



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102014897 B

(45) 授权公告日 2015. 08. 05

(21) 申请号 200980114132. 4

代理人 章蕾

(22) 申请日 2009. 04. 21

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

A61K 31/405(2006. 01)

61/124, 949 2008. 04. 21 US

审查员 刘军政

61/125, 205 2008. 04. 23 US

61/127, 900 2008. 05. 16 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2010. 10. 21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/041321 2009. 04. 21

(87) PCT国际申请的公布数据

W02009/132051 EN 2009. 10. 29

(73) 专利权人 西格纳姆生物科学公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 迈克尔·沃龙科夫 斯科特·瓦法伊

马克斯韦尔·斯托克

杰弗里·B·斯托克 李珠 李圣烨

顾浩明 戈帕尔·萨尔加达兰

(74) 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限

责任公司 11287

权利要求书2页 说明书83页 附图8页

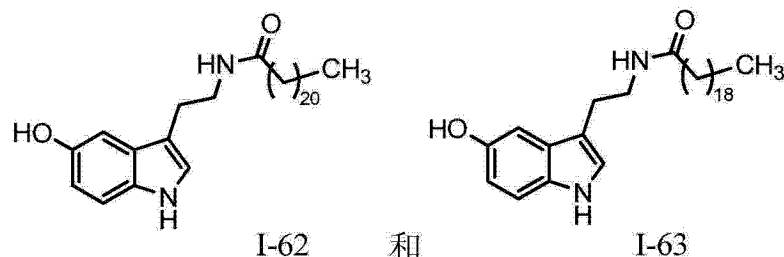
(54) 发明名称

化合物、组合物和其制备方法

(57) 摘要

本发明提供调节 PP2A 甲基化和 / 或活性的化合物和 / 或组合物和其制备方法, 其可用于调节 PP2A 的脱甲基化、调节 PP2A 的甲基化和 / 或调节 PP2A 的活性。

1. 一种医药组合物在制备用于治疗或预防神经变性疾病的药物中的用途, 其中所述医药组合物包括治疗量的组合物, 所述治疗量的组合物含有作为唯一活性成分的经纯化的或合成的化合物, 所述经纯化的或合成的化合物选自如下组成的群组:



其中所述治疗量是指, 通过调节神经细胞中蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的甲基化、PP2A 的脱甲基化、PP2A 底物与 PP2A 的相互作用、或辅助蛋白与 PP2A 的相互作用, 或通过直接与 PP2A 相互作用, 对调节蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的磷酸酶活性有效的量;

其中所述医药组合物包含小于 10% 的咖啡因、咖啡酸或绿原酸;

所述神经变性疾病是脑和 / 或脊髓的细胞丢失或降解的病况, 其包括由畸形蛋白引起的疾病或由神经蛋白的异常磷酸化引起的疾病。

2. 如权利要求 1 所述的用途, 其中所述神经变性疾病是 τ 蛋白病。

3. 如权利要求 2 所述的用途, 其中所述 τ 蛋白病选自以下组成的群组: 阿兹海默氏病 (Alzheimer's disease)、唐氏综合症 (Down's syndrome) 成年病例中的神经变性、拳击员痴呆、皮克氏病 (Pick's disease)、关岛帕金森痴呆复合症 (Guam parkinsonism dementia complex)、额颞痴呆、皮质基底变性、苍白球 - 脑桥 - 黑质变性 (Pallido-Pontal-Nigral Degeneration)、进行性核上性麻痹和染色体 17 相关帕金森病 (Parkinsonism of Chromosome 17) (FTDP-17)。

4. 如权利要求 2 所述的用途, 其中所述 τ 蛋白病是阿兹海默氏病。

5. 如权利要求 1 所述的用途, 其中所述神经变性疾病是突触核蛋白病。

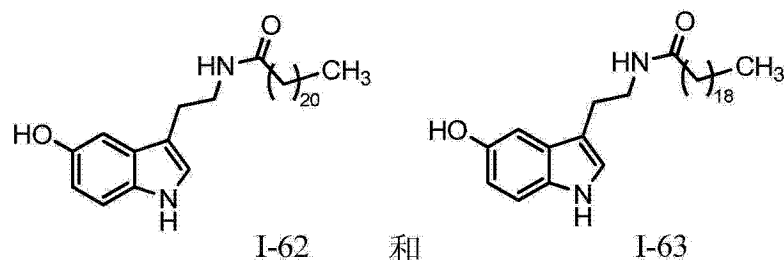
6. 如权利要求 5 所述的用途, 其中所述突触核蛋白病选自以下组成的群组: 帕金森氏病 (Parkinson's disease)、路易体痴呆 (Dementia with Lewy bodies)、和多系统萎缩症。

7. 如权利要求 5 所述的用途, 其中所述突触核蛋白病是帕金森氏病。

8. 如权利要求 1 所述的用途, 其中与对照组相比, 调节蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的磷酸酶活性导致底物 τ 蛋白的磷酸化减小。

9. 如权利要求 1 所述的用途, 其中与对照组相比, 调节蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的磷酸酶活性导致底物 α -突触核蛋白去磷酸化。

10. 一种医药组合物, 其用于治疗或预防神经变性疾病, 其中所述医药组合物包括治疗有效量的组合物, 所述治疗有效量的组合物含有作为唯一活性成分的经纯化的或合成的化合物, 所述经纯化的或合成的化合物选自如下组成的群组:



其中所述治疗有效量是指,通过调节神经细胞中蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的甲基化、PP2A 的脱甲基化、PP2A 底物与 PP2A 的相互作用、或辅助蛋白与 PP2A 的相互作用,或通过直接与 PP2A 相互作用,对调节蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的磷酸酶活性有效的量;

其中所述医药组合物含有小于 10% 的咖啡因、咖啡酸或绿原酸;以及

所述神经变性疾病是脑和 / 或脊髓的细胞丢失或降解的病况,其包括由畸形蛋白引起的疾病或由神经蛋白的异常磷酸化引起的疾病。

11. 如权利要求 10 所述的医药组合物,其中所述神经变性疾病是 τ 蛋白病。

12. 如权利要求 11 所述的医药组合物,其中所述 τ 蛋白病选自以下组成的群组: 阿兹海默氏病 (Alzheimer's disease)、唐氏综合症 (Down's syndrome) 成年病例中的神经变性、拳击员痴呆、皮克氏病 (Pick's disease)、关岛帕金森痴呆复合症 (Guam parkinsonism dementia complex)、额颞痴呆、皮质基底变性、苍白球 - 脑桥 - 黑质变性 (Pallido-Pontal-Nigral Degeneration)、进行性核上性麻痹和染色体 17 相关帕金森病 (Parkinsonism of Chromosome 17) (FTDP-17)。

13. 如权利要求 11 所述的医药组合物,其中所述 τ 蛋白病是阿兹海默氏病。

14. 如权利要求 10 所述的医药组合物,其中所述神经变性疾病是突触核蛋白病。

15. 如权利要求 14 所述的医药组合物,其中所述突触核蛋白病选自以下组成的群组: 帕金森氏病 (Parkinson's disease)、路易体痴呆 (Dementia with Lewy bodies)、和多系统萎缩症。

16. 如权利要求 14 所述的医药组合物,其中所述突触核蛋白病是帕金森氏病。

17. 如权利要求 10 所述的医药组合物,其中与对照组相比,调节蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的磷酸酶活性导致底物 τ 蛋白的磷酸化减小。

18. 如权利要求 10 所述的医药组合物,其中与对照组相比,调节蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的磷酸酶活性导致底物 α - 突触核蛋白去磷酸化。

化合物、组合物和其制备方法

[0001] 相关申请案

[0002] 本申请案主张 2008 年 4 月 21 日申请的美国临时专利申请案第 61/124,949 号、2008 年 4 月 23 日申请的美国临时专利申请案第 61/125,205 号、和 2008 年 5 月 16 日申请的美国临时专利申请案第 61/127,900 号的优先权,每一案件的全部揭示内容皆以引用的方式并入本文中。

背景技术

[0003] 蛋白磷酸酶 2A(“PP2A”)是一种具有宽底物特异性和不同细胞功能的普遍存在且保守的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶。PP2A 通常以包含催化性 C-、结构或支架 A- 和调控性 B- 型亚单位(属于 B、B'、B'' 和 B''' 家族)的异源三聚体形式存在。在活体内,大部分 A- 和 C- 亚单位形成稳定的异源二聚体,其也称作核心酶(参见普莱斯 N. E. (Price, N. E.) 和姆贝 M. C. (Mumby, M. C.) 生物化学 (Biochemistry) 39,11312-11318(2000))。B 型亚单位指示底物特异性和亚细胞定位。具有特异性 B 型亚单位的异源三聚体全酶组装产生 PP2A 特异性、可调节 PP2A 对不同底物的动力学性质(参见普莱斯 N. E. 和姆贝 M. C., 生物化学 39, 11312-11318(2000)) 且因此可能影响对所述底物的 PP2A 酶活性。

[0004] PP2A 的催化性亚单位的 C 端亮氨酸残基的 α -羧基经受可逆甲基酯化和甲基-酯水解,并且 PP2A 的甲基化状态调控异源三聚体组装[参见托尔斯特赫 T. (Tokstyk, T.) 等人, EMBO J. 19(21):5682-91(2000); 吴 J. (Wu, J.) 等人, EMBO J. 19(21):5672-81(2000); 魏 H. (Wei, H.) 等人, J. Biol. Chem. 276(2):1570-77(2001); 和于 X. X. (Yu, X. X.) 等人, Mol. Biol. Cell 12(1):185-99(2001)]。羧基甲基化需要 S-腺苷-甲硫氨酸 (SAM) 依赖性甲基转移酶 (MT、Mt 酶、LCMT 或 PPMT)(参见李 J. (Lee, J.) 和斯托克 J. (Stock, J.), J. Biol. Chem. 268,19192-19195(1993)), 其识别 SAM 和 AC 异源二聚体或异源三聚体全酶(但并非单独 C 亚单位)作为底物。甲基化 PP2A 是通过特异性甲酯酶 (ME、ME 酶、PME1 或 PPME) 脱甲基化(参见李 J., 陈 Y. (Chen, Y.)、托尔斯特赫 T. 和斯托克 J., P. N. A. S. U. S. A. 93, 6043-6047. (1996))。

[0005] 作为细胞功能的通用调节剂,PP2A 对正常生物活动十分重要。PP2A 的功能失常与多种疾病病况相关。PP2A 甲基化和/或活性改变与尤其包括神经病症、神经变性疾病、糖尿病、胰岛素抗性和代谢性综合症的各种病症、疾病和病况相关。

[0006] 经分离且经纯化的睡茄酰胺和睡茄内酯阐述于美国专利第 7,282,593 中。美国专利公开案第 2007/0197629 号阐述褪黑素类似物,其对成骨细胞和破骨细胞二者起抑制性作用。美国专利第 5,714,094 号阐述抗氧化剂组合物和从研磨咖啡残渣的油的凝胶状渗余物回收抗氧化剂组合物的方法。美国专利第 4,939,174 号阐述自脂肪酸载剂和神经活性药物的前药形成。

发明内容

[0007] 本发明提供调节 PP2A 活性的化合物和/或组合物。所关注的某些化合物可分离

自天然来源（参见，例如，美国临时专利申请案第 61/124,949 号、第 61/125,205 号和第 61/125,169、美国专利公开案第 2006/0171938 号、和美国专利公开案第 2008/0213406 号、和申请案第 PCT/US06/003686 号）；和 / 或某些化合物可经合成（参见，例如，美国临时专利申请案第 61/127,900），每一案件皆以引用的方式并入本文中。

[0008] 已发现如本文所述，本文所述式（例如，式 I、Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig 和 / 或 Ih）的某些化合物和其类和亚类调节 PP2A 的活性。调节 PP2A 的活性的化合物可用于治疗各种疾病和 / 或病症，例如，神经变性病症、糖尿病和代谢性病症。在一些实施例中，所述化合物直接调节 PP2A 活性；在一些实施例中，所述化合物间接调节 PP2A 活性。在一些实施例中，所述化合物调节 PP2A 甲基化状态。在一些实施例中，所述化合物调节 PP2A 甲基转移酶的活性；在一些实施例中，所述化合物调节 PP2A 甲酯酶的活性。

[0009] 本发明另外提供可制备所关注化合物的合成技术。合成技术可用于制备在自然界也存在的化合物，但重要的是还可获得有关化学结构的其它化合物（参见，例如，美国临时专利申请案第 61/127,900 号），其以引用的方式并入本文中。

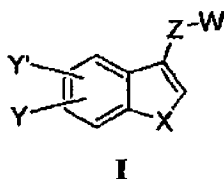
[0010] 因此，本发明提供化合物、组合物、和 / 或其制备方法或在治疗多种病症、疾病或病况中的任一者中的用途。在一些实施例中，本发明提供化合物、组合物、和 / 或其制备方法或在治疗一种或多种与异常 PP2A 甲基化水平和 / 或异常 PP2A 磷酸酶活性相关的疾病、病症或病况中的用途。

[0011] 在一些实施例中，本发明提供化合物、组合物、和 / 或其制备方法或在治疗（例如）某些神经病症、神经变性疾病、糖尿病、胰岛素抗性和 / 或代谢性综合症中的用途。

[0012] 还涵盖可调节 PP2A 活性的不管是合成的还是天然的所提供化合物和组合物（例如，调节 PP2A 的甲基化的化合物、调节 PP2A 的脱甲基化的化合物、调节 PP2A 底物与 PP2A 的相互作用的化合物、调节辅助蛋白与 PP2A 的相互作用的化合物和 / 或直接与 PP2A 相互作用的化合物等）。在某些实施例中，所述化合物和组合物在最小化甲基转移酶的抑制的同时最大化甲酯酶的抑制和 / 或阻碍甲基转移酶和 / 或 PP2A。

[0013] 可用于本发明的化合物包括所绘示的式 I 的所述者和其各种类别和亚类

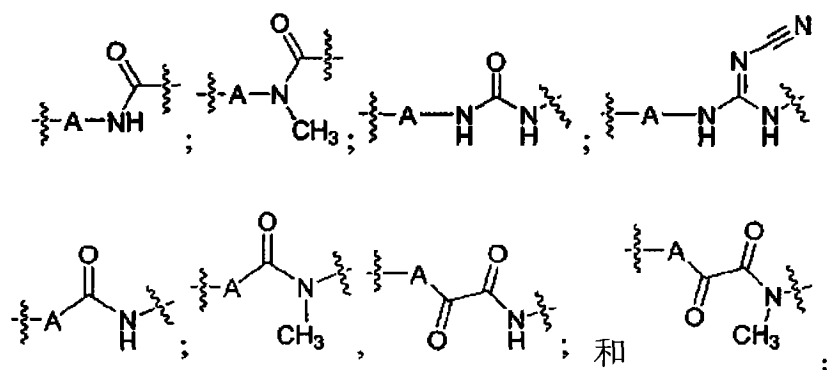
[0014]



[0015] 或其医药上可接受的盐，其中：

[0016] Z 选自由以下组成的群组：

[0017]



[0018] A 是 $-(CH_2)_n$, 其中 n 为 0、1 或 2 ;

[0019] X 是 NH、NR'、O 或 S ;

[0020] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基, 其具有 10 至 25 个碳, 任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子, 并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代 ;

[0021] Y 选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR''、-NR' R'、-C(O)NHR'、-C(O)NR' R'、卤素、或糖 ;

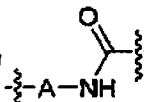
[0022] Y' 选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR'、-NR' R'、-C(O)NHR'、-C(O)NR' R'、卤素、或糖 ;

[0023] R 是 H、可为直链、环状、或分支链的任选地经取代的 -C₁₋₆ 烷基、任选地经取代的 -C₆ 芳香族环、任选地经取代的 5 或 6 元杂芳香族环、-C(O)R'、-C(O)H、-C(O)OR'、-C(O)OH、-C(N)NH 或 -C(N)NR' ; 并且

[0024] R' 是可为直链、环状或分支链的任选地经取代的 C₁₋₆ 烷基或烯基 ;

[0025] 或 R 与 R' 可一起形成具有 1 至 2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5 至 6 元杂环。

[0026] 在一些实施例中, 本文提供的化合物不是天然存在的。

[0027] 在一些实施例中, 在 Z 为  时, 则 n 不为 0。

[0028] 在一些实施例中, 本文提供的化合物的特征在于能调节 PP2A 甲基化, 从而满足以下条件中的至少一者 :

[0029] (i) 在将化合物与纯化 PP2A 和纯化 MT 一起培育时, 所述化合物以低于 100 μM 的 IC₅₀ 调节 PP2A 的甲基化 ;

[0030] (ii) 在将化合物与纯化 PP2A 和纯化 ME 一起培育时, 所述化合物以低于 100 μM 的 IC₅₀ 调节 PP2A 的脱甲基化 ;

[0031] (iii) 在将化合物与

[0032] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时 ; 和

[0033] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时 ;

[0034] 所述化合物相对于 ME 酶显示针对 MT 酶的选择活性 ;

[0035] (iv) 在将化合物与

[0036] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时 ; 和

[0037] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时 ;

[0038] 所述化合物相对于 MT 酶显示针对 ME 酶的选择活性 ; 和 / 或

[0039] (v) 在将化合物与纯化 PP2A、纯化 ME、和纯化 MT 一起培育时, 观察到 PP2A 的甲基

化水平与在不使用所述化合物的相当条件下观察到的甲基化水平不同；

[0040] 在一些实施例中,关于所提供化合物,满足以下条件中的至少一者：

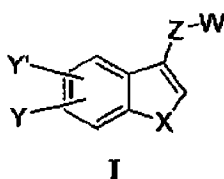
[0041] (i) 化合物的特征另外在于,在将所述化合物与分离 PP2A 和分离非蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一起培育时,所观察到的分离非蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当；和 / 或

[0042] (ii) 化合物的特征另外在于,在将所述化合物与分离 PP2A 和分离蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一起培育时,所观察到的分离蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当。

[0043] 在一些实施例中,本文提供的化合物是以本文所绘示的式 I 化合物和 / 或其不同类别和亚类的医药上可接受的盐形式提供。

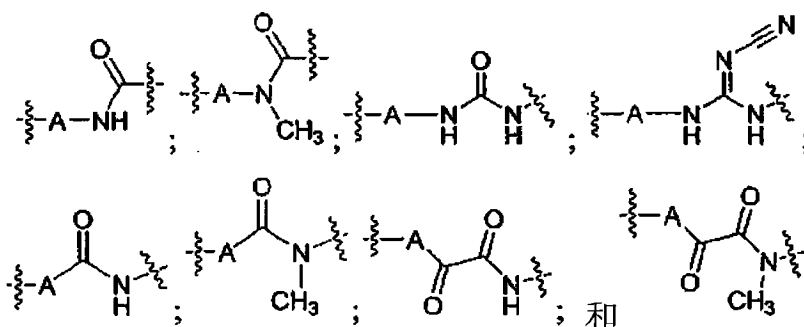
[0044] 可用于本发明的化合物包括本文所绘示的式 I 的所述者和其各种类别和亚类

[0045]



[0046] 或其医药上可接受的盐,其中 :Z 选自自由以下组成的群组：

[0047]



[0048] A 是 $-(CH_2)_n$ 或 $-(CB_2)_n$, 其中 n 为 0、1 或 2；

[0049] B 是 H、 $-NHC(=O)OR$ 或 $-C(=O)OR$ ；

[0050] X 是 NH、NR'、O 或 S；

[0051] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基,其具有 10 至 25 个碳,任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子,并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代；

[0052] Y 和 Y' 独立地选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR'、-NR' R'、-NHR''、-C(O)NHR'、-C(O)NR' R'、卤素、或糖；

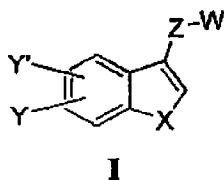
[0053] -R 是 H、可为直链、环状、或分支链的 $-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_6$ 芳香族环、5- 或 6- 元杂芳香族环、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(N)NH$ 、 $-C(N)NR'$ ；并且

[0054] -R' 是可为直链、环状或分支链的 C_1-C_6 烷基或烯基；

[0055] -R'' 是任选地经 -OH 取代的 $-C_{1-2}$ 烷基。

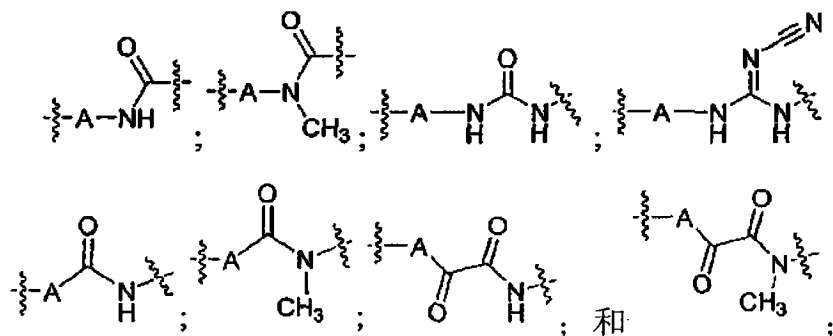
[0056] 可用于本发明的化合物包括所绘示的式 I 的所述者和其各种类别和亚类

[0057]



[0058] 或其医药上可接受的盐,其中:Z 选自由以下组成的群组:

[0059]



[0060] A 是 $-(CH_2)_n$ 或 $-(CB_2)_n$, 其中 n 为 0、1 或 2;

[0061] B 是 H、 $-NHC(=O)OR$ 、或 $-C(=O)OR$;

[0062] X 是 NH、NR'、O、或 S;

[0063] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基,其具有 10 至 25 个碳,任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子,并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代;

[0064] Y 和 Y' 独立地选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR'、-NR'R'、-NHR''、-C(O)NHR'、-C(O)NR'R'、卤素、或糖;

[0065] -R 是 H、可为直链、环状、或分支链的 $-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_6$ 芳香族环、5 或 6 元杂芳香族环、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(N)NH$ 、 $-C(N)NR'$; 并且

[0066] -R' 是可为直链、环状或分支链的 C_1-C_6 烷基或烯基;

[0067] -R'' 是任选地经 -OH 取代的 $-C_{1-2}$ 烷基。

[0068] 在一些实施例中, (a) 所述化合物不是天然存在的和 / 或 (b) 所述化合物的特征在于能调节 PP2A 甲基化, 从而满足以下条件中的至少一者:

[0069] (i) 在将化合物与纯化 PP2A 和纯化 MT 一起培育时, 所述化合物以低于 100 μM 的 IC_{50} 调节 PP2A 的甲基化;

[0070] (ii) 在将化合物与纯化 PP2A 和纯化 ME 一起培育时, 所述化合物以低于 100 μM 的 IC_{50} 调节 PP2A 的脱甲基化;

[0071] (iii) 在将化合物与

[0072] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时; 和

[0073] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时;

[0074] 所述化合物相对于 ME 酶显示针对 MT 酶的选择活性;

[0075] (iv) 在将化合物与

[0076] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时; 和

[0077] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时;

[0078] 所述化合物相对于 MT 酶显示针对 ME 酶的选择活性; 和 / 或

[0079] (v) 在将化合物与纯化 PP2A、纯化 ME、和纯化 MT 一起培育时, 观察到 PP2A 的甲基

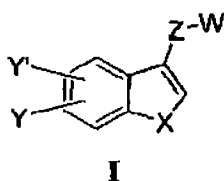
化水平与在不使用所述化合物的相当条件下观察到的甲基化水平不同；

[0080] 和 / 或 (c) 化合物的特征另外在于,在将所述化合物与分离 PP2A 和分离非蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一同培育时,所观察到的分离非蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当;和 / 或 (d) 其中化合物的特征另外在于,在将所述化合物与分离 PP2A 和分离蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一同培育时,所观察到的分离蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当;

[0081] 或其医药上可接受的盐。

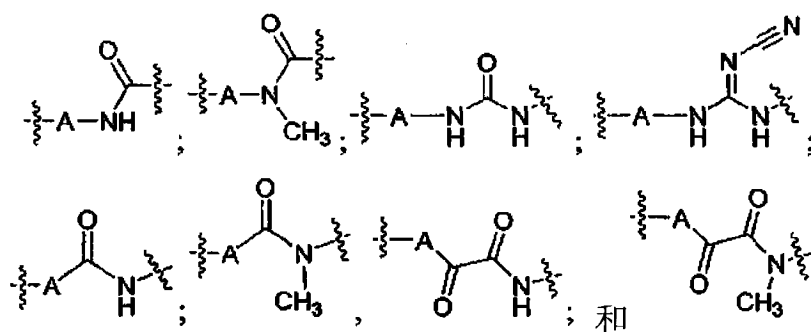
[0082] 可用于本发明的分离化合物包括本文所绘示的式 I 的所述者和其各种类别和亚类

[0083]



[0084] 或其医药上可接受的盐,其中:Z 选自自由以下组成的群组:

[0085]



[0086] A 是 $-(CH_2)_n$, 其中 n 为 0、1 或 2;

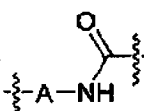
[0087] X 是 NH、NR'、O 或 S;

[0088] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基,其具有 10 至 25 个碳,任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子,并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代;

[0089] Y 和 Y' 独立地选自 -OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR'、-NR' R'、-C(O)NHR'、-C(O)NR' R'、卤素、或糖;

[0090] R 是 H、可为直链、环状、或分支链的 $-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_6$ 芳香族环、5 或 6 元杂芳香族环、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(N)NH$ 、 $-C(N)NR'$; 并且

[0091] $-R'$ 是可为直链、环状或分支链的 C_1-C_6 烷基或烯基; 并且

[0092] (a) 在 Z 为  时,则 n 不为 0。

[0093] 在一些实施例中, (b) 所述化合物的特征在于能调节 PP2A 甲基化,从而满足以下条件中的至少一者:

[0094] (i) 在将所述化合物与纯化 PP2A 和纯化 MT 一起培育时,所述化合物以低于 100 μM 的 IC₅₀ 调节 PP2A 的甲基化;

[0095] (ii) 在将所述化合物与纯化 PP2A 和纯化 ME 一起培育时,所述化合物以低于

100 μ M 的 IC₅₀ 调节 PP2A 的脱甲基化；

[0096] (iii) 在将化合物与

[0097] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时；和

[0098] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时；

[0099] 所述化合物相对于 ME 酶显示针对 MT 酶的选择活性；

[0100] (iv) 在将化合物与

[0101] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时；和

[0102] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时；

[0103] 所述化合物相对于 MT 酶显示针对 ME 酶的选择活性；和 / 或

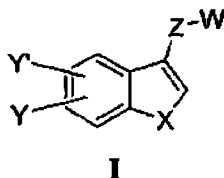
[0104] (v) 在将化合物与纯化 PP2A、纯化 ME、和纯化 MT 一起培育时，观察到 PP2A 的甲基化水平与在不使用所述化合物的相当条件下观察到的甲基化水平不同；

[0105] 和 / 或 (c) 化合物的特征在于，在将所述化合物与分离 PP2A 和分离非蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一同培育时，所观察到的分离非蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当；和 / 或 (d) 化合物的特征在于，在将所述化合物与分离 PP2A 和分离蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一同培育时，所观察到的分离蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当；

[0106] 或其医药上可接受的盐。

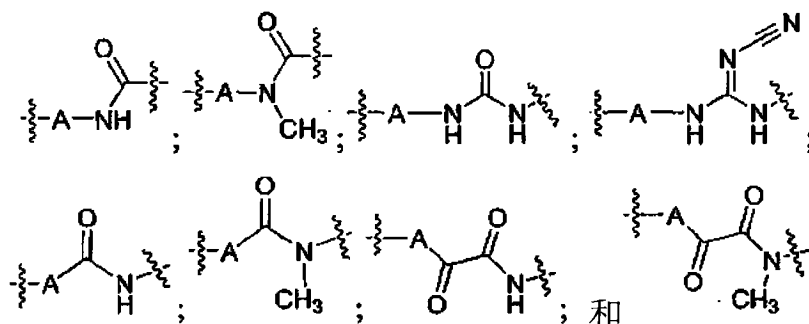
[0107] 可用于本发明的组合物包括本文所绘示的式 I 的所述者和其各种类别和亚类

[0108]



[0109] 或其医药上可接受的盐，其中：Z 选自由以下组成的群组：

[0110]



[0111] A 是 $-(CH_2)_n$ 或 $-(CB_2)_n$ ，其中 n 为 0、1 或 2；

[0112] B 是 H、 $-NHC(=O)OR$ 或 $-C(=O)OR$ ；

[0113] X 是 NH、NR'、O 或 S；

[0114] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基，其具有 10 至 25 个碳，任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子，并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代；

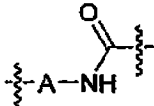
[0115] Y 和 Y' 独立地选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR'、-NR'、R'、-NHR''、-C(O)NHR'、-C(O)NR'、R'、卤素、或糖；

[0116] -R 是 H、可为直链、环状、或分支链的 $-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_6$ 芳香族环、5 或 6 元杂芳香族环、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(N)NH$ 、 $-C(N)NR'$ ；并且

[0117] $-R'$ 是可为直链、环状或分支链的 C_1-C_6 烷基或烯基；

[0118] $-R''$ 是任选地经 $-OH$ 取代的 $-C_{1-2}$ 烷基；

[0119] 在一些实施例中，(a) 化合物不是天然存在的；和 / 或 (b) 在 Z 是

[0120]  时，则 n 不为 0；和 / 或 (c) 所述化合物的特征在于能调节 PP2A 甲基化，

[0121] 从而满足以下条件中的至少一者：

[0122] (i) 在将所述化合物与纯化 PP2A 和纯化 MT 一起培育时，所述化合物以低于 $100 \mu M$ 的 IC_{50} 调节 PP2A 的甲基化；

[0123] (ii) 在将所述化合物与纯化 PP2A 和纯化 ME 一起培育时，所述化合物以低于 $100 \mu M$ 的 IC_{50} 调节 PP2A 的脱甲基化；

[0124] (iii) 在将化合物与

[0125] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时；和

[0126] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时；

[0127] 所述化合物相对于 ME 酶显示针对 MT 酶的选择活性；

[0128] (iv) 在将化合物与

[0129] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时；和

[0130] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时；

[0131] 所述化合物相对于 MT 酶显示针对 ME 酶的选择活性；和 / 或

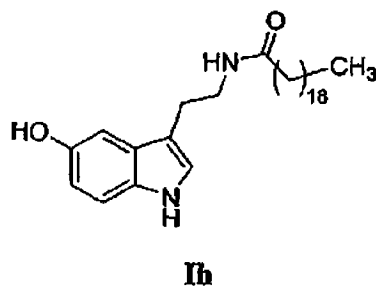
[0132] (v) 在将化合物与纯化 PP2A、纯化 ME、和纯化 MT 一起培育时，观察到 PP2A 的甲基化水平与在不使用所述化合物的相当条件下观察到的甲基化水平不同；

[0133] 和 / 或 (d) 化合物的特征另外在于，在将所述化合物与分离 PP2A 和分离非蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一同培育时，所观察到的分离非蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当；和 / 或 (e) 其中化合物的特征另外在于，在将所述化合物与分离 PP2A 和分离蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一同培育时，所观察到的分离蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当；

[0134] 或其医药上可接受的盐。

[0135] 在一些实施例中，本发明提供制备具有以下结构的化合物的方法：

[0136]



附图说明

[0137] 图 1 显示对用于制备如实例 1-14 中所述式 I 化合物的不同反应条件进行汇总的表格。

[0138] 图 2 显示对在制备本文所述式的不同化合物中所测试的不同合成条件进行汇总的表格。

[0139] 图 3 绘示条形图,其显示经 2 周时间每日投与化合物 I-63 可使纯合肥胖小鼠中的非空腹血糖含量减小 26-30%,而抗糖尿病对照药物罗格列酮 (Rosiglitazone) 可使纯合肥胖小鼠中的非空腹葡萄糖含量减小 66%。

[0140] 图 4 绘示条形图,其显示使用化合物 I-63 处理的野生型小鼠的体重比使用对照饮食的野生型小鼠平均低约 10%。

[0141] 图 5A 绘示以下图式:其显示使用化合物 I-63 处理的野生型小鼠在腹腔内葡萄糖耐受性测试中的葡萄糖耐受性有所改善,且血糖含量在两个时间点有所降低 (* $p < 0.05$)。

[0142] 图 5B 绘示条形图,其显示在葡萄糖耐受性测试中化合物 I-63 处理小鼠的血糖含量的曲线下面积增量小于对照饮食喂养小鼠的 $< 10\%$ (** $p < 0.0001$)。

[0143] 图 6 绘示以下图式:其显示在所测试化合物 I-63 的所有浓度下,在第 4 小时和第 24 小时,细胞存活率均高于 85%。

[0144] 图 7 绘示条形图,其显示在与对照相比时,在以 0.1% 剂量水平 (饲料中的重量%) 投与化合物 I-63 时,投与 2 周后, τ 蛋白磷酸化减少 $< 40\%$ ($p < 0.05$);并且在以 0.1% 剂量水平投与化合物 I-63 时,在投与 3 周和 4 周后, τ 蛋白磷酸化减少 $> 50\%$ 和至少约 70%。

[0145] 图 8 绘示条形图,其显示在与对照相比时,投与 4 周后,化合物 I-62 和化合物 I-63 同等有效地将脑中的磷酸化 τ 蛋白水平降低 40%。

[0146] 图 9 绘示以下图式:其显示投与 0.1% 化合物 I-63 10 周后可防止 JNPL3 转基因小鼠产生运动功能障碍;且投与化合物 I-63 11 周和 12 周后,使用化合物 I-63 饮食的小鼠的平均运动测试分数比使用对照饮食的小鼠的运动测试分数小 75% ($p < 0.05$)。

[0147] 图 10 绘示西方墨点图 (Western blot),其显示可通过 PP2A 以浓度依赖性方式使磷酸化 α 突触核蛋白去磷酸化,而使用 PP1 时并未观察到此影响,具体来说,在 200nM 浓度下,PP2A 能使 95% 以上的丝氨酸 129 磷酸化 α 突触核蛋白去磷酸化。

[0148] 图 11 绘示西方墨点图,其显示甲基化会增加 PP2A 对于 α -突触核蛋白的去磷酸化活性。

[0149] 图 12 绘示以下图式:其显示甲基化会增加 PP2A 对于 α -突触核蛋白的去磷酸化活性;且具体来说,甲基化使 PP2A AC 二聚体的 EC_{50} 值自约 60nM 降至约 20nM。

[0150] 图 13 绘示条形图,其显示可防止喂养 0.001% 和 0.1% 化合物 I-63 饮食的小鼠具有急性 MPTP 诱导性神经毒性,此表现为酪氨酸羟化酶缺陷复原 ($p < 0.05$) 约 20%。

[0151] 图 14A 绘示条形图,其显示使用 0.1% 化合物 I-63 处理的 α -突触核蛋白转基因小鼠的水平活动平均增加 30% ($p = 0.004$)。

[0152] 图 14B 绘示条形图,其显示使用 0.1% 化合物 I-63 处理的 α -突触核蛋白转基因小鼠的旋转杆工作时间平均增加 25% ($p = 0.03$)。

具体实施方式

[0153] 定义

[0154] 下文更详细阐述具体官能团和化学术语的定义。出于本发明的目的,化学元素是根据元素周期表(CAS版,化学物理手册(Handbook of Chemistry and Physics),第75版,内封面)确定,并且特定官能团通常如本文所述来定义。另外,有机化学的一般原则和特定官能部分及反应性皆阐述于“有机化学(Organic Chemistry)”(托马斯索瑞尔(Thomas Sorrell),大学科学书籍出版社(University Science Books),索萨里托(Sausalito):1999,其全部内容皆以引用的方式并入本文中)。

[0155] 添加剂:本文所用术语“添加剂”是指医药上可接受的有机或无机物质或使用安全的物质,其不会有害地与组合物反应、无毒性、在摄入时充分耐受,并且用作适于投与组合物的载剂材料。

[0156] 脂肪族:本文所用术语“脂肪族”包括饱和和不饱和、直链(即,无支链)、分支链、非环状、环状或多环状脂肪族碳氢化合物,其任选地经一个或多个官能团取代。所属领域的技术人员应了解,“脂肪族”在本文中意欲包括但不限于烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基和环炔基部分。因此,本文所用术语“烷基”包括直链、分支链和环状烷基。类似惯例用于诸如“烯基”、“炔基”和类似基团等其它通称。此外,本文所用术语“烷基”、“烯基”、“炔基”和类似基团涵盖经取代和未经取代的基团。在某些实施例中,本文所用的“低碳数烷基”是用于指示那些具有1至6个碳原子的烷基(环状、非环状、经取代、未经取代、分支链或无支链)。

[0157] 烷基、烯基、和炔基:在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有10至25个脂肪族碳原子。在某些其它实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有12至21个脂肪族碳原子。在另外一些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有15至21个脂肪族碳原子。在另外一些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有15个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有16个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有17个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有18个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有19个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有20个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有21个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有22个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有23个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有24个碳原子。在某些实施例中,本发明所用烷基、烯基和炔基含有25个碳原子。因此,阐释性脂肪族基团包括但不限于(例如)十五烷基、十六烷基、十七烷基、十八烷基、十九烷基、二十烷基、二十一烷基、二十二烷基、二十三烷基、二十四烷基、和二十五烷基。

[0158] 因此,阐释性脂肪族基团包括但不限于(例如)甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基、 $-\text{CH}_2-$ 环丙基、乙烯基、烯丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、环丁基、 $-\text{CH}_2-$ 环丁基、正戊基、仲戊基、异戊基、叔戊基、环戊基、 $-\text{CH}_2-$ 环戊基、正己基、仲己基、环己基、 $-\text{CH}_2-$ 环己基部分和类似基团,其再一次可具有一个或多个取代基。烯基包括但不限于(例如)乙烯基、丙烯基、丁烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基和类似基团。代表性炔基包括但不限于乙炔基、2-丙炔基(炔丙基)、1-丙炔基和类似基团。

[0159] 烷氧基和烷硫基：本文所用术语“烷氧基”或“烷硫基”是指通过氧原子或通过硫原子附接至母体分子的如上文所定义烷基。在某些实施例中，烷基、烯基和炔基含有 1 至 20 个脂肪族碳原子。在某些其它实施例中，烷基、烯基和炔基含有 1 至 10 个脂肪族碳原子。在另外一些实施例中，本发明所用烷基、烯基和炔基包含 1 至 8 个脂肪族碳原子。在又一些实施例中，烷基、烯基和炔基含有 1 至 6 个脂肪族碳原子。在另外一些其它实施例中，烷基、烯基和炔基含有 1 至 4 个脂肪族碳原子。烷氧基的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、新戊氧基和正己氧基。烷硫基的实例包括但不限于甲硫基、乙硫基、丙硫基、异丙硫基、正丁硫基和类似基团。

[0160] 烷基氨基：术语“烷基氨基”是指具有结构 $\text{-NHR}'$ 的基团，其中 R' 是本文所定义的脂肪族基团。在某些实施例中，脂肪族基团含有 1 至 20 个脂肪族碳原子。在某些其它实施例中，脂肪族基团含有 1 至 10 个脂肪族碳原子。在另外一些其它实施例中，本发明所用脂肪族基团含有 1 至 8 个脂肪族碳原子。在又一些实施例中，脂肪族基团含有 1 至 6 个脂肪族碳原子。在另外一些其它实施例中，脂肪族基团含有 1 至 4 个脂肪族碳原子。烷基氨基的实例包括但不限于甲基氨基、乙基氨基、正丙基氨基、异丙基氨基、环丙基氨基、正丁基氨基、叔丁基氨基、新戊基氨基、正戊基氨基、己基氨基、环己基氨基、和类似基团。

[0161] 如本文所述本发明化合物的脂肪族（和其它）部分的取代基的一些实例包括但不限于脂肪族基团；杂脂肪族基团；芳基；杂芳基；芳基烷基；杂芳基烷基；烷氧基；芳氧基；杂烷氧基；杂芳氧基；烷硫基；芳硫基；杂烷硫基；杂芳硫基； -F ； -Cl ； -Br ； -I ； -OH ； -NO_2 ； -CN ； -CF_3 ； $\text{-CH}_2\text{CF}_3$ ； -CHCl_2 ； $\text{-CH}_2\text{OH}$ ； $\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ； $\text{-CH}_2\text{NH}_2$ ； $\text{-CH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3$ ； -C(O)R_x ； $\text{-CO}_2(\text{R}_x)$ ； $\text{-CON(R}_x)_2$ ； -OC(O)R_x ； $\text{-OCO}_2\text{R}_x$ ； $\text{-OCON(R}_x)_2$ ； $\text{-N(R}_x)_2$ ； $\text{-S(O)}_2\text{R}_x$ ； $\text{-NR}_x(\text{CO)R}_x$ ，其中 R_x 每次出现时独立地包括但不限于脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基，其中以上和本文中所述脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基烷基或杂芳基烷基取代基中的任一个可经取代或未经取代、分支链或无支链、环状或非环状，并且其中以上和本文所述的芳基或杂芳基取代基中的任一个可经取代或未经取代。通常可用取代基的额外实例由本文所述具体实施例加以阐述。

[0162] 动物：本文所用术语“动物”是指人类以及非人类动物，其包括（例如）哺乳动物、鸟类、爬虫类、两栖动物和鱼类。优选地，非人类动物为哺乳动物（例如，啮齿动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、灵长类动物或猪）。非人类动物可为转基因动物。

[0163] 芳基和杂芳基：通常，本文所用术语“芳基”和“杂芳基”是指优选地具有 3 至 14 个碳原子的稳定的单环或多环、杂环、多环、和多杂环不饱和部分，其中的每一者可经取代或未经取代。取代基包括但不限于任何先前所述的取代基，即所述用于脂肪族部分或本文中所示的其它部分的取代基，从而使得形成稳定的化合物。在某些实施例中，“芳基”是指具有一或两个芳香族环的单环或双环碳环系统，其包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、二氢茚基、茚基和类似基团。在本发明的某些实施例中，本文所用术语“杂芳基”是指具有 5 至 10 个环原子的环状芳香族基团，其中一个环原子选自 S、O 和 N；零、一或两个环原子是独立选自 S、O 和 N 的额外杂原子；且其余环原子为碳，所述基团通过任一环原子结合至分子的其余部分，例如，吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、噻吩基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基和类似基团。

[0164] 应了解，芳基和杂芳基可未经取代或经取代，其中取代包括其上的一个、两个、三

个或多个氢原子独立地由包括但不限于下列的以下部分中的任一个或多个替代：脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基、杂芳基烷基、烷氧基、芳氧基、杂烷氧基、杂芳氧基、烷硫基、芳硫基、杂烷硫基、杂芳硫基、-F、-Cl、-Br、-I、-OH、-NO₂、-CN、-CF₃、-CH₂CF₃、-CHCl₂、-CH₂OH、-CH₂CH₂OH、-CH₂NH₂、-CH₂SO₂CH₃、-C(O)R_x、-CO₂(R_x)、-CON(R_x)₂、-OC(O)R_x、-OCO₂R_x、-OCON(R_x)₂、-N(R_x)₂、-S(O)₂R_x、-NR_x(CO)R_x，其中 R_x 每次出现时独立地包括但不限于脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基、或杂芳基烷基，其中以上和本文所述脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基烷基、或杂芳基烷基取代基中的任一个可经取代或未经取代、分支链或无支链、环状或非环状，且其中以上和本文所述芳基或杂芳基取代基中的任一个可经取代或未经取代。通常可用取代基的额外实例由本文所述具体实施例加以阐述。

[0165] 组合疗法：本文所用术语“组合疗法”是指以重叠方案投与两种或两种以上不同医药药剂以使个体同时暴露于两种药剂的所述情形。在一些实施例中，以单一组合物或单元剂量形式一起投与组合投与的两种或两种以上不同医药药剂。然而，在许多实施例中，通过重叠方案投与单独组合物而组合投与两种或两种以上不同医药药剂。

[0166] 食物：本文所用术语“食物”是指适于人类消费的材料，包括可通过口服和通过非口服方式（例如，吸入剂或鼻烟）摄入的材料。出于本发明的目的，所述术语还包括补充有或富含式 I 化合物的食品（例如，饮料）和膳食补充品。

[0167] 二烷基氨基：术语“二烷基氨基”是指具有结构 -NRR' 的基团，其中 R 和 R' 各自为脂肪族基团，如本文所定义。R 和 R' 的二烷基氨基部分可相同或不同。在某些实施例中，脂肪族基团含有 1 至 20 个脂肪族碳原子。在某些其它实施例中，脂肪族基团含有 1 至 10 个脂肪族碳原子。在另外一些其它实施例中，本发明所用脂肪族基团含有 1 至 8 个脂肪族碳原子。在又一些实施例中，脂肪族基团含有 1 至 6 个脂肪族碳原子。在另外一些其它实施例中，脂肪族基团含有 1 至 4 个脂肪族碳原子。二烷基氨基的实例包括但不限于二甲基氨基、甲基乙基氨基、二乙基氨基、甲基丙基氨基、二（正丙基）氨基、二（异丙基）氨基、二（环丙基）氨基、二（正丁基）氨基、二（叔丁基）氨基、二（新戊基）氨基、二（正戊基）氨基、二（己基）氨基、二（环己基）氨基和类似基团。在某些实施例中，R 和 R' 连接形成环状结构。所得环状结构可为芳香族或非芳香族。环状二氨基烷基的实例包括但不限于氮丙啶基、吡咯烷基、哌啶基、吗啉基、吡咯基、咪唑基、1,3,4-三唑基和四唑基。

[0168] 提取物：术语“提取物”是指自天然来源制备的组合物。通常，提取物是通过使天然来源与一种或多种溶剂接触以使一部分天然物质分配到溶剂中且将一部分去除来制备。可在制备提取物时实施连续分配或其它分离步骤。参照本发明书应了解，本文所述某些化合物是天然存在的且可通过萃取天然来源获得。或者，可通过化学合成制备本文所述天然存在的化合物。本文所述化学合成的化合物不管是否天然存在均可添加以制备提取物和/或用提取物一起处理。在一些实施例中，提取物中存在的化合物是式 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、和/或 IX 的化合物。在一些实施例中，提取物中存在的化合物是式 Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig 和/或 Ih 的化合物。在一些实施例中，本发明提取物中存在的化合物是天然存在的化合物。在一些所述实施例中，天然存在的化合物具有式 Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig 和/或 Ih。

[0169] 杂脂肪族：本文所用术语“杂脂肪族”是指含有一个或多个（例如）氧、硫、氮、磷或硅原子替代碳原子的脂肪族部分。杂脂肪族部分可为分支链、无支链、环状或非环状且包

括饱和和不饱和杂环,例如,吗啉基、吡咯烷基等。在某些实施例中,杂脂肪族部分通过其上的一个或多个氢原子独立地由包括但不限于下列的一个或多个部分替代来取代:脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基、杂芳基烷基、烷氧基、芳氧基、杂烷氧基、杂芳氧基、烷硫基、芳硫基、杂烷硫基、杂芳硫基、-F、-Cl、-Br、-I、-OH、-NO₂、-CN、-CF₃、-CH₂CF₃、-CHCl₂、-CH₂OH、-CH₂CH₂OH、-CH₂NH₂、-CH₂SO₂CH₃、-C(O)R_x、-CO₂(R_x)、-CON(R_x)₂、-OC(O)R_x、-OCO₂R_x、-OCON(R_x)₂、-N(R_x)₂、-S(O)₂R_x、-NR_x(CO)R_x,其中R_x每次出现时独立地包括但不限于脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基、或杂芳基烷基,其中以上和本文所述脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基烷基、或杂芳基烷基取代基中的任一个可经取代或未经取代、分支链或无支链、环状或非环状,且其中以上和本文所述芳基或杂芳基取代基中的任一个可经取代或未经取代。通常可用取代基的额外实例由本文所述具体实施例加以阐述。

[0170] 杂环烷基和杂环:本文所用术语“杂环烷基”或“杂环”是指非芳香族 5、6 或 7 元环或多环基团,其包括但不限于包含具有 1 与 3 个之间的独立地选自氧、硫和氮的杂原子的稠合 6 元环的二环或三环基团,其中 (i) 每一 5 元环具有 0 至 1 个双键且每一 6 元环具有 0 至 2 个双键, (ii) 氮和硫杂原子可任选地氧化, (iii) 氮杂原子可任选地季铵化,并且 (iv) 以上杂环中的任一个可与苯环稠合。代表性杂环包括但不限于吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基和四氢呋喃基。在某些实施例中,使用“经取代杂环烷基或杂环”且如本文所用是指通过如下取代的如上文所定义杂环烷基或杂环基团:其上的一个、两个或三个氢原子由(但不限于下)以下基团独立地替代:脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基、杂芳基烷基、烷氧基、芳氧基、杂烷氧基、杂芳氧基、烷硫基、芳硫基、杂烷硫基、杂芳硫基、-F、-Cl、-Br、-I、-OH、-NO₂、-CN、-CF₃、-CH₂CF₃、-CHCl₂、-CH₂OH、-CH₂CH₂OH、-CH₂NH₂、-CH₂SO₂CH₃、-C(O)R_x、-CO₂(R_x)、-CON(R_x)₂、-OC(O)R_x、-OCO₂R_x、-OCON(R_x)₂、-N(R_x)₂、-S(O)₂R_x、-NR_x(CO)R_x,其中R_x每次出现时独立地包括但不限于脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基、杂芳基、芳基烷基、或杂芳基烷基,其中以上和本文所述脂肪族基团、杂脂肪族基团、芳基烷基、或杂芳基烷基取代基中的任一个可经取代或未经取代、分支链或无支链、环状或非环状,且其中以上和本文所述芳基或杂芳基取代基中的任一个可经取代或未经取代。通常可用取代基的额外实例由本文所述具体实施例加以阐述。

[0171] 卤基和卤素:本文所用术语“卤基”和“卤素”是指选自氟、氯、溴和碘的原子。

[0172] 卤代烷基:术语“卤代烷基”代表上文所定义的具有 1、2 或 3 个附接至其的卤素原子的烷基且可由诸如氯甲基、溴乙基、三氟甲基和类似基团等基团例示。

[0173] 独立地选择:本文使用术语“独立地选择”指示 R 基团可相同或不同。

[0174] 经分离:本文所用术语“经分离”意指经分离实体:(i) 自至少一种先前与其相关的组份分离;和/或(ii) 由人工操作。在一些实施例中,经分离实体是在初始制造时自至少一种先前与其相关的组份分离出。在已去除大部分其它组份时,经分离实体“经纯化”或“经浓缩”。分离和/或纯化和/或浓缩可使用业内已知的任一技术来实施,所述技术包括(例如)蒸馏、分级分离、气体汽提、萃取、沉淀或其它分离。

[0175] 调节:在以下上下文中使用本文所用术语“调节”。在某些实施例中,术语“调节”是指通过直接与 PP2A 相互作用来影响 PP2A 活性。在某些实施例中,术语“调节”是指通过调节 PP2A 甲基化水平(其通常包括 PP2A 甲基化和 PP2A 脱甲基化的组合)、结合辅助蛋白、

和 / 或结合底物与 PP2A 藉此影响针对所述底物的 PP2A 活性而间接影响 PP2A 活性。实例性辅助蛋白包括但不限于 ME、MT、属于 B、B'、B'' 和 B' '' 家族的 PP2A 调控性 B 亚单位、和 PP2A 活化剂 (例如 PTPA)。实例性底物包括但不限于 τ 、 α -突触核蛋白、Akt、p38 激酶、PI3 激酶、ERK1/2、IRS1、IRS2、JNK2/3、I- κ -B (IKB)、p70S6K、mTORC1、GSK3 β 和 cdk5。在某些实施例中,术语“调节”是指 MT 活性,其中所述活性产生 PP2A 甲基化且 MT 活性的所述调节可改变 PP2A 甲基化状态。例如,甲基化状态变化可调节 PP2A 异源三聚体全酶组装和 / 或可调节 PP2A 活性。在某些实施例中,术语“调节”是指 MT 活性,其通过干扰 PP2A 和 MT 的相互作用达成。在某些实施例中,术语“调节”是指 ME 活性,其中所述活性产生 PP2A 脱甲基化且 ME 活性的所述调节可改变 PP2A 甲基化状态。例如,甲基化状态变化可调节 PP2A 异源三聚体全酶组装和 / 或可调节 PP2A 活性。在某些实施例中,术语“调节”是指通过干扰 PP2A 和 ME 的相互作用来达成的 ME 活性。

[0176] 营养品:本文所用“营养品”是补充饮食以帮助促进良好健康的维持的产品。

[0177] 神经变性疾病:本文所用“神经变性疾病”意指脑和 / 或脊髓的细胞丢失或降解的任一病况。神经变性疾病包括含有神经元病理的神经病症和 / 或由畸形蛋白引起的任何疾病 (例如,蛋白病) 的亚单位。

[0178] PP2A:本文所用“PP2A”意指单独 PP2A C 亚单位、AC 二聚体或 PP2A 全酶。PP2A 二聚体形成通常包括 A 亚单位和 C 亚单位的组装。PP2A 异源三聚体全酶形成通常包括 A 亚单位、C 亚单位、和选自 B、B'、B'' 和 / 或 B' '' 家族中的任一个的调控性亚单位的组装。PP2A 活性。

[0179] PP2A 活性:本文所用“PP2A 活性”意指自催化性 C 亚单位 (PP2A_C)、AC 二聚体 (PP2A_{AC})、以及 PP2A 全酶产生的任何磷酸酶活性,其自 A、C、和属于 B、B'、B'' 和 / 或 B' '' 家族中的任一个的调控性亚单元组装。在某些实施例中,仅提供几个实例,可由如下化合物和 / 或组合物调节 PP2A 活性:调节 PP2A 的甲基化、调节 PP2A 的脱甲基化、调节 PP2A 底物与 PP2A 的相互作用、调节辅助蛋白与 PP2A 的相互作用和 / 或直接与 PP2A 相互作用等。

[0180] 医药品:本文所用“医药品”与营养品一样是针对治疗疾病和 / 或病况制备并使用的药物或药品。

[0181] 医药上可接受的前药:本文所用术语“医药上可接受的前药”是指本发明化合物的所述前药,所述前药在可靠的医学判断范围内适用于接触人类和低等动物的组织并且不会产生过度的毒性、刺激、过敏反应和类似情况,与合理的利益 / 风险比相称且对其预期用途有效,可能时还指本发明化合物的两性离子形式。术语“前药”是指可 (例如) 通过在血液中水解在体内迅速转化产生上式母体化合物的化合物。全面的讨论提供于 T. 希古契 (T. Higuchi) 和 V. 斯特拉 (V. Stella) 的前药作为新颖的递送系统 (Pro-drugs as Novel Delivery Systems) (A. C. S. Symposium Series 的第 14 卷) 和埃德沃 B 洛奇 (Edward B. Roche) 编辑的药物设计中的生物可逆载剂 (Bioreversible Carriers in Drug Design) (美国医药协会和培尔尬蒙出版社 (American Pharmaceutical Association and Pergamon Press), 1987) 中,二者皆以引用的方式并入本文中。

[0182] 医药上可接受的盐:术语“医药上可接受的盐”是指在正确医学判断范围内适用于接触人类和低等动物组织而不会产生过度毒性、刺激、过敏反应和类似情况且与合理的效益 / 风险比相称的所述盐。医药上可接受的盐为业内所熟知。例如,贝格 (Berge) 等人在

医药科学杂志 (J. Pharmaceutical Sciences), 1977, 66 :1-19 (其以引用的方式并入本文中) 中详细阐述医药上可接受的盐。所述盐可于本发明化合物最终分离和纯化期间原位制备或通过使游离碱官能团与适宜有机酸反应而单独制备。医药上可接受的无毒性酸加成盐的实例是用无机酸 (例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸) 或有机酸 (例如乙酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸) 或通过使用业内所用其它方法 (例如离子交换) 形成的胺基盐。其它医药上可接受的盐包括己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2- 羟基 - 乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2- 萘磺酸盐、烟碱酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3- 苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐和类似的盐。代表性碱金属或碱土金属盐包括钠盐、锂盐、钾盐、钙盐、镁盐和类似盐。若适宜, 其它医药上可接受的盐包括无毒性铵、季铵、和胺阳离子, 其是使用诸如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低碳烷基磺酸根和芳基磺酸根等抗衡离子来形成。

[0183] 保护基团: 所属领域的技术人员应了解, 本文所阐述的合成方法使用各种保护基团。本文所用术语“保护基团”意指暂时将其封阻以便反应可选择性地在多官能化合物的另一反应位点处进行的特定官能部分 (例如, O、S 或 N)。在优选实施例中, 保护基团以良好产率选择性反应以获得对经保护反应稳定的经保护底物; 必须通过易于获得且优选地无毒性不攻击其它官能团的试剂来以良好产率选择性去除保护基团; 保护基团形成易于分离的衍生物 (更优选地不产生新立体中心); 并且保护基团具有最小额外官能度以避免形成其它反应位点。如本文中详细论述, 可使用氧、硫、氮和碳保护基团。羟基保护基团包括甲基、甲氧基甲基 (MOM)、甲硫基甲基 (MTM)、叔丁基硫甲基、(苯基二甲基甲硅烷基) 甲氧基甲基 (SMOM)、苄氧基甲基 (BOM)、对甲氧基苄氧基甲基 (PMBM)、(4- 甲氧基苯氧基) 甲基 (p-AOM)、愈创木酚甲基 (GUM)、叔丁氧基甲基、4- 戊烯基氧基甲基 (POM)、硅氧基甲基、2- 甲氧基乙氧基甲基 (MEM)、2, 2, 2- 三氯乙氧基甲基、双 (2- 氯乙氧基) 甲基、2- (三甲基甲硅烷基) 乙氧基甲基 (SEMOR)、四氢吡喃基 (THP)、3- 溴四氢吡喃基、四氢噻喃基、1- 甲氧基环己基、4- 甲氧基四氢吡喃基 (MTHP)、4- 甲氧基四氢噻喃基、4- 甲氧基四氢噻喃基 S, S- 二氧化物、1- [(2- 氯 -4- 甲基) 苯基] -4- 甲氧基哌啶 -4- 基 (CTMP)、1, 4- 二噁烷 -2- 基、四氢呋喃基、四氢硫呋喃基、2, 3, 3a, 4, 5, 6, 7, 7a- 八氢 -7, 8, 8- 三甲基 -4, 7- 甲桥基苯并呋喃 -2- 基、1- 乙氧基乙基、1- (2- 氯乙氧基) 乙基、1- 甲基 -1- 甲氧基乙基、1- 甲基 -1- 苄氧基乙基、1- 甲基 -1- 苄氧基 -2- 氟乙基、2, 2, 2- 三氯乙基、2- 三甲基甲硅烷基乙基、2- (苯基氢硒基) 乙基、叔丁基、烯丙基、对氯苯基、对甲氧基苯基、2, 4- 二硝基苯基、苄基、对甲氧基苄基、3, 4- 二甲氧基苄基、邻硝基苄基、对硝基苄基、对卤代苄基、2, 6- 二氯苄基、对氰基苄基、对苯基苄基、2- 吡啶甲基、4- 吡啶甲基、3- 甲基 -2- 吡啶甲基 N- 氧桥基、二苯基甲基、对, 对' - 二硝基二苯基、5- 二苯并环庚基、三苯基甲基、 α - 萘基二苯基甲基、对甲氧基苯基二苯基甲基、二 (对甲氧基苯基) 苯基甲基、三 (对甲氧基苯基) 甲基、4- (4' - 溴苯酰氧基苯基) 二苯基甲基、4, 4' , 4'' - 三 (4, 5- 二氯苯二甲酰亚氨基苯基) 甲基、4, 4' ,

4''-三(菊芋糖酰基氧基苯基)甲基、4,4',4''-三(苯甲酰氧基苯基)甲基、3-(咪唑-1-基)双(4',4''-二甲氧基苯基)甲基、1,1-双(4-甲氧基苯基)-1'-苊基甲基、9-蒎基、9-(9-苯基)咕吨基、9-(9-苯基-10-氧代)蒎基、1,3-苯并二硫戊环-2-基、苯并异噻唑基 S、S-二氧桥基、三甲基甲硅烷基(TMS)、三乙基甲硅烷基(TES)、三异丙基甲硅烷基(TIPS)、二甲基异丙基甲硅烷基(IPDMS)、二乙基异丙基甲硅烷基(DEIPS)、二甲基叔己基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基(TBDMS)、叔丁基二苯基甲硅烷基(TBDPS)、三苄基甲硅烷基、三-对二甲苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、二苯基甲基甲硅烷基(DPMS)、叔丁基甲氧基苯基甲硅烷基(TBMPS)、甲酸酯、甲酸苯甲酰酯、乙酸酯、氯乙酸酯、二氯乙酸酯、三氯乙酸酯、三氟乙酸酯、甲氧基乙酸酯、三苯基甲氧基乙酸酯、苯氧基乙酸酯、对氯苯氧基乙酸酯、3-苯基丙酸酯、4-氧代戊酸酯(乙酰丙酸酯)、4,4-(亚乙基二硫代)戊酸酯(菊芋糖酰基二硫代乙缩醛)、新戊酸酯(pivaloate)、金刚酸酯、巴豆酸酯、4-甲氧基巴豆酸酯、苯甲酸酯、对苯基苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯(菜酸酯(mesitoate))、烷基甲基碳酸酯、9-苄基甲基碳酸酯(Fmoc)、烷基乙基碳酸酯、烷基 2,2,2-三氯乙基碳酸酯(Troc)、2-(三甲基甲硅烷基)乙基碳酸酯(TMSEC)、2-(苯基磺酰基)乙基碳酸酯(Psec)、2-(三苯基磷鎓基)乙基碳酸酯(Peoc)、烷基异丁基碳酸酯、烷基乙烯基碳酸酯、烷基烯丙基碳酸酯、烷基对硝基苯基碳酸酯、烷基苄基碳酸酯、烷基对甲氧基苄基碳酸酯、烷基 3,4-二甲氧基苄基碳酸酯、烷基邻硝基苄基碳酸酯、烷基对硝基苄基碳酸酯、烷基 S-苄基硫代碳酸酯、4-乙氧基-1-萘基碳酸酯、甲基二硫代碳酸酯、2-碘苯甲酸酯、4-叠氮基丁酸酯、4-硝基-4-甲基戊酸酯、邻-(二溴甲基)苯甲酸酯、2-甲酰基苯磺酸酯、2-(甲基硫代甲氧基)乙基、4-(甲基硫代甲氧基)丁酸酯、2-(甲基硫代甲氧基甲基)苯甲酸酯、2,6-二氯-4-甲基苯氧基乙酸酯、2,6-二氯-4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯氧基乙酸酯、2,4-双(1,1-二甲基丙基)苯氧基乙酸酯、氯二苯基乙酸酯、异丁酸酯、单琥珀酸酯、(E)-2-甲基-2-丁烯酸酯、邻-(甲氧基羰基)苯甲酸酯、 α -萘酸酯、硝酸酯、烷基 N,N,N',N'-四甲基磷酰二胺化物、烷基 N-苯基氨基甲酸酯、硼酸酯、二甲基硫磷基、烷基 2,4-二硝基苯基次磺酸酯、硫酸酯、甲磺酸酯(甲磺酸酯)、苄基磺酸酯、和甲苯磺酸酯(Ts)。为保护 1,2-或 1,3-二醇,保护基团包括亚甲基缩醛、亚乙基缩醛、1-叔丁基亚乙基缩酮、1-苯基亚乙基缩酮、(4-甲氧基苯基)亚乙基缩醛、2,2,2-三氯亚乙基缩醛、缩丙酮、亚环戊基缩酮、亚环己基缩酮、亚环庚基缩酮、亚苄基缩醛、对甲氧基亚苄基缩醛、2,4-二甲氧基亚苄基缩酮、3,4-二甲氧基亚苄基缩醛、2-硝基亚苄基缩醛、甲氧基亚甲基缩醛、乙氧基亚甲基缩醛、二甲氧基亚甲基原酸酯、1-甲氧基亚乙基原酸酯、1-乙氧基次乙基原酸酯、1,2-二甲氧基亚乙基原酸酯、 α -甲氧基亚苄基原酸酯、1-(N,N-二甲基氨基)亚乙基衍生物、 α -(N,N'-二甲基氨基)亚苄基衍生物、2-氧杂亚环戊基原酸酯、二-叔丁基甲硅亚烷基(DTBS)、1,3-(1,1,3,3-四异丙基亚硅氧烷基)衍生物(TIPDS)、四-叔丁氧基二硅氧烷-1,3-二亚基衍生物(TBDS)、环状碳酸酯、环状硼酸酯、乙基硼酸酯、和苯基硼酸酯。氨基保护基团包括甲基氨基甲酸酯、乙基氨基甲酸酯、9-苄基甲基氨基甲酸酯(Fmoc)、9-(2-硫代)苄基甲基氨基甲酸酯、9-(2,7-二溴)苄基甲基氨基甲酸酯、2,7-二-叔丁基-[9-(10,10-二氧代-10,10,10,10-四氢噻唞烷基)]甲基氨基甲酸酯(DBD-Tmoc)、4-甲氧基苯酰基氨基甲酸酯(Phenoc)、2,2,2-三氯乙基氨基甲酸酯(Troc)、2-三甲基甲硅烷基乙基氨基甲酸酯(Teoc)、2-苯基乙基氨基甲酸酯(hZ)、1-(1-金刚烷基)-1-甲基乙基氨基甲酸酯(Adpoc)、1,1-二甲基-2-卤代乙基氨基

甲酸酯、1,1-二甲基-2,2-二溴乙基氨基甲酸酯 (DB-t-BOC)、1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙基氨基甲酸酯 (TCBOC)、1-甲基-1-(4-联苯基)乙基氨基甲酸酯 (Bpoc)、1-(3,5-二-叔丁基苯基)-1-甲基乙基氨基甲酸酯 (t-Bumeoc)、2-(2'-和 4'-吡啶基)乙基氨基甲酸酯 (Pyoc)、2-(N,N-二环己基甲酰胺基)乙基氨基甲酸酯、叔丁基氨基甲酸酯 (BOC)、1-金刚烷基氨基甲酸酯 (Adoc)、乙烯基氨基甲酸酯 (Voc)、烯丙基氨基甲酸酯 (Alloc)、1-异丙基烯丙基氨基甲酸酯 (Ipaoc)、肉桂基氨基甲酸酯 (Coc)、4-硝基肉桂基氨基甲酸酯 (Noc)、8-喹啉基氨基甲酸酯、N-羟基哌啶基氨基甲酸酯、烷基二硫代氨基甲酸酯、苄基氨基甲酸酯 (Cbz)、对甲氧基苄基氨基甲酸酯 (Moz)、对硝基苄基氨基甲酸酯、对溴苄基氨基甲酸酯、对氯苄基氨基甲酸酯、2,4-二氯苄基氨基甲酸酯、4-甲基亚磺酰基苄基氨基甲酸酯 (MsZ)、9-蒎基甲基氨基甲酸酯、二苯基甲基氨基甲酸酯、2-甲基硫代乙基氨基甲酸酯、2-甲基磺酰基乙基氨基甲酸酯、2-(对甲苯磺酰基)乙基氨基甲酸酯、[2-(1,3-二噻烷基)]甲基氨基甲酸酯 (Dmoc)、4-甲基硫代苯基氨基甲酸酯 (Mtpc)、2,4-二甲基硫代苯基氨基甲酸酯 (Bmpc)、2-磷鎓基乙基氨基甲酸酯 (Peoc)、2-三苯基磷鎓基异丙基氨基甲酸酯 (Ppoc)、1,1-二甲基-2-氰基乙基氨基甲酸酯、间-氯-对-酰氧基苄基氨基甲酸酯、对-(二羟基硼烷基)苄基氨基甲酸酯、5-苯并异噁唑基甲基氨基甲酸酯、2-(三氟甲基)-6-色酮基甲基氨基甲酸酯 (Tcroc)、间-硝基苯基氨基甲酸酯、3,5-二甲氧基苄基氨基甲酸酯、邻硝基苄基氨基甲酸酯、3,4-二甲氧基-6-硝基苄基氨基甲酸酯、苯基(邻硝基苯基)甲基氨基甲酸酯、吩噻嗪基-(10)-羰基衍生物、N'-对甲苯磺酰基氨基羰基衍生物、N'-苯基氨基硫代羰基衍生物、叔戊基氨基甲酸酯、S-苄基硫代氨基甲酸酯、对氰基苄基氨基甲酸酯、环丁基氨基甲酸酯、环己基氨基甲酸酯、环戊基氨基甲酸酯、环丙基甲基氨基甲酸酯、对癸基氧基苄基氨基甲酸酯、2,2-二甲氧基羰基乙烯基氨基甲酸酯、邻-(N,N-二甲基甲酰胺基)苄基氨基甲酸酯、1,1-二甲基-3-(N,N-二甲基甲酰胺基)丙基氨基甲酸酯、1,1-二甲基丙炔基氨基甲酸酯、二(2-吡啶基)甲基氨基甲酸酯、2-呋喃基甲基氨基甲酸酯、2-碘乙基氨基甲酸酯、异硼烷基氨基甲酸酯、异丁基氨基甲酸酯、异烟碱基氨基甲酸酯、对-(对'-甲氧基苯基偶氮)苄基氨基甲酸酯、1-甲基环丁基氨基甲酸酯、1-甲基环己基氨基甲酸酯、1-甲基-1-环丙基甲基氨基甲酸酯、1-甲基-1-(3,5-二甲氧基苯基)乙基氨基甲酸酯、1-甲基-1-对苯基偶氮苯基)乙基氨基甲酸酯、1-甲基-1-苯基乙基氨基甲酸酯、1-甲基-1-(4-吡啶基)乙基氨基甲酸酯、苯基氨基甲酸酯、对-(苯基偶氮)苄基氨基甲酸酯、2,4,6-三-叔丁基苯基氨基甲酸酯、4-(三甲基铵)苄基氨基甲酸酯、2,4,6-三甲基苄基氨基甲酸酯、甲酰胺、乙酰胺、氯乙酰胺、三氯乙酰胺、三氟乙酰胺、苯基乙酰胺、3-苯基丙酰胺、吡啶酰胺、3-吡啶基甲酰胺、N-苯甲酰基苯基丙胺酰基衍生物、苯甲酰胺、对苯基苯甲酰胺、邻硝基苯基乙酰胺、邻硝基苯氧基乙酰胺、乙酰乙酰胺、(N'-二硫代苄氧基羰基氨基)乙酰胺、3-(对羟基苯基)丙酰胺、3-(邻硝基苯基)丙酰胺、2-甲基-2-(邻硝基苯氧基)丙酰胺、2-甲基-2-(邻苯基偶氮苯氧基)丙酰胺、4-氯丁酰胺、3-甲基-3-硝基丁酰胺、邻硝基肉桂酰胺、N-乙酰基甲硫氨酸衍生物、邻硝基苯并酰胺、邻-(苯甲酰氧基甲基)苯甲酰胺、4,5-二苯基-3-噁唑啉-2-酮、N-邻苯二甲酰亚胺、N-二硫杂琥珀酰亚胺 (Dts)、N-2,3-二苯基马来酰亚胺、N-2,5-二甲基吡咯、N-1,1,4,4-四甲基二甲硅烷基氮杂环戊烷加合物 (STABASE)、5-经取代 1,3-二甲基-1,3,5-三氮杂环己烷-2-酮、5-经取代 1,3-二苄基-1,3,5-三氮杂环己烷-2-酮、1-经取代 3,5-二硝基-4-吡啶酮、N-甲胺、

N-烯丙胺、N-[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲胺(SEM)、N-3-乙酰氧基丙胺、N-(1-异丙基-4-硝基-2-氧代-3-吡咯啉-3-基)胺、季铵盐、N-苄基胺、N-二(4-甲氧基苯基)甲胺、N-5-二苯并环庚胺、N-三苯基甲胺(Tr)、N-[(4-甲氧基苯基)二苯基甲基]胺(MMTr)、N-9-苯基苄胺(PhF)、N-2,7-二氯-9-苄基亚甲胺、N-三茂铁基甲基氨基(Fcm)、N-2-吡啶甲基氨基N'-氧化物、N-1,1-二甲基硫代亚甲基胺、N-亚苄基胺、N-对甲氧基亚苄基胺、N-二苯基亚甲胺、N-[(2-吡啶基)三甲苯基]亚甲胺、N-(N', N'-二甲基氨基亚甲基)胺、N, N'-亚异丙基二胺、N-对硝基亚苄基胺、N-亚水杨基胺、N-5-氯亚水杨基胺、N-(5-氯-2-羟基苯基)苯基亚甲胺、N-亚环己胺、N-(5,5-二甲基-3-氧代-1-环己烯基)胺、N-硼烷衍生物、N-二苯基硼酸衍生物、N-[苯基(戊羰基铬-或钨)羰基]胺、N-铜螯合物、N-锌螯合物、N-硝基胺、N-亚硝胺、胺N-氧化物、二苯基膦酰胺(Dpp)、二甲基硫代膦酰胺(Mpt)、二苯基硫代膦酰胺(Ppt)、二烷基膦酰胺化物、二苄基膦酰胺化物、二苯基膦酰胺化物、苯亚磺酰胺、邻硝基苯亚磺酰胺(Nps)、2,4-二硝基苯亚磺酰胺、五氯苯亚磺酰胺、2-硝基-4-甲氧基苯亚磺酰胺、三苯基甲基亚磺酰胺、3-硝基吡啶亚磺酰胺(Npys)、对甲苯磺酰胺(Ts)、苯磺酰胺、2,3,6-三甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Mtr)、2,4,6-三甲氧基苯磺酰胺(Mtb)、2,6-二甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Pme)、2,3,5,6-四甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Mte)、4-甲氧基苯磺酰胺(Mbs)、2,4,6-三甲基苯磺酰胺(Mts)、2,6-二甲氧基-4-甲基苯磺酰胺(iMds)、2,2,5,7,8-五甲基苯并二氢吡喃-6-磺酰胺(Pmc)、甲烷磺酰胺(Ms)、对三甲基甲硅烷基乙烷磺酰胺(SES)、9-蒽磺酰胺、4-(4', 8'-二甲氧基萘基甲基)苯磺酰胺(DNMBS)、苄基磺酰胺、三氟甲基磺酰胺、和苯酰基磺酰胺。本文详细阐述实例性保护基团。然而,应了解,本发明并不意欲限于这些保护基团;而是可使用上述标准容易地确定多种额外等效保护基团且其用于本发明方法中。此外,多种保护基团阐述于“有机合成中的保护基团(Protective Groups in Organic Synthesis)”(第3版,格林(Greene, T.W.)和伍慈(Wuts, P.G.)编辑,约翰威立父子公司(John Wiley&Sons),纽约(NewYork):1999,其全部内容皆以引用的方式并入本文中)中。

[0184] 经取代:应了解,本文所述化合物可用任何数量的取代基或官能部分取代。通常,术语“经取代”(无论其前是否有术语“任选地”)和本发明式中所包含的取代基是指用指定取代基替代给定结构中的氢基团。当任何给定结构中的一个以上位置被选自指定群组的一个以上取代基取代时,每一位置处的取代基可相同或不同。如本文所用术语“经取代”意欲包括有机化合物的所有容许的取代基。广义上,所述容许取代基包括有机化合物的非环状和环状、分支链和无支链、碳环和杂环、芳香族和非芳香族取代基。诸如氮等杂原子可具有满足所述杂原子化合价要求的氢取代基和/或本文所述的任何容许的有机化合物取代基。此外,本发明并不意欲以任何方式受限于有机化合物的容许取代基。本发明设想的取代基和变量的组合优选地为可形成用于治疗(例如)感染性疾病或增殖性病症的稳定化合物的组合。

[0185] 稳定:本文所用术语“稳定”优选地指满足以下的化合物:具有足以容许制造的稳定性并可在足够长的待检测时期内且优选对本文详述目的有用的足够长的时期内保持化合物完整性。

[0186] 合成色酰胺衍生物:本文所用术语“合成色酰胺衍生物”和“合成色酰胺类似物”可互换使用,意指不是天然存在的,即不能在植物或植物提取物中发现的式I化合物。天然

存在的化合物的代表性实例参见共同待决申请案 61/124, 949、61/125, 169 和 61/125, 205, 并且在本文中绘示为化合物 I-63 至 I-72、和化合物 I-81 至 I-86。

[0187] 互变异构体：本文所用术语“互变异构体”是氢和双键相对于分子的其它原子改变位置的化合物的特定异构体。为存在一对互变异构体，必须有互变机制。互变异构体的实例包括酮-烯醇形式、亚胺-烯胺形式、酰胺-亚氨基醇形式、脒-胺化脒 (aminidine) 形式、亚硝基-肟形式、硫代酮-烯硫醇形式、N-亚硝基-羟基偶氮形式、硝基-酸式硝基形式、和吡啶酮-羟基吡啶形式。

[0188] 治疗有效量：本文所用术语“治疗有效量”意指引发期望生物反应的物质（例如，治疗剂、组合物和 / 或调配物）的量。在一些实施例中，物质的有效量是在投与患有或易患疾病、病症、和 / 或病况的个体时足以治疗、诊断、预防所述疾病、病症、和 / 或病况、和 / 或延迟其发作的量。所属领域的技术人员应了解，物质的有效量可根据诸如以下因素变化：期望生物终点、所递送物质、靶细胞或组织等。例如，有效治疗疾病、病症和 / 或病况的组合物和 / 或调配物的量是可减轻、改善、缓解、抑制、预防所述疾病、病症和 / 或病况的一个或多个症状或特征、延迟其发作、降低其严重性和 / 或降低其发病率的量。

[0189] 治疗（“Treat”或“treating”）：本文所用术语“治疗”（“treat”、“treatment”、或“treating”）是指用于部分或完全减轻、改善、缓解、抑制、预防疾病、病症和 / 或病况的一个或多个症状或特征、延迟其发作、降低其严重性和 / 或降低其发病率的任何方法。可向并不呈现疾病、病症和 / 或病况的迹象的个体投与治疗。在一些实施例中，出于降低发育与疾病、病症和 / 或病况相关的病理的目的，可向仅呈现疾病、病症和 / 或病况的早期迹象的个体投与治疗。

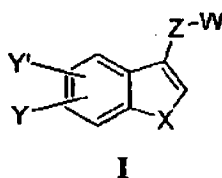
[0190] 单位剂量形式：本文所用表达“单位剂量形式”是指适于欲治疗个体的所提供调配物的物理分散单位。然而，应理解，所提供调配物的总日剂量可由会诊医生在合理的医学判断范围内确定。任一特定个体或有机体的具体治疗有效剂量水平取决于多种因素，包括所治疗病症和所述病症的严重程度；所用具体活性剂的活性；所用具体调配物；个体年龄、体重、总体健康状况、性别和饮食；所用具体活性剂的投用时间、和排泄速度；治疗持续时间；与所用具体化合物组合或同时使用的药物和 / 或额外疗法；和医学技术中已为人熟知的类似因素。

[0191] I. 实例性化合物的说明

[0192] 如上文所述，可用于本发明的化合物包括式 I 的化合物。

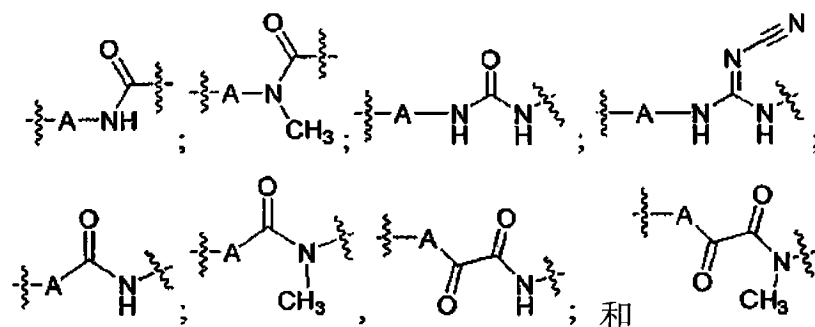
[0193] 根据一个方面，本发明提供式 I 化合物，

[0194]



[0195] 或其医药上可接受的盐，其中：Z 选自由以下组成的群组：

[0196]



[0197] A 是 $-(\text{CH}_2)_n$, 其中 n 为 0、1 或 2;

[0198] X 是 NH、NR'、O 或 S;

[0199] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基, 其具有 10 至 25 个碳, 任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子, 并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代;

[0200] Y 选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR'、-NR' R'、-C(O)NHR'、-C(O)NR' R'、卤素、或糖;

[0201] Y' 选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR'、-NR' R'、-C(O)NHR'、-C(O)NR' R'、卤素、或糖;

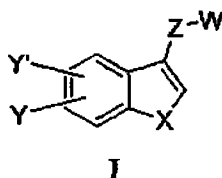
[0202] R 是 H、可为直链、环状、或分支链的任选地经取代的 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基、任选地经取代的 $-\text{C}_6$ 芳香族环、任选地经取代的 5 或 6 元杂芳香族环、-C(O)R'、-C(O)H、-C(O)OR'、-C(O)OH、-C(N)NH 或 -C(N)NR'; 并且

[0203] R' 是可为直链、环状或分支链的任选地经取代的 C_1-C_6 烷基或烯基;

[0204] 或 R 与 R' 可一起形成具有 1 至 2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5 至 6 元杂环。

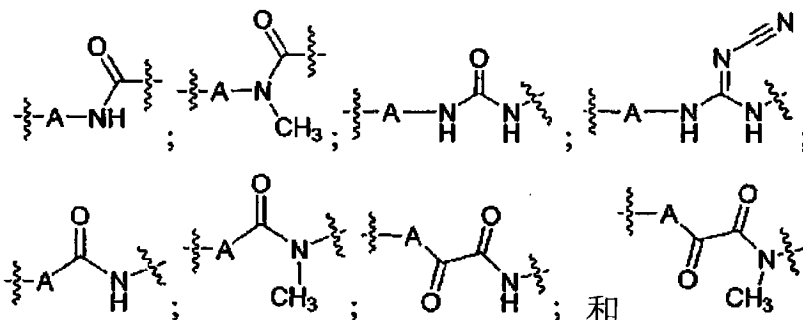
[0205] 根据一个方面, 本发明提供式 I 化合物,

[0206]



[0207] 或其医药上可接受的盐, 其中: Z 选自由以下组成的群组:

[0208]



[0209] A 是 $-(\text{CH}_2)_n$ 或 $-(\text{CB}_2)_n$, 其中 n 为 0、1 或 2;

[0210] B 是 H、-NHC(=O)OR、或 -C(=O)OR;

[0211] X 是 NH、NR'、O、或 S;

[0212] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基, 其具有 10 至 25 个碳, 任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子, 并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代;

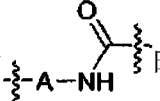
[0213] Y 和 Y' 独立地选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR'、-NR' R'、-NHR''、-C(O)NHR'、-C(O)NR' R'、卤素、或糖；

[0214] -R 是 H、可为直链、环状、或分支链的 -C₁₋₆烷基、-C₆芳香族环、5- 或 6- 元杂芳香族环、-C(O)R'、-C(O)H、-C(O)OR'、-C(O)OH、-C(N)NH、-C(N)NR'；并且

[0215] -R' 是可为直链、环状或分支链的 C₁-C₆烷基或烯基；

[0216] -R'' 是任选地经 -OH 取代的 -C₁₋₂烷基；

[0217] (a) 其中所述化合物不是天然存在的；

[0218] (b) 在 Z 为  时，则 n 不为 0；

[0219] (c) 所述化合物的特征在于能调节 PP2A 甲基化，从而满足以下条件中的至少一者：

[0220] (i) 在将化合物与纯化 PP2A 和纯化 MT 一起培育时，所述化合物以低于 100 μM 的 IC₅₀ 调节 PP2A 的甲基化；

[0221] (ii) 在将化合物与纯化 PP2A 和纯化 ME 一起培育时，所述化合物以低于 100 μM 的 IC₅₀ 调节 PP2A 的脱甲基化；

[0222] (iii) 在将化合物与

[0223] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时；和

[0224] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时；

[0225] 所述化合物相对于 ME 酶显示针对 MT 酶的选择活性；

[0226] (iv) 在将化合物与

[0227] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时；和

[0228] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时；

[0229] 所述化合物相对于 MT 酶显示针对 ME 酶的选择活性；和 / 或

[0230] (v) 在将化合物与纯化 PP2A、纯化 ME、和纯化 MT 一起培育时，观察到 PP2A 的甲基化水平与在不使用所述化合物的相当条件下观察到的甲基化水平不同；且其中满足以下条件中的一者：

[0231] (d) 其中所述化合物的特征另外在于，在将所述化合物与分离 PP2A 和分离非蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一起培育时，所观察到的分离非蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当；和

[0232] (e) 其中所述化合物的特征另外在于，在将所述化合物与分离 PP2A 和分离蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一起培育时，所观察到的分离蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当；

[0233] 或其医药上可接受的盐。

[0234] 在某些实施例中，所述化合物不是选自由以下组成的群组的化合物：

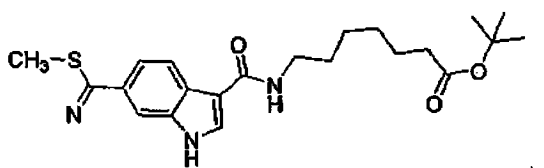
[0235] N-(1,4-二甲基戊基)-5,6-二甲基-3-苯并呋喃乙酰胺；

[0236] N-[2-(6-甲氧基-1H-吡啶-3-基)乙基]-十二酰胺；

[0237] N-(1,4-二甲基戊基)-1H-吡啶-3-丙酰胺；

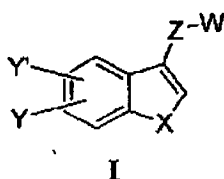
[0238] N-(1,1-二乙基-2-丙炔-1-基)-1H-吡啶-3-丙酰胺；

- [0239] N-(1-甲基己基)-1H-吡啶-3-丙酰胺；
[0240] N-(1,1-二乙基-2-丙炔-1-基)-1H-吡啶-3-乙酰胺；
[0241] N-(2-乙基己基)-1H-吡啶-3-甲酰胺；
[0242] N-(1,1-二乙基-2-丙炔-1-基)-6-乙基-3-苯并呋喃乙酰胺；
[0243] N-[2-(5-氯-1H-吡啶-3-基)乙基]-2-乙基-己酰胺；
[0244] N-[2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基]-5,8,11,14-二十碳四烯酰胺；
[0245] 2-乙基-N-[2-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基]-己酰胺；
[0246] 1-甲基-N-(5-甲基己烷-2-基)-1H-吡啶-2-甲酰胺；
[0247] N-(1,5-二甲基己基)-6-甲氧基-3-苯并呋喃乙酰胺；
[0248] N-(1,5-二甲基己基)-1H-吡啶-3-丙酰胺；
[0249] 2-乙基-N-[2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)乙基]-己酰胺；
[0250] N-(1,4-二甲基戊基)-1H-吡啶-3-乙酰胺；
[0251] N-[2-(6-甲氧基-1H-吡啶-3-基)乙基]-2-丙基-戊酰胺；
[0252] N-(1,5-二甲基己基)-1H-吡啶-3-乙酰胺；
[0253] N-[2-(5-氯-1H-吡啶-3-基)乙基]-2-丙基-戊酰胺；
[0254] 6-甲氧基-N-[(1S)-1-甲基己基]-3-苯并呋喃乙酰胺；
[0255] N-[2-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基]-2-丙基-戊酰胺；
[0256] N-(1,1-二乙基-2-丙炔-1-基)-6-甲氧基-3-苯并呋喃乙酰胺；
[0257] N-十二烷基- α -氧代-1H-吡啶-3-乙酰胺；
[0258] N-(1,4-二甲基戊基)-6-甲氧基-3-苯并呋喃乙酰胺；
[0259] 5-溴-N-十八烷基- α -氧代-1H-吡啶-3-乙酰胺；
[0260] N-[3-乙基-2-(4-吗啉基)戊基]-N'-[2-(1H-吡啶-3-基)乙基]-脲；
[0261] N-4-羟基-N1-[2-(1H-吡啶-3-基)乙基]-2-(2-甲基丙基)-丁二酰胺；
[0262] 4-己酸 3-[2-[[2-(1H-吡啶-3-基)乙基]氨基]-2-氧代乙基]-甲基酯；
[0263] 庚酸 7-[[[6-(氨基亚氨基甲基)-1H-吡啶-3-基]羰基]氨基]-1,1-二甲基乙酯；
[0264] 庚酸 7-[[[6-(氨基硫代甲基)-1H-吡啶-3-基]羰基]氨基]-1,1-二甲基乙酯；
[0265] 2-[[2-(1H-吡啶-3-基)乙酰基]氨基]-(2S)-庚酸；
[0266] N-[3-乙基-2-(4-吗啉基)戊基]-1H-吡啶-3-丙酰胺；
[0267] N4-羟基-N1-[2-(1H-吡啶-3-基)乙基]-N1-甲基-2-(2-甲基丙基)-(2R)-丁二酰胺；
[0268] 庚酸 7-[[[5-(氨基亚氨基甲基)-1H-吡啶-3-基]羰基]氨基]-1,1-二甲基乙酯；和
[0269]



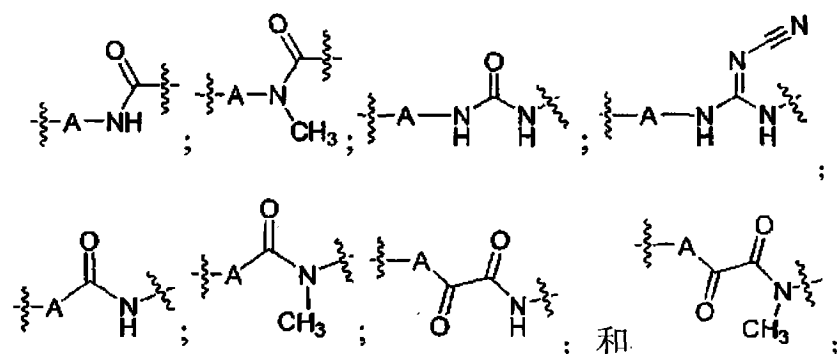
[0270] 根据一个方面,本发明提供式 I 化合物,

[0271]



[0272] 或其医药上可接受的盐,其中:Z 选自由以下组成的群组:

[0273]



[0274] A 是 $-(CH_2)_n$ 或 $-(CB_2)_n$, 其中 n 为 0、1 或 2;

[0275] B 是 H、 $-NHC(=O)OR$ 或 $-C(=O)OR$;

[0276] X 是 NH、 NR' 、O 或 S;

[0277] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基,其具有 10 至 25 个碳,任选地含有 1 或 2 个选自 NH、 NR' 或 O 的杂原子,并且任选地经一个或多个 $-OR$ 基团或卤素取代;

[0278] Y 和 Y' 独立地选自 H、 $-OH$ 、 $-R$ 、 $-OR$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-NR'R'$ 、 $-NHR''$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)NR'R'$ 、卤素、或糖;

[0279] R 是 H、可为直链、环状、或分支链的 $-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_6$ 芳香族环、5- 或 6- 元杂芳香族环、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(N)NH$ 、 $-C(N)NR'$; 并且

[0280] $-R'$ 是可为直链、环状或分支链的 C_1-C_6 烷基或烯基;

[0281] $-R''$ 是任选地经 $-OH$ 取代的 $-C_{1-2}$ 烷基;

[0282] 其中所述化合物不是天然存在的;并且

[0283] 所述化合物的特征在于选自由以下组成的群组的活性:

[0284] (a) 其中所述化合物不是天然存在的;

[0285] (b) 所述化合物的特征在于能调节 PP2A 甲基化,从而满足以下条件中的至少一者:

[0286] (i) 在将化合物与纯化 PP2A 和纯化 MT 一起培育时,所述化合物以低于 $100\ \mu M$ 的 IC_{50} 调节 PP2A 的甲基化;

[0287] (ii) 在将化合物与纯化 PP2A 和纯化 ME 一起培育时,所述化合物以低于 $100\ \mu M$ 的 IC_{50} 调节 PP2A 的脱甲基化;

[0288] (iii) 在将化合物与

[0289] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时;和

[0290] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时;

[0291] 所述化合物相对于 ME 酶显示针对 MT 酶的选择活性;

[0292] (iv) 在将化合物与

[0293] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时 ; 和

[0294] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时 ;

[0295] 所述化合物相对于 MT 酶显示针对 ME 酶的选择活性 ; 和 / 或

[0296] (v) 在将化合物与纯化 PP2A、纯化 ME、和纯化 MT 一起培育时, 观察到 PP2A 的甲基化水平与在不使用所述化合物的相当条件下观察到的甲基化水平不同 ;

[0297] 并且其中满足以下条件中的一者 :

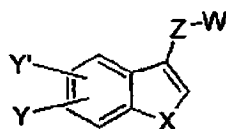
[0298] (c) 其中所述化合物的特征另外在于, 在将所述化合物与分离 PP2A 和分离非蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一同培育时, 所观察到的分离非蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当 ; 和

[0299] (d) 其中所述化合物的特征另外在于, 在将所述化合物与分离 PP2A 和分离蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一同培育时, 所观察到的分离蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当 ;

[0300] 或其医药上可接受的盐。

[0301] 根据一个方面, 本发明提供式 I 的分离化合物,

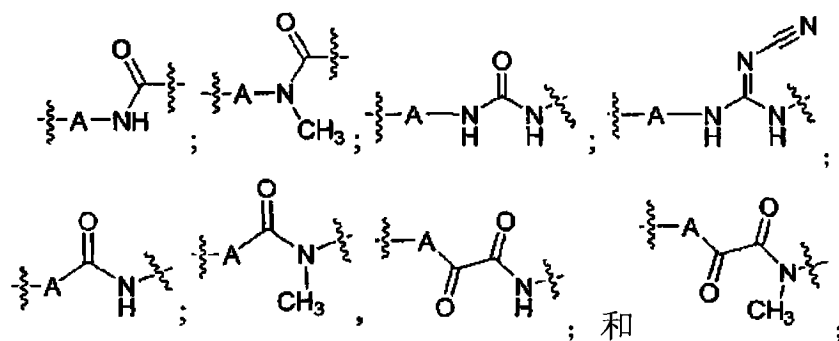
[0302]



I

[0303] 或其医药上可接受的盐, 其中 : Z 选自自由以下组成的群组 :

[0304]



[0305] A 是 $-(CH_2)_n$, 其中 n 为 0、1 或 2 ;

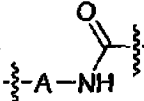
[0306] X 是 NH、NR'、O 或 S ;

[0307] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基, 其具有 10 至 25 个碳, 任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子, 并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代 ;

[0308] Y 和 Y' 独立地选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR'、-NR' R'、-C(O)NHR'、-C(O)NR' R'、卤素、或糖 ;

[0309] R 是 H、可为直链、环状、或分支链的 $-C_{1-6}$ 烷基、 $-C_6$ 芳香族环、5 或 6 元杂芳香族环、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(N)NH$ 、 $-C(N)NR'$; 并且

[0310] $-R'$ 是可为直链、环状或分支链的 C_1-C_6 烷基或烯基 ; 并且

[0311] (a) 在 Z 为  时, 则 n 不为 0 ;

[0312] (b) 所述化合物的特征在于能调节 PP2A 甲基化, 从而满足以下条件中的至少一者 :

[0313] (i) 在将化合物与纯化 PP2A 和纯化 MT 一起培育时, 所述化合物以低于 100 μ M 的 IC_{50} 调节 PP2A 的甲基化 ;

[0314] (ii) 在将所述化合物与纯化 PP2A 和纯化 ME 一起培育时, 所述化合物以低于 100 μ M 的 IC_{50} 调节 PP2A 的脱甲基化 ;

[0315] (iii) 在将化合物与

[0316] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时 ; 和

[0317] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时 ;

[0318] 所述化合物相对于 ME 酶显示针对 MT 酶的选择活性 ;

[0319] (iv) 在将化合物与

[0320] 纯化 PP2A 和纯化 MT 分开培育时 ; 和

[0321] 与纯化 PP2A 和纯化 ME 分开培育时 ;

[0322] 所述化合物相对于 MT 酶显示针对 ME 酶的选择活性 ; 和 / 或

[0323] (v) 在将化合物与纯化 PP2A、纯化 ME、和纯化 MT 一起培育时, 观察到 PP2A 的甲基化水平与在不使用所述化合物的相当条件下观察到的甲基化水平不同 ;

[0324] 且其中满足以下条件中的一者 :

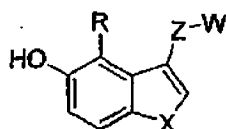
[0325] (c) 其中所述化合物的特征另外在于, 在将所述化合物与分离 PP2A 和分离非蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一起培育时, 所观察到的分离非蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当 ; 和

[0326] (d) 其中所述化合物的特征另外在于, 在将所述化合物与分离 PP2A 和分离蛋白 PP2A 靶在不存在 MT 和 ME 的情况下一起培育时, 所观察到的分离蛋白靶的磷酸化与不使用所述化合物时所观察到者相当 ;

[0327] 或其医药上可接受的盐。

[0328] 在某些实施例中, 本发明提供式 II 化合物,

[0329]

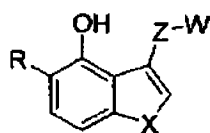


II,

[0330] 或其医药上可接受的盐, 其中 Z、X、W 和 R 中的每一者均如上文针对式 I 定义且阐述于本文实施例中。式 II 的实例性化合物是化合物 I-43, 且其它可用实例性化合物绘示于表 1 中。

[0331] 在某些实施例中, 本发明提供式 III 化合物,

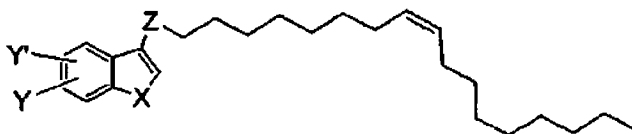
[0332]

**III,**

[0333] 或其医药上可接受的盐,其中 Z、X、W 和 R 中的每一者均如上文针对式 I 定义且阐述于本文实施例中。式 III 的实例性化合物是化合物 I-44,且其它可用实例性化合物绘示于表 1 中。

[0334] 在某些实施例中,本发明提供式 IV 化合物,

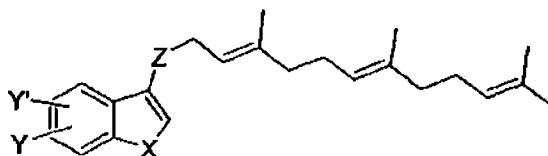
[0335]

**IV,**

[0336] 或其医药上可接受的盐,其中 Z、X、Y 和 Y' 中的每一者均如上文针对式 I 定义且阐述于本文实施例中。式 IV 的实例性化合物是化合物 I-40,且其它可用实例性化合物绘示于表 1 中。

[0337] 在某些实施例中,本发明提供式 V 化合物,

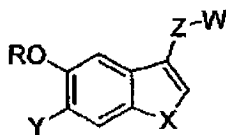
[0338]

**V,**

[0339] 或其医药上可接受的盐,其中 Z、X、Y 和 Y' 中的每一者均如上文针对式 I 定义且阐述于本文实施例中。式 V 的实例性化合物是化合物 I-41,且其它可用实例性化合物绘示于表 1 中。

[0340] 在某些实施例中,本发明提供式 VI 化合物,

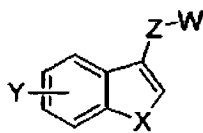
[0341]

**VI,**

[0342] 或其医药上可接受的盐,其中 Z、X、W 和 R 和 Y 中的每一者均如上文针对式 I 定义且阐述于本文实施例中。式 VI 的实例性化合物包括化合物 I-45 和化合物 I-46,且其它可用实例性化合物绘示于表 1 中。

[0343] 在某些实施例中,本发明提供式 VII 化合物,

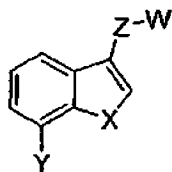
[0344]

**VII,**

[0345] 或其医药上可接受的盐,其中 Z、X、W 和 Y 中的每一者均如上文针对式 I 定义且阐述于本文实施例中。式 VII 的实例性化合物包括化合物 I-47 和化合物 I-48,且其它可用实例性化合物绘示于表 1 中。

[0346] 在某些实施例中,本发明提供式 VIII 化合物,

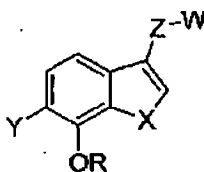
[0347]

**VIII,**

[0348] 或其医药上可接受的盐,其中 Z、X、W 和 Y 中的每一者均如上文针对式 I 定义且阐述于本文实施例中。式 VIII 的实例性化合物包括化合物 I-21、I-22、I-26、I-40、和 I-52,且其它可用实例性化合物绘示于表 1 中。

[0349] 在某些实施例中,本发明提供式 IX 化合物,

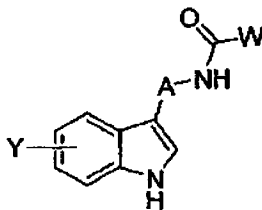
[0350]

**IX,**

[0351] 或其医药上可接受的盐,其中 Z、X、W 和 Y 中的每一者均如上文针对式 I 定义且阐述于本文实施例中。式 IX 的实例性化合物是化合物 I-27,且其它可用实例性化合物绘示于表 1 中。

[0352] 根据一个方面,本发明提供式 Ia 的脂肪酸偶联化合物:

[0353]

**Ia**

[0354] 其中:

[0355] A 是 $-(CH_2)_n$, 其中 n 为 0、1 或 2;

[0356] W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基,其具有 10 至 25 个碳,任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子,并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代;

[0357] Y 独立地选自 H、-OH、或糖,并且所述化合物对针对 PP2A 的甲酯酶的抑制活性

(IC_{50}) 小于 $50 \mu M$, 其特征在于游离脂肪酸含量低于约 20%。

[0358] 在某些实施例中, W 是直链或分支链饱和或不饱和烷基, 其具有 15 与 21 个之间的碳, 任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子, 并且任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代。

[0359] 在某些实施例中, W 是具有 15 与 21 个之间的碳的直链、饱和烷基。

[0360] 如上文所概括定义, X 是 NH、NR'、O、或 S。在某些实施例中, X 是 NH。在某些实施例中, X 是 O。在某些实施例中, X 是 S。在某些实施例中, X 是 NR'。在某些实施例中, R' 是任选地经取代的 C_1 - C_6 烷基。在某些实施例中, 在 R' 是 $-CH_3$ 时, X 是 $-NHCH_3$ 。在某些实施例中, 在 R' 是 $-CH_2CH_3$ 时, X 是 $-NHCH_2CH_3$ 。在某些实施例中, 在 R' 是 $-CH_2CH_3$ 时, X 是 $-NHCH(CH_3)_2$ 。

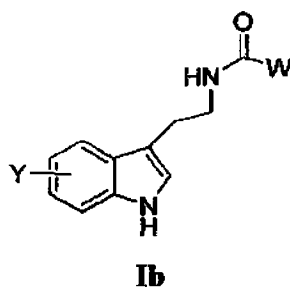
[0361] 在某些实施例中, 本发明提供天然存在的脂肪酸偶联化合物, 其可添加至医药品、营养品、或其它食物中或与其组合以 (例如) 治疗、预防、控制或改善糖尿病、胰岛素抗性、和代谢性综合症。

[0362] 在某些实施例中, 本发明提供天然存在和 / 或合成的脂肪酸偶联化合物, 其可单独添加或与医药品、营养品、或其它食物组合添加以治疗、预防、控制或改善神经变性疾病 (例如, 蛋白病)。实例性蛋白病包括 τ 蛋白病和突触核蛋白病。在某些实施例中, τ 蛋白病包括阿兹海默氏病 (Alzheimer's Disease)、唐氏综合症 (Down's syndrome) 成年病例中的神经变性、拳击员痴呆、皮克病 (Pick Disease)、关岛帕金森痴呆复合症 (Guam parkinsonism dementia complex)、额颞痴呆、皮质基底变性、苍白球-脑桥-黑质变性、和进行性核上性麻痹。在某些实施例中, 突触核蛋白病 (例如, α -突触核蛋白病) 包括帕金森氏病 (Parkinson's Disease)、路易体痴呆 (Dementia with Lewy bodies) (DLB) 和多系统萎缩症 (MSA)。

[0363] 在某些实施例中, 化合物可单独添加或与医药品、营养品、或其它食物组合添加以治疗、预防、控制或改善神经病症、糖尿病、和 / 或代谢性综合症, 如本文进一步阐述。

[0364] 在某些实施例中, 本发明提供式 Ib 的脂肪酸偶联化合物,

[0365]



[0366] 或其医药上可接受的盐, 其中:

[0367] W 是具有 15 与 21 个之间的碳的直链或分支链饱和或不饱和烷基; 并且

[0368] Y 独立地是氢、羟基或糖;

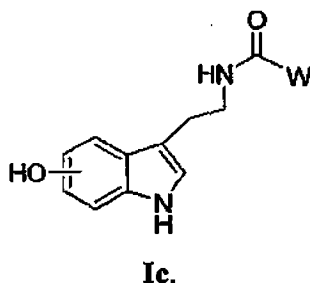
[0369] 并且其中所述化合物针对 PP2A 的甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 小于 $50 \mu M$ (微摩尔), 且其特征在于游离脂肪酸含量占所述化合物的小于约 20 重量%。在一些实施例中, W 介于 16 至 20 个碳的范围内。在其它实施例中, W 介于 18 至 20 个碳的范围内。式 I-b 的实例性化合物包括化合物 I-63 至 I-72 和 I-81 至 I-86。所有化合物 I-63 至 I-72 和 I-81

至 I-86 均是天然存在的化合物且在下表 1 中以星号 (“*”) 注明。

[0370] 在本发明的某些实施例中,化合物的特征在于化合物的游离脂肪酸含量小于约 20 重量%。在另外一些其它实施例中,化合物含有小于约 20 重量%的式 Ib 化合物,其中 W 具有小于 14 个碳或多于 20 个碳。

[0371] 式 Ia 化合物的吲哚部分可经一个或多个羟基取代,如式 Ic 中所示:

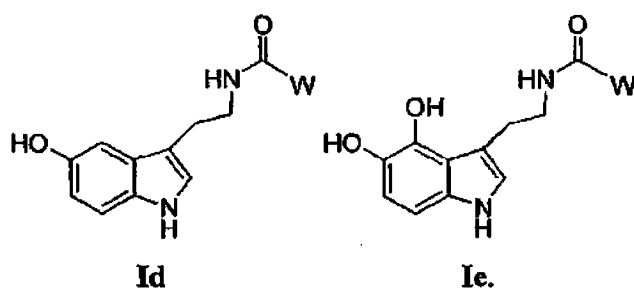
[0372]



[0373] 在一些实施例中,吲哚部分在任何吲哚环位置处经一个羟基取代。在其它实施例中,吲哚部分在任何环位置处经两个羟基取代。在另外一些其它实施例中,吲哚部分

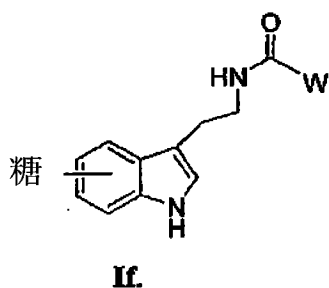
[0374] 在 4 位和 / 或 5 位处经一个或多个羟基取代,如式 Id 和 Ie 中所示:

[0375]



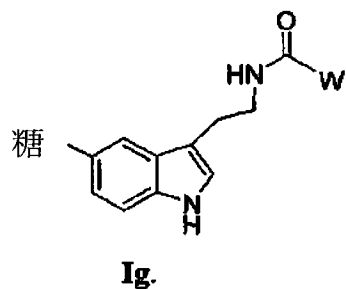
[0376] 在其它实施例中,吲哚部分经一种或多种糖取代,如式 If 中所示:

[0377]



[0378] 糖可为单糖、二糖或三糖。在一些实施例中,糖在 5 位处经取代,如式 Ig 中所示:

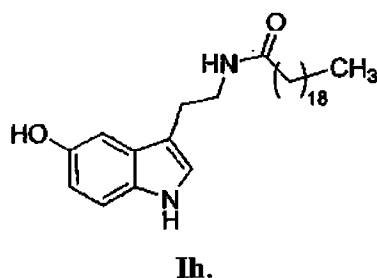
[0379]



[0380] 式 I-g 的实例性化合物包括化合物 I-81 至 I-86, 且其它可用实例性化合物绘示于表 1 中。

[0381] 在某些实施例中, 本发明提供式 Ih 的脂肪酸偶联化合物,

[0382]

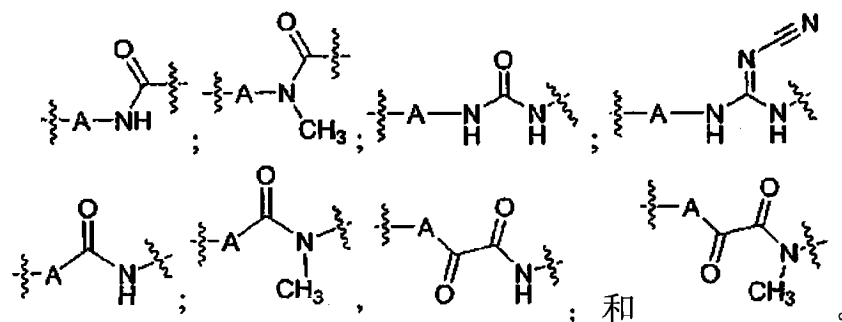


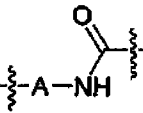
[0383] 由 $-C(O)-(CH_2)_n-CH_3$ 基团表示的式 Ia 化合物的脂肪族部分 (“脂肪酸”) 可分支链或正常且可经一个或多个羟基取代。在一些实施例中, 脂肪族部分经一个羟基取代。

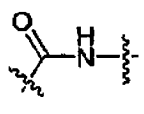
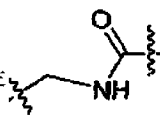
[0384] 在一些实施例中, 脂肪族部分含有一个或多个双键。在其它实施例中, 脂肪族部分含有一个双键。

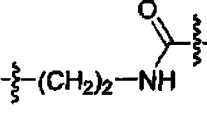
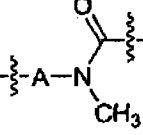
[0385] 如上文所概括定义, 上文所述式的 Z 基团选自由以下组成的群组:

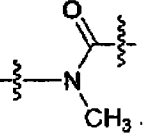
[0386]

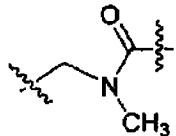
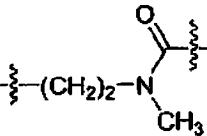


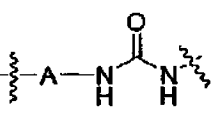
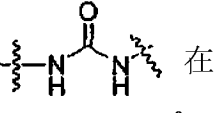
[0387] 在某些实施例中, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是键结时, Z 基团是 .

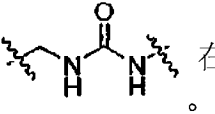
 在某些实施例中, 在 A 是 $-CH_2-$ 时, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A

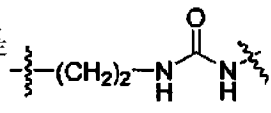
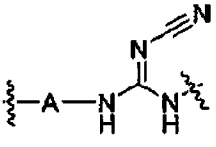
是 $-(CH_2)_2-$ 时, Z 基团是  在某些实施例中, Z 基团是  在某些实

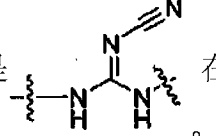
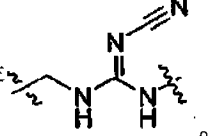
施例中, 在 A 是键结时, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是 $-CH_2-$ 时, Z 基团是

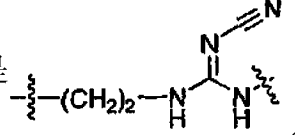
 在某些实施例中, 在 A 是 $-(CH_2)_2-$ 时, Z 基团是  在某些实施例

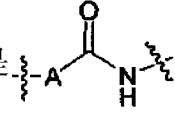
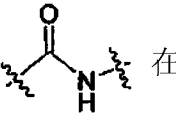
中, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是键结时, Z 基团是  在某些

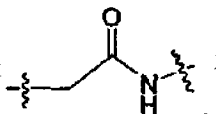
实施例中, 在 A 是 $-\text{CH}_2-$ 时, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是 $-(\text{CH}_2)_2-$ 时, Z 基

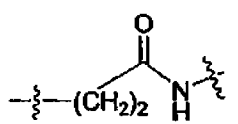
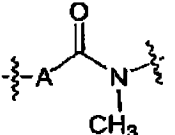
团是  在某些实施例中, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A

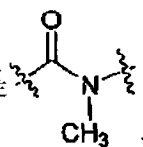
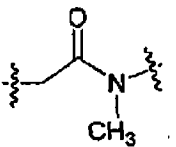
是键结时, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是 $-\text{CH}_2-$ 时, Z 基团是  在某些

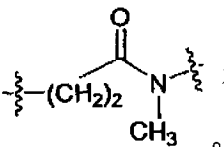
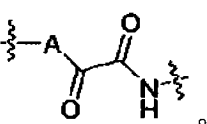
实施例中, 在 A 是 $-(\text{CH}_2)_2-$ 时, Z 基团是  在某些实施例中, Z 基

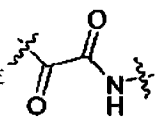
团是  在某些实施例中, 在 A 是键结时, Z 基团是  在某些实施例中,

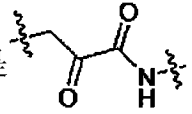
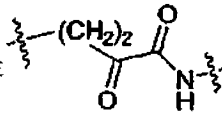
在 A 是 $-\text{CH}_2-$ 时, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是 $-(\text{CH}_2)_2-$ 时, Z 基团是

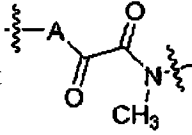
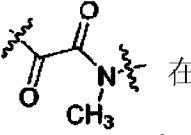
 在某些实施例中, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是键结时, Z

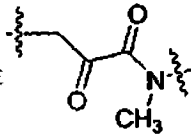
基团是  在某些实施例中, 在 A 是 $-\text{CH}_2-$ 时, Z 基团是  在某些实施例中,

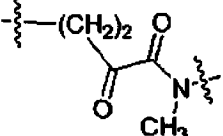
在 A 是 $-(\text{CH}_2)_2-$ 时, Z 基团是  在某些实施例中, Z 基团是  在某

些实施例中, 在 A 是键结时, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是 $-\text{CH}_2-$ 时, Z 基团

是  在某些实施例中, 在 A 是 $-(\text{CH}_2)_2-$ 时, Z 基团是  在某些实

施例中, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是键结时, Z 基团是  在某

些实施例中, 在 A 是 $-\text{CH}_2-$ 时, Z 基团是  在某些实施例中, 在 A 是 $-(\text{CH}_2)_2-$ 时,

Z 基团是 。

[0388] 如上文所概括定义, A 基团是 $-(\text{CH}_2)_n-$ 。在某些实施例中, 在 n 为 0 时, A 是键结。在某些实施例中, 在 n 为 1 时, A 是 $-\text{CH}_2-$ 。在某些实施例中, 在 n 为 2 时, A 是 $-(\text{CH}_2)_2-$ 。

[0389] 如上文所概括定义, n 为 0、1 或 2。在某些实施例中, n 为 0。在某些实施例中, n 为 1。

[0390] 如上文所概括定义, 式 I、II、III、VI 和 VII 的 W 基团是直链或分支链饱和或不饱和烷基, 其具有 10 至 25 个碳, 任选地含有 1 或 2 个选自 NH、NR' 或 O 的杂原子, 并且任选地经一个或多个 $-\text{OR}$ 基团或卤素取代。在一些实施例中, W 介于 16 至 20 个碳的范围内。在其它实施例中, W 介于 18 至 20 个碳的范围内。

[0391] 在一些实施例中, 脂肪族部分 W 可经一个或多个羟基取代。在其它实施例中, 脂肪族部分经一个羟基取代。在 4 位或 5 位处具有经取代羟基和在 5 位或 4 位中的另一处具有额外 R 基团的式 I 化合物分别由式 II 和 III 表示。

[0392] 在某些实施例中, W 是直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是具有 10 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是直链。在某些实施例中, W 是具有 11 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 12 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 13 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 14 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 15 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是任选地经一个或多个 $-\text{OR}$ 基团或卤素取代的 $-(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 经 $-\text{OR}$ 基团取代。在某些实施例中, R 是 $-\text{H}$ 。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 16 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 17 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是任选地经一个或多个 $-\text{OR}$ 基团或卤素取代的 $-(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 经 $-\text{OR}$ 基团取代。在某些实施例中, R 是 $-\text{H}$ 。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2(\text{OH})-(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 18 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 19 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{18}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, W 是任选地经一个或多个 $-\text{OR}$ 基团或卤素取代的 $-(\text{CH}_2)_{18}\text{CH}_3$ 。在某些实施例中, R 基团是 H。在某些实施例中, W 是 $-(\text{CH}_2)_{19}\text{OH}$ 。

在某些实施例中, W 是具有 20 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_{19}CH_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 21 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_{20}CH_3$ 。在某些实施例中, W 是任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代的 $-(CH_2)_{20}CH_3$ 。在某些实施例中, W 经 -OR 基团取代。在某些实施例中, R 是 -H。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_{21}OH$ 。在某些实施例中, W 是具有 22 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_{21}CH_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 23 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_{22}CH_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 24 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_{23}CH_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 25 个碳的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_{24}CH_3$ 。

[0393] 在某些实施例中, W 是分支链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是具有 15 个碳的分支链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_{14}CH_3$ 。在某些实施例中, W 是 $-C(CH_2)_2CH(CH_3)-(CH_2)_3CH(CH_3)_2$ 。

[0394] 在某些实施例中, W 是含有 1 或 2 选自 NH、NR' 或 O 的杂原子的直链饱和烷基, 其任选地经一个或多个 -OR 基团或卤素取代。在某些实施例中, W 是含有 O 杂原子的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_7O(CH_2)_{10}CH_3$ 。在某些实施例中, W 是含有 N 杂原子的直链、饱和烷基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_8NH(CH_2)_8CH_3$ 。在某些实施例中, W 是含有 NR' 杂原子的直链、饱和烷基。在某些实施例中, R' 是甲基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_8-N(CH_3)-(CH_2)_8CH_3$ 。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_7-N(CH_3)-(CH_2)_{10}CH_3$ 。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_7-N(CH_3)-(CH_2)_{12}CH_3$ 。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_7-N(CH_3)-(CH_2)_{12}CH_3$ 。其中 W 含有一个或多个杂原子的式 I 的实例性化合物是化合物 I-47。

[0395] 在一些实施例中, 脂肪族部分 W 含有一个或多个双键。在其它实施例中, 脂肪族部分含有一个双键。具有一个或多个双键的式 I 化合物由式 IV 和 V 表示。

[0396] 在某些实施例中, W 是直链烯基。在某些实施例中, W 是具有 17 个碳的直链烯基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_3$ 。

[0397] 在某些实施例中, W 是分支链烯基。在某些实施例中, W 是具有 15 个碳的分支链烯基。在某些实施例中, W 是 $-CH_2CH=C(CH_3)(CH_2)_2CH=C(CH_3)(CH_2)_2CH=C(CH_3)_2$ 。在某些实施例中, W 是具有 20 个碳的分支链烯基。在某些实施例中, W 是 $-CH_2CH=C(CH_3)(CH_2)_3CH(CH_3)(CH_2)_3CH(CH_3)_2$ 。

[0398] 在某些实施例中, W 是经一个或多个 -OR 或卤素取代的直链烯基。在某些实施例中, W 是经一个或多个 -OR 基团取代的直链烯基, 其中 R 基团是 H 以形成 -OH 基团。在某些实施例中, W 是具有 15 个碳原子且经 -OH 基团取代的直链烯基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_4CH(OH)CH_3$ 。在某些实施例中, W 是 $(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_3CH(OH)CH_2CH_3$ 。在某些实施例中, W 是具有 17 个碳原子且经 -OH 基团取代的直链烯基。在某些实施例中, W 是 $-(CH_2)_7CH=CHCH_2CH(OH)(CH_5)CH_3$ 。

[0399] 如上文所概括定义, 式 I、IV、V、VI 和 VII 的 Y' 基团选自 H、-OH、-R、-OR、-NH₂、-NHR、-NR'、R'、-C(O)NHR'、-C(O)NR'R'、卤素、或糖。

[0400] 在某些实施例中, Y' 是 H。在某些实施例中, Y' 是 -OH。

[0401] 在某些实施例中, Y' 是 R, 其中 R 是可为直链、环状或分支链的任选地经取代的 -C₁₋₆烷基。在某些实施例中, Y' 是 -CH₃。

[0402] 在某些实施例中, Y' 是 -OR, 其中 R 是 -C₁₋₆烷基。在某些实施例中, R 是 -CH₃。

时, Y' 是 $-OCH_3$ 。在某些实施例中, 在 R 是 $-CH_2CH_3$ 时, Y' 是 $-OCH_2CH_3$ 。在某些实施例中, Y' 是 $-OR$, 其中 R 是分支链 $-C_{1-6}$ 烷基。在某些实施例中, Y' 是 $-OR$, 其中 R 是分支链 $-C_3$ 烷基。在某些实施例中, Y' 是 $-OCH(CH_3)_2$ 。在某些实施例中, Y' 是 $-OR$, 其中 R 是 $-C(O)R'$ 且其中 R' 是 C_1 烷基。在某些实施例中, Y' 是 $-OC(O)CH_3$ 。在某些实施例中, Y' 是 $-OR$, 其中 R 是 $-C(O)R'$ 。在某些实施例中, R' 是任选地经取代的 C_1-C_6 烷基。实例性取代基包括 $-C(O)OH$ 基团。在某些实施例中, Y' 是 $-OC(O)-(CH_2)_2C(O)OH$ 。在某些实施例中, Y' 是 $-OR$, 其中 R 是咪唑基。在某些实施例中, 咪唑基是 2-咪唑基。在某些实施例中, 咪唑基是 4-咪唑基。

[0403] 在某些实施例中, Y' 是 $-NHR'$, 其中 R' 是环状 C_1-C_6 烷基。在某些实施例中, R' 是环戊基。在某些实施例中, R' 是任选地经取代的 $-C_{1-6}$ 烷基。在某些实施例中, R' 是任选地经取代的 $-C_2$ 烷基。在某些实施例中, Y' 是 $-NH(CH_2)_2OH$ 。

[0404] 在某些实施例中, Y' 是 $-NR'R'$, 其中或者 R 与 R' 可一起形成具有 1 至 2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5 至 6 元杂环。在某些实施例中, Y' 是吗啉基。

[0405] 在某些实施例中, Y' 是卤素。在某些实施例中, Y 是 Cl 。在某些实施例中, Y' 是 F 。在某些实施例中, Y' 是 Br 。

[0406] 如上文所概括定义, 式 I、IV、V、VI 和 VII 的 Y 基团选自 H 、 $-OH$ 、 $-R$ 、 $-OR$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-NR'R'$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)NR'R'$ 、卤素、或糖。

[0407] 在某些实施例中, Y 是 H 。在某些实施例中, Y 是 $-OH$ 。

[0408] 在某些实施例中, Y 是 R , 其中 R 是可为直链、环状或分支链的任选地经取代的 $-C_{1-6}$ 烷基。在某些实施例中, Y 是 $-CH_3$ 。

[0409] 在某些实施例中, Y 是 $-OR$, 如式 VI 化合物中所示。式 VI 的实例性化合物包括化合物

[0410] 在一些实施例中, 脂肪族部分含有一个或多个双键。在其它实施例中, 脂肪族部分含有一个双键。在下式 (IV) 和 (V) 中表示具有一个或多个双键的式 (I) 化合物。在某些实施例中, Y 是 $-OR$, 其中 R 是 $-C_{1-6}$ 烷基。在某些实施例中, 在 R 是 $-CH_3$ 时, Y 是 $-OCH_3$ 。在某些实施例中, 在 R 是 $-CH_2CH_3$ 时, Y 是 $-OCH_2CH_3$ 。在某些实施例中, Y 是 $-OR$, 其中 R 是分支链 $-C_{1-6}$ 烷基。在某些实施例中, Y 是 $-OR$, 其中 R 是分支链 $-C_3$ 烷基。在某些实施例中, Y 是 $-OCH(CH_3)_2$ 。在某些实施例中, Y 是 $-OR$, 其中 R 是 $-C(O)R'$ 且其中 R' 是 C_1 烷基。在某些实施例中, Y 是 $-OC(O)CH_3$ 。在某些实施例中, Y 是 $-OR$, 其中 R 是 $-C(O)R'$ 。在某些实施例中, R' 是任选地经取代的 C_1-C_6 烷基。实例性取代基包括 $-C(O)OH$ 基团。在某些实施例中, Y 是 $-OC(O)-(CH_2)_2C(O)OH$ 。在某些实施例中, Y 是 $-OR$, 其中 R 是咪唑基。

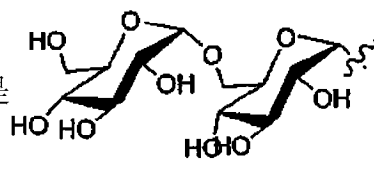
[0411] 在某些实施例中, Y 是 $-NHR'$, 其中 R' 是环状 C_1-C_6 烷基。在某些实施例中, R' 是环戊基。在某些实施例中, R' 是任选地经取代的 $-C_{1-6}$ 烷基。在某些实施例中, R' 是任选地经取代的 $-C_2$ 烷基。在某些实施例中, Y 是 $-NH(CH_2)_2OH$ 。

[0412] 在某些实施例中, Y 是 $-NR'R'$, 其中或者 R 与 R' 可一起形成具有 1 至 2 个选自氧或氮的杂原子的饱和 5 至 6 元杂环。在某些实施例中, Y 是吗啉基。

[0413] 在某些实施例中, Y 是卤素。在某些实施例中, Y 是 Cl 。在某些实施例中, Y 是 F 。在某些实施例中, Y 是 Br 。

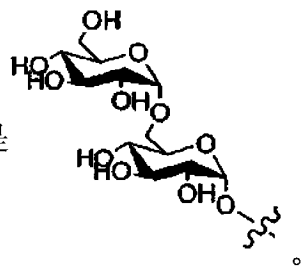
[0414] 在某些实施例中, Y 是糖。在某些实施例中, Y 是单糖。在某些实施例中, Y 是二

糖。在某些实施例中，Y 是三糖。在某些实施例中，Y 是



在某些

实施例中，Y 是



[0415] 如上文所概括定义，R 是 H、可为直链、环状、或分支链的任选地经取代的 $-C_{1-6}$ 烷基、任选地经取代的 $-C_6$ 芳香族环、任选地经取代的 5 或 6 元杂芳香族环、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(N)NH$ 或 $-C(N)NR'$ 。

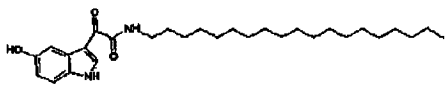
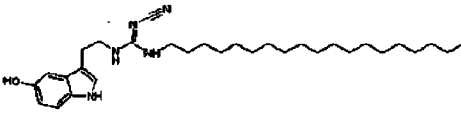
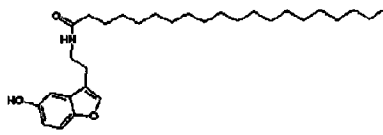
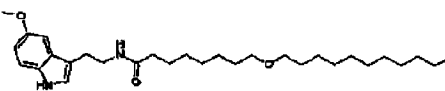
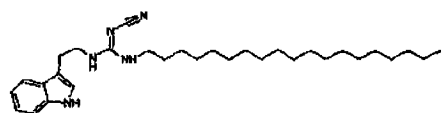
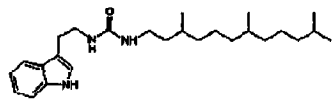
[0416] 在某些实施例中，R 是任选地经取代的 5 或 6 元杂芳香族环。在某些实施例中，R 可选自吡喃、吡啶、二唑（例如，咪唑）、噻唑、嘧啶、呋喃、噻吩、吡嗪、哒嗪、噻嗪、噁唑、三唑和四唑。在某些实施例中，R 是吡喃。在某些实施例中，R 是吡啶。在某些实施例中，R 是二唑。在某些实施例中，R 是咪唑。在某些实施例中，R 是噻唑。在某些实施例中，R 是嘧啶。在某些实施例中，R 是呋喃。在某些实施例中，R 是噻吩。在某些实施例中，R 是吡嗪。在某些实施例中，R 是哒嗪。在某些实施例中，R 是噻嗪。在某些实施例中，R 是噁唑。在某些实施例中，R 是三唑。在某些实施例中，R 是四唑。

[0417] 如上文所概括定义，R' 是可为直链、环状或分支链的任选地经取代的 C_1-C_6 烷基或烯基。

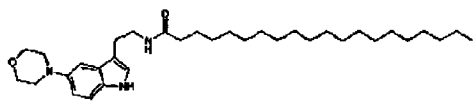
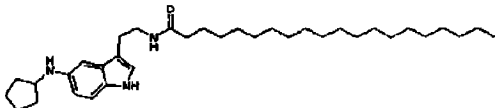
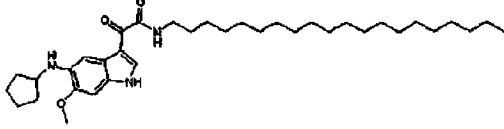
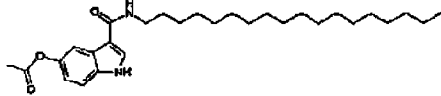
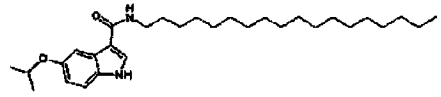
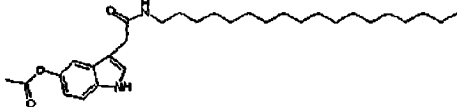
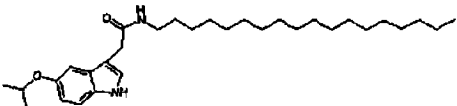
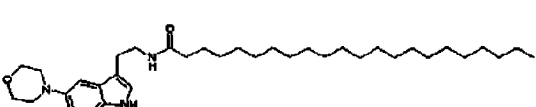
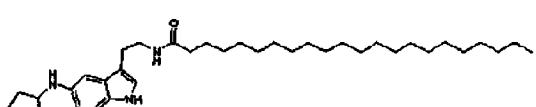
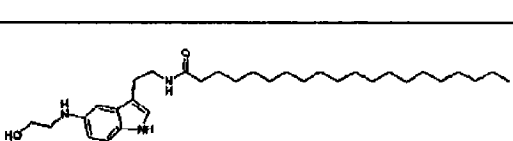
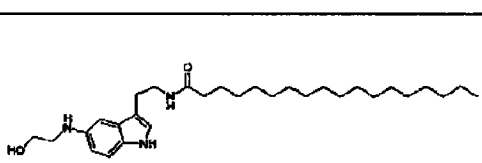
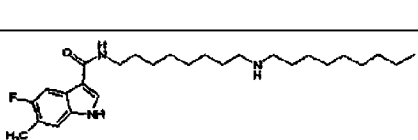
[0418] 本发明的实例性化合物阐述于下表 1 中。

[0419] 表 1. 实例性化合物

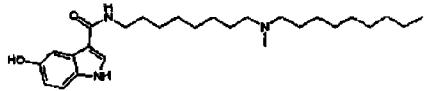
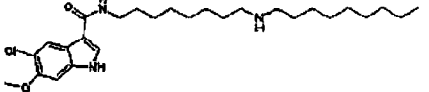
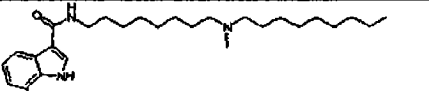
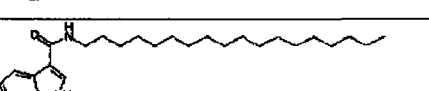
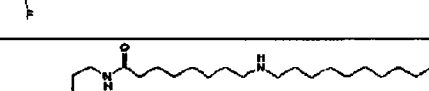
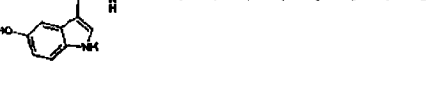
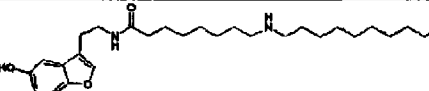
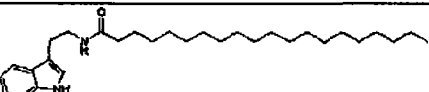
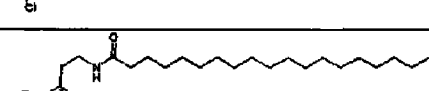
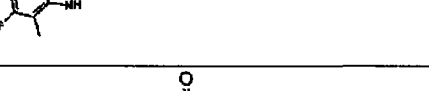
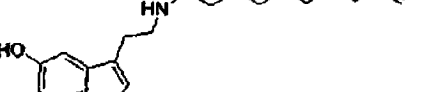
[0420]

化合物编号	化合物结构	化合物名称
I-1		4-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)-N-十九烷基-2-氧代丁酰胺
I-2		2-氰基-3-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]-1-十九烷基胍
I-3		N-[2-(5-羟基-1-苯并呋喃-3-基)乙基]二十酰胺
I-4		N-[2-(5-甲氧基-1H-吲哚-3-基)乙基]-8-(十一烷氧基)辛酰胺
I-5		2-氰基-3-[2-(1H-吲哚-3-基)乙基]-1-十九烷基胍
I-6		1-[2-(1H-吲哚-3-基)乙基]-3-(3,7,11-三甲基十二烷基)脲

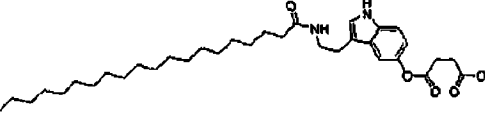
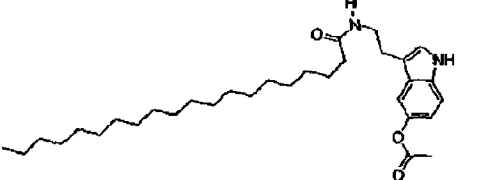
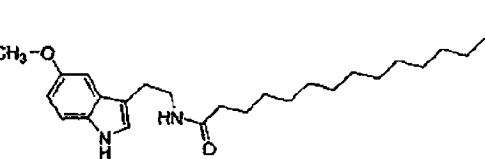
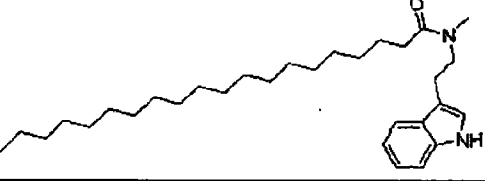
[0421]

I-7		N-{2-[5-(吗啉-4-基)-1H-吲哚-3-基]乙基}二十酰胺
I-8		N-{2-[5-(环戊基氨基)-1H-吲哚-3-基]乙基}二十酰胺
I-9		2-[5-(环戊基氨基)-6-甲氧基-1H-吲哚-3-基]-N-二十烷基-2-氧代乙酰胺
I-10		乙酸 3-(十八烷基氨甲酰基)-1H-吲哚-5-基酯
I-11		N-十八烷基-5-(丙烷-2-基氧基)-1H-吲哚-3-甲酰胺
I-12		乙酸 3-[(十八烷基氨甲酰基)甲基-1H-吲哚-5-基酯
I-13		N-十八烷基-2-[5-(丙烷-2-基氧基)-1H-吲哚-3-基]乙酰胺
I-14		N-{2-[5-(吗啉-4-基)-1H-吲哚-3-基]乙基}二十二酰胺
I-15		N-{2-[5-(环戊基氨基)-1H-吲哚-3-基]乙基}二十二酰胺
I-16		N-(2-{5-[(2-羟基乙基)氨基]-1H-吲哚-3-基}乙基)二十酰胺
I-17		N-(2-{5-[(2-羟基乙基)氨基]-1H-吲哚-3-基}乙基)十八酰胺
I-18		5-氟-6-甲基-N-[8-壬基氨基)辛基]-1H-吲哚-3-甲酰胺

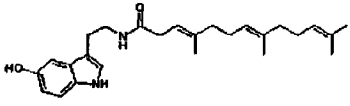
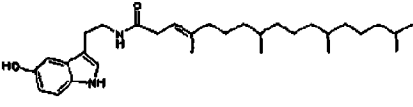
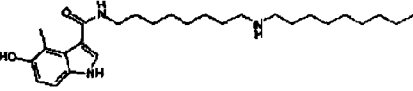
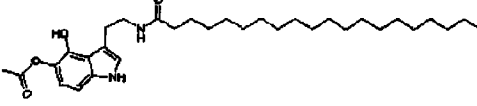
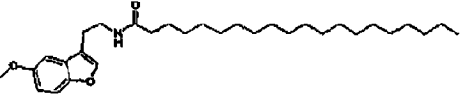
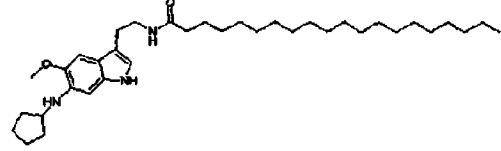
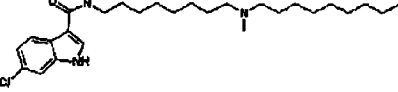
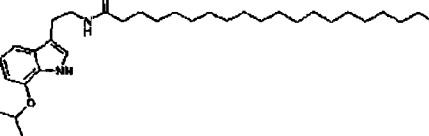
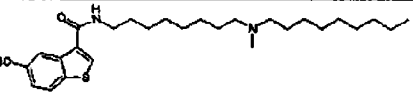
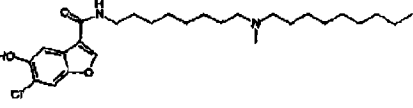
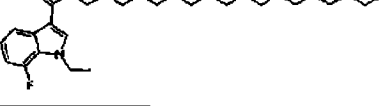
[0422]

I-19		5-羟基-N-{8-[甲基(壬基)氨基]辛基}-1H-吲哚-3-甲酰胺
I-20		5-氯-6-甲氧基-N-[8-(壬基氨基)辛基]-1H-吲哚-3-甲酰胺
I-21		7-氯-N-{8-[甲基(壬基)氨基]辛基}1H-吲哚-3-甲酰胺
I-22		7-氟-N-十八烷基-1H-吲哚-3-甲酰胺
I-23		N-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]-8-(十一烷基氨基)辛酰胺
I-24		N-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]-8-(十三烷基氨基)辛酰胺
I-25		N-[2-(5-羟基-1-苯并呋喃-3-基)乙基]-8-(十三烷基氨基)辛酰胺
I-26		N-[2-(7-氯-1H-吲哚-3-基)乙基]二十酰胺
I-27		N-[2-(6-氟-7-甲基-1H-吲哚-3-基)乙基]二十酰胺
I-28		(9Z,12S)-12-羟基-N-[2-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]十八-9-烯酰胺
I-29		12-羟基-N-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]十八酰胺
I-30		3-十六烷基-1-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]脲

[0423]

I-31		1-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]-3-十八烷基脲
I-32		4-[[3-(2-二十酰胺基乙基)-1H-吲哚-5-基]氧基]-4-氧代丁酸
I-33		乙酸 3-(2-(2-二十酰胺基乙基)-1H-吲哚-5-基)酯
I-34		N-[2-(5-甲氧基-1H-吲哚-3-基)乙基]二十酰胺
I-35		N-[2-(5-氟-1H-吲哚-3-基)乙基]二十酰胺
I-36		N-[2-(5-甲基-1H-吲哚-3-基)乙基]二十酰胺
I-37		N-[2-(5-甲氧基-1H-吲哚-3-基)乙基]-N-甲基二十酰胺
I-38		N-[2-(1H-吲哚-3-基)乙基]-N-甲基二十酰胺
I-39		2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)N-十八烷基乙酰胺
I-40		(9Z)-N-[2-(7-氯-1H-吲哚-3-基)乙基]十八-9-烯酰胺

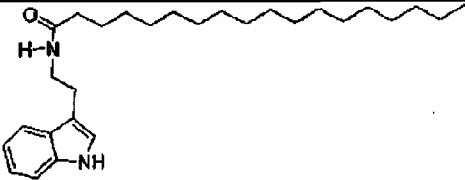
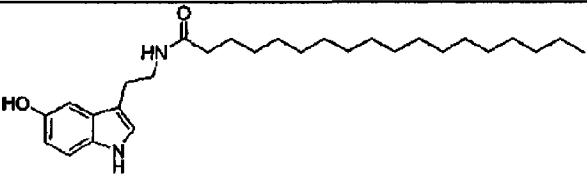
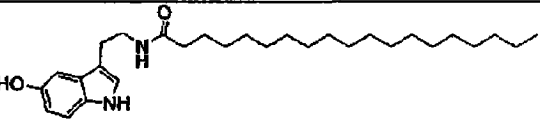
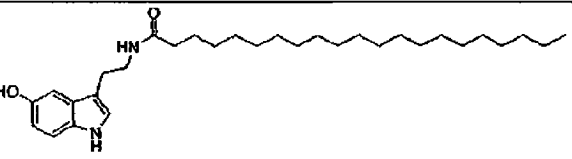
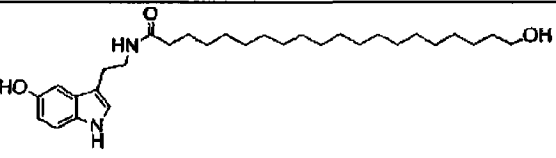
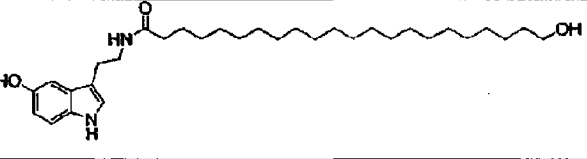
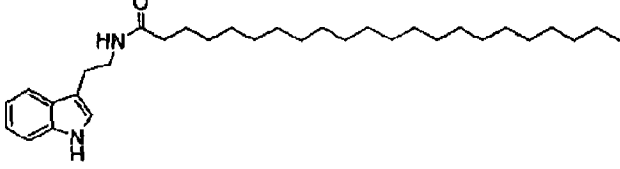
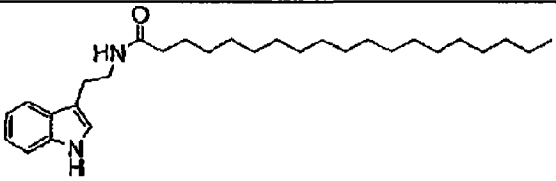
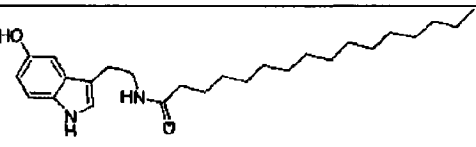
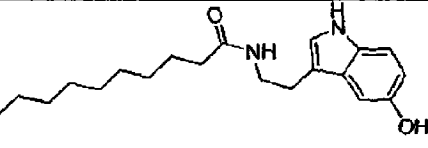
[0424]

I-41		(3E,7E)-N-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]-4,8,12-三甲基十三-3,7,11-三烯酰胺
I-42		(3E)-N-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]-4,8,12,16-四甲基十六-3-烯酰胺
I-43		5-羟基-4-甲基-N-[8-(壬基氨基)辛基]-1H-吲哚-3-甲酰胺
I-44		乙酸 4-羟基-3-(2-(二十酰胺基乙基)-1H-吲哚-基)酯
I-45		N-[2-(5-甲氧基-1-苯并呋喃-3-基)乙基]二十酰胺
I-46		N-{2-[6-(环戊基氨基)-甲氧基-1H-吲哚-3-基]乙基}二十酰胺
I-47		6-氯-N-{8-[甲基(壬基)氨基]辛基}-1H-吲哚-3-甲酰胺
I-48		N-{2-[7-(丙烷-2-基氧基)-1H-吲哚-3-基]乙基}二十酰胺
I-49		5-羟基-N-{8-[甲基(壬基)氨基]辛基}-苯并噻吩-3-甲酰胺
I-50		6-氯-5-羟基-N-{8-[甲基(壬基)氨基]辛基}-苯并呋喃-3-甲酰胺
I-51		7-氯-1-甲基-N-{8-[甲基(壬基)氨基]辛基}-1H-吲哚-3-甲酰胺
I-52		1-乙基-7-氟-N-十八烷基 1H-吲哚-3-甲酰胺

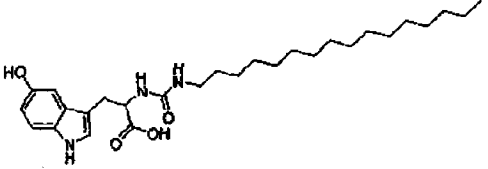
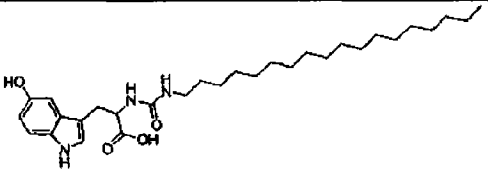
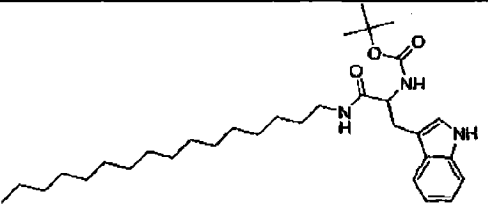
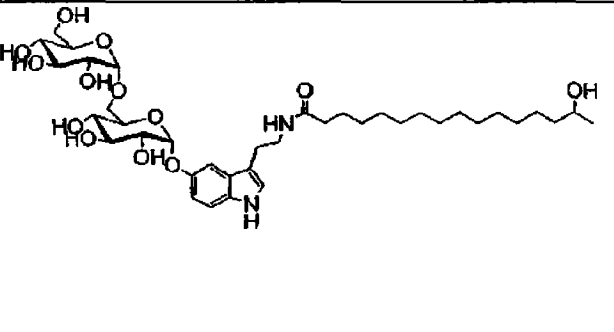
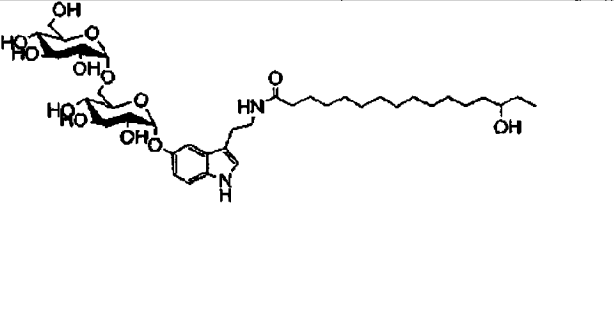
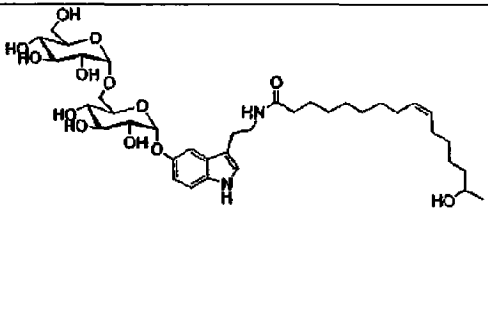
[0425]

I-53		乙酸 3-(十八烷基氨甲酰基)-1-(丙烷-2-基)-1H-吡啶-5-基酯
I-54		5-乙氧基-N-十八烷基-1-苯并噻吩-3-甲酰胺
I-55		N-{2-[5-(吗啉-4-基)-1-苯并噻吩-3-基]乙基}二十二酰胺
I-56		N-{2-[5-(环戊基氨基)乙基]-1H-吡啶-3-基}乙基}二十二酰胺
I-57		N-[2-(5-羟基-1-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基]二十二酰胺
I-58		N-[2-(5-羟基-1-苯并噻吩-3-基)乙基]二十二酰胺
I-59		(3E)-N-[2-(5-羟基-1-苯并呋喃-3-基)乙基]-4,8,12,16-四甲基十六烷基-3-烯酰胺
I-60		(3E,7E)-N-[2-(5-甲氧基-1-苯并噻吩-3-基)乙基]-4,8,12-三甲基十三-3,7,11-三烯酰胺
I-61		N-{2-[5-(1H-咪唑-2-基氧基)-1H-吡啶-3-基]乙基}二十酰胺
I-62		N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)二十二酰胺
I-63*		N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)二十酰胺
I-64*		N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)二十酰胺

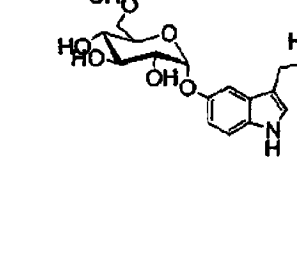
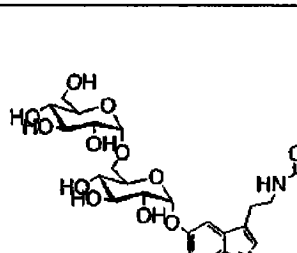
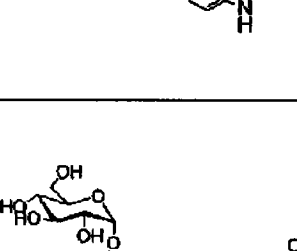
[0426]

I-65*		N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)硬脂酰胺
I-66*		N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)硬脂酰胺
I-67*		N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)十九酰胺
I-68*		N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)二十一酰胺
I-69*		20-羟基-N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)二十二酰胺
I-70*		22-羟基-N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)二十二酰胺
I-71*		N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)二十二酰胺
I-72*		N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)十九酰胺
I-76		N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)棕榈酰胺
I-77		N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)癸酰胺

[0427]

I-78		2-(3-十六烷基脒基)-3-(5-羟基-1H-吡咯-3-基)丙酸
I-79		3-(5-羟基-1H-吡咯-3-基)2-(3-十八烷基脒基)丙酸
I-80		氨基甲酸叔丁基 1-(十六烷基氨基(3-(1H-吡咯-3-基)-1-氧代丙烷-2-基酯
I-81*		15-羟基-N-(2-(5-((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(((2S,3R,4S,5S,6)3,4,5-三羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)-1H-吡咯-3-基)乙基)十六酰胺
I-82*		14-羟基-N-(2-(5-((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(((2S,3R,4S,5S,6)3,4,5-三羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)-1H-吡咯-3-基)乙基)十六酰胺
I-83*		(Z)-15-羟基-N-(2-(5-((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(((2S,3R,4S,5S,6)3,4,5-三羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)-1H-吡咯-3-基)乙基)十六-9-烯酰胺

[0428]

I-84* 	(Z)-14- 羟 基 -N-(2-(5-((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(((2S,3R,4S,5S,6)3,4,5-三羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)-1H-吡啶-3-基)乙基)十六-9-烯酰胺
I-85* 	17- 羟 基 -N-(2-(5-((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(((2S,3R,4S,5S,6)3,4,5-三羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)-1H-吡啶-3-基)乙基)十八酰胺
I-86* 	16- 羟 基 -N-(2-(5-((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(((2S,3R,4S,5S,6)3,4,5-三羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)-1H-吡啶-3-基)乙基)十八酰胺

[0429] 在某些实施例中,本发明提供上文表 1 中所展示的任一化合物,或其医药上可接受的盐。

[0430] 可根据本发明以多种可用形式中的任一种提供具有上述化学式的化合物,例如医药上可接受的盐、特定晶体形式等。在一些实施例中,提供一种或多种具有上述化学式的化合物的前药。业内已知多种前药形式,例如以下文献中所述:邦卡德 (Bundgaard) (编辑),药物设计 (Design of Prodrugs),爱思维尔 (Elsevier) (1985);韦德 (Widder) 等人 (编辑),酶学方法 (Methods in Enzymology),第4卷,学术出版社 (Academic Press) (1985);克洛德卡得-拉森 (Krogsgaard-Larsen) 等人 (编辑);“前药设计和应用 (Design and Application of Prodrugs)”,药物设计与研发教科书 (Textbook of Drug Design and Development),第5章,113-191 (1991);邦卡德等人,药物递送评论杂志 (Journal of Drug Delivery Reviews),8:1-38 (1992);邦卡德等人,医药科学杂志 (J. Pharmaceutical Sciences),77:285 和其下文 (1988);以及希古契和斯特拉 (编辑),作为新颖药物递送系统的前药 (Prodrugs as Novel Drug Delivery Systems),美国化学协会 (American Chemical Society) (1975)。

[0431] 本文提供可以多种固体形式存在的式 I 化合物。所述形式包括称作多晶形物的纯净晶体形式。所述固体形式还包括溶剂合物、水合物、无水形式和非晶形物。在本揭示内容中涵盖所述式 I 化合物的固体形式。在某些实施例中, 提供呈一种或多种不同固体形式 (例

如多晶形物、溶剂合物、和非晶形化合物类似物)的混合物的式 I 化合物。

[0432] 本发明某些具有上述化学式的化合物可以特定几何异构或立体异构形式存在。本发明涵盖所有所述化合物,包括顺式-和反式-异构体、R-和 S-对映异构体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体、其外消旋混合物、和其其它混合物,所述化合物均涵盖在本发明范围内。应了解,诸如烷基等取代基中可存在不对称碳原子,从而使得特定化合物可因取代基具有不同构型而存在不同异构体。所有所述异构体以及其混合物都意欲包含于本发明中。在一些实施例中,本发明提供个别异构[例如几何异构(或构象)、立体异构]化合物形式(和/或含有所述化合物形式的组合物);在一些实施例中,本发明提供包含两种或两种以上异构(例如几何异构或立体异构)形式的组合物。除非另外说明,否则本发明化合物的所有互变异构形式都涵盖在本发明范围内。另外,除非另外说明,否则本发明涵盖仅在一种或多种同位素富集原子的存在方面与本文所绘示结构不同的化合物。例如,具有本发明结构的化合物(包括氢被氘或氚替代、或碳被 ^{13}C - 或 ^{14}C - 富集碳替代)涵盖在本发明范围内。所述化合物根据本发明可用作(例如)分析工具,在生物分析中用作探针,或用作治疗剂。在一些实施例中,上述化学式中的脂肪酸、脂肪酸模拟部分、杂环部分或系留基团(tether group)包含一个或多个氧原子。可通过所属领域技术人员已知的技术分离和/或纯化多种异构形式的混合物,包括但不限于柱色谱。

[0433] 所属领域技术人员应了解,含有两种或两种以上化合物异构形式的组合物可以特定相对量含有所述不同形式。例如,仅含有两种异构体的组合物可以诸如以下等比率包括所述异构体:50:50、60:40、70:30、80:20、90:10、95:5、96:4、97:3、98:2、99:1、或 100:0 异构体比率。所属领域技术人员可容易地了解,更复杂的异构体混合物涵盖类似的比率。

[0434] 例如,如果需要本发明化合物的特定对映异构体,则其可通过不对称合成来制备;或可通过使用手性助剂进行衍生来制备,其中分离所得非对映异构体混合物并裂解辅助基团以提供纯净的期望对映异构体。或者,如果分子含有碱性官能团(例如,氨基)或酸性官能团(例如,羧基)时,则其与适宜光学活性酸或碱形成非对映异构盐,之后通过业内熟知的分步结晶或色谱方法拆分由此形成的非对映异构体,并随后回收纯净对映异构体。

[0435] 根据本发明,本文所述化合物可调节 PP2A 活性和/或可具有多种引人注目的生物活性中的任一种。可使用分离化合物或使用组合物(例如提取物、可食用组合物、医药组合物等)中的化合物来测试、评估和/或利用所述活性。本文所包括的实例阐述各种式 I 化合物的生物活性。

[0436] 调节 PP2A 活性的化合物可通过不同机制来发挥作用。在可能的机制的几个实例中,调节 PP2A 活性的化合物可调节 PP2A 的甲基化、调节 PP2A 的脱甲基化、调节 PP2A 底物与 PP2A 的相互作用、调节辅助蛋白与 PP2A 的相互作用和/或直接与 PP2A 相互作用等。

[0437] II. 制备方法

[0438] A. 化合物的合成制备

[0439] 一些式 I 化合物存在于自然界中并且可自天然来源制备或分离。在一些实施例中,所述化合物是自得自植物来源的提取物制备或分离。所属领域技术人员应了解,代表性的所述植物来源包括(例如)咖啡(例如绿咖啡豆、烘焙咖啡豆、研磨咖啡豆残渣(spent ground coffee bean)、咖啡蜡、等)、巧克力、睡茄(withania somnifera)(果实)、金雀花

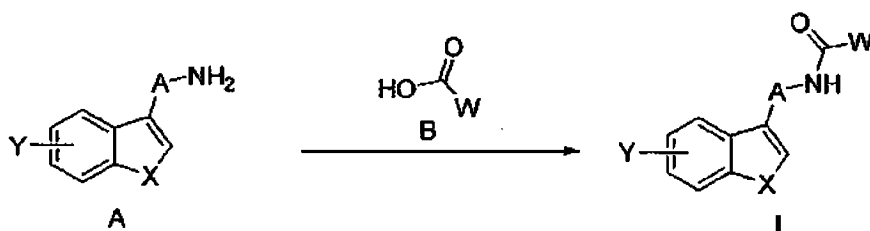
(Butcher' s broom)(根)、椰子、银杏 (ginkgo biloba)、假马齿苋 (bacopa monniera)、黑种草 (nigella sativa)、圣约翰草 (St. John' s wort)、凤梨释迦 (annona atemoya)(种子)、和蒜果木 (scorodocarpus borneesis)(果实)。所属领域技术人员熟知众多种可用于自天然提取物 (例如植物提取物) 制备式 I 化合物的分离和隔离技术。

[0440] 本发明提供制备式 I 化合物和 / 或含有式 I 化合物、其衍生物和合成中间体的组合物的合成方法。所属领域技术人员应理解, 化学合成方法的提供使得可获得众多种不存在于自然界并且不能自天然来源分离或制备的化合物。因此, 本发明提供使得可制备先前无法获得的式 I 化合物和 / 或含有式 I 化合物、其衍生物和合成中间体的组合物的方法。

[0441] 在某些实施例中, 一般根据下文所示方案 I 来制备本发明化合物:

[0442] 方案 I

[0443]



[0444] 在上文方案 I 中, R^1 、 R^2 、 n 、和 R^3 各自如本文所定义。

[0445] 在某些实施例中, 本发明提供根据上文方案 I 中所述步骤制备式 I 化合物的方法。在此步骤中, 使式 A 胺化合物与式 B 酸化合物偶合。所述羧酸与胺的偶合可使用所属领域技术人员熟知的方法来实现。

[0446] 在某些实施例中, 在偶合之前使式 B 酸化合物活化。在某些实施例中, 用适宜试剂处理式 B 酸化合物中的羧酸部分以在偶合之前形成酰基卤。在某些实施例中, 适宜试剂为亚硫酰氯。在某些实施例中, 随后使酰基卤与式 A 胺化合物中的胺部分偶合以形成式 I 化合物。在某些实施例中, 适宜试剂为亚硫酰碘。在某些实施例中, 随后使酰基卤与式 A 胺化合物中的胺部分偶合以形成式 I 化合物。在某些实施例中, 适宜试剂为草酰氯。在某些实施例中, 随后使酰基卤与式 A 胺化合物中的胺部分偶合以形成式 I 化合物。在某些实施例中, 用羟基苯并三唑 (HOBt) 处理式 B 酸化合物以形成其活化的式 B 酸化合物, 随后使其与式 A 胺化合物中的胺部分偶合以形成式 I 化合物。在某些实施例中, 用杂环碱处理式 B 酸化合物以形成其活化的式 B 酸化合物, 随后使其与式 A 胺化合物中的胺部分偶合以形成式 I 化合物。在某些实施例中, 用杂环酸处理式 B 酸化合物以形成其活化的式 B 酸化合物, 随后使其与式 A 胺化合物中的胺部分偶合以形成式 I 化合物。在某些实施例中, 用有机碱处理式 B 酸化合物以形成其活化的式 B 酸化合物, 随后使其与式 A 胺化合物中的胺部分偶合以形成式 I 化合物。所述式 B 酸化合物的活化可使用所属领域技术人员熟知的其它方法来实现, 例如, 参见“综合有机转化-官能团制备指南 (Comprehensive Organic Transformations-A Guide to Functional Group Preparations)”, 理查德 C. 拉洛克 (Richard C. Larock), 第 2 版, 第 1929-1932 页, 约翰威立父子公司, 纽约 (1999)。

[0447] 在某些实施例中, 使用适宜偶合剂来达成偶合。适宜试剂为业内所熟知并且包括 (例如) 六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基-三-(二甲基氨基)-磷盐 (BOP)、 N,N' -羰基二咪唑 (CDI)、 N,N' -二环己基碳二亚胺 (DCC)、 N,N' -二异丙基碳二亚胺 (DIC)、3-(二乙氧

基磷酰氧基)-1,2,3-苯并三嗪-4-(3H)-酮 (DEPBT)、N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 或 (EDAC)、六氟磷酸 2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓盐 (HBTU)、六氟磷酸 2-(3,4-二氢-4-氧代-1,2,3-苯并三嗪-3-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓盐 (HDBTU)、六氟磷酸 2-(巯基苯并噻唑)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓盐 (HMTU)、六氟磷酸 2-(内-5-降冰片烯-2,3-二甲亚胺)-1,1,3,3-四甲基脲鎓盐 (HNTU)、1-羟基苯并三唑单水合物 (HOBt*H₂O)、1-羟基-1H-1,2,3-三唑-4-甲酸酯 (HOCT)、N-羟基-5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺 (HONB)、3-羟基-3,4-二氢-4-氧代-1,2,3-苯并三嗪 (HOOBt)、六氟磷酸 S-(1-氧桥基-2-吡啶基)-硫代-N,N,N',N'-四甲基脲鎓盐 (HOTT)、六氟磷酸 O-琥珀酰亚胺基-1,3-二甲基亚丙基脲鎓盐 (HPD-OSu)、六氟磷酸 S-(1-氧代-2-吡啶基)-硫代-1,3-二甲基亚丙基脲鎓盐 (HPTDP)、六氟磷酸 O-(1,2-二氢-2-氧代-吡啶基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓盐 (HPTU)、六氟磷酸 2-琥珀酰亚胺基-1,1,3,3-四甲基脲鎓盐 (HSTU)、四氟硼酸 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-吗啉鎓盐 (MMTM)、1-(均三甲苯基-2-磺酰基)-3-硝基-1,2,4-三唑 (MSNT)、六氟磷酸五氟苯酚-四甲基脲鎓盐 (PFTU)、三-正丙基磷酸酐 (50%, 存于 AcOEt 中) (PPAA/AcOEt)、三-正丙基磷酸酐 (50%, 存于 DMF 中) (PPAA/DMF)、四氟硼酸 2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓盐 (TBTU)、六氟磷酸 N,N,N',N'-四甲基氯甲脲鎓盐 (TCFH)、六氟磷酸 N,N,N',N'-四甲基氟甲脲鎓盐 (TFFH)、四氟硼酸 2-(内-5-降冰片烯-2,3-二甲亚胺)-1,1,3,3-四甲基脲鎓盐 (TNTU)、四氟硼酸 S-(1-氧代-2-吡啶基)-硫代-N,N,N',N'-四甲基脲鎓盐 (TOTT)、四氟硼酸 O-琥珀酰亚胺基-1,3-二甲基亚丙基脲鎓盐 (TPD-OSu)、四氟硼酸 S-(1-氧代-2-吡啶基)-硫代-1,3-二甲基亚丙基脲鎓盐 (TPTDP)、四氟硼酸 O-(1,2-二氢-2-氧代-吡啶基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓盐 (TPTU)、或四氟硼酸 N,N,N',N'-四甲基-O-(琥珀酰亚胺基)脲鎓盐 (TSTU)、和其组合。在一些实施例中,偶合剂选自自由以下组成的群组:HATU、SOCl₂、PyBOP、和其组合。在一些实施例中,偶合剂是或包括 HATU;在一些实施例中,偶合剂是或包括 SOCl₂;在一些实施例中,偶合剂是或包括 PyBOP;在一些实施例中,偶合剂是或包括 (COCl)₂。

[0448] 在某些实施例中,偶合是在适宜碱存在下实施的。所述适宜碱为业内所熟知并且包括有机碱,例如三乙胺、DIEA、吡啶、DABCO、和其它非亲核碱性含氮分子。其它适宜碱包括水性无机碱,例如 NaOH、Na₂CO₃、NaHCO₃、KOH、K₂CO₃、KHCO₃、Na₃PO₄、K₃PO₄、NH₄OH、Ca(OH)₂、LiOH、或 Li₂CO₃。也可使用所述碱的组合。在一些实施例中,碱选自自由以下组成的群组:吡啶、TEA、NaHCO₃、DIEA、和其组合(例如 TEA/吡啶)。

[0449] 在某些实施例中,偶合是在适宜溶剂或溶剂混合物存在下进行的,所述溶剂或溶剂混合物与合并的反应配偶体和试剂组合来促进所述反应配偶体和试剂之间的反应进程。适宜溶剂可溶解一种或多种反应组份,或者,适宜溶剂可促进一种或多种反应组份的悬浮;一般参见拉洛克 R. C., 综合有机转化, 官能团制备指南, 第 2 版, 1999, 约翰威立父子公司 (纽约, NY)。用于偶合步骤中的适宜溶剂包括醚、卤代烃、芳香族溶剂、极性非质子溶剂、或其混合物。在某些实施例中,溶剂是或含有二乙醚、二噁烷、四氢呋喃 (THF)、二氯甲烷 (DCM)、二氯乙烷 (DCE)、氯仿、甲苯、苯、二甲基甲酰胺 (DMF)、二甲基乙酰胺 (DMA)、二甲亚砜 (DMSO)、N-甲基吡咯烷酮 (NMP)、甘醇二甲醚和二甘醇二甲醚、或其混合物。在某些实施例中,偶合是在适宜溶剂混合物存在下进行的。此混合物可包括水和/或有机溶剂或有机

溶剂混合物。

[0450] 在某些实施例中，偶合步骤是在约 -12°C 至约 90°C 温度下进行的。在某些实施例中，偶合步骤是在约 0°C 至约 60°C 下进行的。在某些实施例中，偶合步骤是在约 16°C 至约 28°C 下进行的。

[0451] 在某些实施例中，偶合步骤当在朔滕-鲍曼 (Schotten-Baumann) 条件下进行时是在约 7.5 至约 10 范围的 pH 值下进行的。在某些实施例中，偶合步骤是在约 8.5 至约 9.5 范围中的 pH 值下进行的。在某些实施例中，偶合步骤是在约 9 的 pH 值下进行的。

[0452] 上述方法和其它方法为所属领域技术人员已知，例如参见“高级有机化学 (Advanced Organic Chemistry)”，杰利马彻 (Jerry March)，第 5 版，约翰威立父子公司，纽约。

[0453] B. 通过自植物来源提取来制备化合物

[0454] 天然存在的式 I 化合物可自得多种植物来源的提取物制备，所述植物来源是例如绿咖啡豆、烘焙咖啡豆、研磨咖啡豆残渣、咖啡蜡（统称为“咖啡”）、樱桃咖啡（浆果）、巧克力、睡茄（果实）、金雀花（根）、椰子、银杏、假马齿苋、黑种草、圣约翰草、凤梨释迦（种子）、和蒜果木（果实）。可通过所属领域技术人员已知的任一方法自植物来源分离化合物。实例性提取方法阐述于（例如）US 2008/0213406 中，其全文以引用方式并入本文中。

[0455] 例如，可通过以下方式自咖啡提取化合物：将溶剂添加至咖啡中并搅拌所得混合物，之后去除溶剂并收集含有化合物的残留物。可使用可溶解化合物的任何溶剂，包括醇类（例如乙醇）和氯化溶剂（例如二氯甲烷）。在一些实施例中，通过将混合物振荡约 30 分钟至约 300 分钟来实施搅拌。在其它实施例中，在约 20°C 至大致等于溶剂沸点的温度下实施搅拌。

[0456] 根据所得残留物的纯度，随后将残留物载至管柱上，用溶剂洗脱，并收集不同流份。可根据需要进一步纯化含有期望化合物的流份，例如通过制备型 HPLC、反复柱色谱、或通过萃取来纯化。此方法和所属领域技术人员已知的相关方法容许自己也含于植物来源中的较不期望的化合物分离化合物，所述较不期望的化合物例如游离脂肪酸、咖啡因、咖啡酸、绿原酸和其它脂质。这些方法还容许去除 W 小于 15 或大于 22 的式 I 化合物。在一些实施例中，这些较不期望的化合物以低于组合物 20 重量%的量存在。作为管柱纯化的替代方法，所属领域技术人员可了解，可通过沉淀或结晶来纯化产物。

[0457] 在一些方面中，天然存在的式 I 化合物是通过萃取咖啡蜡来制备。可在溶剂中萃取咖啡蜡，例如乙腈、己烷、乙酸乙酯、石油醚、二乙醚、乙醇、庚烷、苯、甲苯、二甘醇二甲醚、甘醇二甲醚、乙酸丙酯、乙酸丁酯、异丙醇、丁醇、氯仿、二氯乙烷或其组合。在一些实施例中，在升高温度下（例如在 50°C 、 55°C 或 60°C 或更高温度下）实施溶剂萃取。在一些实施例中，在真空下实施溶剂萃取。通过任一可用方式（例如过滤）来去除不溶性微粒材料。通过（例如）沉淀和 / 或溶剂蒸发自萃取物分离含有化合物的部分。在一些实施例中，使萃取物冷却以使杂质沉淀，或使期望化合物沉淀。所属领域技术人员能确定给定条件是使杂质沉淀还是使期望化合物沉淀。可通过进一步萃取来洗涤含有化合物的沉淀材料，例如任选地在升高温度下使用与初始萃取所用相同的溶剂或使用不同溶剂以一个或多个额外溶剂萃取和沉淀步骤来洗涤。可对富集化合物的萃取物实施进一步纯化和 / 或浓缩步骤，以（例如）富集特定目标化合物。

[0458] 在一些实施例中,咖啡萃取方法产生包含至少 2%、3%、4%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90% 化合物的萃取物。在一些实施例中,咖啡萃取方法产生包含至少 2%、3%、4%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90% 特定化合物的萃取物。

[0459] 在一实例性方法中,如下所述自咖啡蜡制备萃取物。使咖啡蜡溶于乙腈中并在真空下加热至 60℃。去除不溶性材料并重复对不溶性材料的萃取。合并萃取的可溶性部分并经 16 小时使其冷却至 4℃ 并且过滤。在 60℃ 下将自过滤收集的沉淀物溶解于热乙腈中,在 4℃ 下冷却最多 16 小时并过滤。在 70℃ 下使固相溶解于热乙醇中,冷却至室温,并培育 16 小时。回收沉淀物并任选地对其实施进一步纯化步骤,以(例如)分离特定化合物。

[0460] 在另一实例性方法中,通过以下方式自咖啡蜡制备萃取物:首先将咖啡蜡溶解于乙酸乙酯中并在真空下将其加热至 50℃。在室温下将萃取物冷却 1 小时并过滤。弃去固体沉淀物。将滤液蒸发至干燥且在 50℃ 下使其溶于己烷或石油醚中并过滤。可自固相(例如纯度为 60-80%)或自液相(例如纯度为 15-40%)回收本文所提供的化合物。

[0461] IV. 组合物

[0462] 在某些实施例中,本发明提供组合物(呈适宜形式)。可将所述组合物调配为医药和/或营养制剂。可使用本文所述组合物来治疗一种或多种疾病、病症或病况,例如所述与异常程度的 PP2A 甲基化和/或 PP2A 磷酸酶活性有关者。

[0463] 一般来说,可通过以下方式将一种或多种本发明化合物调配为医药和/或营养组合物:将化合物、或含有化合物的提取物、或含有化合物且经所述化合物进一步强化的提取物、和/或式 I 提取物与一种或多种适合于所选投与途径的添加剂(例如载剂、媒剂、粘合剂、稀释剂等)混合。

[0464] 在某些实施例中,本文所提供组合物包含至少一种来自可产生化合物的植物来源的组份,所述植物来源选自由以下组成的群组:绿咖啡豆、烘焙咖啡豆、研磨咖啡豆残渣、咖啡蜡(统称为“咖啡”)、樱桃咖啡(浆果)、巧克力、睡茄(果实)、金雀花(根)、椰子、银杏、假马齿苋、黑种草、圣约翰草、凤梨释迦(种子)、和蒜果木(果实)。

[0465] 在某些实施例中,本文所提供组合物实质上不含咖啡因、咖啡酸或绿原酸。在某些实施例中,组合物含有少于约 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、0.1%、0.01% 或更少的咖啡因、咖啡酸和/或绿原酸。

[0466] 在某些实施例中,本发明提供组合物,其包含式 I、Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig 和/或 Ih 化合物,和一种或多种来自可产生所述化合物的天然来源的组份。在一些所述实施例中,天然来源是植物来源,并且组份是植物来源的组份。在一些实施例中,植物来源选自由以下组成的群组:绿咖啡豆、烘焙咖啡豆、研磨咖啡豆残渣、咖啡蜡(统称为“咖啡”)、樱桃咖啡(浆果)、巧克力、睡茄(果实)、金雀花(根)、椰子、银杏、假马齿苋、黑种草、圣约翰草、凤梨释迦(种子)、和蒜果木(果实)。

[0467] 在某些实施例中,本发明提供组合物,其包含式 I、Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig 和/或 Ih 化合物和一种或多种选自由天然存在的油和脂质组成的群组的天然来源组份。在某些实施例中,本发明提供组合物,其包含式 I、Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig 和/或 Ih 化合物,所述组合物:(i) 缺少一种或多种在可产生所述化合物的天然来源中所发现的组份;或(ii) 所含所述一种或多种天然来源组份的降低浓度(相对于化合物浓度来说)低于在自然界中

产生所述化合物的天然来源中所发现的浓度。在某些实施例中,减少或缺失的组份选自由以下组成的群组:咖啡因、甾醇、咖啡酸、绿原酸、残留杀虫剂、残留重金属和其组合。也就是说,在某些实施例中,所提供组合物确实含有咖啡因、甾醇、咖啡酸、绿原酸、残留杀虫剂、残留重金属和其组合中的一或多者。

[0468] 具有本文所述式的化合物添加至营养品、医药品或食物中的量通常为至少约 0.1mg。在一些实施例中,每天至少投与一次化合物。在其它实施例中,可在初始剂量后投与补充剂量,并且所述补充剂量可含有超过初始剂量约 0.1mg 的任一额外量的化合物。在一些实施例中,营养品、医药品或食物含有至少 0.1mg 添加到提取物中或强化所述提取物的具有所述式的化合物,所述提取物含有至少 0.1mg 所述化合物。

[0469] 在某些实施例中,添加至营养品、医药品或食物中的式 I 化合物的量通常为至少约 8mg。在一些实施例中,每天至少投与一次化合物。在其它实施例中,可在初始剂量后投与补充剂量,并且所述补充剂量可含有超过初始剂量约 8mg 的任一额外量的化合物。在一些实施例中,营养品、医药品或食物含有至少 8mg 添加到提取物中或强化所述提取物的具有所述式的化合物,所述提取物含有至少 8mg 所述化合物。

[0470] 在一些实施例中,本发明提供经包装营养品、医药品或食物,其包含至少约 0.1mg 具有本文化学式的化合物(其中 W 介于约 15 至约 21 之间),所述化合物对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 100 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 90 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 80 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 70 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 60 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 50 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 40 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 30 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 20 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 10 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 5 μM 。

[0471] 在一些实施例中,本发明提供经包装营养品、医药品或食物,其包含至少约 8mg 具有本文化学式的化合物(其中 W 介于约 15 至约 21 之间),所述化合物对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 100 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 90 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 80 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 70 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 60 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 50 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 40 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 30 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 20 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 10 μM 。在某些实施例中,对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 5 μM 。

[0472] 在一些实施例中,本发明提供经包装营养品、医药品或食物,其包含至少约 0.1mg 具有本文化学式的化合物(其中 W 介于约 15 至约 21 之间,且对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 100 μM)、添加剂和其使用说明书。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 90 μM 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 80 μM 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 70 μM 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 60 μM 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 50 μM 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 40 μM 。在某些实

施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $30\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $20\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $10\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $5\ \mu\text{M}$ 。

[0473] 在一些实施例中,本发明提供经包装营养品、医药品或食物,其包含至少约 8mg 具有本文化学式的化合物 (其中 W 介于约 15 至约 21 之间,且对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $100\ \mu\text{M}$)、添加剂和其使用说明书。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $90\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $80\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $70\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $60\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $50\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $40\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $30\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $20\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $10\ \mu\text{M}$ 。在某些实施例中,对甲基转移酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 $5\ \mu\text{M}$ 。

[0474] 可使用任何添加剂,前提是其不会使组合物不稳定。不期望受限于任何具体理论,人们相信在任何调配物或组合物中都应使强碱、泡腾崩解剂、和氧化剂保持最低含量以避免去稳定作用。

[0475] 适宜添加剂包括但不限于食用淀粉、植物油、植物胶、明胶、大豆提取物、糖、谷物、天然和人工调味剂、和诸如此类。其它适宜添加剂包括水、盐溶液、醇、植物油、聚乙二醇、明胶、乳糖、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石粉、硅酸、粘性石蜡、芳香油;脂肪酸甘油单酯和甘油二酯、石油醚 (petroleum ether) 脂肪酸酯、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、和诸如此类。其它适宜添加剂包括克里莫氟 (Cremaphor)、吐温 (Tween)、和环糊精。其它添加剂或载剂详细阐述于雷明顿医药科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences), 第二十版, ©2000 中, 其以引用方式并入本文中。

[0476] 当然,所选添加剂和所需添加剂的量取决于投与途径和所选递送用媒剂。在一些实施例中,将添加剂与化合物一起调配为单位剂量调配物。例如,片剂可含有约 0.5 重量% 至约 95 重量% 的式 I 化合物和约 5% 至约 99.5% 的添加剂。所属领域技术人员能根据化合物的量和投与途径来选择添加剂的适宜量。

[0477] 剂型可以一般已知量包括其它习用赋形剂。在一些实施例中,这些赋形剂补充或 (根据其特性) 替代上述添加剂,并由此可自身用作组合物的载剂或媒剂。这些赋形剂可包括粘合剂、甜味剂、着色组份、调味剂、助流剂、润滑剂、防腐剂、填充剂、非泡腾崩解剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、和影响渗透压的盐。当然,可向任何调配物添加其它辅助成份,包括着色剂、调味剂和 / 或芳香族物质。

[0478] 赋形剂包括以下实例:填充剂包括糖和糖醇,并且所述填充剂包括非直接压缩和直接压缩填充剂。非直接压缩填充剂一般至少在调配时具有流动和 / 或压缩特征,从而使其在未经扩大或调节的高速压片制程中不实用。例如,调配物可能流动不充分,并且因此可能需要添加助流剂,例如二氧化硅。

[0479] 相反,直接压缩填充剂不需要类似的考虑因素。其一般具有可压缩性和流动性特征,从而使其可直接使用。应注意,根据制备调配物的方法,可使非直接压缩填充剂具有直接压缩填充剂的特性。反之亦然。一般情况下,非直接压缩填充剂相对于直接压缩填充剂

往往具有相对较小的粒径。然而,诸如喷雾干燥甘露醇等某些填充剂具有相对较小的粒径并且经常可直接压缩,此取决于如何对其进行进一步处理。也有相对较大的非直接压缩填充剂。

[0480] 适宜填充剂包括甘露醇、乳糖、山梨醇、右旋糖、蔗糖、木糖醇和葡萄糖。根据本发明也可使用非泡腾崩解剂。这些非泡腾崩解剂也可包括具有崩解特性的粘合剂。本发明崩解剂可包括微晶纤维素、交联聚乙烯吡咯烷酮 (PVP XL)、羧甲基淀粉钠、交联羧甲基纤维素钠、交联羟丙基纤维素和诸如此类。

[0481] 可将本发明组合物调配为水性悬浮液,其中式 I 化合物与赋形剂、添加剂混合和/或适合于制造水性悬浮液。所述添加剂和/或赋形剂是悬浮剂,例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄蓍胶、和阿拉伯树胶;分散或润湿剂可为诸如卵磷脂等天然存在的磷脂、或环氧烷与脂肪酸的缩合产物(例如,聚氧乙烯硬脂酸酯)、或环氧乙烷与长链脂肪族醇的缩合产物(例如,十七乙烯氧基鲸蜡醇)、或环氧乙烷与衍生自脂肪酸与己糖醇的偏酯的缩合产物(例如,聚氧乙烯山梨醇单油酸酯)、或环氧乙烷与衍生自脂肪酸与己糖醇酐的偏酯的缩合产物(例如,聚乙烯山梨醇酐单油酸酯)。水性悬浮液也可含有一种或多种着色剂、一种或多种调味剂、和一种或多种甜味剂(例如蔗糖或糖精)。

[0482] 可通过将式 I 化合物悬浮于植物油(例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油)或矿物油(例如液体石蜡)中将本发明组合物调配为油性悬浮液。油性悬浮液可含有增稠剂,例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可添加甜味剂(例如上述甜味剂)和调味剂以提供可口的口服组合物。这些组合物可通过添加诸如抗坏血酸等抗氧化剂来保存。

[0483] 可将本发明组合物调配为可分散粉剂和颗粒形式,其适合于通过添加水来形成水性悬浮液组合物。以与分散或润湿剂、悬浮剂、和一种或多种防腐剂混合的形式提供呈所述粉剂和颗粒形式的式 I 化合物。适宜分散或润湿剂和悬浮剂例示为上文已提及者。也可存在其它赋形剂,例如甜味剂、调味剂和着色剂。

[0484] 本发明组合物也可呈水包油乳液形式。油相可为植物油(例如橄榄油或花生油)或矿物油(例如液体石蜡)或其混合物。适宜乳化剂可为天然存在的树胶(例如,阿拉伯树胶或黄蓍胶)、天然存在的磷脂(例如,大豆卵磷脂)、和衍生自脂肪酸和己糖醇酐的酯或偏酯(例如,山梨醇酐单油酸酯)和所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物(例如,聚氧乙烯山梨醇酐单油酸酯)。乳液也可含有甜味剂和调味剂。

[0485] 也可将本发明组合物调配为糖浆和酏剂。糖浆和酏剂可调配有甜味剂,例如甘油、丙二醇、山梨醇或蔗糖。所述调配物也可包含缓和剂、防腐剂以及调味剂和着色剂。缓和剂是主要用于减轻刺激、尤其对粘膜或擦伤组织的刺激的保护剂。多种化学物质具有缓和剂特性。这些物质包括藻酸盐、胶浆剂、树胶、糊精、淀粉、某些糖、和聚合多羟基二醇。其它物质包括阿拉伯胶、琼脂、安息香(benzoin)、卡波姆(carbomer)、明胶、甘油、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、丙二醇、藻酸钠、黄蓍胶、水凝胶和诸如此类。

[0486] 可将本发明组合物和化合物添加至传统医药或营养剂型中或可将其与食物组合。

[0487] 本发明一方面涉及一种剂型,其含有至少约 0.1mg 的与脂肪酸偶联的式 I 化合物(其中 W 介于约 15 个与约 22 个碳之间,对甲酯酶的抑制活性低于约 50 μ M)和添加剂。

[0488] 本发明一方面涉及一种剂型,其含有至少约 8mg 的与脂肪酸偶联的式 I 化合物

(其中 W 介于约 15 个与约 22 个碳之间,对甲酯酶的抑制活性低于约 50 μ M) 和添加剂。

[0489] 在一些实施例中,以医药品或营养品形式投与所述剂型。在其它实施例中,将所述剂型添加至食品、饮料、或其它食物中。

[0490] 在某些实施例中,本发明提供营养、医药或可食用调配物,其包含:活性成份、至少一种增溶和 / 或增稠剂、至少一种溶剂、和稀释剂。

[0491] 在某些实施例中,活性成份是式 I、Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig、或 Ih 化合物。在某些实施例中,调配物中的活性成份是化合物 I-63。在某些实施例中,活性成份以约 0.5% (wt%) 的量存于调配物中。在某些实施例中,活性成份以约 5% (wt%) 的量存于调配物中。在某些实施例中,活性成份以约 10% (wt%) 的量存于调配物中。在某些实施例中,活性成份以约 25% (wt%) 的量存于调配物中。在某些实施例中,活性成份以约 50% (wt%) 的量存于调配物中。

[0492] 在某些实施例中,调配物包含至少一种增溶剂和 / 或增稠剂。在某些实施例中,增溶剂和 / 或增稠剂是脂肪酸乙酯。在某些实施例中,增溶剂和 / 或增稠剂是油酸乙酯。在某些实施例中,增溶剂和 / 或增稠剂是色鲁托 (Solutol)-HS15 (即聚乙二醇 660 羟基硬脂酸酯)。在某些实施例中,增溶剂和 / 或增稠剂是表面活性剂。在某些实施例中,表面活性剂是非离子型。在某些实施例中,增溶剂和 / 或增稠剂是吐温 -80 或聚山梨酯 80。在某些实施例中,增溶剂和 / 或增稠剂是以约 20-30% (wt%) 的量存在。在某些实施例中,增溶剂和 / 或增稠剂是以约 0-7% (wt%) 的量存在。在某些实施例中,增溶剂和 / 或增稠剂是以约 0-1% (wt%) 的量存在。

[0493] 在某些实施例中,调配物包含至少一种溶剂。在某些实施例中,溶剂是极性有机溶剂。在某些实施例中,溶剂是醇。实例性醇包括异丙醇、SDA-3A 醇、或乙醇。在某些实施例中,溶剂是以约 0 至 5% (wt%) 的量存在。在某些实施例中,溶剂是以约 0 至 1% (wt%) 的量存在。

[0494] 在某些实施例中,调配物包含至少一种稀释剂。在某些实施例中,稀释剂是磷酸盐缓冲盐水 (PBS)。在某些实施例中,PBS 是以约 20% -50% (wt%) 的量存在。在某些实施例中,PBS 是以约 40% (wt%) 的量存在。

[0495] 在某些实施例中,调配物的 pH 值范围为约 2.0-9.0。在某些实施例中,pH 值为 3.0-5.0。在某些实施例中,pH 值是 4.9。

[0496] 可期望用于制备所提供组合物的其它成份包括防腐剂、共溶剂和增粘剂、添加剂、赋形剂、填充剂、有机金属改性剂、着色剂和掩蔽剂。

[0497] 所属领域技术人员可容易地了解,列示调配物中特定组份所属类别并非意欲限制本发明。在一些情形下,特定组份可适当地符合不止一种类别。同样,所属领域技术人员应了解,在特定调配物背景下,根据 (例如) 成份含量和 / 或其它成份和 / 或活性化合物的存在,同一组份有时可发挥不同功能,或可发挥不止一种功能。本文所用组份的实例性类别包括但不限于增溶剂、增稠剂、防腐剂、共溶剂、增粘剂、添加剂、赋形剂、填充剂等。

[0498] 剂量量

[0499] 具有本文所述式的任何特定化合物的治疗有效剂量可随化合物而变、随个体而变、并且取决于递送途径、以及最终调配物。在一些实施例中,为达成治疗有效性,必须每天投与 0.1mg 一种或多种具有本文所述式的化合物。在一些实施例中,为达成治疗有效性,必

须每天投与 0.1mg 一种或多种具有本文所述式的化合物。在某些实施例中,可每天投与至少约 12mg 具有本文所述式的化合物。在某些实施例中,可每天投与至少约 8mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。在其它实施例中,可每天投与至少约 20mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。在其它实施例中,可每天投与至少约 50mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。在其它实施例中,可每天投与至少约 100mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。

[0500] 可经一整天给予超过约 0.1mg 剂量的额外剂量。这些补充剂量可含有任一量的式 I 化合物。在一些实施例中,补充剂量包括额外至少 0.1mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。在一些实施例中,补充剂量包括额外至少 8mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。在一些实施例中,补充剂量包括额外至少 0.1mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。在一些实施例中,补充剂量包括额外至少 8mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。在其它实施例中,补充剂量包括额外至少 12mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。在其它实施例中,补充剂量包括额外至少约 20mg 的至少一种具有本文所述式的化合物。

[0501] 因此,每天仅投与一次的任何剂型(营养品、医药品、食品、或提取物)应含有至少 0.1mg 的具有本文所述式的化合物。在某些实施例中,每天仅投与一次的任何剂型(营养品、医药品、食品、或提取物)应含有至少 8mg 的具有本文所述式的化合物。当然,完全可接受投与多次剂量。

[0502] 在一些实施例中,每天对个体投药两次或更多次。在一些实施例中,向个体提供以下日剂量:0.1mg/天、8mg/天、12mg/天、10mg/天、12mg/天、20mg/天、24mg/天、50mg/天、和 100mg/天的一种或多种具有本文所述式的化合物。

[0503] 尽管人们相信可投与的具有本文所述式的化合物的量没有上限,但与任何摄入体内的物质一样,个体应避免剂量水平产生毒性。

[0504] 递送

[0505] 式 I 化合物、其盐、酸衍生物和 / 或其混合物可用作营养品或用作医药活性剂,并且可以整体形式使用,或可调配为投与用营养或医药组合物。例如,包含至少一种式 I 化合物的组合物可以习用医药品或以营养组合物(包括食物增补剂)形式来投与。

[0506] 或者,可将式 I 整体提取物添加至食品或饮料中并由此作为可食用产物的一部分来投与。或者,可合成或自商业来源购买式 I 化合物,前提是其具有式 I 结构并且存在于自然界中。

[0507] 口服剂型

[0508] 一般来说,包含治疗或医药有效量的式 I 化合物的组合物可经调配用于以单位剂型投与。

[0509] 在一些实施例中,可通过任何途径投与所述剂型,包括经口、含服、非经肠、经皮、经粘膜、或吸入途径。

[0510] 本文所提供组合物可呈适于经口使用的形式,例如,片剂、含片、菱形片剂、丸剂、水性或油性悬浮液、溶液、可分散粉剂或颗粒、乳液、硬质或软质胶囊、糖浆或酏剂、糊剂、凝胶或诸如此类。

[0511] 欲经口使用的组合物可根据任一已知方法来制备,并且所述组合物可含有一种或多种选自以下组成的群组的赋形剂:甜味剂、调味剂、着色剂和防腐剂,以提供美观且可口的医药组合物。一般来说,经口投与用调配物是通过以下方式来制备的:均匀且紧密地混

合活性化合物与液体赋形剂或精细固体赋形剂或二者,且随后(若需要)使所得混合物成形。

[0512] 片剂可含有活性成份与适合制造片剂的医药上可接受的无毒添加剂和/或赋形剂的混合物。这些添加剂或赋形剂可为(例如)填充剂、润湿剂、惰性稀释剂,例如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;造粒泡腾崩解剂(例如泡腾片剂)和非泡腾崩解剂(例如玉米淀粉或藻酸);粘合剂,例如淀粉、明胶或阿拉伯胶;和润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉。

[0513] 可通过传统方法来制备片剂,例如压缩或模制含有化合物的粉剂或颗粒。压制片剂可通过在适宜机器中压缩呈自由流动形式(诸如粉剂或颗粒)的化合物来制备,所述化合物任选地与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、和/或表面活性剂/分散剂混合。模制片剂可通过在适宜机器中模制经惰性液体粘合剂润湿的粉末化合物来制备。

[0514] 片剂可无包衣或其可通过已知技术包被以延迟在胃肠道中的崩解和吸收并由此提供较长时间的持续作用。例如,可采用诸如甘油单硬脂酸酯或甘油二硬脂酸酯等延时材料。其也可经涂布用于受控递送。例如,“延迟释放”剂型并非在投与后立刻释放产物或物质。延迟释放系统的实例包括反复作用片剂和胶囊、和肠溶包衣片剂,其中通过屏障包衣可达成定时释放。

[0515] 本发明组合物也可经调配用于经口使用,其呈硬明胶胶囊形式,其中将式 I 化合物与惰性固体稀释剂(例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合;或呈软明胶胶囊形式,其中将活性成份与水或油性介质(例如花生油、液体石蜡、或橄榄油)混合。

[0516] 在另一实施例中,也可使用用于经口投与的液体制剂。液体制剂可呈溶液、糖浆或悬浮液形式,或为干燥产物以在使用前用水或另一适宜媒剂重建。所述液体制剂可通过习用方式以医药上可接受的添加剂(例如悬浮剂、乳化剂、非水性媒剂、和防腐剂)来制备。

[0517] 液体基口服剂型与其固体对应剂型相同,必须含有至少 0.1mg 式 I 化合物。在某些实施例中,液体基口服剂型与其固体对应剂型相同,必须含有至少 8mg 式 I 化合物。所属领域技术人员能根据所选添加剂或载剂适当地调配每液量盎司含有适宜量的式 I 化合物的液体调配物。

[0518] 直肠和/或阴道投与

[0519] 或者或另外,本文所提供医药组合物可以栓剂形式用于直肠和/或阴道投与。所述组合物可通过以下方式来制备:将药剂与适宜非刺激性赋形剂混合,所述赋形剂在室温下为固体,但在直肠和/或阴道温度下为液体,并且由此可在直肠和/或阴道中融化而释放药物。所述材料包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

[0520] 含服投与

[0521] 适合含服投与的调配物包括片剂和菱形片剂,其在调味剂基质(例如蔗糖、阿拉伯胶或黄蓍胶)中包含式 I 化合物;和软片剂,其在惰性基质(例如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶)中包含所述化合物。

[0522] 局部投与

[0523] 适合局部投与皮肤的本发明调配物采用以下形式:软膏剂、乳霜、洗剂、糊剂、凝胶、喷雾剂、气溶胶、或油。可用添加剂包括凡士林(vaseline)、羊毛脂、聚乙二醇、醇、经皮促进剂、和两种或两种以上上述添加剂的组合。

[0524] 适于经皮投与的调配物可以药物绷带或分散贴剂形式存在,其适于与接受者的表皮经长时间保持紧密接触。适于经皮投与的调配物也可通过离子透入法经皮肤来递送(通过小电流(15mA)以将带电荷离子“注射”至皮肤中)。为此,所述剂型通常采用活性化合物的任选缓冲水溶液形式。

[0525] 可吸入剂型

[0526] 对于吸入投与,可在加压包装中或在喷雾器中通过使用适宜推进剂和/或弹丸剂以气溶胶喷雾剂形式递送本发明中所用组合物。在加压气溶胶情形下,可通过提供阀门根据本发明递送经计量剂量来确定剂量单位。

[0527] 非经肠投与

[0528] 非经肠投与的组合物经调配以使得可以浓注或以连续输注形式来注射。对于非经肠施用,“非经肠”意指皮下注射、静脉内、肌内、胸骨内注射、或输注技术,尤其适宜的媒剂由溶液(优选地油性或水性溶剂)、以及悬浮液、乳液或植入物组成。注射用调配物可以单位剂型(例如安瓿)或以多剂量单位来制备,并且添加防腐剂。注射用组合物可呈悬浮液、溶液或乳液形式,其含有油性或水性添加剂。其也可含有调配剂,例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。本发明化合物也可以粉剂形式存在,其用于在使用前经适宜媒剂重建。

[0529] 本发明组合物也可呈水性或油性无菌可注射悬浮液形式。可根据已知技术使用适宜分散或润湿剂和悬浮剂来调配可注射组合物(例如水性或油性无菌可注射悬浮液)。无菌可注射组合物也可存于无毒非经肠可接受稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液,例如1,3-丁二醇溶液。可采用的可接受媒剂和溶剂尤其为水、林格氏溶液(Ringer's solution)和等渗氯化钠溶液。在一些实施例中,适合非经肠投与的本发明调配物方便地包含活性化合物的无菌水性制剂,所述制剂优选地与既定接受者的血液等渗。所述制剂可通过以下方式便捷地制备:将活性化合物与水或甘氨酸缓冲液混合,并使所得溶液无菌并且与血液等渗。

[0530] 此外,通常采用固定油作为溶剂或悬浮介质。水性悬浮液可含有可提高悬浮液粘度的物质并且包括(例如)羧甲基纤维素钠、山梨醇和/或葡聚糖。任选地,悬浮液也可含有稳定剂。

[0531] 或者,将式I化合物添加至非经肠脂质溶液中。

[0532] 食物

[0533] 也可将化合物和含有式I化合物的组合物调配为食物或与食物调配在一起。本发明食物包括水、调味水、水果饮品、咖啡饮品(含咖啡因或去除咖啡因)、茶饮品、运动饮品、营养棒、快餐、口香糖、谷物、糖果、婴儿配方奶粉、能量饮品、成人营养饮品、保健饮品、烈酒、果汁、碳酸饮料、和其它食品。术语“运动饮品”是指设想为运动员补充水分以及补充电解质、糖分和其它营养的饮料,例如佳得乐(Gatorade)®、动乐(POWERRade)®、和全运动(All Sport)®。本文所用术语“能量饮品”是指含有合法兴奋剂、电解质、维生素和矿物质的饮料,包括但不限于焦特可乐(Jolt Cola)®、红牛(Red Bull)®和类似产品;这些产品经调配以使使用者爆发出能量。本文所用术语“成人营养饮品”是指诸如英舒(Ensure)®、朗杰(Longetics)®或类似产品等产品。术语“保健饮品”是指任何旨在产生有益健康效应的饮料,所述效应包括但不限于降低炎症、支持免疫系统、中和传染因子、防止动脉阻塞、保存认知技能和抑制癌症发展。食物也可包括可给予认知或其它健康益处的额外成份。如果是饮

料,则可以粉剂形式使用食物,其可溶于适合人类消费的液体中。

[0534] 将式 I 化合物添加至去除咖啡因的咖啡、茶或其它去除咖啡因产品中特别有吸引力。人们相信,去除咖啡因过程不仅自咖啡脱去了咖啡因,而且也去除了某些式 I 化合物或降低了某些式 I 化合物的含量。在此情形下,为达成据推测可能归因于某些咖啡的健康益处,需要回添所述被去除或浓度被降低的式 I 化合物。

[0535] 也可使式 I 化合物与普通食品组合。例如,可将组合物与软饮品、食物补充剂、糖果、谷物、早餐棒、高能量棒、和实际上任何其它可用粉剂、颗粒或液体补充的食品混合。因此,本发明明确包括特定类型的食品物质,其与本发明组合物以指定形式和数量组合。食物可为代餐或餐间零食。

[0536] 此外,式 I 化合物可单独或与其它植物化学物质组合作为食物增补剂来投与,已知其可影响焦虑。食物增补剂可呈固体棒、糊剂、凝胶、片剂、胶囊或液体形式。可与本文所述化合物组合使用的其它植物化学物质的实例包括但不限于白藜芦醇 (resveratrol) 和其羟基化和甲氧基化类似物、迷迭香提取物、绿茶提取物、陈皮提取物、川七 (Mexican Bamboo)、和虎杖 (Huzhang) 提取物。式 I 化合物也可与维生素 (例如维生素 E) 和矿物质组合。另外,式 I 化合物可作为多维生素或其它草药调配物或药物的一部分来投与。

[0537] 将营养品或提取物加入或纳入食品或饮料中的各种方法为所属领域技术人员已知的。在一些实施例中,可由个体将本文所述化合物作为食物增补剂添加至任一食品或饮料中。例如,个体可将预定治疗有效剂量的式 I 化合物 (优选地经预先包装) 添加至食品或饮料中,例如通过将所述化合物撒布在食品上或将提取物与饮料混合来添加。在其它实施例中,可预先组合式 I 化合物与食品或饮料 (例如牛奶分离器或非牛奶分离器可含有提取物)。在其它实施例中,可将式 I 化合物预先包装为甜味剂的一部分或代替甜味剂 (例如含有一茶匙糖和 0.1mg 或 8mg 式 I 化合物的糖包)。在其它实施例中,可预先组合治疗有效剂量的化合物与研磨咖啡粉 (含咖啡因或去除咖啡因)、速溶咖啡或茶。例如,可提供化合物包以将其撒布在饮品或食品中,从而使得其不会影响味道。也可将式 I 化合物添加至诸如桂皮等香料调味品中。

[0538] IV. 包装

[0539] 本发明另一方面涉及一种包装,其含有至少 0.1mg 式 I 化合物或组合物、添加剂和使用说明书。在某些实施例中,本发明涉及一种包装,其含有至少 8mg 式 I 化合物或组合物、添加剂和使用说明书。包装中所含式 I 化合物或组合物可含有适宜添加剂,从而使得可将包装内容物添加至食物中。说明书可提供关于如何将包装内容物添加至食物中的信息。例如,包装可提供说明,每液量盎司饮料应添加 1mg 式 I 组合物。说明书可另外提供剂量信息,例如每天应投与的组合物量。例如,说明书可提供,每天应服用至少两个含有式 I 组合物的小包。

[0540] V. 用途

[0541] 在某些实施例中,本发明提供合成和 / 或天然存在的与脂肪酸偶联的化合物,其可单独或与医药品、营养品或其它食物组合添加,以治疗、预防、控制或改善糖尿病、胰岛素抵抗、和代谢综合症。在一些实施例中,本发明提供合成和 / 或天然存在的与脂肪酸偶联的化合物,其可单独或与医药品、营养品或其它食物组合添加,以治疗、预防、控制或改善神经变性疾病,例如蛋白病。实例性蛋白病包括 τ 蛋白病和突触核蛋白病。在某些实施例中,

τ 蛋白病包括阿兹海默氏病、唐氏综合症成年病例中的神经变性、拳击员痴呆、皮克病、关岛帕金森痴呆复合症、额颞痴呆、皮质基底变性、苍白球-脑桥-黑质变性、和进行性核上性麻痹。在某些实施例中，突触核蛋白病（例如 α -突触核蛋白病）包括帕金森氏病、路易体痴呆 (DLB)、和多系统萎缩症 (MSA)。

[0542] 在某些实施例中，化合物可单独或与医药品、营养品或其它食物组合添加，以治疗、预防、控制或改善神经病症、神经变性疾病、糖尿病和 / 或代谢综合症。在某些实施例中，代谢综合症选自高血糖症、胰岛素产量减少、胰岛素分泌减少和胰岛素抵抗。在某些实施例中，神经变性疾病是帕金森氏病或阿兹海默氏病。

[0543] 在某些实施例中，本发明提供化合物、组合物、提取物和 / 或其制备方法或在治疗（例如）某些神经变性疾病（例如阿兹海默氏病和 / 或帕金森氏病）、糖尿病、胰岛素抵抗和代谢综合症中的用途。

[0544] 在某些特定实施例中，本发明提供化合物、组合物、提取物用于治疗（例如）某些神经变性疾病（例如阿兹海默氏病和 / 或帕金森氏病）、糖尿病和代谢病症或改善其症状。尽管不期望受限于理论，但人们相信，本文所述这些化合物、组合物、提取物可用于调节 PP2A 的活性，以治疗神经变性疾病（例如阿兹海默氏病和 / 或帕金森氏病）和糖尿病和 / 或代谢病症或改善其症状。

[0545] 在另一方面中，本发明提供通过投与至少 0.1mg 式 I 化合物和 / 或提取物在个体中维持 PP2A 水平的方法。在另一方面中，本发明提供通过投与至少 8mg 式 I 化合物和 / 或提取物在个体中维持 PP2A 水平的方法。在另一方面中，本发明提供通过投与至少 0.1mg 式 I 化合物和 / 或提取物在个体中调节 PP2A 活性的方法。在另一方面中，本发明提供通过投与至少 8mg 式 I 化合物和 / 或提取物在个体中调节 PP2A 活性的方法。人们相信，此一投与将使得个体可：(a) 维持当前 PP2A 水平而不会进一步损失 PP2A 水平和 / 或活性；(b) 恢复至少部分 PP2A 水平和 / 或活性；和 / 或 (c) 与在正常健康个体中所发现的水平和 / 或活性相比，完全恢复 PP2A 水平和 / 或活性。

[0546] 可用本发明式 I、Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig 和 / 或 Ih 化合物治疗的某些特定疾病、病症或病况的具体实例单独阐述于下文中。

[0547] τ 蛋白病

[0548] τ 蛋白病构成一类神经变性病症，其特征在于进行性地损失神经元结构完整性。在诸如额颞痴呆和进行性核上性麻痹等 τ 蛋白病中，微管相关蛋白 τ 中的突变促进其异常过度磷酸化、聚集和随后的神经元功能障碍。如本文所述，一种特别引人注目的所述 τ 蛋白病是阿兹海默氏病。业内公认，老年性异常 τ 蛋白过度磷酸化是阿兹海默氏病相关痴呆的主要诱发因素。

[0549] 人们相信，截止 2050 年，世界范围内阿兹海默氏病的发病率将在 2006 年两千六百六十万报导病例的估计值基础上增加三倍（参见布鲁克迈尔 R. (Brookmeyer R.)、约翰逊 E. (Johnson E.)、齐格勒-格雷厄姆 K. (Ziegler-Graham K.)、阿里吉 M. H. (Arrighi M. H.)，预测全球阿兹海默氏病负担 (Forecasting the Global Burden of Alzheimer's Disease)，阿兹海默氏病和痴呆 (Alzheimer's and Dementia) 2007；3(3):186-91)。迄今为止大部分阿兹海默氏病干预研究都是针对 β -淀粉样变性，仅在近期，研究才集中于大多数人忽略的神经原纤维变性（其为阿兹海默氏病中的另一主要

组织学病变)方面,从而使微管相关蛋白 τ 成为神经变性药物发现研究中的前沿(参见马克思 J. (Marx J.),“阿兹海默氏病:关于 τ 蛋白的新观点 (Alzheimer' s Disease: A New Take on Tau)”,科学 (Science)2007:第 316 卷,第 5830 期,第 1416-1417 页;罗德 H.M. (Roder H.M.)、赫顿 M.L. (Hutton M.L.),作为神经变性疾病中的治疗靶的微管相关蛋白 τ (Microtubule-associated Protein Tau as a Therapeutic Target in Neurodegenerative Disease),治疗靶标专家评论 (Expert Opin. Ther. Targets)2007; 11(4):435-442;和马达那兹 M. (Mazanetz M.)、费希尔 P.M. (Fisher P.M.),“在药物设计中解除 τ 蛋白过度磷酸化用于神经变性疾病 (Untangling Tau Hyperphosphorylation in Drug Design for Neurodegenerative Diseases)”,自然 (Nature)2007;6:464-479)。

[0550] τ 蛋白的过度磷酸化会使其聚集并形成神经原纤维紊乱 (NFT),随后引起微管破坏,并最终不仅在阿兹海默氏病中,而且在皮克病、进行性核上性麻痹 (PSP) 和皮质基底变性 (CBD) 中引起神经变性(参见阿朗索 A.D. (Alonso A.D.)、宰地 T. (Zaidi T.)、格朗德-伊克宝 I. (Grundke-Iqbal I.)、伊克宝 K.,在阿兹海默氏病中异常磷酸化 τ 蛋白在微管断裂中的作用 (Role of Abnormally Phosphorylated Tau in the Breakdown of Microtubules in Alzheimer' s Disease),美国国家科学院院刊 (Proc Natl Acad Sci USA)1994;91:5562-6;李 B. (Li B.)、朝汉 M.O. (Chohan M.O.)、格朗德-伊克宝 I.、伊克宝 K.,阿兹海默异常过度磷酸化 τ 蛋白对微管网络的破坏 (Disruption of Microtubule Network by Alzheimer Abnormally Hyperphosphorylated Tau),神经病理学报 (Acta Neuropathol.)2007;113:501-11;赫顿 M. 等人, τ 基因中的错义突变和 5' 剪接位点突变与遗传性痴呆 FTDP-17 的联系 (Association of Missense and 5' -Splice Site Mutations in Tau with the Inherited Dementia FTDP-17),自然 393,702-705(1998);大门参 C. (Dumanchin, C.) 等人,微管相关蛋白 τ 基因中的错义突变与家族性额颞痴呆和帕金森氏病之间的分离 (Segregation of a Missense Mutation in the Microtubule-associated Protein Tau Gene with Familial Frontotemporal Dementia and Parkinsonism),人类分子遗传学 (Hum. Mol. Genet.)7,1825-1829(1998);和里祖 P. (Rizzu, P.) 等人,在荷兰额颞痴呆的种群研究中微管相关蛋白 τ 中突变的高发生率 (High Prevalence of Mutations in the Microtubule-associated Protein Tau in a Population Study of Frontotemporal Dementia in the Netherlands),美国人类遗传学杂志 (Am. J. Hum. Genet.)64,414-21(1999))。 τ 蛋白介导的神经变性还与人类基因 (MAPT) 的特定突变有关,其引发额颞痴呆和染色体 17 相关帕金森氏病 (FTDP-17)。

[0551] 蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 是用于减少过度磷酸化 τ 蛋白的主要磷酸酶,并且在 AD 脑中,PP2A 出现显著下调(参见宫 C.X. (Gong C.X.)、夏克 S. (Shaikh S.)、王 J.Z. (Wang J. Z.)、宰地 T.、格朗德-伊克宝 I.、伊克宝 K.,针对异常磷酸化 τ 蛋白的磷酸酶活性:在阿兹海默氏病患者脑中降低 (Phosphatase Activity Toward Abnormally Phosphorylated Tau: Decrease in Alzheimer' s Disease Brain),神经化学杂志 (J. Neurochem)1995;65:732-738;和沃吉斯伯格-雷卡歌利亚 V. (Vogelsberg-Ragaglia V.)、卓克 T. (Schuk T.)、特洛扬诺夫斯基 J.Q. (Trojanowski J.Q.)、李 V.M.,PP2a mRNA 表达数量在阿兹海默氏病海马体中降低 (PP2a mRNA Expression is Quantitatively Decreased in Alzheimer' s Disease Hippocampus),实验神经病学 (Exp. Neurol.)2001;168:402-412)。

[0552] 更具体来说,对患有阿兹海默氏病的个体脑中受影响区域(尤其额区和颞区)的事后分析显示,AB₄₂C(即PP2A使p- τ 去磷酸化的主要形式)水平显著不足(参见桑塔格E.(Sontag E.)、鲁昂帕洛姆A.(Luangpirom A.)、莱迪克C.(Hladik C.)、穆德拉克I.(Mudrak I.)、奥格里斯E.(Ogris E.)、斯派舍尔S.(Speciale S.)、怀特C.L.(White C.L.)、第3版(2004b),蛋白磷酸酶2A Ab α C酶表达水平的变化与阿兹海默氏病变相关(Altered Expression Levels of the Protein Phosphatase 2A AB α C enzyme are Associated with Alzheimer's Disease Pathology),神经病理学和实验神经病学杂志(J.Neuropathol.Exp.Neurol.),63(4):287-301)。在羧基末端Leu309处通过可逆甲基化对PP2A进行翻译后修饰可显著提高B₅₅对AC二聚体的亲和性(参见托尔斯特赫T.、李J.、瓦夫艾S.(Vafai S.)、斯托克J.B.(2000),羧基甲基化通过控制调节性B亚单位的连接调节磷蛋白磷酸酶2A(Carboxyl Methylation Regulates Phosphoprotein Phosphatase 2A by Controlling the Association of Regulatory B subunits),欧洲分子生物化学杂志(Embo. J.),19(21):5682-5691)并调节AB₄₂C异三聚体(达成健康 τ 蛋白磷酸化水平的关键必要条件)的装配(参见瓦夫艾S.B.、斯托克J.B.,2002,“蛋白磷酸酶2A甲基化:升高的血浆高半胱氨酸与阿兹海默氏病之间的联系(Protein Phosphatase 2A Methylation: A Link Between Elevated Plasma Homocysteine and Alzheimer's Disease)”,欧洲生物化学学会联盟通讯(FEBS Lett)518(1-3):1-4)。

[0553] 通过精密平衡以下两种活性来调节PP2A甲基化:(1)蛋白磷酸酶2A甲基转移酶(PPMT)的甲基化活性,其引起PP2A甲基化增加;和(2)蛋白磷酸酶2A甲酯酶(PPME)的脱甲基化活性,其引起PP2A甲基化降低。本发明涵盖一类式I化合物、组合物和/或提取物或含有此一提取物的食物,其可通过选择性靶定PPME和PPMT活性来调节PP2A对磷酸 τ 蛋白的活性。

[0554] 在某些实施例中,本发明提供通过投与式I化合物、组合物和/或提取物或含有此一提取物的食物(前提是投与至少0.1mg所述提取物)来治疗、改善、控制或预防神经变性疾病(例如阿兹海默氏病和其它 τ 蛋白病)的方法。在某些实施例中,本发明提供通过投与式I化合物、组合物和/或提取物或含有此一提取物的食物(前提是投与至少8mg所述提取物)来治疗、改善、控制或预防神经变性疾病(例如阿兹海默氏病和其它 τ 蛋白病)的方法。

[0555] 根据一方面,本发明提供治疗、改善、控制或预防神经变性疾病(例如阿兹海默氏病和其它 τ 蛋白病)的方法,其包含向有需要的个体投与包含至少约0.1mg的本文所述与脂肪酸偶联的式I化合物和其各种类别和亚类的剂型,其中W介于约15与约22个碳之间,所述化合物对甲酯酶的抑制活性(IC₅₀)低于约50 μ M。

[0556] 根据一方面,本发明提供治疗、改善、控制或预防神经变性疾病(例如阿兹海默氏病和其它 τ 蛋白病)的方法,其包含向有需要的个体投与包含至少约8mg的本文所述与脂肪酸偶联的式I化合物和其各种类别和亚类的剂型,其中W介于约15与约22个碳之间,所述化合物对甲酯酶的抑制活性(IC₅₀)低于约50 μ M。

[0557] 突触核蛋白病

[0558] 突触核蛋白病是一类与诸如 α -突触核蛋白等某些神经元蛋白的异常磷酸化有关的神经变性病症。所述异常磷酸化是引起所述蛋白聚集、形成神经元包涵体、和最终导

致神经元功能损失的早期事件。如本文所述,一种特别引人注目的所述突触核蛋白病是帕金森氏病。路易体是磷酸化 α -突触核蛋白的聚集物,其尤其在帕金森氏病、路易体痴呆、和多系统萎缩症中具有致病性作用(马 Q. (Ma, Q.) 等人,阿兹海默病杂志 (J. Alzheimers Dis.) 5(2):139-48, 2003)。

[0559] 帕金森氏病是仅次于阿兹海默氏病的第二常发的神经变性病症。在临床上,帕金森氏病的主要症状包括颤抖、肌肉僵硬、随意运动缓慢和姿势不稳定。尽管帕金森氏病神经病变涉及多种不同的神经递质路径,但上述失能症状主要归因于脑多巴胺的缺乏。在脑的不同多巴胺能系统中,上行黑质纹状体路径在帕金森氏病中受损最严重。帕金森氏病研究者依靠模型系统来探索所述疾病的各个方面。MPTP(1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶)模型已成为帕金森氏病研究中最常用的模型,因为它是唯一已知的能在人类和猴子二者中引发与在帕金森氏病中的观察类似的临床现象的多巴胺能神经毒素(参见杰克逊-刘易斯 V. (Jackson-Lewis V.) 和普热得不诺斯基 S. (Przedborski S.), “帕金森氏病 MPTP 小鼠模型的实验方案, (1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶) (Protocol for the MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease, (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine))”, 自然实验手册 (Nature Protocols), 第 2 卷 (1) 2007, 第 141-152 页)。

[0560] 在某些实施例中,本发明提供通过投与式 I 化合物和 / 或提取物或含有此一提取物的食物(前提是投与至少 0.1mg 所述提取物)来治疗、改善、控制或预防神经变性疾病(例如帕金森氏病和其它突触核蛋白病)的方法。

[0561] 在某些实施例中,本发明提供通过投与式 I 化合物和 / 或提取物或含有此一提取物的食物(前提是投与至少 8mg 所述提取物)来治疗、改善、控制或预防神经变性疾病(例如帕金森氏病或其它突触核蛋白病)的方法。

[0562] 根据一方面,本发明提供治疗、改善、控制或预防神经变性疾病(例如帕金森氏病或其它突触核蛋白病)的方法,其包含向有需要的个体投与包含至少约 0.1mg 的本文所述与脂肪酸偶联的式 I 化合物和其各种类别和亚类的剂型,其中 W 介于约 15 与约 22 个碳之间,所述化合物对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 50 μ M。

[0563] 根据一方面,本发明提供治疗、改善、控制或预防神经变性疾病(例如帕金森氏病或其它突触核蛋白病)的方法,其包含向有需要的个体投与包含至少约 8mg 的本文所述与脂肪酸偶联的式 I 化合物和其各种类别和亚类的剂型,其中 W 介于约 15 与约 22 个碳之间,所述化合物对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 50 μ M。

[0564] 糖尿病、胰岛素抵抗和代谢综合症

[0565] 业内公认,饮食中过多摄取碳水化合物和脂肪并且缺少足够的体育运动是引发 2 型糖尿病和肥胖症的重要诱发因素(参见斯泰特勒 R. (Stettler, R.)、M. 伊斯 (M. Ith) 等人, 2005, “健康人类中膳食脂质和缺少体育运动对胰岛素敏感性和肌蜂窝织炎内脂质的相互作用 (Interaction Between Dietary Lipids and Physical Inactivity on Insulin Sensitivity and on Intramyocellular Lipids in Healthy Men)”, 糖尿病护理 (Diabetes Care) 28(6):1404-9; 和维斯 R. (Weiss, R.)、S. 杜佛尔 (S. Dufour) 等人, 2003, “肥胖青少年的前期糖尿病:葡萄糖耐受不良、严重胰岛素抵抗、和肌肉细胞脂肪与腹部脂肪分配改变的综合症 (Prediabetes in Obese Youth: A Syndrome of Impaired Glucose

Tolerance, Severe Insulin Resistance, and Altered Myocellular and Abdominal Fat Partitioning)”,柳叶刀 (Lancet)362(9388):951-7)。葡萄糖和游离脂肪酸长期保持较高水平会引发葡萄糖耐受不良、血脂异常和胰岛素抵抗(参见塞维治 D. B. (Savage, D. B.)、K. F. 彼得森 (K. F. Petersen) 等人,2007,“脂质代谢紊乱与胰岛素抵抗的发病机制 (Disordered Lipid Metabolism and the Pathogenesis of Insulin Resistance)”,生理学评论 (Physiol. Rev.)87(2):507-20)。业内认为患有这些代谢紊乱的个体处于前期糖尿病病况中,并且不仅发生 2 型糖尿病的风险显著较高,而且发生其它进行性发作并发症(在本文中统称作代谢综合症,其可包括诸如高血糖症、胰岛素产量减少和 / 或分泌减少和胰岛素抵抗等病症)的风险也显著较高(参见拉卡苏内 D. E. (Laaksonen, D. E.)、H. M. 拉卡 (H. M. Lakka) 等人,2002,“代谢综合症与糖尿病的发生:近期提出的代谢综合症的定义在前瞻性世代研究中的应用和验证 (Metabolic Syndrome and Development of Diabetes Mellitus: Application and Validation of Recently Suggested Definitions of the Metabolic Syndrome in a Prospective Cohort Study)”,美国流行病学杂志 (Am. J. Epidemiol.)156(11):1070-7;莫勒 D. E. (Moller, D. E.) 和 K. D. 考夫曼 (K. D. Kaufman), 2005,“代谢综合症:临床和分子视角 (Metabolic Syndrome: A Clinical and Molecular Perspective)”,医学年评 (Annual Rev. Med.)56:45-62)。考虑到此世界范围临床问题的规模,业内迫切需要研发新颖有效的策略来中止或减缓代谢综合症和相关病症的进行性性质。

[0566] 葡萄糖在多种细胞类型中的吸收、利用和代谢是通过胰岛素和其它细胞内信号传导路径来协调调节的。胰岛素信号传导路径中的两种关键蛋白组份是胰岛素受体底物 1 和 2 (IRS-1/2)。慢性胰岛素信号传导和营养素与脂肪酸长期保持较高水平会通过多种下游激酶引起 IRS-1/2 的慢性 Ser/Thr 磷酸化。已有人提出此为引起胰岛素抵抗的一种机制,并且此过程中所涉及的一些激酶包括 PI3K、Akt、PKC 亚型、mTOR、I κ B α 、和 p70S6K(参见古河 N. (Furukawa, N.)、P. 昂古 (P. Ongusaha) 等人,2005,“ ρ -激酶在胰岛素作用调节和葡萄糖内稳态中的作用 (Role of Rho-kinase in Regulation of Insulin Action and Glucose Homeostasis)”,细胞代谢 (Cell Metab.)2(2):119-29;特伦布莱 F. (Tremblay, F.)、A. 加侬 (A. Gagnon) 等人,2005,“雷帕霉素路径的哺乳动物靶标的活化严重抑制胰岛素至 Akt 的信号传导和 3T3-L1 与人类脂肪细胞中的葡萄糖运输 (Activation of the Mammalian Target of Rapamycin Pathway Acutely Inhibits Insulin Signaling to Akt and Glucose Transport in 3T3-L1 and Human Adipocytes)”,内分泌学 (Endocrinology)146(3):1328-37;和莫里诺 K. (Morino, K.)、K. F. 彼得森等人,2006,“人类中胰岛素抵抗的分子机制和其与线粒体功能障碍的潜在联系 (Molecular Mechanisms of Insulin Resistance in Humans and Their Potential Links with Mitochondrial Dysfunction)”,糖尿病 (Diabetes)55,增刊 2:S9-S15)。

[0567] 与代谢综合症相关的多种激酶经 Ser/Thr 磷酸酶去磷酸化,例如蛋白磷酸酶 2A (PP2A)、蛋白磷酸酶 1 (PP1) 和蛋白磷酸酶 5 (PP5)。这些磷酸酶与各种激酶形成‘信号传导分子’并且人们认为其在维持胰岛素信号传导中所涉及蛋白质的磷酸化与去磷酸化形式的平衡中具有重要作用(参见韦斯特法尔 R. S. (Westphal, R. S.)、R. L. 考菲 Jr. (R. L. Coffee, Jr.) 等人,1999,“由 p70S6 激酶 - 蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 和 p21 活化激酶 - PP2A

组成的激酶-磷酸酶信号传导分子的鉴定 (Identification of Kinase-phosphatase Signaling Modules Composed of p70S6Kinase-protein Phosphatase 2A (PP2A) and p21-activated kinase-PP2A)”, 生物化学杂志 (J. Biol. Chem.) 274(2):687-92; 安德拉比 S. (Andrabi, S.)、O. V. 吉尔拉普 (O. V. Gjoerup) 等人, 2007, “蛋白磷酸酶 2A 通过 Akt 以背景相关方式调节生命和死亡决定 (Protein Phosphatase 2A Regulates Life and Death Decisions via Akt in a Context-dependent Manner)”, 美国国家科学院院刊 104(48):19011-6; 和哈伍德 F. C. (Harwood, F. C.)、L. 舒 (L. Shu) 等人, 2008, “mTORC1 信号传导可通过蛋白磷酸酶 2A 调节 p44/42 促细胞分裂原活化的蛋白激酶的生长因子活化 (mTORC1 Signaling Can Regulate Growth Factor Activation of p44/42 Mitogen-activated Protein Kinases through Protein Phosphatase 2A)”, 生物化学杂志 283(5):2575-85。

[0568] 因此, 校正 IRS-1/2 信号传导失衡和下游激酶异常活化的靶向治疗可构成改善胰岛素抵抗的新颖方法。已报导 PP2A 和 PP1 活性的下调可导致胰腺 β 细胞中的胰岛素分泌减少, 从而表明, 正常 PP2A 活性在 Ca^{2+} 介导的胰岛素颗粒胞吐作用中非常重要。(参见佐藤 Y. (Sato, Y.)、P. 马里奥特 (P. Mariot) 等人, 1998, “黑软海绵素 A 诱导的胰腺 β 细胞中 Ca^{2+} 信号幅值和效能的降低以及对胰岛素分泌的抑制 (Okadaic Acid-induced Decrease in the Magnitude and Efficacy of the Ca^{2+} Signal in Pancreatic beta Cells and Inhibition of Insulin Secretion)”, 英国药理学杂志 (Br. J. Pharmacol.) 123(1):97-105)。总之, 这些发现表明, PP2A 活性的增量上调可对改善胰岛素抵抗和促进胰岛素分泌产生有益影响, 并且可为治疗干预糖尿病相关代谢病症的创新方法。

[0569] 根据一方面, 本发明提供治疗、改善、控制或预防糖尿病、胰岛素抵抗、和代谢综合症的方法, 其包含向有需要的个体投与剂型包含至少约 0.1 mg 的本文所述与脂肪酸偶联的式 I 化合物和其各种类别和亚类 (例如 Ib), 其中 W 介于约 15 个至约 22 个碳之间, 所述化合物对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 50 μM 。

[0570] 根据一方面, 本发明提供治疗、改善、控制或预防糖尿病、胰岛素抵抗、和代谢综合症的方法, 其包含向有需要的个体投与剂型包含至少约 8 mg 的本文所述与脂肪酸偶联的式 I 化合物和其各种类别和亚类 (例如 Ib), 其中 W 介于约 15 个至约 22 个碳之间, 所述化合物对甲酯酶的抑制活性 (IC_{50}) 低于约 50 μM 。

[0571] VI. 组合疗法和筛选

[0572] 本发明涵盖所提供化合物可与其它药物或治疗剂组合使用。

[0573] 在一些实施例中, 将本文所述化合物与一种或多种意欲治疗相同病况或疾病的其它药剂组合投与。本文所用通常投与以治疗特定疾病或病况的其它治疗剂称为“适合于所治疗疾病或病况”。

[0574] 本发明提供包含以下步骤的方法: 提供多种式 I 化合物, 评估所述多种化合物中至少一种对 PP2A 活性的影响和 / 或确定至少一种化合物调节 PP2A 活性。

[0575] 尽管已具体参考所述优选实施例详细描述了本发明, 但其它实施例可获得相同结果。所属领域技术人员可了解对本发明的改变和修改, 并且本发明意欲涵盖所有所述修改和等效形式。上文和 / 或附录中所引用的所有参考文献、申请案、专利、和公开案和相应申请案的全部揭示内容都以引用方式并入本文中。

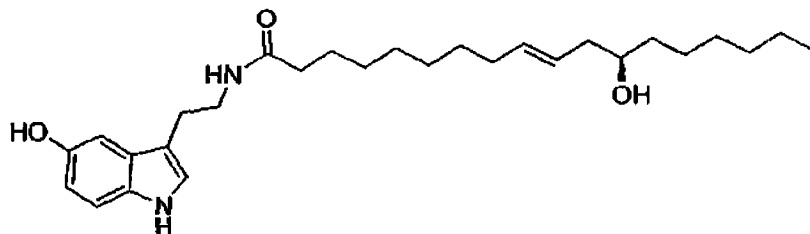
[0576] 实例

[0577] 式 I 化合物可通过所属领域技术人员已知的方法以合成方式制得。阐释这些方法的实例详述于下文中。

[0578] 实例 1

[0579] (9Z,12S)-12-羟基-N-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]十八-9-烯酰胺(化合物 I-28)的合成

[0580]



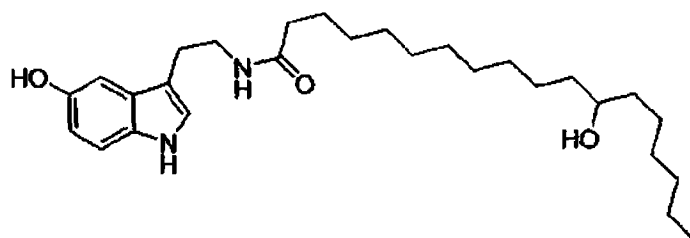
[0581] 将(R)-12-羟基-顺-9-十八烯酸(60mg,0.2毫摩尔)和HATU(六氟磷酸O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓盐,70mg,0.2毫摩尔)溶于吡啶(1mL)中。将反应混合物在室温下搅拌30分钟。将盐酸5-羟色胺(42mg,0.2毫摩尔)添加至反应混合物中。将反应混合物在室温下搅拌过夜,添加水(10mL),沉淀出水不溶性产物并且通过过滤进行分离以得到期望产物。使用额外水(3X 10mL)洗涤期望产物并且在真空下干燥。获得45mg期望化合物,产率为50%。¹H-NMR(500MHz, CD₃OD) δ 0.91(t, J = 6.9Hz, 3H), 1.31-1.61(m, 20H), 2.07(dt, J = 6.0, 13.0Hz, 2H), 2.15-2.20(m, 4H), 2.88(t, J = 7.3Hz, 2H), 3.45(t, J = 7.3Hz, 2H), 3.55(m, 1H), 5.44(m, 2H), 6.67(dd, J = 8.8, 2.0Hz, 1H), 6.95(d, J = 2.0Hz, 1H), 7.01(s, 1H), 7.16(d, J = 8.8Hz, 1H); ¹³C-NMR(125MHz, CD₃OD) δ 13.7, 22.9, 25.3, 25.6, 26.0, 27.6, 29.5, 29.6, 29.8, 29.9, 32.3, 34.1, 35.5, 36.4, 36.9, 40.4, 71.8, 102.7, 111.5, 111.6, 111.8, 123.4, 126.1, 131.8, 132.1, 132.3, 150.3, 175.5; ES-MS: 化学式: C₂₈H₄₅N₂O₃的计算质量为 457.7(MH⁺)。

[0582] 实验值: m/z 457.4。

[0583] 实例 2

[0584] 12-羟基-N-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]十八酰胺(化合物 I-29)的合成

[0585]

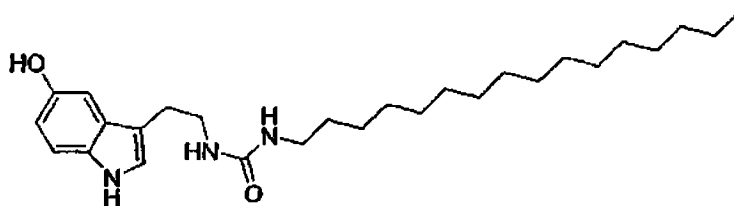


[0586] 将12-羟基-十八烯酸(60mg,0.2毫摩尔)和HATU(六氟磷酸O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓盐,70mg,0.2毫摩尔)溶于吡啶(1mL)中。将反应混合物在室温下搅拌30min。将盐酸5-羟色胺(42mg,0.2毫摩尔)添加至所述反应混合物中并且将所述反应混合物在室温下搅拌过夜,添加水(10mL),沉淀出水不溶性产物并且通过过滤进行分离以得到期望产物。使用水(3X 10mL)洗涤期望产物并且在真空下干燥。获得46mg产物,产率为50%。¹H-NMR(500MHz, CD₃OD) δ 0.93(t, J = 6.6Hz, 3H), 1.30-1.59(m,

28H), 2.17(t, J = 7.6Hz, 2H), 2.88(t, J = 7.3Hz, 2H), 3.33(t, J = 7.3Hz, 2H), 3.47(m, 1H), 6.67(dd, J = 8.9, 2.2Hz, 1H), 6.95(d, J = 2.0Hz, 1H), 7.02(s, 1H), 7.16(d, J = 8.9Hz, 1H); ^{13}C -NMR(125MHz, CD_3OD) δ 14.5, 23.8, 24.2, 26.4, 26.8, 26.9, 27.1, 30.3, 30.5, 30.6, 30.7, 30.8, 33.1, 37.2, 38.4, 41.3, 72.5, 103.5, 112.3, 112.4, 112.7, 124.2, 129.5, 133.1, 151.1, 176.4; ES-MS: 化学式: $\text{C}_{28}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_3$ 的计算质量为 459.7 (M+Na)。实验值: m/z 481.4。

[0587] 实例 3

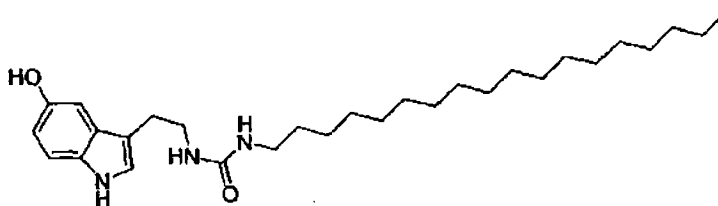
[0588] 3-十六烷基-1-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]脲(化合物 I-30)的合成
[0589]



[0590] 将盐酸 5-羟色胺(42mg, 0.2 毫摩尔)和异氰酸十六烷基酯(54mg, 0.2 毫摩尔)溶于吡啶(1mL)中。将反应混合物在室温下搅拌过夜, 添加水(10mL), 沉淀出水不溶性脲产物并且通过过滤进行分离以得到期望产物。使用水(3x10mL)洗涤期望产物并且在真空下干燥以得到白色固体形式的期望化合物(60mg, 产率为 67%)。 ^1H NMR(500MHz, MeOH-d_4) δ 0.92(t, J = 6.9Hz, 3H), 1.30(bs, 26H), 1.46(m, 2H), 2.86(t, J = 7.25Hz, 2H), 3.08(t, J = 7.25Hz, 2H), 3.63(t, J = 7.25Hz, 2H), 6.66(dd, J = 2.2, 8.5, 1H), 6.94(d, J = 2.2Hz, 1H), 7.02(s, 1H), 7.16(d, J = 8.5Hz, 1H); ^{13}C NMR(125MHz, MeOH-d_4) δ 14.6, 23.8, 27.3, 27.9, 30.5, 30.8, 31.2, 33.1, 41.0, 41.7, 103.5, 112.3, 112.5, 112.6, 124.4, 129.4, 133.1, 151.1, 161.4; ES-MS: 化学式: $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{N}_3\text{O}_2$ 的计算质量为 444.7 (MH^+)。实验值: m/z 444.4。

[0591] 实例 4

[0592] 1-[2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基]-3-十八烷基脲(化合物 I-31)的合成
[0593]



[0594] 将盐酸 5-羟色胺(42mg, 0.2 毫摩尔)和异氰酸十八烷基酯(60mg, 0.2 毫摩尔)溶于吡啶(1mL)中。将反应混合物在室温下搅拌过夜, 添加水(10mL), 沉淀出水不溶性脲产物并且通过过滤进行分离以得到期望产物。使用水(3X 10mL)洗涤期望产物并且在真空下干燥以得到白色固体形式的期望化合物(50mg, 产率为 53%)。 ^1H NMR(500MHz, MeOH-d_4) δ 0.92(t, J = 6.9Hz, 3H), 1.30(bs, 26H), 1.46(m, 2H), 2.86(t, J = 7.25Hz, 2H), 3.09(t, J = 7.25Hz, 2H), 3.43(t, J = 7.25Hz, 2H), 6.67(dd, J = 2.2, 8.5, 1H), 6.94(d, J = 2.2Hz, 1H), 7.02(s, 1H), 7.16(d, J = 8.5Hz, 1H); ^{13}C NMR(125MHz, MeOH-d_4) δ 14.5, 23.8, 27.2, 28.0, 30.5, 30.8, 31.2, 33.1, 41.1, 41.9, 103.5, 112.3, 112.5, 112.6, 124.4, 129.5, 133.1, 151.1, 161.3; ES-MS: 化学式: $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_2$ 的计算质量为 472.7 (MH^+)。实验值: m/z 472.5。

[0595] 实例 5

[0596] 修饰游离 -OH 基团（在色酰胺化合物上）的一般程序

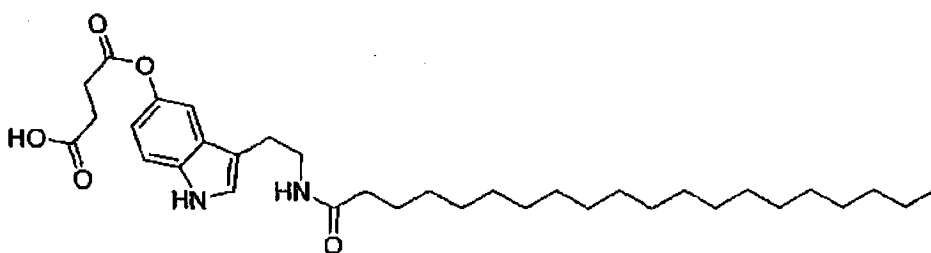
[0597] 将具有游离羟基的色酰胺起始材料（例如化合物 I-63）溶于吡啶中并且添加稍过量摩尔的酰化试剂，并且将反应混合物在室温下搅拌约 1 小时至约 6 小时。通过 HPLC 监测反应的完成情况，并且在反应完成后，立即使用 NH_4Cl 稀释反应混合物并且使用二氯甲烷（DCM）萃取。使用 NH_4Cl （饱和水溶液，洗涤 3 次）洗涤 DCM 层，通过硫酸镁干燥，浓缩并且在真空下干燥以得到期望化合物。

[0598] 在下文实例中阐述实例 5 中一般方法的实例性合成。

[0599] 实例 6

[0600] 4-(3-(2-二十酰胺基乙基)-1H-吲哚-5-基氧基)-4-氧代丁酸（化合物 I-32）的合成

[0601]

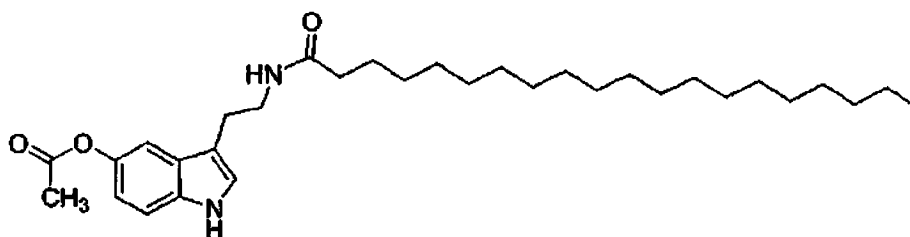


[0602] 将化合物 I-63 (0.1 mmol, 0.047 g) 溶于吡啶 (2 mL) 中，添加琥珀酸酐 (0.11 mmol) 并且在室温（介于约 20°C 与约 28°C 之间）下搅拌反应混合物。反应完成（通过 HPLC 监测）后，使用 NH_4Cl （饱和水溶液，5 mL）稀释反应混合物并且使用 DCM (5 mL) 萃取。使用 NH_4Cl （饱和水溶液，5 mL x 3）进一步洗涤 DCM 层，通过硫酸镁干燥，浓缩并且在真空下干燥以得到期望化合物 (43 mg, 产率为 75%)。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{MeOH}-d_4$) : δ 0.88 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.27 (bs, 26H), 1.49–1.56 (m, 2H), 2.12 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.63 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.83 (t, $J = 7.25$ Hz, 2H), 3.48 (t, $J = 7.25$ Hz, 2H), 6.78 (d, $J = 8.5$, 1H), 7.12 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{MeOH}-d_4$) : δ 14.8, 23.8, 25.3, 26.9, 30.5, 30.9, 30.0, 30.0–30.1 (6C), 30.2 (7C), 31.2, 33.1, 41.7, 112.3, 113.8, 114.6, 117.1, 124.8, 129.4, 133.1, 147.2, 173.4, 178.1; ES-MS : 化学式: $\text{C}_{34}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_5$ 的计算质量为 571.4 (MH^+)。实验值: m/z 571.5。

[0603] 实例 7

[0604] 乙酸 3-(2-二十酰胺基乙基)-1H-吲哚-5-基酯（化合物 I-33）的合成

[0605]



[0606] 将化合物 I-63 (0.1 mmol, 0.047 g) 溶于吡啶 (2 mL) 中并且添加 0.11 mmol 乙酸酐，并且在室温下搅拌反应混合物。反应完成（通过 HPLC 监测）后，使用 NH_4Cl （饱和水溶液，5 mL）稀释反应混合物并且使用 DCM (5 mL) 萃取。使用 NH_4Cl （饱和水溶液，5 mL x 3）

洗涤 DCM 层,通过硫酸镁干燥,浓缩并且在真空下干燥以得到期望化合物 (42mg,产率为 81 %)。 ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) : δ 0.88(t, $J = 6.9\text{Hz}$, 3H), 1.25(bs, 26H), 1.53-1.57(m, 2H), 2.02(t, $J = 7.1\text{Hz}$, 2H), 2.31(s, 3H), 2.83(t, $J = 7.25\text{Hz}$, 2H), 3.48(t, $J = 7.25\text{Hz}$, 2H), 5.49(bs, 1H), 6.88(d, $J = 8.5$, 1H), 7.07(s, 1H), 7.28(s, 1H), 7.32(d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 8.16(bs, 1H); ^{13}C NMR(125MHz, CDCl_3) : δ 14.2, 21.2, 22.7, 25.3, 25.8, 29.3-29.7(13C), 30.4, 31.2, 36.9, 39.5, 110.9, 111.7, 113.4, 116.3, 123.4, 127.7, 134.2, 144.1, 170.6, 173.2; ES-MS : 化学式 : $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_3$ 的计算质量为 513.4(MH^+)。实验值 : m/z 513.5。

[0607] 实例 8

[0608] 制备实例 9 至实例 13 中的化合物的一般程序

[0609] 将花生酸 (0.11mmol, 0.034g) 与存于 DMF(2mL, 无水) 中的 HATU(0.11mmol, 0.042g) 和三乙胺 (0.5mL, 共溶剂) 混合。将反应混合物搅拌 30 分钟, 并且添加经适当取代的化合物 (0.1mmol)。将反应混合物在室温下搅拌约 4hr 至约 16hr (通过 HPLC 监测)。反应完成后, 添加 NH_4Cl (10mL, 饱和水溶液) 并且通过过滤来收集固体, 使用水 (10mL x 2)、 NaHCO_3 (10mL x 2, 饱和水溶液) 洗涤并且最后通过乙腈 (2mL) 进行洗涤。在真空下干燥期望产物。

[0610] 在实例 9 至实例 13 中阐述实例 8 中一般方法的实例性合成。

[0611] 实例 9

[0612] N-[2-(5-甲氧基-1H-吲哚-3-基)乙基]二十酰胺 (化合物 I-34) 的合成

[0613]

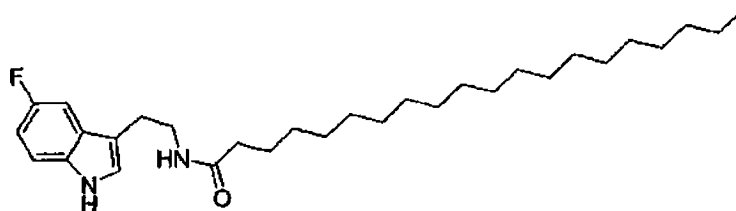


[0614] 实质上如上文在实例 8 中所述来制备期望化合物, 只是使用 5-甲氧基-色胺作为起始材料。ES-MS : 化学式 : $\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_2$ 的计算质量为 484.8(M^+)。

[0615] 实例 10

[0616] N-[2-(5-氟-1H-吲哚-3-基)乙基]二十酰胺 (化合物 I-35) 的合成

[0617]



[0618] 实质上如上文在实例 8 中所述来制备期望化合物, 只是使用 5-氟-色胺作为起始材料。 ^1H NMR(500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 0.82(t, 3H, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.15-1.26(m, 16H), 1.51(m, 2H), 2.09(t, 2H, $J = 7.6\text{Hz}$), 2.87(t, 2H, $J = 7.6\text{Hz}$), 3.41(q, 2H, $J = 7.6\text{Hz}$), 6.74(t, 1H, $J = 8.7\text{Hz}$), 7.14(s, 1H), 7.22(d, 1H, $J = 8.6\text{Hz}$), 7.28(dd, 1H, $J = 2.2\text{Hz}$, $J = 8.6\text{Hz}$); ES-MS : 化学式 $\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{FN}_2\text{O}$ 的计算质量为 473.7(MH^+)。实验值 : ($\text{M}+\text{H}$) m/z 473.4。

[0619] 实例 11

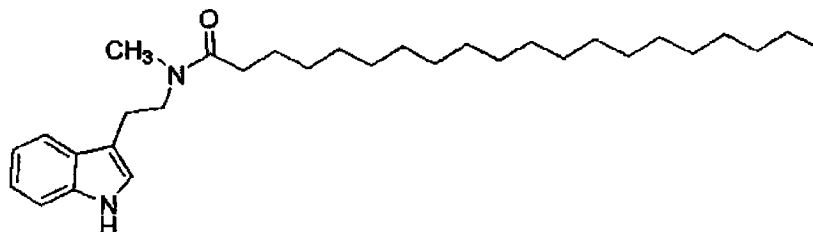
[0620] N-[2-(5-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基]二十酰胺(化合物 I-36)的合成
[0621]



[0622] 实质上如上文在实例 8 中所述来制备期望化合物,只是使用 5-甲基-色胺作为起始材料。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆):0.89(t, 3H, J = 7.1Hz), 1.16-1.29(m, 16H), 1.47(m, 2H), 2.03(t, 2H, J = 7.5Hz), 2.34(s, 3H), 2.67(t, 2H, J = 7.5Hz), 3.61(t, 2H, J = 6.7Hz), 6.87(d, 1H, J = 8.7Hz), 7.02(s, 1H), 7.13(d, 1H, J = 6.7Hz), 7.38(s, 1H); ES-MS: 化学式 C₃₁H₅₂N₂O 的计算质量为 469.8(MH⁺)。实验值:(M+H)m/z 469.5。

[0623] 实例 12

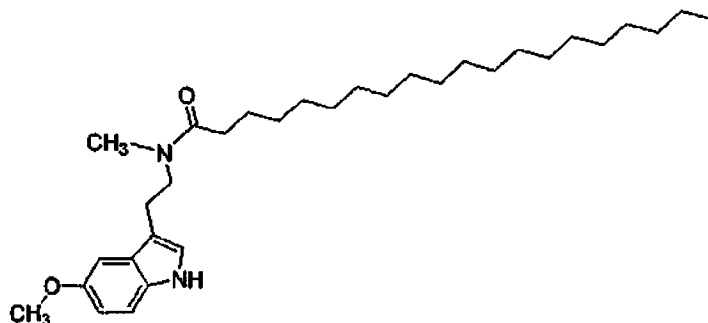
[0624] N-[2-(1H-吡啶-3-基)乙基]-N-甲基二十酰胺(化合物 I-38)的合成
[0625]



[0626] 实质上如上文在实例 8 中所述来制备期望化合物,只是使用 N-ω-甲基-色胺作为起始材料。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆):0.84(t, 3H, J = 6.8Hz), 1.16-1.33(m, 16H), 1.52(m, 2H), 2.62(t, 2H, J = 7.6Hz), 3.59-3.62(m, 2H), 7.21-7.26(m, 1H), 7.53-7.71(m, 2H), 7.84(d, 1H, J = 7.2Hz), 8.02(d, 1H, J = 7.2Hz); ES-MS: 化学式 C₃₁H₅₂N₂O 的计算质量为 469.8(MH⁺)。实验值:469.5(M+H)m/z。

[0627] 实例 13

[0628] N-甲基-N-[2-(5-甲氧基-1H-吡啶-3-基)乙基]二十酰胺(化合物 I-37)的合成
[0629]



[0630] 实质上如上文在实例 8 中所述来制备期望化合物,只是使用 5-甲氧基-2-N-甲基-色胺作为起始材料。ES-MS: 化学式 C₃₂H₅₄N₂O₂ 的计算质量为 498.78(M⁺)。

[0631] 实例 14

[0632] 2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)-N-十八烷基乙酰胺(化合物 I-39)的制备

[0633]

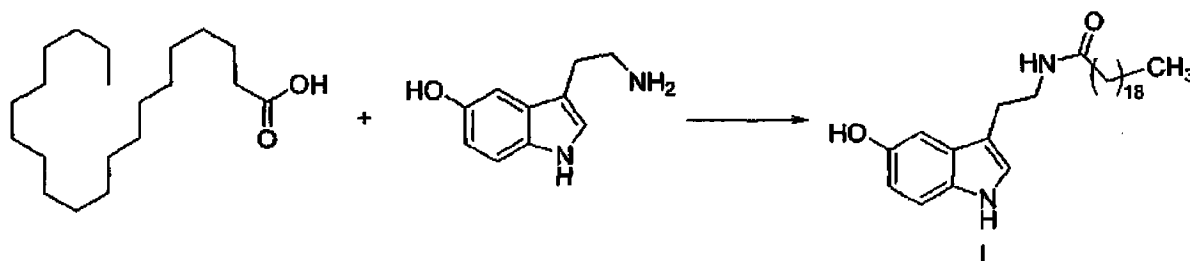


[0634] 将市售 5-羟基-1H-吲哚基-3-乙酸 (0.11mmol, 0.021g) 与存于 DMF (2mL, 无水) 中的 HATU (0.11mmol, 0.042g) 和三乙胺 (0.5mL, 共溶剂) 混合。将反应混合物搅拌 30 分钟, 并且添加十八胺 (0.1mmol, 0.026g)。将反应混合物在室温下搅拌过夜 (通过 HPLC 监测)。反应完成后, 添加 NH_4Cl (10mL, 饱和水溶液) 并且通过过滤来收集固体, 使用水 (10mL x 2)、 NaHCO_3 (10mL x 2, 饱和水溶液) 洗涤, 并且最后通过乙腈 (2mL) 进行洗涤。在真空下干燥产物以得到灰白色固体形式的期望化合物 (74%, 0.033g)。 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): 0.84 (t, 3H, $J = 6.9\text{Hz}$), 1.18-1.29 (m, 12H), 1.38 (m, 2H), 3.01 (s, 2H), 6.54 (d, 1H, $J = 7.1\text{Hz}$), 6.81 (s, 1H), 7.00 (d, 1H, $J = 2.2\text{Hz}$), 7.09 (d, 1H, $J = 7.1\text{Hz}$), 7.82 (t, 1H, $J = 5.7\text{Hz}$), 8.52 (s, 1H), 10.49 (s, 1H)。 $^{13}\text{CNMR}$ (125MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): d13.2, 23.2, 25.8, 29.3-29.7 (11C), 30.4, 31.2, 36.9, 102.6, 108.0, 111.2, 111.5, 123.8, 127.9, 130.6, 150.1, 170.5; ES-MS: 化学式 $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_2$ 的计算质量为 443.7 (MH⁺)。实验值: (M+Na)⁺ m/z 465.3。

[0635] 实例 15

[0636] N-(2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基)二十酰胺 (化合物 I-63) 的制备

[0637]



[0638] 在适宜溶剂 (例如, DMF、THF、二噁烷、DCM、DCE、甘醇二甲醚、二甘醇二甲醚) 中混合花生酸 (9.38g, 30mmol) 与适宜量 (30-45mmol) 偶合剂、和 (若需要) 额外活化剂 (10-45mmol) (例如, HOBt、杂环碱、杂环酸) 和 / 或有机碱 (10-60mmol) (例如, 三乙胺、DIEA、吡啶、DABCO、含非亲核性碱性氮的分子)。将反应混合物搅拌 0.5-6hr, 然后添加 5-羟基胺 (其盐、游离碱或经适当保护的形式) (纯净物或与溶剂和 / 或有机碱预混合)。将反应混合物在室温下搅拌约 4hr 至约 16hr (通过 HPLC 监测)。反应完成后, 去除过量的有机溶剂并且使用酸水溶液 (0.1-3N HCl 、 NH_4Cl (饱和水溶液)、0.1-1N H_2SO_4 等) 处理残余油状物。通过过滤来收集无定形固体 N-(2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基)丙酰胺, 使用水 (4x 250mL) 和乙腈 (100mL) 洗涤。在真空下干燥产物并且自热有机溶剂 (乙醇、甲醇、异丙醇、乙腈、EtOAc、THF 等) 进行重结晶以得到 12.43g (88%) 灰白色无定形固体 N-(2-(5-羟基-1H-吲哚-3-基)乙基)丙酰胺。

[0639] 实例 16

[0640] N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)二十酰胺(化合物 I-63)的替代性制备

[0641] 在适宜量有机碱(30-60mmol)(例如,三乙胺、DIEA、吡啶、DABCO、含非亲核性碱性氮的分子)存在下,在适宜溶剂(例如,DMF、THF、二噁烷、DCM、DCE、甘醇二甲醚、二甘醇二甲醚)中混合(逐步或一起)活化花生酸与5-羟基胺(呈盐、游离碱或经适当保护的形式)。将反应混合物在室温至40℃下搅拌约4小时至约24小时(通过HPLC监测)。反应完成后,去除过量的有机溶剂并且使用酸水溶液(0.1-3N HCl、NH₄Cl(饱和水溶液)、0.1-1N H₂SO₄等)处理残余油状物。通过过滤来收集无定形固体N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)丙酰胺,使用水(4x 250mL)和乙腈(100mL)洗涤。在真空下干燥产物并且自热有机溶剂(乙醇、甲醇、异丙醇、乙腈、EtOAc、THF等)进行重结晶以得到N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)丙酰胺。

[0642] 实例 17

[0643] N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)二十酰胺(化合物 I-63)的替代性制备

[0644] 实质上如实例 15 中所述来实施此制备,只是反应是在朔滕-鲍曼条件(使用两相溶剂系统,由水和有机溶剂组成。水相内的碱会中和反应中产生的酸,而起始材料和产物保留于有机相中)在适宜量无机碱水溶液(NaOH、Na₂CO₃、NaHCO₃、KOH、K₂CO₃、KHCO₃、Na₃PO₄、K₃PO₄)和适宜水不混溶性有机溶剂存在下进行。

[0645] 实例 18

[0646] 制备N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)二十酰胺(化合物 I-63)中的反应条件的比较

[0647] 实质上如上所述来合成N-(2-(5-羟基-1H-吡啶-3-基)乙基)丙酰胺,只是使用不同的碱、偶合剂、和/或溶剂。图2中所示的表格显示不同测试组合和所获得的最终产率和纯度。

[0648] 参照图2可以看到,包括DCM、DMF、THF、和其组合的溶剂各自得到至少65%的产率、和至少50%的纯度。

[0649] 使用各种不同溶剂来获得高产率;包括DMF作为溶剂(不论以单独或组合形式)通常得到尤其高的产率,尤其在使用HATU作为偶合剂时和/或在使用DIEA作为碱时。

[0650] 使用THF或DMF、或包括这些中一者的溶剂组合来获得较高纯度(例如,80%或更高)。在使用DMF(不论以单独或组合形式)时,可获得尤其高的纯度(>95%)。

[0651] 实例 19

[0652] 实例 1-18 中所用反应条件的汇总

[0653] 图1展示对制备如实例1-14中所述式I化合物所用的不同反应条件进行汇总的表格。图1显示使用DCM和/或吡啶可获得50%至81%的较高产率。

[0654] 考虑图1、尤其参照图2(对应于实例15-17)可尤其显示,使用THF和DMF作为溶剂且使用TEA或DIEA作为碱所得的产率和纯度显著高于使用其它溶剂和/或碱的所述实验。

[0655] 生物方案

[0656] 下文阐述测量所提供化合物的生物活性、尤其是其在以下中活性的分析:(a)调节PP2A对于非蛋白质底物(例如,pNPP)的磷酸酶活性;(b)调节PP2A对于蛋白质底物(例如,磷酸化酶a)的磷酸酶活性;(c)调节羧基甲基转移酶活性(即,在本文中也可称作蛋白质

磷酸酶 2A 特异性甲基转移酶 (MT 酶) 的羧基甲基化活性, 其中所述活性会引起 PP2A 甲基化); 和 / 或 (d) 调节羧基甲基酯酶活性 (即, 在本文中也称作蛋白质磷酸酶特异性蛋白质甲基酯酶 (ME 酶) 的羧基脱甲基化活性, 其中所述活性会引起 PP2A 脱甲基化)。数据是以 IC_{50} 值形式表示, 其中所述 IC_{50} 值是化合物抑制生物或生化功能的有效性量度。此定量量度指示需要多少特定物质来抑制一半给定生物过程 (或过程组份, 例如酶), 即, IC_{50} 表示抑制 50% 时所需的物质浓度。所提供化合物的实例性结果呈现于下表 2 中。

[0657] 实例 20

[0658] 使用 pNPP 作为底物的磷酸酶活性

[0659] 本实例显示, 本发明化合物可调节未甲基化形式的 PP2A 对于非蛋白质底物 (例如 pNPP) 的磷酸酶活性。将 PP2A (10–200nM) 和 pNPP (5–10mM, 西格马公司 (Sigma)) 混合至 50 μ L 所需缓冲液中的 96 孔板 (飞世尔科技公司 (Fisher Scientific Inc.)) 中。在室温下实施反应, 并且通过添加等体积的 0.1M EDTA 来完全停止反应。通过使用威玛 (VMax)® 微板读数器 (分子仪器公司 (Molecular Devices)) 在 405nm 下吸收反应混合物来定量对硝基苯酚 (pNPP) 的产生。实例性结果示于下表 2 中。

[0660] 实例 21

[0661] 使用磷酸化酶作为底物的磷酸酶活性

[0662] 本实例显示, 本发明化合物可调节未甲基化 PP2A 对于蛋白质底物 (例如磷酸化酶 a) 的磷酸酶活性。 32 P 标记的磷酸化酶 a 是通过将磷酸化酶 b (西格马公司)、磷酸化酶 b 激酶 (西格马公司) 和 32 P-ATP (安玛西亚公司 (Amersham)) 在 30°C 下培育 1 小时来制得。反应后, 通过 50% $(NH_4)_2SO_4$ (最终浓度) 使蛋白质沉淀两次, 并且通过离心进行收集。在 4°C 下将沉淀物再溶于含有 50mM Tris-HCl (pH6.9) 和 1mM DTT 的缓冲液中并透析 (2x 2L) 过夜。磷酸化酶 a (磷酸磷酸化酶 b) 在透析期间发生结晶。在 4°C 下以 14,000r.p.m 将透析液离心 30 分钟, 去除上清液并且纯化。将 32 P 标记的磷酸化酶 a 再溶于 +50% 甘油中并且在 -20°C 下存储。

[0663] 为测量 PP2A 的磷酸酶活性, 将 PP2A (5–20nM) 与磷酸化酶 a (5–10 μ M) 在 37°C 下一同培育。向反应液中添加 10% TCA (最终浓度) 以使蛋白质沉淀。将含有游离 32 P-磷酸根基团的上清液添加至闪烁计数溶液 (伊柯斯因 (Ecoscint), 国家诊断公司 (NationalDiagnostics)), 并且通过闪烁计数器 (LS 6000SE, 贝克曼公司 (Beckman)) 进行计数。实例性结果示于下表 2 中。

[0664] 实例 22

[0665] 使用 [3 H]-SAM 和纯化蛋白质测量 PP2A 脱甲基化

[0666] 本实例显示, 本发明化合物可调节甲基酯酶活性 (即, 蛋白质磷酸酶特异性蛋白质甲基酯酶 (ME) 的羧基脱甲基化活性), 其中所述活性会引起 PP2A 脱甲基化。通过将 PP2A、His 标记 MT 酶和 [3 H]-SAM 在室温下一同培育 1 小时以达到最大甲基化 (> 90%) 来制备 PP2A。将反应混合物装载至使用含有 50mM MOPS 和 1mM DTT (pH 7.2) 的缓冲液 (缓冲液 A) 预平衡的迷你 Q 源管柱 (mini SourceQ column) (1mL) 中。使用 10mL 含有 75mM NaCl 的缓冲液 A 自管柱洗出 MT 酶和游离 SAM。使用 1.6mL 含有 350mM NaCl 的缓冲液 A 来洗脱 PP2A (甲基化和未甲基化 PP2A)。收集流份 (各 0.2mL) 并且使用闪烁计数器 (LS 6000SE, 贝克曼公司) 测量每一流份中的放射性。具有最高放射性的流份含有纯化甲基化 PP2A, 汇

集成 0.6mL-0.8mL 的总体积。将纯化甲基化 PP2A (50nM-100nM) 与 ME 酶 (5nM-20nM) 在室温下于 20 μ l-50 μ l 反应液中一起培育 30 分钟。通过添加 TCA (2 μ l-6 μ l) 以使最终浓度为 10% 来终止反应。使用闪烁计数器 (LS 6000SE, 贝克曼公司) 对上清液中释放的 [3 H]-甲醇进行计数。实例性结果示于下表 2 中。

[0667] 实例 23

[0668] 在 96 孔板模式中测量 PP2A 甲基化

[0669] 本实例显示, 本发明化合物可调节甲基转移酶活性 [即, 蛋白质磷酸酶 2A 特异性甲基转移酶 (MT 酶) 的羧基甲基化活性], 其中所述活性可引起 PP2A 甲基化。在 37°C 下将纯化 PP2A、MT 酶和 [3 H]-SAM 在反应缓冲液中培育。在反应结束时, 将混合物添加至 96 孔过滤板 (姆替斯恩 (Multiscreen)TM, 密理博公司 (Millipore)) 的膜上。然后使用 70% 乙醇 (50 μ l/ 孔) 将膜预润湿, 并且随后使用水 (2x 200 μ l/ 孔) 洗涤。终止每一孔中的反应, 并且通过添加 25% 冰冷 TCA 来使蛋白质 (5 μ l-20 μ l) 沉淀。将板在冰上保持 30 分钟以确保蛋白质完成沉淀。然后通过使用 5% 冷 TCA (50 μ l/ 孔) 和 70% 冷乙醇 (2x100 μ l/ 孔) 进行洗涤来去除过量的游离 SAM。风干膜, 通过每孔具有 25 μ l 米克森特 (Microsinct)TM 20 (铂金埃尔默公司 (PerkinElmer)) 的拓普康 (TopCount)^{NXT} 闪烁计数器 (帕卡德公司 (Packard)) 对每一孔中的放射性进行计数。实例性结果示于下表 2 中。

[0670] 实例 24

[0671] 本实例显示本发明某些化合物的实例性活体外 PP2A 活性数据。已测试本文所述式化合物在抑蛋白质磷酸酶特异性蛋白质甲基酯酶的羧基脱甲基化活性和 / 或抑制甲基转移酶、和 PP2A 中的活性。数据是以 IC₅₀ 值形式表示, 其中所述 IC₅₀ 值是化合物抑制生物或生化功能的有效性量度。此定量量度显示需要多少特定物质来抑制一半给定生物过程 (或过程组份, 例如酶)。换句话说, IC₅₀ 表示抑制 50% 时所需的物质浓度。

[0672] 本发明某些化合物的实例性活体外 PP2A 活性数据示于表 2 中, 并且是使用上述方案产生。具体来说, 表 2 中标记 “pNPP” 的列是指使用来自实例 19 的方案获得的数据。标记 “磷酸化酶 a” 的列是指使用来自实例 20 的方案获得的数据。标记 “ME” 的列是指使用来自实例 21 的方案获得的数据。标记 “MT” 的列是指使用来自实例 22 的方案获得的数据。

[0673] 通过业内已知的方法来纯化包括 PP2A A 亚单位、PP2A C 亚单位、PP2A AC 二聚体、PPME、和 PPMT 的蛋白质, 所述方法包括阐述于美国专利申请案第 2006/0171938 号, 邢 (Xing) 等人, 细胞 (Cell.) 2008, 133 (1) :154-63、邢等人, 细胞 2006, 127 (2) :341-53、晁 (Chao) 等人, 分子细胞 (Molecular Cell.) 2006, 23 (4) :535-46 中者。自任一市售源 (例如, 铂金埃尔默公司) 获得辅酶 [3 H]-SAM 或氘化 S-腺蛋氨酸。

[0674] 实例 24a

[0675] 使用 [3 H]-SAM 和纯化蛋白质测量 PP2A 甲基酯的周转率

[0676] 本实例显示, 本发明化合物可调节 MT 活性, 其中所述活性会引起 PP2A 甲基化和 / 或 ME 活性, 其中所述活性会引起 PP2A 脱甲基化、和 / 或 PP2A 的磷酸酶活性。将 PP2A (100nM)、MT 酶 (10-100nM)、ME 酶 (10-100nm) 和 [3 H]-SAM (0.5mM) (总反应体积为 25-50 μ l) 在 37°C 下培育 30min。通过 5% SDS 或乙酸 (最终浓度) 来停止反应。去除埃彭道夫管 (eppendorftube) (1.7ml) 的封盖, 因此可将所述管放置于闪烁瓶中。将瓶保持于温室中过夜。在此期间, 所产生的 [H]-甲醇自水溶液蒸发出并且溶于闪烁计数溶液中。通

过闪烁计数器 (LS 6000SE, 贝克曼公司) 来对放射性进行计数。

[0677] 表 2

化合物 编号	活性范围			
	活性范围 1 > 100 μ M			
	活性范围 2 为 10 μ M- 100 μ M			
	活性范围 3 < 10 μ M			
	pNPP (IC ₅₀)	磷酸化酶 a (IC ₅₀)	ME (IC ₅₀)	MT (IC ₅₀)
I-29	3	1	2	2
I-30	2	2	3	2
I-31	2	2	3	2
I-32	2	2	3	3
I-33	2	-	3	3
I-35	2	1	3	3
I-36	2	1	2	3
I-38	1	-	1	1
I-39	2	2	3	2
I-62	2	1	2	2
I-63	1	1	3	2
I-64	1	2	3	3
I-65	1	2	3	3
I-66	2	1	3	3
I-67	2	1	1	-
I-76	1	-	1	1
I-77	1	-	1	1
I-78	1	-	3	3
I-79	1	-	2	3
I-80	2	-	3	3

[0679] 参照上表 2 可以看到, 本发明某些化合物可在不存在 ME 和 MT 的情况下调节 PP2A 对于非蛋白质底物 (例如, pNPP) 的磷酸酶活性。在某些实施例中, 本发明化合物显示 IC₅₀ 值介于 10 μ M 与 300 μ M 之间。在某些实施例中, 本发明化合物显示 IC₅₀ 值介于 3 μ M 与 10 μ M 之间。在某些实施例中, 本发明化合物显示 IC₅₀ 值介于 10 μ M 与 100 μ M 之间。在某些实施例中, 本发明化合物显示 IC₅₀ 值介于 100 μ M 与 300 μ M 之间、和更高。介于 100 μ M 与 300 μ M 之间的 IC₅₀ 值表明, PP2A 对于非蛋白质底物的活性可与存在本文所述化合物、或

缺乏本文所述化合物时相当。即,所述化合物对于 PP2A 针对非蛋白质底物的活性并不具有直接材料效应 (direct material effect) (在不存在 ME 和 MT 的情况下)。直接材料效应可指 IC_{50} 低于 $100\ \mu\text{M}$ 的化合物。

[0680] 参照上表 2 可以看到,本发明某些化合物可在不存在 ME 和 MT 的情况下调节 PP2A 对于蛋白质底物 (例如,磷酸化酶 a) 的磷酸酶活性。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $10\ \mu\text{M}$ 与 $300\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $10\ \mu\text{M}$ 与 $100\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $100\ \mu\text{M}$ 与 $300\ \mu\text{M}$ 之间、和更高。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $100\ \mu\text{M}$ 与 $300\ \mu\text{M}$ 之间、和更高。介于 $100\ \mu\text{M}$ 与 $300\ \mu\text{M}$ 之间的 IC_{50} 值表明,PP2a 对于蛋白质底物的活性可与存在本文所述化合物、或缺乏本文所述化合物时相当。即,所述化合物对于 PP2A 针对蛋白质底物的活性并不具有直接材料效应 (在不存在 ME 和 MT 的情况下)。直接材料效应可指 IC_{50} 低于 $100\ \mu\text{M}$ 的化合物。

[0681] 参照上表 2 可以看到,本发明某些化合物可选择性调节蛋白质磷酸酶特异性蛋白质甲基酯酶 (ME 酶) 的羧基脱甲基化活性,由此用以调节 PP2A 脱甲基化。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $0.5\ \mu\text{M}$ 与 $300\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $0.5\ \mu\text{M}$ 与 $5\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $5\ \mu\text{M}$ 与 $10\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $10\ \mu\text{M}$ 与 $20\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $20\ \mu\text{M}$ 与 $50\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $50\ \mu\text{M}$ 与 $100\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $100\ \mu\text{M}$ 与 $300\ \mu\text{M}$ 之间、和更高。表 2 进一步表明,本发明某些化合物可调节甲基酯酶 (即,蛋白质磷酸酶特异性蛋白质 ME 酶的羧基脱甲基化活性)。因此,表 2 显示,显示 IC_{50} 值介于 $1\ \mu\text{M}$ 与 $10\ \mu\text{M}$ 之间的本发明某些化合物对于 ME 酶具有选择性。

[0682] 参照上表 2 可以看到,本发明某些化合物可选择性调节 ME 酶的甲基化活性,由此用以调节 PP2A 甲基化。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $0.5\ \mu\text{M}$ 与 $300\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $0.5\ \mu\text{M}$ 与 $10\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $10\ \mu\text{M}$ 与 $100\ \mu\text{M}$ 之间。在某些实施例中,本发明化合物显示 IC_{50} 值介于 $100\ \mu\text{M}$ 与 $300\ \mu\text{M}$ 之间、和更高。表 2 进一步表明,本发明某些化合物可调节甲基转移酶 (即,蛋白质磷酸酶 2A 特异性 ME 酶的羧基甲基化活性)。因此,表 2 显示,显示 IC_{50} 值介于 $0.5\ \mu\text{M}$ 与 $10\ \mu\text{M}$ 之间的本发明化合物对于 MT 酶具有选择性。

[0683] 在某些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 甲基化有所减少。在某些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 甲基化减少至少 40%、50%、75%、100%。在某些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 甲基化有所增加。在某些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 甲基化增加 1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、和 5 倍。

[0684] 在某些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 磷酸酶活性有所增加。在某些实施例中,在本文所述化合物存在下,磷酸酶活性增加 1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、和 5 倍。在某些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 磷酸酶活性有所降低。在某些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 磷酸酶活性降低至少 40%、50%、75%、100%。

[0685] 在一些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 磷酸酶活性较高。在一些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 磷酸酶活性增加至少 1.1 倍、1.2 倍、1.5 倍、2 倍、3 倍、

4 倍、5 倍。

[0686] 在一些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 磷酸酶活性较低。在一些实施例中,在本文所述化合物存在下,PP2A 磷酸酶活性降低至少 40%、50%、75%、100%。

[0687] 在一些实施例中,在本文所述化合物存在下,MT 活性较高。在一些实施例中,在本文所述化合物存在下,MT 活性增加至少 1.1 倍、1.2 倍、1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍。

[0688] 在一些实施例中,在本文所述化合物存在下,ME 活性较低。在一些实施例中,在本文所述化合物存在下,ME 活性降低至少 40%、50%、75%、100%。

[0689] 实例 25

[0690] 化合物 I-63 对 Ob/Ob 小鼠中非空腹葡萄糖含量的影响

[0691] 本实例显示,本发明化合物(例如化合物 I-63)可降低肥胖小鼠中的非空腹血糖含量。肥胖自发突变纯合的小鼠(Lep^{ob}通常称作 ob 或 ob/ob)会显示肥胖、摄食过度、高血糖症的糖尿病样综合症、葡糖耐受不良、血浆胰岛素升高、低生育力、伤口治愈不良和来自垂体和肾上腺的激素产生增加。其也具有代谢减退和低体温性。肥胖的特征在于脂细胞的数量和大小均有所增加。尽管摄食过度会造成肥胖,但即使在受制于足以维持瘦弱小鼠正常重量的饮食时,纯合子也会获得过量重量并且沉积过量脂肪。Lep^{ob}突变杂合的小鼠看起来类似野生型并且比较瘦弱。

[0692] 使用四十八(48)只 Lep^{ob}突变纯合的 B6.V-Lep^{ob}/J 小鼠(00632,杰克逊实验室(The Jackson Laboratory),JAX⁰小鼠)和三十六(36)只 Lep^{ob}突变杂合的对照 B6.V-Lep^{ob}/J 瘦弱小鼠来研究 SIG1012 对非空腹葡萄糖含量的影响。在小鼠耳朵上刻痕以用于鉴别,并且以 3 只小鼠/笼的密度存放于具有 HEPA 过滤空气的单独且通风良好的聚碳酸酯笼中。使用 Bed-o-cob 玉米穗轴垫层并且每两周更换一次笼。使用人工荧光照明将动物室完全照亮,控制成 12h 明/暗循环(上午 7 点至下午 7 点开灯)。动物室中的正常温度和相对湿度范围分别为 22±4℃和 50±15%。将动物室设定为每小时交换 15 次空气。过滤自来水,酸化至 pH 值为 2.8 至 3.2,并且随意提供实验室饲料(LabDiet)AIN-76A。

[0693] 适用后,根据小鼠的体重和基因型将其分为 A 组至 G 组:

[0694] A 瘦弱杂合型-B6.V-Lep^{ob}/J 瘦弱小鼠,喂养对照饮食(AIN-76A);

[0695] B 瘦弱杂合型-B6.V-Lep^{ob}/J 瘦弱小鼠,喂养“低”化合物 I-63(具有 0.001%的化合物 I-63 的 AIN-76A);

[0696] C 瘦弱杂合型-B6.V-Lep^{ob}/J 瘦弱小鼠,喂养“中等”化合物 I-63(具有 0.1%的化合物 I-63 的 AIN-76A);

[0697] D 肥胖纯合型-B6.V-Lep^{ob}/J 小鼠,喂养对照饮食(AIN-76A);

[0698] E 肥胖纯合型-B6.V-Lep^{ob}/J 小鼠,喂养“低”化合物 I-63(具有 0.001%化合物 I-63 的 AIN-76A);

[0699] F 肥胖纯合型-B6.V-Lep^{ob}/J 小鼠,喂养“中等”化合物 I-63(具有 0.1%化合物 I-63 的 AIN-76A);和

[0700] G 肥胖纯合型-B6.V-Lep^{ob}/J 小鼠,喂养罗格列酮饮食(具有 195mg/kg 罗格列酮的 AIN-76A)。罗格列酮是抗糖尿病药并且可降低血糖含量,由此用作阳性对照。

[0701] 使来自 A 组至 G 组的小鼠保持喂养各自饮食达 14 天,并且每周测量血糖含量。实例性结果绘示于图 3 中,其显示每周投与化合物 I-63 可使得纯合肥胖小鼠中的非空腹血糖

含量降低 26-30%，而抗糖尿病对照药物罗格列酮可使纯合肥胖小鼠中的非空腹葡萄糖含量降低 66%。据观察，化合物 I-63 对杂合瘦弱对照小鼠中的非空腹血糖含量没有影响。

[0702] 实例 26

[0703] 化合物 I-63 对野生型小鼠中葡萄糖代谢的影响

[0704] 本实例显示，长期投与本发明化合物（例如化合物 I-63）会显著改善葡萄糖耐受性。葡萄糖耐受性测试 (GTT) 可测量身体使葡萄糖代谢的能力。其当前用于诊断患有前驱糖尿病情况和糖尿病的患者。

[0705] 使二十 (20) 只瑞士韦氏 (Swiss-Webster) (野生型) 小鼠适应 2 周。在小鼠耳朵上刻痕以用于鉴别，并且以 6 只小鼠 / 笼的密度存放于具有 HEPA 过滤空气的单独且通风不良的聚碳酸酯笼中。使用 Bed-o-cob 玉米轴垫层并且每两周更换一次笼。使用人工荧光照明将动物室完全照亮，控制成 12h 明 / 暗循环（上午 7 点至下午 7 点开灯）。动物室中的正常温度和相对湿度范围分别为 $22 \pm 4^\circ\text{C}$ 和 $50 \pm 15\%$ 。将动物室设定为每小时交换 15 次空气。过滤自来水，酸化至 pH 值为 2.8 至 3.2。随意提供实验室饲料 D10001，并且每周一次去除剩余食物。

[0706] 适应后，根据饮食将小鼠分组。

[0707] 1. 对照饮食 (D10001)

[0708] 2. 化合物 I-63 (具有 0.1% I-63 的 D10001)

[0709] 将小鼠在饮食状态下维持 128 天。在测量葡萄糖前，使小鼠空腹 18 小时。称量小鼠并且经计算葡萄糖剂量为 2mg/kg 体重。预先制备浓度为 10mg/ml 的无菌葡萄糖溶液。一点通超灵便 (OneTouch UltraSmart) 电子葡萄糖测试仪在 0 时间点使用尾部静脉血来测量血糖含量。使用尾部剪断法来获取血液试样。在剪断前，使用氯乙烷喷涂尾端以进行局部麻醉，从而减小疼痛。将浓度为 2mg/kg 体重的 0.2ml 葡萄糖溶液注射至每一小鼠的腹腔内。在葡萄糖注射后 15、30、45、90 和 120 分钟时测量血糖。

[0710] 图 4 显示，使用化合物 I-63 处理的野生型小鼠的体重比使用对照饮食的野生型小鼠低小于 10%。图 5A 显示，在腹腔内葡萄糖耐受性测试中使用化合物 I-63 处理的野生型小鼠显著维持连续较低的葡萄糖含量 ($*p < 0.05$)。图 5B 显示，在注射葡萄糖 (20mg/kg) 后经化合物 I-63 处理的小鼠血糖曲线下面积相对于基线的增量小于使用对照饮食的相似小鼠的 10% ($***p < 0.0001$)。

[0711] 实例 27

[0712] 化合物 I-63 在 N2a 成神经瘤细胞中的细胞毒性

[0713] 本实例显示，本发明化合物（例如，化合物 I-63）对神经元细胞没有毒性。将 2×10^4 个 N2a 细胞平铺于含有 $100 \mu\text{l}$ EMEM (吉布科公司 (Gibco)) 且补充有 10% FBS (N2a 生长培养基) 的 96 孔细胞培养板的每一孔中，并且在 37°C 下培育 48 小时。在处理那天，使用 N2a 生长培养基进一步稀释存于乙醇中的 5mM、1mM、0.5mM 和 0.1mM 化合物 I-63 储备溶液以获得具有 50 μM 、10 μM 、5 μM 和 1 μM 化合物 I-63 的含化合物 I-63 的 N2a 培养基。所有培养基稀释液中的最终乙醇浓度均为 1%，并且因此将 1% 乙醇添加至 0 μM 化合物 I-63 (未处理) 对照中。将培养基稀释液施加至 N2a 细胞 ($100 \mu\text{l}$ / 孔) 并且在 37°C 下培育 4 小时或 24 小时。在处理时间结束时，去除细胞培养基并且向每一孔中添加 $100 \mu\text{l}$ 预热无酚红 N2a 生长培养基。向每一孔中添加 $20 \mu\text{l}$ 细胞滴定 96® 水性单溶液 (CellTiter 96® AQueous One

Solution) (普洛麦格公司 (Promega)), 并且将盘在 37℃ 下培育 1-4 小时直至产生可见的红色。使用板读者在 490nm 波长下对盘进行读数。在 96 孔盘中生长 N2a 细胞并且使用具有增加浓度的化合物 I-63 处理 4 小时 (◆) 或 24 小时 (■)。使用细胞滴定 96® 水性单溶液 (普洛麦格公司) 并使用制造商说明书来分析细胞存活率。误差棒表示三次实验的平均值的标准误差。图 6 显示, 在所测试化合物 I-63 的所有浓度下, 细胞存活率均高于 85%, 不论在 4 小时还是在 24 小时。

[0714] 实例 28

[0715] 化合物 I-63 对活体内磷酸化 τ 蛋白的影响

[0716] 本实例显示, 本发明化合物 (例如, 化合物 I-63) 可降低年幼野生型小鼠中的磷酸化 τ 蛋白。使用标准啮齿动物混合饲料 (对照)、或与 0.1g 化合物 I-63/100g 混合饲料 (0.1% 化合物 I-63) 调配的啮齿动物混合饲料随意喂养瑞士韦氏小鼠 (9-12 周龄); 每周更换水。将小鼠在 23℃ 和 12 小时明 / 暗循环下存放, 其中每笼 6 只小鼠。在长达 4 周内以每周间隔, 使用颈椎脱位将分别来自对照组和 0.1% 化合物 I-63 组的 3 只和 6 只小鼠处死, 去除脑, 在液氮中快速冷冻, 并且在 -80℃ 下存储。将脑在含有 20mM MOPS-Na (pH 7.2)、1mM EDTA/DTT、0.5mg/L 抑肽酶、亮抑酶肽和胃酶抑素、100nM 冈田酸的 350 μ l 缓冲液中匀化, 并且通过离心 (14,000rpm, 10min, 4℃) 净化。通过布拉德福德 (Bradford) 方法来测量上清液蛋白质浓度, 将 4 体积上清液和 1 体积 5xSDS 试样缓冲液混合并且沸腾 2 分钟。将 40 μ g 沸腾匀浆装载至 12% 聚丙烯酰胺凝胶上, 并且转移至硝基纤维素膜中。将膜在室温下于 5% BSA+TBST 中阻断 1 小时, 并且与以下主要抗体以所示稀释度在 4℃ 下一起培育过夜: PHF1 mAb (识别磷酸丝氨酸 396/404), 在 1 : 2000 下; τ -5 (密理博公司; 全- τ mAb), 在 1 : 10,000 下; 和抗 GAPDH (西格马 mAb; 用作装载对照), 在 1 : 50,000 下。使用 ECL Plus 试剂 (通用电气医疗集团 (GE Healthcare)) 来检测蛋白质带并且将墨水暴露于柯达 (Kodak) Xomat 膜上。使用图像 J (ImageJ) 软件实施密度计分析。对于经化合物 I-63 处理的动物的相对磷酸 τ 蛋白水平, 将 GAPDH 标准化磷酸 τ 蛋白与 GAPDH 标准化总 τ 蛋白的比率进一步标准化至对照小鼠组的相应比率。误差棒表示平均值的标准误差。图 7 绘示一条形图, 其显示在与对照相比时, 在以 0.1% 剂量水平 (饲料中的重量%) 投与化合物 I-63 时, 投与两周后, 丝氨酸和苏氨酸残基处的 τ 蛋白磷酸化 (其磷酸化与神经变性和老年痴呆有关) 减少 < 40% ($p < 0.05$); 并且在以 0.1% 剂量水平投与化合物 I-63 时, 在投与 3 周和 4 周后, 丝氨酸和苏氨酸残基处的 τ 蛋白磷酸化 (其磷酸化与神经变性和老年痴呆有关) 减少 > 50% 和至少约 70%。

[0717] 实例 29

[0718] 化合物 I-63 和化合物 I-62 对活体内磷酸化 τ 蛋白的影响

[0719] 本实例显示, 本发明化合物 (例如, 化合物 I-62 和 I-63) 在投与 4 周后可降低年幼野生型小鼠的磷酸化 τ 蛋白。使用标准啮齿动物混合饲料 (对照)、或与 0.1g 化合物 I-63/100g 混合饲料 (0.1% 化合物 I-63) 或 0.1g 化合物 I-62/100g 混合饲料 (0.1% 化合物 I-62) 调配的啮齿动物混合饲料随意喂养瑞士韦氏小鼠 (9-12 周龄); 每周更换水。将小鼠在 23℃ 和 12 小时明 / 暗循环下存放, 其中每笼 6 只小鼠。在第 4 周时, 通过颈椎脱位将来自对照组、0.1% 化合物 I-63 组和 0.1% 化合物 I-62 组的 6 只小鼠处死, 去除脑, 在液氮中快速冷冻, 并且在 -80℃ 下保存。将脑在含有 20mM MOPS-Na (pH 7.2)、1mM EDTA/DTT、

0.5mg/L 抑肽酶、亮抑酶肽和胃酶抑素、100nM 冈田酸的 350 μ l 缓冲液中匀化,并且通过离心(14000rpm,10min,4 $^{\circ}$ C)净化。通过布拉德福德方法来测量上清液蛋白质浓度,将4体积上清液和1体积5x SDS 试样缓冲液混合并且沸腾2分钟。将沸腾匀浆(20 μ g)装载至12%聚丙烯酰胺凝胶上,并且转移至硝基纤维素膜中。将膜在室温下于5% BSA+TBST 中阻断1小时,并且与以下主要抗体以所示稀释度在4 $^{\circ}$ C下一起培育过夜:pS396(信路威公司(Signalway))(识别磷酸丝氨酸396),在1:1000下; τ -5(密理博公司;全- τ mAb),在1:500下;和抗GAPDH(西格马 mAb ;用作装载对照),在1:50000下。使用ECL Plus 试剂(通用电气医疗集团)来检测蛋白质带并且在分子动力学暴风成像仪(Molecular Dynamics Storm Imager)上扫描墨水。使用匡特图像(ImageQuant)软件实施密度计分析。对于经化合物 I-63 处理和经化合物 I-62 处理的动物的相对磷酸 τ 蛋白水平,将GAPDH 标准化磷酸 τ 蛋白与 GAPDH 标准化总 τ 蛋白的比率进一步标准化至对照小鼠组的相应比率。误差棒表示平均值的标准误差。图8绘示一条形图,其显示在与对照相比时,投与4周后,化合物 I-62 和化合物 I-63 同等有效地将脑中的磷酸化 τ 蛋白水平降低40%。

[0720] 实例 30

[0721] 化合物 I-63 对 JNPL3 转基因小鼠运动测试方法的运动功能的影响

[0722] 本实例显示,本发明化合物(例如化合物 I-63)对 JNPL3 转基因小鼠中的进展性运动缺陷具有保护效应。在此实验中使用 TJNPL3 转基因小鼠系,其携带用于微管相关蛋白 τ 蛋白基因(MAPT)的人类 P301L 突变的转基因(刘易斯等人,2000)。将9-12周龄纯合 JNPL3 雄性小鼠(塔科尼克农场(Taconic Farms),哈得孙河(Hudson),NY)在标准条件(温度为22 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C;相对湿度为50 $\pm$ 10%;12h 明/12h 暗循环)下存放并且使其适应2周。适应后,将两组动物(6只动物/组)改为对照饮食(饮食研究公司(Research Diets);新不伦瑞克(New Brunswick),NJ)或纯化0.1%化合物 I-63 调配性饮食。使用合成神经得分(NS)作为计分系统来测量以下任务:(1)尾悬挂期间的前肢弯曲反应、(2)翻正和姿势反射、和(3)抓握牵引测试(吉山(Yoshiyama)等人,2005;柯瑞诺瓦(Korenova)等人,2009)。神经学和运动检验包括基本反射反应,其特别关注对后肢逃跑伸反射、翻正及姿势反射和抓握牵引测试进行评价,其中使动物使用其前脚抓住在缓冲表面上方70cm处悬挂的水平棉绳(直径为1mm)。计分条件按如下分级:

[0723] 尾悬挂测试:

[0724] 0- 动物显示标准逃跑反应

[0725] 1- 动物并不显示完全逃跑或具有腿部反应的向内趋势

[0726] 2- 动物前肢维持于剪断、钩持或张力障碍位置

[0727] 姿势和翻正反射:

[0728] 0- 动物在仰卧放置时可翻正

[0729] 1- 动物翻正减缓(>1s)

[0730] 2- 动物并不显示任何翻正反射

[0731] 抓握牵引测试:

[0732] 0- 动物可使用至少3个爪和尾在2min内完成测试

[0733] 1- 动物可握住绳而在2min内不坠落

[0734] 2- 动物在2min之前坠落而未完成测试

[0735] 3- 动物不能实施测试

[0736] 使用 0-12(正常)、13-20(轻微或早期)、21-23(中等) 和 24-30(严重) 范围的标定系统来对每一动物进行计分以反映神经肌肉功能的严重损伤和肌无力。自服用饮食 7 个月, 计算总分的平均值并且在各组之间进行比较。

[0737] 喂养对照饮食(闭圆) 和 0.1% 化合物 I-63 调配饮食(开圆) 的小鼠的运动测试分数及周数。图 9 显示, 投与 0.1% 化合物 I-63 10 周后可防止 JNPL3 转基因小鼠产生运动功能障碍; 且投与化合物 I-63 11 周和 12 周后, 使用化合物 I-63 饮食的小鼠的平均运动测试分数比使用对照饮食的小鼠的运动测试分数小 75% ($p < 0.05$)。运动分数减小表明神经肌肉功能性损伤和肌无力有所减少。

[0738] 实例 31

[0739] PP2A 对 α - 突触核蛋白磷酸化的影响

[0740] 人类 α - 突触核蛋白的 PP2A 和 PP1 去磷酸化分析。本实例提供使在 Ser129 处磷酸化的人类 α - 突触核蛋白 PP2A 或 PP1 去磷酸化的方法, 且显示 PP2A(未甲基化 AC 二聚体) 而非 PP1 可在下述活体外实验条件下使在 Ser129 处磷酸化的 α - 突触核蛋白去磷酸化。将 PP2A 或 PP1 (200nM、100nM、50nM、25nM、12nM、和 0nM 的连续稀释液, 作为阴性对照) 与丝氨酸 129 磷酸化 α - 突触核蛋白在 MOPS 缓冲液中一起培育。通过添加 5x SDS 试样缓冲液来停止反应。使用抗磷酸 Ser129 抗体通过西方墨点法来评价磷酸化 α - 突触核蛋白的水平。图 10 显示, 可通过 PP2A 以浓度依赖性方式使磷酸化 α - 突触核蛋白去磷酸化, 而使用 PP1 时并未观察到此效应, 具体来说, 在 200nM 浓度下, PP2A 能使 95% 以上的丝氨酸 129 磷酸化 α - 突触核蛋白去磷酸化。

[0741] 实例 32

[0742] PP2A 甲基化对 α - 突触核蛋白磷酸化的影响

[0743] 本实例显示, PP2A 甲基化会增加其对于在 Ser129 处磷酸化的 α - 突触核蛋白的去磷酸化活性或磷酸酶活性。将 PP2A 的甲基化和未甲基化 AC 二聚体的浓试样分别连续稀释至最终浓度为 200nM、100nM、50nM、25nM、和 12nM。使用缓冲液试样(具有 0nM PP2A) 使用作为阴性对照。如上文在实例 31 中所述来实施去磷酸化分析和西方墨点法。在暴风扫描仪(Storm Scanner) (分子动力学) 上扫描西方墨点并且使用匡特图像软件来量化谱带强度。使用下式计算相对磷酸化水平: 相对磷酸化水平 (%) = 试样信号 / 阴性对照信号 * 100%。绘制相对磷酸化水平随 PP2A 浓度变化的回归曲线, 并且使用西格马公司绘制 (SigmaPlot) 程序来估计甲基化和未甲基化 PP2A 的 EC_{50} 值。 EC_{50} 是 PP2A 对于磷酸化 α - 突触核蛋白的磷酸酶活性或去磷酸化活性的量度。具体来说, EC_{50} 是使 50% 的磷酸化 α - 突触核蛋白达成去磷酸化所需的 AC 二聚体浓度。实例性结果绘示于图 11 和图 12 中, 其显示甲基化会增加 PP2A 对于 α - 突触核蛋白的去磷酸化活性。具体来说, 甲基化将 PP2A AC 二聚体的 EC_{50} 值自约 60nM 降至约 20nM。

[0744] 实例 33

[0745] 化合物 I-63 对 α - 突触核蛋白磷酸化的影响

[0746] 本实例提供鉴别能够调节 PP2A 对于 α - 突触核蛋白的磷酸酶活性的化合物的方法。将 PP2A 与化合物的连续稀释液(以得到 100 μ M、10 μ M、1 μ M、0.1 μ M、和 0 μ M 的最终浓度作为阴性对照) 在含有 MOPS 缓冲液的溶液中一起培育 10min-30min。培育后, 将底物

(丝氨酸 129 磷酸化 α 突触核蛋白)添加至反应液中,并且如实例 31 中所述使反应继续进行。化合物的影响是基于与不使用化合物试样的对照反应相比使用化合物的反应的去磷酸化依赖性 EC_{50} 值。

[0747] 实例 34

[0748] 化合物 I-63 对帕金森氏病的 MPTP 小鼠模型中 MPTP 诱导性神经毒性的影响

[0749] 通常使用 MPTP (1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶)作为化学试剂在细胞和动物模型中诱导帕金森氏病样的神经变性。帕金森氏病和 MPTP 诱导性毒性都与诸多不同生物标记(包括酪氨酸羟化酶含量和活性减小)有关。酪氨酸羟化酶是其参与酪氨酸至多巴胺的转化时多巴胺生物合成路径中的主要酶。酪氨酸羟化酶活性是通过其磷酸化状态来调节并且已知 PP2A 参与此调节。

[0750] 本实例显示,本发明化合物对于毒素诱导的神经变性具有保护效应。使用标准啮齿动物混合饲料(对照)、或与 0.1g 化合物 I-63 或 0.001g 化合物 I-63/100g 混合饲料(分别为 0.1%和 0.001%化合物 I-63)调配的啮齿动物混合饲料随意喂养 2-3 个月龄的 C57BL/6J 小鼠;每周更换一次水。将小鼠在 23°C 和 12 小时明/暗循环下存放,其中每笼 6 只小鼠。2 周后,使用盐水、或 10mg/kg MPTP 注射来自对照组、0.1%化合物 I-63 组和 0.001%化合物 I-63 组的 8-12 只小鼠中的每一者,即,在同一天注射 4 次,每 2 小时一次。然后将小鼠在其各自食物下再维持一周,此时通过颈椎脱位将其处死并且分割脑以用于生化分析。

[0751] 通过如下 ELISA 测量纹状体酪氨酸羟化酶 (TH) 含量。将 96 孔微量滴定板(热实验室系统公司 (Thermo Labsystems))与单克隆抗 TH 抗体 (1 : 500 ; 卡尔生化公司 (Calbiochem))在 4°C 下于 8mM 磷酸钠、2mM 磷酸钾、和 0.14M 氯化钠 (pH 7.4) (PBS) 中培育过夜。使用 PBS 洗涤孔 4 次,并且然后使用存于 PBS 中的 5% (w/v) 康乃馨 (Carnation) (雀巢公司 (Nestle)) 无脂干乳阻断 1 小时。通过在具有 0.25% (w/v) SDS 的 PBS-0.5% 特瑞同 (Triton) X-100 (PBST) 中进行超声处理来匀化纹状体组织试样。使用纯化 TH 蛋白质 (细胞 2 细胞 (Cell 2Cell), 圣克莱门特 (San Clemente), CA) 来建立标准曲线。将试样和标准物在室温下培育 1 小时,使用 PBST 洗涤 4 次,并且然后与多克隆抗 TH (1 : 500 ; 卡尔生化公司) 和多克隆抗兔辣根过氧化物酶 (HRP) (1 : 3000 ; 安玛西亚生物科学公司 (Amersham Biosciences)) 在阻断溶液中一起培育 1 小时。使用 PBST 洗涤 4 次后,将各孔与阿普来斯红 (Amplex Red) (分子探针公司 (Molecular Probes)) HRP 底物一起培育。在线性检测范围内 (激发 : 发射比为 530 : 580nm) 以荧光测定方式测量反应产物。对照包括删去一级或二级 TH 抗体。将数据表示为 MPTP 处理小鼠相对于盐水注射小鼠的 TH 水平百分比形式。使用单向方差分析 (one-way ANOVA) 随后使用纽曼-柯尔氏 (Newman-Keuls) 多重范围测试来进行多次对比。在对照饮食下向小鼠投与 MPTP 可将酪氨酸羟化酶含量显著降低 60%。使用 0.001%和 0.1%化合物 I-63 饮食可防止小鼠具有急性 MPTP 诱导性神经毒性,如自酪氨酸羟化酶缺陷显著 ($p < 0.05$) 复原约 20%所显而易见。结果示于图 13 中,其显示本发明化合物可用于改善与帕金森氏病有关的症状。

[0752] 实例 35

[0753] 化合物 I-63 对 α -突触核蛋白过度表现小鼠中运动测试的影响

[0754] 过度表现全长人类 α -突触核蛋白的转基因小鼠已阐述于前文中,并且是用于感

觉运动测试并对黑质纹状体多巴胺能系统变化敏感的优良模型 [弗莱明 S. M. (Fleming S. M.) 等人, 神经科学杂志 (J. Neurosci.) 24, 9434-40, (2004)]。本实例显示, 经 3 个月向 α -突触核蛋白转基因小鼠投与化合物 I-63 使得可显著改善运动活动, 如通过户外和旋转杆测试所测量。

[0755] 将 Thy 1- α -突触核蛋白转基因小鼠 (9-12 周龄) 和年龄匹配的野生型小鼠在温度 -、和湿度 - 受控的环境中在 12 小时明 / 暗循环 (在上午 7 点打开灯) 下存放于透明塑料笼中, 并且维持使用实验室混合饲料和水的随意饮食。所用动物饲料为普通饲料 (对照) 或与 0.001% 和 0.1% 的化合物 I-63 进行调配者。对每组小鼠 ($n = 9-13$) 每月一次实施行为测试并持续 3 个月。

[0756] 在户外模型中通过数字扫描活动监测器使用红外光束栅格来评价运动活动, 所述红外光束栅格可记录动物的位置和路径 (水平活动) 以及直立运动 (rearing movement) 的次数 (垂直活动)。在测试前 30min. 时, 将小鼠首先放置于与测试室相同的环境中。然后将每一小鼠放置于户外室 (42x 42cm 丙烯酸动物笼, 阿科斯坎仪器公司 (Accuscan Instruments)) 的中部并且记录运动 10min。将红外光束传感器与每毫秒记录动物位置的计算机连接。使用阿科斯坎沃萨玛克 (VersaMax) 软件记录运动的总数、行进的距离、移运所消耗的时间和红外光束中断的总数。记录每一小鼠经过的总平方数, 并且测定每组小鼠的平均水平和垂直活动。

[0757] 通过旋转杆测试来测量运动协调性和运动学习性。将小鼠放置于具有粗糙表面以用于抓牢的速度受控型旋转圆柱体 (直径: 4.5cm) 顶部。使用以 5rpm 速度旋转、以 0.2rpm/秒进行加速、直至最终速度为 40rpm 的圆柱体将小鼠分别测试 3 次。使用 3min 的断开时间和 60min 的试验间隔。测量使圆柱体旋转而小鼠不坠下的所用时间。通过司徒登氏 t-测试 (student's t-test) 测得, 在第 3 个月时经处理组和对照组的活动具有明显差异。

[0758] 在本实例中, 使用具有 0.1% 化合物 I-63 的饮食的 α -突触核蛋白转基因小鼠显示水平活动 ($p = 0.004$; 图 14A) 和旋转杆工作时间 ($p = 0.03$; 图 14B) 有所增加。使用具有化合物 I-63 的饮食的转基因小鼠显示, 与使用相同饮食的野生型小鼠相比, 0.001% 剂量 ($p = 0.068$) 和 0.1% 剂量 ($p = 0.004$) 下的水平活动 (图 14A) 有所增加, 此表明化合物 I-63 对于运动活动中的 α -突触核蛋白诱导性改变具有特异性保护效应。

[0759] 实例 36

[0760] 自咖啡蜡对化合物实施乙腈 - 乙醇萃取

[0761] 将 48 克咖啡蜡 (阿姆森 (Amsyn) 公司, 阿莱马克化学品 (Alemark Chemicals)) 分配于 100ml 乙腈中并且在 60°C 下在旋转蒸发器上加热。将可溶相与不溶性固相分离。将此萃取重复 3 次。合并 3 个可溶相, 在 4°C 下冷却长达 16 小时并且过滤。自上述过滤收集沉淀物并在 60°C 下再溶于 200ml 热乙腈中, 在 4°C 下冷却长达 16 小时, 并且过滤。使用 100ml 热乙醇在 70°C 下再次溶解固相, 在室温下冷却并且培育 16 小时。沉淀物包括粗制化合物 I-63 与 I-62 的混合物以得到 4.4 克。所获得试样含有高含量的本文所述化合物。据估计, 化合物 I-63 的含量介于 4% (wt/wt) (如通过 HPLC 所测量) 至 14% (wt/wt) (如通过 LC/MS 所测量) 与 17-20% (wt/wt) (如通过 MS/MS 所测量) 之间。MS/MS 分析显示, 试样中的剩余化合物为 I-62、化合物 I-63 类似物。使用安捷伦 (Agilent) 1200HPLC 实施 HPLC 方法。使用具有安捷伦 1200HPLC 的安捷伦 6410 三相四极质谱仪来实施 LC/MS 和 MS/MS 方法。

[0762] 实例 37

[0763] 自咖啡蜡对化合物实施己烷-乙酸乙酯萃取

[0764] 通过在 50℃ 下在旋转蒸发器上加热将 10 克咖啡蜡（阿姆森公司，阿莱马克化学品）完全溶于 150ml 乙酸乙酯中。随后在室温下将混合物冷却 1 小时并且过滤。去除固体沉淀物。将滤液蒸发至干燥并且将沉淀物在 50℃ 下溶于 200ml 己烷中并且干燥。固相中化合物 I-63 和 I-62 的纯度为约 70%。液相中化合物 I-63 和 I-62 的纯度为 15-40%。大部分化合物 I-63 和 I-62 位于液相中。使用乙酸乙酯进一步萃取固相可去除实质量的咖啡因。通过以下方式来进一步萃取液相以获得更多 I-62 和 I-63：蒸发和 / 或浓缩，使用另一溶剂进行沉淀，使液相循环返回以处理更多咖啡蜡。

[0765] 实例 38

[0766] 在 6.67mpk 下 PO 调配物 D 的制备

[0767] 将化合物 I-63(11.0mg) 与吐温 80(1375 μL) 混合并在恒定混合下使用热枪加热直至澄清。向溶液中添加 PEG400(1375 μL) 并且再次混合直至澄清。在添加 PBS(2750 μL) 时，溶液即使在混合和加热下也将不再澄清。添加额外的吐温 80(1375 μL) 和 PEG400(1375 μL) 以使溶液复原，所述溶液在加热下剧烈混合后变澄清。添加 PBS(2750 μL) 以制得具有 25 : 25 : 50PEG400 : 吐温 80 : PBS 比率的溶剂。

[0768] 实例 39

[0769] 在 33.3mpk 下 PO 调配物 K 的制备

[0770] 将化合物 I-63(247.5mg) 与油酸乙酯 (500.8mg)、色鲁托 HS-15(5000.3mg)、和乙醇 (2.8mL 变性 SDA-3A, 其含有 95% SDA-3A(100 : 5 乙醇 : 甲醇) 和 5% 异丙醇) 混合以产生调配物 C。在单独小瓶中，将化合物 I-63(30.3mg) 在加热下溶于吐温 80(3mL) 中并且实施涡旋直至澄清。向此溶液中添加 PEG400(3mL)，并且在光加热下再次混合混合物直至澄清。单独地，将化合物 I-63(1mL 上述调配物 C) 与磷酸盐缓冲盐水 (5mL) 混合并且彻底实施涡旋。将此两种溶液混合以得到含有存于以下中的 0.5% 化合物 I-63 的最终溶液：25% 吐温 80、25% PEG400、和 50% PBS (含有乙醇、色鲁托、和油酸乙酯)。

[0771] 以下实例进一步阐释含有式 I、Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig 和 / 或 Ih 化合物的口服组合物。

[0772] 实例 40

[0773]

成份	量 (wt %)
化合物 I-63	0.5-3.0%
油酸乙酯	0-1%
色鲁托-HS15	0-7%
SDA-3A 醇	0-5%
异丙醇	0-1%
吐温-80 (聚山梨酯 80)	20-30%

[0774]

PEG-400	20-30%
PBS	40-43%
pH 值	4.0-9.0

[0775] 等效内容

[0776] 所述领域技术人员应认识到或能够确认,在至多使用常规实验时,尽管已参照特定实施例阐述了本发明,但应理解,这些实施例仅阐释本发明的原则和应用。因此,应理解,可对阐释性实施例进行许多改变并且可设想出其它布置,此并不背离随附权利要求书所界定的本发明的精神和范围。

[0777] 除非上下文中表示相反含义或另有明确说明,否则在权利要求书中诸如“一”(“a”、“an”)和“所述”等冠词可意指一个或一个以上。除非上下文中表示相反含义或另有明确说明,否则若一个、一个以上、或所有群组成员都存在于、用于、或相关于给定产物或过程,则可认为在群组的一个或多个成员间包括“或”的权利要求或说明是适合表述这种情况的。本发明包括恰好只有一个群组成员存在于、用于、或相关于给定产物或过程的实施例。本发明包括一个以上、或所有群组成员都存在于、用于、或相关于给定产物或过程的实施例。另外,应理解,本发明涵盖所有变化、组合和置换,其中将一种或多种限制、要素、条款、说明性术语等自一个或多个所列权利要求引入另一权利要求中。举例来说,依赖于另一权利要求的任何权利要求均可加以修改以包括在依赖于相同基础权利要求的任何其它权利要求中发现的一种或多种限制。

[0778] 如果以列表形式呈现要素,例如以马库西(Markush)群组格式呈现,则应理解,其也揭示每个要素亚组并且可自所述群组中去除任何要素。应理解,通常,如果称本发明或本发明方面包含特定要素、特性等,则某些本发明实施例或本发明方面由所述要素、特性等组成或基本由其组成。出于简化的目的,在本文内容中并未具体阐述所述实施例。应注意,术语“包含”意欲具有开放意义并且允许包括其它要素或步骤。

[0779] 如果给定范围,则包括端点。另外,应理解,除非上下文和所属领域技术人员的理解中另有说明或另外明确表明,除非上下文明确表示其它含义,否则在本发明不同实施例中表示为范围的值可采用所述范围内的任一具体值或子范围,其精确到所述范围下限最小整数的十分之一。

[0780] 此外,应理解,可自任何一或多项权利要求中明确排除在先前技术范围内的任何本发明具体实施例。由于认定所述实施例是所属领域技术人员已知的,因此即使本文中并未明确阐述排除,也可将其排除。出于任一原因,可自任何一个或多个权利要求中排除本发明组合物的任何具体实施例(例如,任何目标部分、任何疾病、病症、和/或病状、任何连接剂、任何投与方法、任何治疗应用等),不论其是否与先前技术的存在有关。

[0781] 上文和本文通篇中所论述的公开案仅由于其揭示内容先于本申请案的申请日期而提供。不得将本文中任何内容解释为承认本发明者无权使所述揭示内容早于先前揭示内容。

实例编号	碱						偶合剂			溶剂	产率 (%)	纯度
	吡啶	TEA	TEA/ 吡啶	NaHCO ₃ (水溶液)	DIEA	HATU	SOCl ₂	PyBOP				
1	x					x			吡啶	50	>95%	
2	x					x			吡啶	50	>95%	
3	x						-		吡啶	67	>95%	
4	x						-		吡啶	53	>95%	
6	x						-		吡啶	75	>95%	
7	x						-		吡啶	81	>95%	
9		x				x			DCM	65	80%	
10		x				x			DCM	71	>95%	
11		x				x			DCM	54	>95%	
12		x				x			DCM	75	90%	
14		x				x			DCM	74	>95%	

图 1

实验数据：制备化合物 I-63 的方法

实验编号	碱				偶合剂				溶剂					产率(%)	纯度
	吡啶	TEA	TEA/ 吡啶	NaHCO ₃ (水溶液)	DIEA	HATU	SOCl ₂	PyBOP	DCM	DMF	THF	DCM+DMF	DMF+THF		
A	x						x		x					83	50
B	x							x	x					81	75
C	x					x			x					73	80
D				x			x		x					65	50
E			x			x				x				88	>95
F	x						x					x		79	85
G					x		x				x			75	80
H					x	x							x	92	>95
I					x			x					x	87	>95
J		x						x					x	85	>95

图 2
88

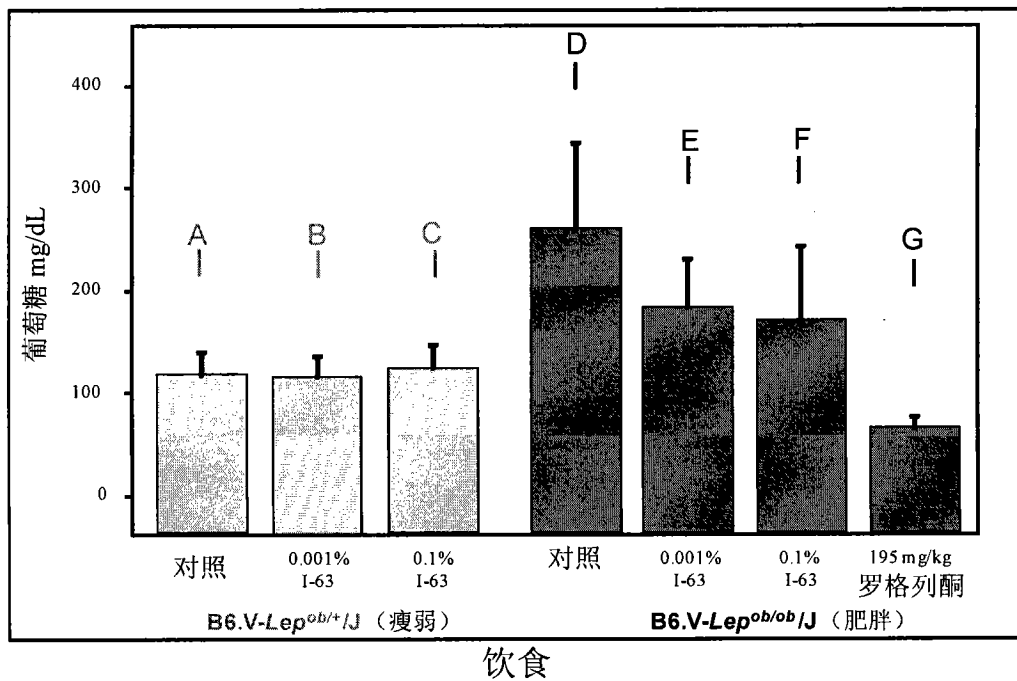


图 3

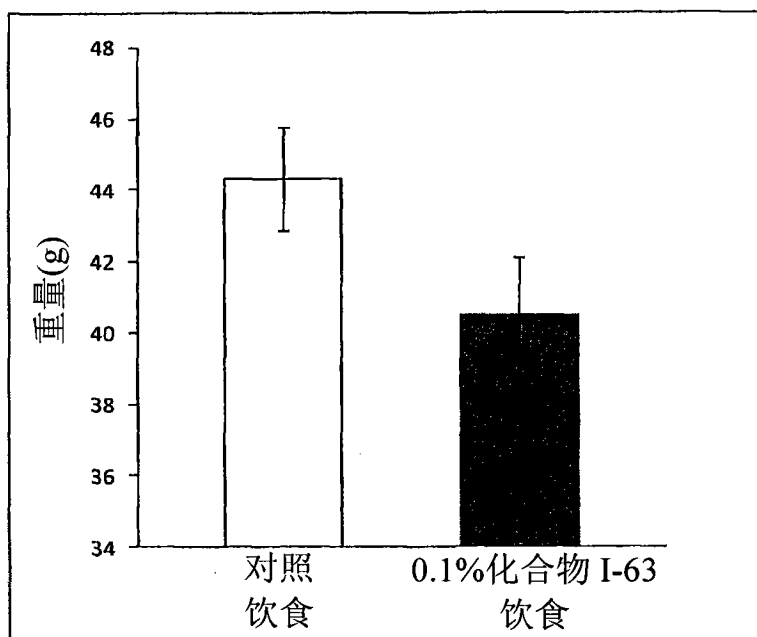


图 4

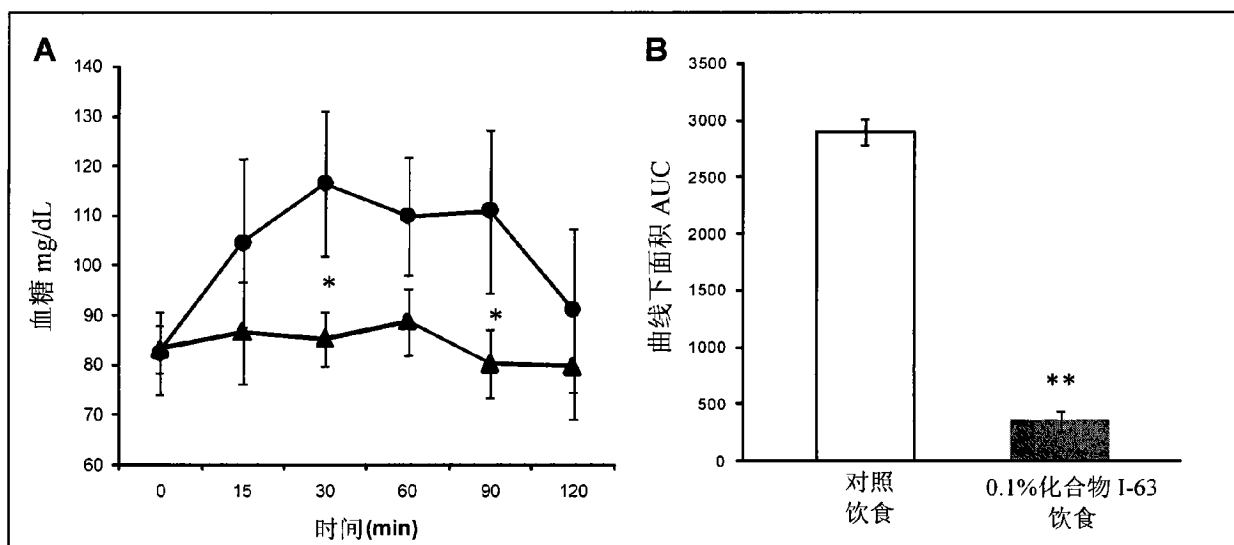


图 5

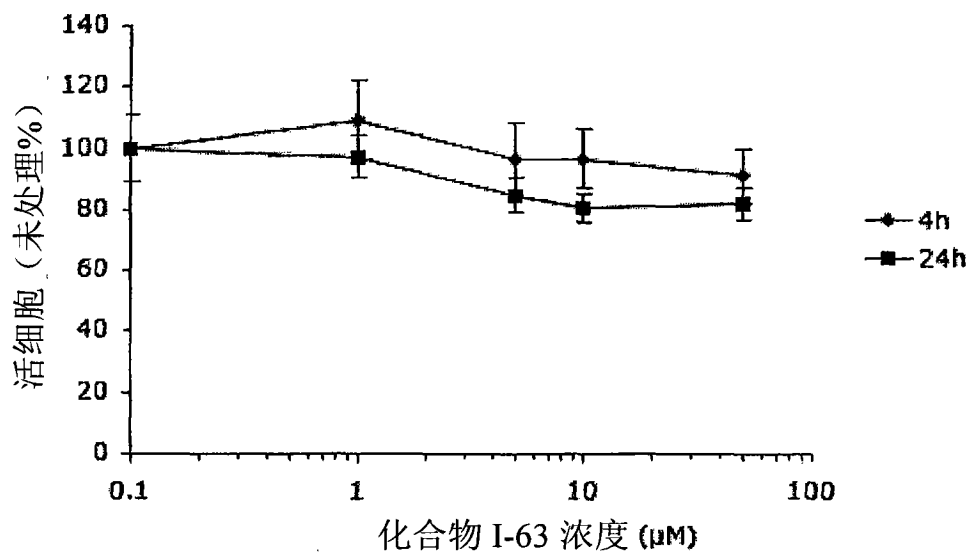


图 6

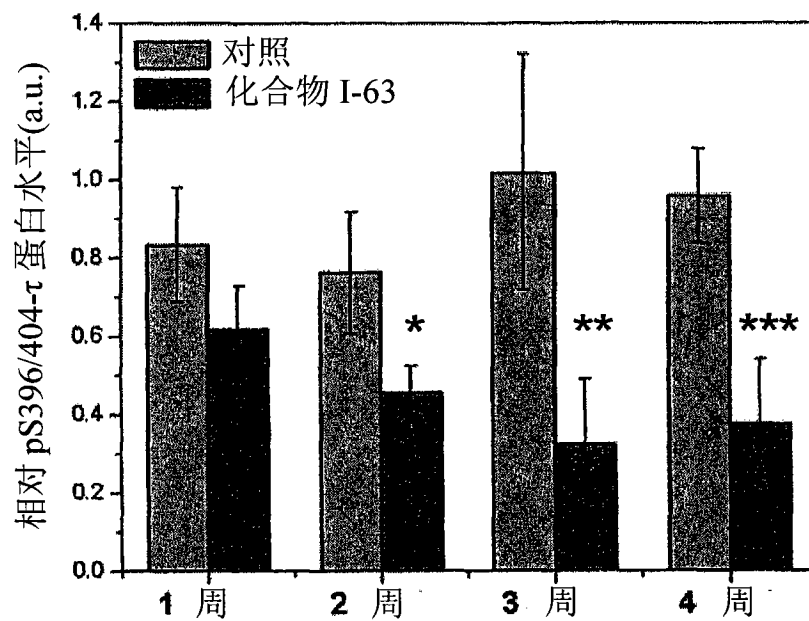


图 7

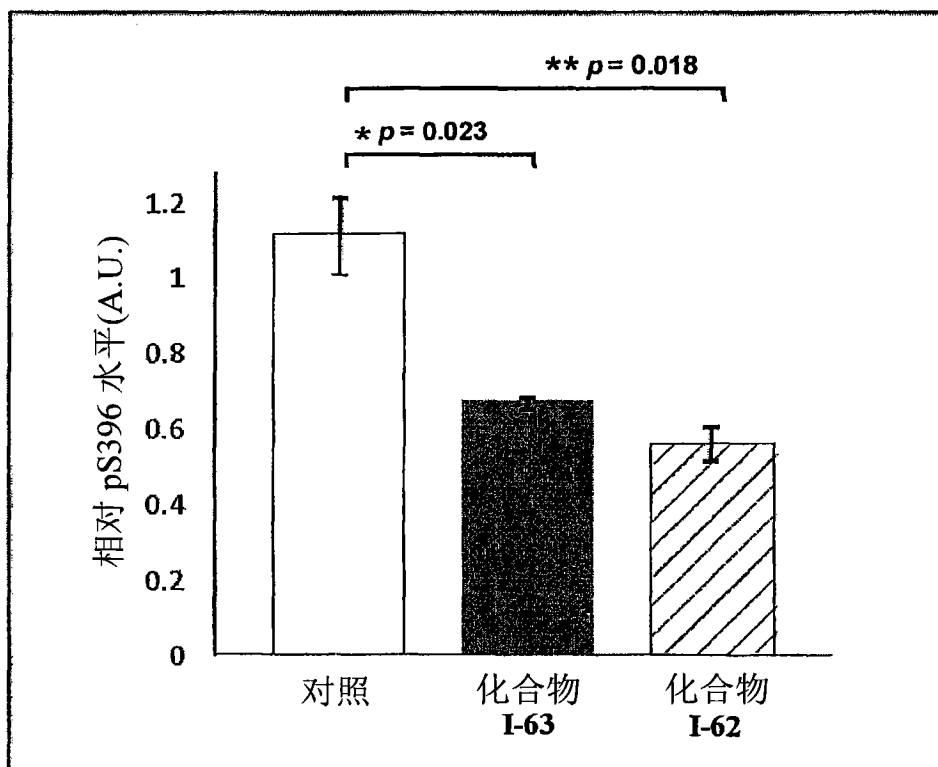


图 8

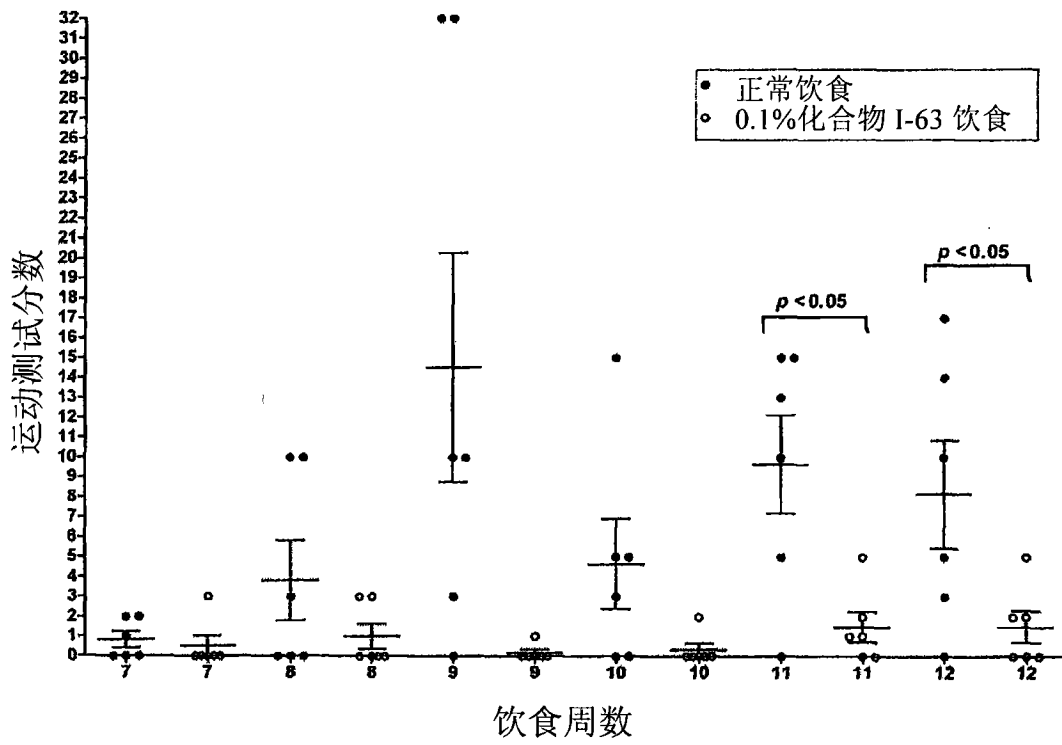


图 9

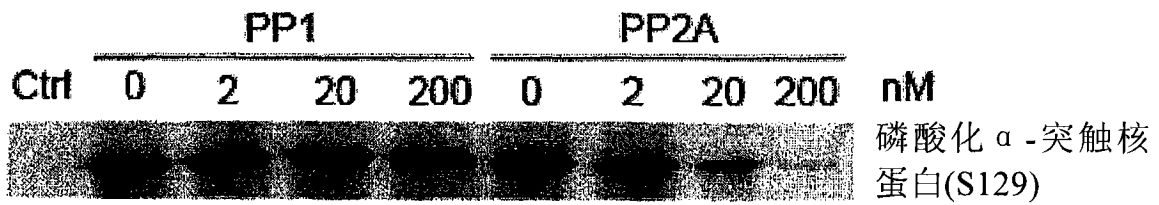


图 10

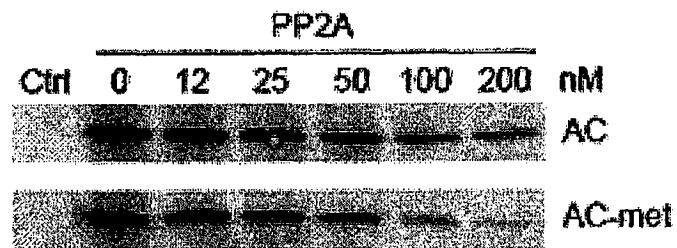


图 11

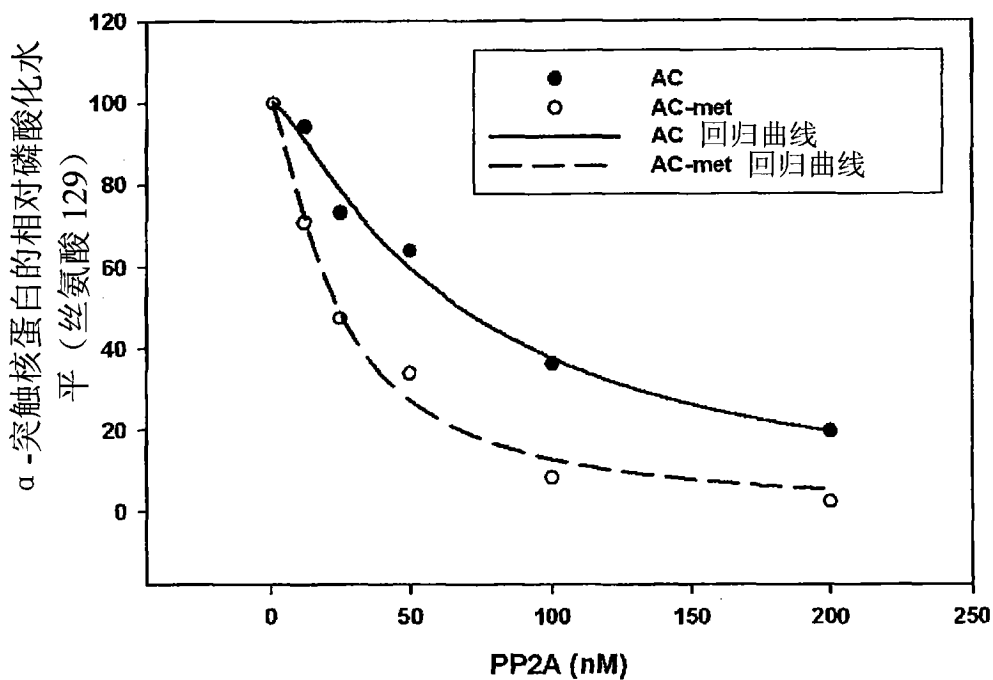
甲基化对 PP2A 对于 α -突触核蛋白的活性的影响

图 12

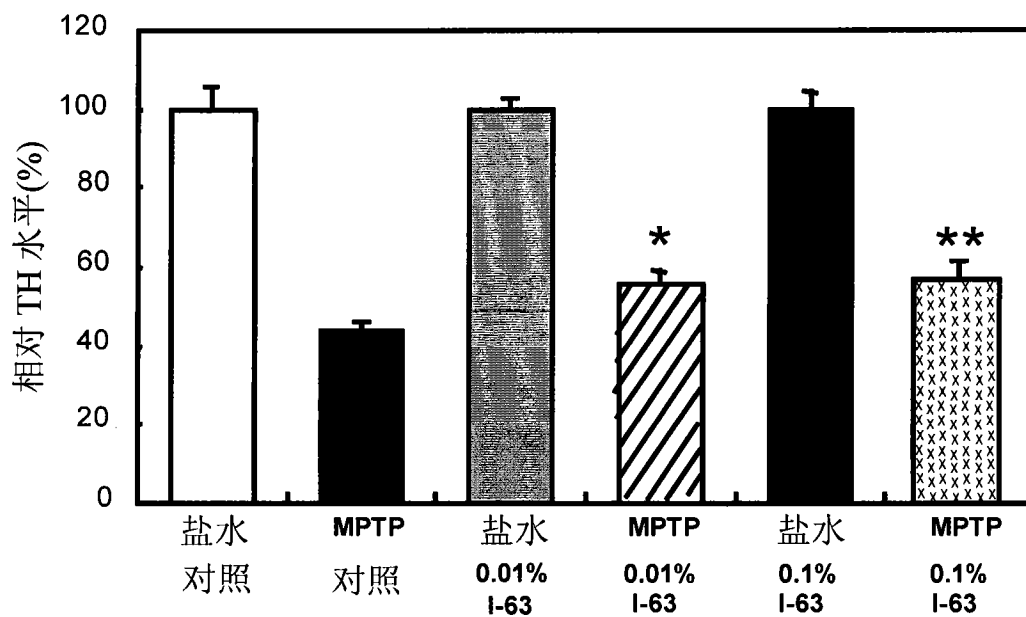


图 13

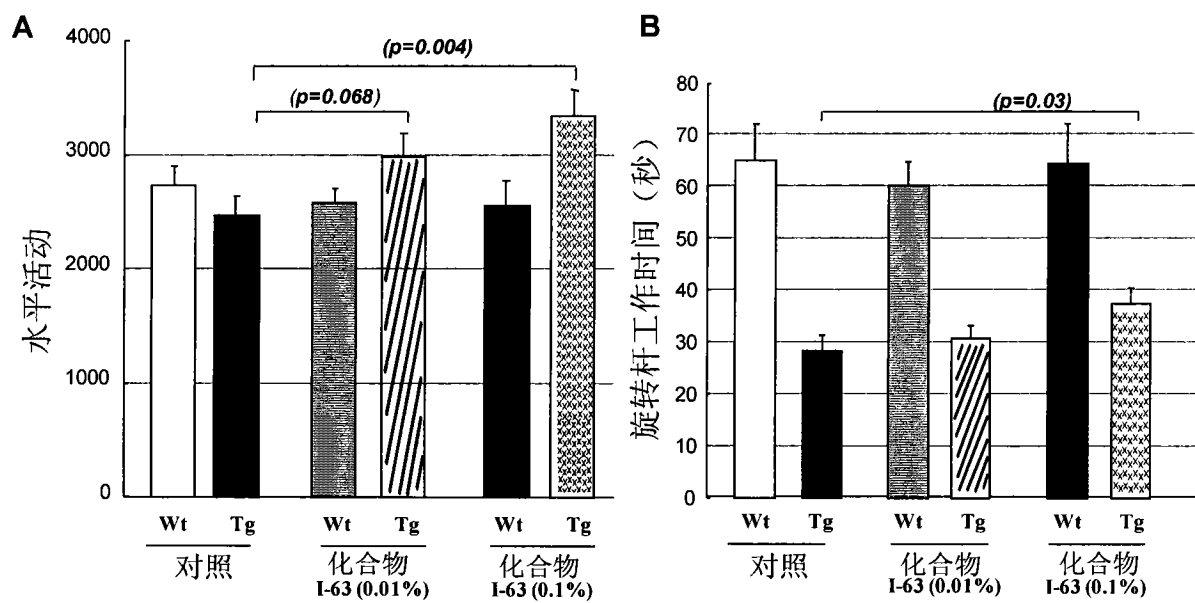


图 14