



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114173771 A

(43) 申请公布日 2022.03.11

(21) 申请号 202080054595.2

(22) 申请日 2020.06.01

(30) 优先权数据

62/855,560 2019.05.31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.01.27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/035592 2020.06.01

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/243720 EN 2020.12.03

(71) 申请人 普莱克斯医药公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 斯里达尔·戈文达·普拉萨德

马歇尔·克拉克·彼得曼

桑托什·辛哈

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司 11240

代理人 李杰

(51) Int.Cl.

A61K 31/167 (2006.01)

A61K 31/423 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

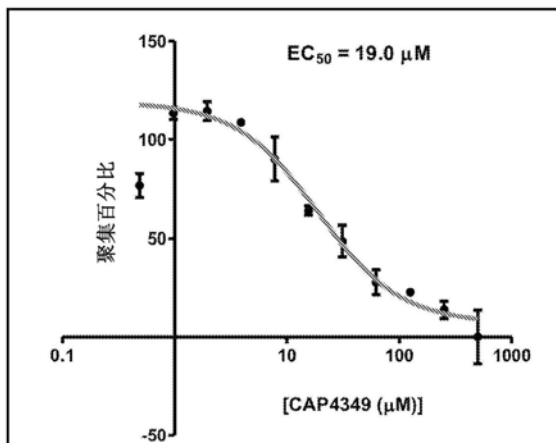
权利要求书5页 说明书17页 附图7页

(54) 发明名称

用于治疗眼部蛋白质聚集疾病的药理学试剂

(57) 摘要

提供了在有需要的受试者中治疗老花眼或白内障的方法。该方法需要向受试者施用有效量的组合物,该组合物包含抑制人 α -A-晶状体蛋白的高分子量聚集体形成的化合物。还提供了一种使用这些化合物中的某些来预防和/或治疗甲状腺素运载蛋白(TTR)相关的淀粉样变性的方法。



基和羟基;并且Y是O、S或NR₆,其中,R₆是氢或C₁₋₆烷基;并且

其中,X是O或NR₆,其中,R₆是氢或C₁₋₆烷基。

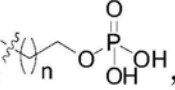
2. 根据权利要求1所述的方法,其中,R₃是氨基酸。

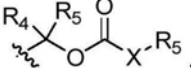
3. 根据权利要求1所述的方法,其中,R₄是氢,并且R₅是甲基或乙基。

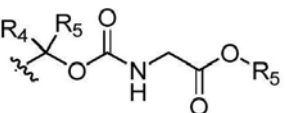
4. 根据权利要求1所述的方法,其中,R₃是C₁₋₆烷基。

5. 根据权利要求1所述的方法,其中,X是N。

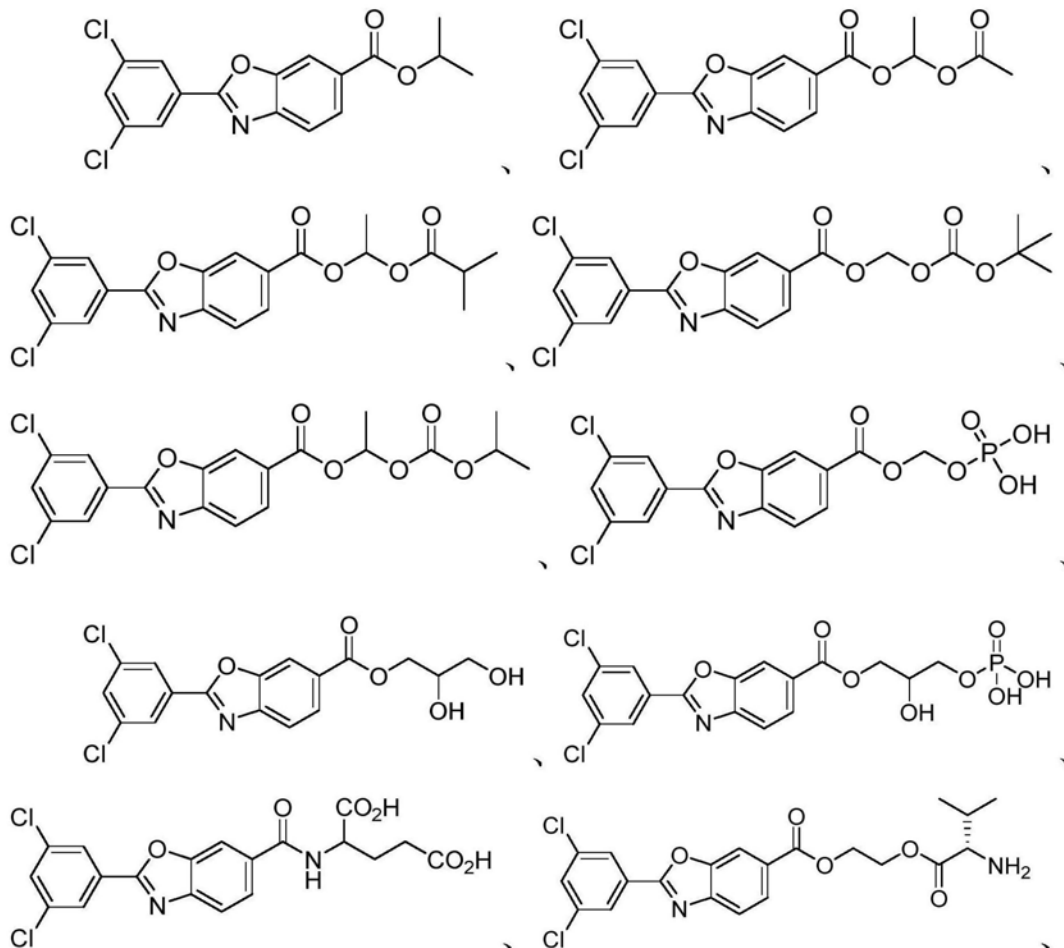
6. 根据权利要求1所述的方法,其中,X是O。

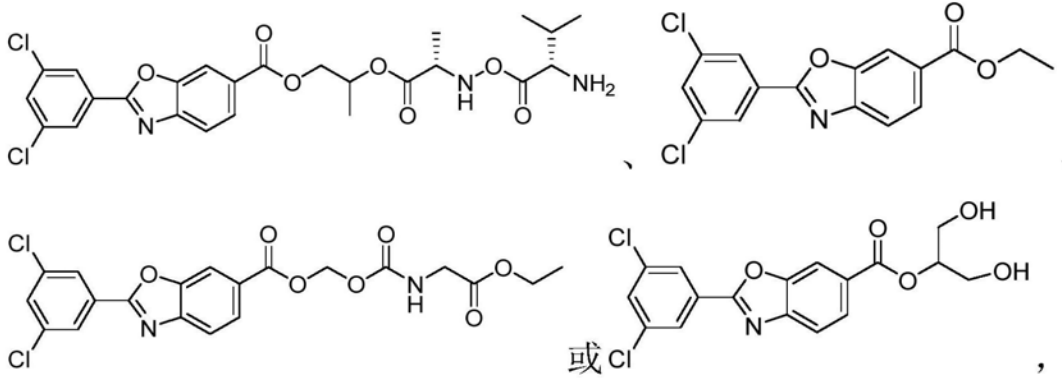
7. 根据权利要求1所述的方法,其中,R₃是  , 其中,n是0。

8. 根据权利要求1所述的方法,其中,R₃是  , X是O,R₄是H,并且R₅是CH₃。

9. 根据权利要求1所述的方法,其中,R₃是  。

10. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述化合物是



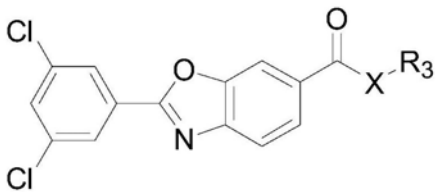


或其溶剂化物或药学上可接受的盐。

11. 根据权利要求1所述的方法, 其中, 所述受试者是人。

12. 根据权利要求1所述的方法, 其中, 所述药物组合物被配制用于局部眼部施用。

13. 一种在有需要的受试者中预防和/或治疗甲状腺素运载蛋白 (TTR) 相关的淀粉样变性的方法, 所述方法包括向所述受试者施用药物组合物, 所述药物组合物包含治疗有效量的具有式 (I) 的化合物

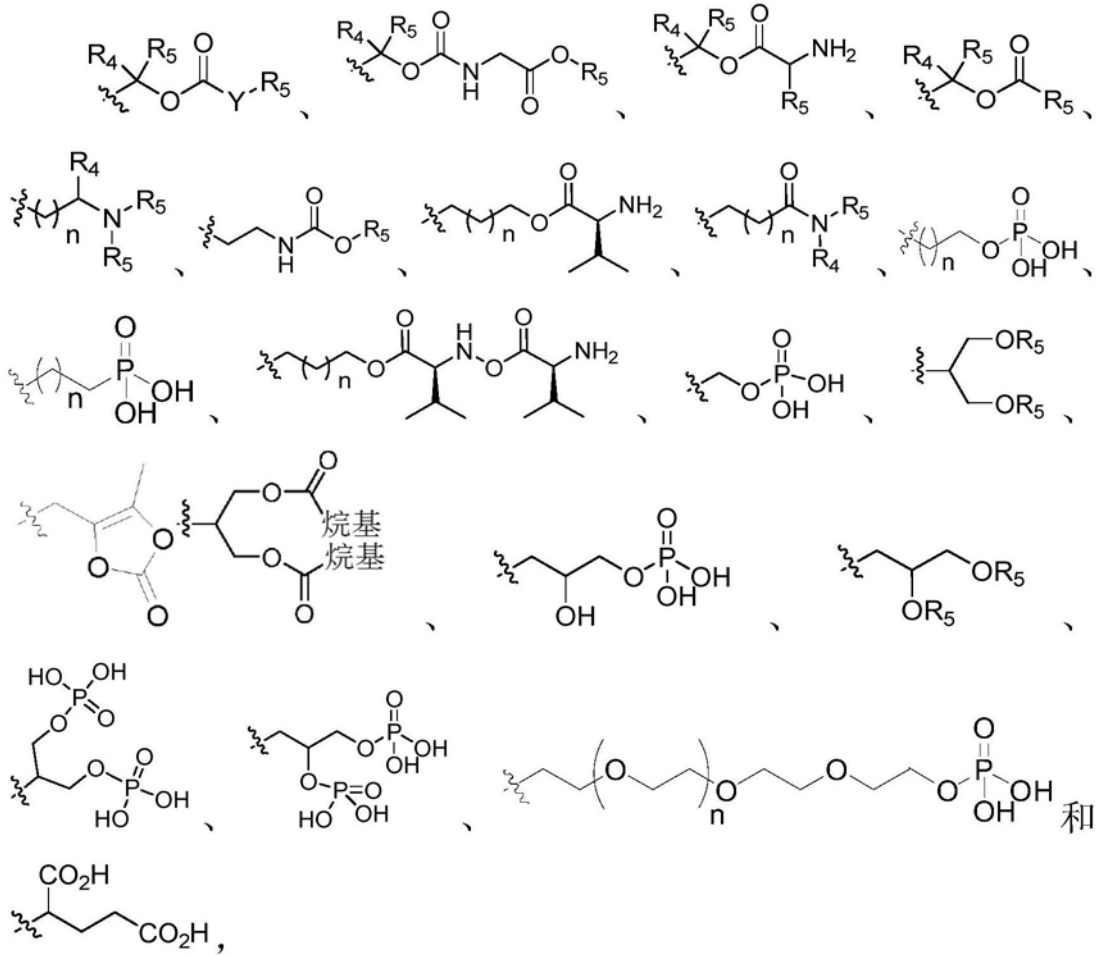


(I),

或其溶剂化物或药学上可接受的盐,

其中

R_3 选自由以下各项组成的组: 氨基酸、 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 支链烷基、 C_{1-10} 羟基烷基、 C_{1-10} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_2-C_6 烷基芳基、 C_1-C_6 烷基 (C_3-C_6) 环烷基、 C_{1-6} 烷基NH、 NC_{1-6} 二烷基胺、 C_{1-6} 烷基吡咯烷、 C_1-C_6 烷基哌啶、 C_{1-6} 烷基吗啉、酞基、



其中,n是0与6之间的数;

R₄和R₅独立地选自氢、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₁₋₆羟基烷基、C₂₋₆烷氧基烷基、芳烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、被选自W的至少一种基团任选地取代的3至6元环烷基、被选自W的至少一种基团任选地取代的4至6元杂环基,

其中,W选自C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、卤素、NH₂、C₁₋₆烷基NH、NC₁₋₆二烷基胺、C₁₋₆烷氧基和羟基;并且Y是O、S或NR₆,其中,R₆是氢或C₁₋₆烷基;并且

其中,X是O或NR₆,其中,R₆是氢或C₁₋₆烷基。

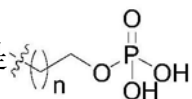
14. 根据权利要求13所述的方法,其中,R₃是氨基酸。

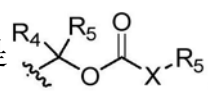
15. 根据权利要求13所述的方法,其中,R₄是氢,并且R₅是甲基或乙基。

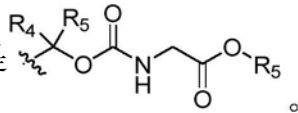
16. 根据权利要求13所述的方法,其中,R₃是C₁₋₆烷基。

17. 根据权利要求13所述的方法,其中,X是N。

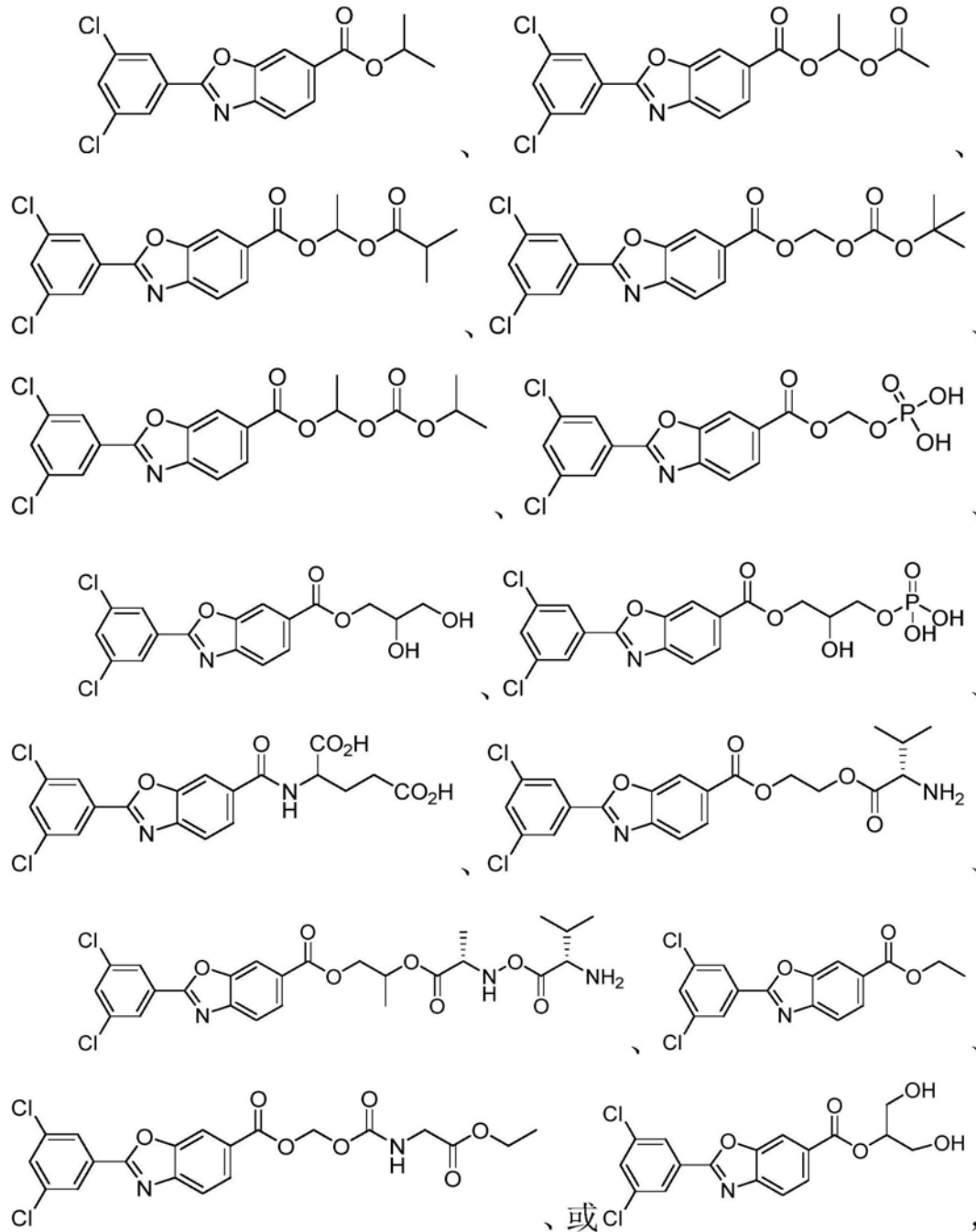
18. 根据权利要求13所述的方法,其中,X是O。

19. 根据权利要求13所述的方法,其中,R₃是 , 其中,n是0。

20. 根据权利要求13所述的方法,其中,R₃是 , X是O,R₄是H,并且R₅是CH₃。

21. 根据权利要求13所述的方法,其中, R_3 是 

22. 根据权利要求13所述的方法,其中,所述化合物是



23. 根据权利要求13所述的方法,其中,所述受试者是人。

24. 根据权利要求13所述的方法,其中,所述药物组合物被配制用于局部眼部施用。

用于治疗眼部蛋白质聚集疾病的药理学试剂

[0001] 相关申请的引证

[0002] 本申请根据35 U.S.C.§119要求提交于2019年5月31日并且名称为“用于治疗眼部蛋白质聚集疾病的药理学试剂 (Pharmacological Agents for Treating Protein Aggregation Diseases of the Eye)”的美国临时专利申请第62/855,560号的权益,其公开内容通过引证以其整体并入本文。

技术领域

[0003] 本文公开了使用2-(3,5-二氯苯基)苯并[d]噁唑-6-羧酸(氯苯唑酸)和氯苯唑酸的前药来治疗老花眼或白内障眼病的方法。

背景技术

[0004] 根据世界卫生组织(WHO),白内障是世界范围内失明的主要原因(51%),特别是在低收入和中等收入国家。追溯到本世纪初的数据显示,非洲30-60%的失明和东南亚60-80%的失明可归因于白内障。在美国,患有白内障的人的当前数量估计超过2570万。来自预防失明的预测研究估计,到2032年该数量将增加到3850万,并且到2050年该数量将增加到4560万。白内障是眼睛晶状体的混浊,其阻挡或改变光进入眼睛的通路。白内障通常在双眼中形成,但不以相同的速率。它们可能发展缓慢或快速,或进展至某个点,然后不会变得更差。除了老化之外,其他因素可能导致白内障形成。眼部感染、一些药物(诸如类固醇)、损伤或暴露于强烈热或辐射可能导致白内障。过多暴露于不可见阳光(称为UV或紫外光)和各种疾病诸如糖尿病或代谢紊乱也可能导致白内障形成。

[0005] 目前可用的唯一治疗是手术摘除晶状体并用对公众健康造成高负担的人工晶状体(interocular lens, 眼间晶状体)替换。虽然白内障手术通常被认为是安全的,但是有显著的并发症:(i) 美国30-50%的具有白内障手术的患者在两年内出现晶状体后囊浑浊并且需要激光治疗;(ii) 0.8%具有视网膜脱落;(iii) 0.6-1.3%因角膜水肿而住院或需要角膜移植,以及(iv) 约1%呈现眼内炎。此外,在世界上发展和欠发达地区的许多偏远和贫困地区,人们仍然因白内障而失明,主要是由于缺乏对眼部护理的方法。

[0006] 老花眼是眼睛的调节能力的损失,导致不能聚焦在近处物体上。老花眼影响年龄在45岁以上的每个人,并且对生活质量具有显著的负面影响。针对老花眼的当前治疗包括:(i) 非侵入性方法,其利用装置来帮助改善近视力和远视力,但是对恢复自然调节过程没有作用并且需要持续使用装置,以及(ii) 侵入性外科手术,其与主要并发症(包括视力质量下降、消退效应、各向异性、角膜扩张和模糊(haze))相关。最重要的是,这些方法中没有一个是逆转老花眼。此外,不存在可以预防或延缓老花眼发作的治疗选项。

[0007] 眼睛晶状体的硬化和晶状体囊的弹性、眼睛晶状体的尺寸、小带附着的尺寸和睫状肌(CM)收缩的变化都已经被提出作为老花眼的促成因素。然而,人和非人灵长类动物研究表明CM功能正常远超过老花眼的发作。相比之下,人晶状体的刚度随年龄增加,其方式为与调节能力的损失直接相关。调节能力的损失可以通过植入由柔性聚合物制成的人工晶状

体来恢复,表明晶状体柔性的恢复足以恢复调节。因此,可以预防或逆转晶状体硬化的药理学试剂将提供用于针对老花眼的新的非侵入性治疗的有希望的途径。

[0008] 在分子水平,称为晶状体蛋白的蛋白质在眼睛晶状体的硬化中发挥主要作用。这些晶状体晶体包含三种同种型 α 、 β 、和 γ 并且构成90%的眼睛晶状体蛋白质含量。 α 晶状体蛋白(AC),一种不依赖ATP的陪伴分子(chaperone,分子伴侣)和小热休克蛋白(sHsp)家族的成员,构成晶状体蛋白的蛋白质含量的40%。其作为两个亚基 α A-晶状体蛋白(AAC)和 α B-晶状体蛋白(ABC)的杂低聚物存在,并且其表达主要限于眼睛晶状体。其识别部分未折叠的晶状体蛋白质中暴露的构象特征并将它们彼此隔离,从而减少聚集倾向物种的群体,否则聚集倾向物种的群体将导致各种年龄相关的视力障碍。

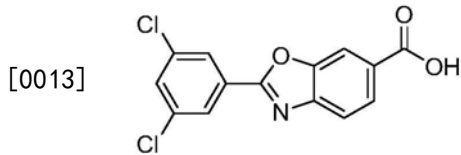
[0009] 多项研究已经在人晶状体的硬化与AC功能之间建立了联系。动态力学分析测量已经显示,晶状体的刚度随着年龄而显著增加,特别是在观察到弹性降低500至1000倍的晶状体核中。晶状体刚度的这种增加与游离AC陪伴分子浓度的年龄相关的下降相关,因为大部分AC在40-50岁时掺入高分子量(HMW)聚集体中。可溶性AC向HMW聚集体的这种转化伴随晶状体刚度的大幅增加,推测是因为存在的低水平的可溶性AC不足以陪伴变性蛋白质。游离AC陪伴分子的年龄相关的下降负责晶状体硬度得到了实验的支持,其中人晶状体经受加热以模拟可溶性AC至HMW聚集体的年龄相关的转化,并且观察到晶状体刚度的增加。类似地,纯化的可溶性AC在暴露于UV辐射时形成HMW聚集体,伴有陪伴分子样活性的损失。HMW聚集体由于由半胱氨酸巯基(-SH)氧化产生的分子间交联,特别是S-S键而形成。该二硫化物交联的HMW聚集体的形成被认为是增加晶状体的刚度和调节幅度损失的主要原因。

[0010] 已经表明,老花眼是年龄相关的核(ARN)白内障的最早可观察到的症状,这是世界上失明的主要原因。AC的陪伴分子样活性(CLA)在维持晶状体透明度方面发挥必不可少的作用。作为AC突变或年龄相关修饰的结果,降低的AC CLA与白内障形成相关。在先天性白内障(最常见的儿童失明形式)中,已经在AC中识别了大部分引起白内障的突变。一些AC突变直接导致降低的AC溶解度和降低的陪伴分子活性,并且在小鼠中进行的AC敲除研究导致白内障的早期发作。AC CLA可以通过变构机制调节的概念最初来源于以下研究,这些研究发现使用体外陪伴分子测定,阳离子或小分子可以增加或减少AC中的CLA。因此,AC CLA的药理调节是用于白内障治疗和/或预防的可信方法。

[0011] 考虑到需要可以保护和恢复老花眼中丧失的眼睛的调节能力的非侵入性治疗并且考虑到HMW AC聚集体的形成是造成老花眼的主要致病因素,需要开发可以选择性地延缓和/或逆转HMW AC聚集体形成的药理学试剂(pharmacological agent)。

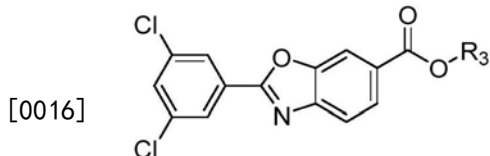
发明内容

[0012] 氯苯唑酸(CAP4349;参见以下结构)是用于治疗甲状腺素运载蛋白介导的心肌病(ATT-CM)的FDA批准的药物(Falk RH,2019,Eur Heart J.40(12):1009-1012)。甲状腺素运载蛋白淀粉样心肌病是由心肌中甲状腺素运载蛋白淀粉样纤维的沉积引起的。当野生型或变体甲状腺素运载蛋白变得不稳定并且错误折叠时,发生沉积。氯苯唑酸结合甲状腺素运载蛋白,防止四聚体解离和淀粉样蛋白生成。



[0014] 如本文所述,本发明人发现,CAP4349还能够防止人ACC聚集并如下所述溶解ACC内含物。本文还描述了CAP4349的前药。前药是在体内通过酶促或化学反应或通过两者的组合转化为活性母体药物的具有很少或没有药理活性的分子。

[0015] 因此,本公开提供了用于治疗受试者中的老花眼或白内障的方法。该方法包括向该受试者施用药物组合物,该药物组合物包含治疗有效量的具有式(I)的化合物



(I),

[0017] 或其溶剂化物或药学上可接受的盐,其中,R₃如本文中以下定义。

[0018] 本公开还提供了一种使用药物组合物预防和/或治疗甲状腺素运载蛋白(TTR)相关的淀粉样变性的方法,该药物组合物包含治疗有效量的具有式(I)的化合物或其溶剂化物或药学上可接受的盐,其中,R₃如本文中以下定义。

附图说明

[0019] 图1A是示出通过实例化合物CAP4349(氯苯唑酸)抑制UV诱导的人ACC聚集的SDS-PAGE凝胶。

[0020] 图1B是示出通过实例化合物CAP4349(氯苯唑酸)抑制UV诱导的人ACC聚集的图。

[0021] 图2A是示出在CAP4349-M的存在下以剂量依赖性方式通过AAC的溶菌酶的延迟聚集的一组动力学曲线。

[0022] 图2B是示出在不同浓度的CAP4349-M的存在下,在从聚集开始43分钟测量的通过AAC的溶菌酶的累积减少的聚集的条形图。这些条示出平均相对吸光度±SD(n=3或4)。

[0023] 图3A是示出通过实例化合物CAP4349赋予的针对人晶状体上皮细胞的热诱导的细胞死亡的保护的图。

[0024] 图3B是示出通过实例化合物CAP4349赋予的针对人晶状体上皮细胞的UV诱导的细胞死亡的保护的图。

[0025] 图4A是示出在用实例化合物CAP4349治疗时聚集的绿色荧光蛋白(GFP)标记的ACC突变体(R116C)蛋白的溶解的一组免疫荧光图像。图3A还示出了使用P62/SQSTM1抗体用于染色的用聚集的突变体ACC诱导泛素结合蛋白p62的自噬定位。

[0026] 图4B是示出如通过GFP荧光测量的,增加实例化合物CAP4349的量在溶解ACC和p62的内含物中的作用的条形图。

[0027] 图5A是示出实例化合物CAP4349防止牛眼睛晶状体蛋白的高分子量聚集体形成的能力的明场图像和图。

[0028] 图5A是示出实例化合物CAP4349防止人眼睛晶状体蛋白的高分子量聚集体形成的能力的明场图像。

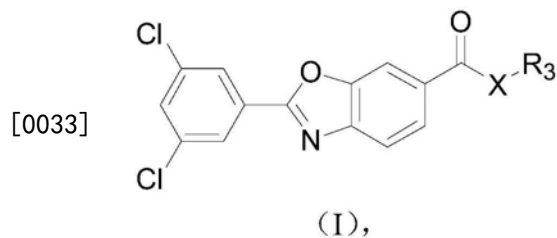
[0029] 图7是一组照片和图。照片示出了用125 μ M CAP4349(或媒介)预处理并用UV光照射或不照射的猪晶状体。示出了代表性的暗场图像和明场图像。该图示出了来自暗场图像的中值像素强度 \pm SD和p值(t检验)。

具体实施方式

[0030] 本公开描述了CAP4349(氯苯唑酸)防止人ACC聚集以及溶解ACC内含物(inclusion)的能力。氯苯唑酸是FDA批准的药物,用于治疗成人中由甲状腺素运载蛋白介导的淀粉样变性(ATTR-CM)引起的心脏病(心肌病)。与白内障相似,ATTR-CM也是一种缓慢的进行性疾病,其特征在于称为淀粉样蛋白的特定蛋白在体内器官和组织中异常沉积的积累,干扰它们的正常功能。药学上,氯苯唑酸像陪伴分子一样起作用并且稳定正确折叠的甲状腺素运载蛋白(TTR)的四聚体形式,从而抑制其解离。在患有ATTR-CM形式的人中,甲状腺素运载蛋白的单独单体从四聚体脱落,错误折叠,并且形成聚集体。

[0031] 如本文所述,发现CAP4349还能够防止人ACC聚集以及溶解ACC内含物。基于该观察,本文中公开的是通过向受试者施用CAP4349或其前药来治疗老花眼或白内障的方法。前药是通过生物活性化合物的化学修饰产生的非活性化合物。前药最常用于通过用酯或酰胺连接物掩蔽极性官能团和氢键以增加亲脂性来增加化合物的渗透性。如上所述,前药在体内通过酶促或化学反应或通过二者的组合转化为活性母体药物。

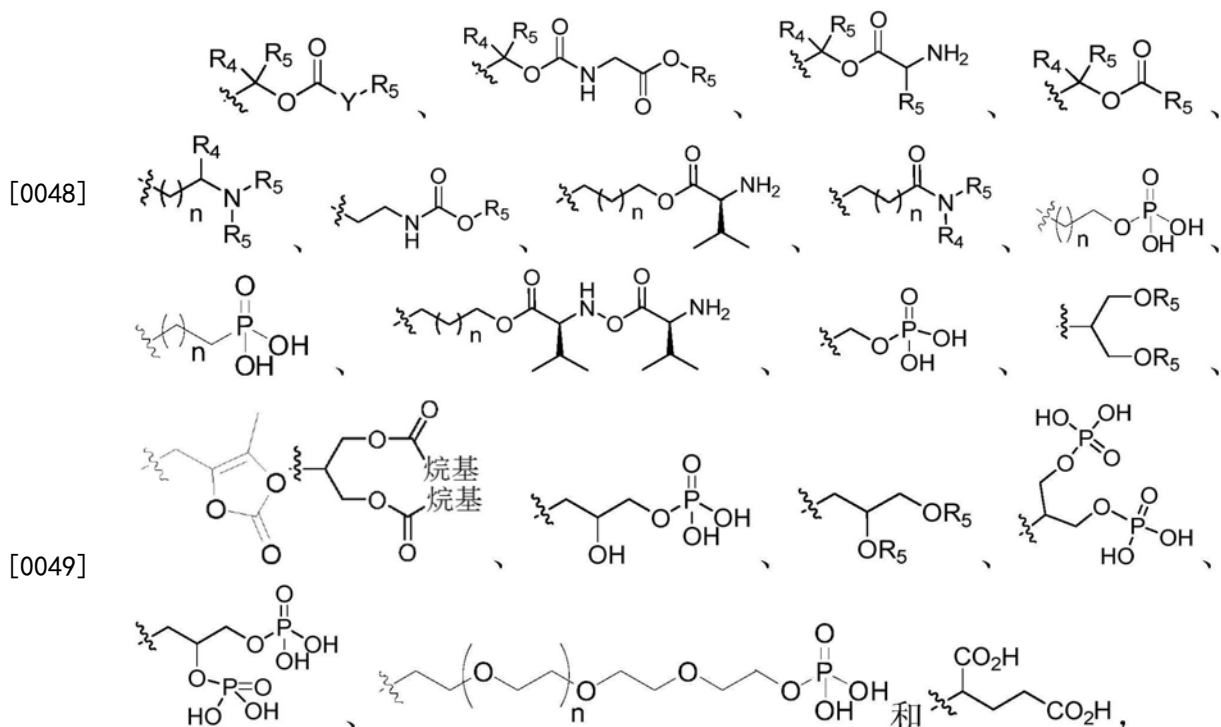
[0032] 更具体地,在本技术的第一方面中,提供了用于在有需要的受试者中治疗老花眼或白内障的方法。该方法包括向该受试者施用药物组合物,该药物组合物包含治疗有效量的具有式(I)的化合物



[0034] 或其溶剂化物或药学上可接受的盐,

[0035] 其中

[0036] R_3 选自由以下各项组成的组:氢、氨基酸、 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 支链烷基、 C_{1-10} 羟基烷基、 C_{1-10} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_2-C_6 烷基芳基、 C_1-C_6 烷基(C_3-C_6)环烷基、 C_{1-6} 烷基NH、 NC_{1-6} 二烷基胺、 C_{1-6} 烷基吡咯烷、 C_1-C_6 烷基哌啶、 C_{1-6} 烷基吗啉、酞基(2-苯并[c]咪喃酮基),



[0050] 其中, n是0与6之间的数;

[0051] R_4 和 R_5 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 羟基烷基、 C_{2-6} 烷氧基烷基、芳烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、被选自W的至少一种基团任选地取代的3至6元环烷基、被选自W的至少一种基团任选地取代的4至6元杂环基,

[0052] 其中, W选自 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、卤素、 NH_2 、 C_{1-6} 烷基NH、 NC_{1-6} 二烷基胺、 C_{1-6} 烷氧基和羟基;并且Y是O、S或 NR_6 , 其中, R_6 是氢或 C_{1-6} 烷基;并且

[0053] 其中, X是O或 NR_6 , 其中, R_6 是氢或 C_{1-6} 烷基。

[0054] 化合物和定义

[0055] 如本文所用, 术语“卤代”和“卤素”是指选自氟(氟代, -F)、氯(氯代, -Cl)、溴(溴代, -Br)和碘(碘代, -I)的原子。

[0056] 除非另有说明, 否则单独使用或作为较大部分诸如“卤代烷基”的一部分使用的术语“烷基”是指具有1-10个碳原子的饱和单价直链或支链烃基, 并且包括例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基等。“单价”是指在一点上连接到分子的其余部分。

[0057] 如本文所述的单独使用或作为较大部分的一部分使用的术语“环烷基”是指饱和和环状脂族单环、双环或三环体系, 除非另有说明, 否则具有3至10个碳环原子。单环环烷基包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基、环庚烯基和环辛基。双环环烷基包括例如稠合至另一个环烷基的环烷基, 诸如十氢化萘或稠合至芳基(例如, 苯基)或杂芳基的环烷基, 例如四氢萘基、茚满基、5,6,7,8-四氢喹啉和5,6,7,8-四氢异喹啉。三环体系的实例是金刚烷。应当理解, 二环环烷基的附接点可以在环烷基部分上或在产生稳定结构的芳基(例如, 苯基)或杂芳基上。应当进一步理解, 当指定时, 环烷基上的任选取代基可以存在于任何可取代位置上, 并且包括例如环烷基附接的位置。

[0058] 术语“杂环基”是指含有1至4个独立地选自N、O和S的杂原子的4-、5-、6-和7-元饱

和或部分不饱和杂环。术语“杂环”、“杂环基 (heterocyclyl)”、“杂环基环”、“杂环基团 (heterocyclic group)”、“杂环部分”和“杂环基团 (heterocyclic radical)”可以互换使用。杂环基环可以在导致稳定结构的任何杂原子或碳原子处连接到其侧基。此类饱和或部分不饱和杂环基团的实例包括但不限于四氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、吡咯烷基、吡咯烷酮基、哌啶基、氧杂环丁烷基、噁唑烷基、哌嗪基、二氧杂环己烷基、二氧戊环基、吗啉基、二氢呋喃基、二氢吡喃基、二氢吡啶基、四氢吡啶基、二氢嘧啶基和四氢嘧啶基。杂环基可以是单环或双环的。除非另有说明，否则双环杂环基包括例如稠合至另一个不饱和杂环基团或芳族环或杂芳环的不饱和或饱和杂环基团，诸如色满基、2,3-二氢苯并[b][1,4]二噁英基、四氢萘啶基、二氢吲哚基、二氢吡咯并三唑基、咪唑并嘧啶基、喹啉酮基、二氧杂螺环癸基。应当理解，双环杂环基的附接点可以在杂环基或产生稳定结构的芳族环上。还应当理解，当指定时，杂环基上的任选取代基可以存在于任何可取代的位置上，并且包括例如杂环基附接的位置。

[0059] 如本文所用，单独或与其他术语结合使用的术语“芳基”是指仅包含环碳原子的6-14元芳族环。芳环可以是单环、双环或三环。非限制性实例包括苯基、萘基、联苯基、蒽基等。还应当理解，当指定时，芳基上的五个任选取代基可以存在于任何可取代位置上。在一个实施方式中，芳基是未取代的或单或二取代的。

[0060] 单独使用或作为较大部分如在“杂芳基烷基”、“杂芳基烷氧基”或“杂芳基氨基烷基”中的一部分使用的术语“杂芳基”是指含有1-4个选自N、O、和S的杂原子的5-10元芳族基团并且包括例如噻吩基、呋喃基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、吲哚基、喹啉基、萘啶基和蝶啶基。术语“杂芳基”可以与术语“杂芳基环”、“杂芳基基团”或“杂芳环”互换使用。如本文所用，术语“杂芳基”和“杂芳-”还包括其中杂芳族环稠合至一个或多个芳环的基团，其中基团或附接点在杂芳族环上。非限制性实例包括吲哚基、吲唑基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、喹啉基、喹唑啉基和喹喔啉基。杂芳基可以是单环或双环的。应当理解，当指定时，杂芳基上的任选取代基可以存在于任何可取代的位置上，并且包括例如杂芳基附接的位置。

[0061] 如本文所用，术语“受试者”和“患者”可以互换使用，意指需要治疗的哺乳动物，例如伴侣动物（例如狗、猫等）、农场动物（例如奶牛、猪、马、绵羊、山羊等）和实验室动物（例如大鼠、小鼠、豚鼠等）。通常，受试者是需要治疗的人。

[0062] 如本文所用，术语“治疗有效量”是指将引起研究人员、兽医、医生或其他临床医生正在寻求的有需要的受试者的生物学或医学反应的药物组合物的量。在一些实施方式中，有需要的受试者是哺乳动物。在一些实施方式中，哺乳动物是人。

[0063] 本发明化合物的所有立体异构体（例如，由于各种取代基上的不对称碳而可能存在的那些），包括对映异构体形式和非对映异构体形式，都在本技术的范围内。本技术化合物的各个立体异构体可以例如基本上不含其他异构体（例如作为具有特定活性的纯的或基本上纯的光学异构体），或者可以例如作为外消旋体或与所有其他立体异构体或其他选定的立体异构体混合。本技术的手性中心可以具有由国际纯粹与应用化学联合会 (IUPAC) 1974建议定义的S或R构型。外消旋形式可以通过物理方法拆分，诸如分级结晶、非对映体衍生物物的分离或结晶或通过手性柱色谱法的分离。单独的光学异构体可以通过任何合适的方法

法从外消旋体获得,包括但不限于常规方法,诸如,例如与光学活性酸形成盐,然后结晶。

[0064] 例如,如果需要本技术化合物的特定对映异构体,则可以通过不对称合成或通过手性助剂衍生来制备,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的所需的对映异构体。可替代地,当分子含有碱性官能团(诸如氨基)或酸性官能团(诸如羧基)时,非对映异构体盐利用适当光学活性的酸或碱形成,然后通过分步结晶或本领域众所周知的色谱法拆分由此形成的非对映异构体,随后回收纯对映异构体。

[0065] 应当理解,如本文所述的化合物可以被任何数量的取代基或功能部分取代。一般而言,无论之前是否有术语“任选地”,术语“取代的”和包含在本技术的式中的取代基是指用指定取代基的基团替换给定结构中的氢基团。当任何给定结构中的多于一个位置可以被多于一个选自特定基团的取代基取代时,每个位置处的取代基可以相同或不同。如本文所使用的,考虑术语“取代的”包括有机化合物的所有允许的取代基。在广泛的方面中,允许的取代基包括有机化合物的非环状和环状、支化和未支化、碳环和杂环、芳族和非芳族取代基。出于本技术的目的,杂原子(诸如氮)可以具有满足杂原子的化合价的氢取代基和/或本文描述的有机化合物的任何允许的取代基。此外,本技术不旨在以任何方式受限于有机化合物的允许取代基。本技术设想的取代基和变量的组合优选是导致形成可用于治疗例如神经变性疾病的稳定化合物的那些组合。如本文所用,术语“稳定的”优选是指化合物具有足以允许制造的稳定性并且在足够长的时间段内保持化合物的完整性以被检测并且优选地持续足够长的时间段以用于本文详述的目的。

[0066] 前药

[0067] 前药是药理学上无活性的药物,该药物必须通过化学反应(诸如水解或磷酸化)转化成活性形式。前药策略最常用于通过用酯或酰胺部分掩蔽极性官能团和氢键以增加亲脂性来增加化合物的渗透性。被动扩散的渗透性和转运体介导的过程两者都已经通过前药方法进行了调节。在具有羧基的药物的情况下,如在氯苯唑酸(CAP4349)中,可以通过将羧基转化成酯或酰胺来获得前药。对于含羧基的药物,可以优选简单的烷基酯用于增加被动扩散渗透性。乙酯是这种类型的最常见的前药。其他前体(promoiety)包括芳基、与二醇的双酯,环状碳酸酯和内酯。所有这些前体在本文中都被认为是氯苯唑酸(CAP4349)的前药。制备双酯以通过第二酯增加酯酶的识别。设计环状碳酸酯前药(例如,仑氨西林(lenampicillin))在血浆中不稳定,以避免通过细胞酯酶进行的非生产性代谢。在血液或血浆中通过血源性酶水解的前药有益于增加活性成分的口服生物利用度和体循环。为此目的,设计了双酯和环状碳酸酯前药。开发了用于特异性靶向的内酯前药。

[0068] 示例性化合物的定义

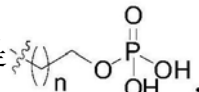
[0069] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中, R_3 是氨基酸。

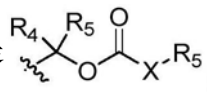
[0070] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中, R_4 是氢,并且 R_5 是甲基或乙基。

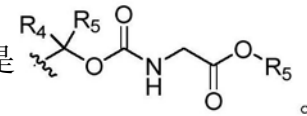
[0071] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中, R_3 是 C_{1-6} 烷基。

[0072] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中, X 是N。

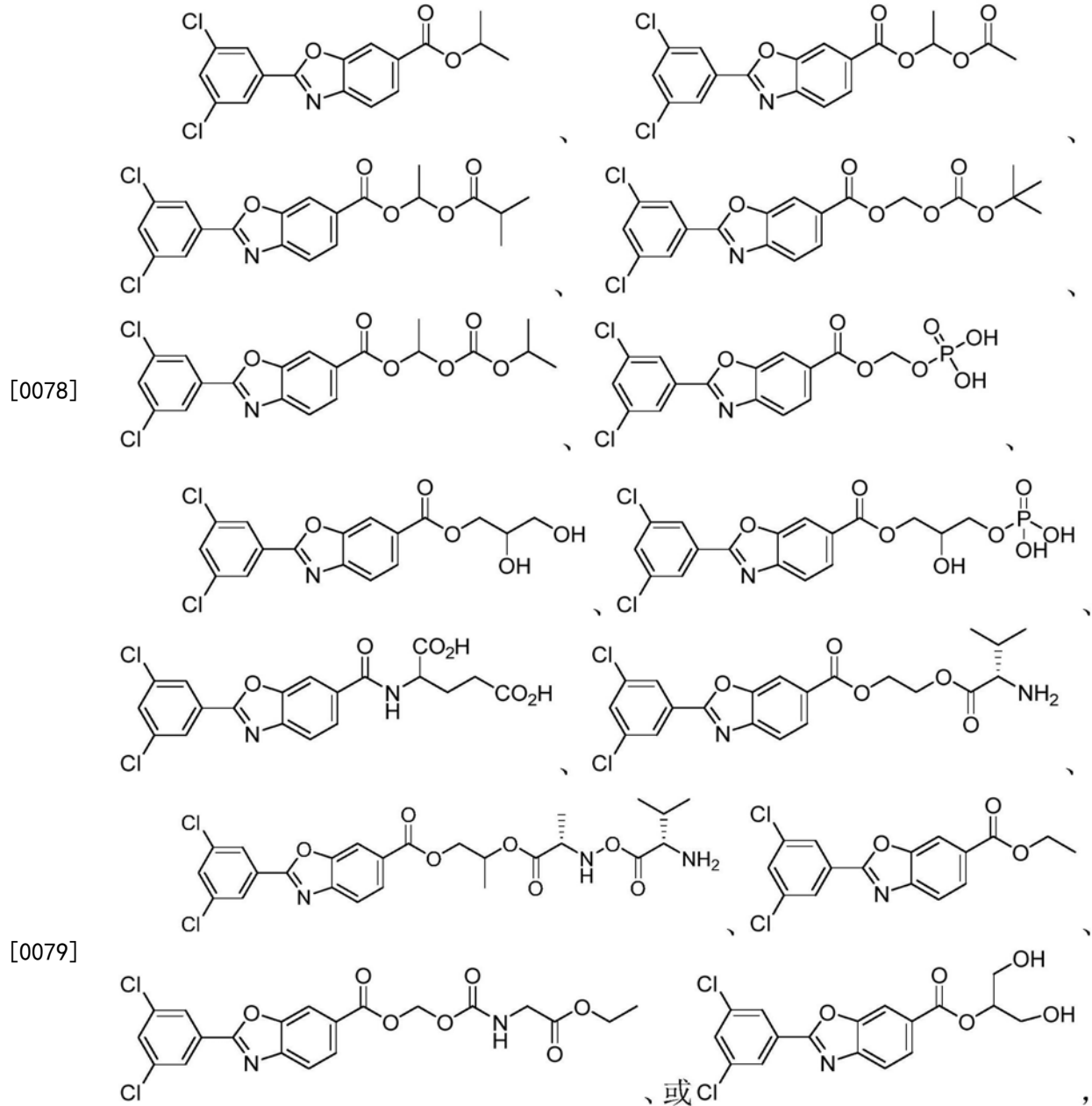
[0073] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中, X 是O。

[0074] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中, R_3 是  其中, n 是0。

[0075] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中, R_3 是  , X 是O, R_4 是H,并且 R_5 是 CH_3 。

[0076] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中, R_3 是  。

[0077] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中,化合物是



[0080] 或其溶剂化物或药学上可接受的盐。

[0081] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中,受试者是人。

[0082] 在一个实施方式中,在这两个方面的每一个中,药物组合物被配制用于局部眼部施用(topical ophthalmic administration,眼睛局部施用)。

[0083] 在本文描述的包括可以被取代(诸如对于 R_4 和 R_5)的取代基替代物的所有化合物

中,取代通常彼此独立地选自结合结构式(I)描述的基团。

[0084] 本领域的技术人员应当理解,本文描述的许多前药可以呈现互变异构、构象异构、几何异构和/或光学异构的现象。例如,前药可以包括一个或多个手性中心和/或双键,并且因此可以作为立体异构体存在,诸如双键异构体(即,几何异构体)、对映异构体和非对映异构体以及它们的混合物,如外消旋混合物。作为另一个实施例,前药可以以多种互变异构形式存在,包括烯醇形式、酮形式以及它们的混合物。应当理解的是,本技术涵盖前药的任何互变异构的、构象异构的、光学异构的和/或几何异构的形式,以及这些各种不同异构形式的混合物。

[0085] 药物组合物

[0086] 取决于各种取代基的性质,本文描述的前药可以是盐的形式。此类盐包括适合于药物用途的盐(“药学上可接受的盐”)、适合于兽医用途的盐等。此类盐可以来源于酸或碱,如本领域中熟知的。

[0087] 在一个实施方式中,盐是药学上可接受的盐。通常,药学上可接受的盐是基本上保留母体化合物的所希望的药理学活性中的一种或多种并且适合于施用至人的那些盐。药学上可接受的盐包括与无机酸或有机酸形成的酸加成盐。适合于形成药学上可接受的酸加成盐的无机酸包括(通过举例而非限制)氢卤酸(例如,盐酸、氢溴酸、氢碘酸等)、硫酸、硝酸、磷酸等。适合于形成药学上可接受的酸加成盐的有机酸包括(通过举例而非限制)乙酸、三氟乙酸、丙酸、己酸、环戊烷丙酸、乙醇酸、草酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、棕榈酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、烷基磺酸(例如,甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羟基乙磺酸等)、芳基磺酸(例如,苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑磺酸等)、4-甲基二环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡庚糖酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡糖酸、谷氨酸、羟基萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、粘康酸等。

[0088] 药学上可接受的盐还包括当存在于母体化合物中的酸性质子被金属离子(例如,碱金属离子、碱土金属离子或铝离子)替换或与有机碱(例如,乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、N-甲基葡糖胺、吗啉、哌啶、二甲胺、二乙胺等)配位时形成的盐。

[0089] 本文描述的前药及其盐还可以呈水合物、溶剂化物和N-氧化物的形式,如本领域中熟知的。除非另外确切地指明,表述“前药”旨在涵盖此类盐、水合物、溶剂化物和/或N-氧化物。具体示例性的盐包括但不限于单和二钠盐、单和二钾盐、单和二锂盐、单和二烷基氨基盐、单镁盐、单钙盐和铵盐。

[0090] 在任何给定情况下待施用的化合物的实际量将由医师考虑相关情况来确定,诸如病症的严重性、患者的年龄和体重、患者的一般身体状况、病症的原因、以及施用途径。

[0091] 患者将以任何可接受的形式,诸如片剂、液体、胶囊、粉末等口服施用化合物,或可以期望的或必要的其他途径,特别是如果患者遭受恶心。这样的其他途径可以无一例外地包括经皮、肠胃外、皮下、鼻内、经由植入物支架、鞘内、玻璃体内、眼睛局部、回眼(back to the eye)、肌内、静脉内和直肠内递送模式。此外,可以设计制剂以在给定的时间段内延迟活性化合物的释放,或在治疗过程期间在给定的时间小心地控制释放的药物的量。

[0092] 在某些实施方式中,提供了包括在其药学上可接受的载体中的至少一种具有式(I)的化合物的药物组合物。短语“药学上可接受的”是指载体、稀释剂或赋形剂必须与制剂

的其他成分相容并且对其接受者无害。

[0093] 本技术的药物组合物可以以固体、溶液、乳液、分散体、贴片、胶束、脂质体等的形式使用,其中,所得组合物包含一种或多种本技术的化合物作为活性成分,与适于肠内或胃肠外应用的有机或无机载体或赋形剂混合。本公开的化合物可以与例如用于片剂、丸剂、胶囊、栓剂、溶液、乳液、悬浮液和任何其他适于使用的形式的通常无毒的药学上可接受的载体结合。可以使用的载体包括葡萄糖、乳糖、阿拉伯树胶、明胶、甘露醇、淀粉糊、三硅酸镁、滑石、玉米淀粉、角蛋白、胶态二氧化硅、马铃薯淀粉、脲、中等链长度的甘油三酯、葡聚糖以及其他适合用于制造处于固体、半固体、或液体形式的制剂的载体。此外,可以使用助剂、稳定剂、增稠剂和着色剂以及香料。这些化合物以足以对该过程或疾病状况产生所希望的作用的量被包含在该药物组合物中。

[0094] 药物组合物可以是无菌可注射悬浮液的形式。这种悬浮液可以根据已知的方法使用合适的分散剂或润湿剂以及悬浮剂进行配制。无菌可注射制剂还可以是在非毒性的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射的溶液或悬浮液,例如作为在1,3-丁二醇中的溶液。无菌的固定油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的,可以使用任何温和的固定的油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯、脂肪酸(包括油酸)、天然存在的植物油(像芝麻油、椰子油、花生油、棉籽油等)、或合成的脂肪媒介(像油酸乙酯等)。可以根据需要掺入缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂等。

[0095] 本技术的化合物还可以以用于直肠施用的栓剂的形式施用。这些组合物可以通过将具有式(I)的化合物与适合的非刺激性赋形剂(诸如可可脂、聚乙二醇的合成甘油酯)混合来制备,其在常温下是固体,但在直肠腔中液化和/或溶解以释放药物。

[0096] 包含本公开的化合物的药物组合物可以呈适合于口服使用的形式,例如作为片剂、含片、锭剂、水性或油性悬浮液、可分散的粉末或颗粒、乳液、硬或软胶囊、或糖浆或酏剂。旨在用于口服使用的组合物可以根据本领域中已知的用于制造药物组合物的任何方法来制备,并且此类组合物可以包含一种或多种选自由以下各项所组成的试剂:甜味剂(诸如蔗糖、乳糖、或糖精)、调味剂(诸如薄荷、冬青油或樱桃)、着色剂和防腐剂,以便提供药学上精致且适口的制剂。含有与无毒的药学上可接受的赋形剂混合的技术化合物的片剂也可以通过已知的方法制造。所使用的赋形剂可以是,例如,(1)惰性稀释剂,诸如碳酸钙、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;(2)造粒剂和崩解剂,诸如玉米淀粉、马铃薯淀粉或海藻酸;(3)粘结剂,诸如黄耆胶、玉米淀粉、明胶或阿拉伯胶;以及(4)润滑剂,诸如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。片剂可以是未包衣的或它们可以通过已知技术包衣以延迟在胃肠道中的崩解和吸收,从而提供较长时期的持续作用。例如,可以使用时间延迟材料诸如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0097] 在一些情况下,用于口服使用的制剂可以处于硬明胶胶囊的形式,其中,将这些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。它们还可以处于软明胶胶囊的形式,其中,技术化合物与水或油介质,例如花生油、液体石蜡或橄榄油混合。

[0098] 本技术的化合物还可以作为药物组合物以适合于局部使用的形式施用,例如作为油性悬浮液、作为在水性液体或非水性液体中的溶液或悬浮液、或作为水包油或油包水液体乳液。

[0099] 药物组合物可以通过将治疗有效量的至少一种根据本技术的化合物、或其药学上可接受的盐作为活性成分与常规的眼部可接受的药物赋形剂结合并且通过制备适合于局

部眼部使用的单位剂量来制备。在液体制剂中治疗有效量通常是在约0.001%与约5% (w/v) 之间, 优选约0.001%至约2.0% (w/v)。

[0100] 对于眼部应用, 优选地使用生理盐水溶液作为主要媒介来制备溶液。此类眼用溶液的pH应该优选地用适当的缓冲体系维持在4.5与8.0之间, 中性pH是优选的但不是必需的。这些制剂还可以包含常规的药学上可接受的防腐剂、稳定剂和表面活性剂。

[0101] 可用于本技术的药物组合物的优选防腐剂包括但不限于苯扎氯铵、氯丁醇、硫柳汞、乙酸苯汞和硝酸苯汞。

[0102] 优选的表面活性剂是例如吐温80 (Tween 80)。同样地, 各种优选的媒介可以用于本技术的眼用制剂。这些媒介包括但不限于聚乙烯醇、聚维酮、羟丙基甲基纤维素、泊洛沙姆、羧甲基纤维素、羟乙基纤维素环糊精和纯化水。

[0103] 可以根据需要或便利地添加张力调节剂。它们包括但不限于盐, 特别是氯化钠、氯化钾、甘露醇和甘油, 或任何其他合适的眼部可接受的张力调节剂。

[0104] 只要得到的制剂是眼部可接受的, 可以使用各种缓冲剂和调节pH的手段。因此, 缓冲剂包括乙酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、磷酸盐缓冲剂和硼酸盐缓冲剂。根据需要, 酸或碱可以用于调节这些制剂的pH。

[0105] 以类似的方式, 用于本技术的眼部可接受的抗氧化剂包括但不限于偏亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠、乙酰半胱氨酸、丁基化羟基苯甲醚和丁基化羟基甲苯。

[0106] 可以包含在眼用制剂中的其他赋形剂组分是螯合剂。优选的螯合剂是依地酸二钠, 尽管其他螯合剂也可以代替它或与其结合使用。

[0107] 本技术的活性化合物的实际剂量取决于具体化合物和待治疗的病症; 适当剂量的选择完全在本领域技术人员知识范围内。

[0108] 本技术的眼用制剂便利地以适于计量施用的形式包装, 诸如在配备有滴管的容器中, 以促进施加于眼睛。适于逐滴施加的容器通常由合适的惰性、无毒塑料材料制成, 并且通常含有在约0.5与约15ml之间的溶液。一个包装可以包含一个或多个单位剂量。尤其不含防腐剂的溶液通常配制在不可再密封的容器中, 所述容器含有至多达约十个, 优选至多达约五个单位剂量, 其中典型的单位剂量为1至约8滴, 优选1至约3滴。1滴的体积通常为约20-35 μ l。

[0109] 对本领域技术人员显而易见的是, 通过以常规方式分离它们的混合物可以获得单独的异构体形式。例如, 在非对映异构的异构体的情况下, 可以使用色谱分离。

[0110] 本技术还提供了用于治疗或预防白内障和老花眼或白内障的药物试剂盒。患者可以是人或动物患者。试剂盒包括在包装中的特定量的单独剂量, 该单独剂量含有药学上有效量的至少一种具有式 (I) 的化合物。试剂盒可以进一步包括试剂盒的使用说明书。特定量的单独剂量可以包括从约1至约100个单独剂量。

[0111] 参考以下实施例, 将更好地理解本发明描述的技术及其优点。提供这些实施例以描述本技术的特定实施方式。通过提供这些具体实施例, 并不旨在限制本技术的范围和精。本领域技术人员应当理解, 当前描述的技术的全部范围涵盖由附于本说明书的权利要求以及那些权利要求的任何改变、修改或等同物限定的主题。

[0112] 实施例

[0113] 实施例1: 通过实例化合物CAP4349 (氯苯唑酸) 防止AAC的聚集

[0114] 确定CAP4349以浓度依赖性的方式保护hAAC免受UV诱导的聚集。使用SDS/PAGE和吸光度测试氯苯唑酸的葡甲胺盐(CAP4349-M)防止hAAC聚集的能力。

[0115] 在有或没有CAP4349-M(葡甲胺盐,0-1000 μ M)的情况下,将hAAC暴露于UV光15分钟,并且在4-20%梯度SDS-PAGE凝胶上进行分析。CAP4349-M证明了hAAC聚集的剂量依赖性预防,这从SDS-PAGE凝胶上的聚集和非聚集形式的条带的强度是显而易见的(图1A)。

[0116] 在另一个研究中,在有或没有CAP4349-M的情况下,将hAAC暴露于UV光60分钟,并且通过吸光度测量所得的聚集。结果以平均吸光度百分比变化 \pm SD($n=3$ 或4)的形式示于图1B中。 EC_{50} 值(这是hAAC聚集的半最大反应)被确定为是19.7(\pm 1.4) μ M。

[0117] 实施例2:实例化合物CAP4349以剂量依赖性方式增强hAAC的陪伴分子样活性(CLA)

[0118] 由于UV光、氧化、糖化、交联和蛋白水解所致的转译后修饰可能影响AAC的CLA及其防止靶蛋白聚集的能力。这些修饰导致其他晶状体蛋白的聚集,这最终导致晶状体不透明度的发展和白内障的发展。因为CAP4349防止hACC聚集,所以CAP4349对AAC的CLA活性的影响是使用体外陪伴分子测定来评估的,其中(i)溶菌酶作为模型客户蛋白,以及(ii)牛 γ -晶状体蛋白(BGC),作为生理学相关的透镜状蛋白。

[0119] 溶菌酶的热诱导聚集:在还原剂(DTT)和热(37 $^{\circ}$ C)存在下,溶菌酶经历变性和聚集。AAC的CLA活性可以保护溶菌酶免受热和DTT诱导的聚集(Robey, R.L.等人,(1997), Journal of Heterocyclic Chemistry, 34: (2) 413-428)。为了检查CAP4349对ACC保护溶菌酶免受热和DTT诱导的聚集的能力的影响,将AAC(250 μ g/ml)与不同浓度的CAP4349-M混合并且在室温下温育1小时,随后添加溶菌酶(500 μ g/ml)。通过加入10mM DTT在37 $^{\circ}$ C引发聚集反应。通过测量400nm处的吸光度来监测聚集随着光散射的变化。发现在CAP4349的存在下, AAC证明了对溶菌酶免于聚集的增强保护。作用是剂量依赖性的(图2A)。这些结果表明CAP4349在与AAC交互时增加其CLA。

[0120] UV诱导的BGC聚集:暴露于UV辐射是白内障形成的促成因素。研究已经显示,在体外将透镜状 γ -晶状体蛋白(GC)暴露于UV辐射导致光聚集和HMW聚集体的形成(Gilbert, Adam M.等人,(2007), Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters, 17 (5): 1189-1192)。AAC防止热的和UV诱导的GC聚集(Horowitz J. (1992), Proc. Nat. Acad. Sci. USA 89: 10449-10453)。因此,检查了CAP4349对AAC防止生理相关客户蛋白诸如GC聚集的能力的影响。发现CAP4349以剂量依赖性方式增加了由AAC提供的针对UV诱导的BGC聚集的保护(图2B),表明CAP4349与AAC的相互作用增强了其朝向客户蛋白(透镜状 γ -晶状体蛋白)的CLA。

[0121] CAP4349(EC_{50})在增强ACC的CLA方面的功效的确定:将AAC(250 μ g/ml)与不同浓度的CAP4349-M混合并且在室温下温育1小时,随后添加纯化的BGC(500 μ g/ml)。通过将反应混合物暴露于UVB辐射引发聚集反应。通过在 $t=0, 15, 30$ 和45分钟在600nm处测量吸光度来监测聚集的光散射的变化。在图上绘制的来自一式三份或四份孔的平均吸光度百分比 \pm SD(图2C)。 EC_{50} 值计算为64.8(\pm 1.3) μ M,这是在存在AAC的情况下产生BGC聚集的半最大反应的CAP4349-M浓度的浓度。

[0122] 实施例3:通过实例化合物CAP4349保护热和UV诱导的人晶状体上皮细胞的细胞死亡

[0123] CAP4349在保护人晶状体上皮细胞免于应激中的功效,作为细胞AC功能的量度:加

热完整的人晶状体显著地促进可溶性AC转化为HMW聚集体并且AC负责保护人晶状体上皮(HLE)细胞免于热应激诱导的细胞死亡(Peschek J等人,(2009), Proc.Natl.Acad.Sci.USA.106(32):13272-13277)。在UV应激后HLE细胞的存活还取决于AC活性(Kumar P.等人,(2007) Biochem.J.,408:251-258)。开发用于在热或UV暴露之后测量细胞存活测定的测定作为AC陪伴分子活性的潜在替代物。HLE细胞系SRA 01/04细胞用CAP4349预温育2小时,然后暴露于热(50°C,40m)或UV光(48秒)。结果显示CAP4349以剂量依赖性方式保护细胞免于热诱导和UV诱导的细胞死亡(图3A和图3B),表明在CAP4349存在下AAC的增加的CLA能够保护HLE细胞免于应激。CAP4349在正常条件下不改变生存力。

[0124] 实施例4:实例化合物CAP4349减少AAC的细胞聚集体

[0125] CAP4349的细胞效应使用用于AAC聚集的自动化高含量测定来评估。已经报道AAC(R116C)-GFP形成p62阳性内含物(已知p62与多种蛋白质聚集疾病中的泛素化聚集体共定位)(Neal R等人,(2010) Mol.Vis.16:2137-2145)。进行实验以确定CAP4349是否对AAC和p62在HeLa细胞中的共定位具有任何影响。结果显示HeLa细胞中AAC(R116C)-GFP的聚集体与p62共定位,并且这些聚集体在用CAP4349处理时减少(图4A)。发现聚集体形成的这种降低是统计学显著的(图4B)。

[0126] 实施例5:CAP4349防止牛和人晶状体可溶性提取物在暴露于UV辐射时的聚集

[0127] 在以上实施例中,CAP4349被显示保护重组hAAC免受UV诱导的聚集并且促进其在客户蛋白上的CLA。接下来,检查CAP4349在更复杂和生理学相关的系统中防止UV诱导的浑浊的能力。牛和人晶状体裂解物都含有AAC以及多种内源客户蛋白,所有这些蛋白质以生理比率存在于离子、氧化还原对和抗氧化剂的生理相关环境中。CAP4349以剂量依赖性方式保护牛(图5A)和人(图5B)裂解物免于UV诱导的浑浊。

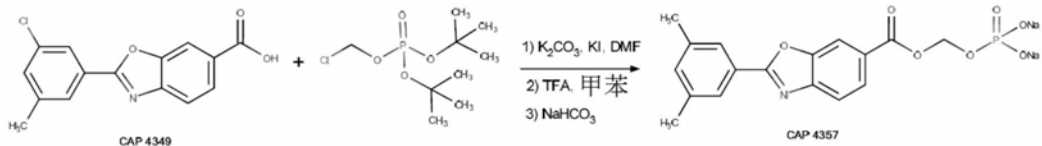
[0128] 实施例6:CAP4349增加晶状体清晰度并且延迟UV诱导的体外白内障形成

[0129] 将猪晶状体用125 μ M CAP4349(或媒介)预处理并用UV照射(或不照射)。先前已经在白内障的体外模型中使用猪晶状体(Sierra for Medical Science,Inc.,Whittier,CA)(Raju,M.(2014) Biochemistry,53(16):2615-2623)。发现CAP4349预防体外猪晶状体的UV诱导的混浊(图6)。CAP4349保护整个完整晶状体免于浑浊的能力强烈地表明该化合物可以在白内障动物模型体内中这样做。

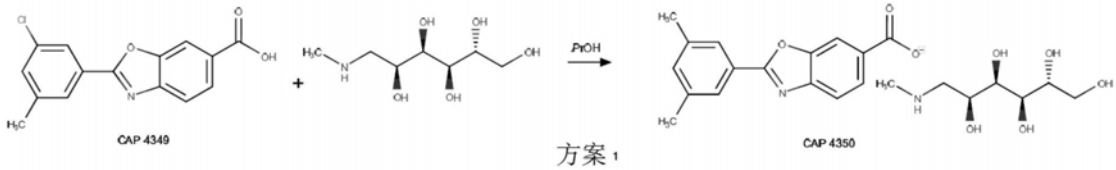
[0130] 实施例7:CAP4349的前药

[0131] CAP4349的葡甲胺盐的最大溶解度是0.0323mg/ml,(药物库:<https://www.drugbank.ca/salts/DBSALT002673>)。局部眼用药物通常展现出在2-5%范围内的生物利用度(Gower NJD等人,(2016),BMC Ophthalmol.16:11)。因此,在晶状体中配制的CAP4349的葡甲胺的最大浓度将是约5 μ M,这低于其用于预防hACC聚集的EC₅₀值(19.5 μ M)。因此,为了改善水溶性和生物利用度,本公开提供了CAP4349的前药。

[0132] 作为实例,使用以下所示的方案1制备CAP4349的一种磷酸盐前药和一种葡甲胺盐。这些化合物分别称为CAP4357和CAP4350(CAP4349的葡甲胺盐)。



[0133]

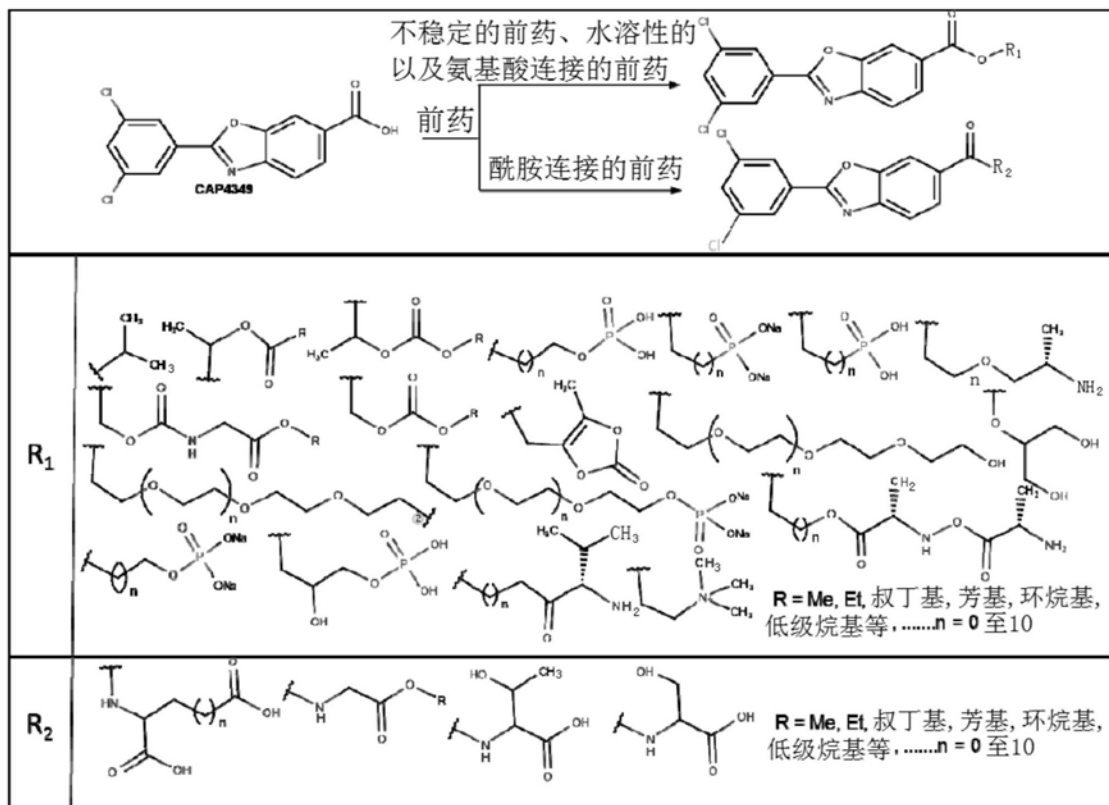


[0134] 在搅拌的同时在室温下向氯苯唑酸的溶液中添加在DMF (10mL) 中的CAP4349 (308mg), K_2CO_3 (220mg) 和KI (132mg), 随后添加二叔丁基氯甲基磷酸酯。在70°C下搅拌反应混合物两小时。将该反应用冰淬灭并且在乙酸乙酯中萃取三次。将结合的有机层用水洗涤, 随后用1%的硫代硫酸钠水溶液洗涤, 并且最后用盐水洗涤, 产生中间体叔丁基保护的磷酸酯。通过用TFA裂解保护基团, 然后在水和THF存在下 NaHCO_3 处理, 以两个步骤将叔丁基保护的磷酸酯中间体转化为二钠盐, 从而得到CAP4357的二钠盐, 为白色固体。CAP4357证明了当配制成5%水性(2-羟丙基)- β -环糊精(HPBCD)中时, 25mg/ml的水溶解度增加至40mg/ml。这代表水溶解度和HPBCD溶解度分别增加了774倍和1,238倍。

[0135] 存在于CAP4349中的酸基团适合于引入另外的前体, 其可以通过存在于眼中的酶转化成活性药物(Azema, Joelle等人, *Bioorganic&Medicinal Chemistry*, 14 (8), 2006, 第2569-2580页; Jerzy Golik等人, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 6 (15), 1996, 第1837-1842页; A. Mantyla等人, *Tetrahedron Lett.* 43, 2003, 第3793-3794页; 和53. Jeffrey P等人, *J. Med. Chem.*, 42, (16), 1999, 第3094-3100页)。

[0136] 用于设计CAP4349的前药的一般策略呈现在方案2中。

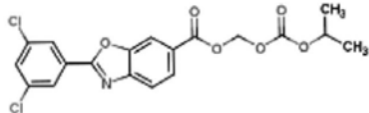
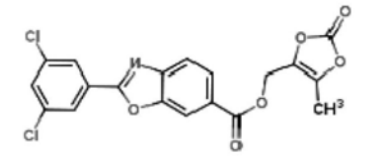
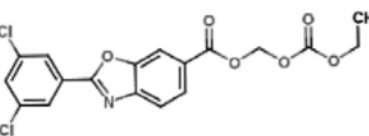
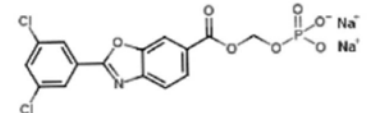
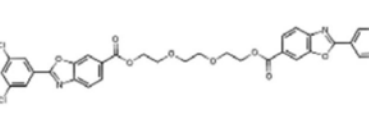
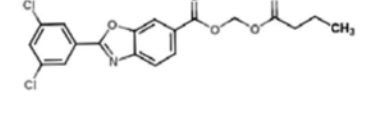
[0137]



[0138] 方案2:CAP4349的代表性前药类似物

[0139] 使用如下表1中所示的以上方案合成几种前药。

表 1: 设计和合成的 CAP4349 的前药的子集的特征

Cmpd. ID	Mol. Str.	Mol. Wt. (Da)	纯度 (%)	产率 (%)
CAP4354		424.23	97	61
CAP4355		420.20	95	59
[0140] CAP4356		410.20	97	60
CAP4357		462.08	97	30 (3个步骤)
CAP4358		730.37	96	45
CAP4359		408.23	97	60

[0141] 以下提供了以上化合物的光谱(NMR)数据:

[0142] CAP4354: ¹H NMR (500MHz, CDC13) : δ8.32 (br s, 1H) , 8.17-8.14 (m, 3H) , 7.83 (d, J = 10Hz, 1H) , 7.56 (br s, 1H) , 6.05 (s, 2H) , 2.64 (m, 1H) , 1.22 (s, 6H) 。

[0143] CAP4355: ¹H NMR (500MHz, CDC13) : δ8.38 (br s, 1H) , 8.24-8.23 (m, 3H) , 7.83 (d, J = 10Hz, 1H) , 7.56 (br s, 1H) , 5.24 (s, 2H) , 2.26 (s, 3H) 。

[0144] CAP4356: ¹H NMR (500MHz, CDC13) : δ8.32 (br s, 1H) , 8.17-8.14 (m, 3H) , 7.88 (d, J = 8.5Hz, 1H) , 7.56 (br s, 1H) , 6.05 (s, 2H) , 4.29 (q, J = 7.5Hz, 2H) , 1.34 (t, J = 7Hz, 3H) 。

[0145] CAP4357: ¹H NMR (500MHz, DMSO) : δ8.38 (br s, 1H) , 8.18 (d, J = 5Hz, 2H) , 8.09 (d, J = 10Hz, 1H) , 8.01 (d, J = 10Hz, 1H) , 7.98 (br t, J = 5Hz, 1H) , 4.45 (d, J = 5Hz, 2H) 。

[0146] CAP4358: ¹H NMR (500MHz, CDC13) : δ8.31 (br s, 2H) , 8.09-8.07 (m, 6H) , 7.72 (d, J

=8.5Hz, 2H), 7.52 (br s, 2H), 4.53-4.51 (m, 6H), 3.86-3.90 (m, 6H)。

[0147] CAP4359: ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ 8.32 (br s, 1H), 8.17-8.14 (m, 3H), 7.82 (d, J=8.5Hz, 1H), 7.56 (br s, 1H), 6.05 (s, 2H), 2.39 (t, J=7Hz, 2H), 1.73-1.64 (m, 2H), 0.96 (t, J=6.5Hz, 3H)。

[0148] 实施例8:前药至活性代谢物的转化的酶法评估

[0149] 前药设计中的关键步骤是结合激活机制,该激活机制确保前药以有效和/或受控的方式转化为活性物质以满足给定医疗应用的治疗需要。使用重组人羧酸酯酶和磷酸酶检查前药的体外生物活化。在96孔板形式中一式三份进行所有代谢稳定性实验。进行这些研究的方法是已知的。例如,参见美国专利9,402,912和9,402,913,以及美国专利申请公布US2014/0256651、US2014/0256612和US2014/0256660,其各自的内容通过引用以其全部内容并入本文中。

[0150] 其他实施方式

[0151] 本说明书中公开的所有特征可以以任何组合进行结合。本说明书中公开的每个特征可以由服务于相同、等效或相似目的的替代特征来替换。因此,除非另有明确规定,否则所公开的每个特征仅是一个通用系列的等效或相似特征的实例。

[0152] 从以上描述中,本领域技术人员可以容易地确定本技术的基本特征,并且在不背离其精神和范围的情况下,可以对本技术进行各种改变和修改以使其适应各种用途和条件。因此,其他实施方式也在所附权利要求的范围内。

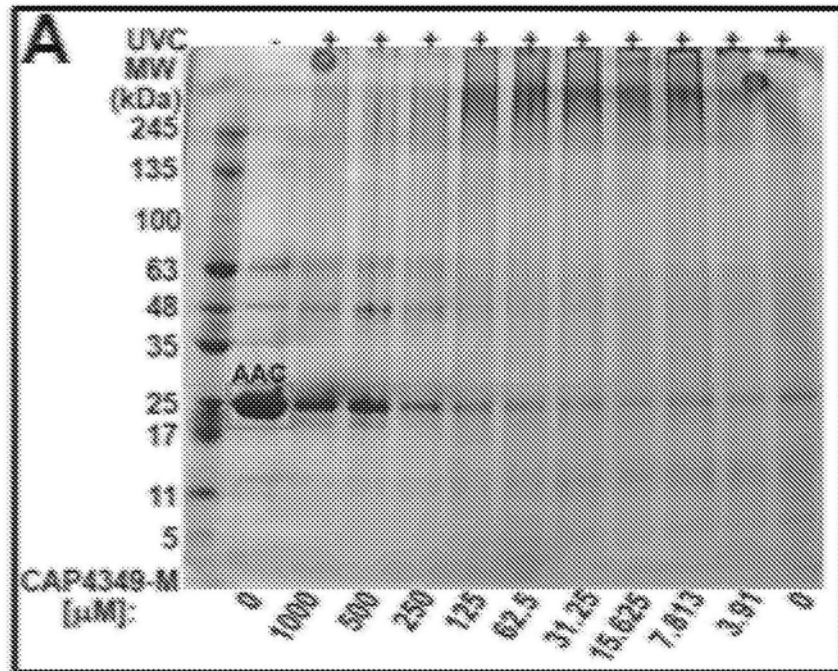


图1A

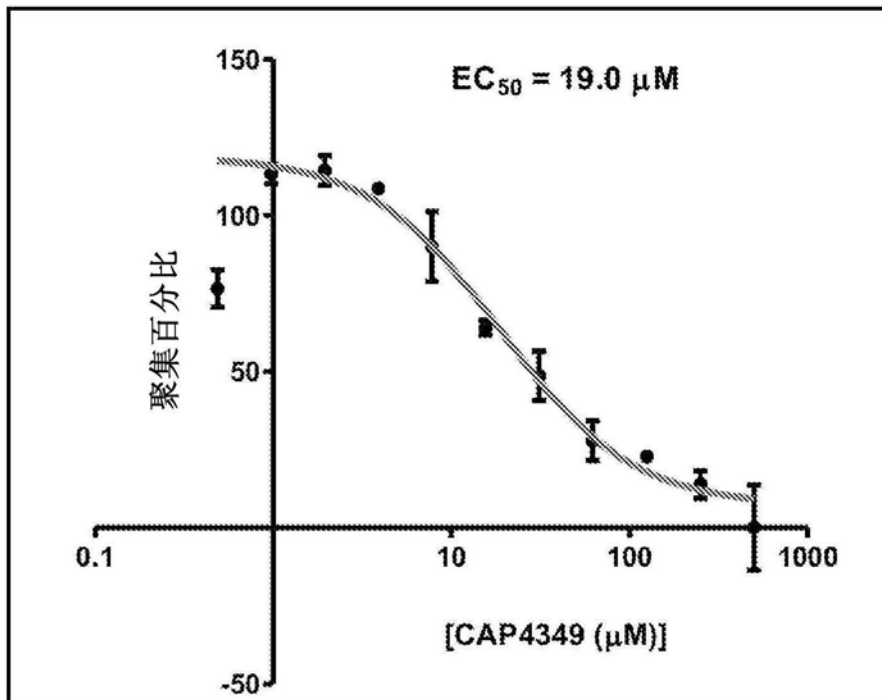


图1B

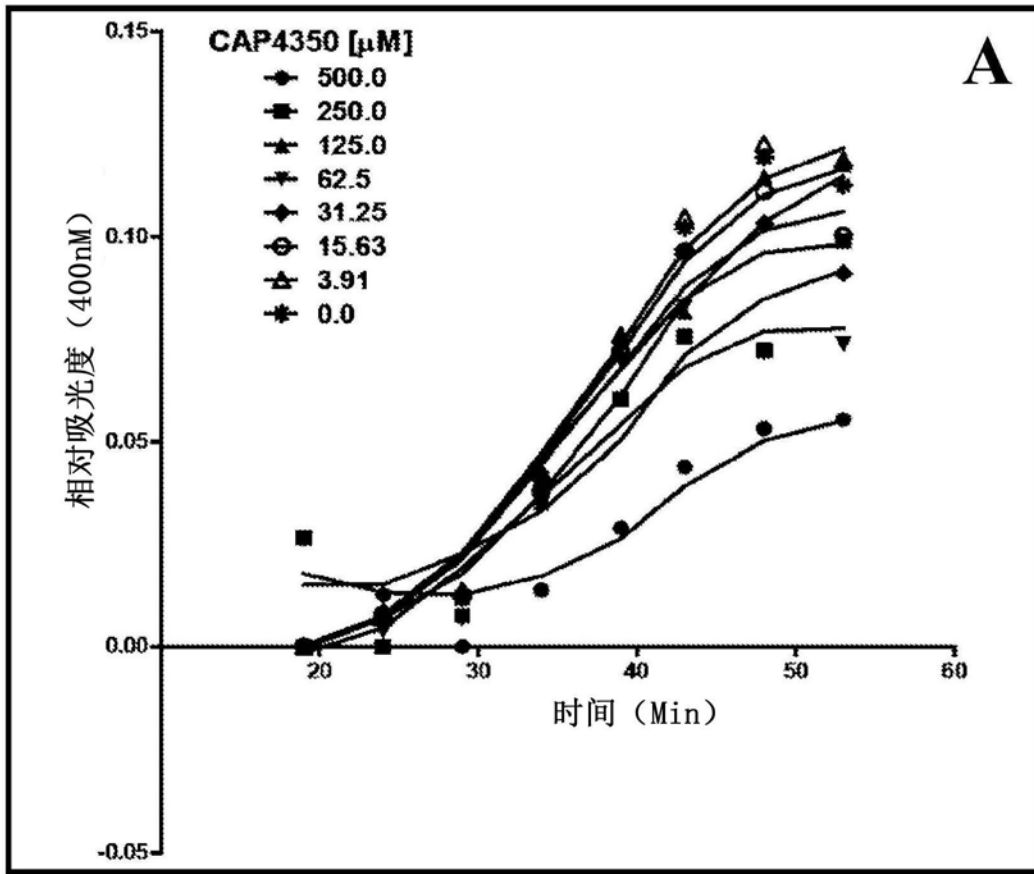


图2A

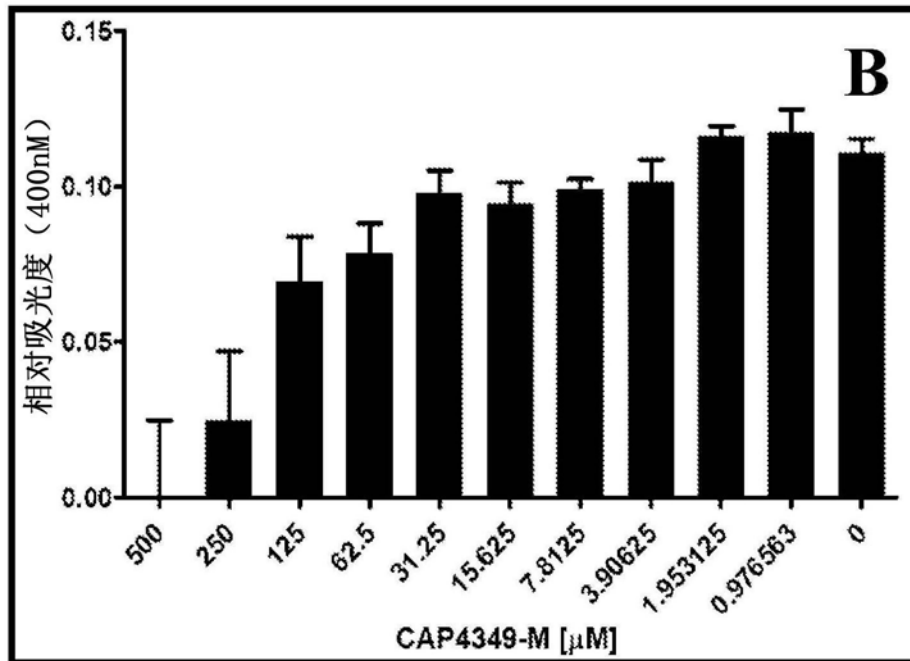


图2B

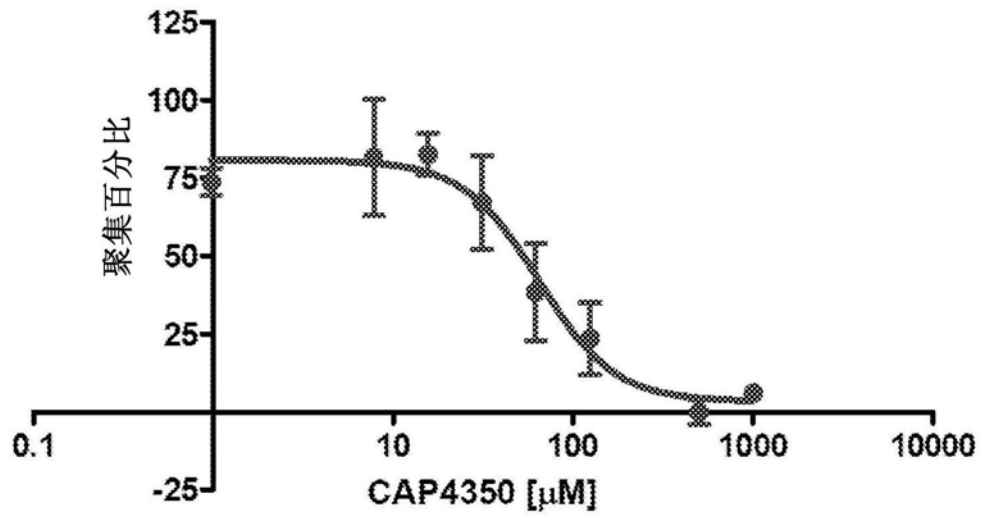


图2C

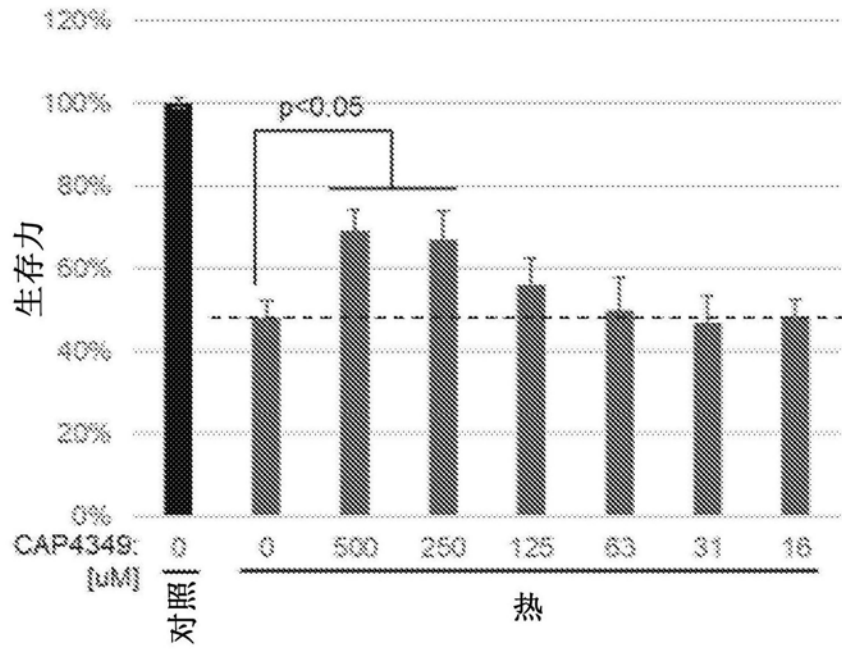


图3A

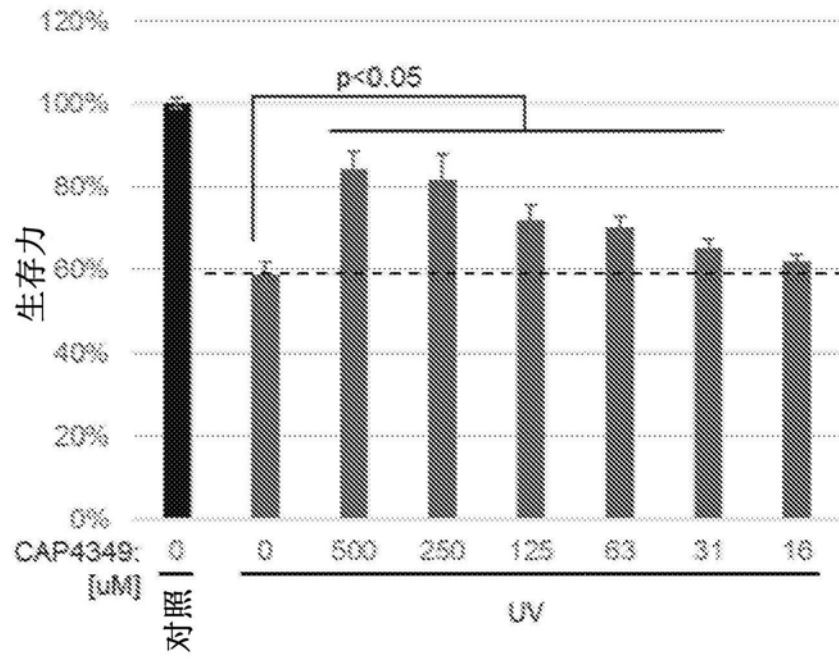


图3B

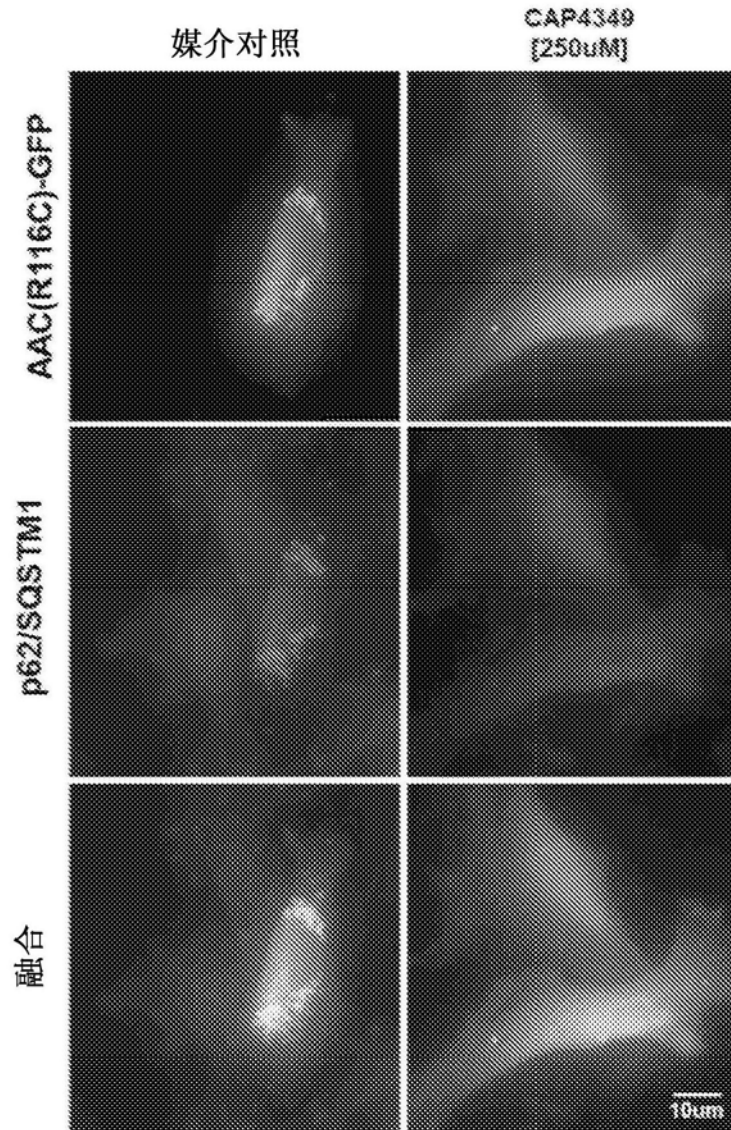


图4A

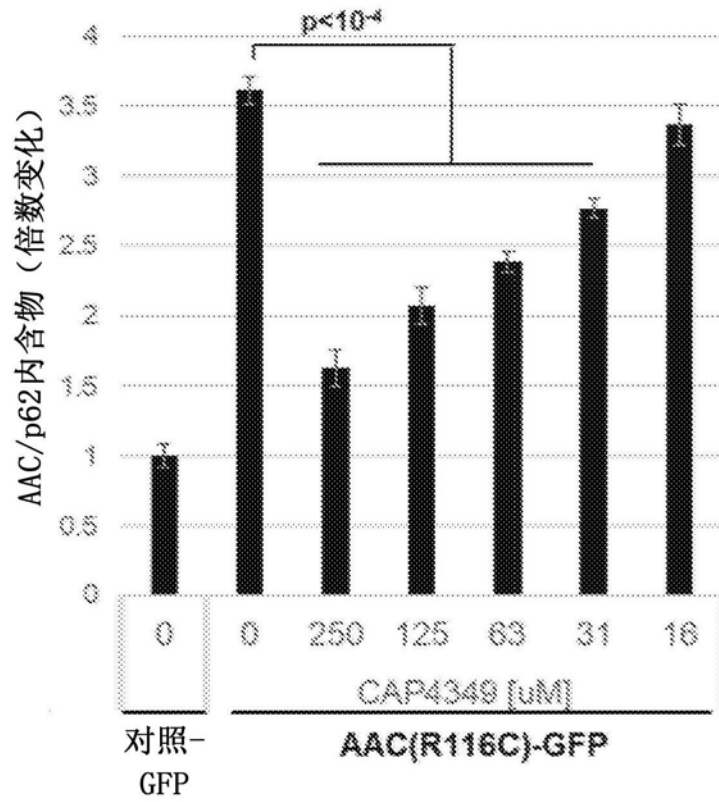


图4B

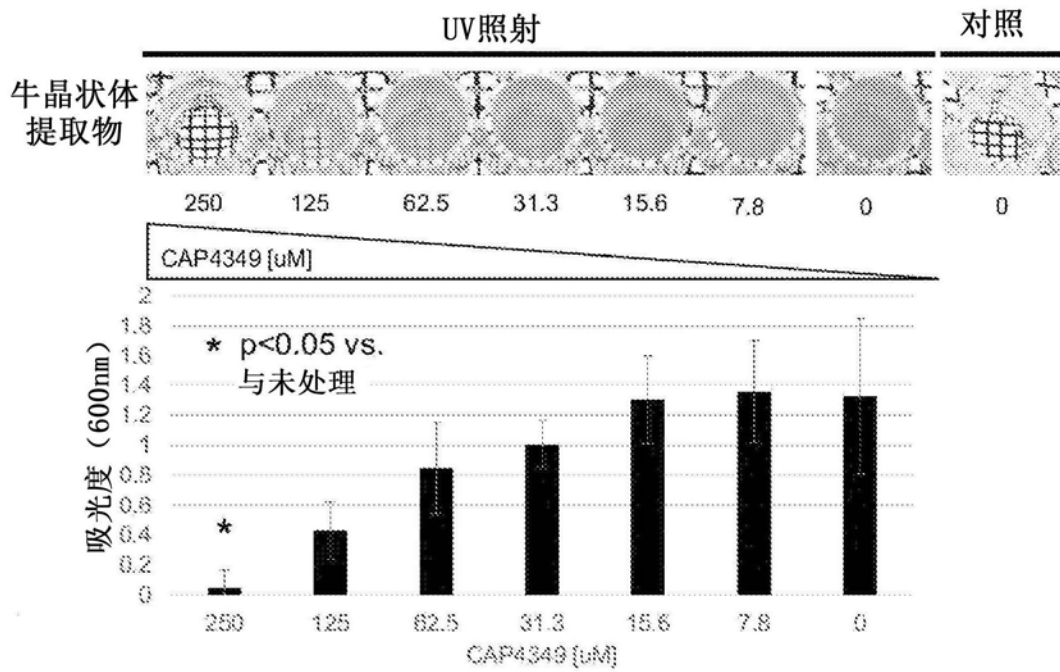


图5A

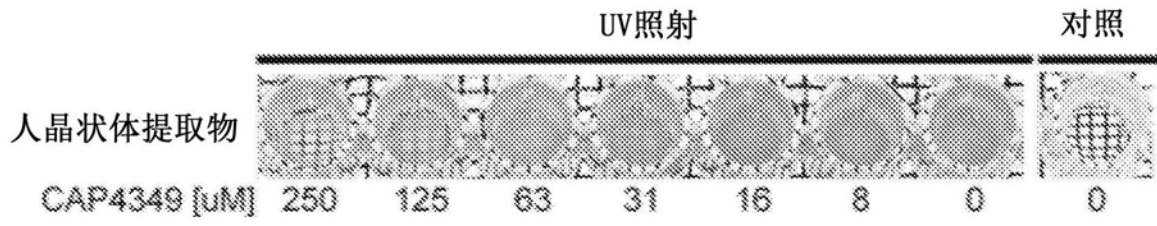


图5B

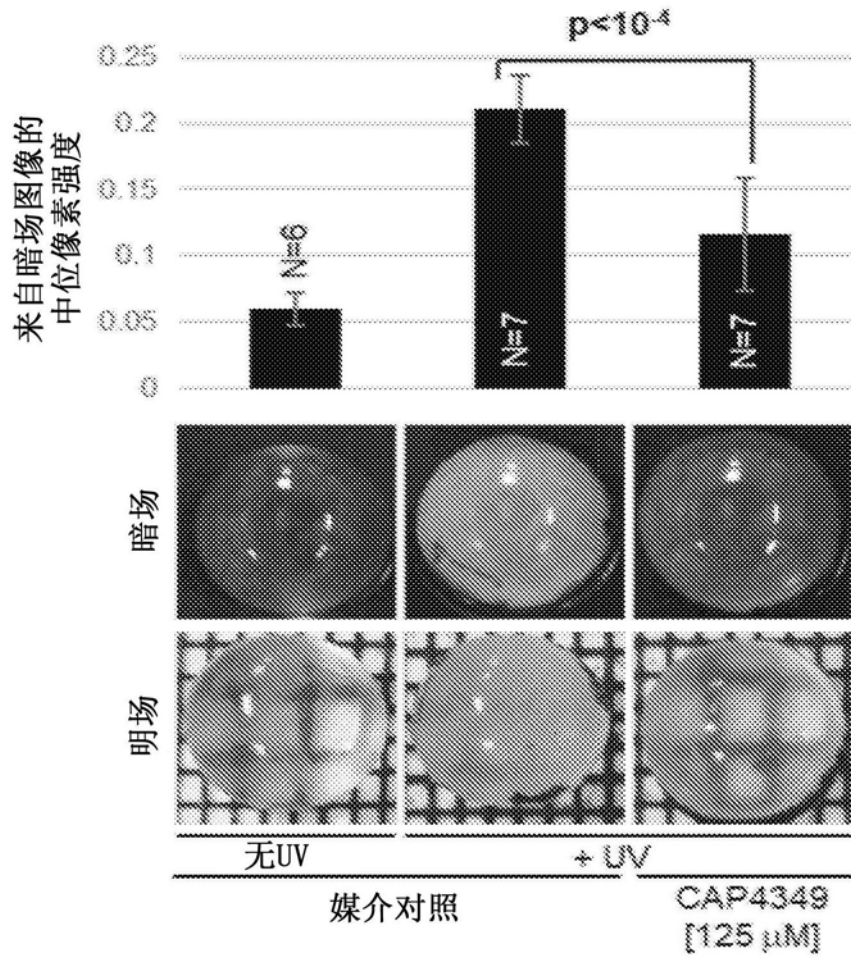


图6