染料特异性地与细胞胺基团反应。在坏死细胞里，全部的游离胺内容物可用于与染料反应，因此，得到强烈的荧光染色。相比之下，活细胞仅细胞表面胺可用于与染料反应。因此，相对于坏死细胞，活细胞的荧光强度被显著地减小（参见，例如，Haugland, 1996 荧光探针与研究用化学品手册（Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals），第六版, Molecular Probes, 俄勒冈州）。

#### *c. 线粒体膜电位的功能障碍*

作为高级有机体细胞中主要的能量来源，线粒体提供对各种细胞过程的直接及间接生化调节。这些过程包括电子传递链活性，它驱使氧化性磷酸化从而产生三磷酸腺苷（即, ATP）形式代谢能量。线粒体活性的改变或缺陷可导致被称作“通透性转变”或线粒体通透性转变的线粒体萎陷。适当的线粒体功能要求维持跨膜建立的膜电位。膜电位的消散阻止 ATP 合成并因此停止或限制了生命生化能量来源的生产。

因此，为评价毒性和细胞死亡设计的多种检验涉及监测检测药剂对线粒体膜电位或对线粒体通透性转变的作用。一种方法是利用荧光指示剂（参见，例如, Haugland, 《1996 荧光探针与研究用化学品手册》（1996 Handbook

of Fluorescent Probes and Research Chemicals), 第六版, Molecular Probes 公司, 俄勒冈州, pp. 266-274 和 589- 594)。也可利用各种非荧光探针 (参见, 例如, Kamo 等, (1979) *J. Membrane Biol.* 49:105)。线粒体膜电位还可从线粒体通透性间接地测定(参见, 例如, Quinn (1976) 《细胞膜的分子生物学》(The Molecular Biology of Cell Membranes), 帕克大学出版社, 巴尔的摩市, 马里兰州, pp. 200-217)。Dykens 等的 PCT 公布 WO 00/19200 中进一步提供了进行这种检验的方法指南。

#### d. 半胱天冬酶活化

凋亡是程序性细胞死亡的过程, 涉及遗传程序的激活, 此时细胞不再被需要或已严重损伤。凋亡包括一系列生化事件, 而且是在许多不同基因调节下。一组基因起到凋亡效应器的作用, 被称作基因的白介素-1 $\beta$  转化酶 (ICE) 家族。这些基因编码在凋亡中活性被提高的半胱氨酸蛋白酶家族。蛋白酶的 ICE 家族一般被称作半胱天冬酶。名称中的“C”表明该酶是半胱氨酸蛋白酶的事实, 而“半胱天冬酶 (Caspase)”是指这些酶在天冬氨酸残基后裂解的能力。

因此, 一些凋亡检验是基于半胱天冬酶在凋亡过程中被诱导的发现。通过监测这些酶特异性识别底物的裂解, 可检测这些酶的诱导。许多天然的和合成的蛋白底物是已知的(参见, 例如, Ellerby 等(1997) *J. Neurosci.* 17:6165; Kluck 等(1997) *Science* 275:1132; Nicholson 等(1995) *Nature* 376:37; 以及 Rosen 和 Casciola- Rosen (1997) *J. Cell Biochem.* 64:50)。美国专利第 5,976,822 号中描述了制备可在这些检验中使用的许多不同底物的方法。该专利还描述了使用可适应本文所述的某种微流装置的完整细胞而进行的检验。使用 FRET 技术的其他方法被描述于 Mahajan 等(1999) *Chem. Biol.* 6:401-9; 和 Xu 等(1998) *Nucl. Acids. Res.* 26:2034-5。

#### e. 细胞色素 C 的释放

在健康细胞中，内部的线粒体膜对巨大分子是不可渗透的。因此，细胞凋亡的一个指标是细胞色素 C 从线粒体中释放或渗漏。由于蛋白的内在吸收性质，使用光谱方法可实施细胞色素 C 的检验。因此，一种使用当前装置的检测选择是将细胞置于容纳空间中，并监测细胞色素 C 在特定吸收波长的吸收率。或者，使用标准免疫学方法（例如，ELISA 检验），用一种特异性结合细胞色素 C 的抗体可检测该蛋白（参见，例如，Liu 等(1996) Cell 86:147）。

#### *f. 细胞裂解检验*

细胞死亡的最终阶段一般是细胞裂解。当细胞死亡时，它们一般向它们的周围释放化学物质混合物，包括核苷酸和多种其他物质（例如，蛋白质和糖类）。一些被释放的物质包括 ADP 和 ATP，以及在过量 ADP 存在时催化 ADP 向 ATP 的转化的酶，腺苷酸环化酶。因此，某些检验包括在检验介质中提供充足的 ADP，以驱使平衡朝向可随后经由许多不同手段检测的 ATP 生成。一种这样的方法是利用对于本领域普通技术人员而言是熟知的荧光素/荧光素酶系统，其中荧光素酶利用 ATP 和底物荧光素来产生一种光度学上可检测的信号。涉及可实施的某些细胞裂解检验的进一步细节列于 PCT 公布 WO 00/70082。

#### *g. 缺血性模型系统*

Aarts 等(Science 298:846-850, 2002)讨论了检验一种化合物是否能赋予抗缺血和中风的神经学保护作用的方法。通常，这种检验包括使大鼠经受中间脑动脉梗塞（MCAO）相对较短的一段时间（例如，约 90 分钟）。使用各种方法，包括管腔内缝合方法（参见，例如，Longa, E. Z.等(1989) Stroke 20:84；以及 Belayev, L.等(1996) Stroke 27:1616），可诱导 MCAO。使用常规的方法（例如，通过静脉内注射），将一种含假设抑制剂的组合物引入大鼠。为了评价该组合物的预防作用，在实施 MCAO 之前施用该组合物。如果待评价化合物缓解已发生缺血事件的能力，那么在已经启动 MCAO 后引入含有该化合物的组合物。然后，应用神经学功能的各种量度，评价大脑梗死的程度。这种检测的实例包括姿势反射检查(Bederson, J. B.等 (1986)

Stroke 17:472)和前肢放置检查(De Ryck, M.等(1989) Stroke 20:1383)。Aarts 等还描述了使用体外检验评价 NMDA 诱导兴奋毒性作用的方法。

#### *h. MTT 细胞毒性检验*

MTT 检验是另外一种已广泛应用于评价神经元细胞内细胞毒性的检验。根据制造商的建议,使用溴化 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑盐(MTT)检验(Trevigen, Gaithersburg, Md.),可评价细胞毒性。

#### *i. 锥虫蓝细胞活力检测*

使用锥虫蓝排斥法,可检测细胞活力(Yao 等, Brain Res., 889, 181 -190 (2001 ))。

#### *j. 细胞 ATP 水平的测定*

细胞 ATP 水平可以是细胞活力的指标。使用 ATP Lite-M®荧光检验(Packard BioSciences Co.),可检测细胞 ATP 浓度。例如,在这种检验中,一般在黑色 96 孔 View Plate®上培养细胞,而且根据制造商的建议在 TopCount NXT®计数器(Packard BioSciences Co.)上检测 ATP 浓度。

#### *vi) 胃肠吸收*

需要时,可对根据本发明化合物或药物进一步地分析、检验或验证它们被肠(gut)和/或肠(intestine)吸收的能力。

使用多种体外,原位和体内模型,可评估候选药物的肠渗透性和转运(Balimane 等(2000) J Pharmacol Toxicol Methods 44:385-401 ;Hidalgo I. (2001) Curr Top Med Chem 1 :385-401, Hillgreen K, Kato A 和 Borchardt R. (1995) 15:83-109)。

例如,平行人造膜渗透性(PAMPA)检验和以细胞为基础的体系诸如 Caco-2 和 Mardin-Darby 犬肾脏(MDCK)细胞是体外模型中最常使用的。PAMPA 模型由溶于惰性有机溶剂中形成一种模拟肠道上皮人造脂质膜的卵磷脂/磷脂混合物包覆的疏水性过滤材料组成。Caco-2 细胞,一种人结肠腺瘤,在培养中经历了自发的肠细胞分化,而且成为具有非常结实紧密连接,类似于人肠上皮细胞的极化细胞。Caco-2 细胞模型已经成为制药工业

和学术界中在检查药物渗透性方面最普遍且最广泛表征的基于细胞的模型。可选地，同样形成紧密连接且形成单层极化细胞的 MDCK 细胞被使用。

同样可以实施一种原位研究诸如肠灌注来评估药物吸收。单独的肠片段包含吸收细胞和下面的肌肉层。如一般所使用的，这种技术仅允许从粘膜侧取样；药物消失被假定等于药物吸收。通常，为了评估肠渗透性，与体外和/或原位研究平行地进行整个动物吸收研究（药代学研究）。通常，药物在动物中的吸收被认为是在人中吸收的良好预测值。

#### vii) 胃肠毒性

可对根据本发明的化合物或药物进一步地分析、检测或验证胃肠道（GI）毒性。通过执行标准系列的通用毒理学评价，可以可靠地确立化合物的体内胃肠毒性。通常，来自 EU、OECD、ICH、FDA 和 JMOHW 的管理检测指南被用作准备这种评价研究流程的参考材料。在北美，毒理学评价的进行通常是遵循美国食品药品监督管理局法典（联邦法规 21 篇，第 58 部分），非临床研究良好实验室规范（1978 年 12 月 22 日发布，联邦公报附加后续修订）。

在这种特定化合物毒性的非临床评价上下文中，GI 毒性可具体通过监测体重增加、受试者排出物（具体地是指呕吐物和粪便）的总检查以及监测食物/水消耗（欲望）评价。此外，至非临床毒理学评价终止时，互补于前述的“活体的”观察，将受试者的胃肠道组织固定和处理至载玻片（slide stage），并随后由经培训的病理学者对所述组织进行组织病理学检查，是有用的工具。

#### vii) 穿越血脑屏障 (BBB)

血脑屏障 (BBB) 是一种将血液从下层的脑细胞隔离开，对脑细胞提供保护并且保持大脑体内平衡的非常专业化的内皮细胞屏障系统。大脑内皮在限制分子通过的细胞之间具有紧密连接的复杂排列。通常，BBB 对小分子和亲脂分子是可渗透的，但是较大的分子通常不能被转运穿过，除非存在可利用的主动转运系统。因此，这是药物递送障碍物之一。另一个问题是将药物回泵出细胞的非常有效的药物外流系统（P-糖蛋白）。

如果需要, 可对根据本发明的化合物进一步地分析、检验或验证它们穿越 BBB 的能力。在药物开发过程中, 可以利用许多体外、体内和计算机模拟(in-silico)方法来模拟 BBB(Lohmann 等, (2002) Predicting blood-brain barrier permeability of drugs: evaluation of different in vitro assays(预测药物的血脑屏障渗透性: 不同体外检验的评价) . *J Drug Target* 10:263-276; Nicolazzo 等(2006) Methods to assess drug permeability across the blood-brain barrier (评价药物穿越血脑屏障渗透性的方法) . *J Pharm Pharmacol* 58:281-293)。体外模型包括原代内皮细胞培养和永生细胞系诸如 Caco-2、BMEC、MDCK。这些细胞作为一种筛选方法是有用的, 并且可以将化合物依 BBB 渗透性顺序适当地排序。体内模型如颈内动脉单次注射或灌注、静脉内推注, 大脑外流指数和大脑内微透析提供了关于大脑摄取的更准确信息, 而且这些可互补于新的成像技术(诸如核磁共振成像和正电子发射断层扫描法), 尽管这些方法不适于高通量渗透性评价。

#### ix) 大脑和 CSF 的水平

使用各种模型、方法和检验, 可以对根据本发明的化合物或药物的大脑和/或脑脊髓液(CSF)水平进行评价、检测或估计(参见 Potchoiba MJ, 和 Nocerini, MR (2004) *DMD* 32:1 190-1 198; Orłowska-Madjack M. (2004) *Acta Neurobiol Exp* 64: 177-188; 以及 Hocht, C, Opezza, JA 和 Taira, CA (2004) *Curr Drug Discov Technol* 1 :269-85)。

在整体动物吸收研究(药物动力学)之后的大脑取样可能是最常用的技术之一。例如, 使用小鼠中的典型非临床 PK 研究, 可以研究本发明化合物的药物动力学(PK) 状况。简单地说, 在静脉内、皮下以及口服化合物施用后的不同时间点, 采集大脑、CSF 和血浆的样品。然后, 用 LC/MS 对大脑、CSF 和血浆样品进行分析, 以确定该化合物的浓度-时间概况。

同样地, 可以使用替代的方法诸如大脑透析、带有或没有放射性荧光自显像(autoradioluminography)的放射标记化合物分布。一种典型实例是组织分布研究, 用以评价施用已知量放射标记的化合物后放射性从组织消除的时间过程, 可以确定起始剂量在大脑或 CSF 中被转运的百分比。此外,

含有脑组织冷冻切片的放射性荧光自显像具有广范围的放射浓度，可以容易地定量，以确定药物大脑的水平。

可选的，微透析提供了一种从大脑中除去药物的方法。微透析的原理是基于分子通过被连接至植入特定大脑区域内的探针的半透膜管道的小直径孔的扩散。将探针连接到灌注泵，并且用一种通过双向扩散与管道外流体相平衡的液体灌注。在收集馏分的微透析液中药物的定量分析反映了它们在流体中的浓度。

使用只是常规的实验，本领域技术人员会认识到、或能够确定，许多本文所述的特定方法、实施方案、权利要求以及实施例的等同物。这种等同物被认为是在本发明的范围内，并且被附后的权利要求所覆盖。本申请所有引用的参考文献、公告的专利以及公布的专利申请的内容在此通过引用并入。用下面的实施例进一步地说明本发明，这些实施例不应当解释为进一步的限制。

### **实施例**

本文下面所列的实施例提供了本发明某些代表性化合物的示例性合成。同样，提供了检验本发明化合物体外稳定性、微粒体代谢和小鼠生物利用率的示例性方法

除另有说明，在说明书和权利要求中所使用的表达成分量、反应条件、浓度、性质等所有数字都应当被理解为，在任何情况下用术语“约”来修饰。至少，每个数字参数应当至少依据所报道有效数字并通过应用通常舍入技术被解释。因此，除非指出相反，在本说明书及附后权利要求书中提出的数字参数是可据要获得的性质而改变的近似值。尽管提出实施方案宽范围的数字范围和参数是近似值，但是在特定实施例中提出的数值是以尽可能精确报道的。但是，任何数值固有地包含一些源自实验、检验测量、统计分析等中改变的误差。

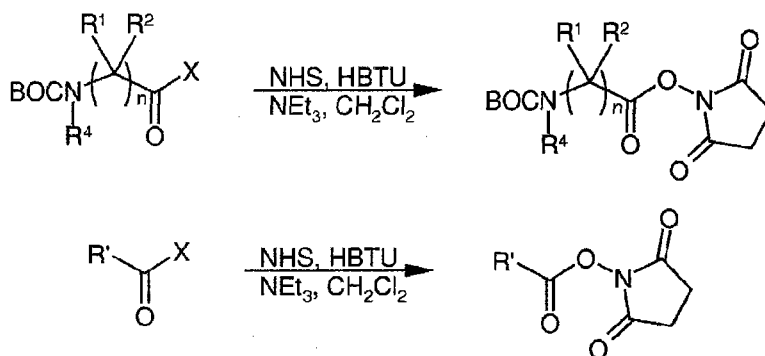
本发明还涉及新化合物及其合成。下面的具体实施例描述了如何制备各种化合物和/或实施本发明的各种方法，并且应当被解释为仅示例性的，而不是以任何方式限制前面公开的内容。本领域的技术人员将会迅速地从

操作中认识到有关反应物以及反应条件和技术适当变化。在一些情况下，化合物是可以商业上获得。

### 实施例 1-A: 氨基酸前体药物的化学合成

相应地，提出下面的实施例以示例性说明一些根据本发明化合物的氨基酸前体药物可如何制备。

#### N-羟基琥珀酰亚胺酯的制备

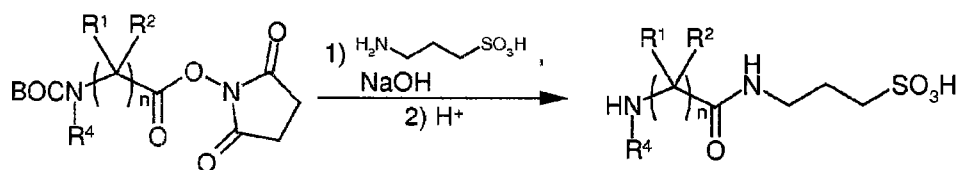


将 HBTU (*N,N,N',N'*-四甲基-*O*-(1*H*-苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲, 4.17g, 11mmol) 加入到已搅拌的 *N*-Boc-保护氨基酸或羧酸 (10mmol) 的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100mL) 溶液, 然后加入三乙胺 (1.53mL, 11mmol) 和 *N*-羟基琥珀酰亚胺 (NHS, 1.26 g, 11 mmol)。反应混合物室温搅拌 4h, 然后用 HCl (1 N) 和 EtOAc (乙酸乙酯) 稀释。分离有机层, 经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 并浓缩。将残留物在硅胶上通过闪式层析法纯化, 使用己烷-EtOAc 作为洗脱剂, 以良好产率 (约 70 至 88%) 得到相应的 *N*-羟基琥珀酰亚胺酯。

#### 制备 3-氨基-1-丙磺酸氨基酸前体药物的通用方法(方法 A 至 D):

以不同组合使用方法 A 至 D, 来生产本发明的示例性化合物。使用这些方法制备化合物 A 至 Y 的结果概述于下面的表 2 中。



方法A

将 *N*-Boc-保护氨基酸或羧酸的 *N*-羟基琥珀酰亚胺酯 (48mmol, 1.2 当量当量) 的乙腈或丙酮 (50mL) 溶液缓慢地加入到 3APS, 3-氨基-1-丙磺酸, 40 mmol, 1 当量的 2N NaOH (氢氧化钠, 23 mL, 1.2 当量) 溶液中。室温搅拌反应混合物过夜。蒸发混合物至干。将残留物与 Et<sub>2</sub>O (乙醚, 150 mL) 一起在回流下搅拌 1h。混合物冷却至室温后, 过滤固体物并真空干燥, 并根据下列处理方法中一种的进一步地纯化:

(i) 将固体物溶于水(25mL)。使溶液通过 Dowex™ Marathon™ C 离子交换柱(强酸性, 110g (5 当量), 已预洗的)。合并强酸性馏分并用浓 HCl (10 mL) 处理。50°C 搅拌混合物 30 分钟, 然后浓缩至干。将残留物与 EtOH (乙醇) 一起共蒸发, 以完全除掉水。向残留物加入 EtOH (100 mL)。将混合物在回流下搅拌 1 小时, 然后冷却至室温。经过滤收集固体物。将固体物溶于水(10 mL) 中。将溶液滴加至 EtOH (100mL)。产物缓慢地结晶。室温下搅拌该悬浮液 30 分钟。经过滤收集固体物, 而且在真空烘箱(60°C) 中干燥。

(ii) 将固体物溶于水(25mL)。使溶液通过 Dowex™ Marathon™ C 离子交换柱(强酸性, 110g (5 当量), 已预洗的)。合并强酸性馏分并减压下蒸发。使用反相闪式层析法(Biotage™ SP-1, C18 柱) 纯化残留物。对于含酯的化合物, 在从相应的馏分中除掉溶剂后得到最终的产物; 否则进入(iii)。

(iii) 将来自上面(ii)步骤的残留物与 4N HCl (3mL) 于 50°C 一起搅拌 1h。白色固体沉淀物出现。在混合物冷却至室温后, 通过过滤收集固体物、冲洗、并真空干燥, 得到最终产物。

方法B:

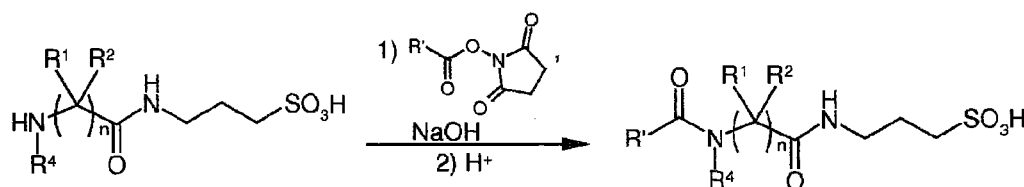
将 3APS (以钠盐形式) (3.3 mmol) 的水(5mL)溶液加入到已搅拌的、*N*-羟基琥珀酰亚胺酯(3 mmol)的 H<sub>2</sub>O/四氢呋喃/CH<sub>3</sub>CN (10/10/10 mL)混合物溶液, 然后加入 1M 碳酸钾溶液(3 mL)。搅拌反应混合物 2h, 然后加入 EtOAc。分离水层并浓缩至残留物。使用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (80-20)为洗脱液、通过硅胶柱纯化残留物, 以得到相应的 *N*-Boc-保护产物。将已纯化的 *N*-Boc-保护产物溶于二氯甲烷(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 10 mL), 随后加入 TFA (三氟乙酸, 5mL)。搅拌反应混合物 2h, 然后减压下浓缩。将残留固体物悬浮于最小量的乙醇中, 并回流下搅拌混合物 1h。冷却混合物至室温。经过滤收集固体物, 用乙醇冲洗, 并高真空下干燥, 得到最终化合物。

#### 方法 C:

将 10% Pd/C (2.15g)加至来自方法 A 或 B、含有苄醚保护基的已纯化产物(3.5 mmol)的 2N HCl (500 mL)和 MeOH (500 mL)溶液。在氢气下 (1atm) 搅拌混合物过夜。过滤悬浮液(Celite™)。用水冲洗滤饼 (2 × 25 mL)。合并滤液和冲洗液, 并减压下蒸发。用反相 HPLC(C18 柱, 0-15% 乙腈/水)纯化残留物。合并含有所需化合物的馏分并冻干, 得到最终产物。

#### 方法 D:

本方法是用于生产具有超过一个氨基酸被偶联至 3APS 的式 I 至 VI 前体药物。必要时, 重复步骤(i)或(ii), 以得到所需化合物。



(i) 根据方法 A(i), 将获得自方法 A、B 或 C 的产物进一步地与另一种 *N*-羟基琥珀酰亚胺酯反应。

(ii) 根据方法 B, 将获得自方法 A、B 或 C 的产物进一步地与另一种 *N*-羟基琥珀酰亚胺酯反应。

表 5. 根据本发明的示例性氨基酸前体药物的合成和鉴定

ID	合成方法	NMR (ppm; <sup>1</sup> H 500 MHz; <sup>13</sup> C 125 MHz) MS (电喷雾离子化)
A1	A(i)	<sup>1</sup> H NMR (D <sub>2</sub> O) δ 1.55-1.61 (m, 2H), 2.40-2.48 (m, 2H), 2.92-3.01 (m, 2H), 3.04-3.14 (m, 2H), 3.95-3.98 (m, 1H), 7.11 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.197.27 (m, 3H); <sup>13</sup> C NMR (D <sub>2</sub> O) δ 23.76, 37.02, 38.21, 48.36, 54.79, 128.19, 129.33, 129.42, 134.01, 168.94; m/z 285 (M-1).
A2	A(i)	<sup>1</sup> H NMR (D <sub>2</sub> O) δ 0.87-0.90 (m, 6H), 1.83 (qt, J = 7.2 Hz, 2H), 2.02-2.09 (m, 1H), 2.79 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.20-3.29 (m, 2H), 3.60 (d, J = 6.3 Hz, 2H); <sup>13</sup> C NMR (D <sub>2</sub> O) δ 17.20, 17.77, 24.11, 30.00, 38.29, 48.63, 58.96, 169.35; m/z 237 (M-1).
A3	A(i)	<sup>1</sup> H NMR (D <sub>2</sub> O) δ 1.82 (qt, J = 7.2 Hz, 2H), 1.90-1.95 (m, 3H), 2.28-2.33 (m, 1H), 2.78 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.22-3.33 (m, 4H), 4.21 (t, J = 7.1 Hz, 2H); <sup>13</sup> C NMR (D <sub>2</sub> O) δ 23.95, 24.07, 29.85, 38.49, 46.57, 48.53, 60.00, 169.64; m/z 235 (M-1).
A4	A(ii)	<sup>1</sup> H NMR (D <sub>2</sub> O) δ 1.30 (qt, J = 8.1 Hz, 2H), 1.57 (qt, J = 7.8 Hz, 2H), 1.75-1.85 (m, 4H), 2.77-2.80 (m, 2H), 2.87 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.17 (qt, J = 6.7 Hz, 1H), 3.31 (qt, J = 6.8 Hz, 1H), 3.83 (t, J = 6.6 Hz, 1H); <sup>13</sup> C NMR (D <sub>2</sub> O) δ 21.47, 24.12, 30.49, 38.30, 39.18, 48.63, 53.28, 169.66; m/z 266 (M-1).
A5	B	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ 0.81 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 7.84 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 1.5 (m, 1H), 1.60 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 3.20-3.30 (m, 2H), 3.82 (t, J = 7.3 Hz, 1H); <sup>13</sup> C NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ 21.48, 21.78, 24.17, 38.42, 40.08, 48.66, 52.35, 170.53; m/z 251 (M-1).
A6	A(i)	<sup>1</sup> H NMR (D <sub>2</sub> O) δ 1.84 (m, 2H), 1.99 (s, 3H), 2.04 (m, 2H), 2.47 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 3.24 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.94 (t, J = 6.6 Hz, 2H); <sup>13</sup> C NMR (D <sub>2</sub> O) δ 14.18, 24.07, 28.44, 30.09, 38.41, 48.61, 52.66, 169.46; m/z 269 (M-1).
A7	B和C	<sup>1</sup> H NMR (D <sub>2</sub> O) δ 1.81 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 3.23 (m, 2H), 3.80 (m, 2H), 3.97 (t, J = 5.0 Hz, 1H); <sup>13</sup> C NMR (D <sub>2</sub> O) δ 24.10, 38.39, 48.55, 54.85, 60.44, 167.97; m/z 225 (M-1).
A8	A(i)	<sup>1</sup> H NMR (D <sub>2</sub> O) δ 3.90 (q, 1H, J = 7 Hz), 3.23 (t, 2H, J = 7 Hz), 2.78 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 1.38 (d, 3H, J = 7 Hz); <sup>13</sup> C NMR (D <sub>2</sub> O) δ 170.90, 49.30, 48.55, 38.28, 24.10, 16.65; m/z 209 (M-1).

A9	A(i)	1H NMR (D2O) $\delta$ 3.90 (q, 1H, J = 7 Hz), 3.23 (t, 2H, J = 7 Hz), 2.78 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 1.38 (d, 3H, J = 7 Hz); 13C NMR (D2O) $\delta$ 170.90, 49.30, 48.55, 38.28, 24.10, 16.65; m/z 209 (M-1).
A10	B	1H NMR (D2O) $\delta$ 1.82 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.67 (s, 2H); 13C NMR (D2O) $\delta$ 24.13, 38.26, 40.57, 48.55, 167.08; m/z 195 (M-1).
A11	A(i)	1H NMR (D2O) $\delta$ 0.80 (t, 3H, J = 7.3 Hz), 0.86 (d, 3H, J = 6.8 Hz), 1.12 (m, 1H), 1.40 (m, 1H), 1.83 (m, 3H), 2.79 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.68 (d, 1H, J = 5.9 Hz); 13C NMR (D2O) $\delta$ 10.59, 14.22, 24.11, 24.37, 36.38, 38.29, 48.64, 58.00, 169.35; m/z 251 (M-1).
A12	A(i)	1H NMR (D2O) $\delta$ 1.84 (m, 2H), 1.99 (s, 3H), 2.04 (m, 2H), 2.47 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 3.25 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.94 (t, J = 6.6 Hz, 1H); 13C NMR (D2O) $\delta$ 14.18, 24.06, 28.42, 30.07, 38.41, 48.60, 52.66, 169.42; m/z 269 (M-1).
A13	A(i)	1H NMR (D2O) $\delta$ 1.70 (m, 2H), 2.64 (m, 2H), 3.15 (m, 1H), 3.22 (m, 3H), 4.06 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 8.55 (d, J = 1.5 Hz, 1H); 13C NMR (D2O) $\delta$ 23.94, 26.27, 38.36, 48.43, 52.59, 118.40, 126.36, 134.60, 167.96; m/z 275 (M-1).
A14	A(i)	1H NMR (D2O) $\delta$ 1.46 (s, 6H), 1.83 (m, 2H), 2.77 (m, 2H), 3.23 (t, J = 6.6 Hz, 2H); 13C NMR (D2O) $\delta$ 23.44, 24.08, 38.54, 48.61, 57.21, 173.20; m/z 223 (M-1).
A15	A(i)	1H NMR (D2O) $\delta$ 1.74 (m, 2H), 2.59 (m, 2H), 3.15 (m, 1H), 3.23 (m, 1H), 4.95 (s, 1H), 7.38 (m, 5H); 13C NMR (D2O) $\delta$ 24.00, 38.35, 48.38, 56.84, 128.05, 129.87, 130.52, 132.46, 168.90; m/z 271 (M-1).
A16	A(i)	1H NMR (D2O) $\delta$ 1.49 (m, 2H), 2.34 (m, 2H), 2.98 (m, 2H), 3.21 (m, 2H), 4.01 (m, 1H), 7.05 (t, 1H, J = 7.3 Hz), 7.14 (m, 2H), 7.39 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 7.47 (m, 1H); 13C NMR (D2O) $\delta$ 23.60, 27.14, 38.32, 48.16, 54.12, 106.83, 112.32, 118.23, 119.70, 122.35, 125.18, 126.63, 136.37, 139.57; m/z 324 (M-1).
A17	A(iii) 然后 C	1H NMR (D2O) $\delta$ 1.66 (m, 2H), 2.58 (m, 2H), 2.92 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.17 (m, 1H), 3.95 (t, 1H, J = 6.3 Hz), 6.77 (d, 2H, J = 8.8 Hz), 7.02 (d, 2H, J = 8.3 Hz); 13C NMR (D2O) $\delta$ 23.91, 36.29, 38.25, 48.42, 54.95, 116.07, 125.88, 130.91, 155.29, 169.56; m/z 301 (M-1).

A18	B	1H NMR (D2O) $\delta$ 1.77 (m, 2H), 2.74 (m, 2H), 3.19 (m, 2H), 3.75 (m, 2H), 4.05 (m, 1H), 4.42 & 4.65 (AB, J = 12.2 Hz, 2H), 7.26-7.33 (m, 5H); 13C NMR (D2O) $\delta$ 24.10, 38.43, 53.23, 67.39, 73.28, 128.63, 128.67, 128.96, 136.86, 167.55; m/z 315 (M-1).
A19	A(ii)	1H NMR (D2O) $\delta$ 7.3 - 7.2 (m, 5H), 5.05 (s, 2H), 3.83 (t, J = 6.7 Hz, 1H), 3.21 (qn, J = 7 Hz, 1H), 3.08 (qn, J = 7 Hz, 1H), 2.78 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.45 (t, J = 7 Hz, 2H), 2.05 (q, J = 7 Hz, 2H), 1.78 (m, 2H); m/z 357 (M-1).
A20	B	1H NMR (D2O) $\delta$ 1.78-1.85 (m, 4H), 2.24 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.79 (m, 2H), 2.88 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.18 (t, J = 7.0 Hz, 2H). 13C NMR (D2O) $\delta$ 23.21, 24.16, 32.70, 38.16, 38.98, 48.65, 175.06; m/z 223 (M-1).
A22		1H NMR (D2O) $\delta$ 1.84 (qn, 2H, J = 7 Hz), 2.78 (dd, 2H, J = 8.0, 6 Hz), 2.85 (ABX, 2H, J = 5.5, 7.3, 16.8 Hz), 3.24 (m, 2H), 3.61 (dd, 1H, J = 5.5, 7.3 Hz); 13C NMR (D2O) $\delta$ 24.05, 35.42, 38.46, 48.53, 50.04, 169, 171.
A28		1H NMR (D2O) $\delta$ 0.8 - 0.9 (m, 12H), 1.81 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 2.09 (m, 2H), 2.77 (t, 2H, J = 8.0 Hz), 3.20 (t, 2H, J = 6.6 Hz), 3.73 (d, 1H, J = 6.1 Hz), 3.87 (d, 1H, J = 8.9 Hz); 13C NMR (D2O) $\delta$ 16.93, 17.82, 18.36, 24.21, 29.77, 30.27, 38.08, 48.72, 58.42, 60.66, 169.45, 173.07

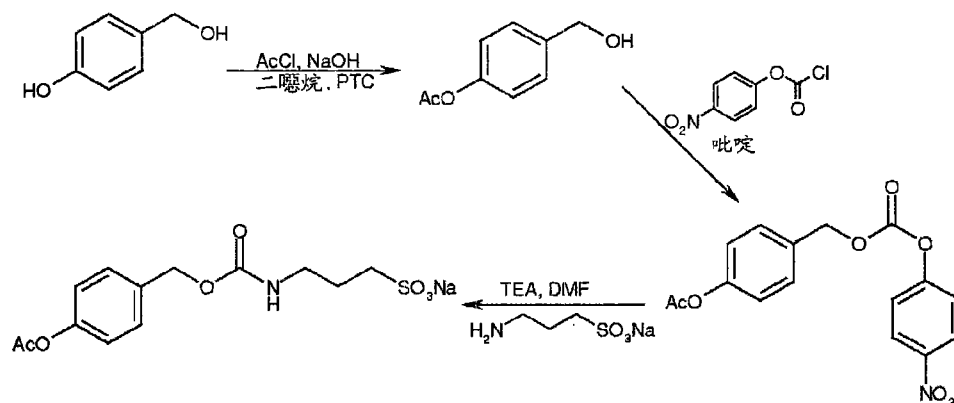
### 实施例 1-B: 氨基甲酸酯前体药物的化学合成

相应地, 提供下面的实施例以示例性说明一些根据本发明的化合物氨基甲酸酯前体药物如何制备。

#### 通用合成方法

##### 方法 A:

化合物 C1 钠盐(3-(对乙酰氧苄氧羰基)氨基-1-丙磺酸钠盐)的制备



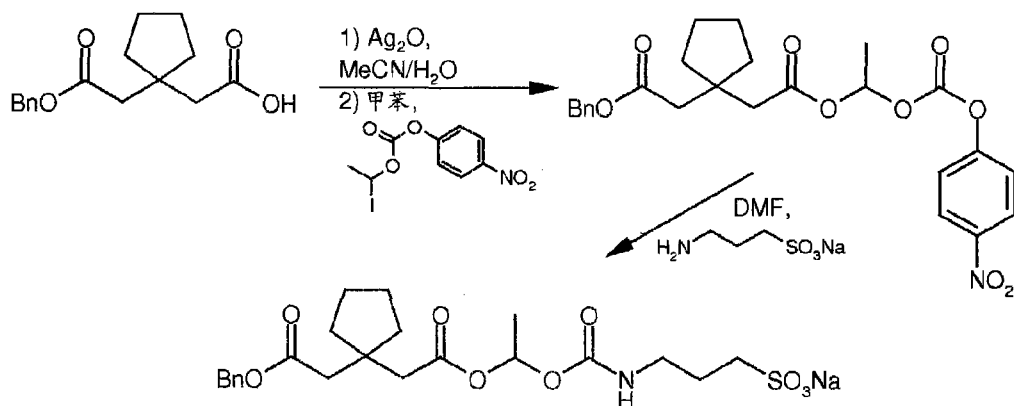
步骤 1: 将乙酰氯 (3.0 mL, 42 mmol, 1 当量) 加至 4-羟基苜醇 (5.3 g, 42 mmol)、氢氧化钠 (1.7 g, 42 mmol, 1 当量) 以及四丁基硫酸氢铵 (7 g, 0.5 当量) 在二噁烷 (100 mL) 中的混合物。室温搅拌反应混合物 4 小时, 然后蒸发掉溶剂。将残留物溶于水并且用 EtOAc 萃取水相 (3 次)。将合并的有机萃取物用盐水冲洗, 干燥并浓缩, 得到无色油。纯化 (闪式层析法; 己烷/EtOAc, 梯度模式) 提供了相应的单乙酸酯 (2.2 g, 32%)。

步骤 2: 将无水吡啶 (1.1 mL, 13 mmol, 1 当量) 滴加至已搅拌的对硝基苯酚氯甲酸酯 (4.0 g, 20 mmol, 1.5 当量) 和单乙酸酯 (取自步骤 1: 2.2 g, 13 mmol) 在无水四氢呋喃 (THF, 25 mL) 中的混合物。形成白色沉淀。室温下搅拌反应混合物 1 小时。过滤除去固体物, 并用 THF 冲洗。合并滤液和冲洗液; 然后真空下除去溶剂。用闪式层析法 (己烷/EtOAc, 80/20) 纯化残留物, 从而得到相应的碳酸酯 (2.8 g, 62%)。

步骤 3: 将步骤 2 中制备的碳酸酯 (2.2 g, 6.7 mmol, 2 当量) 加至 3-氨基-1-丙磺酸钠盐 (538 mg, 3.32 mmol) 和三乙胺 (0.90 ml, 6.7 mmol, 2 当量) 在干燥 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF, 10 mL) 中的混合物。室温下搅拌反应混合物过夜。蒸发除去溶剂。将残留物在 EtOAc 和水之间分配。用 EtOAc 冲洗水相两次, 然后冻干。HPLC 纯化 (乙腈/水, 20/80 至 90/10) 冻干的残留物, 得到目标化合物 (396 mg, 33%):  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  ppm 1.83-1.89 (m, 2H), 1.98 (s, 3H), 2.84-2.87 (m, 2H), 3.19-3.21 (m, 2H), 5.01 (s, 2H), 7.03 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.32 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H)。

#### 方法 B:

化合物 C6 钠盐 (4-氮杂-7-甲基-15-苯基-11,11-四亚甲基-6,8,14-三氧杂-5,9,13-三氧-1-十五烷基磺酸钠盐) 的制备



步骤 1: 将 3,3-四亚甲基戊二酸单苄酯(4.26 g; 15.4 mmol, 在三乙胺存在下, 通过将环状酸酐和苄醇在二噁烷中  $80^\circ\text{C}$  加热过夜制备)和氧化银(2.13g; 9.22mmol)加至乙腈(40 mL)与水(20 mL)的混合物中。将混合物  $70^\circ\text{C}$  加热共 3h, 然后冷却至室温。通过 Celite™ 垫层过滤混合物。蒸发滤液, 得到粗品羧酸银 (2.19 g, 37%), 其无需进一步纯化而用于下一步。

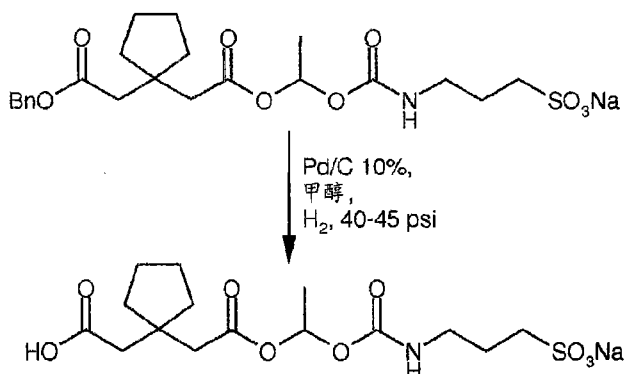
步骤 2: 将羧酸银(2.19 g, 5.71 mmol; 取自步骤 1)和氨基甲酸酯化试剂(1.00 g; 2.95 mmol; 关于制备, 参见方法 E)在无水甲苯(100 mL)中的混合物在  $50^\circ\text{C}$  加热过夜。通过 Celite™ 垫层过滤混合物, 并且蒸发滤液, 得到固体残留物, 使用己烷/EtOAc(80/20)闪式层析法纯化该残留物, 得到所需的中间产物(0.915 g, 64%)。

步骤 3: 将 3-氨基-1-丙磺酸钠盐(300 mg; 1.85 mmol)加至来自步骤 2 的中间产物(0.915 g; 1.88 mmol)的无水 DMF(5 mL)溶液中。室温下搅拌混合物过夜。蒸发除去溶剂。用制备型 HPLC 纯化残留物, 冻干后, 得到标题化合物(632 mg, 66%):  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  1.39 (d,  $J = 5.9$  Hz, 3H), 1.64-1.59 (m, 8 H), 1.97-1.91 (m, 2H), 2.49 (qAB,  $J = 15.1$  Hz, 2H), 2.57 (qAB,  $J = 15.1$  Hz, 2H), 2.82-2.79 (m, 2H), 5.10 (s, 2H), 3.26-3.14 (m, 2H), 6.74 (q,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.38-7.29 (m, 5H)。

根据本方法 (方法 B) 制备的其他化合物, 通过用甲醇和乙醚沉淀(方案(b)), 或者通过用乙腈/水(10/90 至 90/10)、以 50mL/分钟在 40 分钟内的制备型 HPLC (方案(a)), 或者通过正相闪式层析(方案(c))来纯化。

#### 方法 C:

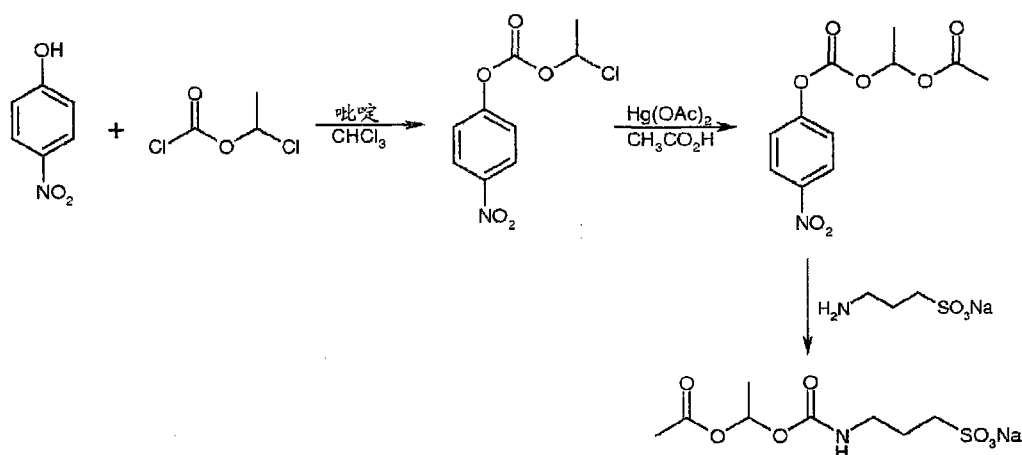
化合物 C2 钠盐(4-氮杂-12-羧基--6,8-二氧杂-5,9-二氧-7-甲基-11,11-四亚甲基-1-十二烷基磺酸钠盐)的制备。



将在甲醇 (5 mL) 中的标题化合物的相应苄酯(344 mg; 0.678 mmol), 在 Pd/C 10% (100 mg) 存在下, 以 40-45 psi 压力, 氢解 1 小时。过滤 (Celite™) 混合物, 并且蒸发滤液至干。将残留物溶于水, 并冻干该水溶液, 得到标题化合物(242 mg, 86%): <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz) δ 1.43 (d, *J* = 5.4 Hz, 3H), 1.66-1.63 (m, 8H), 1.98-1.92 (m, 2H), 2.49 (qAB, *J* = 15.6 Hz, 2H), 2.55 (qAB, *J* = 15.1 Hz, 2H), 2.83-2.80 (m, 2H), 3.24-3.21 (m, 2H), 6.77 (q, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.22 (t, *J* = 5.4, N-H)。

#### 方法 D:

化合物 C19 钠盐(4-氮杂-7-甲基-6,8,-二氧杂-5,9,-二氧-1-癸烷磺酸钠盐)的制备





步骤 1: 将 1-氯乙基氯甲酸酯(7.8 ml, 72 mmol, 1 当量)加至对硝基苯酚(10 g, 72 mmol)的氯仿(100 mL)冰冷溶液中,随后在 20 分钟的时间段内,滴加吡啶(8.8 ml, 108 mmol, 1.5 当量)。在冰冷浴中搅拌混合物 15 分钟,然后室温下过夜。对反应混合物依次用水、1 N 盐酸、水、1 N 氢氧化钠、水以及盐水进行洗涤。有机相经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,并浓缩,得到黄色油,其经放置,结晶得到相应的氯乙基碳酸酯 (15.5 g, 88%)。

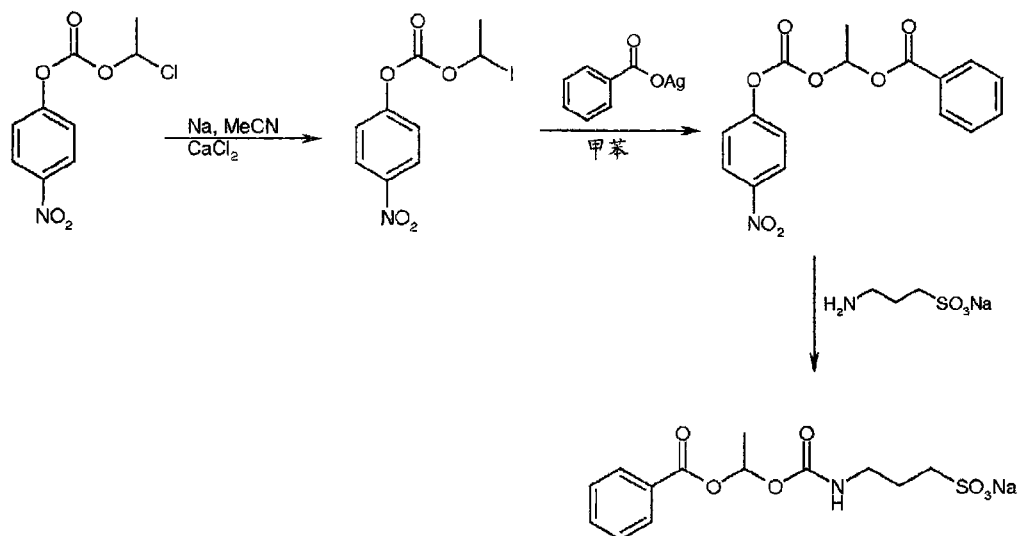
步骤 2: 将乙酸汞(9.6 g, 30 mmol, 1.2 当量)加入步骤 1 所得到的氯乙基碳酸酯(6.2 g, 25 mmol)的乙酸(150 mL)溶液中。室温下搅拌所得混合物过夜。蒸发掉溶剂。将残留物转移至乙醚中,并用  $\text{NaHCO}_3$  饱和水溶液洗涤。乙醚层经  $\text{MgSO}_4$  干燥,并浓缩,得到黄色稠油。用闪式层析法(己烷/EtOAc, 95/5)纯化该油,得到无色油状的相应乙酰氧乙基碳酸酯(6.3 g, 94%)。

步骤 3: 将步骤 2 得到的乙酰氧乙基碳酸酯(1.2 g, 4.3 mmol, 1.1 当量)加至 3-氨基-1-丙磺酸钠盐(0.63 g, 3.9 mmol)的 DMF (10 mL)溶液中。室温下搅拌黄色的溶液,过夜(这时颜色消失)。蒸发溶剂。用乙醚研磨残留物数次,残留物变为固体。经过滤收集固体物,得到标题化合物(840 mg, 74%): $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  1.42 (d,  $J = 5.4$  Hz, 3H), 1.92-1.98 (m, 2H), 2.02 (s, 3H), 2.80-2.83 (m, 2H), 3.20-3.24 (m, 2H), 6.73 (q,  $J = 5.4$  Hz, 1H)

根据本方法(方法 D)制备的其他化合物,通过 EtOAc/水萃取然后水相冻干,或者使用乙腈/水(10/90 至 90/10)、40 分钟内、以 50mL/分钟的反相 HPLC 来纯化,或者用乙醚研磨/沉淀。

#### 方法 E:

制备化合物 C16 钠盐(4-氮杂-7-甲基-6,8,-二氧杂-5,9,-二氧-9-苯基-1-辛烷磺酸钠盐)



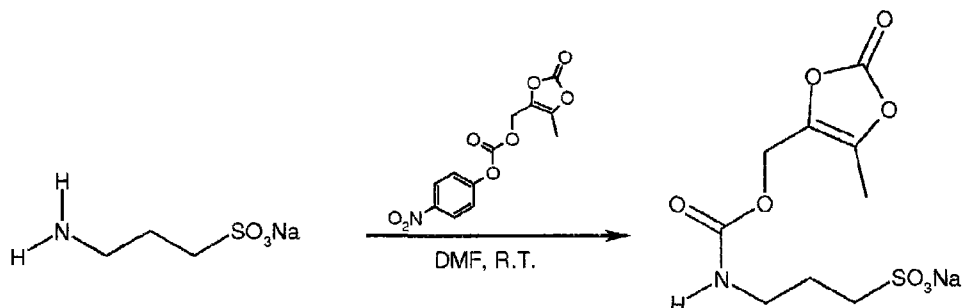
步骤 1: 将碘化钠 (14 g, 92 mmol, 3 当量) 加至氯乙基碳酸酯 (7.5 g, 31 mmol; 关于制备, 参见方法 D) 与已研碎氯化钙 (10 g, 92 mmol, 3 当量) 在乙腈 (100 mL) 中的混合物。40°C 搅拌反应混合物 4 天, 随后通过 Celite™ 垫过滤。浓缩滤液, 得到红色胶质残留物。以梯度模式、使用 EtOAc/己烷的闪式层析法纯化, 得到为淡黄色油的相应碘乙基碳酸酯 (6 g, 59%)。

步骤 2: 将苯甲酸银 (5.5 g, 24 mmol, 2 当量) 加至上面所得碘乙基碳酸酯 (4 g, 12 mmol) 的甲苯 (50 mL) 溶液中。55°C 搅拌反应混合物过夜。通过 Celite™ 垫过滤反应混合物, 并用甲苯冲洗。浓缩滤液, 得到棕色油。应用己烷/EtOAc (90/10) 闪式层析法两次重复纯化, 得到高纯度的相应苯甲酸酯 (0.98 g, 25%)。

步骤 3: 将上面获得的苯甲酸酯 (0.98 g, 2.9 mmol, 1.1 当量, 取自步骤 2) 加至 3-氨基-1-丙磺酸钠盐 (0.43 g, 2.7 mmol) 的 DMF (10 mL) 溶液中。室温下搅拌得到的黄色溶液过夜。蒸发掉溶剂并将残留物溶于水。用 EtOAc 萃取水溶液数次。将水相冻干, 得到残留物, 用制备型 HPLC (乙腈/水; 10/90 至 90/10, 40 分钟内, 以 50 mL/分钟) 纯化该残留物, 得到标题化合物 (256 mg): <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 1.48 (d, *J* = 5.4 Hz, 3H), 1.76-1.82 (m, 2H), 2.76-2.79 (m, 2H), 3.08-3.14 (m, 2H), 6.83 (q, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.39-7.42 (m, 2H), 7.55-7.58 (m, 1H), 7.89-7.91 (m, 2H)。

方法F:

化合物 C26 钠盐(3-({[(5-甲基-2-氧-1,3-间二氧杂环戊烯-4-基) 甲氧基] 羰基}氨基)-1-丙磺酸钠盐)的制备



3-氨基-1-丙磺酸钠盐(532 mg; 3.30 mmol)和碳酸酯(1.10 g; 3.73 mmol; 参考文献, *J. Med. Chem.*, 1996, 39, 480-486)在 DMF(10 mL)中的混合物, 室温搅拌过夜。真空除掉溶剂。向残留物中加入甲醇(10 mL), 然后加入乙醚(75 mL)。过滤收集所形成的固体, 并干燥过夜。再次将固体溶于甲醇(10 mL)而且用乙醚(50 mL)沉淀。用制备型 HPLC 纯化固体物, 得到为白色冻干固体的标题化合物(260 mg, 25%):  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  1.98-1.92 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 2.90-2.79 (m, 2H), 3.22 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 4.86 (s, 2H)。

表 6. 根据本发明的示例性氨基甲酸酯前体药物的合成和鉴定

ID	合成方法	纯化方案*	m/z ( $\text{ES}^-$ ) (M-H, or M-Na) <sup>†</sup>
C1	A	(a)	330.0
C2	C	(d)	394.0
C3	B, C	(a)	408.5

C4	C	(d)	326.1
C5	B	(a)	416.0
C6	B	(a)	484.0
C7	B	(a)	458.3
C8	C	(d)	368.5
C9	C	(d)	354.0
C10	B	(a)	444.1
C11	C	(d)	340.1
C12	B	(b) 和 (a)	430.2
C13	B	(b) 和 (a)	378.0
C14	B	(b) 和 (a)	372.0
C15	D	(a)	310.2
C16	E	(a)	330.2
C17	D	(a)	336.2
C18	D	(b)	296.2
C19	D	(b)	268.1
C20	D	(a)	378.1
C21	D	(a)	310.1
C22	D	(a)	296.1
C23	D	(a)	338.1
C24	D	(a)	310.0
C25	E	(b)	253.9
C26	F	(b) 和 (a)	294.0

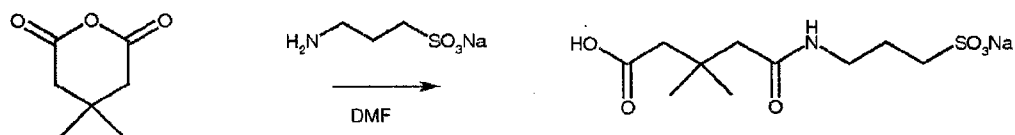
\* (a) HPLC; (b) 沉淀法; (c) 闪式层析法; (d) 过滤; (e) 萃取,  
<sup>†</sup>化合物被合成为酸形式, 或者为钠盐形式。

### **实施例 1-C: 非氨基酸酰胺前体药物的化学合成**

相应地, 提出下面的实施例以示例性说明一些根据本发明的化合物非氨基酸酰胺前体药物如何制备。

#### 方法 A:

化合物 B3 钠盐(3,3-二甲基-5-氧-5-[(3-磺酸丙基)氨基]戊酸钠盐)的制备

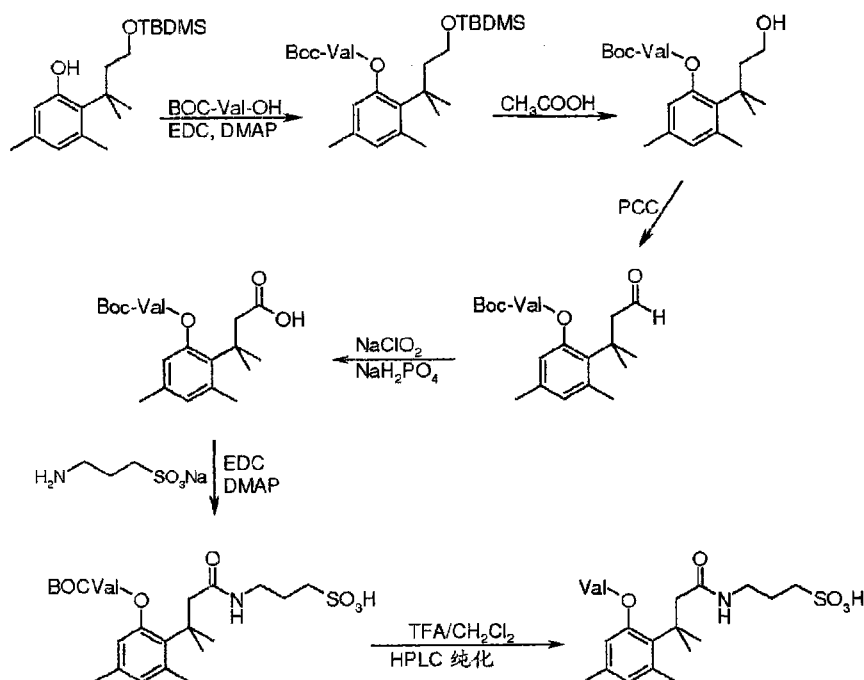


将在无水 DMF (20 mL) 中的 3,3-二甲基戊二酸酐(1.0 g; 7.0 mmol)和 3-氨基-1-丙磺酸钠盐(0.950 g; 5.86 mmol)的混合物于 50°C 搅拌 2 天。蒸发掉溶剂。向残留物中加入甲醇(~10 mL), 随后加入乙醚(~50mL)以引起沉淀。所形成的沉淀物经过滤收集, 然后溶于水中并冻干, 得到为粉末的标题化合物 (1.33 g, 75%):<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 500 MHz) δ 0.94 (s, 6H), 1.82-1.77 (m, 2H), 2.14 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.79-2.76 (m, 2H), 3.16 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H)。

对在上面方法(方法 A, 参见表 7)中制备的其他化合物, 通过甲醇-乙醚沉淀(纯化方案(b)), 或者使用制备型 HPLC(纯化方案(a)), 或者通过正相闪式层析(纯化方案(c))来纯化。化合物 B1 和 B2 的反应时间为 4 天; 其他化合物的反应时间为 2 天。

#### 方法 B:

化合物 B7 (3-[3-(2-羟基-((S)-缬氨酰酯)-4,6-二甲基-苯基)-3-甲基-丁酰氨基]-1-丙磺酸)的制备



步骤 1: 将 EDC (*N*-(3-二甲基氨基丙基)-*N*-乙基碳二亚胺) (6.4 g, 33 mmol, 3 当量)于 0°C 加至含有 Boc-Val-OH(4.9 g, 22 mmol, 2 当量)、甲硅烷基化苯酚(3.6 g, 11mmol; 参考文献, *J. Med. Chem.*, 2000, 43, 475-487)以及 DMAP (4-(二甲基氨基)吡啶, 5.5 g, 45 mmol, 4 当量)的 150-mL 无水二氯甲烷溶液中。室温下搅拌反应混合物过夜, 然后用二氯甲烷稀释, 并且依次用 NaHCO<sub>3</sub> 饱和水溶液、1N HCl 以及盐水冲洗。干燥有机层, 并浓缩至无色油残留物。纯化该残留物(闪式层析法; 使用己烷/EtOAc, 95/5), 得到为无色油的相应中间体(5.7 g, 99%)。

步骤 2: 将自步骤 1 的中间体(5.7 g, 11 mmol)在 THF-水-乙酸 (20 mL/20 mL/60 mL) 混合物中室温下搅拌 3h; 然后除掉溶剂, 并真空干燥残留物。所得到的残留物(游离醇)用于下一步, 无需进一步纯化。

步骤 3: 将醇 (11 mmol, 来自步骤 2) 的二氯甲烷(125 mL)溶液缓慢地加至 PCC (氯铬酸吡啶, 5.0 g, 23 mmol, 2.1 当量)的无水二氯甲烷(125 mL)悬浮液中。室温下搅拌反应混合物过夜。蒸发掉溶剂, 并将残留物溶于最小量的二氯甲烷中。使得到的二氯甲烷溶液通过使用己烷/EtOAc (50/50)的硅胶柱。蒸发溶剂, 得到为黄色油的相应醛, 该醛直接用于下一步, 无需进一步纯化。

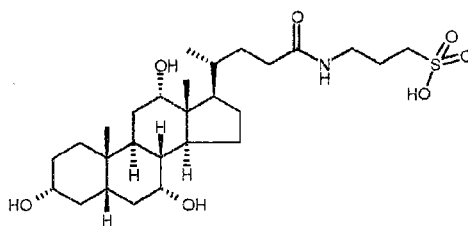
步骤 4: 将 80%亚氯酸钠(2.5 g, 28 mmol, 2.5 当量)水(10 mL)溶液于 0°C 缓慢地加至醛(11 mmol, 来自步骤 3)和磷酸二氢钠 (818 mg, 6.8 mmol, 0.6 当量) 的乙腈(20 mL)和水(20 mL)溶液中。于 0°C 搅拌混合物 1h, 然后室温下 1h。加入亚硫酸钠(1.5 g, 1 当量)来分解过氧化物, 并且用 1N HCl 溶液将 pH 调至 2。用 EtOAc 萃取反应混合物两次。用盐水冲洗有机层, 干燥并浓缩。纯化残留物(闪式层析法; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH, 100/0 至 95/5), 得到为泡沫的相应羧酸(3.4 g, 73%)。

步骤 5: 将 EDC (908 mg, 4.75 mmol, 2 当量)添加至羧酸(1g, 2 mmol; 来自步骤 4)、3-氨基-1-丙磺酸钠盐(380 mg, 2.34 mmol)以及催化量 DMAP 在 DMF(10mL)中的混合物。室温下搅拌反应混合物过夜。除掉溶剂并真空干燥残留物, 得到相应的 3-氨基-1-丙磺酸的衍生物, 其用于下一步, 无需进一步纯化。

步骤6: 室温下三氟乙酸(5 mL)加至 3-氨基-1-丙磺酸衍生物(2.4 mmol, 来自步骤5)的二氯甲烷(5 mL)溶液中。搅拌反应混合物 2h, 随后蒸发掉溶剂。纯化所得的残留物(制备型 HPLC; 乙腈/水, 5/95 至 70/30, 在 0.01 % TFA 存在下), 经冻干, 得到为白色固体的标题化合物(0.3 g, 29%):  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  1.04 (d,  $J = 7$  Hz, 3H), 1.07 (d,  $J = 7$  Hz, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.55-1.58 (m, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.45-2.58 (m, 5H), 2.98-3.02 (m, 2H), 4.26 (d,  $J = 4$  Hz, 1H), 6.54 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1 H), 6.93 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1H)。

### 方法 C:

化合物 B14: 3-[[ $(3\alpha, 5\beta, 7\alpha, 12\alpha)$ -3,7,12-三羟基-24-氧-胆甾烷-24-基]氨基]-1-丙磺酸的制备



向(+)-胆酸(5.0 g, 12.2 mmol)、3-氨基-1-丙磺酸钠盐(1.85 g, 11.5 mmol)、4-二甲基氨基吡啶(72 mg, 0.6 mmol)在 DMF (30 mL)中的混合物添加盐酸 *N*-(3-二甲基氨基丙基)-*N*-乙基碳二亚胺(EDC, 4.68 g, 24.4 mmol)。室温下搅拌反应混合物过夜。在减压下蒸发溶剂至干前, 经烧结玻璃过滤絮状混合物。将粘稠残留物溶于水(30 mL)。用 Dowex Marathon C™ 离子交换树脂(强酸性, 30 g, 已预洗的)处理所得到的溶液。搅拌悬浮液 15 分钟, 然后过滤除去树脂。减压下浓缩滤液至干并真空干燥。用乙醚(1000 mL)研磨残留物。过滤回收固体产物并真空干燥。用闪式层析法纯化粗产物(Biotage™ SP1 : 20-40% EtOH, 在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中), 收集相应的馏分并冻干得到标题化合物(178 mg, 3%);  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz)  $\delta$  ppm 0.73 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 1.02 (m, 4H), 1.31 (m, 7H), 1.52 (d, 1H,  $J = 14.5$  Hz), 1.65 (m, 6H), 1.79 (m, 3H), 1.94 (m, 3H), 2.04 (m, 3H), 2.23 (m, 1H), 2.31 (m, 1H), 2.92 (m, 2H), 3.31 (m, 2H), 3.52 (m, 1H), 3.92 (s, 1H), 4.08 (s, 1H);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 125 MHz)  $\delta$  ppm

12.31, 16.82, 22.33, 23.12, 24.30, 26.48, 27.47, 27.95, 29.37, 31.87, 32.71, 34.06, 34.54, 35.09, 35.33, 38.15, 38.49, 39.50, 41.29, 41.64, 46.27, 46.28, 48.73, 68.33, 71.69, 73.14, 177.44;  $m/z$  ( $ES^+$ ) 530;  $[\alpha]_D = +25.7^\circ$  ( $c = 0.005$ , 水)。

表 7. 根据本发明的示例性非氨基酸酰胺前体药物的合成和鉴定

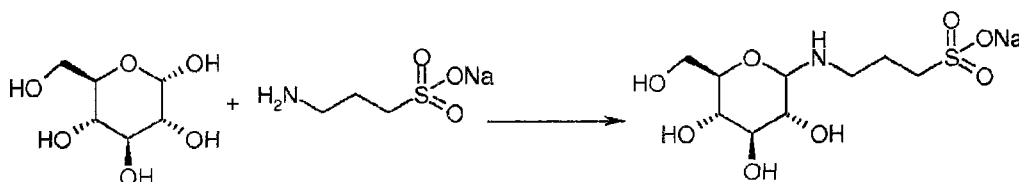
ID	合成方法	纯化方案*	$m/z$ ( $ES^-$ ) (M-H, or M-Na) <sup>†</sup>
B1	A	(a)	320.4
B2	A	(a)	306.5
B3	A	(b)	280.2
B4	A	(c)	280.3
B5	A	(b)	238.0
B6	A	(b)	525.0
B7	B	(a)	441.3
B9	B	(a)	491.4
B10	B	(a)	457.3
B11	B**	(a)	514.2
B13	B**	(a)	548.1

\* (a) HPLC; (b) 沉淀法; (c) 闪式层析法; (d) 过滤; (e) 萃取;  
\*\*方法 B, 用 *N*-甘氨酸-3-APS 代替 3-APS; <sup>†</sup>化合物被合成为酸形式, 或者为钠盐形式。

### 实施例 1-D: 糖类衍生前体药物的化学合成

相应地, 提供下面的实施例以示例性说明一些本发明化合物糖类衍生前体药物如何制备。

#### 化合物 S1 钠盐的合成

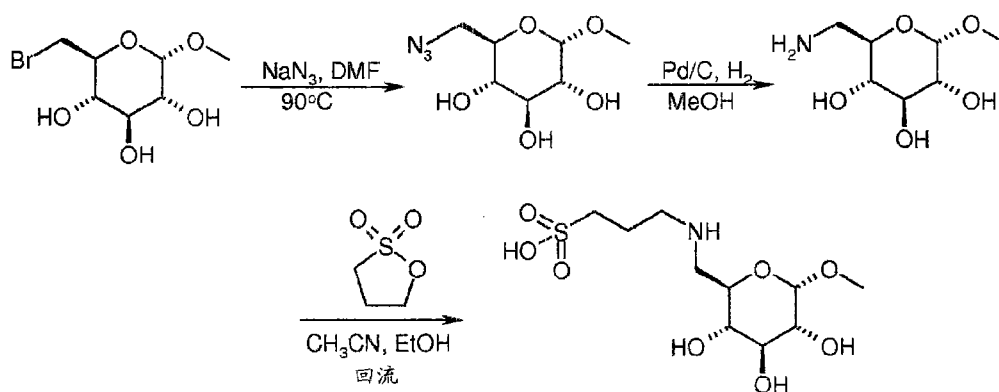


将葡萄糖(2 g, 11.1 mmol)和 3APS 钠盐(2.24 g, 11.1 mmol)在 MeOH (10



mL)中的悬浮液回流 30 分钟, 然后冷却至室温。在室温下搅拌 24h 之后, 过滤固体并用 MeOH (2×10 mL)冲洗两次。将得到的固体高真空下干燥过夜, 从而得到为白色固体的化合物 S1 的钠盐(3.1 g, 9.6 mmol, 86%)。<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O) (500MHz) δ ppm 4.55 (d, J=4.4 Hz, 0.33H, α-异头物), 3.87 (d, J=9.3 Hz, 0.66H, α-异头物), 3.74 (dd, J=12.2, 1.5 Hz, 0.66H), 3.70 (dd, J=12.7, 2.4 Hz, 0.33H), 3.61 (dd, J=12.2, 4.9 Hz, 0.33H), 3.56 (dd, J=12.2, 5.4 Hz, 0.66H), 3.53-3.49 (m, 1H), 3.33 (t, J=9.3 Hz, 0.66H), 3.25-3.20 (m, 1H), 3.05 (t, J=8.8 Hz, 0.33H), 2.83 (m, 2.66H), 2.68 (m, 1H), 2.57 (m, 0.33H), 1.78 (m, 2H). m/z (ES<sup>-</sup>) 300.0 (M-H)。

### 化合物 S2 的合成



根据 *Tetrahedron* 1991, 28(47), 5185-5192. 制备甲基 6-溴代-6-脱氧-α-D-吡喃葡萄糖苷。

步骤 1: 将溴化物(1g, 3.89mmol)和叠氮钠(278mg, 4.28mmol)在 DMF (10ml)中的已搅拌悬浮液于 90°C 搅拌 5 天。在冷却至室温后, 真空下蒸发溶液, 并且在硅胶上用层析法纯化残留物(CHCl<sub>3</sub>/MeOH 95/5 至 70/30 线性梯度), 得到所需的为白色固体的叠氮化物(776mg, 3.54mmol, 91%)。

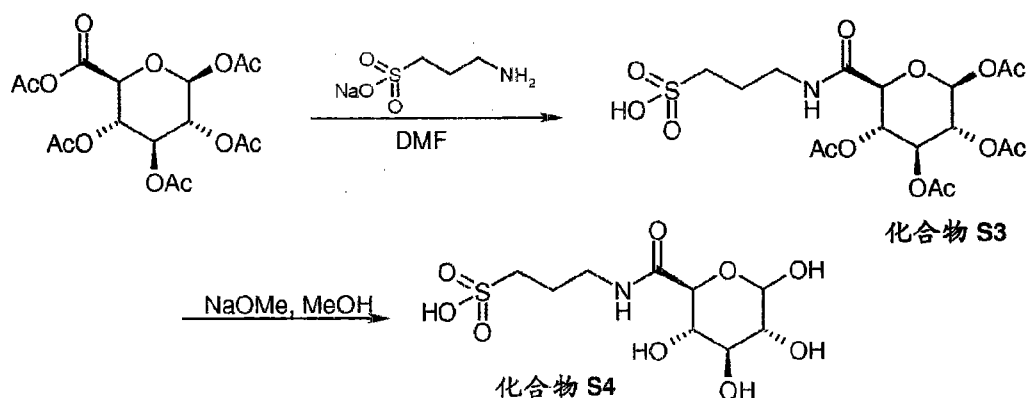
步骤 2: 将之前制备的叠氮衍生物(776mg, 3.54mmol)的 MeOH (10ml) 溶液用 N<sub>2</sub> 排气 10 分钟, 然后加入 10% Pd/C (50mg)的 CHCl<sub>3</sub> 悬浮液。在 H<sub>2</sub> 压力(40PSI)下搅拌 2h 之后, 经 Celite™ (MeOH)垫过滤溶液并真空下蒸发, 得到为黄色油的所需的胺(628mg, 3.25mmol, 92%粗品)。这一化合物无需进一步纯化而用于下一步。

步骤 3: 将磺内酯(285 $\mu$ l, 3.25mmol)的  $\text{CH}_3\text{CN}$  (5ml)溶液滴加至 (30 分钟内)之前制备的胺(628mg, 3.25mmol) 在 2/1  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{EtOH}$  (10ml)混合物的回流溶液中。回流下加热所得溶液 15h, 然后冷却至室温并真空下蒸发。在硅胶上用层析法( $i$ -PrOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (0.5% $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 98/2 至 80/20 线性梯度)纯化残留物。在蒸发后, 将化合物通过 C-8 垫( $\text{H}_2\text{O}$ )并冻干, 得到为白色固体的化合物 S2 (450mg, 1.43mmol, 两步合计 44%)。NMR  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) (500MHz): 2.06(m, 2H), 2.92(t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 3.13 (m, 3H), 3.21 (t,  $J=9.5\text{Hz}$ , 1H), 3.34 (s, 3H), 3.36 (dd, 12.5, 3Hz, 1H), 3.48 (dd,  $J=9.5, 3.5\text{Hz}$ , 1H), 3.56 (t,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 3.77 (dt,  $J=9.0, 2.5\text{Hz}$ , 1H), 4.74 (d,  $J=3.5\text{Hz}$ , 1H). ES (MS) 314.1 (M- H).  $[\alpha]_{\text{D}} = +86.3$  (c1.0,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

#### 方法 A: 1,2,3,4-或 2,3,4,6-四乙酰葡萄糖衍生物脱保护的通用方法:

为了获得碱性 pH (8-9, pH 试纸), 向已保护的葡萄糖衍生物已搅拌溶液加入充足的 NaOMe 溶液 (钠甲氧化物, 0.5M 溶于 MeOH 中)。室温下搅拌得到的溶液至反应完全 (通常, 在该反应之后是 MS), 然后加入两倍初始体积的  $\text{CH}_3\text{CN}$ 。然后, 过滤所得的固体并且用  $\text{CH}_3\text{CN}$ 、丙酮和乙醚冲洗数次。然后将得到的固体通过 C8 柱(0.5%  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 于  $\text{H}_2\text{O}$  中)并冻干, 从而得到所需的化合物。

#### 化合物 S3 和 S4 的合成

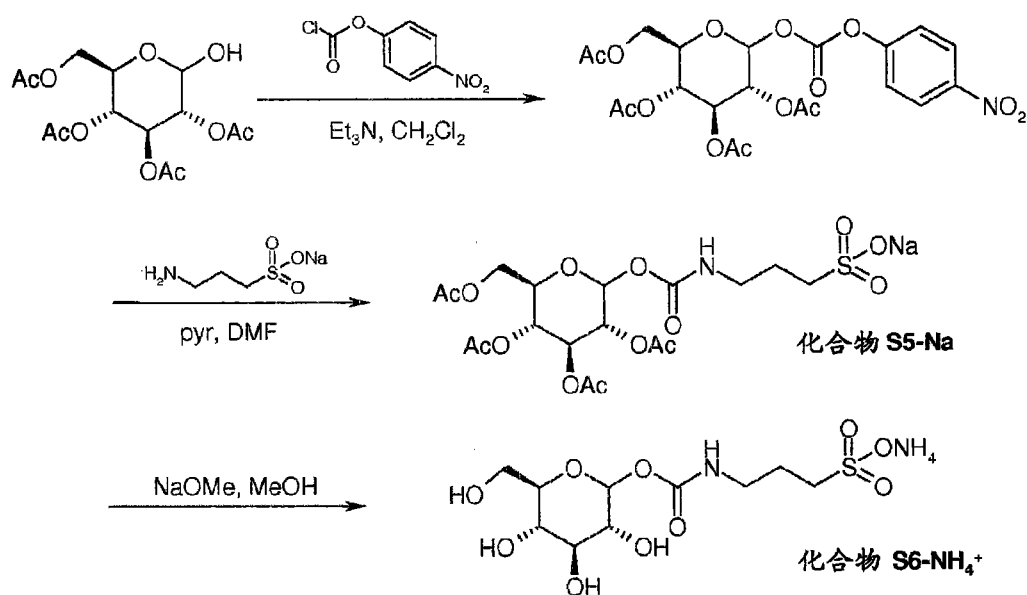


步骤 1: 将 3-氨基-1-丙磺酸钠盐(398 mg, 2.47 mmol)和吡喃葡萄糖醛酸酐(398 mg, 2.47 mmol)的  $\text{DMF}$  (15 mL)悬浮液室温下搅拌 3 天, 然后真空下蒸发掉溶剂。在硅胶上用层析法( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  100/0 至 70/30 线性的)纯化

残留物，从而得到为白色泡沫的化合物 S3 (719 mg, 1.49 mmol, 60%)。<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500MHz) δ ppm 1.96(m, 2H), 1.98(s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.02(s, 3H), 2.09(s, 3H), 2.83(m, 2H), 3.31 (m, 2H), 4.19(d, J = 9.5 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 5.12(t, J = 8 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 5.19(t, J = 10 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 5.38(t, J = 9 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 5.87(d, J = 8.5 Hz, 1H, H<sub>1</sub>). m/z (ES) 482.4 (M-H); [α]<sub>D</sub> = +6.2 (c 0.93, MeOH)。

步骤 2: 根据方法 A, 处理化合物 S3 (190mg, 0.54mmol), 从而得到为白色固体的化合物 S4 (150mg, 0.48mmol, 88%)。<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 500 MHz) δ ppm 1.92 (m, 2H), 2.90 (m, 2H), 3.27 (t, J = 8.5 Hz, 0.5H), 3.32 (m, 2H), 3.47-3.50 (m, 1.5H), 3.56 (dd, J = 9.5, 4.0 Hz, 0.5H), 3.69 (t, J = 9.0 Hz, 0.5H), 3.86 (d, J = 7.0 Hz, 0.5H), 4.16 (d, J = 10.0 Hz, 0.5H), 4.6-4.7 (0.5H, 在水峰下), 5.25 (d, J = 3.5 Hz, 0.5H); m/z (ES<sup>-</sup>) 314.4 (M-H)。

### 化合物 S5 钠盐和化合物 S6 铵盐的合成



参照 *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 2260-2267., 制备 2,3,4,6-四-O-乙酰

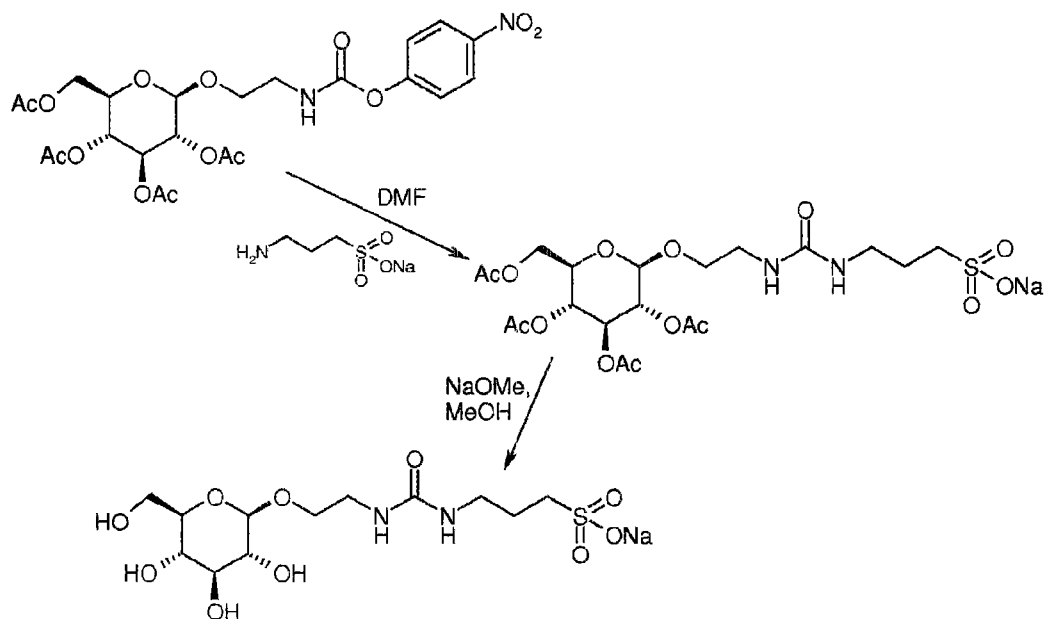
### -D-葡萄糖。

步骤 1: 将对硝基苯酚氯甲酸酯(638mg, 3.16mmol)加至四乙酰葡萄糖(1 g, 2.87mmol)和 Et<sub>3</sub>N (800μl, 5.74mmol)的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20ml)的已搅拌溶液中, 并室温下搅拌反应物过夜。加入 1N 盐酸水溶液(10ml), 并分层。用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20ml)萃取水层两次, 随后将合并的有机层依次用碳酸钠饱和溶液(10ml)和氯化钠饱和溶液洗涤。然后有机层经 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并真空下蒸发掉溶剂。在硅胶上用层析法纯化残留物(Hex/EtOAc 90/10 至 5050, 线性梯度), 从而得到为无色固体的所需的碳酸酯 (1.108g, 2.16mmol, 75%)。

步骤 2: 将吡啶(524ml, 6.48mmol)加入之前制备的碳酸酯(1.108g, 2.16mmol)以及 3APS 钠盐(522 mg, 2.16 mmol)悬浮物中。室温下搅拌 3 天后, 真空下蒸发掉溶剂, 在硅胶上用层析法 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 100/0 至 80/20, 线性梯度) 纯化残留物, 从而得到为白色固体的化合物 S5-钠盐(1.066 g, 2.07 mmol, 96%)。<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 500 MHz) δ ppm 1.97 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.1 (m, 2H, 纸平面后方 (hide)), 2.05 (s, 3H), 2.83 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.98 (br d, J = 8.0 Hz, 0.4H, H<sub>5b</sub>), 4.09 (t, J = 10.5 Hz, 1 H, H<sub>6</sub>), 4.17 (br d, J = 10.2 Hz, 0.6H, H<sub>5a</sub>), 4.26-4.30 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 4.99-5.12 (m, 2H, H<sub>2a</sub>, H<sub>2b</sub>, H<sub>4b</sub>, H<sub>4a</sub>), 5.32 (t, J = 9.5 Hz, 0.40H, H<sub>3b</sub>), 5.50 (t, J = 9.9, 0.6H, H<sub>3a</sub>), 5.69 (d, J = 8.4Hz, 0.3H, H<sub>1b</sub>), 6.17 (d, J = 3.5 Hz, 0.6H, H<sub>1a</sub>). m/z (MS) 512.5 (M-H)。

步骤 3: 根据方法 A, 处理化合物 S5 钠盐(500 mg, 0.97 mmol), 得到为白色固体的化合物 S6-铵盐(220 mg, 0.64 mmol, 66%)。 <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O (500 MHz) δ ppm 1.80 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 3.15 (m, 2H), 3.30-3.37 (m, 1.5H), 3.41-3.43 (m, 1H), 3.68-3.53 (m, 3H), 3.75 (d, J = 12.2 Hz, 0.5H), 5.26 (d, J = 8.2 Hz, 0.5H, H<sub>1b</sub>), 5.82 (d, J = 3.05 Hz, 0.5H, H<sub>1a</sub>). m/z (ES) 344.4 (M-H)。

### 化合物 S7 的钠盐的合成

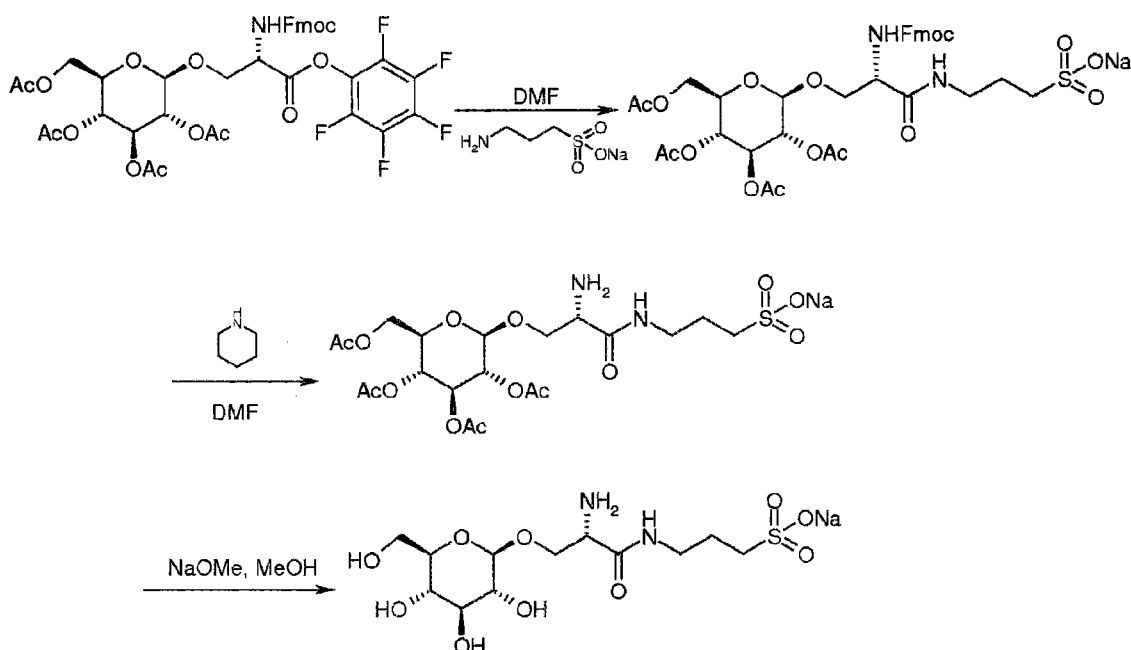


参照 Org. Lett. 2000, 2(8), 1093-1096., 制备 2-(对硝基苯基氨基甲酸酯)-乙基-2,3,4,6-四-O-乙酰- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷。

步骤 1: 将 3APS-钠盐(223 mg, 1.38 mmol)加至对硝基苯基氨基甲酸酯(643 mg, 1.16 mmol)的 DMF (7 mL)的正在搅拌的溶液中。室温搅拌 24 小时后, 真空下蒸发掉溶剂, 在硅胶上用层析法 ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  100/0 至 70/30, 线性梯度) 纯化残留物, 从而得到为白色固体的所需的磺酸盐(596 mg, 1.07 mmol, 92%)。

步骤 2: 根据方法 A 处理之前制备的 2,3,4,6-四-O-乙酰-D-葡萄糖(596 mg, 1.07mmol), 从而得到为白色固体的化合物 S7-钠盐(260mg, 0.67mmol, 63%)。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz)  $\delta$  ppm 1.91 (m, 2H, H11), 2.93 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H, H12), 2.24 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , H10), 3.28 (t,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1 H, H2), 3.34 (m, 2H, H8), 3.38 (t,  $J=9.5\text{Hz}$ , 1 H, H4), 3.45 (m, 1 H, H6a), 3.49 (dd,  $J=9, 9\text{Hz}$ , 1 H, H3), 3.7-3.77 (m, 2H, H6a, H7a), 3.91 (纸平面前方 (apparent) d,  $J=1.5\text{Hz}$ , H5, H7b), 4.46 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , H1).  $m/z$  (ES) 386.9 (M-H)。

### 化合物 S8 和 S9 的钠盐的合成



参照 J. Med. Chem. 1995, 38, 161 -169 制备 *N*-(9-苄基甲氧羰基)-3-*O*-(2,3,4,6-四-*O*-乙酰基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基)-L-丝氨酸五氟苯酯。

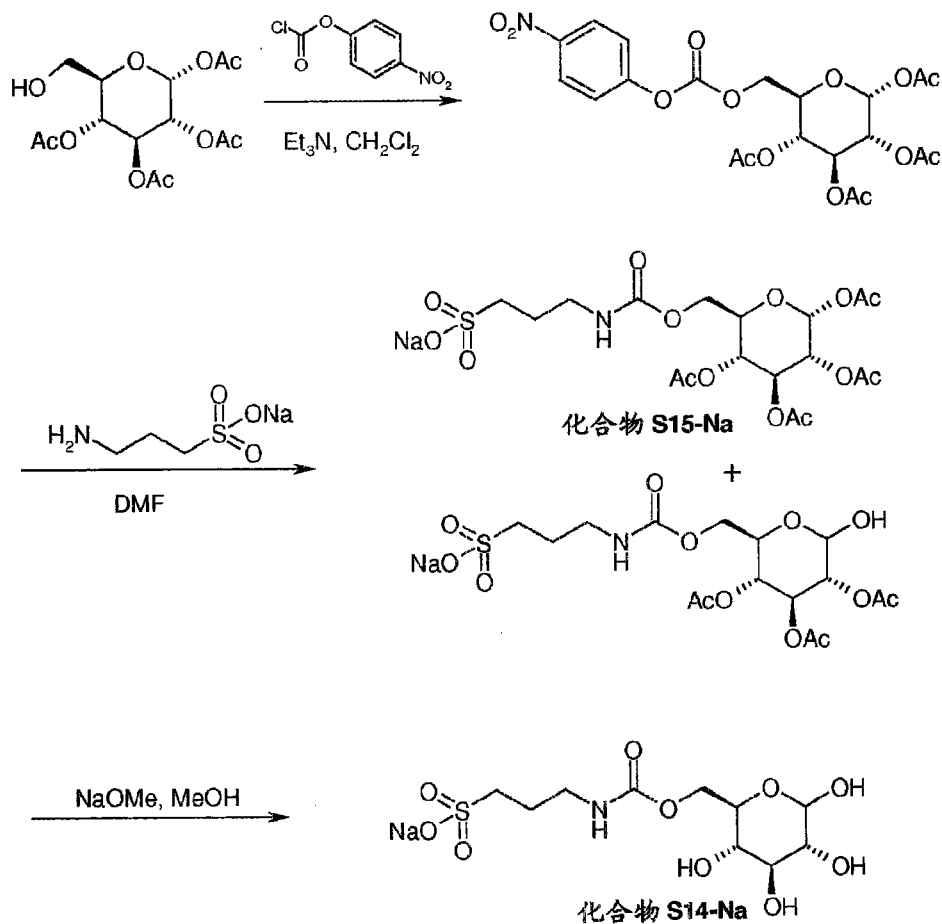
步骤 1: 将 3APS-钠盐(258 mg, 1.60 mmol)加至五氟苯酯(1200 mg, 1.45 mmol)的 DMF (15 mL)的正在搅拌的溶液中。室温搅拌 24 小时后, 真空下蒸发掉溶剂, 在硅胶上用层析法 ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  100/0 至 80/20, 线性梯度) 纯化残留物, 从而得到为白色固体的所需的磺酸盐(1070 mg, 1.37 mmol, 94%)。

步骤 2: 将哌啶(2.7 mL, 27 mmol)加至之前制备的 Fmoc 丝氨酸衍生物 (1070 mg, 1.37 mmol)的 DMF(15 mL)已搅拌溶液中。搅拌 1 小时后, 减压下蒸发掉溶剂。在硅胶上用层析法 ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  100/0 至 80/20, 线性梯度) 纯化残留物, 从而得到为白色固体的所需的胺化合物 S8-钠盐(350 mg, 0.63 mmol, 46%)。

步骤 3: 根据方法 A 处理之前制备的 2,3,4,6-四-*O*-乙酰-D-葡萄糖(350 mg, 0.63 mmol), 从而得到为白色固体的化合物 S9-钠盐(210 mg, 0.54 mmol, 86%)。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500MHz) 1.95 (m, 2H, H11), 2.94 (t,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H, H12), 3.35 (dd,  $J=7.5, 9.0\text{ Hz}$ , 1H, H2), 3.36-3.41 (m, 3H, H4, H10), 3.42-3.50

(m, 2H, H3, H5), 3.73 (dd,  $J=6.0$ , 1H, 12.0 Hz, H6a), 3.92 (br d,  $J=12.0$  Hz, 1H, H6b), 3.96 (dd,  $J=4.5$ , 1H, 1 1.5 Hz, H8), 4.05 (t,  $J=4.5$  Hz, 1H, H7a), 4.22 (dd,  $J=4.5$ , 11.5 Hz, 1H, H7), 4.47 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H, H1 ).  $m/z$  (ES) 387.25 (M-H).

### 化合物 S14 和 S15 的钠盐的合成



参照 Org. Lett. 2006, 8, 2393-2396 和 J. Am Chem. Soc. 2000, 122, 12151-12157 制备 1,2,3,4-四-O-乙酰基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷。

步骤 1: 将对硝基苯酚氯甲酸酯(3 g, 14.8 mmol)加至 1,2,3,4-四-O-乙酰基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷(4.7 g, 13.4 mmol)和三乙胺(3.7 ml, 26.8 mmol)的二氯甲烷(100 mL) 已搅拌溶液中。室温下搅拌反应混合物过夜。加入 1N 盐酸水溶液(30 mL), 然后分层。用二氯甲烷(100 mL)萃取水层两次, 将合并的有机层依次用碳酸钠饱和溶液(50 mL), 然后用氯化钠饱和溶液洗涤。经硫

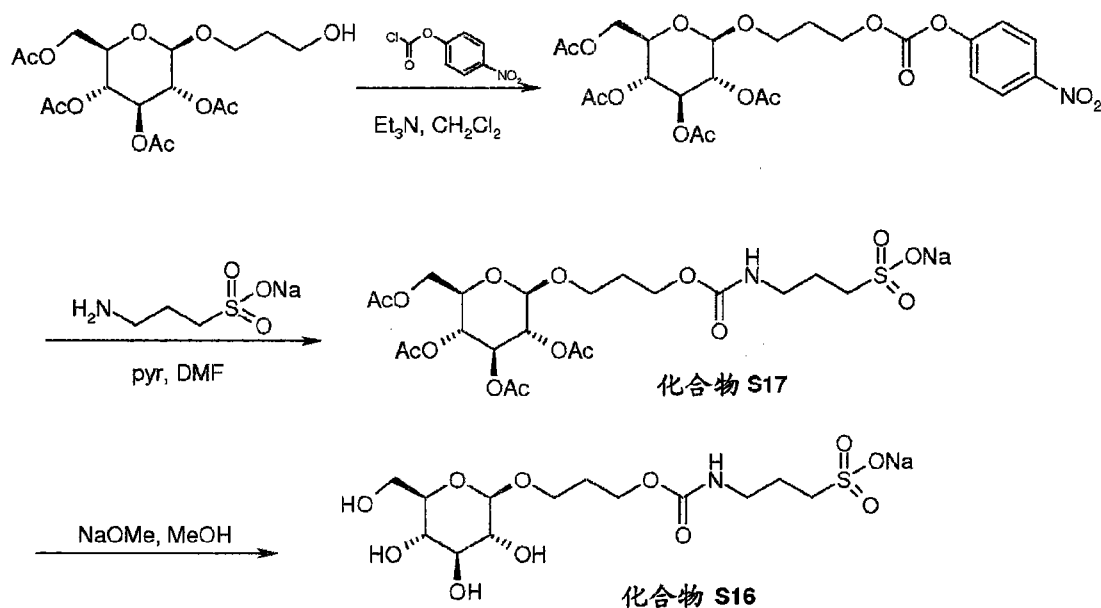
酸镁干燥有机层，过滤并真空下蒸发掉溶剂。在硅胶上用层析法（己烷/乙酸乙酯 90/10 至 50/50，线性梯度）纯化残留物，从而得到为无色固体的相应碳酸酯(4.7g, 68%)。

步骤 2: 将 3APS 钠盐(2.22 g, 13.8 mmol)加至之前制备的碳酸酯(4.7 g, 9.16 mmol)的 N,N-二甲基酰胺 (50 mL)溶液中。室温下搅拌 3 天之后，真空下蒸发掉溶剂，在硅胶上用层析法（二氯甲烷/甲醇 100/0 至 70/30，线性梯度）纯化残留物，从而得到为白色固体的化合物 S15-钠盐(1.95 g, 41 %)及为白色固体的其 1-脱乙酰化衍生物(1.21 g, 36%):  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500MHz)  $\delta$  ppm 1.91-2.02 (m, 11 H), 2.07 (s, 2H), 2.17 (s, 1H), 2.86 (m, 2H, H1), 3.24 (t,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H, H3), 3.99 (m, 0.7H, H6 $\beta$ ), 4.10-4.20 (m, 2.3H, H5 和 H6 $\alpha$ ), 5.02 (m, 1H, H9), 5.08 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 0.7H, H7 $\beta$ ), 5.13 (t,  $J=9.5\text{Hz}$ , 0.3H, H7 $\alpha$ ), 5.34 (t,  $J=9.5\text{Hz}$ , 0.7H, H8 $\beta$ ), 5.44 (t,  $J=9.5\text{Hz}$ , 0.3H, H8 $\alpha$ ), 5.81 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 0.7H, H10 $\beta$ ), 6.28 (d,  $J=3.5\text{Hz}$ , 0.3H, H10 $\alpha$ );  $m/z$  (ES) 512.0 (M-H)。

步骤 3: 根据方法 A，处理化合物 S15-钠盐(1.37 g, 2.67 mmol)，从而得到为白色固体的化合物 S14-钠盐(520 mg, 1.51 mmol, 56%):  $^1\text{H NMR}$ ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500MHz)  $\delta$  ppm 1.80 (m, 2H, H2); 2.81 (m, 2H, H1), 3.12 (m, 2.55H, H3 和 H9 $\beta$ ); 3.31 (m, 1H, H7 $\alpha$  和 H7 $\beta$ ); 3.36 (m, 0.55H, H8 $\beta$ ); 3.41 (dd,  $J=10.0, 4.0\text{Hz}$ , 0.45H, H9 $\alpha$ ); 3.48 (m, 0.55H, H6 $\beta$ ); 3.56 (t,  $J=9.0\text{Hz}$ , 0.45H, H8 $\alpha$ ); 3.84 (brd,  $J=10.0\text{Hz}$ , 0.45H, H6 $\alpha$ ), 4.10 (m, 1H, H5a), 4.23 (纸平面前方 t,  $J=12.5\text{Hz}$ , 1H, H5b), 4.51 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 0.55H, H10 $\beta$ ); 5.08 (d,  $J=4.0\text{Hz}$ , 0.45H, H10 $\alpha$ );  $m/z$  (ES) 344.0 (M-H)。

### 化合物 S16 和 S17 的钠盐的合成





参照 *J. Am. Chem. Soc.* 1940,62, 917-920 制备 2,3,4,6-四-*O*-乙酰-*D*-葡萄糖-1-丙醇。

步骤 1: 将对硝基苯酚氯甲酸酯(2.3 g, 11.4 mmol)加至 3-羟基-1-丙基 2,3,4,6-四-*O*-乙酰- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷(3.1 g, 7.64 mmol)和三乙胺 (2.12 mL, 11.44 mmol)的二氯甲烷(60 mL)已搅拌溶液中, 并室温下搅拌反应混合物过夜。加入盐酸水溶液(1N, 15 mL)并分层。用二氯甲烷(40 mL)萃取水层 2 次, 然后将合并的有机层依次用碳酸钠饱和溶液(15 mL), 接着用氯化钠饱和溶液洗涤。经硫酸镁干燥有机层, 过滤并真空下蒸发掉溶剂。在硅胶上用层析法(己烷/乙酸乙酯 90/10 至 50/50, 线性梯度)纯化残留物, 从而得到为无色固体的相应碳酸酯(3.1 g, 71%)。

步骤 2: 将 3-APS 钠盐(655 mg, 4.07 mmol)加至之前制备的碳酸酯(1.55 g, 2.71 mmol)的 *N,N*-二甲基甲酰胺(50 mL)溶液中。室温下搅拌 3 天后, 真空下蒸发掉溶剂, 在硅胶上用层析法(二氯甲烷/甲醇 95/5 至 70/30, 线性梯度)纯化残留物, 从而得到为白色固体的化合物 S17 及对硝基苯酚混合物(1.33 g), 该混合物无需进一步纯化, 用于下一步。

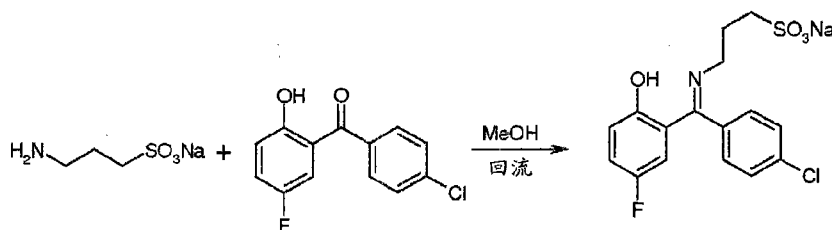
步骤 3: 根据方法 A, 处理粗品化合物 S17 (1.33 g), 从而得到为白色固体的化合物 S16-钠盐(850 mg, 两步合计 49%):  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500MHz)  $\delta$

ppm 1.84-1.91 (m, 4H, H6+H2), 2.88 (m, 2H, H1), 3.18 (m, 2H, H3), 3.21 (t, J=8.5Hz, 1H, H9), 3.33 (t, J=9.3Hz, 1H, H11), 3.39 (m, 1H, H12), 3.44 (t, J=9.3Hz, 1H, H10), 3.67 (dd, J=12.3, 5.8Hz, 1H, H13a), 3.71 (m, 1H, H7a), 3.85 (dd, J=12.3, 2.0Hz, 1H, H13b), 3.94 (m, 1H, H7b), 4.10 (m, 2H, H5), 4.39 (d, J=8.0Hz, 1H, H8); m/z (ES) 402.1 (M-H).

### 实施例 1-E: 亚胺衍生前体药物的化学合成

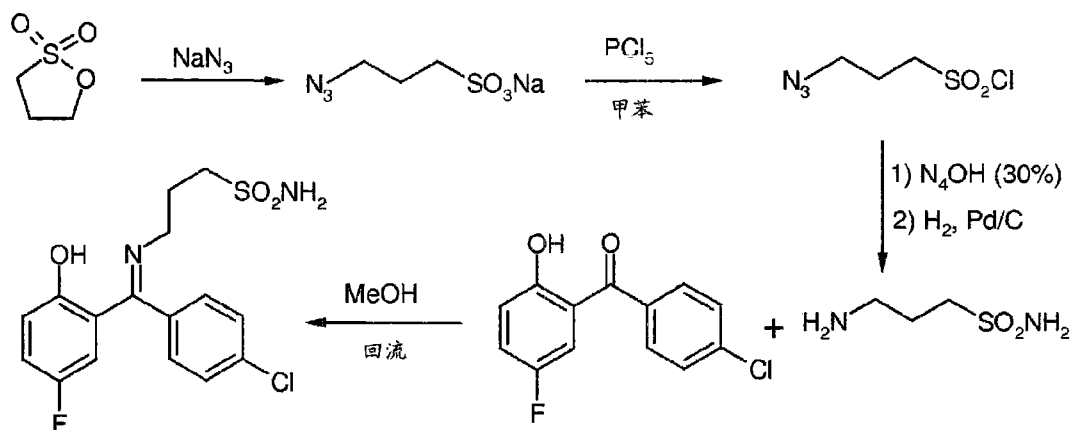
相应地, 提出下面的实施例以示例性说明一些根据本发明的化合物亚胺衍生前体药物如何制备。

#### 化合物 M7 钠盐的合成



将 3-氨基-1-丙磺酸钠(0.64 g, 4.0 mmol)加至 4'-氯-5-氟-2-羟基-二苯甲酮(0.50 g, 2.0 mmol)的甲醇(50 mL)溶液中。回流下搅拌反应混合物 4h, 然后减压下浓缩。用闪式层析法(硅胶, 氯仿:甲醇 90:10 然后 80:20)纯化残留物, 从而得到标题化合物(0.51 g, 64%):  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  1.89 (m, 2H), 2.5 (t, J= 7.0 Hz, 2H), 3.36 (t, J= 7.0 Hz, 2H), 6.95 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.22 (m, 1H), 7.38 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 7.66 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 15.27 (s, 1 H). ES-MS (370 M-1).

#### 化合物 M7-磺酰胺的合成



步骤 1: 向叠氮钠(3.5 g, 50 mmol)的已搅拌水(25 mL)溶液中加入 1,3-丙磺酸内酯(6.1 g, 50 mmol)的丙酮(25 mL)溶液。室温下搅拌反应混合物 24 小时, 然后浓缩至干。将得到的固体悬浮于乙醚(100 mL)中并回流下搅拌 1h。将悬浮液冷却至室温并过滤收集固体, 用丙酮和乙醚冲洗, 和真空下干燥, 从而得到 3-叠氮-1-丙磺酸(7.6 g, 80%)。

步骤 2: 将  $\text{PCl}_5$  (2.61 g, 12.53 mmol) 加入 3-叠氮-1-丙磺酸(2.07 g, 12.53 mmol)的甲苯悬浮液中。回流下搅拌反应混合物 3h。冷却至室温后, 蒸发溶剂, 得到的产物无需进一步纯化用于下一步。

步骤 3: 将氢氧化铵(28%) (10 mL) 加入 3-叠氮-1-丙磺酰氯 (~2.29 g, 12.53 mmol; 获得自步骤 2)的乙醇(10 mL)溶液中。室温下搅拌反应混合物 3h, 然后浓缩。使残留物通过短硅胶柱, 使用己烷: 乙酸乙酯为洗脱剂, 来分离 3-叠氮-1-丙磺酰胺(1.5 g, 86%)。

步骤 4: 将 3-叠氮-1-丙磺酰胺 (1.5 g, 10.86 mmol; 获得自步骤 3) 溶于水/乙醇(10 mL/10 mL)中, 然后加入 10% Pd/C (0.2 g)。在一个大气压的  $\text{H}_2$  下搅拌得到的悬浮液 5h。经过滤除去不溶物; 并浓缩滤液。将残留物悬浮于氢中。过滤悬浮液并用乙醇和乙醚冲洗得到的固体, 高真空下干燥, 得到 3-氨基-1-丙磺酰胺(1.2g, 80%)。

步骤 5: 将 3-氨基-1-丙磺酰胺(0.55 g, 4 mmol; 自步骤 4)加入 4'-氯-5-氟-2-羟基-二苯甲酮(1g, 4 mmol)的乙醇(50 mL)溶液中。回流下搅拌反应混合物 5 小时, 然后减压下浓缩。用柱层析法 (硅胶, 二氯甲烷: 甲醇 90:10

然后 80:20) 纯化残留物。将相应的固体 (除去溶剂之后) 在乙醚中重结晶从而得到 3-[[*(1E)*-(4-氯苯基)(5-氟-2-羟苯基)亚甲基]氨基}丙烷-1-磺酰胺 (0.75 g, 51%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 2.21 (m, 2H), 3.24 (t, J= 7.0 Hz, 2H), 3.47 (t, J= 7.0 Hz, 2H), 4.63 (bs, 2H), 6.93 (m, 1 H), 6.95 (m, 1H), 7.04 (m, 1H), 7.13 (d, J= 8.2 Hz, 2H), 7.54 (d, J= 8.2 Hz, 2H), 14.71 (s, 1H). ES-MS (369 M-1)。

### 实施例 2: 体外稳定性和代谢

在水中、在酸性水溶液 (pH:5)、在 PBS 中、在人和小鼠微粒体中以及在人和小鼠全血中检测本发明示例性前体药物的体外稳定性。

#### A. 在水 pH: 1.5 以及 PBS 中的稳定性

使用 ESI-MS (电喷雾离子化质谱仪) 作为检测仪, 在、酸性水溶液 (pH 1.5, HCl) 以及 PBS (磷酸盐缓冲生理盐水) 溶液中测定示例性化合物的稳定性。通常, 制备含有 1 μg/ml IS (内标) 的 2 μg/mL 前体药物溶液, 并孵育 60 分钟。对于水中稳定性, 孵育是在室温下进行, 而对于在酸性溶液和缓冲液中的稳定性。孵育温度为 37°C。使用 MS, 在时间点 0 和 60 分钟对样品分析前体药物含量。使用六次重复操作的平均值, 检测 60 分钟后每个测试化合物峰面积比率的 % 变化。测试化合物包括化合物 A1 至 A19、化合物 B5 和 B6 以及化合物 C1 至 C26。除已发现 C26 在 pH 1.5 和在 PBS 中不稳定外, 判定所有其他的化合物在所有检测条件下稳定, 60 分钟后的浓度变化小于约 15%-20%。

#### B. 在小鼠和人微粒体中的代谢

37°C 下, 在混合小鼠或人肝微粒体中, 一式两份测定化合物 A1、A2、A3、C17、C18 和 C19 的微粒体稳定性直至 60 分钟。简言之, 将微粒体稀释, 以在含有 3mM MgCl<sub>2</sub> 和 1mM EDTA 的 PBS 缓冲液 (pH 7.4) 中达到 1.0 mg/mL 浓度。在通过添加辅助因子 (在 PBS 缓冲液中 1 mM NADPH 和 2 mM UDPGA) 启动酶促反应前, 将化合物 (10 μM) 和微粒体预孵育 5 分钟时段。1 小时孵育期后, 通过添加冰冷乙腈停止反应。至于时间 0 的样品, 在添加辅助因子前, 用乙腈停止反应。使应用带有 MS 检测的 HPLC, 实现已提取的样品的分析。根据化合物的极性, 使用不同类型的 HPLC 柱和流动

相。用在 60 分钟时所保留的化合物的% (60 分钟化合物的峰响应/0 分钟峰响应 $\times 100$ ) 来确定化合物的稳定性。发现四种测试化合物(三个氨基酸前体药物 A1、A2、A3 以及氨基甲酸酯前体药物 C19)是稳定的, 在小鼠或人微粒体存在下 60 分钟后超过 90%的化合物保留(数据未列出)。发现化合物 C17 较不稳定, 在小鼠或人微粒体存在下 60 分钟后 20 至 35%之间的前体药物保留, 而氨基甲酸酯 C18 表现为中等稳定性, 在相同条件下 75 至 80% 的前体药物保留。

### C. 小鼠和人全血的稳定性

在小鼠全血和人全血中 37°C 孵育供试化合物共 240 分钟。在时间点 0 加入化合物, 并且在每个时间点(通常 0、60 和 240 分钟)抽取样品小样。使用蛋白质沉淀法, 对样品进行提取。使用带有 MS 检测的 HPLC, 实现已提取样品的分析。根据化合物的极性, 使用几种类型的 HPLC 柱和流动相。以 240 分钟化合物保留的% (240 分钟化合物的峰响应/0 分钟峰响应 $\times 100$ ) 来确定化合物的稳定性。结果概述于表 8。

表 8. 在小鼠和人全血中的稳定性

ID	血稳定性 (240分钟后保留的化合物的%)	
	人血	小鼠血
A1	ND	+
A2	ND	++
A3	ND	++
A4	+	+++
A5	+	+
A6	++	+
A7	+++	+++
A8	+	++
A9	+++	+++
A10	++	++

ID	血稳定性 (240分钟后保留的化合物的%)	
	人血	小鼠血
A11	+++	+++
A12	+++	+++
A13	+++	+++
A14	+++	+++
A15	++	+
A16	+++	++
A18	+	+
A19	+	+
B3	+++	++
B4	+++	+++
B5	+++	+++
B6	+++	+++
C1	+	+
C4	+++	++
C5	+	+
C7	+++	+
C8	+++	+++
C9	++	++
C10	+	+
C11	+++	+++
C12	++	+
C13	+	+
C14	+++	++
C15	++	+
C16	++	+
C17	ND	+
C18	ND	+
C19	ND	+
C20	++	+
C21	++	+
C22	++	+
C23	++	+
C24	++	+

+: <30%, ++: 30-75%, +++: >75%; ND: 未检测到

这些数据示例性说明了这些化合物作为前体药物的用途, 由于这些化合物在血液中被转化为 3APS。

### **实施例3: 小鼠中的药物动力学**

#### **A. 示例性化合物的生物利用率**

在小鼠中对选定的示例化合物进行生物利用率检验。在施用等摩尔选

定化合物后,进行3APS生物利用率的评估。在药物施用后的特定时间点,从3只动物每一只的下腔静脉采集一个血样(大约1ml)。在采血前(大约45秒),用异氟烷对动物实施麻醉。在静脉内施用后5、30、60、120、180、240和360分钟以及在口服施用后15、30、60、120、180、240和360分钟采集样品。一只动物用于获得基线样品(用药前样品)。将血样采集到Sarstedt™微管(EDTA KE / 1.3ml)中,保存在冰上直至4°C、最低速度3000rpm(1620G)离心10分钟。将血浆样品转移至Eppendorf™管内,立即放置在干冰上并于-80°C储藏。血浆样品-20°C冷冻储藏以待分析。

使用蛋白沉淀法,提取小鼠血浆中化合物。使用LC-MS检测,实现3APS在小鼠血浆基质中的定量。使用校正曲线,计算样品浓度。生物利用率的结果概述于表9中。

表9. 选定化合物在小鼠中的生物利用率

ID	在小鼠中的生物利用率(F)* (+: <25%, ++: 25-35%, +++: > 35%)
A (3APS)	++
A1	++
A2	+++
A3	+
A4	+++
A6	++
A7	+++
A13	+++
A18	+++
C9	+
C13	+
C14	+
C15	+
C16	+
C17	+
C18	+
C19	++
C21	+
C22	+
C25	+

\*从施用测试化合物后6小时的3APS浓度计算得到的。所计算的F值表示基于3APS的观察,测试化合物口服AUC与3APS的静脉内注射AUC的比率(以百分比)。

如表9中所示,所有已测试的化合物都能够递送可检测量的3APS。化合物A2、A4、A7和A18有助于提高3APS的生物利用度,表明它们比3APS

更容易被吸收或者能够防止 3APS 的首过代谢。尽管未显示,但是化合物 A3、C13、C14、C16、C17、C21、C22 和 C25 的已检测的  $T_{max}$  比 3APS (0.25h) 的长 4 至 16 倍,表明使用这些化合物时,3APS 的 pk 概况方面的显著改善。

#### B. 口服化合物 A2 和 3-APS 的 PK 大脑和血浆水平

在小鼠中检测化合物 A2 和 3-氨基丙磺酸的药物动力学参数。在施用等摩尔的每种化合物后,评价 3APS 的药物动力学参数( $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$ , AUC)。在时间点 5、15、30 分钟、1、2、4、6、12 和 24 小时,从 3 只动物的每一个采集血样(大约 1ml)和大脑样品。从血浆样品和大脑均浆分析的结果概述于表 10 中。化合物 A2 和 3-APS 的相对生物利用率(F%)分别是 51%和达 32%。当以口服施用化合物 A2 对比 3-APS 时,观察到 3-APS 血浆浓度( $C_{max}$ )提高 2 倍。在口服施用 0.18mmol/kg 化合物 A2 后,观测 3-APS 的大脑浓度,然而在口服施用相同摩尔当量 3-APS 后,该浓度没能定量。

表 10. 在口服施用 25mg/kg (0.18mmol/kg) 和 250mg/kg (1.80mmol/kg) 当量 3APS 之后,关于 3-APS 分析的 PK 数据

ID	剂量 (mmol/kg)	血浆				大脑			
		AUC	$C_{max}$ (ng/mL)	$T_{max}$ (h)	$T_{1/2}$ (h)	AUC	$C_{max}$ (ng/mL)	$T_{max}$ (h)	$T_{1/2}$ (h)
3-APS	0.18	6427	1768	0.5	4.9	BLLQ	BLLQ	N/A	N/A
A2	0.18	10135	3435	0.5	2.8	557	148	2.0	3.9
A2	1.80	140661	35451	0.5	2.8	9772	1068	2.0	12.4

BLLQ: 低于定量的下限

N/A: 不适用

#### 实施例 4: 3APS 的药物动力学分析及相关代谢

##### 实施例 4A. $^{14}C$ -3APS 在小鼠、大鼠以及犬中的代谢概况

在小鼠、大鼠和犬中进行三个单次剂量研究,以确定  $^{14}C$ -3APS 在血浆、尿和粪便中的代谢概况。在第一研究中,二十七只雄性 CD-1 小鼠经口管饲法接受单次剂量 100mg/kg (20 $\mu$ Ci/动物)的  $^{14}C$ -3APS。在施用药物,采集血样 12 小时 (3 只动物/时间点),并采集尿和粪便 (3 只动物/时间点) 样品 96 小时。在第二研究中,八只雄性大鼠经口管饲法接受单次剂量



100mg/kg (50 $\mu$ Ci/动物)的 $^{14}$ C-3APS,而在第三研究中,三只雄性比格犬经口管饲法接受单次剂量100mg/kg (30 $\mu$ Ci/动物)的 $^{14}$ C-3APS。对于大鼠和犬的研究,在施用药物后采集血样24小时,并采集尿和粪便样品72小时。使用适当的样品制备方法和闪烁计数法,分析所有样品的总放射性。还使用有效的HPLC和MS/MS方法,分析血浆和尿样品的3APS和3APS代谢物(2-羧基乙磺酸,3-羟基-1-丙磺酸和3-乙酰氨基-1-丙磺酸)的浓度。

在对小鼠和大鼠口服施用100 mg/kg $^{14}$ C-3APS后,用药后大约30分钟达到总放射性和3APS的平均最大血浆浓度(表11)。此后,总放射性和3APS的血浆浓度以多相方式下降,小鼠和大鼠的表观终点半衰期分别为大约2和6小时。用药后120至240小时得到2-羧基乙磺酸的平均最大血浆浓度。此后,血浆浓度以多相方式下降,小鼠和大鼠的表观终点半衰期分别为大约2h和6h。

在对犬口服施用100 mg/kg $^{14}$ C-3APS后,用药后大约30分钟达到总放射性和3APS的平均最大血浆浓度,而用药后720分钟得到2-羧基乙磺酸的最大血浆浓度(表11)。此后,总放射性和3APS的血浆浓度以多相方式下降。总放射性和3APS的平均表观终点半衰期分别为大约35h和5h。

就所有的种类而言,总放射性的大部分是与3APS以及2-羧基乙磺酸相关联的(表12)。基于AUC<sub>0-∞</sub>值,在小鼠和大鼠中,3APS占总放射性的大约60%,而2-羧基乙磺酸占30%。在犬中,3APS占总放射性的大约54%,而2-羧基乙磺酸占大约67%。3APS和2-羧基乙磺酸AUC<sub>0-∞</sub>构成了总放射性的大约90%(小鼠和大鼠)和大约121%(犬),表明2-羧基乙磺酸是3APS在小鼠、大鼠和犬中的主要代谢物。

就所有的种类而言,总放射性被定量回收在尿和粪便中,在72h(大鼠和犬)或96h(小鼠)内回收施用剂量的大约75至90%。总放射性排泄的主要途径是经由尿。

平均起来,60%剂量被排泄在尿中,基于所有种类的总放射性。小鼠和犬中,基于被排泄在尿中的放射性总量,大约30%以3APS被排泄,而2-羧基乙磺酸占了另外63%至77%。大鼠中,3APS和2-羧基乙磺酸分别占总放射性的59%和62%。平均起来,两种代谢物3-羟基-1-丙磺酸和3-乙酰

氨基-1-丙磺酸占所有种类总放射性的不足3% (表11)。3APS和2-羧基乙磺酸的尿累积量占总放射性测定值的约90至110%，再次表明了2-羧基乙磺酸是3APS在小鼠、大鼠和犬中的主要代谢物。

表11. 在小鼠、大鼠和犬中单次口服施用100mg/kg  $^{14}\text{C}$ -3APS后，总放射性、3APS和2-羧基乙磺酸的药动力学参数

参数	小鼠 <sup>1</sup>	大鼠	犬
总放射性			
$C_{\max}$ ( $\mu\text{mol}$ 当量/mL)	0.126	0.228	0.249
$T_{\max}$ (min)	30	30	31
$\text{AUC}_{0-\tau}$ ( $\mu\text{mol}$ 当量 $\cdot$ min/mL)	24.4	43.3	45.4
$\text{AUC}_{\infty}$ ( $\mu\text{mol}$ 当量 $\cdot$ min/mL)	25.0	45.2	108
$T_{1/2}$ (h)	2.14	6.02	35.7
<b>3APS</b>			
$C_{\max}$ ( $\mu\text{mol}$ /mL)	0.0977	0.218	0.250
$T_{\max}$ (min)	30	30	31
$\text{AUC}_{0-\tau}$ ( $\mu\text{mol}\cdot$ min/mL)	15.5	26.7	24.5
$\text{AUC}_{\infty}$ ( $\mu\text{mol}\cdot$ min/mL)	15.7	27.6	25.3
$T_{1/2}$ (h)	1.72	6.43	5.04
2-羧基乙磺酸			
$C_{\max}$ ( $\mu\text{mol}$ /mL)	0.018	0.0234	0.0312
$T_{\max}$ (min)	120	240	720
$\text{AUC}_{0-\tau}$ ( $\mu\text{mol}\cdot$ min/mL)	7.26	12.7	30.5
$\text{AUC}_{\infty}$ ( $\mu\text{mol}\cdot$ min/mL)	7.56	13.6	NC
$T_{1/2}$ (h)	2.33	3.99	NC

<sup>1</sup> 使用平均血浆浓度-时间曲线所得到的PK参数

NC: 未计算

表12 在小鼠、大鼠和犬中单次口服施用100mg/kg  $^{14}\text{C}$ -3APS后，血浆和尿中3APS、2-羧基乙磺酸、3-乙酰氨基-1-丙磺酸以及3-羟基-1-丙磺酸的百分比。

总放射性的%				
	3APS	2-羧基乙磺酸	3-乙酰氨基-1-丙磺酸	3-羟基-1-丙磺酸
小鼠 血浆*	63	30	-	-

	尿 <sup>†</sup>	30	62	3.1	0.4
大鼠	血浆*	61	30	-	-
	尿 <sup>†</sup>	59	62	2.3	0.3
犬	血浆*	54	67	-	-
	尿 <sup>†</sup>	29	77	0.01	0.3

\*计算为[AUC<sub>0-t</sub> / AUC<sub>0-∞</sub> 3APS 或代谢物 / AUC 总放射性](或者如果 AUC<sub>0-∞</sub> 无法可靠估计, 则使用 AUC<sub>0-t</sub>)

†计算为[3APS 或代谢物的排泄量 / AUC 总放射性]

#### **实施例 4B: <sup>14</sup>C-3APS 在人中的吸收、排泄和血浆动力学**

在鉴定 3APS 代谢物之后, 分析来自这一人类 AME 研究的血浆和尿样品的 3APS 和 3APS 代谢物 (2-羧基乙磺酸, 3-羟基-1-丙磺酸和 3-乙酰氨基-1-丙磺酸) 浓度, 使用有效的 HPLC 和 MS/MS 方法以确定 <sup>14</sup>C- 3APS 在人中的代谢概况。

在对健康受治疗者口服施用 <sup>14</sup>C-3APS 之后, 在用药后大约 1 至 1.25 小时达到总放射性和 3APS 的最大血浆浓度, 而在 6.5 小时得到 2-羧基乙磺酸的最大血浆浓度。在血浆中, 总放射性的大部分与 3APS 和 2-羧基乙磺酸相关。基于 AUC<sub>0-t</sub> 值, 3APS 占总放射性的大约 48%, 而 2-羧基乙磺酸占 49%。3APS 和 2-羧基乙磺酸 AUC<sub>0-t</sub> 构成了总放射性的大约 97%, 表明 2-羧基乙磺酸是 3APS 在人血浆中的主要代谢物。

基于被排泄在尿中的放射性总量, 大约 15% 以 3APS 被排泄, 而 2-羧基乙磺酸占了另外的 79%。3APS 和 2-羧基乙磺酸的尿累积量占了总放射性测定值的大约 94%, 再次表明了 2-羧基乙磺酸是 3APS 在小鼠、大鼠和犬中的主要代谢物。

#### **实施例 4C: 在对大鼠单次口服和静脉内施用 <sup>14</sup>C-3APS 后, 3APS 和 2-羧基乙磺酸的对比性药物动力学参数**

本研究的目的是考察在对大鼠单次静脉内推注和口服施用之后 <sup>14</sup>C-3APS 的吸收、代谢以及排泄概况。三十六只雄性 Sprague-Dawley 大鼠

经静脉推注(水或等渗生理盐水溶液)接受单次 100 mg/kg (~50  $\mu$ Ci/动物)剂量  $^{14}$ C-3APS, 并且另外 36 只雄性大鼠经口管饲法(在水中)接受相同的剂量水平。在剂量施用后, 采集血液、尿、粪便、大脑和 CSF 样品, 直至 72h。使用 LC 和 MS/MS 检测方法, 测量 3APS 和 2-羧基乙磺酸(3APS 主要代谢物)的血浆、尿、大脑和 CSF 浓度。使用适当的样品制备方法和闪烁计数法, 分析血浆、尿、粪便、大脑和 CSF 的总放射性。

基于  $AUC_{0-\infty}$  值, 在 IV 施用后, 3APS 占总放射性的 89% 而 2-羧基乙磺酸仅占大约 9%。另一方面, 在口服施用后, 3APS 占总放射性的约 68% 而 2-羧基乙磺酸占约 26%。使用这些数据, 有可能计算代谢物与母体暴露比率, 在 IV 施用后为约 0.1, 在口服施用后比率为 0.38。与 IV 相比, 口服施用后这种较高的代谢物与母体暴露比率与肠的首过代谢相一致。

表 13 在大鼠中单次 IV 和口服施用  $^{14}$ C-3APS 后, 3APS 和 2-羧基乙磺酸全身暴露与总放射性的对比

IV					
动物	$AUC_{0-\infty}$ (nmol.h/mL) <sup>#</sup>			%	%
	3APS	2-羧基乙磺酸	总放射性		
1001	1528	105	1625	6.5	100.5
1002	1420	144	1588	9.1	98.5
1003	1591	184	1883	9.8	94.3
1004	1147	125	1266	9.9	100.5
Mean	1422	140	1591	8.8	98.4
$\pm$ SD	196.2	33.7	253.0	1.60	2.93
%CV	13.8	24.1	15.9	18.1	2.98

<sup>#</sup> $AUC_{0-\infty}$  表示为 nmol 当量 h/mL 的总放射性

<sup>\*</sup>计算为 $[(AUC_{0-\infty} 2\text{-羧基乙磺酸}/AUC \text{总放射性}) * 100]$

<sup>\*\*</sup>计算为 $[(AUC_{0-\infty} 3APS + AUC_{0-\infty} 2\text{-羧基乙磺酸})/AUC \text{总放射性}] * 100$

PO					
动物	$AUC_{0-\infty}$ (nmol.h/mL) <sup>#</sup>			%	%
	3APS	2-羧基乙磺酸	总放射性		
3001	610	232	874	26.5	96.3
3002	539	153	714	21.4	96.9
3003	407	177	628	28.2	93.0
3004	471	229	781	29.3	89.6
Mean	507	198	749	26.4	94.0
$\pm$ SD	87.4	39.1	104	3.49	3.37
%CV	17.3	19.8	13.9	13.2	3.59

<sup>#</sup> $AUC_{0-\infty}$  表示为 nmol 当量 h/mL 的总放射性

\*计算为 $[(AUC_{0-\infty} 2\text{-羧基乙磺酸}/AUC \text{总放射性}) * 100]$

\*\*计算为 $[(AUC_{0-\infty} 3\text{APS} + AUC_{0-\infty} 2\text{-羧基乙磺酸})/AUC \text{总放射性}] * 100$

**实施例 4D:** 在大鼠中单次口服、静脉内和门脉施用 3APS 后, 3APS 和 2-羧基乙磺酸的对比性药物动力学参数

本研究的目的是对比 3APS 在对雄性 Sprague-Dawley 大鼠单次剂量口服、静脉内或进入门静脉施用后的药物动力学特征。选择口服、静脉内和门脉施用途径来测定大鼠中肠和肝的首过作用。三个 4 只 Sprague-Dawley 大鼠的组被指定以不同的施用途径接受单次剂量 250mg/kg 3APS。一组接受静脉内推注施用的 3APS (以水溶液或等渗生理盐水溶液的形式), 一组通过口管饲法 (水中) 并且最后一组通过导管进入门静脉 (以水溶液或等渗生理盐水溶液的形式)。在剂量施用后采集血样, 共 24 小时。使用 LC 和 MS/MS 方法, 测定 3APS 和 2-羧基乙磺酸 (3APS 的主要代谢物) 的血浆浓度。

在口服施用后, 3APS 通常在 1 小时内达到最大血浆浓度 ( $C_{\max}$ ), 并且计算 3APS 基于  $AUC_{\infty}$  的生物利用率, 约为 38%。

获得的结果证明了存在 3APS 的重要代谢。更具体地, 基于在肝门脉和静脉内施用后全身暴露之间的对比, 预计与肝首过相关的 3APS 代谢为 24%。根据在口服和肝门脉施用后全身暴露之间的对比, 预计与肠首过相关的 3APS 代谢为 43%。本研究还表明, 口服施用 3APS 比静脉内施用多产生了 50% 代谢物, 这与肠首过代谢是一致的。

**实施例 5: 3APS 在原代大鼠神经细胞培养和器官型海马切片培养中的体外代谢**

在不同类型细胞模型中还进行了 3APS 体外代谢的研究。有些情况下, 将 3APS 的代谢与  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 的代谢相比较。

得到的结果表明, 3APS (400  $\mu\text{M}$ ) 在原代大鼠神经细胞培养基中的培育产生 2-羧基乙磺酸作为代谢物。3APS 向 2-羧基乙磺酸转化是时间依赖性和细胞浓度依赖性的。3APS (400  $\mu\text{M}$  初始浓度) 在细胞培养基 (含有 800,000 个细胞) 中培育 6 天, 产生 48  $\mu\text{M}$  的 2-羧基乙磺酸。在相同的实验条件下, 始于 GABA (400  $\mu\text{M}$  初始浓度), 检测到 5.4  $\mu\text{M}$  的琥珀酸。

在原代神经细胞培养基中 3APS 向 2-羧基乙磺酸的转化被氨基己烯酸(后者是一种经典 GABA 转氨酶抑制剂)所显著抑制。尼亚拉胺(Nialamide),一种单胺氧化酶抑制剂,也减少 2-羧基乙磺酸(来自 3APS)的生成,但是程度较小。相比之下,加巴喷丁(已知可增加大脑中 GABA 浓度)对 3APS 向 2-羧基乙磺酸的转化没有明显的作用。

在利用器官型海马切片培养的另一体外模型中,3APS 向 2-羧基乙磺酸的转化是时间依赖性的。在培养基中孵育 3 天后,超过 60%的 3APS 被转化为 2-羧基乙磺酸。3APS 在人肝细胞(HepG2)培养基中培育之后,同样检测到 2-羧基乙磺酸。

应当理解的是,本文所述实施例和实施方案仅为示例性说明目的,并且根据所述实施例和实施方案的各种改进或改变是本领域的技术人员能想到的且包括在本申请的精神和范围以及附后权利要求的范围之内。