



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104837486 A

(43) 申请公布日 2015. 08. 12

(21) 申请号 201380047941. 4

代理人 王贵杰

(22) 申请日 2013. 09. 13

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

A61K 31/196(2006. 01)

61/700, 623 2012. 09. 13 US

A61K 8/42(2006. 01)

A61Q 7/00(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 17/14(2006. 01)

2015. 03. 13

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2013/069062 2013. 09. 13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/041140 EN 2014. 03. 20

(71) 申请人 诺格拉制药有限公司

地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 G·朱利亚尼 R·保斯 Y·拉莫特

S·巴洛尼 F·维蒂 S·贝林维亚

B·玛尔扎尼

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

权利要求书2页 说明书19页 附图8页

(54) 发明名称

治疗毛发相关病症的方法

(57) 摘要

本文提供了对需要的患者增强表皮再生的方法,所述方法包括对所述患者局部施用药学上可接受的组合物,该组合物包含N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。例如,提供了用于治疗或改善瘢痕性脱发的方法,所述方法包括对有此需要的患者局部施用包含所公开的化合物的药学上可接受的组合物。还提供了使用所公开的化合物保护毛囊祖细胞的方法和包含它们的组合物。

1. 对需要的患者增强表皮再生的方法,包括对所述患者局部施用药学上可接受的组合物,该组合物包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。

2. 权利要求 1 的方法,其中增强表皮再生是治疗或改善瘢痕性脱发,所述方法包括对此需要的患者局部施用药学上可接受的组合物,该组合物包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。

3. 权利要求 2 的方法,其中所述瘢痕性脱发是毛发扁平苔癣。

4. 权利要求 2 的方法,其中所述瘢痕性脱发是慢性皮肤红斑狼疮、毛囊角化病或棘状脱发。

5. 权利要求 1-4 任一项的方法,还包括施用选自如下的化合物:吡格列酮、罗格列酮、多西环素、羟氯喹、麦考酚酸吗乙酯、利福平、克林霉素和精脒。

6. 权利要求 1-5 任一项的方法,其中所述患者是人。

7. 权利要求 1 的方法,其中所述患者患有皮肤伤口或烧伤。

8. 用于在哺乳动物皮肤脱毛前保护毛囊祖细胞的方法,包括使所述细胞与药学上可接受的组合物接触,该组合物包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体。

9. 促进患者伤口愈合的方法,包括对所述患者施用药学上可接受的组合物,该组合物包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。

10. 权利要求 9 的方法,其中所述伤口是烧伤、瘢痕、皮下创伤伤口或手术伤口。

11. 权利要求 1-10 任一项的方法,其中所述组合物包含 N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐。

12. 权利要求 1-11 任一项的方法,其中所述组合物包含至少约 1mM 浓度的 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体。

13. 权利要求 1-11 任一项的方法,其中所述组合物包含约 1mM 至约 10mM 浓度的 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体。

14. 保护和/或保存包含毛囊祖细胞的组合物的方法,其中所述方法包括使所述毛囊祖细胞与 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体接触。

15. 权利要求 14 的方法,包括使毛囊祖细胞与约 1mM 至约 10mM 浓度的 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体接触。

16. 组合物,包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂,其用于权利要求 1-4 任一项的方法。

17. 组合物,包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂,其用于权利要求 5-7 任一项的方法。

18. 组合物,包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂,其用于权利要求 8 的方法。

19. 组合物,包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂,其用于权利要求 9 或 10 的方法。

20. 组合物, 包含 N- 乙酰基 -(R)-(-)-3-(4- 氨基苯基)-2- 甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐, 其用于权利要求 1-10 任一项的方法。

21. 组合物, 包含至少约 1mM 浓度的 N- 乙酰基 -3-(4- 氨基苯基)-2- 甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体, 其用于权利要求 1-11 任一项的方法。

22. 组合物, 包含约 1mM 一约 10mM 浓度的 N- 乙酰基 -3-(4- 氨基苯基)-2- 甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体, 其用于权利要求 1-11 任一项的方法。

23. 组合物, 包含 N- 乙酰基 -3-(4- 氨基苯基)-2- 甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体, 其用于权利要求 14 的方法。

24. 组合物, 包含约 1mM 一约 10mM 浓度的 N- 乙酰基 -3-(4- 氨基苯基)-2- 甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体, 其用于权利要求 15 的方法。

25. 组合物, 包含 N- 乙酰基 -3-(4- 氨基苯基)-2- 甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体; 还包含至少一种选自如下的化合物: 吡格列酮、罗格列酮、多西环素、羟氯喹、麦考酚酸吗乙酯、利福平、克林霉素和精脒。

治疗毛发相关病症的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2012 年 9 月 13 日提交的 U. S. S. N. 61/700, 623 的优先权, 将该文献完整地引入本文参考。

[0003] 背景

[0004] 皮肤及其附属毛囊结构具有组织化良好的构造和极佳的系统, 其特征在于调节干细胞自我更新、增殖、迁移和谱系定型的分子机制。每个毛囊由持久部分和动态更新部分组成, 所述持久部分包括皮脂腺和下面的凸起区, 所述更新部分进行毛发生长初期 (活动生长期)、毛发生长中期 (重塑期) 和最终的毛发生长终期 (静止期) 循环。控制毛囊周期的两个关键要素是位于毛囊凸起区中的囊泡干细胞和构成滤泡状乳头的专用间质细胞。

[0005] 上皮干细胞是多能的, 产生子代细胞, 其向上迁移以用作用于在伤口修复期间生成表皮细胞的表皮祖细胞或向下迁移以转化成毛基质祖细胞, 从而进一步产生毛干。

[0006] 存在几个为何毛发生长可能迟缓或停止的原因。例如, 毛纤维产生可以停止, 因为基质细胞耗尽了其增殖能力; 这推定就在所有新毛发周期开始时确定基质细胞增殖能力, 并且新的基质细胞对于整个生长期而言不会生成。

[0007] 干细胞可以连续生成新基质细胞。毛纤维的产生可以在干细胞被指令停止生成新子代时停止。

[0008] 被分类为瘢痕或疤痕性秃发的脱发的一些类型例如毛发扁平苔癣、前额纤维化脱发、慢性皮肤红斑狼疮、毛囊角化病、棘状脱发 (spinulosa decalvans) 或毛囊炎性脱发是导致凸起区中的毛囊干细胞破坏和持久脱发的病症。因此, 防止毛囊干细胞破坏以便毛囊自我再生的基本能力得以保留可以允许患有涉及干细胞破坏的病症的患者毛发再生。因此, 对于保护毛囊干细胞以使毛囊得以保留且能够再生的有效活性剂存在需求。

[0009] 概述

[0010] 本公开提供了对需要的患者用于增强表皮再生的方法, 所述方法包括对所述患者局部施用药学上可接受的组合物, 该组合物包含本文公开的化合物 (例如 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸) 或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。

[0011] 例如, 部分涉及治疗或改善瘢痕性脱发的方法, 所述方法包括对有此需要的患者局部施用包含本文公开的化合物的药学上可接受的组合物。例如, 本文提供了治疗或改善瘢痕性脱发的方法, 所述方法包括对有此需要的患者局部施用药学上可接受的组合物, 该组合物包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。

[0012] 本文还关注用于在哺乳动物皮肤脱毛之前保护毛囊祖细胞的方法, 所述方法包括使所述细胞与药学上可接受的组合物接触, 该组合物包含本文公开的化合物 (例如 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸) 或其药学上可接受的盐或立体异构体。

[0013] 还提供了用于保护和 / 或保存包含毛囊祖细胞的组合物的方法, 其中所述方法包括使所述毛囊祖细胞与 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸接触。

[0014] 还提供了促进患者的伤口愈合的方法,所述方法包括对所述患者施用药学上可接受的组合物,该组合物包含本文公开的化合物(例如 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸)或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。

[0015] 附图简述

[0016] 图 1 描述实施例 2 中所述研究的实验设计。

[0017] 图 2 描述显示施用 N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸后刺激 K-15-免疫反应性的采集的数据。

[0018] 图 3 显示 K15-阳性细胞的 DPAI 染色。

[0019] 图 4 描述施用 N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸后刺激 K-19-免疫反应性的采集的数据。

[0020] 图 5 显示 K19-阳性细胞的 DPAI 染色。

[0021] 图 6 描述施用 N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸后 K19 阳性细胞在低和高浓度中的数量增加的采集的数据。

[0022] 图 7 描述在第 6 天时 N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸在 0.1mM 剂量下施用后 LDH 活性的增加(采集的数据)。

[0023] 图 8 描述在第 6 天时施用高剂量的(1mM)N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸后毛干伸长的抑制(采集的数据)。

[0024] 图 9 描述 N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸在不同浓度下的毛发生长中期(采集的数据)。

[0025] 图 10 描述 N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸向毛发生长中期的趋势(采集的数据,比较每次实验中每一毛发周期阶段的百分比, $n = 5$; $0.4 = 40\%$)。

[0026] 详细描述

[0027] 现在更具体地描述本公开的特征和其它详细内容。在进一步描述本发明之前,此处收集了本说明书、实施例和待批权利要求中使用的一些术语。这些定义应根据本公开的其余部分解读并且可以被本领域技术人员所理解。除非另有定义,否则本文使用的全部技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常所理解的相同的含义。

[0028] 定义

[0029] “治疗”包括导致病症、疾病、障碍等改善的任何作用,例如减轻、减少、调节或消除。

[0030] 本文所用的术语“烯基”是指具有至少 1 个碳-碳双键的不饱和直链或支链烃,例如 2-12、2-10 或 2-6 个碳原子的直链或支链基团,本文分别称作 C_2-C_{12} 烯基、 C_2-C_{10} 烯基和 C_2-C_6 烯基。示例性烯基包括、但不限于乙烯基、烯丙基、丁烯基、戊烯基、己烯基、丁二烯基、戊二烯基、己二烯基、2-乙基己烯基、2-丙基-2-丁烯基、4-(2-甲基-3-丁烯)-戊烯基等。

[0031] 本文所用的术语“烷氧基”是指连接在氧上的烷基(-O-烷基-)。示例性烷氧基包括、但不限于带有 1-12、1-8 或 1-6 个碳原子的烷基、烯基或炔基的基团,本文分别称作 C_1-C_{12} 烷氧基、 C_1-C_8 烷氧基和 C_1-C_6 烷氧基。示例性烷氧基包括、但不限于甲氧基、乙氧基等。类似地,示例性“烯氧基”包括、但不限于乙烯氧基、烯丙氧基、丁烯氧基等。

[0032] 本文所用的术语“烷基”是指饱和直链或支链烃,例如 1-12、1-10 或 1-6 个碳原子的直链或支链基团,本文分别称作 C_1-C_{12} 烷基、 C_1-C_{10} 烷基和 C_1-C_6 烷基。示例性烷基包括、但

不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、2-甲基-1-丙基、2-甲基-2-丙基、2-甲基-1-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-3-丁基、2,2-二甲基-1-丙基、2-甲基-1-戊基、3-甲基-1-戊基、4-甲基-1-戊基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、2,2-二甲基-1-丁基、3,3-二甲基-1-丁基、2-乙基-1-丁基、丁基、异丁基、叔-丁基、戊基、异戊基、新戊基、己基、庚基、辛基等。在一些实施方案中,烷基是指 C_1-C_6 烷基。在一些实施方案中,环烷基是指 C_3-C_6 环烷基。

[0033] 在一些实施方案中,烷基、烯基和炔基可以任选地被至少一个基团取代或打断,所述基团选自烷酰基、烷氧基、烷基、烯基、炔基、酰氨基、脞基、氨基、芳基、芳基烷基、叠氮基、氨基甲酸酯、碳酸酯、羧基、氰基、环烷基、酯、醚、甲酰基、卤素、卤代烷基、杂芳基、杂环基、羟基、亚氨基、酮、硝基、磷酸酯、膦酸酯基(phosphonato)、次磷酸酯基(phosphinato)、硫酸酯、硫化物、磺酰氨基、磺酰基和硫代羰基。

[0034] 本文所用的术语“炔基”是指具有至少 1 个碳-碳三键的不饱和直链或支链烃,例如 2-12、2-8 或 2-6 个碳原子的直链或支链基团,本文分别称作 C_2-C_{12} 炔基、 C_2-C_8 炔基和 C_2-C_6 炔基。示例性炔基包括、但不限于乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、甲基丙炔基、4-甲基-1-丁炔基、4-丙基-2-戊炔基和 4-丁基-2-己炔基等。

[0035] 本文所用的术语“酰胺”或“酰氨基”是指形式 $-R_aC(O)N(R_b)-$ 、 $-R_aC(O)N(R_b)R_c-$ 或 $-C(O)NR_bR_c$ 的基团,其中 R_a 、 R_b 和 R_c 各自独立地选自烷氧基、烷基、烯基、炔基、酰胺、氨基、芳基、芳基烷基、氨基甲酸酯、环烷基、酯、醚、甲酰基、卤素、卤代烷基、杂芳基、杂环基、氢、羟基、酮和硝基。酰胺可以通过碳、氮、 R_b 、 R_c 或 R_a 连接至另一个基团。酰胺还可以是环状的,例如 R_b 和 R_c 、 R_a 和 R_b 或 R_a 和 R_c 可以连接成 3-至 12-元环,例如 3-至 10-元环或 5-至 6-元环。本文所用的术语“甲酰氨基”是指结构 $-C(O)NR_bR_c$ 。

[0036] 本文所用的术语“胺”或“氨基”是指形式 $-NR_dR_e$ 、 $-N(R_d)R_e-$ 或 $-R_eN(R_d)R_f-$ 的基团, R_d 、 R_e 和 R_f 独立地选自烷氧基、烷基、烯基、炔基、酰胺、氨基、芳基、芳基烷基、氨基甲酸酯、环烷基、酯、醚、甲酰基、卤素、卤代烷基、杂芳基、杂环基、氢、羟基、酮和硝基。氨基可以通过氮、 R_d 、 R_e 或 R_f 连接至母体分子基团。氨基还可以是环状的,例如 R_d 、 R_e 或 R_f 的任意两个可以彼此连接或与 N 连接成 3-至 12-元环,例如吗啉代或哌啶基。本文所用的术语氨基还包括任意氨基的相应季铵盐,例如 $-[N(R_d)(R_e)(R_f)]^+$ 。示例性氨基包括氨基烷基,其中 R_d 、 R_e 或 R_f 的至少一个是烷基。

[0037] 本文所用的术语“环烷氧基”指连接至氧原子的环烷基。

[0038] 本文所用的术语“环烷基”是指 3-12、3-8、4-8 或 4-6 个碳的一价饱和或不饱和环、双环或桥连双环烃基,例如本文称作衍生自环烷的“ C_{4-8} 环烷基”。示例性环烷基包括、但不限于环己烷、环己烯、环戊烷、环戊烯、环丁烷和环丙烷。环烷基可以被烷酰基、烷氧基、烷基、烯基、炔基、酰氨基、脞基、氨基、芳基、芳基烷基、叠氮基、氨基甲酸酯、碳酸酯、羧基、氰基、环烷基、酯、醚、甲酰基、卤素、卤代烷基、杂芳基、杂环基、羟基、亚氨基、酮、硝基、磷酸酯、膦酸酯基、次磷酸酯基、硫酸酯、硫化物、磺酰氨基、磺酰基和硫代羰基取代。环烷基可以与其它环烷基、芳基或杂环基稠合。在一些实施方案中,环烷基是指 C_3-C_6 烷基。

[0039] 本文所用的术语“卤代”或“卤素”或“Hal”是指 F、Cl、Br 或 I。

[0040] 本文所用的术语“卤代烷基”是指带有一个或多个卤原子的烷基。

[0041] 本文所用的术语“硝基”是指基团 $-NO_2$ 。

[0042] 本文所用的术语“苯基”是指 6- 元碳环芳族环。苯基还可以与环己烷或环戊烷环稠合。苯基可以被一个或多个取代基取代,所述取代基包括烷酰基、烷氧基、烷基、烯基、炔基、酰氨基、脒基、氨基、芳基、芳基烷基、叠氮基、氨基甲酸酯、碳酸酯、羧基、氰基、环烷基、酯、醚、甲酰基、卤素、卤代烷基、杂芳基、杂环基、羟基、亚氨基、酮、硝基、磷酸酯、膦酸酯基、次磷酸酯基、硫酸酯、硫化物、磺酰氨基、磺酰基和硫代羰基。

[0043] 本文所用的术语“药学上可接受的载体”或“药学上可接受的赋形剂”是指任意和所有的溶剂、分散介质、包衣衣料、等渗和分散延迟剂等,它们与药物施用相容。这样的介质和试剂在药物活性物质中的应用是本领域众所周知的。组合物还可以包含其它活性化合物,以提供补充、添加或增强的治疗功能。

[0044] 本文所用的术语“药物组合物”是指组合物,其包含至少一种如本文公开的与一种或多种药学上可接受的载体一起配制的化合物。

[0045] “个体”、“患者”或“受试者”可以互换使用且包括任意的动物,包括哺乳动物,优选小鼠、大鼠、其它啮齿动物、家兔、狗、猫、猪、牛、绵羊、马或灵长类,且最优选人。可以将本文公开的化合物施用于哺乳动物,例如人,还可以施用于其它哺乳动物,例如,需要兽医治疗的动物,例如家养动物(例如狗、猫等)、耕作动物(例如母牛、绵羊、猪、马等)和实验室动物(例如大鼠、小鼠、豚鼠等)。“调节”包括拮抗(例如抑制)、激动、部分拮抗和/或部分激动。

[0046] 在本说明书中,术语“治疗有效量”是指研究人员、兽医、医生或其他临床医师所寻求的引起组织、系统、动物或人的生物学或医学响应的主题化合物用量。可以施用治疗有效量的本文公开的化合物以治疗疾病。或者,化合物的治疗有效量是实现期望的治疗和/或预防作用所需的用量,例如导致与疾病或病症相关的症状的预防或减轻的用量。

[0047] 本文所用的术语“药学上可接受的盐”是指可以存在于用于本组合物中的化合物上的酸性或碱性基团的盐。本组合物中包括的实际上为碱性的化合物能够与不同的无机酸和有机酸形成各种盐。可以用于制备这样的碱性化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸是形成无毒性酸加成盐的那些,即所述无毒性酸加成盐包含生理学可接受的阴离子,包括、但不限于苹果酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、鞣酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、糖二酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对- 甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐(即 1, 1'- 亚甲基- 双-(2- 羟基-3- 萘甲酸盐))。除上述举出的酸外,本组合物中包括的包括氨基部分的化合物还可以与不同的氨基酸形成药学上可接受的盐。本组合物中包括的实际上为酸性的化合物能够与不同的药学上可接受的阳离子形成碱式盐。这样的盐的实例包括碱金属或碱土金属盐,且特别是钙、镁、钠、锂、锌、钾和铁盐。

[0048] 本公开的化合物可以包含一个或多个手性中心和/或双键,且由此作为立体异构体存在,例如几何异构体、对映异构体或非对映异构体。本文所用的术语“立体异构体”在本文中使用时由所有的几何异构体、对映异构体或非对映异构体组成。这些化合物可以命名为符号“R”或“S”,视立体碳原子周围取代基的构型而定。本发明包括这些化合物的不同异构体及其混合物。立体异构体包括对映异构体和非对映异构体。对映异构体或非对映异构体的混合物可以命名为命名法中的“(±)”,但本领域技术人员会认识到结构可以隐含地

表示手性中心。

[0049] 可以由包含不对称或立体中心的商购原料以合成方式或通过制备外消旋混合物、然后通过本领域技术人员众所周知的拆分方法制备本发明化合物的各立体异构体。这些拆分方法示例为：(1) 对映异构体混合物与手性助剂结合、通过重结晶或色谱法分离得到的非对映异构体混合物并且从助剂中释放光学纯的产物；(2) 使用旋光拆分剂成盐；或(3) 用手性色谱柱直接分离光学对映异构体混合物。还可以通过众所周知的方法将立体异构体混合物拆分成其立体异构体成分，例如手性-相气相色谱法、手性-相高效液相色谱法、使化合物作为手性盐复合物结晶或使化合物在手性溶剂中结晶。立体异构体还可以通过众所周知的不对称合成方法得自立体异构体纯的中间体、试剂和催化剂。

[0050] 几何异构体也可以存在于本发明的化合物中，符号  表示可以是如本文所述的单键、双键或三键。本发明包括得自碳-碳双键周围的取代基排列或碳环周围的取代基排列的各种几何异构体及其混合物。碳-碳双键周围的取代基被命名为“Z”或“E”构型，其中术语“Z”和“E”根据 IUPAC 标准使用。除非另有指定，否则描述双键的结构包括“E”和“Z”异构体。

[0051] 或者，碳-碳双键周围的取代基可以称作“顺式”或“反式”，其中“顺式”表示双键同侧上的取代基，而“反式”表示双键对侧上的取代基。碳环周围的取代基排列命名为“顺式”或“反式”。本文所用的术语“顺式”表示环平面同侧上的取代基，而本文所用的术语“反式”表示环平面对侧上的取代基。化合物的混合物（其中取代基被排列在环平面的同侧和对侧上）命名为“顺式/反式”。

[0052] 本文公开的化合物可以作为与药学上可接受的溶剂例如水、乙醇等的溶剂化和非溶剂化形式存在，且预期本发明包括溶剂化和非溶剂化形式。在一个实施方案中，化合物是无定形的。在一个实施方案中，化合物是多晶型物。在另一个实施方案中，化合物是结晶形式。

[0053] 本发明还包括与本文中所述的那些相同的同位素标记的化合物，除了一个或多个原子被具有不同于实际发现的原子量或原子数的原子量或原子数的原子替代之外。可以掺入本文公开的化合物的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素，分别为例如 ^2H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 和 ^{36}Cl 。

[0054] 一些同位素标记的公开的化合物（例如用 ^3H 和 ^{14}C 标记的那些）用于化合物和/或底物组织分布测定。氚代（即 ^3H ）和碳-14（即 ^{14}C ）同位素因其易于制备和可检测性而特别优选。此外，用较重同位素例如氘（即 ^2H ）取代因较大的代谢稳定性而可以提供一些治疗优势（例如体内半衰期增加或剂量需求减少），且由此在一些情况中可以是优选的。一般可以通过与例如本文实施例中公开的那些类似的方法，用同位素标记的试剂取代非同位素标记的试剂来制备本发明同位素标记的化合物。

[0055] 术语“前药”是指在体内被转化成所公开的化合物或该化合物的药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物的化合物。转化可以通过各种机制进行，例如通过在血液中水解。例如，如果本文公开的化合物或该化合物的药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物包含羧酸官能团，则前药可以包含通过用一种基团取代氢原子形成的酯，所述基团例如为 (C_1-C_8) 烷基、 $(\text{C}_2-\text{C}_{12})$ 烷酰基氧基甲基、具有 4-9 个碳原子的 1-(烷酰基氧基)乙基、具有 5-10 个碳原子的 1-甲基-1-(烷酰基氧基)-乙基、具有 3-6 个碳原子的烷氧基羰基氧基甲基、具有 4-7

个碳原子的 1-(烷氧基羰基氧基)乙基、具有 5-8 个碳原子的 1-甲基-1-(烷氧基羰基氧基)乙基、具有 3-9 个碳原子的 N-(烷氧基羰基)氨基甲基、具有 4-10 个碳原子的 1-(N-(烷氧基羰基)氨基)乙基、3-酞基、4-巴豆酰内酯基、 γ -丁酰内酯-4-基、二-N,N-(C₁-C₂)烷基氨基(C₂-C₃)烷基(例如 β -二甲基氨基乙基)、氨基甲酰基-(C₁-C₂)烷基、N,N-二(C₁-C₂)烷基氨基甲酰基-(C₁-C₂)烷基和哌啶子基-、吡咯烷子基-(pyrrolidino-)或吗啉代(C₂-C₃)烷基。

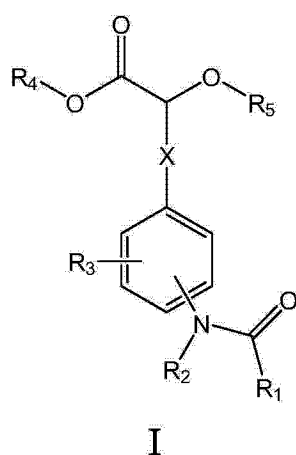
[0056] 类似地,如果本文公开的化合物包含醇官能团,则可以通过用一种基团替代氢原子形成前药,所述基团例如为(C₁-C₆)烷酰基氧基甲基、1-((C₁-C₆)烷酰基氧基)乙基、1-甲基-1-((C₁-C₆)烷酰基氧基)乙基(C₁-C₆)烷氧基羰基氧基甲基、N-(C₁-C₆)烷氧基羰基氨基甲基、琥珀酰基、(C₁-C₆)烷酰基、 α -氨基(C₁-C₄)烷酰基、芳基酰基和 α -氨基酰基或 α -氨基酰基- α -氨基酰基,其中每个 α -氨基酰基独立地选自天然存在的 L-氨基酸、P(O)(OH)₂、-P(O)(O(C₁-C₆)烷基)₂或糖基(因除去碳水化合物的半缩醛形式的羟基得到的基团)。

[0057] 如果本文公开的化合物包含胺官能团,则可以通过用一种基团替代氢原子形成前药,所述基团例如为 R-羰基;RO-羰基;NRR'-羰基,其中 R 和 R' 各自独立地是(C₁-C₁₀)烷基、(C₃-C₇)环烷基、苄基;或 R-羰基是天然 α -氨基酰基或天然 α -氨基酰基-天然 α -氨基酰基;-C(OH)C(O)OY¹,其中 Y¹是 H、(C₁-C₆)烷基或苄基;-C(OY²)Y³,其中 Y²是(C₁-C₄)烷基,且 Y³是(C₁-C₆)烷基、羧基(C₁-C₆)烷基、氨基(C₁-C₄)烷基或一-N-或二-N,N-(C₁-C₆)烷基氨基烷基;-C(Y⁴)Y⁵,其中 Y⁴是 H 或甲基,且 Y⁵是一-N-或二-N,N-(C₁-C₆)烷基氨基、吗啉代、哌啶-1-基或吡咯烷-1-基。

[0058] 化合物

[0059] 关注用于所公开方法的一种或多种的化合物由如下所示的式 I 表示。本文还关注包括由式 I 表示的化合物或其药学上可接受的盐和 N-氧化物和例如药学上或化妆品可接受的载体或赋形剂的组合物。

[0060]



[0061] 其中 X 是 C₁-C₃亚烷基,其任选地被 1、2 或 3 个选自卤素或羟基的取代基取代;

[0062] R₁选自 C₁-C₆烷基、C₃-C₆环烷基、C₂-C₆烯基和 C₂-C₆炔基;

[0063] R₂选自氢和 C₁-C₆烷基;

[0064] R₃每次出现时独立地选自氢、C₁-C₆烷氧基、C₁-C₆烷基、氰基、C₃-C₆环烷基、卤素、

羟基和硝基；

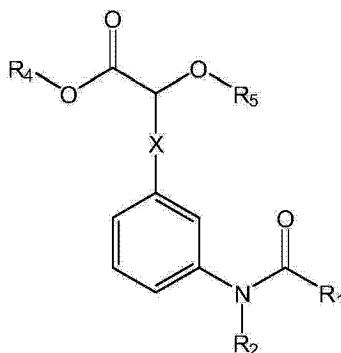
[0065] R_4 选自氢和 C_1-C_6 烷基；

[0066] R_5 是 C_1-C_6 烷基。

[0067] 在一个实施方案中, R_1 可以是 C_1-C_6 烷基, 例如甲基。在一个实施方案中, R_2 可以是氢。在另一个实施方案中, R_3 可以选自氢、 C_1-C_6 烷基、卤素和羟基。在另一个实施方案中, R_3 可以是氢。在一个实施方案中, R_4 和 R_5 各自可以是 C_1-C_6 烷基。在另一个实施方案中, R_4 可以是氢, 且 R_5 可以是甲基。在一个实施方案中, X 可以是 $(CH_2)_n$, 其中 n 是 1 或 2, 例如 1。

[0068] 在另一个实施方案中, $-NR_2-COR_1$ 可以在相对于 X 的间位上, 如式 II 中所示。

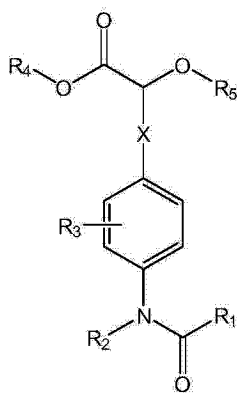
[0069]



II

[0070] 在另一个实施方案中, $-NR_2-COR_1$ 可以在相对于 X 的对位上, 如式 III 中所示。

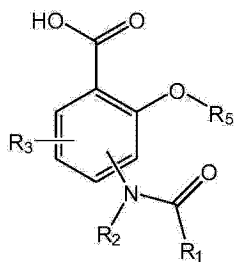
[0071]



III

[0072] 本公开至少部分提供了由如下所示的式 IV 表示的化合物。本文还关注包含式 IV 表示的化合物或其药学上可接受的盐或 N-氧化物和例如药学上可接受的载体的组合物。

[0073]



IV

[0074] 其中 R_1 选自 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基；

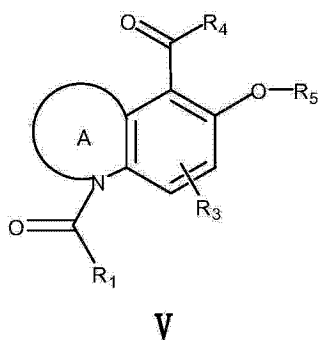
[0075] R_2 选自氢和 C_1 - C_6 烷基；

[0076] R_3 每次出现时独立地选自氢、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基、氰基、 C_3 - C_6 环烷基、卤素、羟基和硝基；

[0077] R_5 是氢或 C_1 - C_6 烷基。

[0078] 还关注如下所示的式 V 的化合物以及包含式 V 表示的化合物或其药学上可接受的盐或 N- 氧化物和例如药学上可接受的载体的组合物。

[0079]



[0080] 其中 R_1 选自 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基；

[0081] R_3 每次出现时独立地选自氢、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基、氰基、 C_3 - C_6 环烷基、卤素、羟基和硝基；

[0082] R_4 选自氢和 C_1 - C_6 烷基；

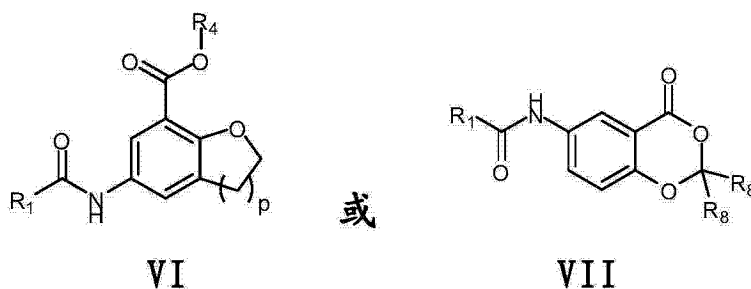
[0083] R_5 是氢或 C_1 - C_6 烷基；且

[0084] A 是稠合的 5 或 6 元杂环。

[0085] 在一个实施方案中， R_1 可以是 C_1 - C_6 烷基，例如甲基。在另一个实施方案中， R_1 和 R_3 各自可以是 C_1 - C_6 烷基，例如甲基。在一个实施方案中， R_2 可以是氢。

[0086] 在一些实施方案中，化合物可以表示为

[0087]



[0088] 其中 p 是 1 或 2；

[0089] R_1 选自 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 环烷基、 C_2 - C_6 烯基和 C_2 - C_6 炔基；

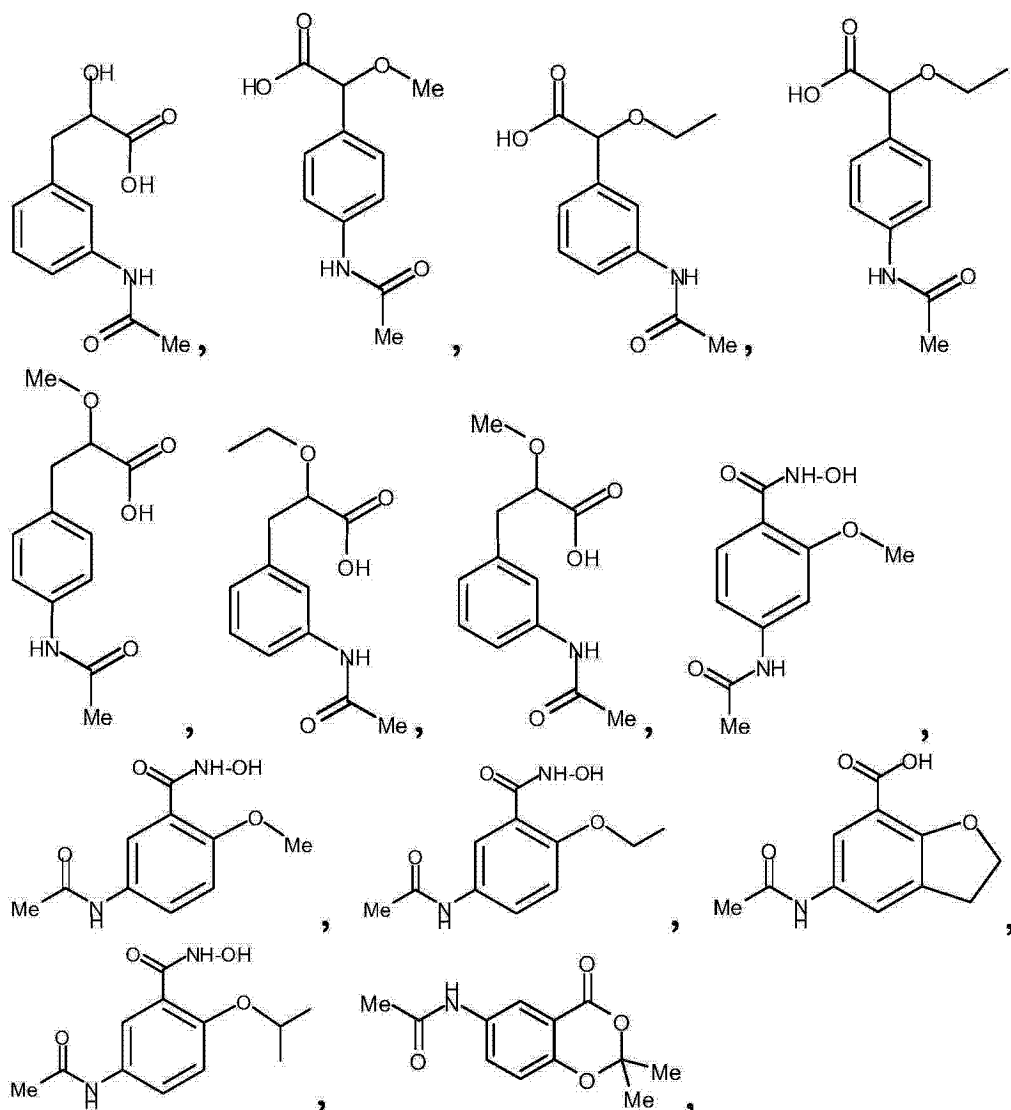
[0090] R_4 和 R_8 各自独立地选自氢和 C_1 - C_6 烷基；

[0091] 或其药学上可接受的盐或 N- 氧化物。

[0092] 所关注的化合物（和包含至少一种化合物的药物组合物）可以选自：N- 乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸（化合物 A）、N- 乙酰基-(S)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸（化合物 B）、外消旋 N- 乙酰基-(S)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲

氧基丙酸（化合物 AB）；

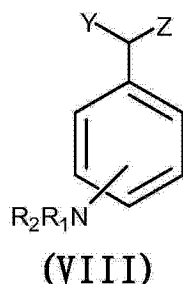
[0093]



[0094] 4-乙酰氨基-N-羟基-2-甲氧基苯甲酰胺；1-乙酰基-6-甲氧基-1,2,3,4-四氢喹啉-5-甲酸、5-乙酰氨基-2-羟基苯甲酸（例如乙酰化5-氨基水杨酸）或其药学上可接受的盐或N-氧化物。本公开还提供了药物组合物，其包含如本文公开的与一种或多种药学上或化妆品可接受的载体一起配制的化合物。这些制剂包括适合于口服、直肠、局部、口含和胃肠外（例如皮下、肌内、真皮内或静脉内）施用的那些或局部施用的那些，例如作为适合于局部施用于皮肤的组合物的组成部分。但是，在任何指定情况中，最适合的施用形式取决于所治疗病症的程度和严重性以及所用具体化合物的性质。

[0095] 所关注的用于所公开的方法的一种或多种的另外的化合物包括由式 VIII 表示的化合物或其药学上可接受的盐、对映异构体或立体异构体：

[0096]



[0097] 其中：

[0098] R_1 和 R_2 各自独立地选自 H 和 C_{1-6} 烷基；或 R_1 和 R_2 与它们所键合的氮一起形成带有 5 或 6 个原子的芳族或脂族环，其可以任选地被取代；

[0099] Y 和 Z 各自独立地选自 H、OH、COOH、 $-OR_3$ 、 $-CH(OR_3)COOH$ ；且

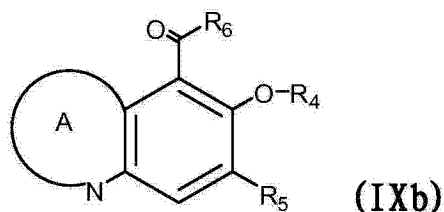
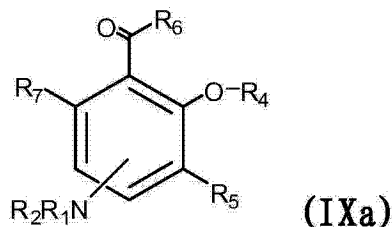
[0100] R_3 选自 H、苯基、苄基、乙烯基、烯丙基、 C_{1-6} 烷基或被一个或多个卤素取代的 C_{1-6} 烷基。

[0101] 在一个实施方案中，Y 可以是 H 或 COOH。例如，Y 可以是 H，且 Z 可以是 $CH(OR_3)COOH$ ，或 Y 可以是 COOH，且 Z 可以是 $-OR_3$ 。在一些实施方案中， R_3 可以是甲基、乙基、正-丙基或异丙基。

[0102] 在其它实施方案中， NR_1R_2 部分可以在 4' 位上，或可以在 3' 位上。在一些实施方案中， R_1 和 R_2 为 H。

[0103] 示例性化合物还包括表示为式 IXa 或 IXb 的那些或其药学上可接受的盐、对映异构体或立体异构体：

[0104]



[0105] 其中：

[0106] R_1 和 R_2 各自独立地选自 H 和 C_{1-6} 烷基；或 R_1 和 R_2 与它们所键合的氮一起形成带有 5 或 6 个原子的芳族或脂族环；

[0107] R_6 选自： $-NHOH$ 、OH 和 $-OR_9$ ；

[0108] R_9 是 C_{1-6} 烷基；

[0109] R_4 选自 H、苯基、苄基、乙烯基、烯丙基、 C_{1-6} 烷基或被一个或多个卤素取代的 C_{1-6} 烷基；

[0110] R_5 和 R_7 各自独立地是氢或卤素；或

[0111] R_4 和 R_5 或 R_4 和 R_6 一起形成带有 5 或 6 个原子的稠合杂环，其任选地被卤素或 C_{1-6}

烷基取代；且

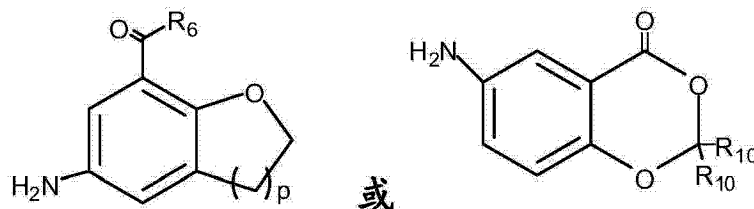
[0112] A 是稠合杂环；或其药学上可接受的盐。

[0113] 在一些实施方案中，式 IIa 上的 NR_1R_2 部分可以在 4' 位上，或可以在 3' 位上。在一些实施方案中， R_1 和 R_2 为 H。

[0114] 在一些实施方案中， R_9 可以是甲基、乙基、正-丙基或异丙基。

[0115] 在一些实施方案中，化合物可以表示为

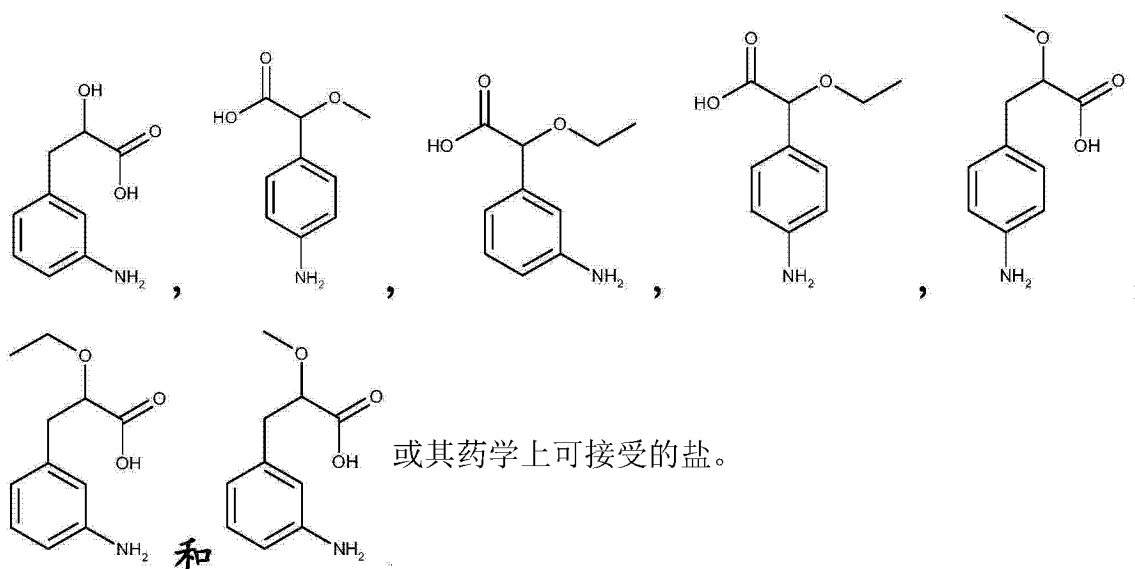
[0116]



[0117] 其中 p 是 1 或 2, R_6 是 OH 或 $-\text{OR}_9$, 其中 R_9 如上述所定义, 且 R_{10} 每次出现时独立地选自 H、卤素或 C_{1-6} 烷基, 例如甲基或乙基。

[0118] 本文关注的示例性化合物包括：

[0119]

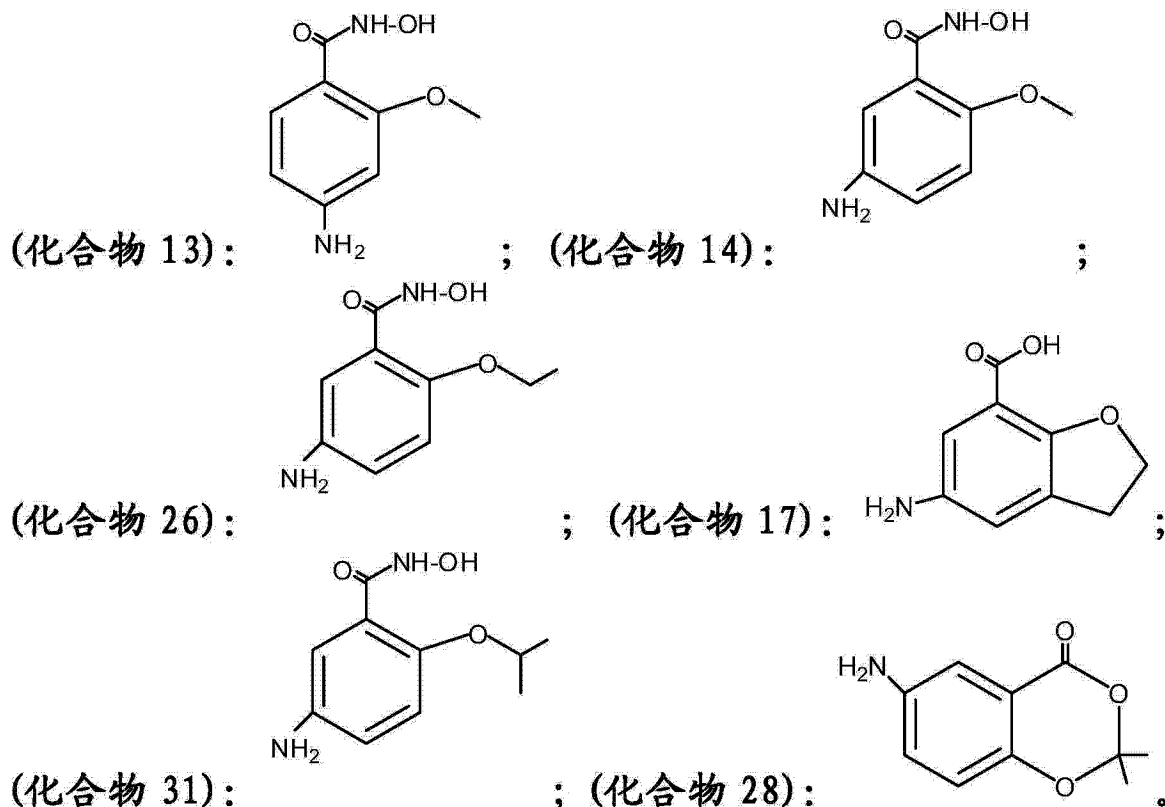


或其药学上可接受的盐。

[0120] 在一些实施方案中，所关注的化合物包括：4-氨基-N-羟基-2-甲氧基苯甲酰胺（化合物 13）；6-甲氧基喹啉-5-甲酸（化合物 36）；6-甲氧基-1,2,3,4-四氢喹啉-5-甲酸（化合物 37）；5-二异丙基氨基水杨酸（化合物 38）。

[0121] 其它示例性化合物包括表示为如下的那些：

[0122]



[0123] 本文关注的化合物包括化合物的外消旋混合物和对映异构体,例如:(±)-2-羟基-3-(3'-氨基苯基)丙酸(化合物20);(±)-2-甲氧基-2-(4'-氨基苯基)乙酸(化合物23);(±)-2-乙氧基-2-(3'-氨基苯基)乙酸(化合物32);(±)-2-乙氧基-2-(4'-氨基苯基)乙酸(化合物33);(±)-2-甲氧基-3-(4'-氨基苯基)丙酸(化合物34)“±34”(外消旋形式);(±)-2-乙氧基-3-(4'-氨基苯基)丙酸(化合物39);(±)-2-乙氧基-3-(3'-氨基苯基)丙酸(化合物40)。

[0124] 例如,用于本文公开方法中的化合物可以是如下外消旋混合物的对映异构体:(R,S)-2-羟基-2-(3-氨基苯基)乙酸(化合物10);(R,S)-2-羟基-2-(4-氨基苯基)乙酸(化合物11);(R,S)-2-羟基-3-(4'-氨基苯基)丙酸(化合物21);(R,S)-2-甲氧基-2-(3'-氨基苯基)乙酸(化合物22);(R,S)-2-甲氧基-3-(3'-氨基苯基)丙酸(化合物35);(R,S)-2-甲氧基-3-(4-氨基苯基)丙酸(化合物34)以及对映异构体,例如:(+)-2-S-甲氧基-3-(4-氨基苯基)丙酸(化合物34);(-)-2-R-甲氧基-3-(4-氨基苯基)丙酸(化合物34)。

[0125] 所关注的化合物的其它外消旋型混合物包括:例如(±)-2-羟基-2-(3'-氨基苯基)乙酸(化合物10);(±)-2-羟基-2-(4'-氨基苯基)乙酸(化合物11);(±)-2-羟基-3-(4'-氨基苯基)丙酸(化合物21)和(±)-2-甲氧基-2-(3'-氨基苯基)乙酸(化合物22)。

[0126] 所关注用于公开方法的另外的化合物:5-氨基水杨基-异羟肟酸(化合物5);3-二甲基氨基水杨酸(化合物6);2-甲氧基-4-氨基苯甲酸(化合物7);2-甲氧基-5-氨基苯甲酸(化合物8);5-甲基氨基水杨酸(化合物9);4-甲基氨基水杨酸(化合物12);4-乙酰基氨基水杨酸(化合物16);2-乙氧基-4-氨基苯甲酸(化合物18);2-乙氧基-5-氨基苯甲酸(化合物19);4-二甲基氨基水杨酸(化合物24);2-乙氧基-4-氨基苯

甲酰基异羟肟酸（化合物 25）；6-羟基喹啉-5-甲酸（化合物 27）；2-(2-丙基)氧基-4-氨基苯甲酸（化合物 30）；4-(1-哌嗪基)水杨酸（化合物 41）；(R,S)5-氧杂-喹啉-6-甲酸（化合物 15）；6-甲氧基喹啉-5-甲酸（化合物 36）；6-甲氧基-1,2,3,4-四氢喹啉-5-甲酸（化合物 37）；5-二异丙基氨基水杨酸（化合物 38）；和 4-二异丙基氨基水杨酸（化合物 42）。

[0127] 本发明还提供了组合物，其包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体；还包含至少一种选自如下的化合物：吡格列酮、罗格列酮、多西环素、羟氯喹、麦考酚酸吗乙酯、利福平、克林霉素和精脞。

[0128] 例如，在 W02007/010516 和 W02007/010514 中可以找到制备所关注化合物的方法，将这些文献各自完整地引入本文参考。

[0129] 治疗应用

[0130] 本公开至少部分用于治疗或改善患者（例如人）的瘢痕性脱发的方法，所述方法包括施用治疗有效量的本文公开的化合物。例如，本文提供了用于治疗或改善瘢痕性脱发的方法，所述方法包括对有此需要的患者局部施用药学上可接受的组合物，该组合物包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。例如，在一些实施方案中，瘢痕性脱发是毛发扁平苔癣。在其它实施方案中，瘢痕性脱发是慢性皮肤红斑狼疮、毛囊角化病、棘状脱发、前额纤维化脱发、全身性红斑狼疮、假斑秃、中央离心性脱发、粘蛋白性秃发、毛囊角化病性棘状脱发（keratosis follicularis spinulosadecalvans）、毛囊炎性脱发、簇状毛囊炎、分割性蜂窝织炎（dissecting cellulitis）、瘢痕性毛囊炎（folliculitis keloidalis）和 / 或糜烂性皮肤病。

[0131] 在一些实施方案中，所公开的方法还包括，例如施用选自如下的化合物：吡格列酮、罗格列酮、多西环素、羟氯喹、麦考酚酸吗乙酯、利福平、克林霉素和精脞。

[0132] 在一些实施方案中，本公开还提供了用于使用本文公开的化合物在哺乳动物皮肤脱毛之前保护毛囊祖细胞的方法。例如，本文提供了用于在哺乳动物皮肤脱毛之前保护毛囊祖细胞的方法，所述方法包括使所述细胞与药学上可接受的组合物接触，该组合物包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体。保护毛囊祖细胞能够使得毛囊维持再生和使毛发再生长的能力。

[0133] 在一些方面中，本公开还提供了使用本文公开的化合物增强患者的表皮再生的方法。例如，在一些实施方案中，本文公开了用于对有此需要的患者（例如患有皮肤伤口或烧伤的患者）增强表皮再生的方法，所述方法包括对所述患者局部施用药学上可接受的组合物，该组合物包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。

[0134] 在另一个方面中，本公开提供了使用本文公开的化合物对需要的患者促进伤口愈合的方法。例如，本文提供了促进患者的伤口愈合的方法，所述方法包括对所述患者局部施用药学上可接受的组合物，该组合物包含 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸或其药学上可接受的盐或立体异构体和药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中，所述伤口是烧伤、瘢痕、皮下创伤伤口或手术伤口。

[0135] 本文还提供了用于保护和 / 保存包含毛囊祖细胞的组合物的方法，其中所述方法

包括使所述毛囊祖细胞与 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸接触。在通过实验使用或作为治疗剂时(例如用于脱发、关节炎或修复受损组织),这样受到保护的组合物可以用于例如保存这样的细胞的完整性。本文关注包含 N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸和毛囊祖细胞的组合物。

[0136] 在一些实施方案中,所公开的组合物包含 N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸。在其它实施方案中,所公开的组合物包含至少约 1mM 浓度的 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸。例如,所公开的组合物可以包含至少约 1mM、约 2mM、约 3mM、约 4mM、约 5mM、约 6mM、约 7mM、约 8mM、约 9mM 或约 10mM 的浓度。在另一个实施方案中,所公开的组合物包含至少约 1mM 至约 10mM 浓度的 N-乙酰基-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸。例如,所公开的组合物可以包含至少约 1.5mM 至约 9.5mM、约 2mM 至约 9mM、约 2.5mM 至约 8.5mM、约 3mM 至约 8mM、约 3.5mM 至约 7.5mM、约 4mM 至约 7mM 或约 4.5mM 至约 6.5mM 的浓度。

[0137] 例如,所公开的方法可以包括局部施用具有高浓度的所公开的化合物的组合物,所述的高浓度例如提供明显高于例如诱导毛发生长所必需的用量的有效量。例如,这样的高浓度的这样的组合物可以包括约 1mM 至约 1000mM 或以上的所公开的化合物,例如约 1mM 至约 100mM、约 10mM 至约 100mM 或约 10mM 至约 50mM。

[0138] 可以将本文公开的化合物以提供最佳药物效能的剂量施用于有这种治疗需求的受试者(动物和/或人)。可以理解,用于任意具体应用所需的剂量可以根据患者与患者的不同而改变,不仅取决于使用所选择的具体化合物或组合物,而且取决于施用途径、所治疗病症的性质、患者年龄和病情、共同使用的药物或特定膳食,随后是患者和其它本领域技术人员认可的因素,其中适合的剂量最终是由巡诊医生决定。为了治疗上述关注的临床病症和疾病,可以将所公开的化合物或组合物通过口服、局部、胃肠外、通过吸入喷雾剂或通过直肠以包含常用无毒性药学上可接受的载体、佐剂和媒介物的单位制剂的形式施用。本文所用的术语胃肠外包括皮下注射、静脉内、肌内、胸骨内注射或输注技术。

[0139] 给药频率可以根据例如施用途径、剂量和所治疗疾病病情的不同而改变。示例性给药频率为每日至少 1 次、每周至少 1 次和每 2 周至少 1 次。

[0140] 所关注的制剂或组合物包含所公开的化合物且典型地还可以包括药学上可接受的载体或赋形剂。

[0141] 所关注的组合物可以通过各种形式施用,这取决于其预期的应用,正如本领域技术人员众所周知的。本文公开的制剂可以通过局部施用,这些制剂可以通过常规方式制备,且如果需要,则可以将所公开的组合物与任意常用添加剂混合,例如赋形剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、矫味剂、增溶剂、悬浮助剂、乳化剂或包衣衣料。

[0142] 在本文公开的制剂中,配制的试剂中可以存在湿润剂、乳化剂和润滑剂,例如十二烷基硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂、释放剂、包衣衣料、甜味剂、矫味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂。

[0143] 制备这些制剂的方法包括将载体且任选地一种或多种辅助成分与本文公开的组合物混合的步骤。一般而言,通过均匀和紧密地混合活性剂与液体载体或固体载体细粉或它们两者、然后如果必要使产物成形制备这些制剂。

[0144] 除主题组合物外,混悬液还可以包含助悬剂,例如,乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯

山梨醇和山梨坦酯类、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄蓍胶及其混合物。

[0145] 主题组合物的透皮或局部施用剂型包括粉末、喷雾剂、软膏剂、糊剂、洗剂、凝胶、溶液、贴剂和吸入剂。可以将活性成分在无菌条件下与药学上可接受的载体和任意的可能需要的防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。

[0146] 除主题组合物外，软膏剂、糊剂、霜剂、凝胶还可以包含赋形剂，例如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅氧烷、膨润土、硅酸、滑石粉和氧化锌或其混合物。

[0147] 除主题组合物外，粉末和喷雾剂还可以包含赋形剂，例如乳糖、滑石粉、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末或这些物质的混合物。喷雾剂还可以包含常用的推进剂，例如氯氟烃类和挥发性未取代的烃类，例如丁烷和丙烷。

[0148] 本公开的组合物和化合物可以可选地使用气雾剂施用。通过制备包含所述化合物的水性气雾剂、脂质体制剂或固体颗粒来进行。可以使用非水（例如碳氟化合物推进剂）混悬液。可以使用声波雾化器，因为它们将活性剂暴露于可能导致主题组合物中包含的化合物降解的剪切的的可能性减小至最低限度。

[0149] 通常，通过与常用的药学上可接受的载体和稳定剂一起配制主题组合物的水溶液或混悬液制备水性气雾剂。载体和稳定剂随特定主题组合物的要求不同而改变，但典型地包括非离子表面活性剂（吐温类、普郎尼克类或聚乙二醇）、无害性蛋白质如血清白蛋白、山梨坦酯类、油酸、卵磷脂、氨基酸例如甘氨酸、缓冲剂、盐、糖类或糖醇类。一般由等渗溶液制备气雾剂。

[0150] 本文公开的药物组合物可以适合于胃肠道施用，其包含主题组合物与一种或多种药学上可接受的无菌等渗水溶液或非水溶液、分散液、混悬液或乳剂或无菌粉末的组合，所述的无菌粉末可以恰好在使用前再溶解成无菌可注射溶液或混悬液，其可以包含抗氧化剂、缓冲剂、制菌剂、使制剂与预期的接受者血液等渗的溶质或助悬剂或增稠剂。

[0151] 可以用于本文公开的药物组合物中的适合的水和非水性载体的实例包括水、乙醇、多元醇类（例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等）及其适合的混合物、植物油例如橄榄油和可注射有机酯类例如油酸乙酯和环糊精。例如，可以通过使用包衣材料例如卵磷脂，通过在分散液的情况中维持所需的粒度并且通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。使用主题组合物的治疗效能可以用许多本领域技术人员所公知的方式测定。

[0152] 在本说明书的上下文中，其中将组合物视为具有、包括或包含具体成分，关注组合物还主要由或由所述成分组成。类似地，如果将方法描述为具有、包括或包含具体加工步骤，则所述方法还主要由或由所述加工步骤组成。除外如果另有描述，进行一些操作的步骤次序或次序并不重要，只要本发明保持可操作性。此外，除非另有关关注，否则两个或多个步骤或操作可以同时进行的。

实施例

[0153] 可以通过许多有机合成领域普通技术人员众所周知的方式制备本文公开的化合物，更具体地，可以使用本文所述的反应和技术制备本文公开的化合物。在下述合成方法的描述中，应理解除非另有指示，否则可以将所有提出的反应条件包括溶剂、反应气氛、反应温度、实验期限和后处理方法的选择选择为对于该反应而言是标准的。有机合成领域普通

技术人员应理解,分子不同部分上存在的官能团应与所提出的试剂和反应相容。与反应条件不相容的取代基对于本领域技术人员而言显而易见,且由此表示了可替代选择的方法。实施例所用原料是商购的或易于通过标准方法由公知材料制备。

[0154] 实施例 1N-乙酰基-(R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸(N-乙酰基 E2)的制备;化合物 A

[0155] 在 0.5L 玻璃反应器中向 (R)-(-)-3-(4-氨基苯基)-2-甲氧基丙酸(40g) 中加入乙酸乙酯(80g) 和乙醚(62.8g)。将该混合物在 90℃ 搅拌 1 小时。在冷却时,通过真空蒸馏除去溶剂,得到油状残余物。向该残余物中加入水(120g) 和乙酸乙酯(120g)。在 35℃ 搅拌 10min 后,分离各层,弃去水层。通过真空蒸馏除去有机层溶剂。然后加入丙酮(120g),将得到的混合物温热至溶解完全。将该溶液冷却至 0℃,产物沉淀,通过过滤采集。用丙酮(20g) 冲洗固体,在 65℃ 干燥,得到 26g 标题化合物。

[0156] 实施例 2 化合物 A 对干细胞标记物的作用

[0157] 本研究的目的在于通过评价干细胞标记物 K15 和 K19 表达确定化合物 A 对毛囊中干细胞标记物的作用。

[0158] 材料和方法

[0159] 组织样本

[0160] 正常人头皮皮肤得自 6 位知情许可后进行常规整容手术的女性。全部实验根据 Helsinki 指导原则与适合的伦理委员会批准下进行。将有关样本来源的详细内容列在表 1 中。

[0161] 表 1. 样本详述

[0162]

	年龄	头皮区
患者 1	48	枕骨头皮
患者 2	56	枕骨头皮
患者 3	59	枕骨头皮
患者 4	55	枕骨头皮
患者 5	68	枕骨头皮
患者 6	67	枕骨头皮

[0163] 毛囊显微解剖和器官培养

[0164] 按照 Philpott 模型,从培养的正常人头皮皮肤和器官中显微解剖正常色素沉着的毛发生长初期 VI 毛囊(HF)(从本研究中排除灰色/白色 HF)。对于每一培养基改变施用 1 次化合物 A 或媒介物(即每隔 48h/72h)。实验方法的概述如图 1 中所示。

[0165] K15 定量免疫组织化学

[0166] 为了研究角蛋白 K15 表达,如上所述使用酪胺信号放大(Kloepper 等人,2008)。简言之,使用 TNT(Tris-HCL NaCl Tween)缓冲液(0.1mol/l Tris-HCl, pH 7.5;包含

0.15mol/l NaCl 和 0.05% Tween 20) 将丙酮固定的冰冻切片洗涤 3 次、5min。接下来通过用 3% H₂O₂ 的磷酸-缓冲盐水 (PBS) 溶液洗涤 15min 阻断辣根过氧化物酶。通过温育抗生物素蛋白和生物素 15min 和 5% 山羊正常血清的 TNT 溶液 30min 进行预温育, 两次温育之间有洗涤步骤。用 TNT 稀释小鼠抗-人 K15 (克隆 LHK15, Chemicon, Billerica, USA), 在 4℃ 温育过夜, 然后在 RT 与生物素标记的二次抗体山羊抗-小鼠 (在 TNT 中 1:200) 温育 45min。接下来在 RT 将抗生物素链菌素辣根过氧化物酶 (TSA kit; Perkin-Elmer, Boston, MA, USA) 施用 (在 TNT 中 1:100) 30min。在 RT 用 FITC-酪胺扩增试剂使该反应扩增 5min (在试剂盒中配有的扩增稀释剂中 1:50)。通过 ImageJ 软件 (National Institutes of Health) 定量免疫染色强度。测定 HF 中确定的参比区的强度并且在对照组与 N 化合物 A- 处理组之间比较。计算与 ORS 中细胞总量比较 K15- 阳性细胞的百分比。

[0167] K19 量免疫组织化学

[0168] 上述方案用于研究 K19 表达 (Kloepper 等人, 2008)。简言之, 用山羊血清 (10% 的 Tris- 缓冲盐水溶液, Dako) 预处理丙酮-固定的冰冻切片。将切片首先与针对 K19 的初级抗体 (小鼠抗-人: K19-1:10; 过夜, 在 4℃; PROGEN, Heidelberg, Germany;) 一起温育, 然后与植物二次抗体的 FITC- 标记的山羊抗-小鼠 (在 TBS 中 1:200, 45min, RT, Jackson ImmunoResearch) 免疫球蛋白一起温育。用 DAPI (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) 进行对比染色。通过 ImageJ 软件 (National Institutes of Health) 测定 HF 确定参比区域中的染色强度并且将对照组与化合物 A- 处理组对比。计算与 ORS 中细胞总量比较 K19- 阳性细胞的百分比。

[0169] 使用用于未配对样品的双尾斯氏 t- 检验进行统计学分析。为了后设分析目的, 总计进行 6 次测定 (每次使用来自不同女性个体的 HF)。对于角蛋白 19, 仅得到 5 次测定用于分析, 因为用于定量免疫组织形态计量法 (immunohistomorphometry) 的可用的毛囊切片的数量无法满足还运行该参数。为了避免因个体实验导致的数据失真, 定义刚性淘汰标准, 每次读出参数其允许排除一次单个的实验 (5-6 中的)。由于这些淘汰标准对于每一研究参数而言不同, 所以对于每一测定参数排除不同实验 (即就角蛋白 19 分析而言, 6 个中的 1 个和 5 中的 1 个)。淘汰标准为: (i) 来自在 6 次实验中大部分显示结果趋势的最极端偏差, 以避免极端值导致的数据失真 (可以受例如患者药物、医学史等影响); 和 (ii) 难以满足最低质量标准。

[0170] 结果

[0171] 施用化合物 A 在所有测试浓度下均强烈地刺激角蛋白-15 的免疫反应性 (图 2 和 3), 不过, K15- 阳性细胞数量未增加 (图 4)。施用化合物 A 在所有测试浓度下还强烈地刺激角蛋白 19 的免疫反应性 (图 5), 并且相对于对照组还对 K19- 阳性细胞数量具有刺激作用 (图 6)。该数据表明化合物 A 具有毛囊祖细胞 / 干细胞-“保护”特性。

[0172] 实施例 3 化合物 A 对毛干伸长的作用

[0173] 本研究的目的在于确定化合物 A 对毛干伸长的作用。

[0174] 材料和方法

[0175] 组织样本

[0176] 用于本实施例的有关组织样本来源的详细内容如上述实施例 2 中所述。

[0177] LDH 测定

[0178] 上清液中 LDH 活性可以用作细胞毒性指示剂并且根据制造商的说明 (Cytotoxicity Detection Kit ;Roche,Mannheim,Germany) 测定。使用 ELISA 培养板 - 读出器在 490nm 测定样品吸光度。

[0179] 毛干伸长

[0180] 使用带有目镜测量标线的 Zeiss 倒置显微镜对个体 HF 进行 HF 毛干长度测量。

[0181] HF 循环分期

[0182] 根据上述确定的形态标准进行 HF 周期分期并且测定毛发生长初期和毛发生长中期的早期、中期或晚期中 HF 的百分比。

[0183] 增殖和细胞凋亡测定

[0184] 为了评价与增殖标记 Ki-67 共区域化的凋亡细胞,使用 Ki-67/ 末端 dUTP 切口端标记 (TUNEL) 双重染色法。用低聚甲醛和乙醇 - 乙酸 (2 :1) 固定冷冻切片并且用地高辛配基 - 脱氧 -UTP (ApopTag fluorescein in situ apoptosis detection kit ;Intergen, Purchase, NY) 在末端脱氧核苷酸转移酶的存在下标记,然后与小鼠抗 -Ki-67 抗血清 (在 PBS 中 1:20,过夜,在 4C ;Dako, Glostrup, Denmark) 一起温育。用抗地高辛配基异硫氰酸荧光素 - 缀合的抗体 (ApopTag 试剂盒) 使 TUNEL- 阳性细胞显影,同时用若丹明 - 标记的山羊抗小鼠抗体 (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) 检测 Ki-67。通过不使用末端脱氧核苷酸转移酶和 Ki-67 抗体得到阴性对照。使用 4',6- 二脒基 -2- 苯基吲哚 (DAPI) (Roche Molecular Biochemicals GmbH, Mannheim, Germany) 进行对比染色。进行定量免疫组织形态计量;在上述定义的 HF 基质的参比区计数 Ki-67-、TUNEL- 或 DAPI- 阳性细胞,并且测定 Ki-67/TUNEL- 阳性细胞百分比。使用用于未配对样品的双尾斯氏 t- 检验进行统计学分析。为了后设分析目的,总计进行 6 次测定 (每次使用来自不同女性个体的 HF)。为了避免因个体实验导致的数据失真,定义刚性淘汰标准,每次读出参数其允许排除一次单个的实验 (5-6 中的)。由于这些淘汰标准对于每一研究参数而言不同,所以对于每一测定参数排除不同实验 (即 6 个中的 1 个)。淘汰标准为:(i) 来自在 6 次实验中大部分显示结果趋势的最极端偏差,以避免极端值导致的数据失真 (可以受例如患者药物、医学史等影响);和 (ii) 难以满足最低质量标准。

[0185] 结果

[0186] LDH 活性

[0187] 上清液中 LDH 活性测量值 (细胞死亡和细胞裂解参数) 显示在第 6 天时仅在 0.1mM 剂量下 LDH 活性适度增加 (图 7)。这启示在测定条件下与化合物 A- 相关的 HF 毒性极低 (如果有的话)。

[0188] 毛干伸长

[0189] 施用化合物 A 在高剂量下 (1mM) 适度地、但显著地抑制毛干伸长 (图 8)。较低浓度对伸长无作用。

[0190] 毛发周期效应

[0191] 一般而言,化合物 A 在所有浓度下均诱导毛发生长中期,与使用高剂量 (1mM) 观察到的毛干伸长减少一致 (图 9)。向诱导毛发生长中期的强烈趋势在个体的 5 次实验分析中也显而易见 (图 10)。

[0192] 数据表明高剂量的化合物 A (例如 1mM 或以上) 抑制女性人体枕骨头皮毛干中的

毛干伸长。此外,化合物 A 的所有测试浓度均具有诱导毛发生长中期的作用,它们可能以在高剂量下观察到的毛干伸长减少为基础。

[0193] 参考文献

[0194] 将本文举出的全部出版物和专利包括下文列出的那些条目完整地引入本文参考,就如同将每篇出版物或专利各自特别地和单独地引入参考一样。如果出现矛盾,则本申请包括本文任意的定义加以控制。

[0195] 等效方案

[0196] 尽管已经讨论了本发明的具体实施方案,但是上述说明是示例性的,而非限定性的。本发明的许多改变在综述本说明书中时显而易见。本发明的完整范围应参照权利要求与其等效方案的完整范围以及本说明书与这样的变化形式确定。

[0197] 除非另有指示,否则用于本说明书和权利要求的表示成分用量的所有数值、反应条件等应被理解为在所有情况中均通过本文所用的术语“约”改变。因此,除非有相反的指示,否则本说明书和待批权利要求中举出的数值参数是近似值,其可以根据寻求本发明得到的期望特性的不同而改变。

[0198] 措词“包含 / 含有”和措词“具有 / 包括”在涉及本发明的本文中使用时用于规定存在所述特征、整体、步骤或要素,但不排除存在或添加一种或多种其它特征、整体、步骤、要素或其组合。

[0199] 可以理解,为清楚起见,单独的实施方案上下文中所述的本发明的一些特征也可以以单一实施方案组合的形式提供。相反,为简明起见,单一实施方案上下文中所述的本发明的不同特征也可以单独地或以任意适合的进一步组合的形式提供。

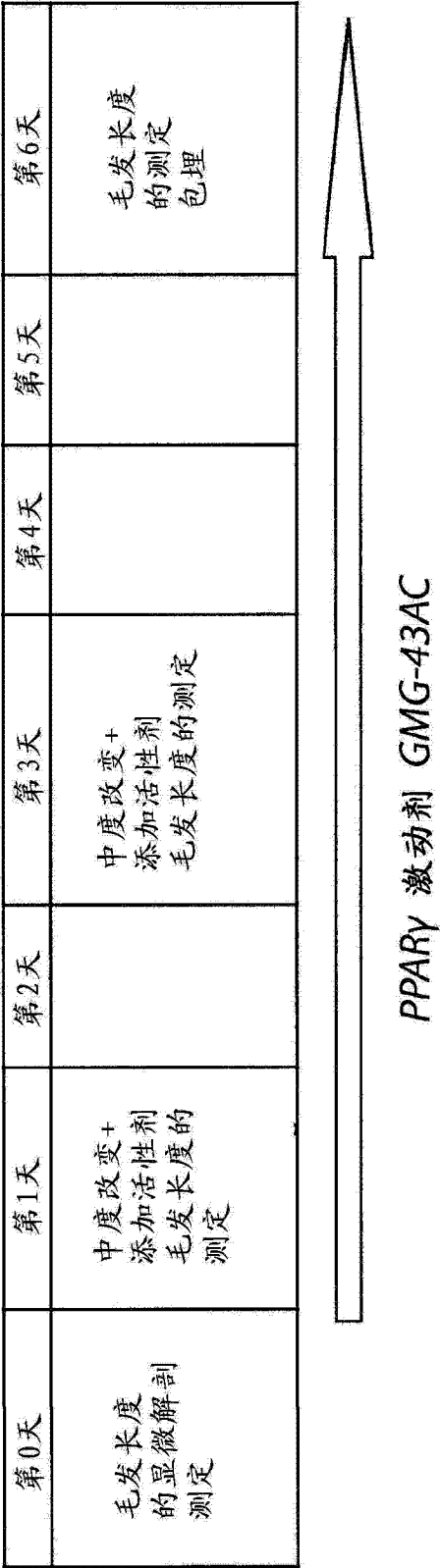


图 1

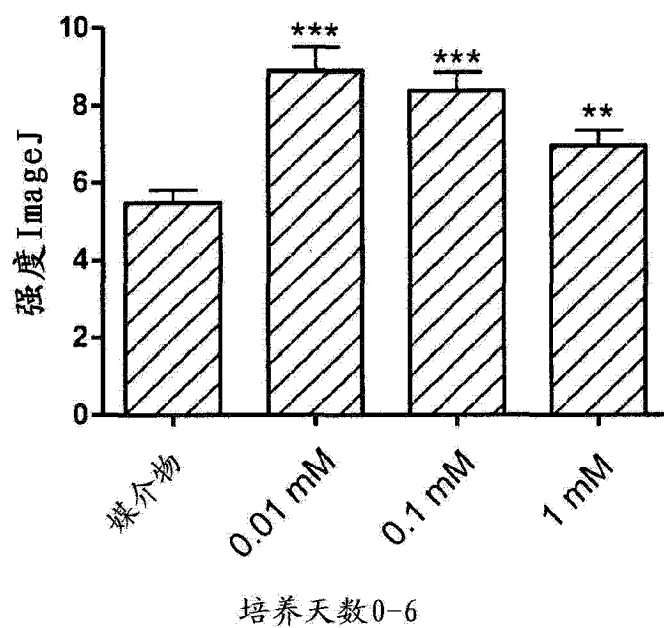


图 2

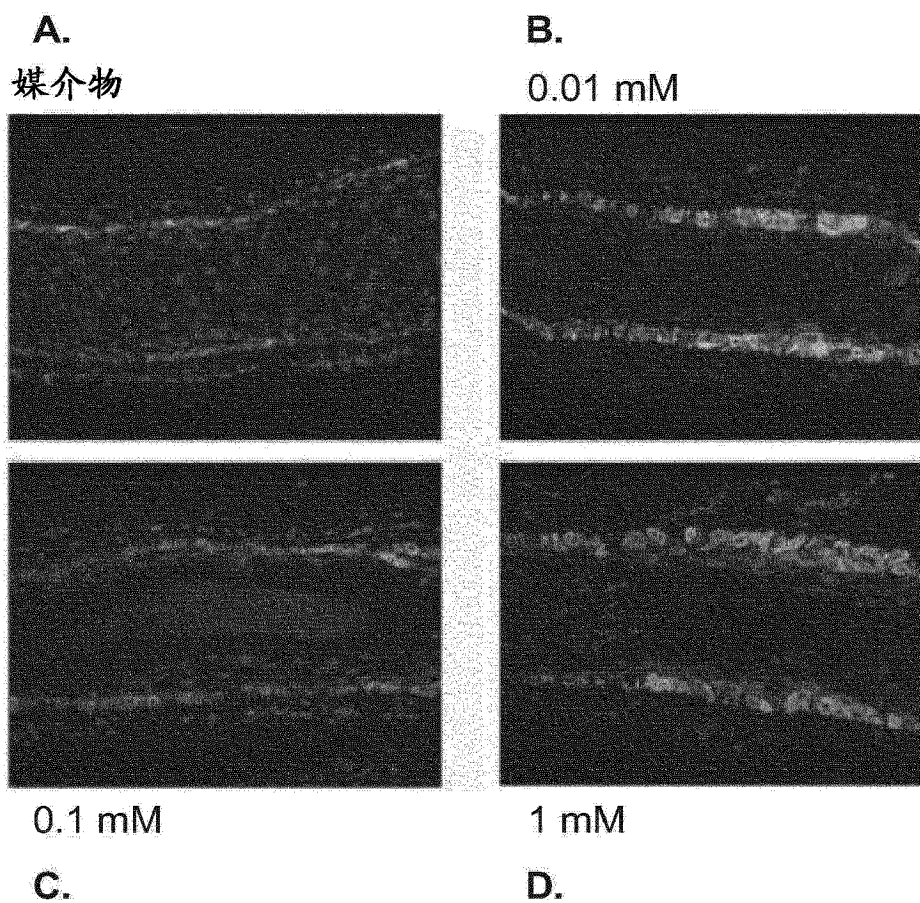


图 3

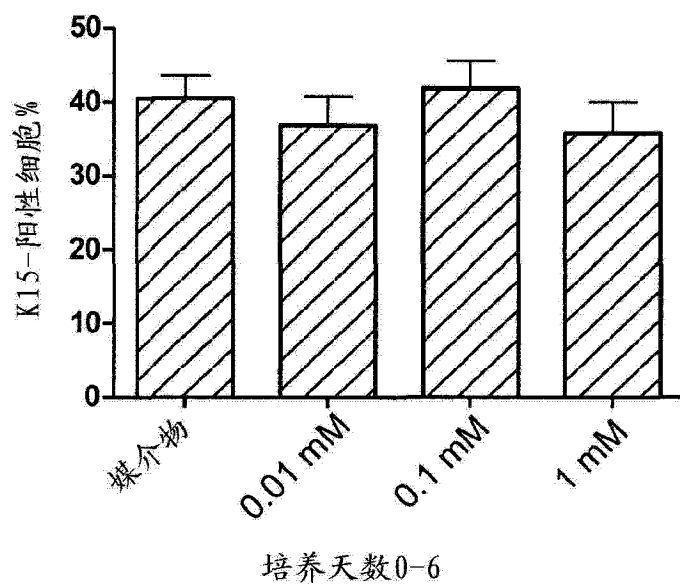


图 4

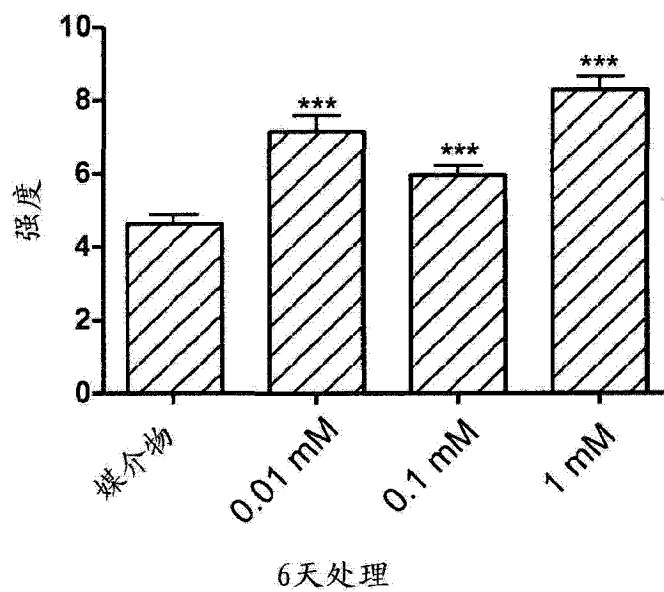


图 5

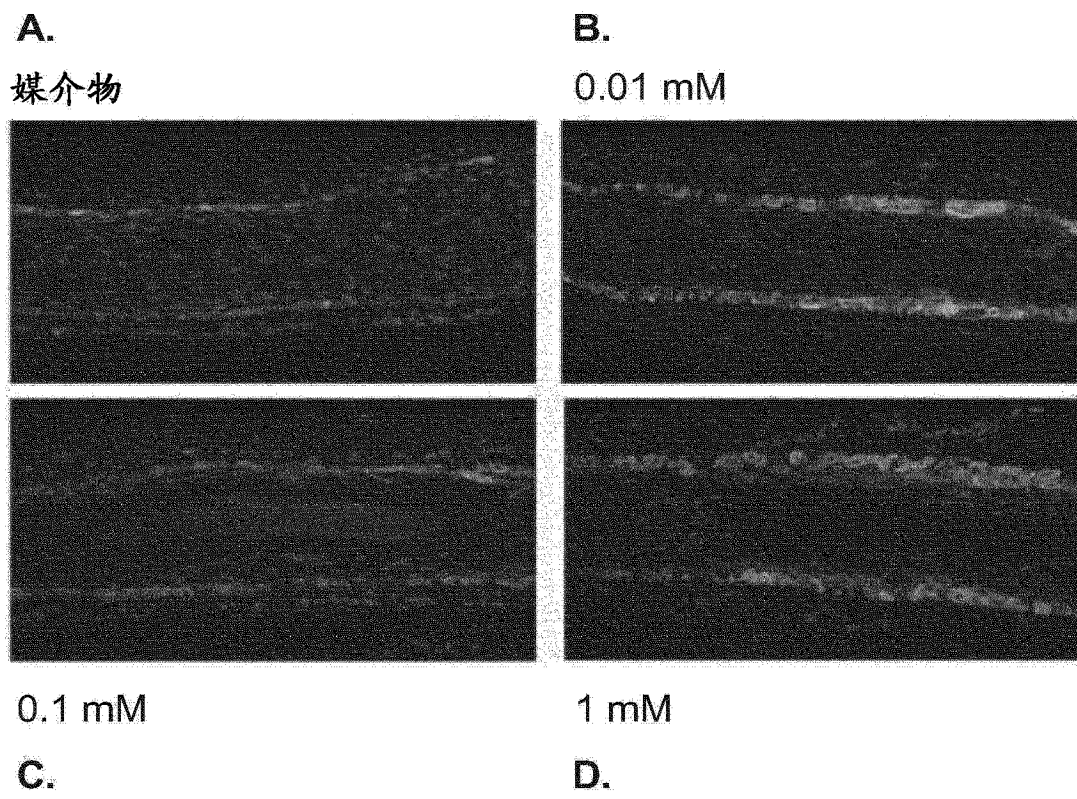


图 6

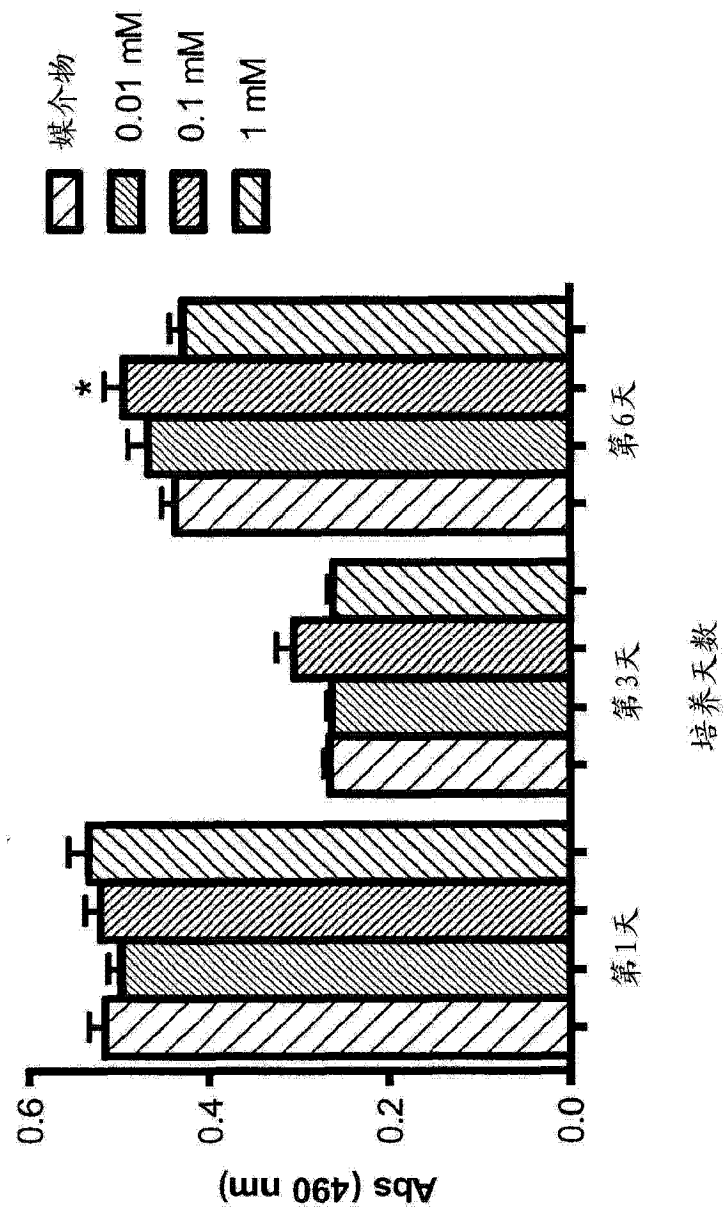


图 7

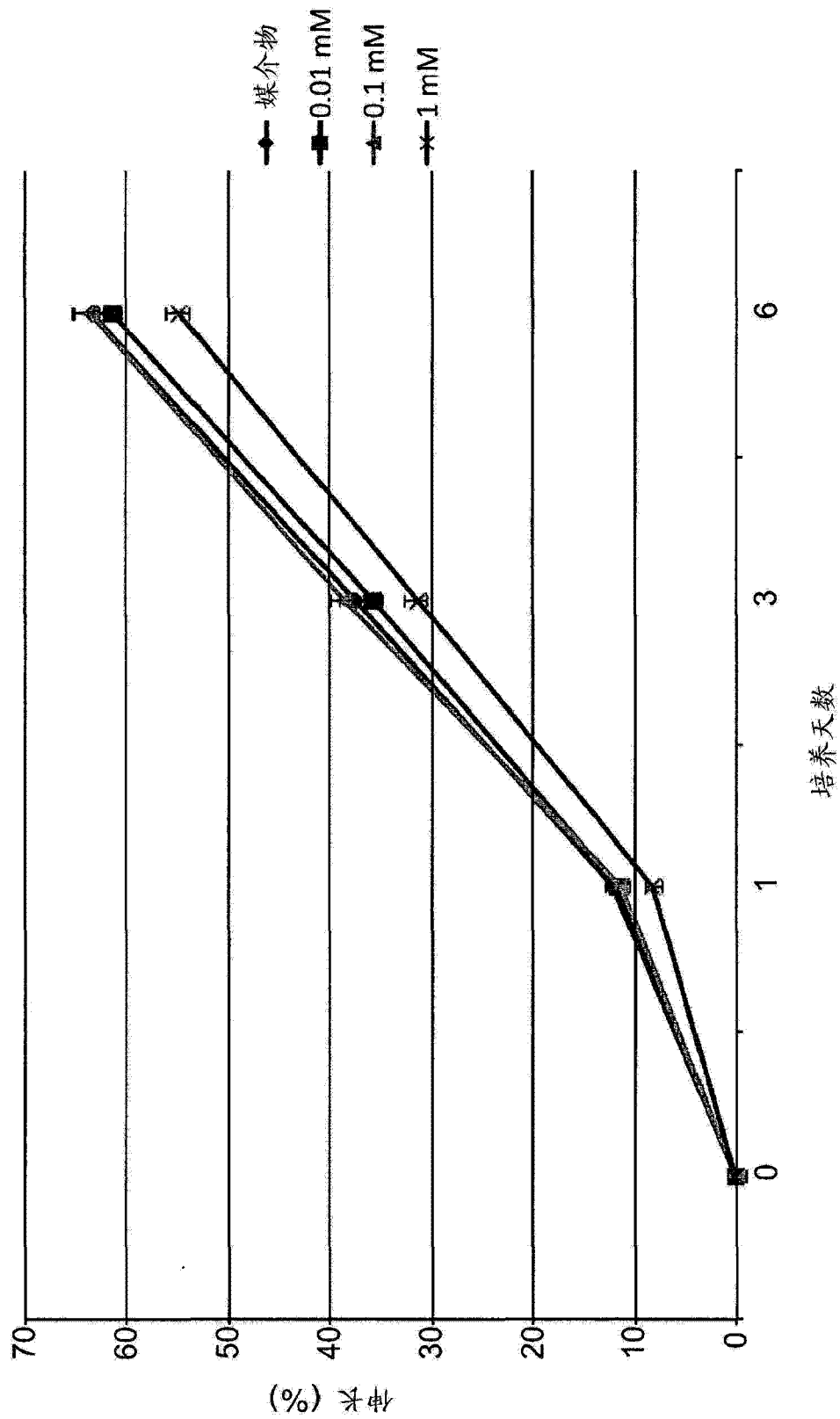


图 8

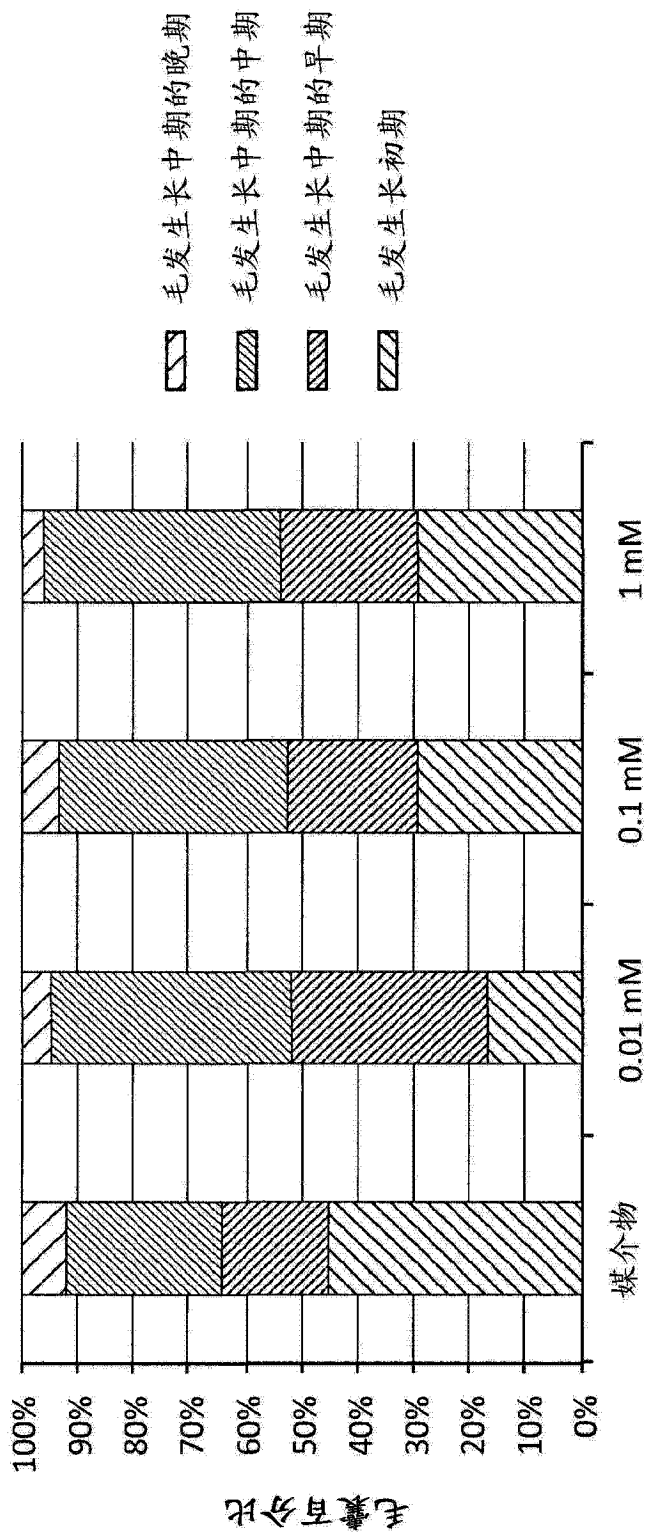


图 9

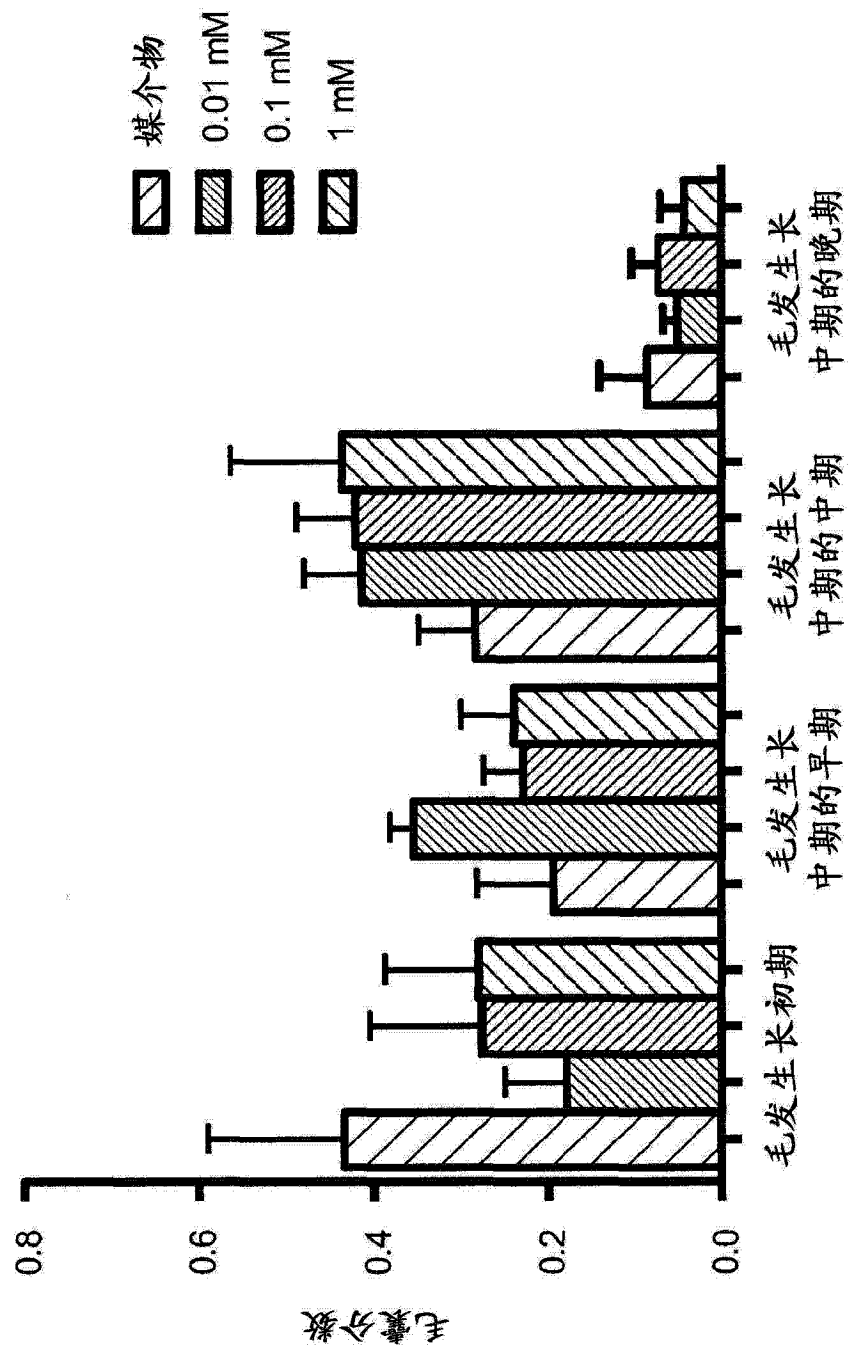


图 10