



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105828811 A

(43)申请公布日 2016.08.03

(21)申请号 201480069002.4

(22)申请日 2014.12.19

(30)优先权数据

13382541.4 2013.12.23 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.06.17

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2014/078745 2014.12.19

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/097088 EN 2015.07.02

(71)申请人 BCN肽类股份有限公司

地址 西班牙圣魁恩蒂梅迪奥纳

(72)发明人 约瑟·法雷拉-辛佛洛

莱斯利·马塔隆亚博雷尔

劳拉·戈特马斯

罗伯托·帕斯夸尔马丁内斯

A·菲尔勒蒙蒂埃尔

安东尼亚·里贝斯卢比奥

B·蓬萨提奥维奥尔斯

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 高瑜 郑霞

(51)Int.Cl.

A61K 31/00(2006.01)

A61K 31/167(2006.01)

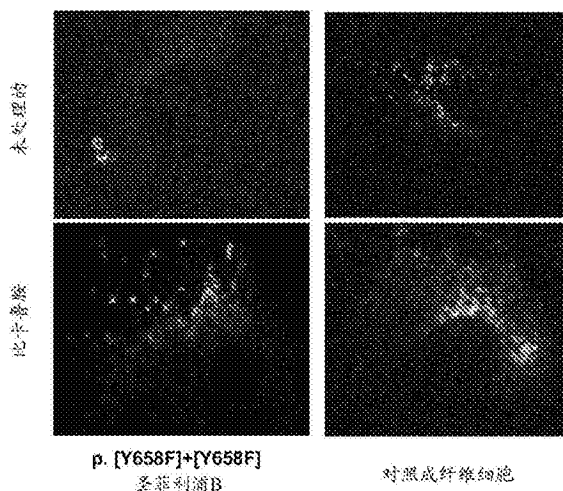
权利要求书3页 说明书37页 附图1页

(54)发明名称

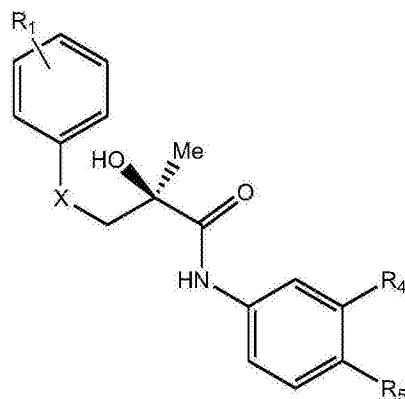
用于在溶酶体贮积症或糖原贮积病的治疗中使用的作为胞吐作用活化化合物的比卡鲁胺类似物或(S)-比卡鲁胺

(57)摘要

本发明提供一种通过用促进胞吐作用、优选溶酶体胞吐作用的化合物治疗而用于溶酶体贮积病和糖原贮积病的疗法。用胞吐作用激活化合物处理来自受不同溶酶体贮积症影响的患者的细胞导致溶酶体中毒性底物的积聚减少,从而允许治疗、预防和缓解许多溶酶体贮积症的症状。



1. 一种由通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物



(II)

其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物,其中:

R₁是氢(H)、卤素(F、Cl、Br、或I)、氨基(-NH₂)、乙酰胺基(-NHCOCH₃)、丙酰胺基(-NHCOEt)、N,N-二乙酰胺基(-NAc₂)、N,N-二丙酰胺基(-N(COEt)₂)、2-氯乙酰胺基(-NHCOCH₂Cl)、腈(-CN)、或异硫氰酸酯(-NCS)基团;

R₄是一个三氟甲基基团(-CF₃)或氢(H);

R₅是一个腈(-CN)或一个硝基(-NO₂)基团;

X是硫醚(S)、亚砷(SO)、砷(SO₂)、或氧(O);

用于在溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的临床症状的预防和/或治疗中使用。

2. 根据权利要求1所述的供使用的化合物,其中R₁是处于对位的氟(F),R₄是一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是一个腈基团(CN),并且X是砷(SO₂),对应于(S)-比卡鲁胺。

3. 根据权利要求1所述的供使用的化合物,其中R₁是处于对位的氟(F),R₄是一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是一个腈基团(CN),并且X是亚砷(SO)。

4. 根据权利要求1所述的供使用的化合物,其中R₁是处于对位的氟(F),R₄是一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是一个腈基团(CN),并且X是硫醚(S)。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的供使用的化合物,其中该溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病选自下组,该组由以下各项组成:α-甘露糖贮积症、天冬氨酸葡萄糖胺尿症、β-甘露糖贮积症、胱氨酸病、α-N-乙酰氨基半乳糖苷酶缺乏、辛德勒病、天冬氨酸酰胺酶或酰化氨基酸水解酶缺乏症、卡纳万病、多发性硫酸酯酶缺乏症或MSD、类固醇硫酸酯酶缺乏症、胆固醇酯贮积病、沃尔曼病、法布里病、法伯病、I型、II型和III型戈谢病、克拉伯病以及它的婴儿发作型和迟发型变型、A/B型和C型尼曼-匹克病、岩藻糖苷贮积病、半乳糖唾液酸贮积症、GM1神经节苷脂贮积病(婴儿、晚婴/青少年和成人/慢性)、GM2神经节苷脂贮积病(包括激活因子缺乏型、桑德霍夫病及其变型、泰一萨二氏病)、糖原贮积病、I型糖原贮积病或冯吉尔克病、II型糖原贮积病或庞贝氏病、IIb型糖原贮积病或达农病、V型糖原贮积病或麦卡德尔病和VII型糖原贮积病或塔勒氏病、异染性脑白质营养不良和所有其变型且由于激活因子缺乏所致、神经元蜡样脂褐质贮积病(包括从NCL1至NCL10的所有其变型)、I型粘脂贮积症、唾液酸贮积症和所有其变型如婴儿型或萨拉病和青少年型、II型粘脂贮积

症、I-细胞疾病、IIIA型或 α/β 粘脂贮积症、假赫尔勒氏多种营养不良、IIIC型或 γ 粘脂贮积症、IV型粘脂贮积症、I型粘多糖贮积病、赫尔勒氏、施艾氏和赫尔勒氏-施艾氏综合征、II型粘多糖贮积病、亨特氏综合征、III型粘多糖贮积病、A型/MPS III A型圣菲利浦综合征、B型/MPS III B型圣菲利浦综合征、C型/MPS III C型圣菲利浦综合征和D型/MPS III D型圣菲利浦综合征、IV型粘多糖贮积病、A型/MPS IVA型莫尔基奥氏病和B型/MPS IVB型莫尔基奥氏病、VI型粘多糖贮积病、马-拉氏病、VII型粘多糖贮积病、斯赖综合征、IX型粘多糖贮积病、透明质酸酶缺乏症、以及致密性成骨不全症。

6. 根据权利要求5所述的供使用的化合物,其中该溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症选自下组,该组由以下各项组成:A型圣菲利浦综合征、B型圣菲利浦综合征、赫尔勒氏综合征、泰-萨二氏病、戈谢病、法布里病、以及A/B型尼曼-匹克病。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的供使用的化合物,其中所述化合物以从0.1至2000mg/天范围内的量给予。

8. 根据权利要求1至6中任一项所述的供使用的化合物,其中该化合物与选自下组的至少一种佐剂组合给予,该组由以下各项组成:激活溶酶体胞吐作用的化合物、促进蛋白质稳定化的药理学分子伴侣、用于底物减少疗法(SRT)中的化合物、用于酶替代疗法(ERT)中的酶、抗氧化剂化合物、用于溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的基因疗法中的化合物、和/或其混合物。

9. 根据权利要求8所述的供使用的化合物,其中该激活溶酶体胞吐作用的化合物选自下组,该组由以下各项组成: δ -生育酚、2-羟丙基- β -环糊精、和/或其混合物。

10. 根据权利要求8所述的供使用的化合物,其中该用于底物减少疗法中的化合物选自下组,该组由以下各项组成:N-丁基-脱氧野尻霉素或麦格司他、盐酸米加斯他、盐酸divoglustat、和/或其混合物。

11. 根据权利要求8所述的供使用的化合物,其中该用于酶替代疗法中的酶选自下组,该组由以下各项组成:天然酶和/或它们的重组合成形式和/或它们的重组合成突变体:N-天冬氨酰基- β -氨基葡萄糖苷酶、乙酰基-CoA-氨基葡萄糖苷N-乙酰转移酶、N-乙酰葡萄糖胺-6-硫酸酯酶、N-乙酰葡萄糖胺-1-磷酸转移酶、 α -N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶、 α -N-乙酰神经氨酸苷酶、唾液酸酶、酸性神经酰胺酶、酸性 α -葡萄糖苷酶、酸性麦芽糖酶、天冬氨酸酯酶、溶酶体酸性脂肪酶、酸性鞘磷脂酶、芳基硫酸酯酶A、芳基硫酸酯酶B、 α -L-岩藻糖苷酶、半乳糖脑苷脂酶、半乳糖胺-6-硫酸酯酶、 α -半乳糖苷酶A、 α -半乳糖苷酶B、 β -半乳糖苷酶、半乳糖神经酰胺酶、 β -葡萄糖苷酸酶、 β -葡萄糖苷酶、 β -葡萄糖脑苷脂酶、乙酰肝素N-硫酸酯酶、 β -己糖胺酶A、 β -己糖胺酶A/B、透明质酸酶-1、 α -L-艾杜糖醛酸酶、艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶、 α -D-甘露糖苷酶、 β -甘露糖苷酶、以及 α -神经氨酸苷酶、和/或其混合物。

12. 根据权利要求8所述的供使用的化合物,其中该药理学分子伴侣选自下组,该组由以下各项组成:1-脱氧野尻霉素、野尻霉素-1-磺酸、N-(7-氧杂癸基)-1-脱氧野尻霉素、2-乙酰胺基-脱氧野尻霉素、2-乙酰胺基-1,2-二脱氧野尻霉素、1-脱氧半乳糖野尻霉素、N-丁基-脱氧半乳糖野尻霉素、栗树精胺、N-乙酰葡萄糖胺噻唑啉、半乳糖、硝基茛酮、乙胺嘧啶、美格鲁特、盐酸米加斯他、盐酸divoglustat、2,5-二脱氧-2,5-亚氨基-D-阿卓糖醇、异法戈明、氨溴索、地尔硫卓、葡萄糖胺、它们的结构类似物、它们的盐和/或其混合物。

13. 根据权利要求8所述的供使用的化合物,其中该抗氧化剂化合物选自下组,该组由

以下各项组成:维生素A或视黄醇、维生素C或抗坏血酸、维生素E、生育三烯酚和生育酚、辅酶Q10、锰、碘化物、艾地苯醌、褪黑素、 α -胡萝卜素、虾青素、 β -胡萝卜素、角黄素、叶黄素、番茄红素、玉米黄素、黄酮类、芹菜素、木犀草素、柑橘黄酮、黄酮醇、异鼠李素、槲皮素、杨梅黄酮、原花青素、槲皮素、芦丁、黄烷酮、圣草酚、橙皮素、柚皮素、黄烷醇和它们的聚合物、儿茶素、没食子儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素、茶黄素、茶红素、植物雌激素异黄酮、大豆苷元、染料木素、黄豆黄素、芪类、白藜芦醇、紫檀芪、花青苷、花青素、花翠素、锦葵色素、天竺葵色素、芍药花青素、矮牵牛素、酚酸和它们的酯、菊苣酸、绿原酸、肉桂酸、阿魏酸、鞣花酸、鞣花单宁、没食子酸、没食子单宁、迷迭香酸、水杨酸、黄酮木脂素类、水飞蓟素、氧杂蒽酮、丁香香酚、辣椒素、胆红素、柠檬酸、草酸、植酸、N-乙酰半胱氨酸、R- α -硫辛酸、尿酸、肌肽和它们的衍生物、肉碱和它们的衍生物、Lipochroman-6(二甲基甲氧基色原烷醇)、Trolox(6-羟基-2,5,7,8-四甲基色满-2-甲酸)、叔丁基氢醌(TBHQ)和/或其混合物。

14. 根据权利要求8至13中任一项所述的供使用的化合物,其中与该佐剂的该组合在不同药用组合物中进行。

15. 一种用于在溶酶体贮积病和/或糖原贮积病的临床症状的预防和/或治疗中使用的药用组合物,该药用组合物包含由通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物。

16. 根据权利要求15的供使用的药用组合物,其中由该通式(II)共同定义的该化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物被并入递送系统和/或缓释系统,如脂质体、毫米颗粒、微颗粒、纳米颗粒、海绵状物、囊泡、胶束、毫米球、微球、纳米球、脂质球、毫米胶囊、微胶囊、纳米胶囊、微乳剂、以及纳米乳剂。

17. 根据权利要求15至16中任一项所述的供使用的药用组合物,其中该组合物包含选自下组的至少一种佐剂,该组由以下各项组成:激活溶酶体胞吐作用的化合物、促进蛋白质稳定化的药理学分子伴侣、用于基于底物减少疗法(SRT)中的化合物、用于酶替代疗法(ERT)中的酶、抗氧化剂化合物、和/或用于溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的基因疗法中的化合物、和/或其混合物。

18. 根据权利要求15至17中任一项所述的供使用的药用组合物,其中该组合物是通过局部、肠内或胃肠外途径给予的。

19. 根据权利要求1所述的由通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物在溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的诊断中的用途,所述诊断是在不存在人体的情况下进行的。

用于在溶酶体贮积症或糖原贮积病的治疗中使用的作为胞吐作用活化化合物的比卡鲁胺类似物或(S)-比卡鲁胺

发明领域

[0001] 本发明在生物医学化学的领域内。具体地说,本发明涉及溶酶体贮积病和糖原贮积病的领域,并且更具体地涉及用促进胞吐作用的分子进行的其药理学治疗。

[0002] 发明背景

[0003] 溶酶体贮积病(LSD)和糖原贮积病是涉及大分子在细胞中的积聚的遗传性病症。在LSD中,积聚是在溶酶体内产生的,如同它在一些糖原贮积病中发生。

[0004] 溶酶体贮积病被广泛地记载于例如像溶酶体贮积症:原理与实践(Lysosomal Storage Disorders:Principles and Practice),巴斯托尔G.M.(Pastores,G.M.),世界科学(World Scientific)(2009)或溶酶体贮积病:早期诊断与新治疗(Lysosomal Storage Diseases:Early Diagnosis&New Treatments),罗塞拉帕里尼(Rossella Parini)等人,John Libbey Eurotext(2010)中。

[0005] 溶酶体贮积病在历史上基于其贮积产物(神经鞘脂贮积病和神经鞘脂激活因子缺陷、粘多糖贮积病、糖蛋白贮积病、以及其他酶缺陷)或其分子缺陷的性质(在溶酶体酶的翻译后加工方面的缺陷、溶酶体膜和转运缺陷、神经元脂褐质贮积病、以及在溶酶体相关细胞器生物发生方面的缺陷)进行分类。存在超过50种以一种常染色体隐性方式遗传或为X-连锁的LSD。LSD的全球发病率是大约5000个活产婴儿中1个。大多数LSD是由参与一种特定底物的降解的一种特定溶酶体水解酶的缺乏、从而导致其毒性积聚而引起的。在少数情况下,病理是由一种有缺陷的溶酶体膜蛋白、有缺陷的酶靶向或酶激活因子的有缺陷的功能引起的[埃尔HG(Hers HG),溶酶体在贮积病的发病机理中的作用(The role of lysosomes in the pathogeny of storage diseases.)生物化学(Biochimie.)(1972),54(5),753-757;斯克里维CR(Scriber CR),人类遗传学:来自魁北克民众的教训(Human genetics:lessons from Quebec populations.)基因组学与人类遗传学年评(Annu.Rev.Genomics Hum.Genet.)(2001),2,69-101;托马尼(Tomanin)等人,用于溶酶体贮积症的基因治疗方法——一种用于治疗孟德尔病的良好模型(Gene therapy approaches for lysosomal storage disorders,a good model for the treatment of mendelian diseases.)儿科学报(Acta Paediatr.)(2012),101(7),692-701]。LSD的症状和表型变异谱具有广泛范围,这主要是由于一种高等位基因异质性,从而造成严重神经变性和多系统性临床症状。

[0006] 糖原贮积病是影响参与糖原的合成或降解的蛋白质的遗传病症。已根据酶缺陷鉴别的时间顺序描述了多于9种不同类型的糖原贮积病。以较高量的糖原为特征的组织如肌肉和肝脏受这些疾病的影响最大。最常见的症状是:肝肿大、低血糖、肌肉痉挛、运动不耐、疲劳易感性、以及进行性肌无力。糖原贮积病具有可变预后,从轻微症状至伴随早期死亡的严重形式。如同它在LSD中所发生,大多数现有治疗是缓解性的。在过去几年中已出现不同的治疗策略,如:通过严格饮食方案(胃肠外或鼻胃管营养)维持正常血糖浓度、或I型糖原贮积病和III型糖原贮积病中的肾和/或肝移植、以及用于糖原贮积病IV型糖原贮积病、VI型糖原贮积病和IX型糖原贮积病的高碳水化合物和蛋白质饮食。然而,这些疗法的有用性

是有限的,并且不存在用于进行性肌病的满意治疗[斯克里维CR,人类遗传学:来自魁北克民众的教训,基因组学与人类遗传学年评(2001),2,69-101]。

[0007] 负责一种底物的降解的一种酶的活性的缺乏导致所述底物的毒性积聚。贮积材料引起细胞改变(例如像,改变的钙稳态、信号传导途径、运输、炎症、以及氧化应激)的严重级联的机制是在LSD中常见的,但这些疾病的病理生理学仍未充分理解。然而,残留酶活性通常取决于突变并且在大多数情况下,疾病的严重程度与酶缺陷的程度相关。据认为,具有正常值的仅10%-20%的残留酶活性对于产生野生型表型的功能恢复来说可能是足够的[毕度(Bidou)等人,参与肌营养不良的过早终止密码子显示响应于庆大霉素治疗的广谱通读效率(Premature stop codons involved in muscular dystrophies show a broad spectrum of readthrough efficiencies in response to gentamicin treatment.)基因疗法(Gene Ther.)(2004),11(7),619-627]。

[0008] 多年来,用于患有这些疾病的患者的治疗主要包括支持性护理。最近,已出现新的治疗策略。在90年代,造血干细胞移植(HSCT)开始实施,首例酶替代疗法(ERT)在1991年应用于戈谢病(Gaucher disease),从2000年起,出现了用于更多溶酶体疾病的新的ERT且后来底物减少疗法(SRT)。*[帕伦蒂(Parenti),用药理学分子伴侣治疗溶酶体贮积病:从概念到临床(Treating lysosomal storage diseases with pharmacological chaperones: from concept to clinics.)EMBO分子医学(EMBO Mol Med)(2009),1(5),268-279]*。这些疗法已带来这些疾病中的一些的改善。

[0009] 造血干细胞移植(HSCT)局限于特定疾病,并且与由于排异反应、毒性、感染、继发性肿瘤或后遗症所致高发病率和死亡率相关。这种疗法的成功主要源于遇到一个相同供体的可能性。这种疗法已在几种溶酶体疾病中进行了测试,但在它们中的大多数中,实现很少临床益处;事实上,它们中的一些显示有争议的或负面的结果。该疗法仅已在I型粘多糖贮积病(赫尔勒氏病(Hurler disease))、异染性脑白质营养不良、克拉伯病(Krabbe disease)、 α -甘露糖苷贮积症、以及VI型粘多糖贮积病(马-拉氏综合征(Maroteaux-Lamy syndrome))等中取得了一些成功。

[0010] 当一种酶缺陷存在时,应用酶替代疗法(ERT)。它仅可以用于一些疾病并且限于全身性影响,因为这些酶不能穿过血-脑屏障,并且因此这种疗法不能逆转中枢神经系统表现。此外,ERT不能改善骨和瓣症状,或不能作用于细胞凋亡或炎症。总体上,它是一种良好耐受的疗法,具有较低毒性和温和副作用。反过来,除了是一种非常昂贵的和不那么有效的疗法,还需要连续静脉内给药。对于戈谢病、法布里病、庞贝氏病、以及I型粘多糖贮积病、II型粘多糖贮积病和VI型粘多糖贮积病存在当前可用的ERT治疗。

[0011] 底物减少疗法(SRT)试图防止底物积聚和恢复代谢平衡。这种治疗当前仅可用于戈谢病和C型尼曼-匹克二氏病。

[0012] 产生这些疗法的有限益处,这是由于不相容的供体、可能的移植失败并且因为化合物不能穿过血-脑屏障。这些疗法不是100%有效的,并且在大多数情况下仅观察到症状的部分改善。因此,有必要开发更有效和通用的疗法,因为大多数这些疾病都不具有真正治疗。

[0013] 因此,最近已出现了其他潜在策略,如使用能够诱导过早终止密码子(PTC)的通读的药理学分子伴侣或化合物[库兹米亚克(Kuzmiak)等人,将无义介导的mRNA衰变研究应用

于临床:进展和挑战(Applying nonsense-mediated mRNA decay research to the clinic:progress and challenges.)分子医学进展(2006),12(7),306-16;弗洛凯(Floquet)等人,等位基因特异性疗法:通过通读诱导物抑制无义突变(Allele-specific therapy:suppression of nonsense mutations by readthrough inducers.)医学科学(Med.Sci.)(巴黎)(2012),28(2),193-199;帕伦蒂G.用药理学分子伴侣治疗溶酶体贮积病:从概念到临床.EMBO分子医学.(2009),1(5),268-279;博伊德(Boyd)等人,作为用于溶酶体贮积病的治疗剂的药理学分子伴侣(Pharmacological chaperones as therapeutics for lysosomal storage diseases.)医药化学杂志(J.Med.Chem.)(2013),56(7),2705-2725]。此外,已在基因疗法方面取得了主要进展,但它离实现真正临床应用仍然很远[托马尼等人,用于溶酶体贮积症的基因治疗方法——一种用于治疗孟德尔病的良好模型.儿科学报(2012),101(7),692-701;奥里戈特(Haurigot)等人,通过脑脊髓内流体基因疗法全身矫正IIIA型粘多糖贮积病(Whole body correction of mucopolysaccharidosis by intracerebrospinal fluid gene therapy.)临床研究杂志(J.Clin.Invest.)(2013),出版中]。

[0014] 药理学分子伴侣疗法已被提出并且作为用于许多遗传疾病的一种潜在治疗进行了研究,这些遗传疾病是由导致错误折叠的和/或不稳定的蛋白质而不影响酶的活性位点的错义突变造成,这些突变保留一定残留活性。药理学分子伴侣是能够结合突变体蛋白且使突变体蛋白稳定、从而有助于正确折叠并转运至其作用位点的低分子量分子。一些药理学分子伴侣能够穿过血脑屏障并且它们中的大多数是酶的结合酶催化位点直到这些分子伴侣到达它们可能分离、从而使治疗窗变窄的可逆竞争性抑制剂。此疗法限于一种特定类型的突变,并且因为药理学分子伴侣是低分子量分子,所以它们可以干扰其他代谢途径。当今已经针对几种溶酶体疾病(法布里病、戈谢病、I型和II型神经节苷脂贮积病、庞贝氏病、克拉伯病、贝敦氏症和C型圣菲利浦症)的治疗描述了几种药理学分子伴侣[瓦伦扎诺(Valenzano)等人,用于矫正溶酶体贮积症中的酶缺陷的药理学分子伴侣的鉴别和表征(Identification and characterization of pharmacological chaperones to correct enzyme deficiencies in lysosomal storage disorders.)分析和药物开发技术(Assay Drug Dev.Technol.)(2011),9(3),213-235],但现实是市场上仍然不存在可用的治疗。

[0015] 目前在开发中的用于这种疾病的另一种可能的治疗策略是使用能够诱导过早终止密码子(PTC)的通读的化合物。这种疗法是突变依赖性的并且它被限于以下那些情况,其中蛋白质突变是一种无义突变,换言之,一种过早终止密码子的一种氨基酸突变以及通过阅读框移位产生过早终止密码子的突变,如缺失、插入或剪接突变。已经描述了一系列化合物氨基糖苷类,其中庆大霉素能够诱导PTC通读,这允许蛋白质的完整合成且逃避截短mRNA的无义介导的衰变监视途径、无义介导的mRNA衰变(NMD)。这种策略已在体外在两种溶酶体贮积病中进行了测试:赫尔勒氏病[基林(Keeling)等人,庆大霉素介导的赫尔勒氏综合征终止突变的抑制恢复较低水平的 α -L-艾杜糖醛酸酶活性并且减少溶酶体糖胺聚糖积聚(Gentamicin-mediated suppression of Hurler syndrome stop mutations restores a low level of alpha-L-iduronidase activity and reduces lysosomal glycosaminoglycan accumulation.)人类分子遗传学(Hum Mol Genet.)(2001),10(3):291-299]和胱氨酸病[哈利普-伍利(Helip-Wooley)等人,CTNS等位基因的表达:体外亚细

胞定位和氨基糖苷矫正(Expression of CTNS alleles:subcellular localization and aminoglycoside correction in vitro.)分子遗传与代谢(Mol.Genet.Metab.)(2002),75(2):128-133],取得了有希望的结果。不幸的是,氨基糖苷激发严重的副作用,包括耳毒性和肾毒性,这阻止其长期使用[诺德尔曼(Nudelman)等人,通过氨基糖苷修复缺陷基因:具有增强的致病无义突变抑制的遗传霉素(G418)的新衍生物的开发(Repairing faulty genes by aminoglycosides:development of new derivatives of geneticin(G418) with enhanced suppression of diseases-causing nonsense mutations.)生物有机化学与医药化学(Bioorg.Med.Chem.)(2010),18(11):3735-46]。

[0016] 文件W0 2010/015 816A2提出使用不同亚氨基糖来治疗溶酶体贮积症,这些亚氨基糖抑制底物合成,从而避免其毒性积聚;抑或通过使用有缺陷的酶稳定且由此增强其活性来充当药理学分子伴侣。

[0017] 文件US 2013/0023488A1要求一种用于鉴别能够减少脂质的细胞内积聚的化合物的高通量筛选方法。此文件是基于由异常中性脂质积聚造成的肌病的一种模型,该模型用于鉴别能够激活脂肪酸氧化至糖酵解的能量代谢的化合物。虽然据指示所示的这些方法可以用于发现与脂质和/或糖原积聚相关联的某些病症的治疗,但在此方面未提供研究。

[0018] 文件W0 2011/109448A1披露一种使用雄激素受体用于法布里病的诊断方法,以及使用一种雄激素合成抑制剂用于治疗法布里病。该文件仅关注雄激素的异常活性/RA代谢途径以及其代谢物的定量,而不关注鞘糖脂分解代谢。

[0019] 几个文件描述了使用能够激活溶酶体胞吐作用的化合物来治疗某些溶酶体贮积病。例如,文件[Fannie W.Chen等人环糊精溶酶体诱导钙依赖性胞吐作用(Cyclodextrin lysosomal you induce calcium-dependent exocytosis),公共科学图书馆·综合(PlosOne)(2010),5(11),e15054]提出胞吐作用机制是一种环糊精类似物减少患有C型尼曼-匹克病的患者细胞中的内溶酶体胆固醇积聚的途径。文件[徐苗(Miao Xu)等人 δ -生育酚减少C1型尼曼-匹克贮积症和沃尔曼胆固醇症中的脂质积聚(δ -Tocopherol you reduce lipid accumulation in Niemann-Pick type storage Cland Wolman cholesterol disorders),生物化学杂志(JBC)(2012),287(47),39349-39360]描述了潜在地通过经由用 δ -生育酚治疗增加溶酶体胞吐作用来减少胆固醇和其他脂质在溶酶体中的积聚的减少。

[0020] 因此,在现有技术中存在与用于治疗溶酶体贮积病和糖原贮积病的通用活性化合物的缺乏相关的问题,因为迄今为止未描述能够通过一种共同机制起作用来治疗任何种类的溶酶体贮积病的活性化合物。

[0021] 比卡鲁胺是一种用于治疗前列腺癌和多毛症的口服非类固醇抗雄激素。它在1995年首次与化学或外科手术去势给予用于治疗晚期前列腺癌,并且后来它也作为单一疗法给予用于所述疾病的早期阶段的治疗。比卡鲁胺通过结合雄激素受体并通过防止这些受体的激活和随后通过雄激素上调雄激素反应性基因来充当一种纯抗雄激素。比卡鲁胺还加速雄激素受体降解。比卡鲁胺以外消旋形式在临床上给予并且抗雄激素活性仅在(R)-对映异构体中发现,(S)-对映异构体是无活性的[慕克吉,A.(Mukherjee,A.)等人,康士得与雄激素受体的对映选择性结合(Enantioselective binding of Casodex to the androgen receptor.)外来物(Xenobiotica)(1996),26(2),117-22]。(R)-比卡鲁胺被缓慢吸收并呈一种可饱和形式且不受食物摄取影响。它在血浆中具有1周的半衰期。(S)-比卡鲁胺被更快

吸收且它从血浆消除。在稳态下血浆中的(R)-比卡鲁胺的浓度变得比(S)-比卡鲁胺的浓度高100倍[科克索特伊恩D.(Cockshott Ian D.)比卡鲁胺:临床药物代谢动力学和代谢(Bicalutamide:clinical pharmacokinetics and metabolism.)临床药物动力学(Clinical pharmacokinetics)(2004),43(13),855-878]。虽然(S)-比卡鲁胺作为抗雄激素的无活性是已知的,但它由于其低毒性而与(R)-对映异构体共同给予。

[0022] 出人意料地,本发明证明用(S)-比卡鲁胺和/或其结构类似物,无任何抗雄激素活性的化合物治疗各种溶酶体贮积病能够增加细胞胞吐作用,从而减少细胞内部、主要是溶酶体内部底物的毒性积聚。虽然在文件W02011/109448A1中提出使用雄激素受体用于治疗一种溶酶体贮积病,但现有技术中没有暗示本发明中描述的化合物——缺乏抗雄激素活性的化合物将作用于增加细胞胞吐作用,且更具体地溶酶体胞吐作用,因为(R)-比卡鲁胺是具有抗雄激素活性的异构体,(S)-比卡鲁胺作为抗雄激素是无活性的。

[0023] 发明详细说明

[0024] 本发明解决了现有技术中的一些上述问题,并且提供对用于溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的有效治疗的长期需要的解决方案。本发明提供一种通过使用有利于胞吐作用、优选溶酶体胞吐作用的化合物用于溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的治疗。

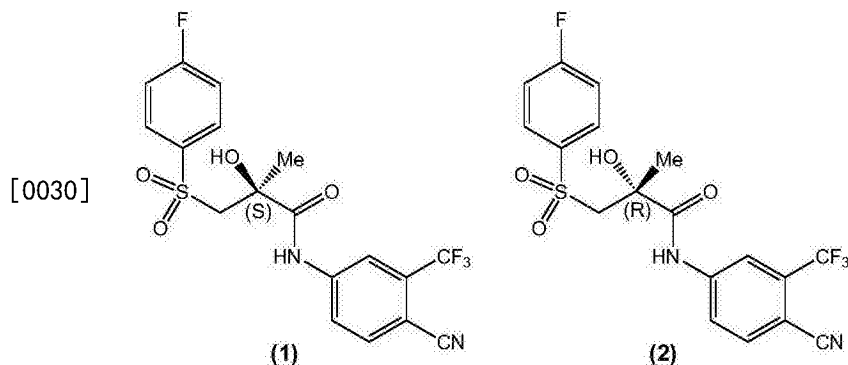
[0025] 本发明描述通过使用(S)-比卡鲁胺和/或其结构类似物,溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症以及糖原贮积病的一种通用治疗。本发明证明,用(S)-比卡鲁胺和/或其结构类似物治疗受不同类型的溶酶体贮积病影响的患者的成纤维细胞促进细胞胞吐作用,并且减少细胞内部、确切地说溶酶体中底物的毒性积聚。。溶酶体中底物的毒性积聚的减少允许治疗和/或预防溶酶体贮积症的临床症状,并且因此本发明提供对现有技术中对用于这种类型的病症和/或疾病的有效治疗的现有需要的解决方案。

[0026] 因此,本发明提供对现有需求的一种新颖的解决方案,该解决方案包括使用(S)-比卡鲁胺和/或其结构类似物的活性用于通过细胞胞吐作用的有效激活来治疗溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病。用(S)-比卡鲁胺和/或其结构类似物治疗的通用性在此通过在所测试的不同疾病中获得的有希望的结果证明,从而不同于对每种病症具有特异性的现有技术中已知的治疗。本发明还证明比卡鲁胺和/或其结构类似物的手性中心的立体化学的重要性,从而相较于(R)-对映异构体突显(S)-对映异构体的功效。出人意料地,(S)-比卡鲁胺以比其对映异构体(R)-比卡鲁胺更有效的方式有利于胞吐作用。因此,(R)-比卡鲁胺在所测试疾病中的大多数中无效,并且显示在其他疾病中的不足功效(虽然此对映异构体显示了在所测试疾病中的一些中的功效,但其活性不是统计上显著的),而(S)-比卡鲁胺在所测试的所有疾病中都有效。本发明还证明,(S)-比卡鲁胺和/或其结构类似物(缺乏抗雄激素活性的化合物)可以用于治疗和/或预防溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的有害临床症状。这代表了用于治疗儿童中的LSD的一个优点,因为用比卡鲁胺(外消旋混合物)治疗延迟儿童的性发育,这是由于(R)-比卡鲁胺对映异构体的抗雄激素作用所致。此外,(S)-比卡鲁胺的抗雄激素活性的缺乏将防止在用外消旋混合物进行的前列腺癌的慢性治疗中发现的源自(R)-比卡鲁胺对映异构体的抗雄激素活性的有害副作用。

[0027] 定义

[0028] 在此包括一些术语和表述的含义,因为这些术语和表述在本发明的背景下使用,其目的是为了帮助理解本发明。

[0029] 在本发明的背景下,术语“比卡鲁胺”是指比卡鲁胺的所有形式,如它的外消旋混合物或它们的单独对映异构体(S)-比卡鲁胺(1)和(R)-比卡鲁胺(2)、或其一种药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。(S)-比卡鲁胺[(2S)-N-[4-氰基-3-(三氟甲基)苯基]-3-[(4-氟苯基)磺酰基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺](1)和(R)-比卡鲁胺[(2S)-N-[4-氰基-3-(三氟甲基)苯基]-3-[(4-氟苯基)磺酰基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺](2)在以下描述:



[0031] (S)-比卡鲁胺(1)和(R)-比卡鲁胺(2)结构

[0032] 术语“个体”是指在本发明中描述的化合物可给予至的任何生物体,该施用是出于实验、诊断和/或治疗目的。该个体可以是一种细胞、一种动物或人。

[0033] 如在此所用,术语“治疗”意指给予根据本发明的一种化合物以便改善由一种疾病和/或病症引起的不良临床症状,或降低或消除与所述疾病或病症相关的一种或多种症状或生理作用的发病率或严重程度。在初始症状之前、期间和/或之后给予治疗。治疗可被给予至未显示疾病和/或病症的任何症状的个体、呈现该疾病和/或病症的初始症状的个体、或呈现该疾病和/或病症的晚期的大量症状的个体。

[0034] 在本发明的背景下,术语“诊断”是指在人体不存在下进行的诊断方法。

[0035] 如在此所用,术语“预防”是指本发明的一种化合物延迟一种疾病和/或病症的发展或使该疾病和/或病症的发展变难的能力,以及该化合物延迟症状的出现或改善这些症状的能力。

[0036] 在本发明的背景下,术语“治疗剂量”是指在本发明中披露的一种化合物的必须给予至一个个体以便获得一种医学或生物学阳性反应的必要量,该个体是一种细胞、一种动物或人类,并且该化合物由研究者、医师、兽医或由该个体自己给予。

[0037] 在本发明的背景下,术语“治疗剂”是指在一种个体中产生一种所希望的药理学作用的任何药剂或化合物。

[0038] 如在此所用,术语“组合疗法”是指其中两种或更多种不同的治疗剂被一起给予至一种个体的那些情况,其中该个体暴露于两种治疗剂。例如,本发明的一种化合物可以与另一种治疗剂同时地抑或顺序地、在分开的单一剂量中或在一单一剂量中共同给予。术语“顺序的”意指本发明的一种治疗剂可以在给予另一种治疗剂之前、期间或之后给予。术语“组合疗法”和使用化合物“组合”是等效术语并且它们在本发明中用于指作为同一治疗的一部分给予的化合物或药剂。

[0039] 在本发明的背景下,术语“活性”或“药理学活性”是指作为用在本发明中披露的一

种化合物治疗一个个体的结果的生物学或医学反应,该个体是一种细胞、一种动物或人类,并且该化合物由研究者、医师、兽医或由该个体自己给予。在本发明的一个具体实施例中,术语“酶活性”是指作为用在本发明中披露的一种化合物治疗一个个体的的结果的一种酶的生物学或医学反应。该活性表示将反应体积考虑在内,每时间单位转化的底物的量。

[0040] 在本发明的背景下,化学术语“对映异构体”是指一种分子的两种立体异构体中的一种,该两种立体异构体各自是另一者的镜像,并且因此它们不是可重合的(它们不是相同的)。具有一个手性中心的一种分子的两种可能的对映异构体被定义为(R)或(S)对映异构体并且它们的定义可在IUPAC规则[国际纯粹与应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry),立体化学基本术语(Basic terminology of stereochemistry),PAC(1996),68(12),2193-2222]中找到。本领域的技术人员可以明确地鉴别一种手性分子的对映异构体。

[0041] 在本发明的背景下,化学术语“结构类似物”是指与另一种化合物具有类似的结构但在某些组分方面不同的一种化合物。两种类似物所不同的组分可以是原子、官能团或子结构,这些原子、官能团或子结构被其他原子、其他官能团或其他子结构置换。

[0042] 在本发明的背景下,化学术语“功能类似物”是指与它所比较的化合物共有同一种类的药理学活性的一种结构类似物。

[0043] 在本发明的背景下,化学术语“结构”是指形成一种分子的原子和键的组。

[0044] 在本发明的背景下,化学术语“子结构”是指一种结构的一个特定部分,所述结构是由一组具体的和精确限定的子结构形成的。

[0045] 在本发明的背景下,化学术语“官能团”是指在分子内部的一组原子或键,这些原子或键具有一种特这些化学反应性,并且进一步为该分子提供特征性功能特性。同一官能团独立于包含它的分子的大小具有类似的化学反应性特性。

[0046] 术语“非环状脂肪族基团”在本发明中用来涵盖直链或支链的烷基、烯基、以及炔基基团。

[0047] 术语“烷基基团”是指一种饱和的、直链的或支链的基团,该基团具有在1与24个之间、优选1与16个之间、更优选1与14个之间、甚至更优选1与12个之间、还更优选1、2、3、4、5、或6个的碳原子,并且该基团通过一个简单键结合至分子的其余部分,该基团包括例如并且不局限于:甲基、乙基、异丙基、异丁基、叔丁基、庚基、辛基、癸基、十二烷基、月桂基、十六烷基、十八烷基、戊基、2-乙基己基、2-甲基丁基、5-甲基己基、以及类似基团。

[0048] 术语“烯基基团”是指一种直链的或支链的基团,该基团具有在2与24个之间、优选2与16个之间、更优选2与14个之间、甚至更优选2与12个之间、还更优选2、3、4、5或6个的碳原子,其中具有一个或多个碳-碳双键、优选具有1、2或3个共轭的或非共轭的碳-碳双键,该基团通过一个单键结合至分子的其余部分,该基团包括例如并且不局限于:乙烯基($-\text{CH}_2=\text{CH}_2$)、烯丙基($-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$)、油烯基、亚油烯基基团、以及类似基团。

[0049] 术语“炔基基团”是指一种直链的或支链的基团,该基团具有在2与24个之间、优选2与16个之间、更优选2与14个之间、甚至更优选2与12个之间、还更优选2、3、4、5或6个的碳原子,其中具有一个或多个碳-碳三键、优选具有1、2或3个共轭的或非共轭的碳-碳三键,该基团通过一个单键结合至分子的其余部分,该基团包括例如并且不局限于:乙炔基基团、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、3-丁炔基、戊炔基如1-戊炔基、以及类似基团。炔基

基团还可以包含一个或多个碳-碳双键,包括例如并且不局限于:丁-1-烯-3-炔基、戊-4-烯-1-炔基基团、以及类似基团。

[0050] 术语“卤素”是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)的一个原子。

[0051] 术语“卤代烷烃基团”是指一种饱和的、直链的或支链的基团,该基团具有在1与24个之间、优选1与16个之间、更优选1与14个之间、甚至更优选1与12个之间、还更优选1、2、3、4、5、或6个的碳原子,该基团通过用卤素原子取代一个或多个氢原子而源自一个烷烃基团,该基团通过一个简单键结合至分子的其余部分,该基团包括例如并且不局限于:三氟甲基、三氯甲基、三氟丁基、三溴丙基、二溴甲基、以及类似基团。术语“全氟烷基基团”是指其中所有氢原子已被卤素原子置换的一个基团。

[0052] 术语“脂环族基团”在本发明中用来涵盖例如并且不局限于:环烷基或环烯基或环炔基基团。

[0053] 术语“环烷基”是指一种饱和的单环或多环脂肪族基团,该基团具有在3与24个之间、优选3与16个之间、更优选3与14个之间、甚至更优选3与12个之间、还更优选3、4、5或6个的碳原子,并且该基团通过一个单键结合至分子的其余部分,该基团包括例如并且不局限于:环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、甲基环己基、二甲基环己基、八氢茚、十氢萘、十二氢非那烯、以及类似基团。

[0054] 术语“环烯基”是指一种非芳香族的单环或多环脂肪族基团,该基团具有在5与24个之间、优选5与16个之间、更优选5与14个之间、甚至更优选5与12个之间、还更优选5或6个的碳原子,其中具有一个或多个碳-碳双键、优选具有1、2或3个共轭的或非共轭的碳-碳双键,该基团通过一个单键结合至分子的其余部分,该基团包括例如并且不局限于:环戊-1-烯基基团和类似基团。

[0055] 术语“环炔基”是指一种非芳香族的单环或多环脂肪族基团,该基团具有在8与24个之间、优选8与16个之间、更优选8与14个之间、甚至更优选8与12个之间、还更优选8或9个的碳原子,其中具有一个或多个碳-碳三键、优选具有1、2或3个共轭的或非共轭的碳-碳三键,该基团通过一个单键结合至分子的其余部分,该基团包括例如并且不局限于:环辛-2-炔-1-基基团和类似基团。环炔基基团还可以包含一个或多个碳-碳双键,包括例如并且不局限于:环辛-4-烯-2-炔基基团和类似基团。

[0056] 术语“芳基基团”是指一种芳香族基团,该基团具有在6与30个之间、优选6与18个之间、更优选6与10个之间、还更优选6或10个的碳原子,该基团包含通过一个碳-碳键结合的或稠合的1、2、3或4个芳环,该基团包括例如并且不局限于:苯基、萘基、联苯基、茚基、菲基或蒽基等等;或一个芳烷基基团。

[0057] 术语“芳烷基基团”是指被一个芳香族基团取代的一个烷基基团,该芳烷基具有在7与24个之间的碳原子并且包括例如并且不局限于: $-(CH_2)_{1-6}$ -苯基、 $-(CH_2)_{1-6}$ -(1-萘基)、 $-(CH_2)_{1-6}$ -(2-萘基)、 $-(CH_2)_{1-6}$ -CH(苯基)₂、以及类似基团。

[0058] 术语“杂环基基团”是指具有3-10个成员的一个碳氢化的环,其中该环的一个或多个原子、优选该环的1、2或3个原子是不同于碳的一种元素例如像氮、氧或硫,并且该基团可以是饱和的或不饱和的。出于本发明的目的,该杂环可以是一种环状系统、单环系统、双环系统或三环系统,其可以包括稠环系统;并且在杂环基基团中的氮、碳或硫原子可以任选地被氧化;氮原子可以任选地被季铵化;并且该杂环基基团可以是部分或完全地饱和的或者

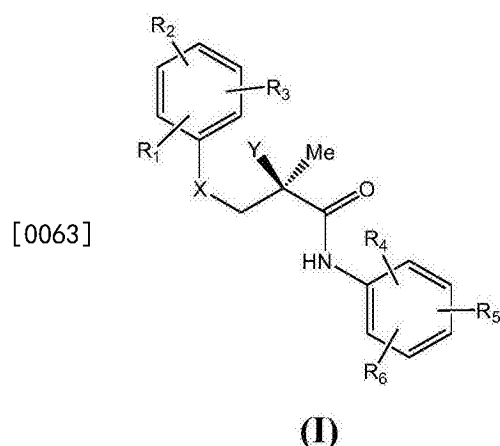
可以是芳香族的。更优选地,术语杂环基是指具有5或6个成员的一个环。饱和杂环基基团的实例是二噁烷、哌啶、哌嗪、吡咯烷、吗啉、以及硫代吗啉。芳香族杂环基基团(还被称为杂芳香族基团)的实例是吡啶、吡咯、呋喃、噻吩、苯并呋喃、咪唑啉、喹啉(quinoline)、喹啉(quinoline)、吡嗪、以及茶啉。

[0059] 术语“杂芳基烷基基团”是指被一个取代的或未取代的芳香族杂环基基团取代的一个烷基基团,该烷基基团具有从1至6个碳原子,并且该芳香族杂环基基团具有在2与24个之间的碳原子以及从1至3个不同于碳的原子,并且该杂芳基烷基包括例如并且不局限于:-(CH₂)₁₋₆-咪唑基、-(CH₂)₁₋₆-三唑基、-(CH₂)₁₋₆-噻吩基、-(CH₂)₁₋₆-呋喃基、-(CH₂)₁₋₆-吡咯烷基、以及类似基团。

[0060] 如在本技术领域中所理解的,在以上定义的基团中可以存在某一程度的取代。因此,在明确指示如此的情况下,在本发明的基团中可以存在取代。在本文件中提及的在本发明的基团中的取代的基团指示规定的基团可以在一个或多个可用的位置,优选在1、2、或3个位置,更优选在1或2个位置、还更优选在1个位置上被一个或多个取代基取代。

[0061] 用于在本发明中使用的化合物

[0062] 因此,在一个第一方面,本发明涉及由通式(I)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物



[0064] 其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物,其中:

[0065] R₁、R₂、以及R₃独立地选自下组,该组由以下各项组成:H、取代的或未取代的非环状脂肪族基团、取代的或未取代的环状脂肪族基团、取代的或未取代的杂环基基团、取代的或未取代的杂芳基烷基基团、取代的或未取代的芳基基团、取代的或未取代的芳烷基基团、氨基、氨基烷基、烷基酰胺基、取代的或未取代的酰基酰胺基、烷氧基、取代的或未取代的烷基磺酰基、烷硫基、氨基酰基、烷酰基氨基、氨基二酰基、二烷酰基氨基、芳氧基、叠氮基、羰氧基、腈、取代的或未取代的二酰基酰胺基、卤素、异硫氰酸酯、取代的或未取代的非环状卤代烷烃、取代的或未取代的环状卤代烷烃、全氟烷烃、羟基、异硫氰酸酯、硝基、氧基羰基、硫醇、取代的或未取代的硫醚;

[0066] R₄、R₅、以及R₆独立地选自下组,该组由以下各项组成:H、取代的或未取代的非环状脂肪族基团、取代的或未取代的环状脂肪族基团、取代的或未取代的杂环基基团、取代的或未取代的杂芳基烷基基团、取代的或未取代的芳基基团、取代的或未取代的芳烷基基团、氨基、氨基烷基、烷基酰胺基、取代的或未取代的酰基酰胺基、烷氧基、取代的或未取代的烷

基磺酰基、烷硫基、氨基酰基、芳氧基、叠氮基、羰氧基、腈、取代的或未取代的二酰基酰胺基、卤素、异硫氰酸酯、取代的或未取代的非环状卤代烷烃、取代的或未取代的环状卤代烷烃、全氟烷烃、羟基、异硫氰酸酯、硝基、氧基羰基、硫醇、取代的或未取代的硫醚；

[0067] X选自下组，该组由以下各项组成：S、SO、SO₂、或O；

[0068] Y选自下组，该组由以下各项组成：氢、-OH、-OR、或-CONHR，其中R是一个烷基、卤代烷基、二卤代烷基、三卤代烷基、芳基、苯基、卤素、烯基或糖基基团、或一种聚乙二醇聚合物；

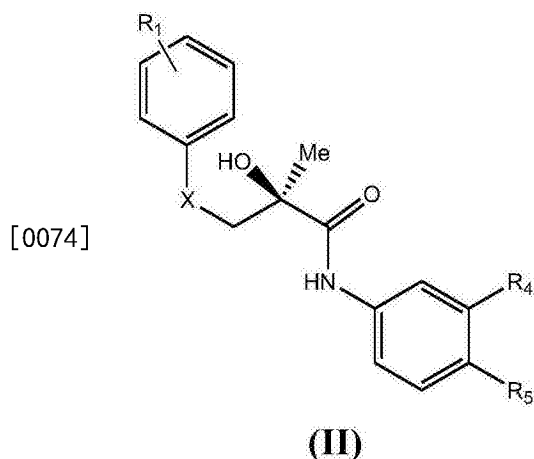
[0069] 用于在溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的诊断、临床症状的预防、和/或治疗中使用。

[0070] 优选地，R₁、R₂、以及R₃独立地选自下组，该组由以下各项组成：H、烷基、卤素、卤代烷烃、氨基、氨基烷基、氨基酰基、烷酰基氨基、酰基酰胺基、烷基酰胺基、氨基二酰基、二酰基酰胺基、二烷酰基氨基、叠氮基、羰氧基、腈、硝基、以及羟基。更优选地，R₁、R₂、以及R₃独立地选自下组，该组由以下各项组成：H、卤素、氨基、氨基酰基、烷酰基氨基、二酰基酰胺基、二烷酰基氨基、腈、异硫氰酸酯、以及羟基。甚至更优选地，R₁、R₂、以及R₃独立地选自下组，该组由以下各项组成：H、卤素、氨基、乙酰胺基、烷基酰胺基、卤代烷基酰胺基、烷酰基氨基、二烷酰基氨基、腈、以及异硫氰酸酯。

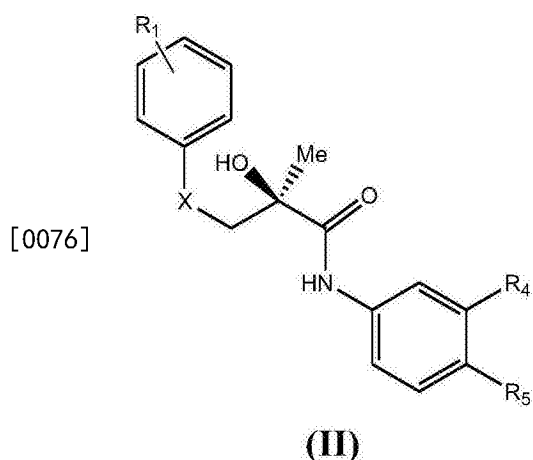
[0071] 优选地，R₄、R₅、以及R₆独立地选自下组，该组由以下各项组成：H、烷基、卤素、卤代烷烃、全氟烷烃、腈、异硫氰酸酯、硝基、叠氮基、氨基酰基、酰基酰胺基、羰氧基、以及羟基。更优选地，R₄、R₅、以及R₆独立地选自下组，该组由以下各项组成：H、卤素、卤代烷烃、全氟烷烃、腈、异硫氰酸酯、硝基、以及羟基。甚至更优选地，R₄、R₅、以及R₆独立地选自下组，该组由以下各项组成：H、卤素、三氟甲基、腈、异硫氰酸酯、以及硝基。

[0072] 优选地，Y选自下组，该组由以下各项组成：-OH、-OR、或-CONHR，其中R是一个烷基、卤代烷基、或糖基基团、或一种聚乙二醇聚合物。

[0073] 根据一个优选实施例，在具有通式(I)的化合物中，R₁选自下组，该组由以下各项组成：氢(H)、卤素(F、Cl、Br、或I)、氨基(-NH₂)、乙酰胺基(-NHCOCH₃)、丙酰胺基(-NHCOEt)、N,N-二乙酰胺基(-NAC₂)、N,N-二丙酰胺基(-N(COEt)₂)、2-氯乙酰胺基(-NHCOCH₂Cl)、腈(-CN)、或异硫氰酸酯(-NCS)基团；R₂和R₃是氢(H)；R₄是一个三氟甲基基团(-CF₃)或氢(H)；R₅是一个腈(-CN)或一个硝基(-NO₂)基团；R₆是氢(H)，X是硫醚(S)、亚砷(SO)、砷(SO₂)、或氧(O)，并且Y是一个羟基基团(OH)。优选地，R₄是处于间位并且R₅处于对位，并且这些化合物由通式(II)定义：



[0075] 因此,在一个优选实施例中,本发明涉及由通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物



[0077] 其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物,其中:

[0078] R_1 是氢(H)、卤素(F、Cl、Br、或I)、氨基($-NH_2$)、乙酰胺基($-NHCOCH_3$)、丙酰胺基($-NHCOEt$)、N,N-二乙酰胺基($-NAC_2$)、N,N-二丙酰胺基($-N(COEt)_2$)、2-氯乙酰胺基($-NHCOCH_2Cl$)、腈($-CN$)、或异硫氰酸酯($-NCS$)基团;

[0079] R_4 是一个三氟甲基基团($-CF_3$)或氢(H);

[0080] R_5 是一个腈($-CN$)或一个硝基($-NO_2$)基团;

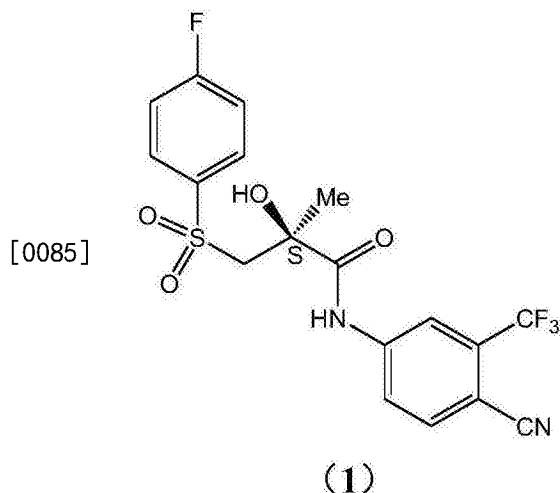
[0081] X是硫醚(S)、亚砷(SO)、砷(SO_2)、或氧(O);

[0082] 用于在溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的诊断、临床症状的预防、和/或治疗中使用。

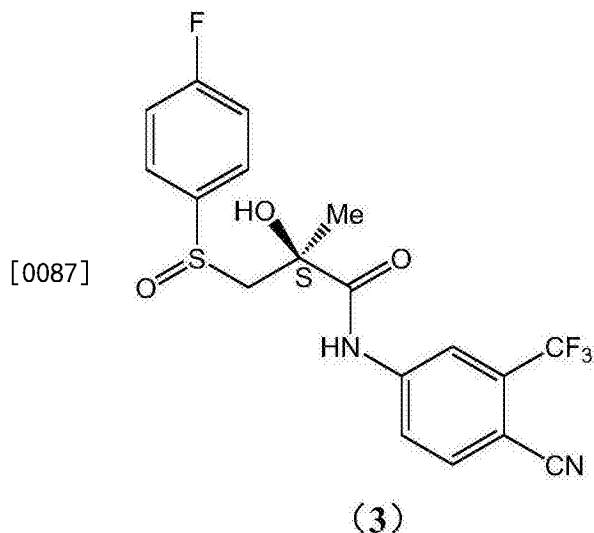
[0083] 在一个更优选的实施例中,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是硫醚(S)、亚砷(SO)或砷(SO_2),并且Y是一个羟基基团(OH)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_4 是一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是一个腈基团(CN),并且X是硫醚(S)、亚砷(SO)或砷(SO_2)。

[0084] 根据一个甚至更优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是砷(SO_2),并且Y是一个羟基基团(OH),对应于(S)-比卡鲁胺结构[(2S)-

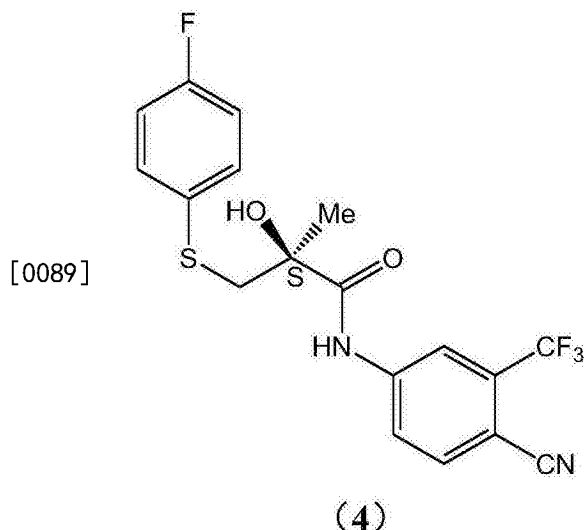
N-[4-氟基-3-(三氟甲基)苯基]-3-[(4-氟苯基)磺酰基]-2-羟基-2-甲基丙酰胺(1)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_4 是一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是一个腈基团(CN),并且X是磺基(SO_2),对应于(S)-比卡鲁胺(1)。因此,在一个优选的实施例中,本发明涉及用于在溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的诊断、临床症状的预防、和/或治疗中使用的(S)-比卡鲁胺。



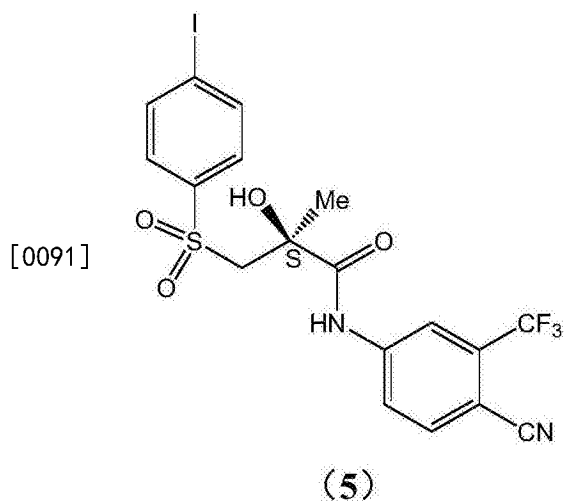
[0086] 根据一个甚至更优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是亚磺基(SO),并且Y是一个羟基基团(OH)(3)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是亚磺基(SO)(3)。



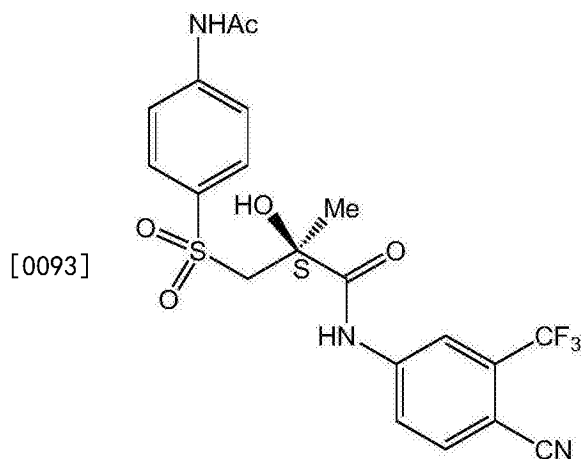
[0088] 根据一个甚至更优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(4)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是硫醚(S)(4)。



[0090] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的碘(I), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是砜(SO_2),并且Y是一个羟基基团(OH)(5)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的碘(I), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是砜(SO_2)(5)。

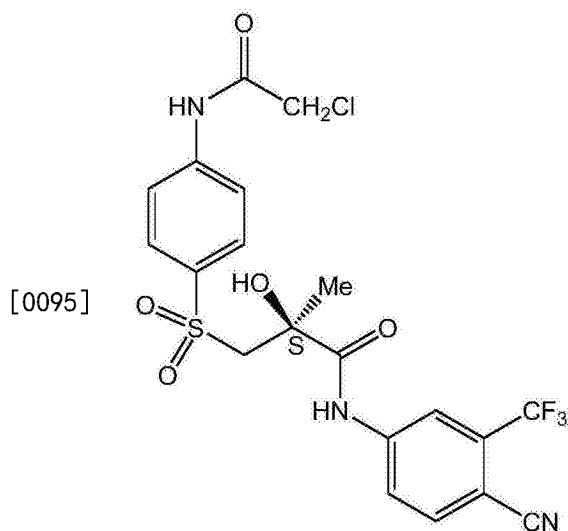


[0092] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个乙酰胺基基团($NHAc$), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是砜(SO_2),并且Y是一个羟基基团(OH)(6)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个乙酰胺基基团($NHAc$), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是砜(SO_2)(6)。



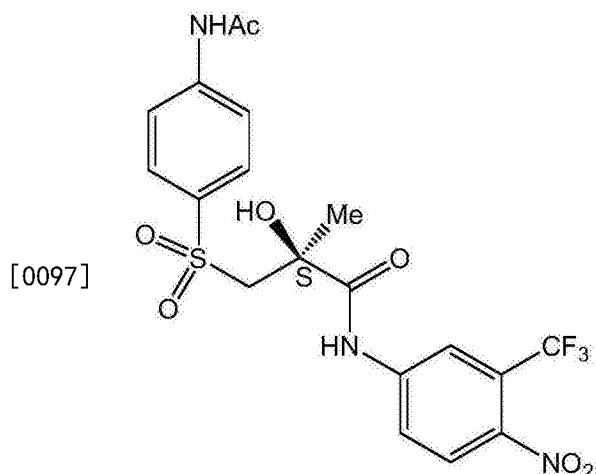
(6)

[0094] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个2-氯乙酰胺基基团, R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN), R_6 是氢(H),X是砜(SO_2),并且Y是一个羟基基团(OH)(7)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个2-氯乙酰胺基基团, R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN),并且X是砜(SO_2)(7)。



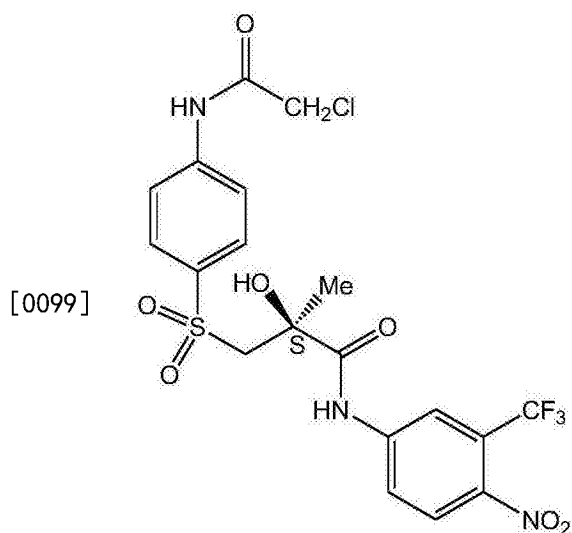
(7)

[0096] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个乙酰胺基基团(NHAc), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO_2), R_6 是氢(H),X是砜(SO_2),并且Y是一个羟基基团(OH)(8)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个乙酰胺基基团(NHAc), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO_2),并且X是砜(SO_2)(8)。



(8)

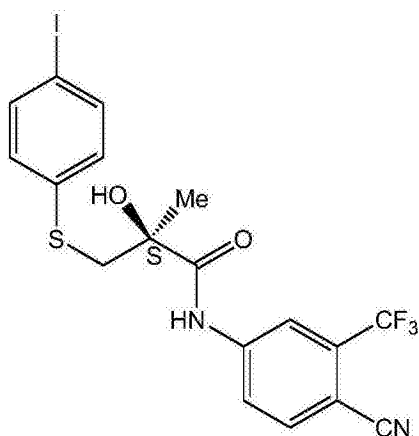
[0098] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个2-氯乙酰胺基团, R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO_2), R_6 是氢(H),X是砜(SO_2),并且Y是一个羟基基团(OH)(9)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个2-氯乙酰胺基团, R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO_2),并且X是砜(SO_2)(9)。



(9)

[0100] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的碘, R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(10)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的碘(I), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是硫醚(S)(10)。

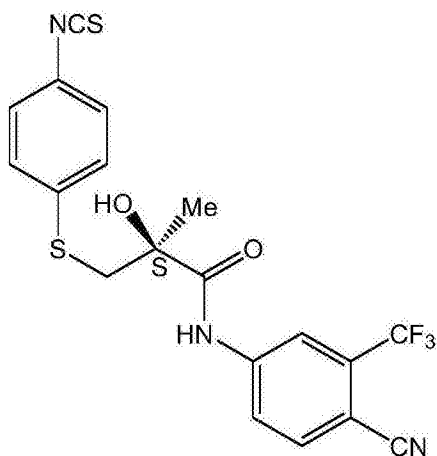
[0101]



(10)

[0102] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个异硫氰酸酯基团(-NCS), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(11)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个异硫氰酸酯基团(-NCS), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是硫醚(S)(11)。

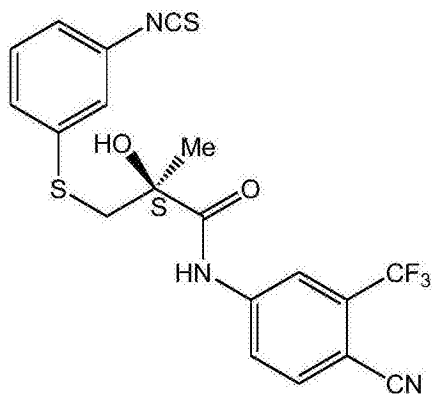
[0103]



(11)

[0104] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于间位的一个异硫氰酸酯基团(-NCS), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(12)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于间位的一个异硫氰酸酯基团(-NCS), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是硫醚(S)(12)。

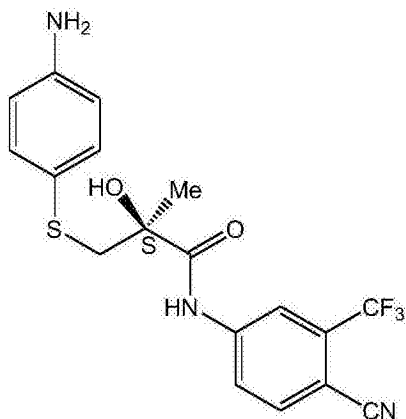
[0105]



(12)

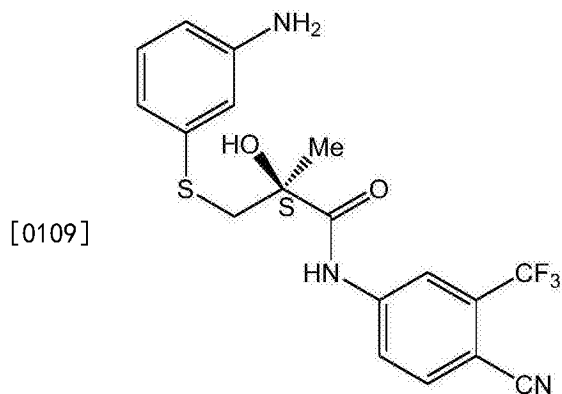
[0106] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中,R₁是处于对位的一个氨基基团(NH₂),R₂和R₃是氢(H),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个腈基团(CN),R₆是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(13)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中,R₁是处于对位的一个氨基基团(NH₂),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是硫醚(S)(13)。

[0107]



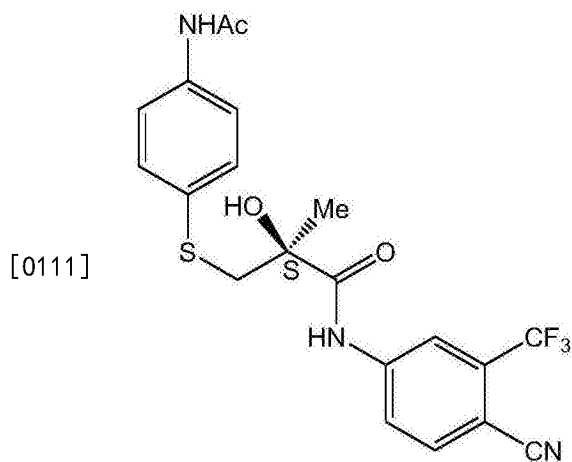
(13)

[0108] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中,R₁是处于间位的一个氨基基团(NH₂),R₂和R₃是氢(H),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个腈基团(CN),R₆是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(14)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中,R₁是处于间位的一个氨基基团(NH₂),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是硫醚(S)(14)。



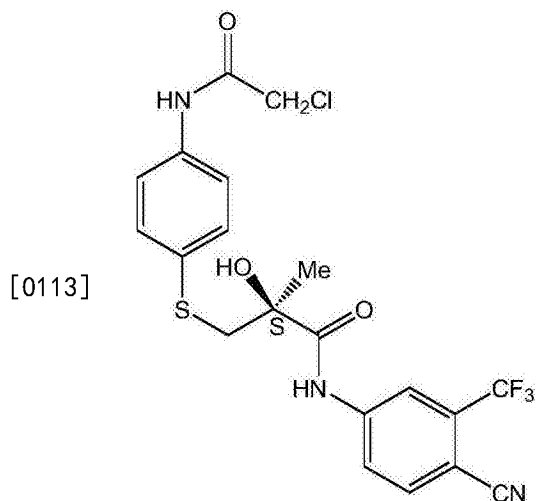
(14)

[0110] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个乙酰胺基基团(NHAc), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN), R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(15)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个乙酰胺基基团(NHAc), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN),并且X是硫醚(S)(15)。



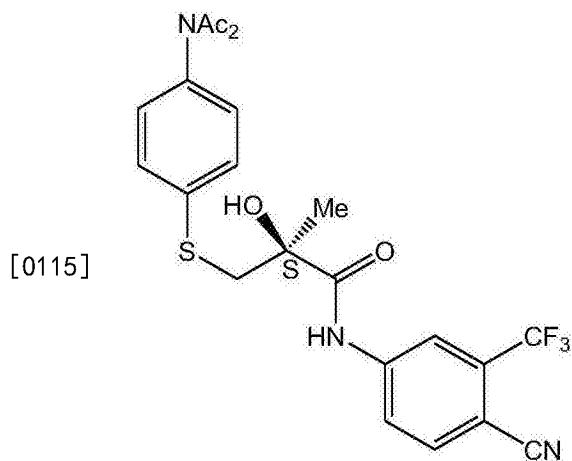
(15)

[0112] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个2-氯乙酰胺基基团, R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN), R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(16)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的2-氯乙酰胺基基团, R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN),并且X是硫醚(S)(16)。



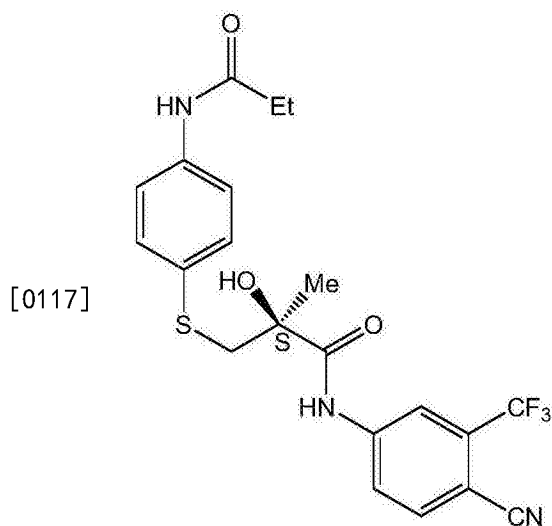
(16)

[0114] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个N,N-二乙酰胺基基团(NAc_2), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN), R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(17)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个N,N-二乙酰胺基基团(NAc_2), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN),并且X是硫醚(S)(17)。



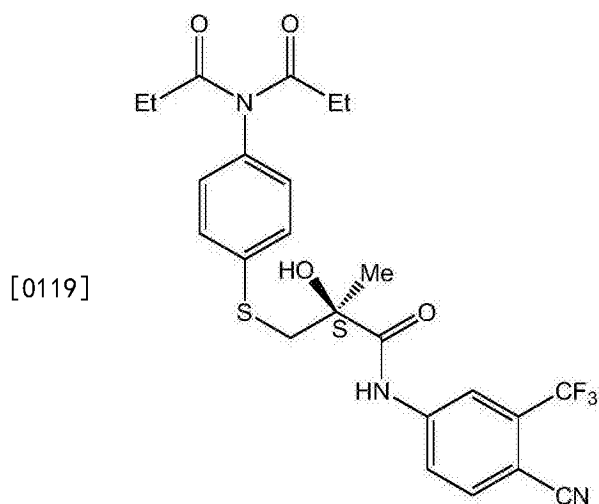
(17)

[0116] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个丙酰胺基基团, R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN), R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(18)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个丙酰胺基基团, R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基基团(CN),并且X是硫醚(S)(18)。



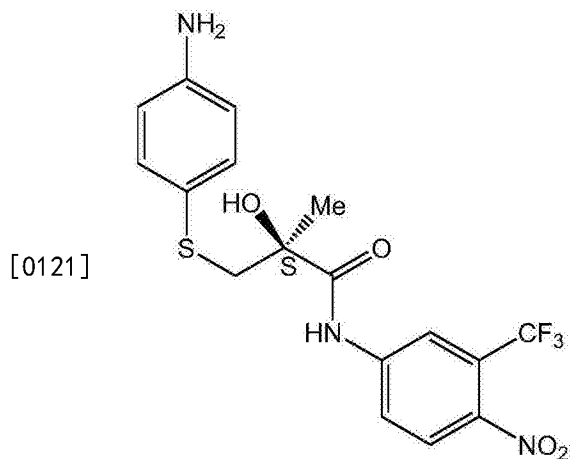
(18)

[0118] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中,R₁是处于对位的一个N,N-二丙酰胺基基团,R₂和R₃是氢(H),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个腈基基团(CN),R₆是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(19)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中,R₁是处于对位的一个N,N-二丙酰胺基基团,R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个腈基基团(CN),并且X是硫醚(S)(19)。



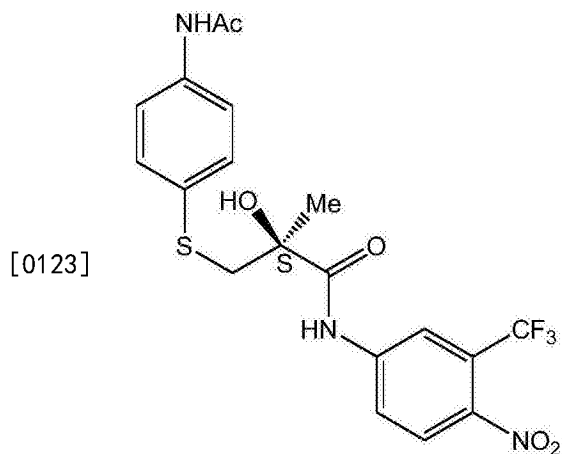
(19)

[0120] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中,R₁是处于对位的一个氨基基团(NH₂),R₂和R₃是氢(H),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个硝基基团(NO₂),R₆是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(20)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中,R₁是处于对位的一个氨基基团(NH₂),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个硝基基团(NO₂),并且X是硫醚(S)(20)。



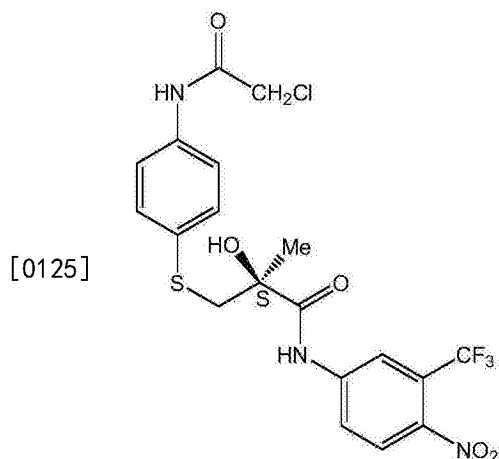
(20)

[0122] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中,R₁是处于对位的一个乙酰胺基基团(NHAc),R₂和R₃是氢(H),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个硝基基团(NO₂),R₆是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(21)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中,R₁是处于对位的一个乙酰胺基基团(NHAc),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个硝基基团(NO₂),并且X是硫醚(S)(21)。



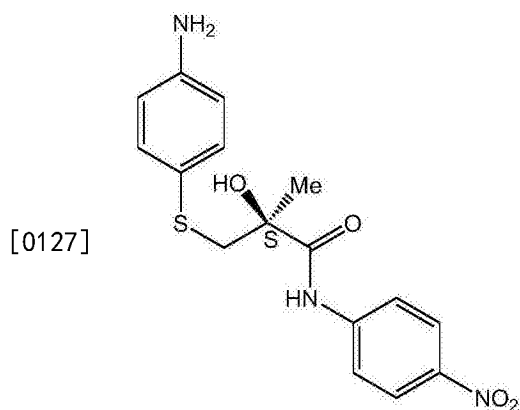
(21)

[0124] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中,R₁是处于对位的一个2-氯乙酰胺基基团,R₂和R₃是氢(H),R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个硝基基团(NO₂),R₆是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(22)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中,R₁是处于对位的一个2-氯乙酰胺基基团,R₄是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃),R₅是处于对位的一个硝基基团(NO₂),并且X是硫醚(S)(22)。



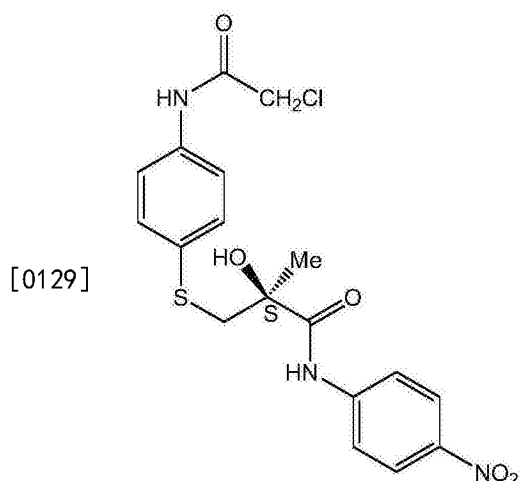
(22)

[0126] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个氨基基团(NH_2), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于对位的一个硝基基团(NO_2), R_5 和 R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(23)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个氨基基团(NH_2), R_4 是氢(H), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO_2),并且X是硫醚(S)(23)。



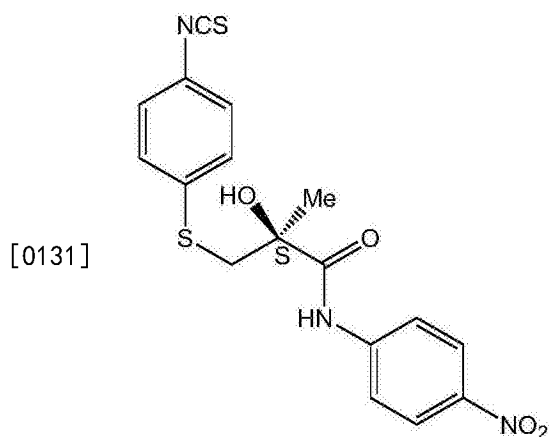
(23)

[0128] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的2-氯乙酰胺基基团, R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于对位的一个硝基基团(NO_2), R_5 和 R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(24)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个2-氯乙酰胺基基团, R_4 是氢(H), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO_2),并且X是硫醚(S)(24)。



(24)

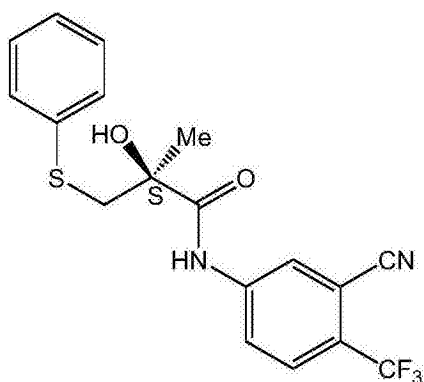
[0130] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个异硫氰酸酯基团(SCN-), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于对位的一个硝基基团(NO_2), R_5 和 R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(25)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个异硫氰酸酯基团(SCN-), R_4 是氢(H), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO_2),并且X是硫醚(S)(25)。



(25)

[0132] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 、 R_2 、以及 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个腈基团(CN), R_5 是处于对位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_6 是氢(H),X是硫醚(S),并且Y是一个羟基基团(OH)(26)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的氢(H), R_4 是处于间位的一个腈基团(CN), R_5 是处于对位的一个三氟甲基基团(CF_3),并且X是硫醚(S)(26)。

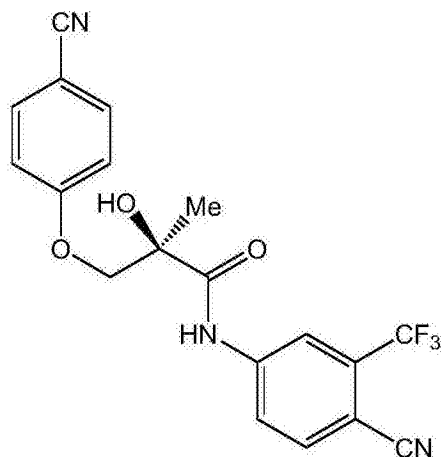
[0133]



(26)

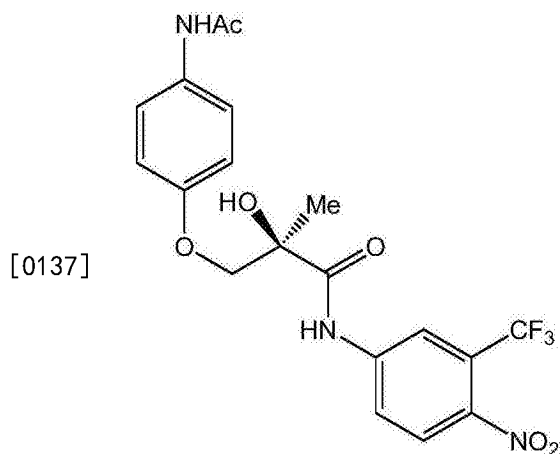
[0134] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个腈基团(CN), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是氧(O),并且Y是一个羟基基团(OH)(27)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的腈基团(CN), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是氧(O)(27)。

[0135]



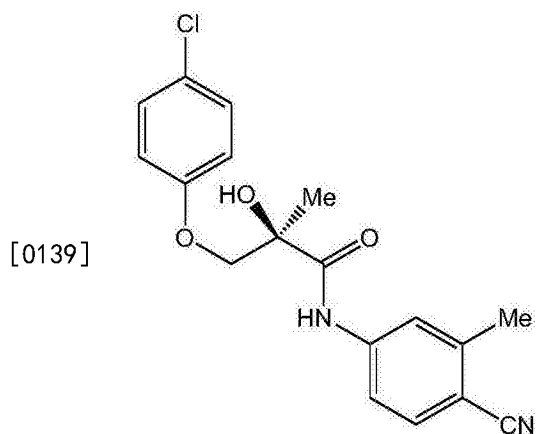
(27)

[0136] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的一个乙酰胺基基团(NHAc), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO₂), R_6 是氢(H),X是氧(O),并且Y是一个羟基基团(OH)(28)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的一个乙酰胺基基团(NHAc), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF₃), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO₂),并且X是氧(O)(28)。



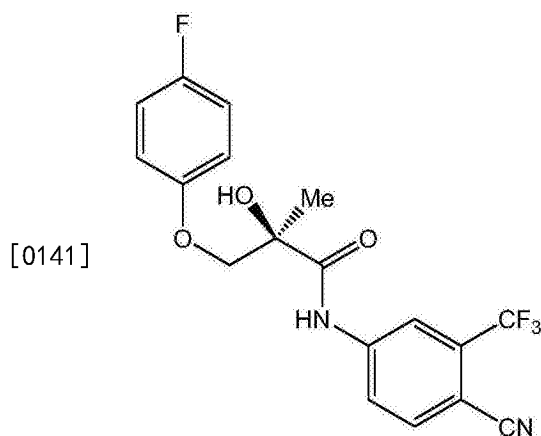
(28)

[0138] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的氯(Cl), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个甲基基团(CH_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是氧(O),并且Y是一个羟基基团(OH)(29)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的氯(Cl), R_4 是处于间位的一个甲基基团(CH_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是氧(O)(29)。



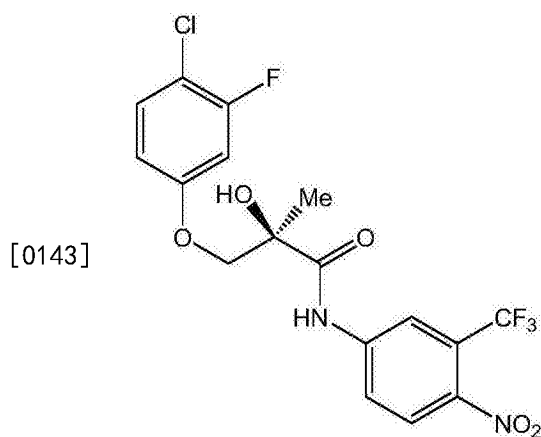
(29)

[0140] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_2 和 R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN), R_6 是氢(H),X是氧(O),并且Y是一个羟基基团(OH)(30)。以一种等效的方式,在具有通式(II)的化合物中, R_1 是处于对位的氟(F), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个腈基团(CN),并且X是氧(O)(30)。



(30)

[0142] 根据另一个优选的实施例,在具有通式(I)的化合物中, R_1 是处于间位的氟(F), R_2 是处于对位的氯(Cl), R_3 是氢(H), R_4 是处于间位的一个三氟甲基基团(CF_3), R_5 是处于对位的一个硝基基团(NO_2), R_6 是氢(H),X是氧(O),并且Y是一个羟基基团(OH)(31)。



(31)

[0144] 本发明的化合物可以在它们的结构中包含一种可检测的元素或一种放射治疗元素。可检测的元素被理解为任何放射性或荧光元素,或用于磁共振成像的阳性对比元素,优选地一种金属离子,该元素在一种体内诊断技术中展示一种可检测特性。放射治疗元素被理解为发射 α 辐射、 β 辐射或 γ 辐射的任何元素。

[0145] 本发明涉及一种用于溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的治疗、临床症状的预防、和/或诊断的方法,该方法包括给予药学上有效量的由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物。

[0146] 本发明涉及由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物在制备一种用于溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的诊断、临床症状的预防、和/或治疗的药用组合中的用途。

[0147] 在一个第二方面,本发明涉及用于在需要胞吐作用的刺激、且更优选地溶酶体胞吐作用的刺激的疾病和/或病症的诊断、临床症状的预防、和/或治疗中使用的由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其

水合物和/或其溶剂化物。

[0148] 本发明还涉及一种用于需要胞吐作用的刺激、且更优选地溶酶体胞吐作用的刺激疾病和/或病症的治疗、临床症状的预防、和/或诊断的方法，该方法包括给予药学上有效量的由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物。

[0149] 本发明涉及由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物在制备一种用于需要胞吐作用的刺激、且更优选地溶酶体胞吐作用的刺激疾病和/或病症的临床症状的预防、和/或治疗的药用组合中的用途。

[0150] 用于在本发明中使用的化合物可以按对映异构纯形式或作为一种对映异构体混合物(作为一种外消旋混合物抑或作为含有对映异构体过量的两种对映异构体中的任一种的混合物)来给予。优选地，用于在本发明中使用的化合物是呈对映异构纯形式或在具有高于99%、高于98%、高于97%、高于96%、高于95%、高于94%、高于93%、高于92%、高于91%、高于90%、高于85%、高于80%、高于75%、高于70%、高于65%、高于60%、高于55%、或高于50%的对映异构体过量的混合物内。

[0151] 在本发明的背景内，存在用于在本发明中使用的化合物的药学上可接受的盐。术语“药学上可接受的盐”是指被认可它在动物并且更具体地说人类中的使用的一种盐，并且包括用于形成碱加成盐的盐，无论它们是无机的，例如并且不局限于，锂、钠、钾、钙、镁、锰、铜、锌或铝等；还是有机的，例如并且不局限于，乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、精氨酸、赖氨酸、组氨酸或哌嗪等；或用于形成酸加成盐的盐，无论它们是有机的，例如并且不局限于，乙酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、延胡索酸盐、苯甲酸盐、天冬氨酸盐、二天冬氨酸盐、三天冬氨酸盐、谷氨酸盐、琥珀酸盐、油酸盐、三氟乙酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐或葡萄糖酸盐等；还是无机的，例如并且不局限于，氯化物、硫酸盐、硼酸盐或碳酸盐等。盐的性质不是关键性的，只要它是药学上可接受的。本发明的这些化合物的药学上可接受的盐可以通过现有技术中熟知的常规方法来获得[贝尔热S.M.(Berge S.M.)等人,药用盐(Pharmaceutical salts.)药物科学杂志(J.Pharm.Sci.)(1977),66,1-19]。

[0152] 在本发明的背景下，术语“溶酶体贮积病”和“溶酶体贮积症”是指由一种化合物在溶酶体中的过量贮积、且因此病理学贮积造成或与一种化合物在溶酶体中的过量贮积、且因此病理学贮积相关的疾病和/或病症。术语“糖原贮积症”或“糖原贮积病”是指由由于糖原的合成或降解中的一种缺陷所致的糖原的积聚造成的一组疾病，且因此糖原以毒性量积聚于细胞中。体内的所有细胞都可能受溶酶体贮积病或糖原贮积病影响。本领域的技术人员可能已知底物在细胞中的毒性积聚的减少可以带来许多溶酶体贮积病和/或糖原贮积病的临床症状的治疗、预防和/或缓解。溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症包括但不限于， α -甘露糖贮积症、天冬氨酸葡萄糖胺尿症、 β -甘露糖贮积症、胱氨酸病、 α -N-乙酰氨基半乳糖苷酶缺乏(辛德勒病(Schindler disease))、天冬氨酸酰胺酶缺乏症或酰化氨基酸水解酶缺乏症(卡纳万病(Canavan disease))、多发性硫酸酯酶缺乏症(MSD)、类固醇硫酸酯酶缺乏症、胆固醇酯贮积病、沃尔曼病、法布里病、法伯病(Farber disease)、戈谢病(I型、II型和III型)、克拉伯病(包括婴儿发作型、迟发型、以及激活因子缺乏型)、尼曼-匹克病(A型/B型和C型)、岩藻糖苷贮积病、半乳糖唾液酸贮积症、GM1神经节苷脂贮积病(例如，婴儿、晚婴/青少

年和成人/慢性)、GM2神经节苷脂贮积病(包括激活因子缺乏型、桑德霍夫病(Sandhoff disease)和泰-萨二氏病(Tay-Sachs disease))、糖原贮积病(例如,I型糖原贮积病或冯吉尔克病(Von Gierke disease)、II型糖原贮积病或庞贝氏病、IIb型糖原贮积病或达农病(Danon disease)、V型糖原贮积病或麦卡德尔病(McArdle disease)、以及VII型糖原贮积病或塔勒氏病(Tarui disease))、异染性脑白质营养不良(包括所有其变型且由于激活因子缺乏所致)、神经元蜡样脂褐质贮积病(包括从NCL1至NCL10的所有其变型)、I型粘脂贮积症(唾液酸贮积症,包括所有其变型如婴儿或萨拉病(Salla disease)和青少年)、II型粘脂贮积症(I-细胞疾病)、IIIA型或 α/β 粘脂贮积症(假赫尔勒氏多种营养不良(Pseudo-Hurler polydystrophy))、IIIC型或 γ 粘脂贮积症、IV型粘脂贮积症、I型粘多糖贮积病(赫尔勒氏、施艾氏和赫尔勒氏-施艾氏综合征)、II型粘多糖贮积病(亨特氏综合征)、III型粘多糖贮积病(A型/MPS III A型圣菲利浦综合征、B型/MPS III B型圣菲利浦综合征、C型/MPS III C型圣菲利浦综合征、以及D型/MPS III D型圣菲利浦综合征)、IV型粘多糖贮积病(A型/MPS IVA型莫尔基奥氏病和B型/MPS IVB型莫尔基奥氏病)、VI型粘多糖贮积病(马-拉氏病(Maroteaux-Lamy disease))、VII型粘多糖贮积病(斯赖综合征(Sly syndrome))、IX型粘多糖贮积病(透明质酸酶缺乏症)、以及致密性成骨不全症。

[0153] 优选地,这些溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症选自但不限于,A型圣菲利浦综合征、B型圣菲利浦综合征、赫尔勒氏综合征、泰-萨二氏病、戈谢病、法布里病、以及A/B型尼曼-匹克病。

[0154] 在本发明的背景下,术语“胞吐作用”或“细胞胞吐作用”是指细胞经由一种能量依赖性机制将分泌囊泡引导出细胞膜且将它们的内容物释放至细胞外介质中的细胞过程。更具体地,术语“溶酶体胞吐作用”是指其中胞吐囊泡是溶酶体的那些胞吐作用过程。

[0155] 在本发明的背景下,术语“溶酶体胞吐作用的增加”是指相较于一种参考,通常相较于一种未处理细胞的胞吐作用值,溶酶体胞吐作用的增加。在一些实施例中,用由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物处理相较于未用所述化合物处理的一种对照的值产生溶酶体胞吐作用的至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、或至少95%、或至少约两倍、三倍或甚至更多的增加。

[0156] 溶酶体胞吐作用的增加可以由本领域的技术人员例如在体外测量培养基中的 β -己糖胺酶溶酶体酶的酶活性来定量[Xu M等人, δ 生育酚减少C1型尼曼-匹克症和沃尔曼胆固醇贮积症中的脂质积聚(δ -Tocopherol reduces lipid accumulation in Niemann-Pick type C and Wolman cholesterol storage disorders.)生物化学杂志(J.Biol.Chem.)(2012)287(47),39349-39360]。在其他实施例中,溶酶体胞吐作用的增加可以使用从巴尔博萨(Barbosa)等人改编的1,9-二甲基亚甲基蓝(DMB)测定通过分析糖胺聚糖减少来进行定量[巴尔博萨等人,用于生物提取物中的硫酸化糖胺聚糖定量的改进的和简单的微量测定及其在皮肤和肌肉组织研究中的用途(Improved and simple micro assay for sulfated glycosaminoglycans quantification in biological extracts and its use in skin and muscle tissue studies.)糖生物学(Glycobiology.)(2003),13(9),647-653]。在其他实施例中,溶酶体胞吐作用还可以在通过兔抗-LAMP1选择性标记、接着与连接至FITC的第二抗体抗-兔一起孵育进行的溶酶体移动之后通过共焦显微镜进行

观察[梅迪纳D.L.(Medina D.L.)等人,溶酶体胞吐作用的转录活化促进细胞清除(Transcriptional activation of lysosomal exocytosis promotes cellular clearance.)发育细胞(Dev.Cell.)(2011)21(3),421-430]。

[0157] 在本发明的背景下,术语“糖胺聚糖(GAG)的减少”是指相较于一种参考,糖胺聚糖水平的降低,该参考通常是未用该化合物治疗的一个个体的糖胺聚糖的值。在一些实施例中,用由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物治疗一个个体相较于未用所述化合物治疗的一种对照的值产生糖胺聚糖水平的至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、或至少95%降低。

[0158] 应当给予的“药学上有效量”的由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物、以及其剂量将取决于多种因素,包括年龄、患者的状况、待治疗或预防的病症或疾病的性质或严重程度、给药途径和频率、以及待使用的化合物的具体性质。

[0159] “药学上有效量”应当理解为意指无毒的但足以提供所希望的作用的本发明的一种化合物的量。本发明的这些化合物以药学上有效的浓度使用以便实现所希望的作用。在每个剂量中,应当给予的由通式(I)或通式(II)共同定义的(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物的总量有效于增加溶酶体胞吐作用。通常,这些化合物的治疗剂量在0.1至125mg/Kg体重/天的范围内,所给予的量在1与2000mg/天之间。优选地,治疗剂量在0.5至100mg/Kg、1与50mg/Kg之间、5与25mg/Kg之间、10与20mg/Kg之间的范围内。优选地,每天给予的化合物的量在0.1与2000mg之间、0.5与1500mg之间、1与1000mg之间、5与750mg之间、10与600mg之间、20与400mg之间、30与300mg之间,且更优选地是50、100、或150mg。

[0160] 药用组合物和组合疗法

[0161] 因此,在另一方面,本发明涉及一种用于溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的诊断、临床症状的预防、和/或治疗的药用组合物,该药用组合物包含由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物。

[0162] 用于在本发明中使用的药用组合物可以包含至少一种药学上可接受的赋形剂。这些药学上可接受的赋形剂的数量和性质取决于所希望的给予途径。药学上可接受的赋形剂是本领域的技术人员熟知的[罗R.C.(Rowe R.C.)、舍斯基P.J.(Sheskey P.J.)、奎恩M.E.(Quinn,M.E.)(2009)“药用赋形剂手册(Handbook of Pharmaceutical Excipients),第6版”,医药出版社和美国药剂师协会(Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association)]。所述组合物可以使用现有技术中已知的常规方法来制备。

[0163] 包含由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物的药用组合物可以经由任何适当的途径给予,例如局部、肠内或胃肠外途径,并且将包括对于通过所希望的给予途径给予配制品来说必要的药学上可接受的赋形剂。如在此所用,术语“局部”途径包括皮肤和眼途径;术语“肠内”途径包括给予至消化系统,如口、颊、胃、舌下和直肠途径;并且术语“胃肠外”是指鼻、耳、眼、阴道、皮下注射、皮内、血管内例如静脉内、肌肉内、眼内、脊柱内、颅内、关节内、

鞘内、以及腹膜内途径、以及任何其他类似的注射或输注技术。还考虑体外治疗,例如通过培养受损的细胞和/或干细胞;以及离体治疗。在一个更优选的实施例中,治疗在体内进行,其中肠内途径是优选的给予途径。

[0164] 含有由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物的药用组合物可以用于不同类型的配制品中以用于它们的肠内给予,如并且不限于胶囊(包括凝胶胶囊、软胶囊、硬胶囊)、片剂(包括糖衣片剂)、丸剂、粉末、粒化形式、口香糖、溶液、混悬液、乳液、糖浆、酏剂、多糖膜、凝胶或明胶、以及现有技术中已知的任何其他剂型。本发明的这些化合物可以与用于口服组合物的常见赋形剂和佐剂一起配制,如并且不限于,脂肪组分、水性组分、润湿剂、防腐剂、增稠剂、调味剂、香味剂、抗氧化剂、以及着色剂。

[0165] 由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物还可以并入递送系统和/或缓释系统,如脂质体、毫米颗粒、微颗粒和纳米颗粒、海绵状物、囊泡、胶束、毫米球、微球和纳米球、脂质球、毫米胶囊、微胶囊和纳米胶囊、以及微乳剂和纳米乳剂,可以添加这些递送系统和/或缓释系统以便实现有效成分的更大生物利用度和/或改进它的药物代谢动力学和药效动力学特性。缓释配制品可以通过现有技术中已知的方法来制备,并且可以例如通过以下方式给予:通过局部给药(包括粘附贴剂)、口服、经颊、舌下、胃、直肠、静脉内、肌肉内或皮下给药,或通过直接植入至特定身体部位中,并且优选地应该释放相对恒定量的本发明的这些化合物。在该缓释配制品中包含的化合物的量将取决于例如给药部位、该化合物的释放动力学和持续时间、以及有待治疗或预防的病状的性质。

[0166] 由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物与其他治疗活性剂和药用佐剂的组合的共同给予可以在同一药用组合物中抑或在不同的药用组合物中进行。该组合可以呈同一药物形式或呈不同药物形式进行。

[0167] 由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物可以与至少一种佐剂组合给予,该至少一种佐剂如但不限于激活溶酶体胞吐作用的其他化合物,如 δ -生育酚或环糊精如2-羟丙基- β -环糊精;促进蛋白质稳定化的药理学分子伴侣;用于基于底物减少的疗法(SRT)中的化合物,如N-丁基-脱氧野尻霉素或麦格司他(Zavesca®)、盐酸米加斯他或盐酸divoglustat;用于酶替代疗法(ERT)中的酶;抗氧化剂化合物;用于溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的基因疗法中的化合物;和/或其混合物。

[0168] 包含由通式(I)或通式(II)共同定义的化合物(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物的药用组合物可以包含至少一种佐剂,该至少一种佐剂如但不限于激活溶酶体胞吐作用的其他化合物,如 δ -生育酚或环糊精如2-羟丙基- β -环糊精;促进蛋白质稳定化的药理学分子伴侣;用于基于底物减少的疗法(SRT)中的化合物,如N-丁基-脱氧野尻霉素或麦格司他(Zavesca®)、盐酸米加斯他或盐酸divoglustat;用于酶替代疗法(ERT)中的酶;抗氧化剂化合物;用于溶酶体贮积病和/或溶酶体贮积症和/或糖原贮积病的基因疗法中的化合物;和/或其混合物。

[0169] 药理学分子伴侣的实例包括但不限于,1-脱氧野尻霉素、野尻霉素-1-磺酸、N-(7-

氧杂癸基)-1-脱氧野尻霉素、2-乙酰胺基-脱氧野尻霉素、2-乙酰胺基-1,2-二脱氧野尻霉素、1-脱氧半乳糖野尻霉素、N-丁基-脱氧半乳糖野尻霉素、栗树精胺、N-乙酰葡萄糖胺噻唑啉、半乳糖、硝基茛酮、乙胺嘧啶、美格鲁特、盐酸米加斯他、盐酸divoglustat、2,5-二脱氧-2,5-亚氨基-D-阿卓糖醇、异法戈明(isofagomine)、氨溴索、地尔硫卓、葡萄糖胺、它们的结构类似物、它们的盐和/或其混合物。

[0170] 用于酶替代疗法(ERT)中的酶的实例包括但不限于,天然酶和/或它们的重组合成形式和/或它们的合成重组突变体:N-天冬氨酰基-β-氨基葡萄糖苷酶、乙酰基-CoA α-氨基葡萄糖苷N-乙酰转移酶、N-乙酰葡萄糖胺-6-硫酸酯酶、N-乙酰葡萄糖胺-1-磷酸转移酶、α-N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶、α-N-乙酰神经氨酸苷酶、唾液酸酶、酸性神经酰胺酶、酸性α-葡萄糖苷酶、酸性麦芽糖酶、天冬氨酸酯酶、溶酶体酸性脂肪酶、酸性鞘磷脂酶、芳基硫酸酯酶A、芳基硫酸酯酶B、α-L-岩藻糖苷酶、半乳糖脑苷脂酶、半乳糖胺-6-硫酸酯酶、α-半乳糖苷酶A、α-半乳糖苷酶B、β-半乳糖苷酶、半乳糖神经酰胺酶、β-葡萄糖苷酸酶、β-葡萄糖苷酶、β-葡萄糖脑苷脂酶、乙酰肝素N-硫酸酯酶、β-己糖胺酶A、β-己糖胺酶A/B、透明质酸酶-1、α-L-艾杜糖醛酸酶、艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶、α-D-甘露糖苷酶、β-甘露糖苷酶、以及α-神经氨酸苷酶、和/或其混合物。这些酶中的一些是可商购的,如Fabrazyme®、Replagal®、VPRIV®、Cerezyme®、Ceredase®、ELELYSO™、UPLYSO™、Aldurazyme®、Elaprase®、Naglazyme®、Lumizyme®、或Myozyme®。

[0171] 抗氧化剂化合物的实例包括但不限于,一些维生素和它们的衍生物,如维生素A或视黄醇(如棕榈酸视黄酯和视黄醇乙酸酯)、维生素C或抗坏血酸(如棕榈酸抗坏血酸酯和乙酸抗坏血酸酯)、或维生素E(包括生育三烯酚和生育酚,如生育酚乙酸酯);维生素辅因子和矿物质,如辅酶Q10、锰或碘化物;艾地苯醌;一些激素如褪黑素;类胡萝卜素萜类化合物,如α-胡萝卜素、虾青素、β-胡萝卜素、角黄素(cantaxanthine)、叶黄素、番茄红素(licopen)或玉米黄素;黄酮类,如芹菜素、木犀草素或柑橘黄酮(tangeritin);黄酮醇,如异鼠李素(isoramnetine)、槲非醇、杨梅黄酮、原花青素、槲皮素或芦丁;黄烷酮,如圣草酚、橙皮素或柚皮素;黄烷醇和它们的聚合物,如儿茶素、没食子儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素、茶黄素或茶红素;植物雌激素异黄酮,如大豆苷元、染料木素或黄豆黄素;芪类,如白藜芦醇或紫檀芪;花青苷如花青素、花翠素、锦葵色素、天竺葵色素、芍药花青素或矮牵牛素(petunidin);酚酸和它们的酯,如菊苣酸、绿原酸、肉桂酸、阿魏酸、鞣花酸、鞣花单宁、没食子酸、没食子单宁、迷迭香酸或水杨酸;黄酮木脂素类,如水飞蓟素;氧杂蒽酮或丁子香酚;其他有机抗氧化剂,如辣椒素、胆红素、柠檬酸、草酸、植酸、N-乙酰半胱氨酸、R-α-硫辛酸、尿酸、肌肽以及它们的衍生物;肉碱和它们的衍生物,Lipochroman-6(二甲基甲氧基色原烷醇)、Trolox(6-羟基-2,5,7,8-四甲基色满-2-甲酸)、叔丁基氢醌(TBHQ)和/或其混合物。

[0172] 在另一个具体实施例中,由通式(I)或通式(II)共同定义的(S)-比卡鲁胺和/或一种结构类似物、其药学上可接受的盐、其水合物和/或其溶剂化物可以与其他药物活性物质和/或佐剂一起共同给予。具体地说,这些药物活性物质和/或佐剂选自但不限于下组,该组包括:抗酸药、针对消化性溃疡和胃食管返流病的药剂、镇痉剂、镇痛剂、抗胆碱能药物、推进药物、止吐剂、抗恶心剂、用于胆道疗法的药剂、用于肝疗法的药剂、抗脂肪肝剂、轻泻剂、抗腹泻剂、肠吸附剂、抗推进剂、抗炎药物、针对肥胖症的活性成分、酶、降血糖药、胰岛素和

类似物、维生素、蛋白质、矿物质、合成代谢类固醇、抗血栓形成剂、抗纤溶剂、止血剂、抗心律不齐剂、强心剂、强心苷、血管舒张剂、抗肾上腺素能剂、抗高血压药物、利尿剂、保钾剂、抗痔疮药、抗静脉曲张治疗剂、毛细血管稳定剂、作用于肾素-血管紧张素系统的药剂、 β -阻断剂、选择性钙通道阻断剂、非选择性钙通道阻断剂、ACE抑制剂、血管紧张素II抑制剂、脂质调节剂、抗真菌剂、愈合剂、止痒剂、抗组胺剂、麻醉剂、治牛皮癣药、化疗药物、皮质类固醇、防腐剂、消毒剂、抗痤疮剂、用于妇科用途的产品、催产剂、避孕药、雄激素、雌激素、孕激素、排卵刺激剂、促性腺激素、抗雄激素、用于泌尿科用途的产品、解痉剂、在良性前列腺肥大中使用的药物、激素、激素拮抗剂、抗生素、四环素类、酰胺醇类、 β -内酰胺抗菌剂、青霉素、磺胺、甲氧苄氨嘧啶、大环内酯类、林可酰胺类、链阳性菌素、抗菌氨基糖苷类、抗菌喹诺酮类、抗病毒剂、免疫血清、免疫球蛋白、抗肿瘤剂、免疫调节剂、烷化剂、抗代谢药、植物生物碱和其他天然产物、细胞毒性抗生素、免疫抑制剂、用于肌肉骨骼系统的病症的药物、抗风湿剂、肌肉松弛剂、影响骨结构和矿化的药剂、作用于神经系统的药物、全身麻醉剂、局部麻醉剂、阿片类药物、抗偏头痛药、抗惊厥剂、抗胆碱能药、多巴胺能剂、抗精神病药、抗焦虑药、安眠药、镇静剂、抗抑郁剂、精神兴奋剂、抗痴呆药、拟副交感神经药、用于成瘾症的药物、抗眩晕剂、抗寄生虫药、杀虫剂、驱虫剂、鼻减充血剂、粘液溶解剂、止咳剂、眼科活性成分、耳科活性成分、抗青光眼药物、缩瞳剂、散瞳剂、睫状肌麻痹剂、和/或其混合物。

[0173] 附图简要说明

[0174] 图1. 来自受圣菲利浦B疾病影响的患者的皮肤来源的成纤维细胞和来自用一种溶酶体抗体抗-LAMP-1处理的健康个体的对照成纤维细胞的共焦显微图像。

[0175] 实例

[0176] 在此提供的以下具体实例说明本发明的性质。包括这些实例仅仅是用于说明的目的并且不应当被解释为对在此要求的本发明的限制。

[0177] 实验程序

[0178] 成纤维细胞培养。将来自受七种不同的溶酶体贮积病(法布里病、戈谢病、赫尔勒氏病、A/B型曼-匹克病、A型圣菲利浦病、B型圣菲利浦病、以及泰-萨二氏病)影响的十三名患者的成纤维细胞在具有10%胎牛血清的DMEM(杜氏改良的伊格尔氏培养基)中且在抗生素(青霉素和链霉素)存在下在37℃、5%CO₂下进行培养。所有试剂购自PAA实验室(韦利济-维拉库布莱(Velizy-Villacoublay), 法国)。这些患者的成纤维细胞是基于成纤维细胞的可获得小和可测量的残余活性来选择的。人样品的使用由医院诊所的伦理委员会(巴塞罗那)批准。

[0179] 处理和细胞活力的测定。取决于测试, 将早期传代(5次传代与9次传代之间)的成纤维细胞接种在6或24孔板中并且用增加浓度(10nmol/L、100nmol/L、1 μ mol/L、10 μ mol/L、50 μ mol/L、以及100 μ mol/L)的比卡鲁胺(西格玛-奥德里奇(Sigma-Aldrich), 圣路易斯(St. Louis), 美国)以及(R)-和(S)-比卡鲁胺(多伦多研究化学品公司(Toronto Research Chemicals Inc.), 多伦多(安大略Ontario), 加拿大)处理72小时。使用由Sumantran V.N. 细胞化学敏感性测定: 综述(Cellular chemosensitivity assays: an overview.) 分子生物学方法(Methods Mol. Biol.) (2011), 731, 219-236描述的3-[4,5-二甲基噻唑-2-基]-2,5-二苯基溴化四氮唑(MTT)测定(西格玛奥德里奇, 圣路易斯, 美国)针对每种浓度在每种细胞系中评价细胞活力。

[0180] 酶活性。将一式三份不同浓度(10nmol/L、100nmol/L、1μmol/L、10μmol/L、50μmol/L、以及100μmol/L)的比卡鲁胺、(S)-比卡鲁胺或(R)-比卡鲁胺存在或不存在下在24孔板中培养72小时的成纤维细胞用生理盐水冲洗。将这些细胞通过使用3个冻融循环溶解。然后通过使用劳里法(Lowry method)测定蛋白质浓度。将蛋白质溶解产物(10μg)接种在96孔板中并且通过荧光人工底物一式三份测定参与每种疾病的酶的酶活性:用于圣菲利浦A病的4-甲基伞形酮基-α-N-磺基氨基葡萄糖苷、用于圣菲利浦B病的4-甲基伞形酮基-2-乙酰胺基-2脱氧-α-D-吡喃葡萄糖苷、用于赫尔勒氏病的4-甲基伞形酮基-α-L-艾杜糖醛酸苷、用于泰-萨二氏病的4-甲基伞形酮基-N-乙酰基-β-D-氨基葡萄糖苷、用于戈谢病的4-甲基伞形酮基-β-D-吡喃葡萄糖苷、用于法布里病的4-甲基伞形酮基-α-吡喃半乳糖苷、以及用于AB型2尼曼-匹克病的6-十六酰基氨基-4-甲基伞形酮基-P-。酶β-己糖胺酶的活性通过使用4-甲基伞形酮基-2乙酰胺基-2脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷作为人工底物来进行测定[安农齐亚塔(Annunziata)等人,通过使用4-甲基伞形基底物研究性别和年龄对人血清溶酶体酶的影响(Study of influence of sex and age on human serum lysosomal enzymes by using 4-methylumbelliferyl substrates.)临床化学学报(Clin.Chim.Acta.)(1978),90(2),101-106]。

[0181] 溶酶体胞吐作用的测定。通过测量培养基中的溶酶体酶β-己糖胺酶的酶活性来监测溶酶体胞吐作用[Xu M等人,δ生育酚减少C1型尼曼-匹克症和沃尔曼胆固醇贮积症中的脂质积聚.生物化学杂志(2012)287(47),39349-39360]。将这些成纤维细胞先前在24孔板中一式三份用不同浓度的比卡鲁胺、(S)-比卡鲁胺或(R)-比卡鲁胺(10nmol/L、100nmol/L、1μmol/L、10μmol/L、50μmol/L、以及100μmol/L)进行处理。在第0、24、48、以及72小时时,将30μL的培养基等分以用于随后β-己糖胺酶活性测定。

[0182] 表面中的作为一种胞吐作用标志物的LAMP1的分析。将成纤维细胞在盖玻片上培养并且用比卡鲁胺、(S)-比卡鲁胺、(S)-比卡鲁胺类似物或(R)-比卡鲁胺的50μM溶液进行处理。然后,将这些细胞与兔抗-LAMP1在4℃下孵育30分钟。然后将这些细胞用PBS洗涤且用2%多聚甲醛固定。将用抗-LAMP1处理的细胞与结合至荧光蛋白(FITC)的第二抗体抗兔在室温下孵育30分钟[麦地那D.L.(Medina D.L.)等人,溶酶体胞吐作用的转录激活促进细胞清除(Transcriptional activation of lysosomal exocytosis promotes cellular clearance.)发育细胞(Dev.Cell.)(2011)21(3),421-430]。最后,在一个共焦显微镜(莱卡TCS-NT)上观察这些细胞。

[0183] 糖胺聚糖(GAG)的测定。GAG定量通过使用从巴尔博萨等人(2003)改编的1,9-二甲基亚甲基蓝(DMB)测定来进行[巴尔博萨等人,用于生物提取物中的硫酸化糖胺聚糖定量的改进的和简单的微量测定及其在皮肤和肌肉组织研究中的用途.糖生物学(2003),13(9),647-653]。将这些成纤维细胞在6孔板中一式三份进行培养且在处理后72小时收获这些成纤维细胞。在656nm用一个微板阅读器(POLARstar Omega、BMG LABTECH、奥芬堡(Offenburg),德国)。一式三份测量DMB吸光度。

[0184] 缩写

[0185] 在本描述中使用的缩写具有以下含义:

[0186] Ac,乙酰基;Br,溴;Cl,氯;CF₃,三氟甲基;CN,腈;CO₂,二氧化碳;DMEM,杜氏改良的伊格尔氏培养基;DMB,1,9-二甲基亚甲基蓝;F,氟;FITC,异硫氰酸荧光素;GAG,糖胺聚糖;

I, 碘; Kg, 千克; L, 升; LAMP1, 溶酶体相关的膜蛋白1; mg, 毫克; MTT, 3-[4,5-二甲基噻唑-2-基]-2,5-二苯基四氮唑; nmol, 纳摩尔; NO₂, 硝基; -NHAc, 乙酰胺基; -Nac₂, N,N-二乙酰胺基; PBS, 磷酸盐缓冲盐水; SCN-, 异硫氰酸酯; μg, 微克; μL, 微升; μM, 微摩尔; μmol, 微摩尔;

[0187] 实例1. 在用比卡鲁胺(外消旋混合物)处理之后受不同溶酶体贮积病影响的患者的成纤维细胞中溶酶体胞吐作用的增加。

[0188] 将来自受圣菲利普B病和赫尔勒氏病的两名患者的成纤维细胞用不同浓度的比卡鲁胺(在0.01、0.1、1、10、以及100μM的渐增浓度下的外消旋混合物)进行处理。并且通过分析培养基中的溶酶体酶β-己糖胺酶的酶活性来测定溶酶体胞吐作用的增加。表示为相对于针对未处理的成纤维细胞获得的活性值的增加百分比的结果显示培养基中受圣菲利普B病影响的一名患者的成纤维细胞的23%至100%之间的酶活性增加, 以及受赫尔勒氏病影响的一名患者的成纤维细胞的3%至14%之间的酶活性增加。用比卡鲁胺处理增加培养基中的溶酶体酶β-己糖胺酶的活性, 从而指示溶酶体胞吐作用的增加。

		溶酶体胞吐作用的增加 (%)					
		外消旋比卡鲁胺的浓度					
患者	疾病	未处理的	10 nM	100 nM	1 μM	10 μM	100 μM
[0189]	1 圣菲利普 B	0	31*	23*	49	45	100*
	2 赫尔勒氏	0	14	13	9	3	8
	3 对照	0	0	27	13	12*	13*

[0190] 表1. 来自受圣菲利普B病和赫尔勒氏病影响的两名患者的用不同浓度的外消旋比卡鲁胺处理的成纤维细胞的溶酶体胞吐作用的增加百分比。*p<0.05。

[0191] 实例2. 来自受几种溶酶体贮积病影响的不同患者的用比卡鲁胺(外消旋混合物)处理的成纤维细胞中糖胺聚糖(GAG)的减少。

[0192] 将来自受圣菲利普B病的三名患者和受赫尔勒氏病影响的一名患者的成纤维细胞用增加浓度的比卡鲁胺(在0.01、0.1、1、10、以及100μM的渐增浓度下的外消旋混合物)进行处理。用1,9-二甲基亚甲基蓝(DMB)测定定量糖胺聚糖(GAG)水平。表示为相对于针对未处理的成纤维细胞获得的活性值的减少百分比的结果显示受圣菲利普B病影响的三名患者的用比卡鲁胺处理的成纤维细胞中第一名患者的17%与54%之间的GAG积聚减少, 第二名患者的16%与20%之间的GAG积聚减少, 以及第三名患者的13%与53%之间的GAG积聚减少。未在受赫尔勒氏病影响的一名患者的成纤维细胞中检测到GAG。因此, 用比卡鲁胺处理受几种溶酶体贮积病影响的不同患者的成纤维细胞减少积聚的GAG的水平, 从而揭示胞吐作用的增加。

		GAG 的减少 (%)					
		外消旋比卡鲁胺的浓度					
患者	疾病	未处理的	10 nM	100 nM	1 μM	10 μM	100 μM
[0193]	1 圣菲利普 B	0	17	25	17	22*	54*
	2 圣菲利普 B	0	0	16	0	0	20
	3 圣菲利普 B	0	53	13	33	33	0
	4 赫尔勒氏	0	0	0	0	0	0
	5 对照	0	0	0	0	0	0

[0194] 表2. 来自受圣菲利普B影响的两名患者和赫尔勒氏病(1名患者)(3名不同患者)的

用不同浓度的外消旋比卡鲁胺处理的成纤维细胞中GAG的减少百分比。 $*p<0.05$ 。

[0195] 实例3.来自受不同溶酶体贮积病影响的九名患者的用对映异构纯比卡鲁胺处理的成纤维细胞的细胞活力。两种对映异构体的功效的比较。

[0196] 将来自患有不同溶酶体贮积病的十三名患者(四名受圣菲利浦B病影响的具有不同基因型的患者;三名具有不同基因型的圣菲利浦A病患者;两名具有相同基因型的泰-萨二氏病患者;一名戈谢病患者;一名尼曼-匹克A/B病患者;一名赫尔勒氏病患者、以及一名法布里病患者)的成纤维细胞独立地用不同浓度的(R)-和(S)-比卡鲁胺(50和100 μ M)处理。使用MTT测定针对每种细胞系中的每种处理评价细胞活力。用(R)-比卡鲁胺处理的患者的成纤维细胞培养物中的五种显示其细胞活力的显著减少(10%与52%之间)。相比之下,在十三种成纤维细胞培养物中用(S)-比卡鲁胺处理未显示细胞活力的任何显著减少,从而指示对映异构体(R)的更高毒性和对映异构体(S)的无毒作用。

		细胞活力的减少 (%)			
		(R)-比卡鲁胺 (2)		(S)-比卡鲁胺 (1)	
患者	疾病	50 μ M	100 μ M	50 μ M	100 μ M
[0197]	1 圣菲利浦 B	20*	37*	0	0
	2 圣菲利浦 B	10*	26*	0	0
	3 圣菲利浦 B	40*	52*	0	0
	4 圣菲利浦 B	0	25*	0	N.S.
	5 圣菲利浦 A	N.S.	N.S.	0	0
	6 圣菲利浦 A	0	0	0	0
	7 圣菲利浦 A	0	0	0	0
	8 泰-萨二氏	0	0	0	0
	9 泰-萨二氏	0	N.S.	0	N.S.
	10 戈谢	0	24*	N.S.	N.S.
	11 尼曼-匹克 AB	0	0	N.S.	N.S.
	12 赫尔勒氏	0	0	0	0
	13 法布里	0	0	0	0

[0198] 表3.来自受不同溶酶体贮积病影响的九名患者的独立地用不同浓度的(R)-和(S)-比卡鲁胺处理72小时的成纤维细胞的细胞活力的减少百分比。 $*p<0.05$ 。N.S.:非显著减少。

[0199] 实例4.来自受不同溶酶体贮积病影响的患者的用对映异构纯比卡鲁胺处理的成纤维细胞的胞吐作用的增加。两种对映异构体的功效的比较。

[0200] 将来自受不同溶酶体贮积病影响的十三名患者(四名具有不同基因型的圣菲利浦B病患者;三名具有不同基因型的圣菲利浦A病患者;两名具有相同基因型的泰-萨二氏病患者;一名戈谢病患者;一名A/B型尼曼-匹克病患者;一名赫尔勒氏病患者、以及一名法布里病患者)的成纤维细胞独立地用不同浓度的(R)-和(S)-比卡鲁胺(50和100 μ M)处理72小时。结果显示(S)-比卡鲁胺能够显著增加所处理的十三种细胞培养物中的十种中的溶酶体胞吐作用,而(R)-比卡鲁胺仅能够显著增加所测试的细胞培养物中的一种中的溶酶体胞吐作用。用(S)-比卡鲁胺处理比用(R)-比卡鲁胺处理更有效且更通用。用(S)-比卡鲁胺处理的成纤维细胞显示在第72小时呈一种显著且剂量依赖性方式的胞吐作用的增加。用(R)-比卡

鲁胺处理产生胞吐作用的一些增加,但既不是剂量依赖性的也不是统计上显著的(表4)。

		胞吐作用的增加 (%)			
		(R)-比卡鲁胺 (2)		(S)-比卡鲁胺 (1)	
患者	疾病	50 μ M	100 μ M	50 μ M	100 μ M
[0201]	1 圣菲利浦 B	0	257*	N.S.	N.S.
	2 圣菲利浦 B	N.S.	N.S.	N.S.	166*
	3 圣菲利浦 B	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	4 圣菲利浦 B	N.S.	0	33*	28*
	5 圣菲利浦 A	0	0	72*	39*
	6 圣菲利浦 A	N.S.	N.S.	70*	64*
	7 圣菲利浦 A	N.S.	0	121*	109*
	8 泰-萨二氏	N.S.	0	N.S.	127*
	9 泰-萨二氏	N.S.	0	N.S.	124*
	10 戈谢	N.S.	0	N.S.	N.S.
	11 尼曼-匹克 AB	N.S.	0	114*	60*
	12 赫尔勒氏	N.S.	N.S.	13629*	5949*
	13 法布里	N.S.	0	5402*	3432*
中值		0	0	114*	124*

[0202] 表4. 来自受不同溶酶体贮积病影响的九名患者且独立地用不同浓度的(R)-和(S)-比卡鲁胺处理72小时的成纤维细胞中溶酶体胞吐作用的增加百分比。* $p < 0.05$ 。N.S.: 非显著增加。

[0203] 实例5. 来自受不同溶酶体贮积病影响的九名不同患者的用对映异构纯比卡鲁胺处理的成纤维细胞中糖胺聚糖(GAG)的减少两种对映异构体的活性的比较。

[0204] 将来自受源自溶酶体贮积的不同疾病影响的七名患者(三名具有不同基因型的圣菲利浦B病患者;一名圣菲利浦A病患者;一名泰-萨二氏病患者;一名A/B型尼曼-匹克病患者;以及一名赫尔勒氏病患者)的成纤维细胞独立地用不同浓度的(R)-和(S)-比卡鲁胺(50和100 μ M)处理。用(S)对映异构体处理的成纤维细胞显示糖胺聚糖的显著和剂量依赖性减少,从而达到GAGS水平对照水平的这种减少。相较于用(S)对映异构体处理,使用(R)对映异构体的结果显示在一些情况下GAG水平的降低,但具有更低强度且不是普遍的(表5)。

		GAG 的减少 (%)			
		(R)-比卡鲁胺 (2)		(S)-比卡鲁胺 (1)	
患者	疾病	50 μ M	100 μ M	50 μ M	100 μ M
[0205]	1 圣菲利浦 B	N.S.	25*	N.S.	22*
	2 圣菲利浦 B	N.S.	N.S.	18*	39*
	3 圣菲利浦 B	0	33*	15*	20*
	4 圣菲利浦 A	0	0	27.4*	56*
[0206]	5 泰-萨二氏	N.S.	45*	31*	60*
	6 尼曼-匹克 AB	N.S.	41*	24*	38*
	7 赫尔勒氏	0	16*	0	0
中值		0	25*	18*	38*

[0207] 表5. 来自受不同溶酶体贮积病影响的九名患者的独立地用不同浓度的(R)-和

(S)-比卡鲁胺处理72小时的成纤维细胞中GAG的减少百分比。 $*p<0.05$ 。N.S.:无显著增加。

[0208] 实例6.用比卡鲁胺处理的成纤维细胞中作为胞吐作用的一种标志物的表面上的LAMP1的分析。

[0209] 将来自受圣菲利浦B病影响的一名患者的成纤维细胞(p.[Y658F]+[Y658F])和来自一名健康患者的对照成纤维细胞接种在盖玻片上且用50 μ M的比卡鲁胺处理。将成纤维细胞与兔抗-LAMP1在4 $^{\circ}$ C下孵育30分钟。然后将它们用PBS洗涤且用2%多聚甲醛固定。将用抗-LAMP1处理的成纤维细胞与连接至FITC的一种第二抗体抗-LAMP1在室温下孵育30分钟并且在一个共焦显微镜中对它们进行观察。如在图1中所示,用外消旋比卡鲁胺处理增加溶酶体与质膜的融合,从而揭示胞吐作用的增加。

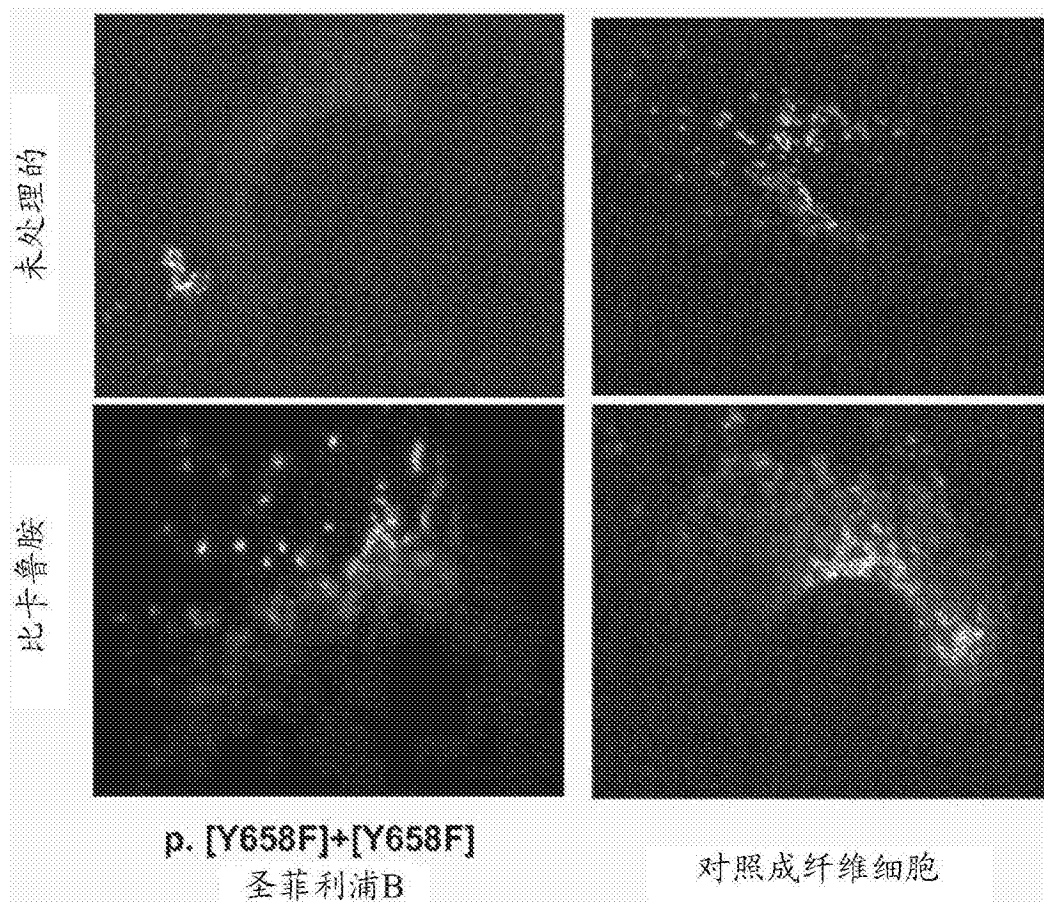


图1