



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105899519 A

(43)申请公布日 2016.08.24

(21)申请号 201480072886.9	A61K 31/555(2006.01)
(22)申请日 2014.11.10	A61K 47/48(2006.01)
(30)优先权数据	G01N 33/53(2006.01)
61/902682 2013.11.11 US	A61P 9/10(2006.01)
61/932348 2014.01.28 US	A61P 25/28(2006.01)
(85)PCT国际申请进入国家阶段日	A61P 21/00(2006.01)
2016.07.11	A61P 27/12(2006.01)
(86)PCT国际申请的申请数据	A61P 25/00(2006.01)
PCT/US2014/064879 2014.11.10	A61P 25/08(2006.01)
(87)PCT国际申请的公布数据	A61P 27/06(2006.01)
W02015/070177 EN 2015.05.14	A61P 13/12(2006.01)
(71)申请人 协同医药发展有限公司	A61P 7/00(2006.01)
地址 美国加利福尼亚州	A61P 25/14(2006.01)
(72)发明人 J.C.瓦纳 S.R.彻鲁库 A.哈里	A61P 9/00(2006.01)
J.J.诺尔曼	A61P 1/00(2006.01)
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公	A61P 17/18(2006.01)
司 72001	A61P 33/06(2006.01)
代理人 初明明 万雪松	A61P 25/16(2006.01)
(51)Int.Cl.	A61P 27/02(2006.01)
C07F 1/08(2006.01)	A61P 35/00(2006.01)
C07F 3/06(2006.01)	A61P 7/06(2006.01)
A61K 31/30(2006.01)	A61P 25/18(2006.01)
A61K 31/315(2006.01)	A61P 31/12(2006.01)
	A61P 37/02(2006.01)
	A61P 41/00(2006.01)

权利要求书11页 说明书42页 附图7页

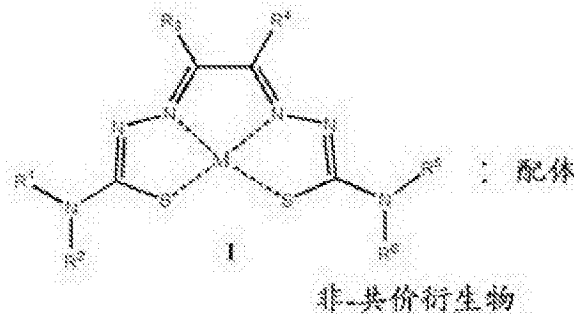
(54)发明名称

金属络合物及治疗方法

(57)摘要

在一个实施方案中,本申请公开为选择性神经活性剂的化合物,其用于治疗中枢神经系统(CNS)的疾病。在一个方面,所述神经活性剂是金属螯合物的NCD,所述金属螯合物包括铁、铜或锌的络合物。

1. 式I化合物与配体的非-共价衍生物(NCD):



其中:

M是Fe、Zn或Cu;

R^1 和 R^2 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR'⁷C(O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR''⁷)-、羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-NH(R^7)$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-COOH$ 、 $-COR^7$ 、 $-COOR^7$ 、 $-CONHR^7$ 、 $-CSNHR^7$ 、 $-S(O)R^7$ 、 $-S(O)_2R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-SO_2N(R^7)_2$ 和 $-(CH_2)_mR^8$,其各自可任选地被取代;或

R^1 和 R^2 当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

R^3 和 R^4 各自独立地为H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_1 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_1 - C_6 杂烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 环烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 杂环烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR'⁷C(O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR''⁷)-,或 R^3 和 R^4 与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环;

R^5 和 R^6 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR'⁷C(O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR''⁷)-、羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-NH(R^7)$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-COOH$ 、 $-COR^7$ 、 $-COOR^7$ 、 $-CONHR^7$ 、 $-CSNHR^7$ 、 $-S(O)R^7$ 、 $-S(O)_2R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-SO_2N(R^7)_2$ 和 $-(CH_2)_mR^8$,其各自可任选地被取代;或

R^5 和 R^6 当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

各 R^7 独立地选自H、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、杂环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基和酰基,其各自可被任选地取代;

各 R^8 独立地选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基,其各自可任选地被取代;

R' 和 R'' 各自独立地选自H和 C_1 - C_6 烷基;和

m是选自1、2、3、4、5和6的整数;

配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分,或与式I化合物配合以形成非-共价衍生物的化合物;和

其药学上可接受的盐。

2. 权利要求1的NCD,其中:

R^3 和 R^4 各自独立地为H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - $_{10}$ 芳基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $C(O)-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $S(O)_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $NR'C(O)-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $C(NR'')-$,或 R^1 和 R^2 与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环;

R^1 是H和 R^2 选自取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $C(O)-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $S(O)_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $NR'C(O)-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $C(NR'')$;和

R^5 是H和 R^6 选自取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $C(O)-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $S(O)_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $NR'C(O)-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $C(NR'')$ 。

3. 权利要求1的NCD,其中 R^3 和 R^4 各自独立地为H、 C_1 - $_3$ 烷基或 R^3 和 R^4 与它们连接的碳原子一起形成 C_6 环己基;和各 R^5 和 R^6 独立地选自 C_1 - $_3$ 烷基、 $-C_6H_5$ 、 p - $Cl-C_6H_4$ 、 p - $MeO-C_6H_4$ 、 $-C_1$ - $_2$ 烷基- C_6H_5 、 $-C_1$ - $_2$ 烷基- p - $Cl-C_6H_4$ 、 $-C_1$ - $_2$ 烷基- p - $MeO-C_6H_4$ 和 $-C_1$ - $_2$ 烷基-吗啉。

4. 权利要求1-3的任一项的NCD,其中所述配体选自:

a) 选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸的氨基酸;

b) 选自丙氨酸乙酯、精氨酸乙酯、精氨酸甲酯、半胱氨酸乙酯、胱氨酸二甲酯、甘氨酸乙酯、苯丙氨酸乙酯、酪氨酸乙酯、L-酪氨酸甲酯、酪氨酸甲酯和色氨酸乙酯的氨基酸酯;

c) 二肽;

d) 选自柠檬酸、硫代二丙酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、抗坏血酸、柠檬酸、琥珀酸、乳酸、苹果酸、己二酸、反乌头酸、苯甲酸、辛酸、尿酸、胆酸、酒石酸、亚油酸、烟碱酸、油酸、果胶酸、丙酸、水杨酸、山梨酸、硬脂酸的有机羧酸、二羧酸或多羧酸;

e) 选自葡萄糖、乳糖、麦芽糖、蔗糖、果糖、甘露醇、山梨醇、核糖和山梨糖的单糖或二糖;和

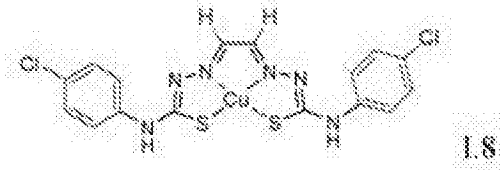
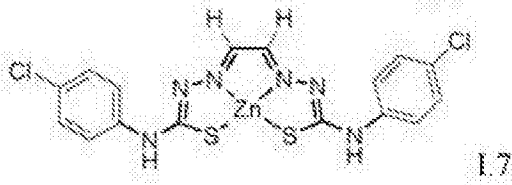
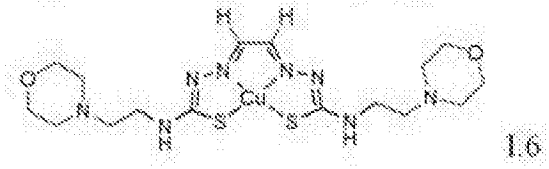
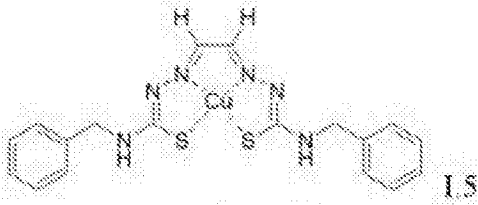
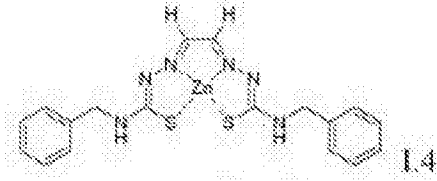
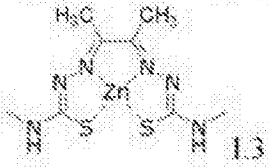
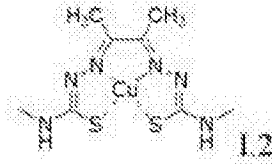
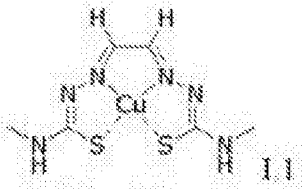
f) 选自2-吡咯烷酮、咖啡因、糖精、 N,N,N',N' -四丁基对苯二甲酰胺、 N,N,N',N' -四乙基对苯二甲酰胺、 N,N,N',N' -四丙基对苯二甲酰胺、脲、丙二醇、烟酰胺(烟碱)、吡哆醇、核黄素、硫胺(维生素B1)和 α -醋酸生育酚(乙维生素E)的有机化合物。

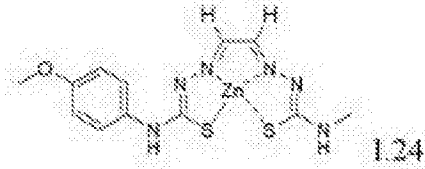
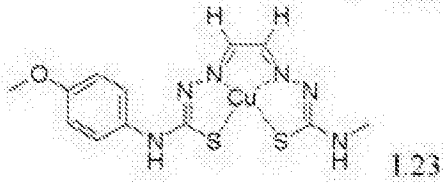
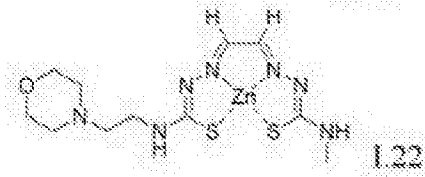
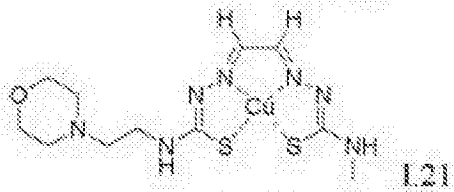
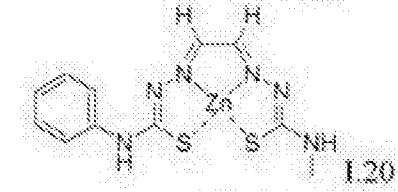
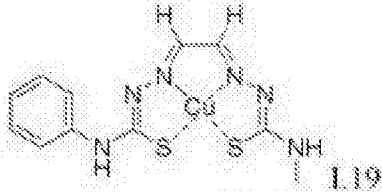
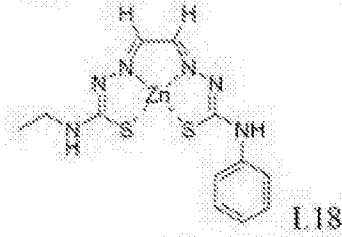
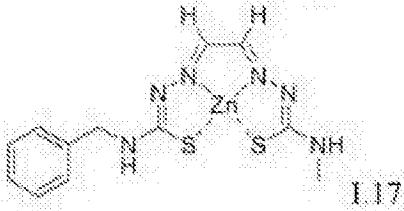
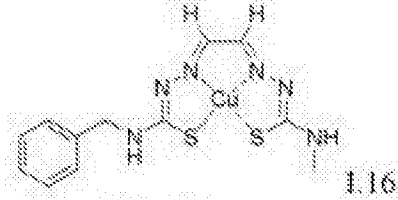
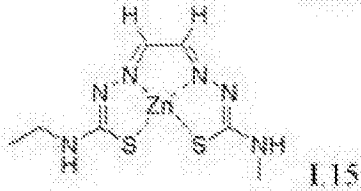
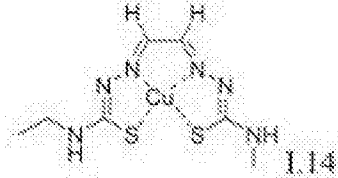
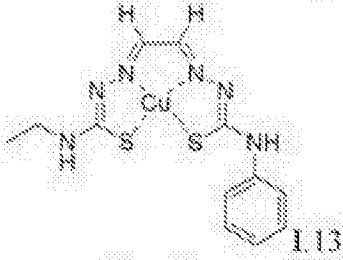
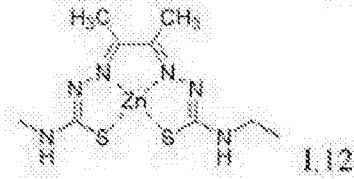
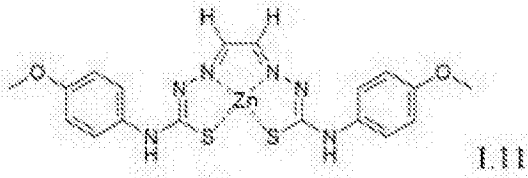
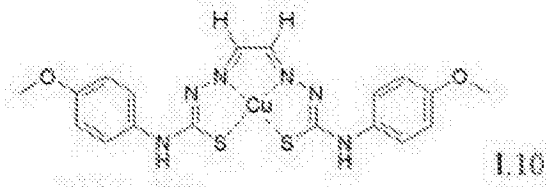
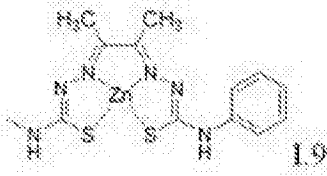
5. 权利要求1-4的任一项的NCD,其中:

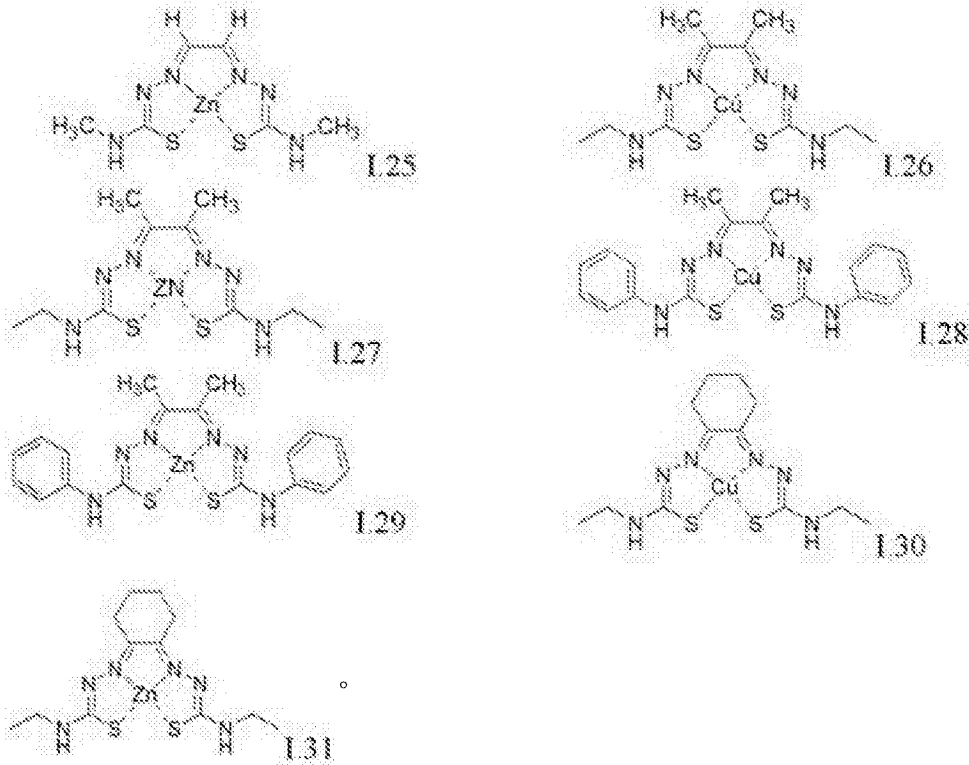
R^3 和 R^4 各自独立地为H、 C_1 - $_3$ 烷基或与它们连接的碳原子一起形成 C_6 环己基;和

各 R^5 和 R^6 独立地选自 C_1 - $_3$ 烷基、 $-C_6H_5$ 、 p - $Cl-C_6H_4$ 、 p - $MeO-C_6H_4$ 、 $-C_1$ - $_2$ 烷基- C_6H_5 、 $-C_1$ - $_2$ 烷基- p - $Cl-C_6H_4$ 、 $-C_1$ - $_2$ 烷基- p - $MeO-C_6H_4$ 和 $-C_1$ - $_2$ 烷基-吗啉。

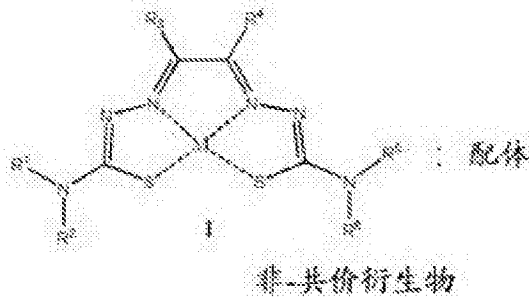
6. 权利要求1的NCD,其中式I化合物选自I.1-I.31:





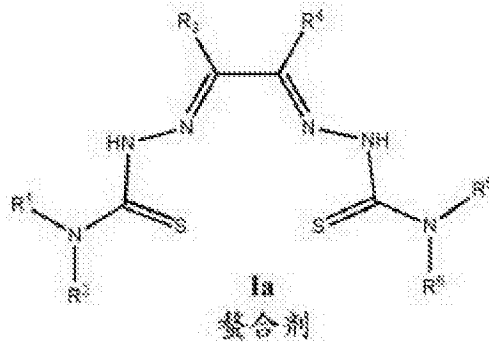


7. 式Ia化合物与金属化配体的非-共价衍生物(NCD):



其中:

式Ia化合物是:



金属化配体是配体的金属盐,其中金属选自Fe、Zn和Cu;

配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分,或有机化合物;

R¹和R²各自独立地选自H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₂-C₆烯基、取代或未取代的C₂-C₆炔基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的C₅-C₁₀杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未

取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、-NH(R⁷)、-N(R⁷)₂、-COOH、-COR⁷、-COOR⁷、-CONHR⁷、-CSNHR⁷、-S(O)R⁷、-S(O)₂R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-SO₂N(R⁷)₂和-(CH₂)_mR⁸,其各自可任选地被取代;或

R¹和R²当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

R³和R⁴各自独立地为H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₂-C₆烯基、取代或未取代的C₁-C₆炔基、取代或未取代的C₁-C₆杂烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀杂环烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的C₅-C₁₀杂芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆₋₁₀芳基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-,或R³和R⁴与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环;

R⁵和R⁶各自独立地选自H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₂-C₆烯基、取代或未取代的C₂-C₆炔基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的C₅-C₁₀杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆₋₁₀芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、-NH(R⁷)、-N(R⁷)₂、-COOH、-COR⁷、-COOR⁷、-CONHR⁷、-CSNHR⁷、-S(O)R⁷、-S(O)₂R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-SO₂N(R⁷)₂和-(CH₂)_mR⁸,其各自可任选地被取代;或

R⁵和R⁶当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

各R⁷独立地选自H、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、杂环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基和酰基,其各自可被任选地取代;

各R⁸独立地选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基,其各自可任选地被取代;

R'和R''各自独立地选自H和C₁-C₆烷基;和

m是选自1、2、3、4、5和6的整数;和

其药学上可接受的盐。

8. 权利要求7的NCD,其中金属化配体是金属葡萄糖酸盐,其中金属选自Fe、Cu或Zn。

9. 权利要求8的NCD,其中:

R³和R⁴各自独立地为H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆₋₁₀芳基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-,或R¹和R²与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环;

R¹是H和R²选自取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆₋₁₀芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-;和

R⁵是H和R⁶选自取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆₋₁₀芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-

C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR')-

10. 权利要求9的NCD, 其中:

R¹是H;

R²是取代或未取代的C₁-C₆烷基;

R³和R⁴是甲基;

R⁵是取代或未取代的C₁-C₆烷基; 和

R⁶是取代或未取代的C₁-C₆烷基。

11. 权利要求9的NCD, 其中式Ia化合物是ATSMH₂和金属葡萄糖酸盐是葡萄糖酸铜(II)或葡萄糖酸锌(II)。

12. 权利要求1-11的任一项的NCD, 或其药学上可接受的盐, 任选地以单一立体异构体或其立体异构体的混合物的形式存在。

13. 一种药用组合物, 其包含治疗有效量的权利要求1-12的任一项的NCD, 和药学上可接受的赋形剂或盐。

14. 一种在哺乳动物中治疗或预防病症的方法, 其中金属递送可防止、减轻或缓解该病症, 该方法包括给予哺乳动物治疗有效量的权利要求1-13的任一项的NCD或其药用组合物。

15. 权利要求14的方法, 其中所述病症选自阿霉素诱导的心肌病; AIDS痴呆和HIV-1诱导的神经毒性; 阿尔茨海默氏病; 急性间歇性卟啉病; 阿尔茨海默氏病(AD); 肌萎缩性侧索硬化(ALS); 动脉粥样硬化; 白内障; 脑缺血; 大脑性麻痹; 脑肿瘤; 化疗引起的器官损害; 顺铂诱导的肾毒性; 冠状动脉旁路手术; 克-雅氏病及其与“疯牛”病有关的新变体; 糖尿病性神经病变; 唐氏综合征; 溺水; 癫痫和创伤后癫痫; 弗里德利希共济失调; 额颞叶痴呆; 青光眼; 肾小球病; 血色病; 血液透析; 溶血; 溶血性尿毒综合征(韦耳氏病); 门克斯病; 出血性中风; Hallerboden-Spatz病; 心脏病发作和再灌注损伤; 亨廷顿氏病; 路易体病; 间歇性跛行; 缺血性中风; 炎症性肠疾病; 黄斑变性; 疟疾; 甲醇诱导的中毒; 脑膜炎(无菌性和结核性); 运动神经元病; 多发性硬化症; 多系统萎缩; 心肌缺血; 瘤形成; 帕金森氏病; 围产期窒息; 皮克病; 进行性核上性麻痹(PSP); 放疗引起的器官损伤; 血管成形术后再狭窄; 视网膜病; 老年痴呆; 精神分裂症; 脓毒症; 脓毒性休克; 海绵状脑病; 蛛网膜下出血/脑血管痉挛; 硬膜下血肿; 手术创伤, 包括神经外科; 地中海贫血; 短暂性脑缺血发作(TIA); 移植; 血管性痴呆; 病毒性脑膜炎; 病毒性脑炎; 神经病变, 肠病性肢端皮炎; 路易体痴呆; τ 蛋白病; 轻度认知障碍(MCI); 运动神经元病(MND)和朊病毒疾病。

16. 权利要求14的方法, 其中病症是神经变性疾病, 其选自阿尔茨海默氏病(AD)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、门克斯病、多发性硬化症、神经病变、运动神经元病、帕金森氏病、亨廷顿氏病、额颞叶痴呆、肠病性肢端皮炎、路易体痴呆、 τ 蛋白病、轻度认知障碍(MCI)、进行性核上性麻痹(PSP)和运动神经元病(MND)和朊病毒疾病。

17. 权利要求15或16的方法, 其中配体选自:

a) 选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸的氨基酸;

b) 选自丙氨酸乙酯、精氨酸乙酯、精氨酸甲酯、半胱氨酸乙酯、胱氨酸二甲酯、甘氨酸

乙酯、苯丙氨酸乙酯、酪氨酸乙酯、L-酪氨酸甲酯、酪氨酸甲酯和色氨酸乙酯的氨基酸酯；

c) 二肽；

d) 选自柠檬酸、硫代二丙酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、抗坏血酸、柠檬酸、琥珀酸、乳酸、苹果酸、己二酸、反乌头酸、苯甲酸、辛酸、尿酸、胆酸、酒石酸、亚油酸、烟碱酸、油酸、果胶酸、丙酸、水杨酸、山梨酸、硬脂酸的有机羧酸、二羧酸或多羧酸；

e) 选自葡萄糖、乳糖、麦芽糖、蔗糖、果糖、甘露醇、山梨醇、核糖和山梨糖的单糖或二糖；和

f) 选自2-吡咯烷酮、咖啡因、糖精、N,N,N',N'-四丁基对苯二甲酰胺、N,N,N',N'-四乙基对苯二甲酰胺、N,N,N',N'-四丙基对苯二甲酰胺、脲、丙二醇、烟酰胺(烟碱)、吡哆醇、核黄素、硫胺(维生素B1)和 α -醋酸生育酚(维生素E)的有机化合物。

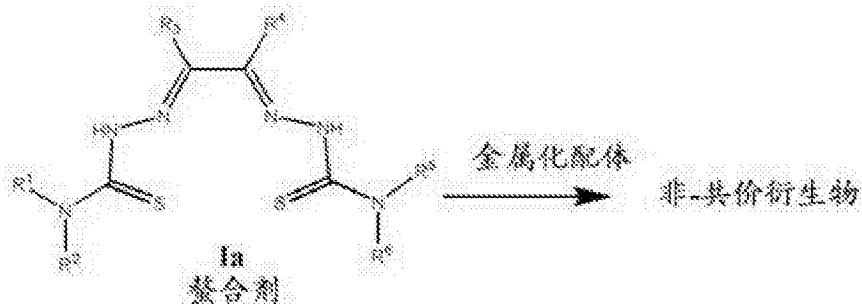
18. 权利要求14-17的任一项的方法，其中：

R^3 和 R^4 各自独立地为H、 C_{1-3} 烷基或与它们连接的碳原子一起形成 C_6 环己基；和

各 R^5 和 R^6 独立地选自 C_{1-3} 烷基、 $-C_6H_5$ 、 $p-Cl-C_6H_4$ 、 $p-MeO-C_6H_4$ 、 $-C_{1-2}$ 烷基- C_6H_5 、 $-C_{1-2}$ 烷基- $p-Cl-C_6H_4$ 、 $-C_{1-2}$ 烷基- $p-MeO-C_6H_4$ 和 $-C_{1-2}$ 烷基-吗啉。

19. 权利要求14的方法，其中式I化合物选自I.1-I.31。

20. 一种在患者中治疗或预防病症的方法，其中金属递送可防止、减轻或缓解所述病症，其中病症选自 τ 蛋白相关疾病、由氧化应激引起的或与氧化应激有关的疾病和 $AB\beta$ 相关疾病，所述方法包括给予治疗有效量的包含金属螯合物的非-共价衍生物(NCD)的复合物，其中NCD通过式Ia化合物，螯合剂，与金属化配体反应形成：



其中：

金属化配体是配体的金属盐，其中金属选自Fe、Zn和Cu；

配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分或有机化合物；

R^1 和 R^2 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_{1-6} 烷基、取代或未取代的 C_2-6 烯基、取代或未取代的 C_2-6 炔基、取代或未取代的 C_5-10 芳基、取代或未取代的 C_5-10 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-C_{1-6}$ 烷基- C_6-10 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_{1-6}$ 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_{1-6} 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_{1-6} 烷基S(O) $_{1-2}$ -、取代或未取代的 C_{1-6} 烷基NR'C(O)-和取代或未取代的 C_{1-6} 烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-NH(R^7)$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-COOH$ 、 $-COR^7$ 、 $-COOR^7$ 、 $-CONHR^7$ 、 $-CSNHR^7$ 、 $-S(O)R^7$ 、 $-S(O)_2R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-SO_2N(R^7)_2$ 和 $-(CH_2)_mR^8$ ，其各自可任选地被取代；或

R^1 和 R^2 当与它们连接的氮原子结合在一起时，形成任选取代的杂环烷基或杂芳基；

R^3 和 R^4 各自独立地为H、取代或未取代的 C_{1-6} 烷基、取代或未取代的 C_2-6 烯基、取代或

未取代的C₁-C₆炔基、取代或未取代的C₁-C₆杂烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀杂环烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的C₅-C₁₀杂芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-，或R³和R⁴与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环；

R⁵和R⁶各自独立地选自H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₂-C₆烯基、取代或未取代的C₂-C₆炔基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的C₅-C₁₀杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、-NH(R⁷)、-N(R⁷)₂、-COOH、-COR⁷、-COOR⁷、-CONHR⁷、-CSNHR⁷、-S(O)R⁷、-S(O)₂R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-SO₂N(R⁷)₂和-(CH₂)_mR⁸，其各自可任选地被取代；或

R⁵和R⁶当与它们连接的氮原子结合在一起时，形成任选取代的杂环烷基或杂芳基；

各R⁷独立地选自H、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、杂环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基和酰基，其各自可被任选地取代；

各R⁸独立地选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基，其各自可任选地被取代；

R'和R''各自独立地选自H和C₁-C₆烷基；

m是选自1、2、3、4、5和6的整数；和

其药学上可接受的盐。

21. 权利要求20的方法，其中所述化合物具有式Ia，其中：

R³和R⁴各自独立地为H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-，或R¹和R²与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环；

R¹是H和R²选自取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-；和

R⁵是H和R⁶选自取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-。

22. 权利要求20的方法，其中化合物具有式Ia，其中：

R¹是H；

R²是取代或未取代的C₁-C₆烷基；

R³和R⁴是甲基；

R⁵是取代或未取代的C₁-C₆烷基；和

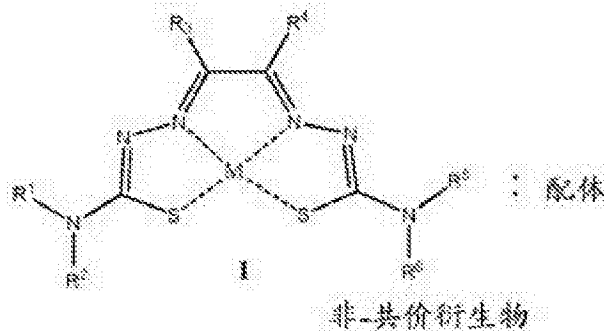
R⁶是取代或未取代的C₁-C₆烷基。

23. 权利要求20-22的任一项的方法,其中配体选自氨基酸、柠檬酸、硫代二丙酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、抗坏血酸、咖啡因、葡萄糖、谷胱甘肽、乳糖、乳酸、苹果酸、麦芽糖、琥珀酸、尿酸、柠檬酸、L-酪氨酸甲酯、胱氨酸二甲酯和糖精。

24. 权利要求20的方法,其中式Ia化合物是ATSMH₂和金属化配体是葡萄糖酸铜(II)或葡萄糖酸锌(II)。

25. 一种体内诊断铜(II)络合物或其它二价金属的配位性质的方法,其包括:

- a) 给予患者式I化合物与配体的非-共价衍生物(NCD);和
- b) 检测络合物在患者中的性质,其中NCD是:



其中:

M是选自Cu-60、Cu-61、Cu-62和Cu-64的铜同位素;

R¹和R²各自独立地选自H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₂-C₆烯基、取代或未取代的C₂-C₆炔基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的C₅-C₁₀杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、-NH(R⁷)、-N(R⁷)₂、-COOH、-COR⁷、-COOR⁷、-CONHR⁷、-CSNHR⁷、-S(O)R⁷、-S(O)₂R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-SO₂N(R⁷)₂和-(CH₂)_mR⁸,其各自可任选地被取代;或

R¹和R²当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

R³和R⁴各自独立地为H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₂-C₆烯基、取代或未取代的C₁-C₆炔基、取代或未取代的C₁-C₆杂烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀环烷基、取代或未取代的C₃-C₁₀杂环烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的C₅-C₁₀杂芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-,或R³和R⁴与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环;

R⁵和R⁶各自独立地选自H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₂-C₆烯基、取代或未取代的C₂-C₆炔基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的C₅-C₁₀杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、-NH(R⁷)、-N(R⁷)₂、-COOH、-COR⁷、-COOR⁷、-CONHR⁷、-CSNHR⁷、-S(O)R⁷、-S(O)₂R⁷、-C(O)N(R⁷)₂、-SO₂N(R⁷)₂和-(CH₂)_mR⁸,其各自可

任选地被取代;或

R^5 和 R^6 当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

各 R^7 独立地选自H、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、杂环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基和酰基,其各自可被任选地取代;

各 R^8 独立地选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基,其各自可任选地被取代;

R' 和 R'' 各自独立地选自H和 C_1-C_6 烷基;和

m 是选自1、2、3、4、5和6的整数;

配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分,或与式I化合物配合以形成非-共价衍生物的有机化合物;和

其药学上可接受的盐。

金属络合物及治疗方法

[0001] 相关申请

本申请要求2013年11月11日提交的美国临时申请号61/902,682和2014年1月28日提交的美国临时申请号61/932,348的权益。

[0002] 申请背景

本发明涉及金属络合物作为药物,特别是用于治疗病症的用途,其中金属递送可防止、减轻或缓解该病症。有许多由异常水平的金属(通常为低金属水平)引起或与其有关的临床病症。这种类型的病症包括癌症和以氧化损伤为特征或与氧化损伤有关的病症,更特别是神经变性病症或疾病如阿尔茨海默氏病(AD)、帕金森氏病(PD)、亨廷顿氏病、缺氧和朊病毒疾病(PrD)。

[0003] 生物可利用的金属对生物系统的工作具有重大的影响。已知金属在生物系统内的酶系统和信号传导机制中起着重要作用。例如,Zn在以下过程中起着重要作用:阿尔茨海默氏病的 β -淀粉样蛋白斑块;(Cu,Zn)超氧化物歧化酶在介导与肌萎缩侧索硬化症相关的活性氧簇损害中的作用;亚铁血红素酶NO合酶和鸟苷酸环化酶分别参与一氧化氮(NO)的生产和感知,并且参与乳腺癌和卵巢癌易感性基因,例如BRCA1中的“锌-指”基序的发现。此外,已经证实,异常蛋白在某些浓度的金属离子的存在下具有错误折叠的倾向。

[0004] 已鉴定许多是氧化应激(OS)的结果的心血管病症。与OS有关的其它病症包括癌症、白内障、神经变性疾病如阿尔茨海默氏病和心脏病。也有证据表明,OS在三种类型的神经肌肉疾病中起着主要的作用:肌萎缩性侧索硬化(ALS)、线粒体/代谢性疾病和弗里德赖希氏共济失调(Friedreich's ataxia)。这些疾病的共同特征包括由于OS所致的错误折叠蛋白的沉积和实质细胞损伤。数据提示,OS是在广泛范围的疾病状态中的物理伤害的主要原因,所述疾病包括淀粉样蛋白发生神经病如阿尔茨海默氏病(AD)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、朊病毒疾病 - 包括克-雅氏病(CJD)、传染性海绵状脑病(TSE)、白内障、线粒体疾病、门克斯病(Menkes disease)、帕金森氏病(PD)和亨廷顿氏病(HD)。OS的作用不限于人体的任何一个部分,对几乎所有的器官都观察到OS的负性作用的实例。例如,人脑是集中金属离子的器官,并且最近的证据提示,金属稳态的打破在各种老年相关性神经变性疾病中起着关键作用。

[0005] 许多治疗剂已经作为用于由OS引起或与OS相关的病症的潜在疗法而被开发出来。然而,药剂如维生素E和维生素C被发现是无效的,因为它们不能越过血脑屏障,因此,不能有效地用来治疗中枢来源的神经变性疾病。

[0006] 铜金属离子缺乏已被报道为与AD有关的病症。铜缺乏的一个后果是,负责使活性氧簇(ROS)解毒的保护性酶不能充分地载荷铜,因而不能有效地执行正常的酶功能。这样的保护性酶,例如在脑中的不充分的装载导致OS的总体增加(如在AD中观察到的),这将反映了蛋白氧化的增加,如蛋白羰基的增加。

[0007] 因此,存在对用于治疗与氧化损伤有关的疾病,且特别是中枢神经系统神经变性疾病如PD、AD和CJD的高度有效的药物的需求。此外,存在对用于治疗与外周组织有关的病症,胃肠道功能障碍如便秘,和急性呼吸窘迫综合征、ALS、动脉粥样硬化性心血管疾病和多

器官功能障碍的新型药物的需求。

[0008] 除了罹患某些神经疾病,如帕金森氏病的患者经历的运动功能障碍之外,非-运动症状包括胃肠道不适,如便秘,也是神经疾病患者通常经历的。这些症状对患者的生活质量具有严重和不利的影 响。在本申请的一个方面,提供一种用于治疗或减轻与罹患神经疾病的患者有关的胃肠道疾病或不适的方法,该方法包括给予治疗有效量的如本文公开的金属络合物的NCD。

[0009] 罹患某些神经变性疾病,如PD的患者,例如,也患有非-运动方面的疾病,其中在自主神经系统内的干扰被注意到,以及这些自主身体机能,如心律、血压、出汗和胃肠道和尿道功能二者的控制受到不利的影 响。与神经变性疾病如PD有关的胃肠道功能障碍可包括便秘。

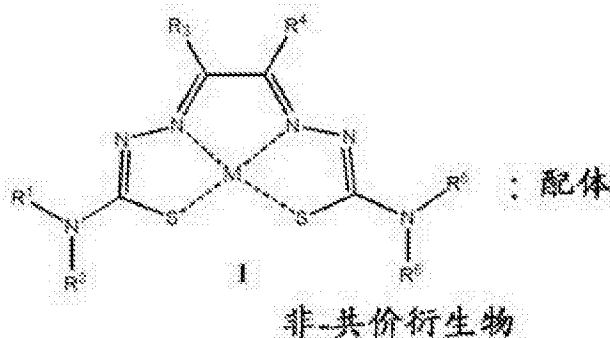
[0010] 相关领域和限制的前述实例意在说明且不是排他性的。相关领域的其它限制在本领域技术人员阅读了说明书和研究了如本文提供的绘图或附图后将变得显而易见。

[0011] 申请概述

存在对为治疗中枢神经系统(CNS)疾病的选择性神经活性剂的新型和有效药物的持续需求。一方面,神经活性剂是离子螯合物,包括铜和锌等。以下实施方案、方面及其变化是示例性的且这些示例并不意味着限制其范围。

[0012] 在第一个实施方案中,本发明基于这样的发现,即某些金属络合物的非-共价衍生物(NCD)在递送生物可利用的金属中是有效的,并且可用于治疗可通过金属递送预防、治疗或改善的病症。特别是这些金属络合物的NCD被发现以导致在细胞中观察到的显著抗氧化作用的形式有效递送金属至细胞。在一个方面,某些金属络合物的NCD证实了介导OS的能力。在另一个实施方案中,金属络合物的NCD及其衍生物也可用于涉及铜(II)和其它二价金属的体内诊断工具。

[0013] 在第二个实施方案中,本申请公开一种式I化合物与配体的非-共价衍生物(NCD):



其中:

M是Fe、Zn或Cu;

R^1 和 R^2 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O) $_{1-2}$ -、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR'C(O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-NH(R^7)$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-COOH$ 、 $-COR^7$ 、-

COOR^7 、 $-\text{CONHR}^7$ 、 $-\text{CSNHR}^7$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^7)_2$ 和 $-(\text{CH}_2)_m\text{R}^8$,其各自可任选地被取代;或

R^1 和 R^2 当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

R^3 和 R^4 各自独立地为H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_1 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_1 - C_6 杂烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 环烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 杂环烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的 $-\text{C}_1$ - C_6 烷基- C_6 - 10 芳基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{C}(\text{O})-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{S}(\text{O})_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{NR}'\text{C}(\text{O})-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $\text{C}(\text{NR}'')$ -,或 R^3 和 R^4 与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环;

R^5 和 R^6 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-\text{C}_1$ - C_6 烷基- C_6 - 10 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-\text{C}_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{C}(\text{O})-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{S}(\text{O})_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{NR}'\text{C}(\text{O})-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $\text{C}(\text{NR}'')$ -,羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-\text{NH}(\text{R}^7)$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COR}^7$ 、 $-\text{COOR}^7$ 、 $-\text{CONHR}^7$ 、 $-\text{CSNHR}^7$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^7)_2$ 和 $-(\text{CH}_2)_m\text{R}^8$,其各自可任选地被取代;或

R^5 和 R^6 当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

各 R^7 独立地选自H、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、杂环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基和酰基,其各自可被任选地取代;

各 R^8 独立地选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基,其各自可任选地被取代;

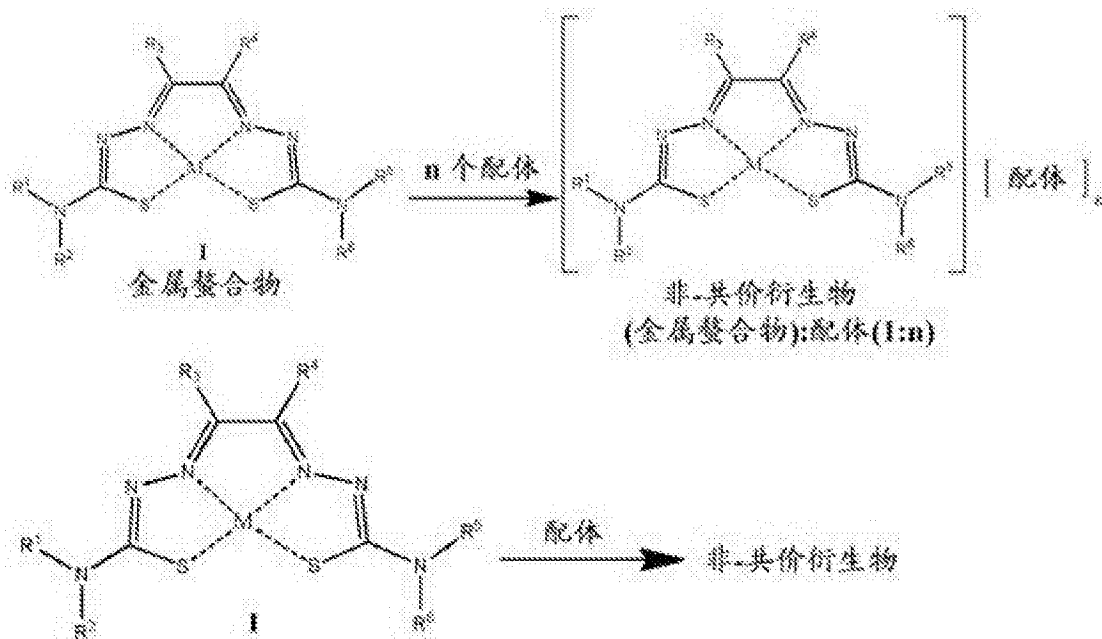
R' 和 R'' 各自独立地选自H和 C_1 - C_6 烷基;和

m 是选自1、2、3、4、5和6的整数;

配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分,或与式I化合物配合以形成非-共价衍生物的有机化合物;及其药学上可接受的盐。在一个方面,NCD从如本文公开的式I化合物和配体制备。在以上化合物的一个方面, M 是Zn或Cu。

[0014] 如在本申请中公开的,NCD被表示或描述为,例如1:1的化学计量,以简单地表示NCD,无关于化学计量。即是说,NCD可无关于化学计量而形成或制备。例如,NCD可从式I化合物与1、2或3个配体形成,这取决于金属的性质、螯合剂和加入的以形成NCD的试剂的相对化学计量。类似地,NCD可包含具有如本文公开的一个或多个配体的1、2或3个金属螯合物。

[0015] 本申请的NCD,如从以上式I化合物制备的那些,可一般按照下述制备:



在以上NCD的一个方面;R³和R⁴各自独立地为H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-,或R¹和R²与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环;

R¹是H和R²选自取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-;和

R⁵是H和R⁶是选自取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-。

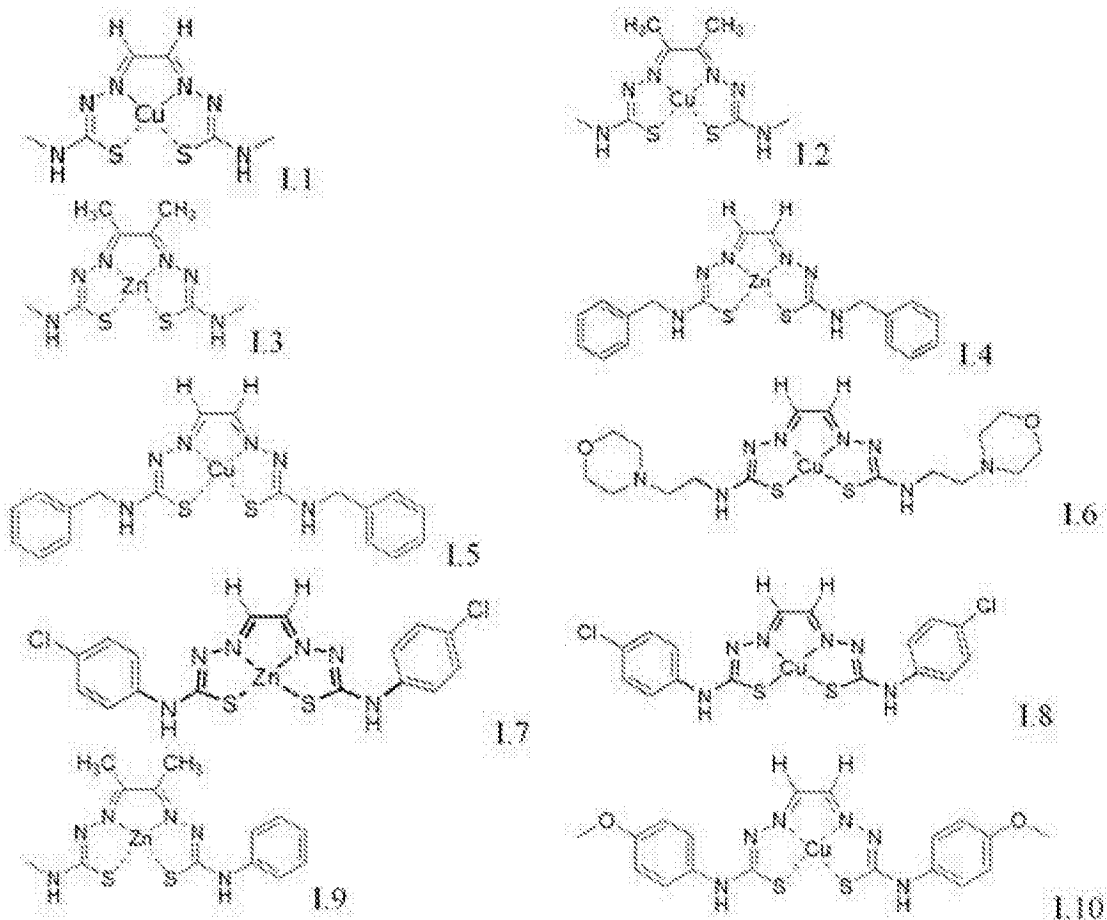
[0016] 在NCD的另一个方面,R³和R⁴各自独立地为H、C₁-3烷基或R³和R⁴与它们连接的碳原子一起形成C₆环己基;和各R⁵和R⁶独立地选自C₁-3烷基、-C₆H₅、p-Cl-C₆H₄、p-MeO-C₆H₄、-C₁-2烷基-C₆H₅、-C₁-2烷基-p-Cl-C₆H₄、-C₁-2烷基-p-MeO-C₆H₄和-C₁-2烷基-吗啉。在以上的一个变化中,R³和R⁴各自独立地选自H、甲基或乙基。在另一个变化中,各R⁵和R⁶独立地为甲基、乙基、-C₆H₅、-CH₂-C₆H₅、p-MeO-C₆H₄-和-CH₂CH₂-N-吗啉。在以上化合物的一个变化中,R¹和R⁵是氢和R²和R⁶是相同的。在以上的另一个变化中,所述化合物被对称地取代。在一个变化中,所述化合物被对称地取代以形成旋转对称的C₂轴。

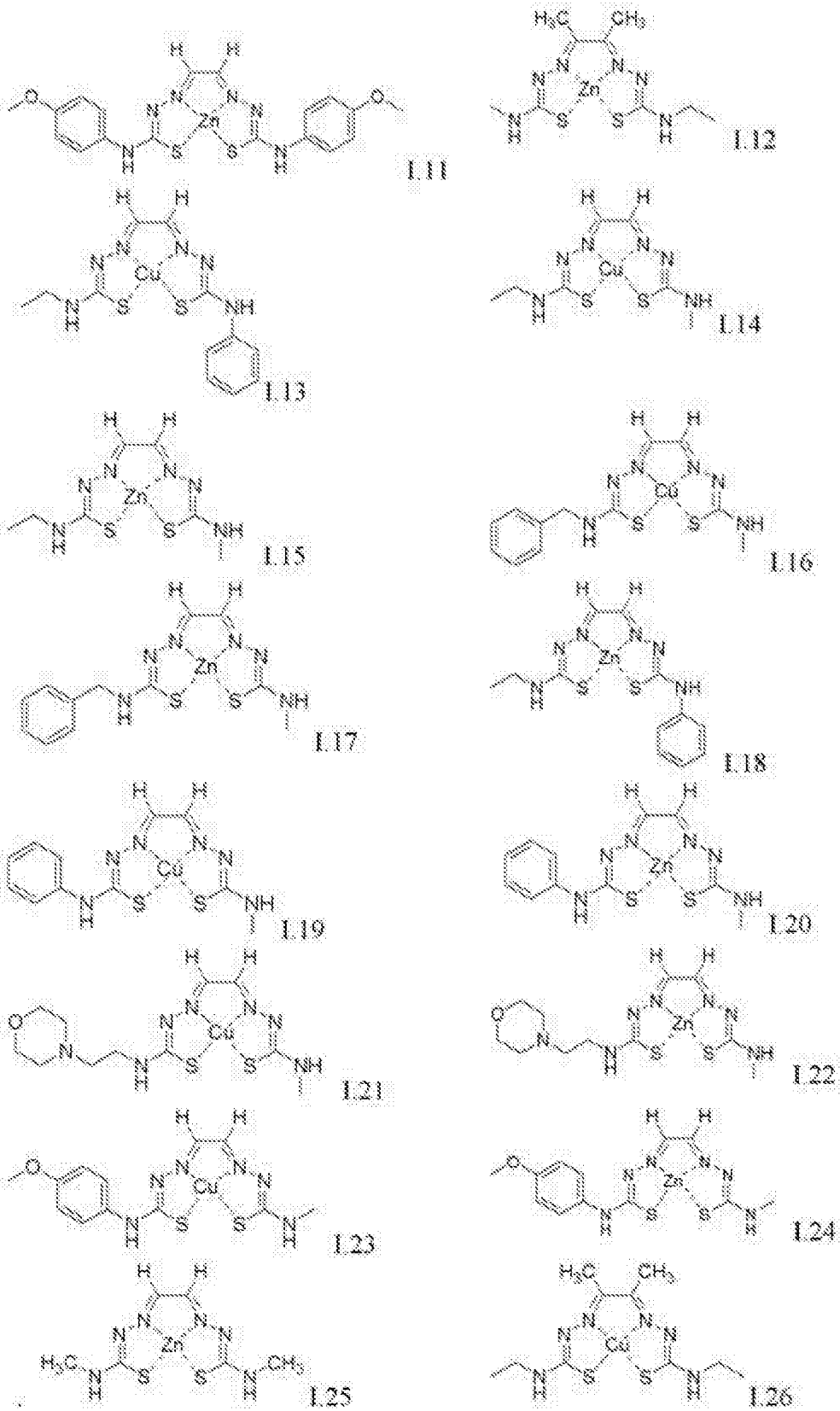
[0017] 在NCD的另一个方面,配体选自:a) 氨基酸,如选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸的那些;b) 氨基酸的酯,如选自丙氨酸乙酯、精氨酸乙酯、精氨酸甲酯、半胱氨酸乙酯、胱氨酸二甲酯、甘氨酸乙酯、苯丙氨酸乙酯、酪氨酸乙酯、L-酪氨酸甲酯、酪氨酸甲酯和色氨酸乙酯的那些;c) 二肽,如Ala-Gly、Gly-Ala、L-丙氨酰-L-谷氨酰胺、Ala-Tyr、Tyr-Ala、Ala-Gln、Gln-Ala、Gly-

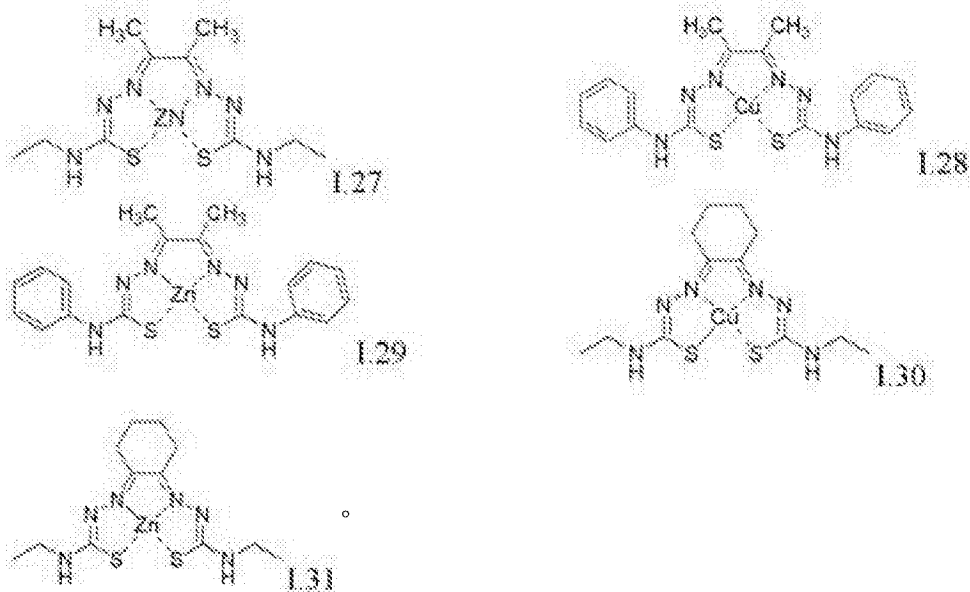
Tyr、Tyr-Gly、Ile-Tyr、Tyr-Ile、Ile-Trp、Lys-Trp、Lys-Glu、Glu-Tyr、Ile-Leu和Leu-Ile；
 d) 有机羧酸、二羧酸或多羧酸，如选自柠檬酸、硫代二丙酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、抗坏血酸、柠檬酸、琥珀酸、乳酸、苹果酸、己二酸、反乌头酸、苯甲酸、辛酸、尿酸、胆酸、酒石酸、亚油酸、烟碱酸、油酸、果胶酸、丙酸、水杨酸、山梨酸、硬脂酸的那些；e) 单糖或二糖，如选自葡萄糖、乳糖、麦芽糖、蔗糖、果糖、甘露醇、山梨醇、核糖和山梨糖的那些；和f) 有机化合物，如选自2-吡咯烷酮、咖啡因、糖精、N,N,N',N'-四丁基对苯二甲酰胺、N,N,N',N'-四乙基对苯二甲酰胺、N,N,N',N'-四丙基对苯二甲酰胺、脲、丙二醇、烟酰胺(烟碱)、吡哆醇、核黄素、硫胺(维生素B1)和 α -醋酸生育酚(乙维生素E)的那些。在以上的一个方面，配体选自柠檬酸、硫代二丙酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、抗坏血酸、咖啡因、葡萄糖、谷胱甘肽、乳糖、乳酸、苹果酸、麦芽糖、琥珀酸、尿酸、柠檬酸、L-酪氨酸甲酯、胱氨酸二甲酯和糖精。在一个变化中，配体选自氨基酸、柠檬酸、硫代二丙酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、抗坏血酸、咖啡因、葡萄糖、谷胱甘肽、乳糖、乳酸、苹果酸、麦芽糖、琥珀酸、尿酸、柠檬酸、L-酪氨酸甲酯、胱氨酸二甲酯和糖精。在NCD的一个变化中，配体选自葡萄糖酸、柠檬酸、L-酪氨酸甲酯、胱氨酸二甲酯和糖精。在NCD的一个变化中，配体是葡萄糖酸。

[0018] 在以上的又一个方面， R^3 和 R^4 各自独立地为H、 C_{1-3} 烷基或与它们连接的碳原子一起形成 C_6 环己基；和各 R^5 和 R^6 独立地选自 C_{1-3} 烷基、 $-C_6H_5$ 、 $p-Cl-C_6H_4$ 、 $p-MeO-C_6H_4$ 、 $-C_{1-2}$ 烷基- C_6H_5 、 $-C_{1-2}$ 烷基- $p-Cl-C_6H_4$ 、 $-C_{1-2}$ 烷基- $p-MeO-C_6H_4$ 和 $-C_{1-2}$ 烷基-吗啉。

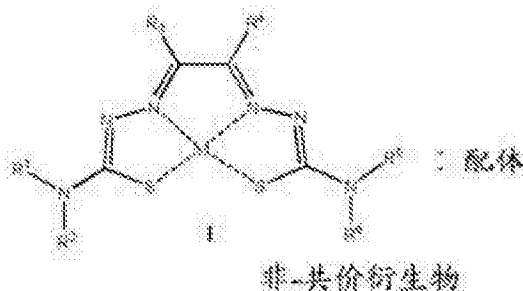
[0019] 在以上NCD的另一方面，式I化合物选自I.1-I.31：



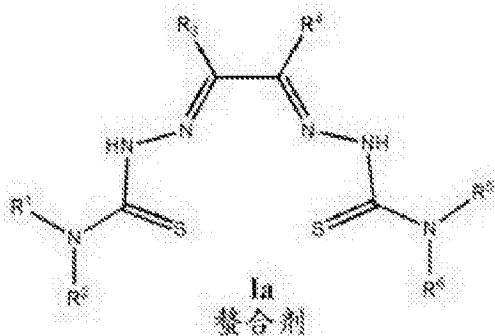




[0020] 在第三实施方案中,本申请公开一种式Ia化合物与金属化配体的非-共价衍生物(NCD):



其中:
式Ia化合物是:



配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分,或有机化合物;

金属化配体是配体的金属盐,其中金属选自Fe、Zn和Cu;

R¹和R²各自独立地选自H、取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₂-C₆烯基、取代或未取代的C₂-C₆炔基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的C₅-C₁₀杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、-NH(R⁷)、-N(R⁷)₂、-COOH、-COR⁷、-

COOR^7 、 $-\text{CONHR}^7$ 、 $-\text{CSNHR}^7$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^7)_2$ 和 $-(\text{CH}_2)_m\text{R}^8$,其各自可任选地被取代;或

R^1 和 R^2 当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

R^3 和 R^4 各自独立地为H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_1 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_1 - C_6 杂烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 环烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 杂环烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的 $-\text{C}_1$ - C_6 烷基- C_6 - 10 芳基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{C}(\text{O})-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{S}(\text{O})_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{NR}'\text{C}(\text{O})-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $\text{C}(\text{NR}'')$ -,或 R^3 和 R^4 与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环;

R^5 和 R^6 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-\text{C}_1$ - C_6 烷基- C_6 - 10 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-\text{C}_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{C}(\text{O})-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{S}(\text{O})_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{NR}'\text{C}(\text{O})-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $\text{C}(\text{NR}'')$ -,羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-\text{NH}(\text{R}^7)$ 、 $-\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COR}^7$ 、 $-\text{COOR}^7$ 、 $-\text{CONHR}^7$ 、 $-\text{CSNHR}^7$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^7$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^7)_2$ 和 $-(\text{CH}_2)_m\text{R}^8$,其各自可任选地被取代;或

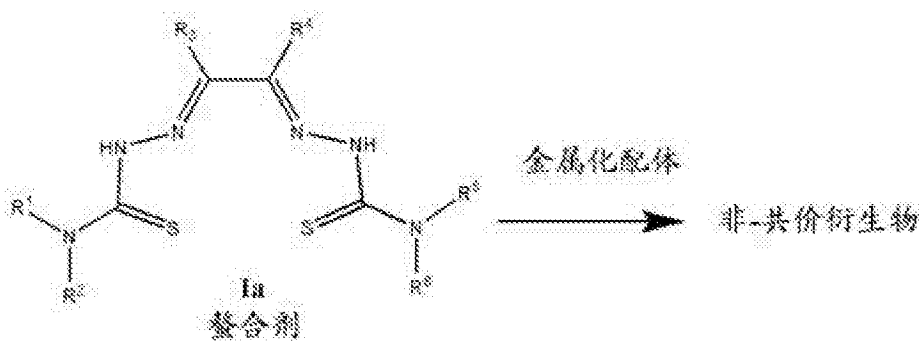
R^5 和 R^6 当与它们连接的氮原子结合在一起时,形成任选取代的杂环烷基或杂芳基;

各 R^7 独立地选自H、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、杂环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基和酰基,其各自可被任选地取代;

各 R^8 独立地选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基,其各自可任选被取代;

R' 和 R'' 各自独立地选自H和 C_1 - C_6 烷基;和m是选自1、2、3、4、5和6的整数;和其药学上可接受的盐。

[0021] 在第四实施方案中,本申请公开一种通过使螯合剂Ia与金属化配体反应来制备以上非-共价衍生物(NCD)的方法:



在一方面,金属化配体是金属葡萄糖酸盐,其中金属选自Fe、Cu或Zn。在以上NCD的一个方面, R^3 和 R^4 各自独立地为H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-\text{C}_1$ - C_6 烷基- C_6 - 10 芳基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{C}(\text{O})-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{S}(\text{O})_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $\text{NR}'\text{C}(\text{O})-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $\text{C}(\text{NR}'')$ -,或 R^1 和 R^2 与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环; R^1 是H和 R^2 选自取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-\text{C}_1$ - C_6 烷基- C_6 - 10 芳基、取代

或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-;和R⁵是H和R⁶选自取代或未取代的C₁-C₆烷基、取代或未取代的C₅-C₁₀芳基、取代或未取代的-C₁-C₆烷基-C₆-C₁₀芳基、取代或未取代的杂环基、-C₁-C₆烷基-杂环基、取代或未取代的C₁-C₆烷基C(O)-、取代或未取代的C₁-C₆烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的C₁-C₆烷基NR'C(O)-和取代或未取代的C₁-C₆烷氧基C(NR'')-。

[0022] 在NCD的另一个方面,R¹是H;R²是取代或未取代的C₁-C₆烷基;R³和R⁴是甲基;R⁵是取代或未取代的C₁-C₆烷基;和R⁶是取代或未取代的C₁-C₆烷基。在NCD的一个方面,式Ia化合物是ATSMH₂和金属化配体是葡萄糖酸铜。在以上的一个变化中,NCD是通过式Ia化合物和金属葡萄糖酸盐之间的反应制备的固态葡萄糖酸NCD,其中金属选自Fe、Cu和Zn。在一个变化中,金属是铜或锌。在以上NCD的另一方面,式Ia化合物是ATSMH₂和金属葡萄糖酸盐是葡萄糖酸铜(II)或葡萄糖酸锌(II)。

[0023] 在每一个上面的另一方面,本申请公开以上的NCD,或其药学上可接受的盐,任选地呈现单一立体异构体或其立体异构体的混合物的形式。在又一方面,提供一种包含治疗有效量的上述每一个的NCD,和药学上可接受的赋形剂或盐的药用组合物。

[0024] 在第五实施方案中,本申请公开一种治疗或预防哺乳动物的病症的方法,其中金属递送可防止、减轻或缓解该病症,所述方法包括给予哺乳动物治疗有效量的任何一个以上实施方案、方面和变化的NCD或其药用组合物。在以上方法的一个变化中,所述病症选自τ蛋白相关疾病、由氧化应激引起的或与氧化应激有关的疾病和AB相关疾病(Abeta related disorder)。在以上方法的另一个变化中,所述病症由患者的氧化应激引起或与氧化应激有关。在另一个变化中,所述病症是τ蛋白相关疾病或AB相关疾病。在该方法的另一个变化中,所述病症选自心血管疾病、中枢神经系统疾病、癌症和神经疾病或障碍。在该方法的另一个变化中,神经疾病是神经变性疾病。

[0025] 口服给予金属络合物,如CuII-ATSM(或Cu-ATSM,或CuATSM)或金属络合物的NCD,已被证明是神经保护的,并可恢复MPTP(1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶)损伤小鼠的运动表现和认知功能。此外,Cu-ATSM或Cu-ATSM的NCD的治疗也改善大便频率,并且发现与MPTP损伤小鼠的肌间神经丛中的神经元亚群的恢复相关。因此,患有神经疾病,如帕金森氏病、经历胃肠道功能障碍如便秘的患者,可与胃肠道肌间神经丛内肠胶质细胞反应性连接的神经元群的损失相关。用在中枢神经系统中具有神经保护作用的药物如金属络合物,如Cu-ATSM,或金属络合物的NCD,如Cu-ATSM的NCD治疗这些患者,提供症状的缓解并且还导致胃肠道的疾病的改善。

[0026] 如本文所公开的,帕金森氏病的几个啮齿动物模型已显示出胃肠道功能障碍,这与肠道神经系统内的神经元群的损失相关。已确定给予MPTP(1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶)引起C57BL/6小鼠的黑质致密部内的多巴胺能神经元数目显著减少。此外,在回肠肌间神经丛内神经元亚群的减少在损伤后21天也被检测到并伴有大便频率的减少,提示消化功能障碍。

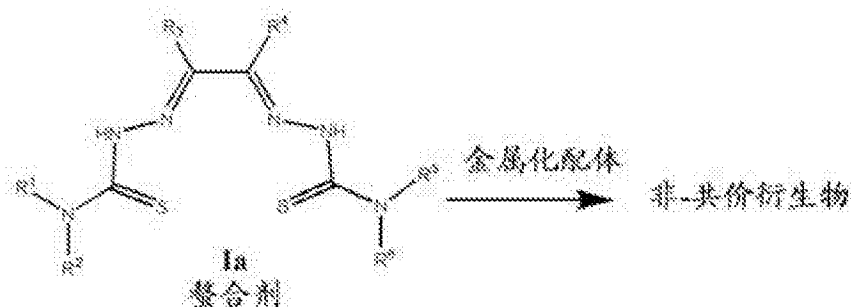
[0027] 在以上方法的另一方面,所述病症是与选自以下病症有关的胃肠道疾病或障碍:阿霉素诱导的心肌病;AIDS痴呆和HIV-1诱导的神经毒性;阿尔茨海默氏病;急性间歇性卟啉病;阿尔茨海默氏病(AD);肌萎缩性侧索硬化(ALS);动脉粥样硬化;白内障;脑缺血;大脑

性麻痹;脑肿瘤;化疗引起的器官损害;顺铂诱导的肾毒性;冠状动脉旁路手术;克-雅氏病(Creutzfeldt-Jacob disease)及其与“疯牛”病有关的新变体;糖尿病性神经病变;唐氏综合征;溺水;癫痫和创伤后癫痫;弗里德利希共济失调(Friedrich's ataxia);额颞叶痴呆;青光眼;肾小球病;血色病;血液透析;溶血;溶血性尿毒综合征(韦耳氏病(Weil's disease));门克斯病;出血性中风;Hallerboden-Spatz病;心脏病发作和再灌注损伤;亨廷顿氏病;路易体病;间歇性跛行;缺血性中风;炎症性肠疾病;黄斑变性;疟疾;甲醇诱导的中毒;脑膜炎(无菌性和结核性);运动神经元病;多发性硬化症;多系统萎缩;心肌缺血;瘤形成;帕金森氏病;围产期窒息;皮克病(Pick's disease);进行性核上性麻痹(PSP);放疗引起的器官损伤;血管成形术后再狭窄;视网膜病;老年痴呆;精神分裂症;脓毒症;脓毒性休克;海绵状脑病;蛛网膜下出血/脑血管痉挛;硬膜下血肿;手术创伤,包括神经外科;地中海贫血;短暂性脑缺血发作(TIA);移植;血管性痴呆;病毒性脑膜炎;病毒性脑炎;神经病变,肠病性肢端皮炎;路易体痴呆; τ 蛋白病(tauopathies);轻度认知障碍(MCI);运动神经元病(MND)和朊病毒疾病。

[0028] 在以上方法的一个变化中,所述病症是与选自以下病症有关的胃肠道疾病或障碍:心血管疾病、中枢神经系统紊乱和神经障碍。在另一个变化中,所述病症是与神经障碍有关的胃肠道疾病或障碍。在另一个变化中,神经障碍是与选自以下病症有关的胃肠道疾病或障碍:帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、多发性硬化症、神经病变、亨廷顿氏病、朊病毒疾病、运动神经元病、肌萎缩性侧索硬化(ALS)和门克斯病。在另一个变化中,所述病症是与阿尔茨海默氏病有关的胃肠道疾病或障碍。在另一个变化中,病症是与帕金森氏病有关的胃肠道疾病或障碍。在另一个变化中,病症是与肌萎缩性侧索硬化(ALS)有关的胃肠道疾病或障碍。在以上方法的一个方面,所述病症选自神经疾病或神经变性疾病选自阿尔茨海默氏病(AD)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、门克斯病、多发性硬化症、神经病变、运动神经元病、帕金森氏病、亨廷顿氏病、额颞叶痴呆、肠病性肢端皮炎、路易体痴呆、 τ 蛋白病、轻度认知障碍(MCI)、进行性核上性麻痹(PSP)、运动神经元病(MND)和朊病毒疾病。

[0029] 在每一个以上方法的一个变化中, R^2 选自H、烷基、芳基、和 $-(CH_2)_mR^8$,其各自可任选被取代。在另一个变化中,m是1或2。在另一个变化中, R^8 是芳基或杂环烷基。在另一个变化中, R^8 是苯基,或吗啉-4-基。在另一个变化中, R^2 选自H、甲基、乙基、苯基-甲基、2-吗啉-4-基-乙基、苯基、4-氯-苯基和4-甲氧基-苯基。在另一个变化中, R^5 选自H、烷基和芳基,其各自可任选被取代。在另一个变化中, R^5 是H。在又一个变化中, R^6 选自H、烷基、芳基、和 $-(CH_2)_mR^8$,其各自可任选被取代。在另一个变化中,m是1或2。在另一个变化中, R^8 是苯基,或吗啉-4-基。在另一个变化中, R^6 选自H、甲基、乙基、苯基-甲基、2-吗啉-4-基-乙基、苯基、4-氯-苯基和4-甲氧基-苯基。

[0030] 在第六实施方案中,提供一种治疗或预防患者的病症的方法,其中金属递送可预防、减轻或缓解所述病症,其中病症选自 τ 蛋白相关疾病、由氧化应激引起的或与氧化应激有关的疾病和A β 相关疾病,所述方法包括给予治疗有效量的包含金属螯合物的非-共价衍生物(NCD)的复合物,其中NCD通过式Ia化合物,螯合剂,与金属化配体反应形成:



其中：

金属化配体是配体的金属盐，其中金属选自Fe、Zn和Cu；

配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分，或有机化合物；

R^1 和 R^2 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O) $_{1-2}$ -、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR' C (O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-NH(R^7)$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-COOH$ 、 $-COR^7$ 、 $-COOR^7$ 、 $-CONHR^7$ 、 $-CSNHR^7$ 、 $-S(O)R^7$ 、 $-S(O)_2R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-SO_2N(R^7)_2$ 和 $-(CH_2)_mR^8$ ，其各自可任选地被取代；或

R^1 和 R^2 当与它们连接的氮原子结合在一起时，形成任选取代的杂环烷基或杂芳基；

R^3 和 R^4 各自独立地为H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_1 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_1 - C_6 杂烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 环烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 杂环烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O) $_{1-2}$ -、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR' C (O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR'')-，或 R^3 和 R^4 与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环；

R^5 和 R^6 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O) $_{1-2}$ -、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR' C (O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-NH(R^7)$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-COOH$ 、 $-COR^7$ 、 $-COOR^7$ 、 $-CONHR^7$ 、 $-CSNHR^7$ 、 $-S(O)R^7$ 、 $-S(O)_2R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-SO_2N(R^7)_2$ 和 $-(CH_2)_mR^8$ ，其各自可任选地被取代；或

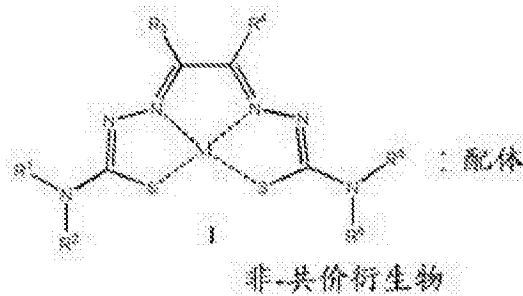
R^5 和 R^6 当与它们连接的氮原子结合在一起时，形成任选取代的杂环烷基或杂芳基；

各 R^7 独立地选自H、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、杂环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基和酰基，其各自可被任选地取代；

各 R^8 独立地选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基，其各自可任选地被取代；

R' 和 R'' 各自独立地选自H和 C_1 - C_6 烷基；

m 是选自1、2、3、4、5和6的整数；和其药学上可接受的盐。也提供如下表示的NCD：



在上述的一个方面,所述病症是与该病症有关的胃肠道疾病或病症。

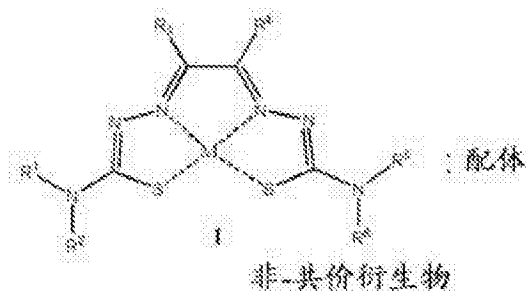
[0031] 在以上的一个变化中,所述化合物具有式Ia,其中: R^3 和 R^4 各自独立地为H、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基、取代或未取代的 C_5-C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-C_1-C_6$ 烷基- C_6-C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基 $C(O)-$ 、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基 $S(O)_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基 $NR'C(O)-$ 和取代或未取代的 C_1-C_6 烷氧基 $C(NR'')$,或 R^1 和 R^2 与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环; R^1 是H和 R^2 选自取代或未取代的 C_1-C_6 烷基、取代或未取代的 C_5-C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-C_1-C_6$ 烷基- C_6-C_{10} 芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1-C_6$ 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基 $C(O)-$ 、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基 $S(O)_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基 $NR'C(O)-$ 和取代或未取代的 C_1-C_6 烷氧基 $C(NR'')$;和 R^5 是H和 R^6 选自取代或未取代的 C_1-C_6 烷基、取代或未取代的 C_5-C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-C_1-C_6$ 烷基- C_6-C_{10} 芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1-C_6$ 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基 $C(O)-$ 、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基 $S(O)_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1-C_6 烷基 $NR'C(O)-$ 和取代或未取代的 C_1-C_6 烷氧基 $C(NR'')$ 。在所述方法的另一方面,所述化合物具有式Ia,其中: R^1 是H; R^2 是取代或未取代的 C_1-C_6 烷基; R^3 和 R^4 是甲基; R^5 是取代或未取代的 C_1-C_6 烷基;和 R^6 是取代或未取代的 C_1-C_6 烷基。

[0032] 在另一方面,配体选自氨基酸、柠檬酸、硫代二丙酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、抗坏血酸、咖啡因、葡萄糖、谷胱甘肽、乳糖、乳酸、苹果酸、麦芽糖、琥珀酸、尿酸、柠檬酸、L-酪氨酸甲酯、胱氨酸二甲酯和糖精。在以上的一个方面,式Ia化合物是 $ATSMH_2$ 和金属化配体是葡萄糖酸铜。在上面的一个变化中,NCD是通过式Ia化合物和金属葡萄糖酸盐之间的反应制备的固态葡萄糖酸NCD,其中金属选自Fe、Cu和Zn。在另一个变化中,金属是铜。在一个变化中,NCD从本文公开的式Ia化合物和配体制备。在上面化合物的一个变化中,金属是Zn或Cu。

[0033] 在以上方法的另一方面,神经变性疾病选自阿尔茨海默氏病(AD)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、门克斯病、多发性硬化症、神经病变、运动神经元病、帕金森氏病、亨廷顿氏病和朊病毒疾病。在一个变化中,本申请公开一种在有需要的患者中治疗创伤性脑损伤、慢性创伤性脑病、创伤性脊髓损伤、额颞叶痴呆、老年痴呆、轻度认知障碍和神经元蜡样色素脂褐质沉积症的方法,该方法包括给予患者治疗有效量的上述NCD或药用组合物。在另一个变化中,提供一种治疗或减轻与患者神经变性疾病有关的运动功能障碍和非-运动症状的严重性的方法,该方法包括给予患者治疗有效量的上述化合物或组合物。

[0034] 在第七个实施方案中,提供一种诊断铜(II)络合物或其它二价金属的配位性质的体内方法,其包括:

- a) 给予患者一种式I化合物与配体的非-共价衍生物(NCD);和
- b) 检测络合物在患者中的性质,其中NCD是:



其中：

M是选自Cu-60、Cu-61、Cu-62和Cu-64的铜同位素；

R^1 和 R^2 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR'C(O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-NH(R^7)$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-COOH$ 、 $-COR^7$ 、 $-COOR^7$ 、 $-CONHR^7$ 、 $-CSNHR^7$ 、 $-S(O)R^7$ 、 $-S(O)_2R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-SO_2N(R^7)_2$ 和 $-(CH_2)_mR^8$ ，其各自可任选地被取代；或

R^1 和 R^2 当与它们连接的氮原子结合在一起时，形成任选取代的杂环烷基或杂芳基；

R^3 和 R^4 各自独立地为H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_1 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_1 - C_6 杂烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 环烷基、取代或未取代的 C_3 - C_{10} 杂环烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR'C(O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR'')-，或 R^3 和 R^4 与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环；

R^5 和 R^6 各自独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_2 - C_6 烯基、取代或未取代的 C_2 - C_6 炔基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 杂芳基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基C(O)-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基S(O)₁₋₂-、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基NR'C(O)-和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基C(NR'')-、羟基、羟基烷基、烷氧基、 $-NH(R^7)$ 、 $-N(R^7)_2$ 、 $-COOH$ 、 $-COR^7$ 、 $-COOR^7$ 、 $-CONHR^7$ 、 $-CSNHR^7$ 、 $-S(O)R^7$ 、 $-S(O)_2R^7$ 、 $-C(O)N(R^7)_2$ 、 $-SO_2N(R^7)_2$ 和 $-(CH_2)_mR^8$ ，其各自可任选地被取代；或

R^5 和 R^6 当与它们连接的氮原子结合在一起时，形成任选取代的杂环烷基或杂芳基；

各 R^7 独立地选自H、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、杂环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基和酰基，其各自可被任选地取代；

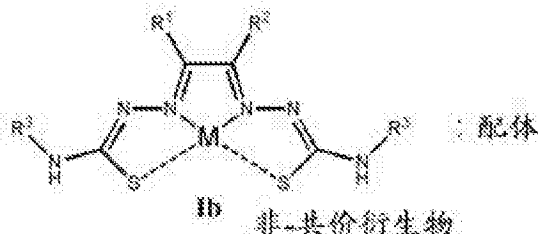
各 R^8 独立地选自环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基，其各自可任选地被取代；

R' 和 R'' 各自独立地选自H和 C_1 - C_6 烷基；和

m是选自1、2、3、4、5和6的整数；

配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分，或与式I化合物配合以形成非-共价衍生物的有机化合物；和其药学上可接受的盐。

[0035] 在进一步的变化中,本申请公开式I或Ib化合物与配体的非-共价衍生物(NCD)在制备用于治疗或预防病症的药物中的用途,其中金属递送可预防、减轻或缓解所述病症。这种类型的病症的实例包括选自与如上所述的胃肠道疾病或病症相同的病症的病症。在一个变化中,提供一种治疗,减轻或缓解胃肠道疾病或功能障碍的方法,其包括给予包含式Ib化合物和配体的NCD:

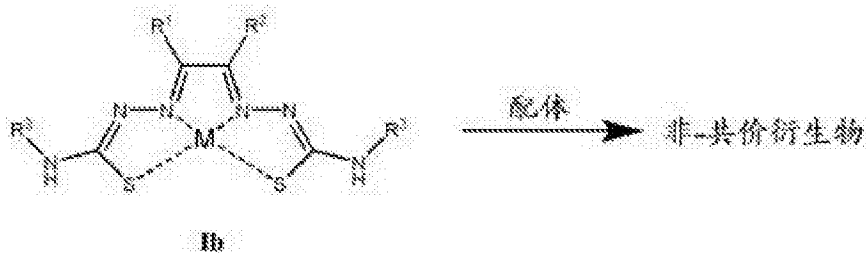


其中:M是Zn或Cu;

配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分,或化合物;

R^1 和 R^2 各自独立地为H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $C(O)-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $S(O)_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $NR'C(O)-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $C(NR'')-$,或 R^1 和 R^2 与它们连接的碳原子一起形成5或6-元碳环;

各 R^3 独立地选自H、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基、取代或未取代的 C_5 - C_{10} 芳基、取代或未取代的 $-C_1$ - C_6 烷基- C_6 - C_{10} 芳基、取代或未取代的杂环基、 $-C_1$ - C_6 烷基-杂环基、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $C(O)-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $S(O)_{1-2}-$ 、取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 $NR'C(O)-$ 和取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 $C(NR'')$;和配体是配体、共添加剂、共形成剂、配位部分,或与式Ib化合物配合以形成NCD的化合物。在上面的一个变化中,胃肠道疾病或功能障碍与神经疾病相关或涉及神经疾病。在上面的另一个变化中,胃肠道疾病或功能障碍与PD相关。以上引用的NCD可从式Ib化合物和配体制备。

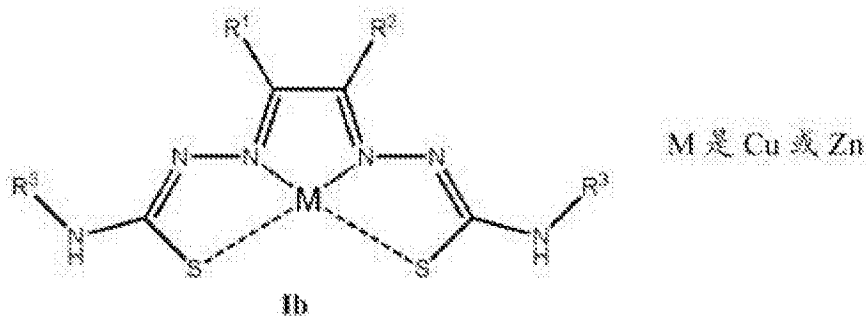


[0036] 在一个变化中,配体选自氨基酸、抗坏血酸、咖啡因、柠檬酸、葡萄糖、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、谷胱甘肽、乳糖、乳酸、苹果酸、麦芽糖、糖精、琥珀酸和尿酸。在另一个变化中,配体选自葡萄糖酸、柠檬酸、L-酪氨酸甲酯、胱氨酸二甲酯和糖精。

[0037] 在以上的另一个变化中, R^1 和 R^2 各自独立地为H、 C_1 - C_3 烷基或与它们连接的碳原子一起形成 C_6 环己基;和各 R^3 独立地为 C_1 - C_3 烷基、 $-C_6H_5$ 、 $p-Cl-C_6H_4$ 、 $p-MeO-C_6H_4$ 、 $-C_1$ - C_2 烷基- C_6H_5 、 $-C_1$ - C_2 烷基- $p-Cl-C_6H_4$ 、 $-C_1$ - C_2 烷基- $p-MeO-C_6H_4$ 和 $-C_1$ - C_2 烷基-吗啉。在以上的一个变化中, R^1 和 R^2 各自独立地选自H、甲基或乙基。在另一个变化中,各 R^3 独立地为甲基、乙基、 $-C_6H_5$ 、 $-CH_2-C_6H_5$ 、 $p-MeO-C_6H_4-$ 和 $-CH_2CH_2-N-$ 吗啉。

[0038] 在一个实施方案中,提供一种通过事先配位为如本文公开的非-共价衍生物(NCD)来改进铜络合物的溶解性的方法。

[0039] 在一个实施方案中,本申请提供一种式Ib化合物:



式Ib化合物的NCD组合物,不管化学计量关系,可用如本文公开的配体或配位配体,如氨基酸、抗坏血酸、咖啡因、柠檬酸、葡萄糖、葡萄糖酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、谷胱甘肽、乳糖、乳酸、苹果酸、麦芽糖、糖精、琥珀酸和尿酸制备。在另一个实施方案中,本申请公开了NCD、制备NCD的各种方法和通过本文提供的方法制备的NCD。

[0040] 附图简述

图1是用来制备图2的苹果酸NCD的CuATSM的样品(结构I, $M = \text{Cu}$; R^1 和 $R^6 = \text{H}$; R^2 、 R^3 、 R^4 和 $R^5 = \text{Me}$)的热解重量分析的代表性描述。

[0041] 图2是CuATSM与苹果酸(1:1)的非-共价衍生物的热解重量分析的代表性描述。

[0042] 图3是CuATSM:糖精(1:2)的DSC与CuATSM的DSC和糖精的DSC比较的代表性描述。

[0043] 图4是CuGTSM:糖精(1:2)的DSC与糖精的DSC和CuGTSM的DSC比较的代表性描述。

[0044] 图5是经球磨法制备的CuATSM:葡萄糖酸(1:2)的X-射线粉末衍射(XRPD)谱,与葡萄糖酸铜(II)和ATSMH₂起始原料的XRPD谱,和与CuATSM的XRPD谱比较的代表性描述。光谱彼此垂直偏移10000个计数。

[0045] 图6是ASTMH₂与葡萄糖酸铜(II)经90-分钟球磨的CuATSM:葡萄糖酸(1:2)产物的DSC的代表性描述。

[0046] 图7是ASTMH₂与葡萄糖酸铜(II)经90-分钟球磨的CuATSM:葡萄糖酸(1:2)产物的热解重量分析(TGA)的代表性描述。

[0047] 图8是CuATSM的非-共价衍生物在各种缓冲液中的溶解度(从缓冲液与固体化合物经20-小时温育后的溶液谱测定)的代表性描述。

[0048] 图9是治疗的、MPTP-损伤的小鼠的平均线牵拉次数的代表性描述。

[0049] 图10是治疗的、MPTP-损伤的小鼠黑质中阳性中性红细胞计数的代表性描述。

[0050] 图11是在治疗的、MPTP-损伤的小鼠中平均Cu-63脑浓度的代表性描述。

[0051] 图12是在治疗的、MPTP-损伤的小鼠中的平均Cu-63血浆浓度的代表性描述。

[0052] 图13是媒介和用Cu-ATSM治疗之间的大便频率比较的某些结果的代表性描述。

[0053] 申请详述

本申请公开了能够递送金属至生物部位、组织或细胞的金属络合物的NCD的用途,其中金属在患者中被耗尽。由金属介导的许多重要的生物学过程,如金属介导的酶,发生在细胞中,而不是在细胞外基质。在一个实施方案中,金属以细胞可渗透的金属络合物的NCD的形式递送,以确保金属对细胞,而不是在细胞外环境中发挥作用。此外,本申请的稳定的NCD递送金属至细胞,以便在给予患者时,金属不在细胞外环境中释放。使用金属络合物的NCD而不是游离或“裸”金属离子的进一步的优点是,递送金属可以是寻靶的,这减少了将观察到

的不想要的副作用(例如铜毒性)的机会。许多金属络合物的NCD满足这些标准。

[0054] 金属络合物作为其非-NCD络合物的特性通常保留在溶解的金属络合物的NCD上,以致非-NCD金属络合物的固有特性,包括但不限于细胞吸收、生物利用度、穿过血脑屏障的能力、氧化还原电位或治疗效果得到维持。在一个方面,金属络合物的NCD可作为固体或分散于水中的固体给予,不需要另外的配制。

[0055] 治疗、缓解和/或预防方法:

本申请的金属络合物的NCD作为金属递送剂,特别是递送金属至细胞的试剂,已被证明是有效的。金属络合物的NCD可用于治疗或预防许多病症,其中金属递送可预防、减轻或缓解所述病症。有许多这种类型的病症。这种类型的病症的实例是与氧化应激有关的或由氧化应激引起的病症。已知许多保护性生物抗氧化机制涉及金属催化的酶,因此金属递送可以起到刺激或重新启动生物抗氧化机制的活性的作用,导致整体的抗氧化作用被实现。在一个实施方案中,与氧化应激有关的或由氧化应激引起的病症选自心血管病症、癌症、白内障、神经障碍如阿尔茨海默氏病、朊病毒疾病 -包括克-雅氏病(CJD),和心脏病、淀粉样蛋白发生肌萎缩性侧索硬化(ALS)、朊病毒传染性海绵状脑病(TSE)、白内障、线粒体疾病、门克斯病、帕金森氏病和亨廷顿氏病。

[0056] 在另一个实施方案中,所述疾病是选自肌萎缩性侧索硬化(ALS)、线粒体/代谢性疾病和弗里德赖希氏共济失调的神经肌肉疾病。在一个实施方案中,所述病症是神经病症或神经变性疾病。

[0057] 此外,金属络合物的NCD也可用来增强其它治疗的效果,例如增强脑衍生的神经生长因子的神经保护作用。金属络合物的NCD也可用来治疗贫血、中性粒细胞减少、铜缺乏性脊髓病、铜缺乏综合征和高锌血症(Hyperzincaemia)。此外,治疗方法也涉及诱导中枢神经系统的氧化损伤的病症,包括急性和慢性神经障碍如脑缺血、中风(缺血性和出血性)、蛛网膜下出血/脑血管痉挛、脑肿瘤、AD、CJD及其与“疯牛”病有关的新变体、HD、PD、弗里德利希共济失调、白内障、路易体形成性痴呆、多系统萎缩、Hallerboden-Spatz病、弥漫性路易体病、肌萎缩性侧索硬化症、运动神经元病、多发性硬化症、致死性家族性失眠症、Gertsman Straussler Sheinker疾病和伴有荷兰型淀粉样变性的遗传性脑出血。

[0058] 所述治疗方法也涉及治疗神经变性性淀粉样变性。神经变性性淀粉样变性可以是其中因淀粉样蛋白沉积导致神经损伤的任何病症。淀粉样蛋白可从多种蛋白或多肽前体,包括但不限于A β 、突触核蛋白、亨廷顿或朊病毒蛋白形成。在一个实施方案中,所述病症选自散发或家族性AD、ALS、运动神经元病、白内障、PD、克-雅氏病及其与“疯牛”病相关的新变体、HD、路易体形成性痴呆、多系统萎缩、Hallerboden-Spatz病,和弥漫性路易体病。

[0059] 在另一个实施方案中,神经变性性淀粉样变性是A β -相关病症,如AD或与唐氏综合征相关的痴呆或家族性AD的常染色体显性遗传形式的几种形式之一(在St George-Hyslop中的评述, 2000)。最优选A β -相关病症是AD。在另一个实施方案中,在治疗前,患者可患有中度或严重的认知功能损伤,如通过AD评定量表(AD Assessment Scale) (ADAS)-认知试验(cog test),例如25或更大的ADAS-认知分值(ADAS-cog value)评价的。除了延缓或阻止患者的认知下降外,本发明的金属络合物的NCD和方法也可适用于治疗或预防神经变性病症,或可适用于缓解神经变性病症的症状。如果给予已被鉴定为具有增加的神经变性病症易感性的风险的患者,或给予表现出认知下降,如轻度认知损害或最小进行性认知损害的

临床前表现的患者,这些金属络合物的NCD及其使用方法除了放慢或减少认知下降的速率的作用外,还能够预防或延迟临床症状的发生。

[0060] 使用本申请的金属络合物的NCD通过金属递送能够治疗的另一种病症是癌症。术语“癌症”描述通过累积多个基因突变联系的不同疾病的任何排列,这导致由不受控制的细胞增殖关联的致癌基因的激活和/或肿瘤抑制基因的失活。这些突变的原因和来源在不同的人体器官的癌症之间是不同的。

[0061] 在一个实施方案中,本申请涉及脑癌,其包括脑肿瘤。脑癌或肿瘤可以是神经胶质瘤或非-神经胶质瘤脑瘤。如本文所用的,术语“癌症”和“肿瘤”在本文可互换使用。“癌症”可包括以下状态的任何一种:神经胶质瘤、腺瘤、母细胞瘤、癌、肉瘤并包括髓母细胞瘤、室管膜瘤、星形细胞瘤、光学神经胶质瘤、脑干神经胶质瘤、少突神经胶质瘤、神经节神经胶质瘤、颅咽管瘤或松果体区肿瘤的任何一种。提及“神经胶质瘤”包括GMB、星形细胞瘤和间变性星形细胞瘤或相关脑癌。

[0062] 本申请的金属络合物的NCD也可用来治疗 τ 蛋白相关疾病。 τ 蛋白是重要的蛋白,因为它是在中枢神经系统中表达的蛋白并通过稳定细胞内微管网络在神经元体系结构中起着至关重要的作用。因此, τ 蛋白通过截短、高度磷酸化,或者通过干扰6个天然存在的 τ 异构体之间的平衡对生理作用的任何损害对患者都是有害的并导致形成神经原纤维缠结(NFT)、营养不良的神经突和神经纤维网线。这些结构的主要蛋白亚基是微管相关蛋白 τ 。在AD患者的尸检中发现的NFT量与临床症状包括智力下降相关。因此 τ 蛋白在AD病理学中起着关键作用。

[0063] 相信减少 τ 蛋白磷酸化水平的本申请的金属络合物的NCD的活性是它们递送金属至细胞的能力并因而它们具有抗氧化活性的结果。所述络合物用作抗氧化剂可意味着它们提供所需的避免OS的保护作用,因为OS可导致 τ 蛋白的高-磷酸化和细胞功能障碍。结果,这些络合物递送生物学上重要的金属至细胞的能力允许它们作为抗氧化剂(特别是其中氧化应激由金属缺乏引起时)发挥功能,这进而意味着金属络合物可具有预防(或治疗) τ -蛋白病的能力。有许多被认为是 τ 蛋白疾病或更通俗地说为 τ 蛋白病的疾病或病症。这种类型的疾病包括理查德森氏综合征(Richardson's syndrome)、进行性核上性麻痹、嗜银颗粒病、皮质基底节变性、皮克病、与帕金森综合征相关的额颞叶痴呆(与染色体17 9FTDP-17关联)、脑炎后帕金森综合征(PEP)、拳击员痴呆、唐氏综合征、阿尔茨海默氏病、家族性英国型痴呆、家族性丹麦型痴呆、帕金森氏病、关岛帕金森氏病复症(PDC)、强直性肌营养不良、Hallevorden-Spatz疾病和尼曼-皮克C型疾病。

[0064] 金属络合物的NCD也可用于治疗AB相关疾病。已知许多AB疾病包括选自帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、多发性硬化症、神经病变、亨廷顿氏病、朊病毒疾病、运动神经元病、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、门克斯病和淀粉样蛋白变性病的疾病。

[0065] 由于还已表明金属络合物的NCD能够递送金属至细胞,它们具有影响基质金属-蛋白酶(MMP)的能力。基质金属蛋白酶(MMP)是一个锌-和钙-依赖性分泌或膜锚定的内肽酶家族,其发挥许多重要的生物功能。MMP参与许多生理过程,但是也参加负责多种疾病的病理生理机制。MMP的病理表现和活化与癌症、动脉粥样硬化、中风、关节炎、牙周病、多发性硬化症和肝纤维化有关。

[0066] 除了延缓或阻止患者的认知下降外,本发明的金属络合物的NCD和方法也可适用

于治疗、预防或缓解胃肠道(GI)疾病或障碍,如便秘。如果给予已被鉴定为具有增加的神经变性病症和GI疾病或障碍易感性的风险的患者,或给予表现出认知下降和相关的GI疾病或障碍的临床前表现的患者,这些金属络合物及其使用方法除了放慢或减少认知下降的速率的作用,以及治疗、预防或缓解GI疾病或障碍外,还能够预防或延迟临床症状的发生。虽然本文提出了某些建议的作用机制,但本发明人并不打算受本发明的任何建议或提议的作用机制的束缚。

[0067] 在一方面,NCD可经口或非-经口方法给予哺乳动物,而无需用不为人用可接受的赋形剂、增溶剂等配制。

[0068] 金属络合物的NCD的给予:

将式I或Ib的金属络合物的NCD给予人可通过本领域熟知的可接受的任何给药方式进行。例如它们可经肠道给予如经口或直肠,或经胃肠外给予如皮下、肌肉、静脉内和皮内途径。注射可以是大量推注或经由恒定或间歇的输液。金属络合物的NCD通常包括在药学上可接受的载体或稀释剂中并以足以递送给患者治疗有效剂量的量存在。

[0069] 金属络合物的NCD可以使得络合物为生物可利用的任何形式或方式给予。制备制剂领域的技术人员可容易地选择正确的给药形式和方式,这取决于所选择的络合物的具体特征,待治疗的病症,待治疗病症的阶段和其它相关情况。见Remingtons Pharmaceutical Sciences,第19版,Mack Publishing Co. (1995)。在一个方面,金属络合物的NCD可单独或以与药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂组合的药用组合物的形式给予。

[0070] 用于胃肠外注射的金属络合物的NCD的药用组合物包含药学上可接受的无菌水溶液或非水溶液、分散液、悬浮液或乳液以及在临用前重新构成为无菌注射溶液或分散液的无菌粉末。合适的水和非水载体、稀释剂、溶剂或媒介的实例包括水、乙醇、多元醇(如甘油、丙二醇、聚乙二醇等),及其合适的混合物,植物油(如橄榄油),和可注射有机酯如油酸乙酯。包含金属络合物的NCD的这些组合物也可含有辅助剂如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。

[0071] 经口给予的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、粉末,和颗粒。在这样的固体剂型中,使活性络合物与至少一种惰性的药学上可接受的赋形剂或载体混合,所述赋形剂或载体有例如柠檬酸钠或磷酸二钙和/或a) 填充剂或增量剂如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇,和硅酸,b) 粘合剂,例如,羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶,c) 保湿剂如甘油,d) 崩解剂如琼脂-琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、褐藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠,e) 溶液阻滞剂如石蜡,f) 吸收促进剂,如季铵化合物,g) 湿润剂,例如,十六醇、单硬脂酸甘油酯,h) 吸收剂如高岭土和膨润土,和i) 润滑剂如滑石粉、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠,及其混合物。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,剂型还可包含缓冲剂。

[0072] 在另一方面,用放射性同位素,如铜同位素(包括Cu-60、Cu-61、Cu-62或Cu-64)标记的金属络合物的NCD,可被用作缺氧成像和血流成像的放射药物。本申请的放射标记的金属络合物的NCD可用正电子成像断层扫描(PET)研究,因为所述络合物在缺氧细胞中有较高的保留。放射标记的金属络合物的NCD,可用作肺癌、子宫颈癌、神经胶质瘤,和其它癌症的临床研究的试剂((Zeglis, Houghton, Evans, Viola-Villegas, & Lewis, 2014) (Lopci等, 2014) (Anderson & Ferdani, 2009;Dearling & Packard, 2014;Dunphy &

Lewis, 2009;Grassi等, 2014;Jacobson & Chen, 2013;Lewis等, 2008;Mees, Dierckx, Vangestel, & Van de Wiele, 2009;Wadas, Wong, Weisman, & Anderson, 2010;Zhu & Shim, 2011)。

[0073] 某些双(缩氨基硫脲)螯合剂(XTSC)的非排他性和有代表性的例子在下表中示出。

[0074] 表:双(缩氨基硫脲)螯合剂“XTSC”的非排他性例子。

螯合剂	$R^2 = R^6$	$R^1 = R^5$	R^3	R^4
ATS	H	H	CH ₃	CH ₃
ATSM	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃
ATSE	H	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃
GTS	H	H	H	H
GTSM	H	CH ₃	H	H
PTS	H	H	CH ₃	H
PTSM	H	CH ₃	CH ₃	H
PTSM ₂	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H
PTSE	H	C ₂ H ₅	CH ₃	H
PTSP	H	C ₂ H ₅	CH ₃	H
DTS	H	H	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
DTSM	H	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
CTS	H	H	C ₂ H ₅	CH ₃
CTSM	H	CH ₃	C ₂ H ₅	CH ₃
ETS	H	H	H	C ₂ H ₅
C [*] TSM (也称为 ChexTSM)	H	CH ₃	-C ₄ H ₉ -	

[0075] 定义:

除非本文另外具体注明,所用术语的定义是有机合成和药物科学领域所用的标准定义。示例性的实施方案、方面和变化以图形和附图举例说明,且有意认为本文公开的实施方案、方面和变化,和图形和附图是示例性的且不是限制的。

[0076] 如本文所用的,术语“未取代的”意指没有取代基或取代基仅仅是氢。

[0077] 如本申请通篇使用的术语“任选取代的”表示基团可以或可不被一个或多个取代基基团进一步取代或稠合。取代基基团可以是一个或多个独立地选自以下的基团:卤素、=O、=S、-CN、-NO₂、-CF₃、-OCF₃、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、芳基烷基、羟基、羟基烷基、烷氧基、烷氧基烷基、烷氧基芳基、苯氧基、苄氧基和芳基烷基。

[0078] “烷基”作为基团或基团的部分指直链或支链脂族烃基,如C₁-C₁₄烷基(或C₁₋₁₄烷基)、C₁-C₁₀烷基或C₁-C₆烷基,除非另外注明。直链和支链C₁-C₆烷基取代基的实例包括甲基、乙基、正-丙基、2-丙基、正-丁基、仲-丁基、叔-丁基、己基等。

[0079] “酰基”意指烷基-CO-或HC(O)-基团,其中烷基是如本文所述。酰基的实例包括乙酰基和苯甲酰基。烷基优选地为C₁-C₆烷基。

[0080] “烯基”作为基团或基团的部分表示脂族烃基,含有至少一个碳-碳双键,且其可以在正链上具有2-14个碳原子、2-12个碳原子或2-6个碳原子的直链或支链。所述基团在正链上可含有多个双键且在各自在方向上独立地为E或Z。示例性的烯基包括,但不限于,乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基、庚烯基、辛烯基和壬烯基。

[0081] “烷氧基”指-O-烷基,其中烷基如本文所定义。优选烷氧基是C₁-C₆烷氧基。实例包括,但不限于甲氧基和乙氧基。

[0082] “炔基”作为基团或基团的部分意指含有碳-碳三键的脂族烃基且其可以是优选在正链上具有2-14个碳原子,更优选2-12个碳原子,更优选2-6个碳原子的直链或支链。示例性的结构包括,但不限于,乙炔基和丙炔基。

[0083] “氨基酸”意指具有连接于相同的碳的氨基和羧基两种官能的标准氨基酸化合物,并包括天然和非天然氨基酸,包括丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸;以及如本文所公开的。

[0084] “芳基”作为基团或基团的部分表示(i)任选取代的单环,或稠合的多环、芳族碳环(具有环原子都为碳的环结构)且每个环可具有5-12个原子。芳基的实例包括苯基、萘基等。

[0085] “环烷基”意指具有从3至12个碳原子的饱和或部分不饱和环烷基。环烷基可包括5-6元环烷基、C₃-C₆环烷基、5-元环烷基或6元环烷基。术语“环烷基”包括单环和多环(如,双环和三环)环烷基结构,其中多环结构任选地包括稠合至饱和、部分不饱和或芳族环烷基或杂环的饱和或部分不饱和环烷基环。环烷基可任选独立地被一个或多个本文描述的取代基取代。环烷基的实例包括,但不限于,环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环己二烯基、环辛基、萘烷和金刚烷。

[0086] “杂烷基”指在链上可具有2-14个碳或2-10个原子,其中的一个或多个是选自S、O和N的杂原子的直链或支链烷基。示例性的杂烷基包括烷基醚、仲和叔烷基胺、烷基硫化物等。

[0087] “杂芳基”意指包括至少一个N、O、S或P的芳族环系统。单独或者基团的部分的“杂芳基”指含有具有一个或多个杂原子作为芳族环中的环原子,其余的环原子是碳原子的芳族环(如5或6元芳环)的基团。合适的杂原子包括氮、氧和硫。杂芳基的实例包括但不限于噁吩、苯并噁吩、苯并呋喃、苯并咪唑、苯并噁唑、苯并噻唑、苯并异噻唑基、吡啶基、二氢吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、s-三嗪基、噁唑基、咪唑基、噻唑基、异噻唑基、吡唑基、异噻唑基、呋喃基、噻吩基(thiofuranyl)、噻吩基(thienyl)和吡咯基。

[0088] “杂环”或“杂环基”或“杂环烷基”基团意指3-8个环原子的饱和或部分不饱和碳环基,其中至少一个环原子是独立地选自N、O和S的杂原子,而其余的环原子是C,其中一个或多个环原子可任选独立地被一个或多个本文描述的取代基取代。在一个实施方案中,杂环是4-6元杂环、5-6元杂环、5-元杂环或6-元杂环。杂环基的实例包括,但不限于,吡咯烷基、四氢噻吩基、吗啉代、1,3-二氮杂环庚烷、1,4-二氮杂环庚烷、1,4-氧氮杂环庚烷、1,4-氧硫杂环庚烷、氮丙啶基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、哌啶基、吗啉基、哌嗪基、二氢吡喃基、二氢呋喃基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、1-吡咯啉基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、二氢吡啶基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二氧杂环己烷基、1,3-二氧戊环基、吡唑啉基、吡唑烷基和咪唑烷基。

[0089] 术语“配体”指的是如本文定义的共添加剂、共形成剂、配位部分或有机化合物。有机化合物可具有少于500的分子量。

[0090] 术语“金属化配体”指配体的金属盐,如去质子化配体。非-排他性代表性实例可包

括如本文公开的金属葡萄糖酸盐如葡萄糖酸铜(II)或葡萄糖酸锌(II);金属乳酸盐如乳酸铜;柠檬酸铜、琥珀酸铜等。

[0091] 术语“神经变性疾病”指其中神经元完整性受到威胁的一种异常。当神经元细胞显示下降的生存性或当神经元不能再传播信号时,可威胁到神经元完整性。可用本申请的金属络合物的NCD治疗的神经病症包括如本文所述的病症。

[0092] 术语“神经病症”指其中神经系统的各种细胞类型变性和/或由于神经变性疾病或损伤或暴露已被损害的病症。特别是,本申请的金属络合物的NCD可被用来治疗造成的病症,其中对神经系统细胞的损害由于外科干预、感染、暴露于毒性剂、肿瘤、营养缺乏或代谢性障碍而发生。此外,金属络合物的NCD可用来治疗神经变性疾病的后遗症,如阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、多发性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、癫痫、药物滥用或药物成瘾(酒精、可卡因、海洛因、安非他明等)、脊柱疾病、神经视网膜的营养不良或退化(视网膜病)和外周神经病变,如糖尿病性神经病变;和/或由毒素引起的外周神经病变。

[0093] “非-共价衍生物”(“NCD”、“NCD络合物”、“金属络合物的NCD”,或“共晶”)意指从如本文公开的式I、Ib的金属络合物和配体(共添加剂、共形成剂、配位部分、化合物,或共晶形成剂)衍生的衍生物、络合物或共晶,其生成其中金属络合物和配体通过导致非-共价衍生物的稳定化的非共价分子间相互作用配位的化合物、络合物或衍生物。这样的相互作用通常与蛋白、药物-酶复合物、DNA和蛋白复合物等的稳定化相关。见例如, Meyer, Emmanuel A.等, *Angewandte Chemie*, 国际版(2003), 42(11), 1210-1250;1433-7851. English。如本文所述的,当与缺乏非-共价分子间相互作用的衍生物或混合物比较时,得自式I或Ib化合物与配体的组合的产物或结果是通过非共价分子间相互作用稳定的NCD、共晶或络合物。这样的NCD具有与不形成NCD的两个或更多个化合物的组合显著不同的物理特性(如溶解性、活性等)和电子特性。代表性NCD被公开于 Warner JC. In: Anastas P, Williamson T编辑. *绿色化学:良性化学合成的前沿(Green chemistry: frontiers in benign chemical synthesis and processes)*. London: Oxford University Press;1998. p. 336- 46。本申请的NCD一般可描述为,例如“X:Y”,其意指它是X与Y的NCD,如“I:配体”、“Ib:配体”等。

[0094] “非-非-共价衍生物”或“非-NCD”或“非-NCD络合物”或“非-NCD金属络合物”意指如本文所述的金属络合物,其未从金属络合物与如本文定义的配体的组合衍生或制备。

[0095] “任选取代的”意指取代基可以是未取代的或可被如本文定义的取代基进一步取代。

[0096] 如本文所用的术语“患者”指患有需要用生物活性剂治疗或预防的疾病或病症的任何动物。患者可以是哺乳动物,如人,或可以是例如用于动物模型试验的非-人灵长类动物或非-灵长类动物。虽然化合物适用于药物治疗人,它也可应用于兽医治疗。

[0097] 短语“药学上可接受的”意指化合物、物质或组合物在化学和/或毒理学上与制剂包含的其它成分,和/或与待治疗的患者相容。

[0098] 术语“治疗有效量”或“有效量”是足以达到有益或所需临床效果的量。有效量可以一或多次给药来给予。有效量通常足以缓和、改善、稳定、逆转、延缓或延迟疾病状态的进展。

[0099] 一般来说,术语“治疗”和“预防”意指影响患者、组织或细胞以获得所需药理学和/

或生理学作用并包括:(a) 防止所述病症在可易感染所述病症,但尚未诊断为患有该病症的患者中发生;(b) 抑制所述病症,即阻止其发展;或(c) 减轻或缓解所述病症的效果,即引起所述病症的作用的消退。

[0100] “取代的”基团,如在“取代的或未取代的烷基”中,例如意指烷基可以是未取代的,或用选自卤代(F⁻、Cl⁻、Br⁻或I⁻)、-CN、-NO₂、-OH、-SH、-OCH₃、C₁-C₆烷基(如,甲基、乙基、丙基等)或苯基的基团取代(其中原子或基团上的一个或多个氢被一个或多个基团替代)。

[0101] 实验

制备金属络合物的方法及其治疗各种神经变性疾病和病症的方法公开于PCT/AU2007/001792中(作为W02008/061306公开),其全文结合到本文中。代表性实例在此提供。

[0102] 金属络合物的制备:

各种实施方案的络合物可使用如下所述的反应途径和合成方案,采用本领域用于每个独立的步骤/反应的可利用的技术和使用可容易地获得的起始原料制备。非-示例性络合物的合成可通过对本领域技术人员而言是显而易见的修改来进行。合适的保护基团可在T.W. Greene的有机合成中的保护基团(Protective Groups in Organic Synthesis), John Wiley & Sons, 1981中发现。

[0103] 由金属螯合物“M(螯合物)_(n/x)”与配体组成的NCD(其中NCD具有式M(螯合物)_(n/x):配体(p:n))可通过用施加的压力,如经球磨法,用臼和杵研磨,或其它物理混合程序,物理混合由质子化螯合剂(螯合剂)H_x(x = 1,2,3,4,5,…)组成的螯合剂与化学计量的金属化配体(通常是式[Mⁿ⁺]_p[(配体-pH)^p]_n的去质子化配体的金属盐)制备,以形成金属螯合物M(螯合剂)_(n/x)和配体的NCD M(螯合剂)_(n/x):配体(p:n)。

[0104] [Mⁿ⁺]_p[(配体-pH)^p]_n + (n/x)(螯合剂)H_x → pM(螯合剂)_(n/x):配体(1:n/p)。

[0105] 在本申请的一个方面,NCD可如在本文的各种陈述中所公开的内容制备,而不管金属螯合物:配体或螯合剂:金属化配体的化学计量。因此,p:n的代表性比例可包括1:1、1:2、1:3、2:1和3:1。在一个方面,p:n的比例是1:1或1:2。

[0106] 例如,制备金属(II)双(N-烷基-胍硫代甲酰胺)络合物与配体的共晶的方法包括用施加的压力,如经球磨法,用臼和杵研磨,或其它物理混合程序的物理混合,使中性的、质子化螯合剂XTSCH₂与1当量的去质子化配体的二价金属盐混合,以形成金属(II)双(N-烷基-胍硫代甲酰胺)络合物M(II)XTSC和配体的共晶M(II)XTSC:配体(1:2):[M(II)]_p[(配体-pH)^p]₂ + p XTSCH₂ → pM(II)XTSC:配体(1:2/p)

还提供形成二价金属络合物与葡萄糖酸的NCD的方法:M(II)[葡萄糖酸盐]₂ + XTSCH₂ → MXTSC:葡萄糖酸(1:2)。

[0107] 还公开通过葡萄糖酸铜(II)与1当量的ATSMH₂的组合以形成CuATSM:葡萄糖酸(1:2)的方法,例如通过球磨法或用臼和杵研磨,形成CuATSM:葡萄糖酸(1:2)

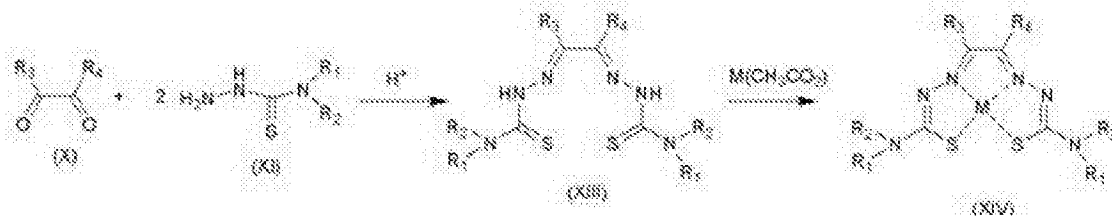
Cu(II)[葡萄糖酸盐]₂ + ATSMH₂ → CuATSM:葡萄糖酸(1:2)

还公开通过金属(II)葡萄糖酸盐与1当量的XTSMH₂的组合,形成CuGTSM:葡萄糖酸(1:2)、CuPTSM:葡萄糖酸(1:2)、CuDTSM:葡萄糖酸(1:2)和ZnATSM:葡萄糖酸(1:2)的方法:Cu(II)[葡萄糖酸盐]₂ + GTSMH₂ → CuGTSM:葡萄糖酸(1:2);Cu(II)[葡萄糖酸盐]₂ + PTSMH₂ → CuPTSM:葡萄糖酸(1:2);Cu(II)[葡萄糖酸盐]₂ + DTSMH₂ → CuDTSM:葡萄糖酸(1:2);Zn(II)[葡萄糖酸盐]₂ + ATSMH₂ → CuATSM:葡萄糖酸(1:2)。

[0108] 配体的金属(II)盐的反应可用来形成与配体的NCD,对此配体不容易地分离为纯净化合物。注意到葡萄糖酸不能以线性形式分离,而是葡萄糖酸环化为葡萄糖酸δ-内酯,在分离时作为纯净化合物,排除通过M(II)XTSC与开环的葡萄糖酸反应而形成NCD。

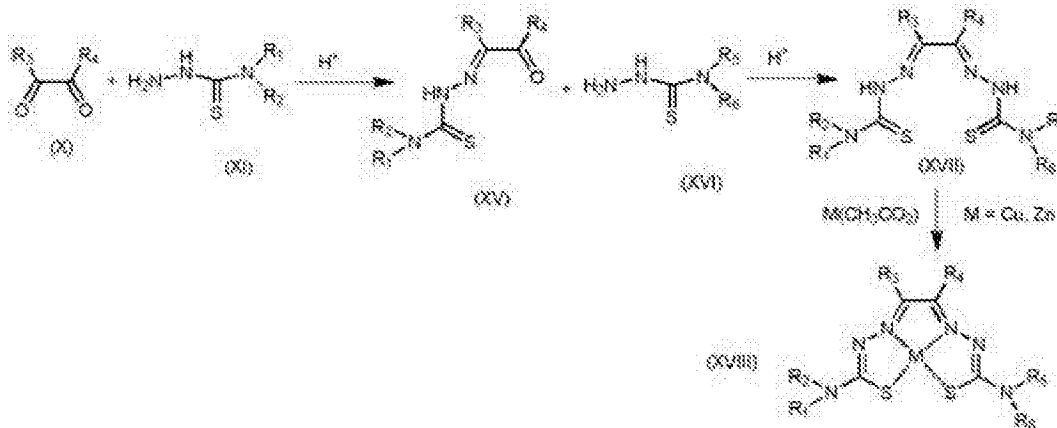
[0109] 某些络合物的制备在以下流程1中示出。

[0110] 流程1:对称的双(缩氨基硫脲)的形成:



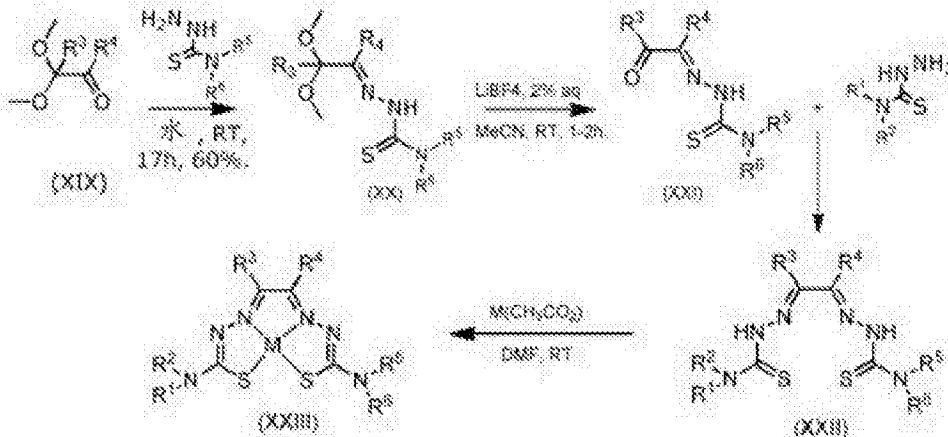
使二酮(X)与2当量合适的官能化硫代氨基脲(XI)在酸性条件下缩合,导致双(缩氨基硫脲) (XIII)的形成。然后可使双(缩氨基硫脲)与合适的金属盐如金属乙酸盐反应,产生所需的金属络合物(XIV)和乙酸。广泛种类的缩氨基硫脲可通过改变在醛部分或者在氨基脲上的取代基而产生。

[0111] 制备非-对称的(双缩氨基脲)的备选程序示于流程2中:



二酮(X)与1当量的硫代氨基脲(XI)在酸性条件下导致一硫代缩氨基脲衍生物(XV)的形成。与第二个硫代氨基脲部分(XVI)的缩合产生双(缩氨基硫脲) (XVII),其可与金属盐如金属乙酸盐反应,产生所需的不对称的络合物(XVIII)。

[0112] 流程3:不对称的双(缩氨基硫脲)的备选形成。



[0113] (XIX)与硫代氨基脲反应,得到单加合物缩醛(XX)。缩醛可使用四氟硼酸锂经氧化

裂解,得到醛(XXI)。醛(XXI)与不同的硫代氨基脲反应,得到所需不对称螯合物(XXII),其然后可使用标准条件转化为金属络合物(XXIII)。

实施例

[0114] 各种起始原料和其它试剂购自商业供应商,如Aldrich Chemical Company或Lancaster Synthesis Ltd. ATSMH₂、[Cu(ATSM)]、[Zn(ATSM)]、ATSPH₂、[Cu(ATSP)]、[Zn(ATSP)]。其它金属络合物通过报告的程序的变化来制备,见:1) P. J. Blower等, Dalton Trans., 2003, 4416-4425和其中的参考文献;2) J. L. J. Dearling等, J. Biol. Inorg. Chem., 2002, 7, 249和其中的参考文献;3) P. McQuade, K. E.等, Nucl. Med. Biol., 2005, 32, 147。

[0115] 反应是在空气中进行的,除非另有说明。400 MHz ¹H NMR光谱在JEOL AS 400分光计上获得。HPLC在Agilent 1100 HPLC上获得。LC-MS在装配有UV和MS检测器的Agilent 1260 LC-MS上获得。热解重量分析(TGA)使用TA Instruments型号TGA 5000-00228,用在氮气下保持的样品进行。差示扫描量热法(DSC)在TA Instruments Q2000-0984上,用在氮气下保持的样品,并使用单一加热温度斜度进行。在Nicolet 6700 FT-IR设备上,以吸光方式(对于在KBr小粒中制备的样品),或者以衰减的全反射(ATR)方式(对于纯净的固体样品)操作,获得FTIR光谱。

[0116] ATSMH₂ (游离螯合物,也称为螯合剂)的合成。(2E)-2,2'-(丁烷-2,3-二亚基)双-(N-甲基胍硫代甲酰胺), ATSMH₂,以类似于报道的方法制备。于室温下,经45分钟,向(Z)-N-甲基亚胍基氨基硫代甲酸(methylhydrazinecarbothioamide) 1 (0.08 mol)在10%乙醇HCl (200 mL)中的充分搅拌的温热溶液中滴加入双乙酰2 (0.04 mol)在乙醇(25 mL)中的溶液。加入完成后,观察到淡黄色分散液,将其回流12小时。使反应混合物达到室温,生成的淡黄色沉淀经真空过滤,用水洗涤(3×50 mL)接着用冷乙醇(3×10 mL)洗涤,然后真空干燥,得到所需ATSMH₂产品3, (2E)-2,2'-(丁烷-2,3-二亚基)双-(N-甲基胍硫代甲酰胺),为灰白色固体,84%得率。产品识别经¹H-NMR证实:(400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.56 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 4.41 (s, 2H), 2.86 (d, 3H), 2.20 (s, 3H); LRMS: 261.10 (M+H)⁺。

[0117] 类似地制备以下XTSMH₂游离螯合物:GTSMH₂、PTSMH₂、DTSMH₂和C^yTSMH₂。

[0118] 式I、Ia和Ib化合物以类似于如在Inorg. Chem. 2007, 46, 465 (Holland等, 2007)和J. Biol. Inorg. Chem. 2002, 7, 249 (Dearling, 2002)中报道的已知方法制备。

[0119] 铜(II)双乙酰-二(N4-甲基)缩氨基硫脲,“CuATSM”的合成:经10分钟,向ATSMH₂ (0.01 mol, 2.60 g)在无水乙醇(5 mL)中的淡黄色溶液中分批加入[Cu(OAc)₂]·H₂O (0.013 mol, 2.60 g),此时反应混合物开始转变成一种褐色悬浮液。于60℃将反应物搅拌过夜。使生成的深红色混合物冷却至环境温度,通过从分散液真空过滤收集固体产品。彩虹色的沉淀物用乙醇(10 mL)、去离子水(10 mL)和乙醚(20 mL)依次洗涤,然后真空干燥,提供为红棕色细粉的CuATSM,45%收率。LRMS: 322.01 (M+H)⁺。

[0120] 单晶x-射线衍射证实产品的身份为无共晶溶剂分子的CuASTM。结构与发表的文献一致(J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 5270-5271) (Andrew R. Cowley, Dilworth, Donnelly, Labisbal, & Sousa, 2002)。CuATSM也经X-射线粉末衍射(XRPD)进行特征鉴

定。

[0121] CuATSM以DSC在228°C或约228°C温度下通过单一放热进行表征。放热的温度取决于加热的速率并且还显示出一些批与批之间的变化。CuATSM的热解重量分析(TGA)显示在或大约240–245°C开始分解,在600°C保留大约34%固体。TGA分解温度取决于加热的速率并且还显示出一些批与批之间的变化。CuATSM的从650至4000 cm^{-1} 的FTIR显示出在3321.9、3016.9、2978.8、2925.9、2892.2、2844.5、1650.6、1614.6、1523.8、1494.2、1467.7、1364.7、1364.7、1325.5、1264.2、1243.1、1222.4、1188.5、1156.9、1116.9、1076.3、1054.6、1033.3、945.6、888.1、869.1、840.7、728.7、690.5和659.1 cm^{-1} 的最大吸光度。

[0122] CuATSM的层析(HPLC和LC/MS)使用Poroshell 120 EC-C18 4.6 X 50 mm 2.7 μm 柱进行。流动相是5%–100%经3 min的梯度,然后于100%乙腈维持1.5 min。溶剂是在乙腈中的0.05% TFA和在水中的0.05% TFA。流速是0.75 ml/min,检测用UV检测器以254 nm、230 nm和低分辨率质谱检测器进行。只有一个单峰在洗脱时间约3.3 min的HPLC (UV检测)中观察到。在3.3 min洗脱时间的质谱显示出在m/z 322.0的一个基峰,对应于式 $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{CuN}_6\text{S}_2^+$, CuATSMH⁺的最丰富的可能同位素离子的(M+1)⁺。

[0123] CuGTSM的合成:CuGTSM通过GTSMH₂和[Cu(OAc)₂]·H₂O的反应类似地制备。CuGTSM以DSC在或大约209°C的温度的单一尖锐的放热峰为特征。

[0124] CuDTSM的合成:CuDTSM通过DTSMH₂和[Cu(OAc)₂]·H₂O的反应类似地制备。CuPTSM的合成:CuPTSM通过PTSMH₂和[Cu(OAc)₂]·H₂O的反应类似地制备。Cu^CTSM的合成:Cu^CTSM通过^CTSMH₂和[Cu(OAc)₂]·H₂O的反应类似地制备。

[0125] 合成[Zn(ATSE)]

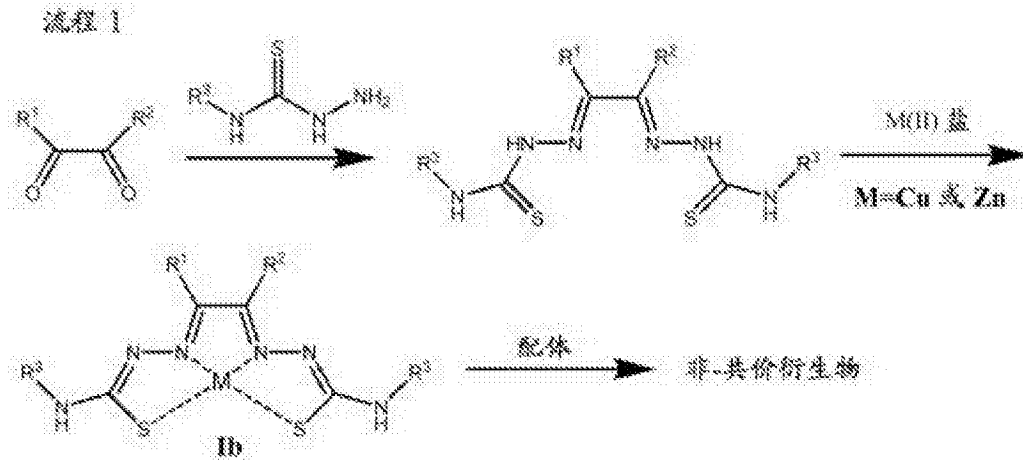
将ATSEH₂ (0.134 g)和Zn(CH₃CO₂)₂·2H₂O (0.102 g)加入到乙醇(5 mL)。在氮气下,将该混合物在回流下加热2小时,然后冷却至室温。生成的黄色固体通过过滤收集并用乙醇和乙醚洗涤,得到[Zn(ATSE)],为黄色粉末(0.122 g, 76%)。¹H NMR显示出该谱与所需产品一致。

[0126] 合成ChexTSE

将1,2-环己烷二酮(0.439 g)加入到乙醇(25 mL)中,接着加入N4-乙基-3-硫代氨基脲(0.933 g)和几滴H₂SO₄(浓)。在氮气氛下,将该混合物回流加热3小时,然后使之冷却至室温。通过过滤收集黄色沉淀并用乙醇和乙醚洗涤,获得为黄色固体的ChexTSE (0.945 g, 76%)。¹H NMR显示出该谱与所述产品一致。

[0127] NCD络合物的制备、分析表征和生物利用度的评价、血脑屏障吸收、PD的小鼠模型中的效果和动物试验。

[0128] 在本公开内容的另一方面,式I和Ib化合物当用配体处理时形成不同性质的材料,以形成非-共价衍生物,如下面Ib代表的。



[0129] 有机铜非共价衍生物的合成生成：

式Ib化合物(当 R^1 、 R^2 和 R^3 是-H和/或甲基时)根据Inorg. Chem. 2007, 46, 465和J. Biol. Inorg.Chem. 2002, 7, 249制备。

[0130] 表1. 合成的化合物。

化合物	合成(实施例号)
CuATSM	金属螯合物
CuATSM:柠檬酸(1:1)	实施例4
CuATSM:糖精(1:2)	实施例3
CuATSM:葡萄糖酸(1:2)	实施例7
CuATSM: L-酪氨酸甲酯(1:1)	实施例4
CuATSM:丙氨酸乙酯(1:1)	实施例2
CuATSM: L-胱氨酸二甲酯(1:2)	实施例6
CuATSM:硫代二丙酸(1:1)	实施例2
CuATSM:苹果酸(1:1)	实施例1
CuGTSM	金属螯合物
CuGTSM:糖精(1:2)	实施例5
CuGTSM:葡萄糖酸(1:2)	实施例9, 实施例10
CuGTSM:丙氨酸乙酯(1:1)	实施例2
CuGTSM: N-四乙基对苯二甲酰胺(1:1)	实施例2
CuGTSM:柠檬酸(1:1)	实施例2
CuPTSM	金属螯合物
CuPTSM:糖精(1:2)	实施例4
CuPTSM:葡萄糖酸(1:2)	实施例11
CuDTSM	金属螯合物
CuDTSM:糖精(1:2)	实施例4
CuDTSM:葡萄糖酸(1:2)	实施例12
CuCTSM	金属螯合物
ZnATSE	金属螯合物
ZnATSM:葡萄糖酸(1:2)	实施例8

[0131] 实施例1

通过自热溶剂中的化学计量溶液的共结晶,制备作为具有配位部分的NCD的M-XTSM的非共价衍生物的小规模方法。向30 mL小瓶中加入50 mg CuATSM (0.155mmol)、0.155 mmol的选择的一种配体,和15 mL的丙酮或者乙腈。用手震摇该混合物,同时在74°C水浴中加热小瓶直至所有的固体溶解。快速过滤该溶液,同时热通过一个45- μ 注射器滤器进入一个干净的玻璃小瓶。然后松散地盖上小瓶,并使之冷却至室温。然后使溶剂于室温缓慢地蒸发几周的时间直至观察到晶体。经由吸液管除去剩余的液体分离晶体(非-共价衍生物),并于室温下真空干燥生成的晶体。以这种方式制备的化合物包括CuATSM:苹果酸(1:1)。

[0132] 图1描述其结构具有式I (R^1 和 $R^6 = H$; R^2 、 R^3 、 R^4 和 $R^5 = Me$)的特殊批次的CuATSM的热解重量分析(TGA),其用来制备CuATSM:苹果酸(1:1),且NCD的TGA示于图2。

[0133] 配体苹果酸的热解重量分析(TGA)显示在较低温度,在或大约201°C开始出现重量损失,在250°C的温度之前有超过99%的损失。

[0134] 图2描述分析CuATSM的(1:1)非共价衍生物(NCD),CuATSM:苹果酸(1:1)的热解重

量分析法(TGA)。

[0135] 非-共价衍生物的TGA重量损失作为温度的函数(图2)是显著的,其中较低温度的重量损失(即第一次分解温度,大约236°C,图2)是在CuATSM的第一次分解温度(大约259°C,图1),或者苹果酸的第一次分解温度(201°C)之间的中间温度和明显不同于CuATSM的第一次分解温度(大约259°C,图1),或者苹果酸的第一次分解温度(201°C)。

[0136] 实施例2

通过从室温的丙酮中共结晶制备作为具有配位部分的NCD的M-XTSM的非共价衍生物的方法:

式I的M-XTSM的非-共价衍生物的制备通过混合MXTSM和配体的室温溶液并允许静置进行。在一个配备有搅拌棒的500 mL圆底烧瓶中,在搅拌下使CuATSM (0.166 g, 0.516 mmol)溶解于200 mL室温的丙酮中,生成0.00258M CuATSM溶液中。分别地,制备选择的配位化合物的丙酮溶液,然后加入到在结晶皿中的20 mL 0.00258M CuATSM溶液(0.0516 mmol CuATSM)中。轻轻地混合溶液,然后用箔松散地覆盖结晶皿并允许经几周过程的缓慢蒸发直至观察到结晶。然后通过经由吸液管除去任何剩余的液体分离晶体,并在真空下干燥生成的晶体,来分离结晶。CuATSM和糖精的NCD通过溶解22.7 mg (0.124 mmol)糖精于2 mL丙酮中,并将生成的溶液加入到20 mL 0.00258M CuATSM (0.0516 mmol)的丙酮溶液中制备。在缓慢的溶剂蒸发和干燥分离的晶体后,获得棕色粉末(26.2 mg)。

[0137] 类似地制备以下化合物,包括:CuATSM:丙氨酸乙酯(1:1)、CuATSM:硫代二丙酸(1:1)、CuGTSM:丙氨酸乙酯(1:1)、CuGTSM:N-四乙基对苯二甲酰胺(1:1),和CuGTSM:柠檬酸(1:1)。

[0138] 实施例3

M(II)XTSM的非-共价衍生物的大规模的、热-溶剂制备。向式I的CuXTSM (1.0 mmol) (M = Cu; R¹和R⁶ = H; R²和R⁵ = Me)在丙酮(3 L)中的悬浮液中,加入适当的1:1或1:2 (取决于配体)的化学计量比例的配体。将生成的分散液剧烈混合,同时置于70°C水浴中加热直至基本上所有的固体溶解于丙酮中。通过一个45- μ 注射器滤器将该热溶液快速过滤到圆底烧瓶中。将溶剂体积减少至大约一半。将剩余的溶液转移至结晶皿中,松散地加盖并使之冷却,缓慢蒸发直至观察到结晶。过滤晶体,用丙酮洗涤几次并真空干燥,得到NCD。CuATSM:糖精(1:2)根据该程序,通过0.322 g (1.0 mmol)的CuATSM与0.366 g (2.0 mmol)糖精的反应来制备。

[0139] 如此形成的CuATSM:糖精(1:2)、CuATSM和糖精的DSC示于图3中。如此形成的CuATSM:糖精(1:2)的DSC显示出在或大约149°C的尖锐的吸热峰,其不同于CuATSM在或大约228°C的强放热峰,并且也不同于糖精的吸热峰(其由一系列在大约120-160°C的区域的更小得多的吸热峰组成)。

[0140] 实施例4

以类似于实施例3的方法制备CuATSM:柠檬酸(1:1)、CuATSM:L-酪氨酸甲酯(1:1)、CuDTSM:糖精(1:2),和CuPTSM:糖精(1:2)。

[0141] CuDTSM:糖精(1:2)和CuPTSM:糖精(1:2)通过LC/MS进行特征鉴定。每一个在色谱图上显示两个峰,与它们在载体溶剂中的溶解而分解为构成分子,糖精和金属络合物一致。

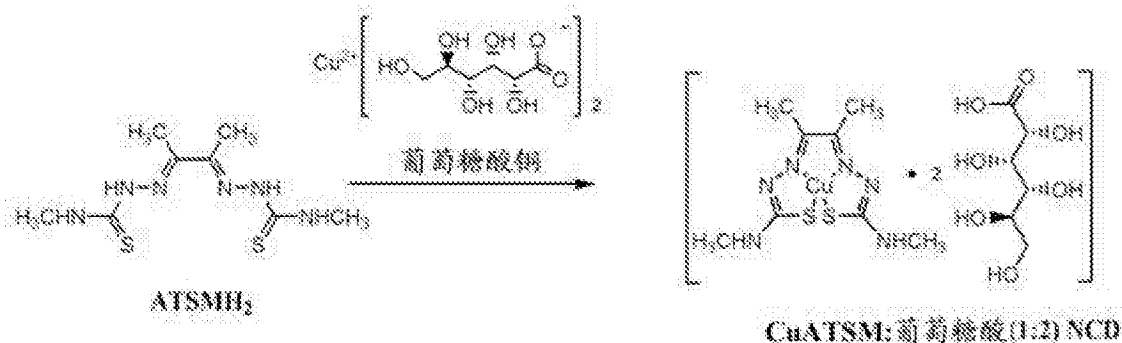
[0142] 实施例5

类似于实施例3的方法,从CuGTSM和糖精制备CuGTSM:糖精(1:2)。如此形成的CuGTSM:糖精(1:2)、CuGTSM和糖精的DSC示于图4中。如此形成的CuGTSM:糖精(1:2)的DSC显示出在或大约178°C的宽的放热峰,伴有在或大约165°C的肩峰,其不同于CuGTSM在或大约209°C的强放热峰。CuGTSM:糖精(1:2)的DSC也不同于糖精的DSC,其具有在大约120-160°C区域的一系列更小得多的吸热峰。

[0143] 实施例6

通过CuATSM和配体在水中的溶解来形成NCD的方法。

[0144] 将CuATSM (20 mg, 0.0621 mmol)加入试管中,然后将10 ml水加入到试管内的样品中。短暂震荡该混合物,然后将2当量(84.8 mg, 0.1243 mmol)的配体L-胱氨酸二甲酯作为二盐酸盐加入试管中,并震荡该混合物直至配体完全溶解。然后使该混合物静置。然后过滤混合物,并收集滤液,通过冻干法至干燥,得到22.4 mg红棕色固体。



[0145] 实施例7:

通过无溶剂球磨XTSMH₂和去质子化配体的M(II)盐的混合物,制备M-XTSM的非共价衍生物的方法:

在一干燥的臼中放置预先称重的灰白色ATSMH₂ (259 mg, 1 mmol)固体和蓝色无水D-葡萄糖酸铜(II) (453 mg, 1 mmol)。固体用铲缓慢混合,直至获得两个晶体成分的均匀混合物。将生成的混合粉末转移至带有滑盖(slip-on cap)的SPEX 5-mL聚苯乙烯研磨小瓶中,接着小心加入一个SPEX 3/8-i英寸直径的丙烯酸甲酯研磨球,然后盖紧小瓶。在一个分开的小瓶中装填ATSMH₂,而另一个分开的小瓶装填葡萄糖酸铜(II)。所有3个小瓶被放置在一个小型高能球磨机,SPEX 5100 Mixer/Mill中,以3000 rpm操作。启动研磨并将3个小瓶的每一个的内容物研磨30 min、60 min和90 min后,经HPLC和FTIR、DSC和TGA监测。

[0146] 在90 min球磨过程中没有明显的分开-研磨的葡萄糖酸铜(II)或ATSMH₂的分解的证据,如在分开-研磨的葡萄糖酸铜(II)和ATSMH₂采取的DSC、FTIR、HPLC和TGA的变化缺乏所确定的。在90 min研磨后,(1:1) ATSMH₂和葡萄糖酸铜(II)的混合物产生浅褐色产品。从小瓶移出CuATSM:葡萄糖酸(1:2)产品,真空干燥并贮存在紧密封盖的小瓶中。

[0147] 元素分析:对于C₂₀H₃₈CuN₆O₁₄S₂的计算值:C, 33.63;H, 5.36;Cu, 8.90;N, 11.77;O, 31.36;S, 8.98。实测值:C, 33.94;H, 5.09;Cu, 8.65;N, 11.12。

[0148] 产品CuATSM:葡萄糖酸(1:2)通过X-射线粉末衍射XRPD进行特征鉴定,并与葡萄糖酸铜(II)和ASTMH₂起始原料的XRPD,并且与图5中的CuATSM的XRPD比较。产品CuATSM:葡萄糖酸(1:2)在DSC,在或大约157°C具有尖锐的吸热峰(图6)。观察的吸热转变温度改变,这取决于加热的速率和批与批之间变化。观察的转变温度通常发生在150°C-160°C的范围内。吸

热在CuATSM的DSC (图3)中未观察到。

[0149] CuATSM:葡萄糖酸(1:2)产品的热解重量分析(TGA)在图7中给出。有一个初始大约5%的重量损失,其可归因于样品的水解吸附作用。在大约190℃开始观察到快速的重量损失,以及在600℃保留大约26%的固体。通过比较,CuATSM的TGA指示CuATSM在大约240-245℃的较高温度的快速分解,并且在600℃保留大约34%的固体。产品CuATSM:葡萄糖酸(1:2)从650至4000 cm^{-1} 的FTIR显示出在3356.9、3232.3、2935.4、2898.3、1650.5、1613.4、1544.3、1487.0、1434.3、1415.3、1390.9、1350.7、1218.4、1170.1、1129.4、1073.1、1054.2、1026.5、955.9、887.1、868.6、817.1、797.4、727.1和688.2 cm^{-1} 的最大吸光度。

[0150] 产品CuATSM:葡萄糖酸(1:2)使用如用于CuATSM的相同的方法,使用Poroshell 120 EC-C18 4.6 X 50 mm 2.7 μm 柱进行层析(HPLC和LC/MS)。流动相是经3 min的5%-100%的梯度,然后于100%乙腈中保持1.5 min。溶剂是在乙腈中的0.05% TFA和在水中的0.05% TFA。流速是0.75 ml/min和检测用UV检测器在254 nm、230 nm和低分辨率质谱检测器进行。仅仅在洗脱时间约3.3 min观察到单峰。CuATSM:葡萄糖酸(1:2)的低分辨率LC/MS类似于CuATSM的低分辨率LC/MS。如对CuATSM的LC/MS所发现的,基峰在m/z 322.0处发现,其对应于式 $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{CuN}_6\text{S}_2$,即 CuATSMH^+ 的最丰富的可能同位素离子的 $(\text{M}+1)^+$ 。

[0151] 实施例8

制备Zn-ATSM:葡萄糖酸(1:2)

类似于在实施例7对合成CuATSM:葡萄糖酸(1:2)所述的方法,通过将0.5 mmol ATSMH₂ (130 mg)与无水葡萄糖酸锌(II) (227 mg)球磨90分钟,合成Zn-ATSM:葡萄糖酸(1:2)。ZnATSM:葡萄糖酸(1:2)的产品识别经¹H NMR证实:(400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.18 (宽s, 2H), 4.53 (极宽s, 1H), 4.31 (极宽s, 1H), 4.08 (m, 2H) 3.91 (d, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.33 (宽/m, 14H), 2.82 (d, 6H), 2.19 (s, 6H);其余的2H(假定是葡萄糖酸的酸性羧酸质子)未定位。在ZnATSM:葡萄糖酸(1:2)的¹H NMR的 δ 7.18 (宽s, 1H), 2.82 (d, 3H), 2.19 (s, 3H)的峰,与对从乙酸锌(II)和ATSMH₂制备的ZnATSM真实样品观察到的那些峰是没有什么区别的。

[0152] 实施例9

类似于实施例7的方法,通过90-分钟球磨GTSMH₂与葡萄糖酸铜(II)制备CuGTSM:葡萄糖酸(1:2)。产品在DSC,在或大约125℃呈现尖锐的吸热峰。

[0153] 实施例10

类似于实施例7和实施例9的方法,通过120-分钟球磨GTSMH₂与葡萄糖酸铜(II)制备CuGTSM:葡萄糖酸(1:2)。产品在DSC,在或大约134℃具有尖锐的吸热峰,并在DSC,在或大约152℃具有第二个较尖锐的吸热峰。

[0154] 实施例11

类似于实施例7的方法,通过120-分钟球磨PTSMH₂与葡萄糖酸铜(II)制备CuPTSM:葡萄糖酸(1:2)。产品在DSC,在或大约165℃具有尖锐的吸热峰。

[0155] 实施例12

类似于实施例7的方法,通过90-分钟球磨DTSMH₂与葡萄糖酸铜(II)制备CuDTSM:葡萄糖酸(1:2)。产品在DSC,在或大约147℃具有尖锐的吸热峰,并在DSC,在或大约172℃具有第二个较尖锐的吸热峰。

[0156] 实施例13

CuATSM的动力学溶解度测定;比较实施例和方法

溶解度分析在25 mL玻璃小瓶中进行。玻璃小瓶(4-mL,带瓶盖,VWR)被用来制备储备液。所有的实验使用由 μ DISS指令软件(版本5.0.1.0)操作的 μ DISS Profiler™进行。具有内置搅拌装置的MB-8的微型水浴被用来在溶解度测定期间提供搅拌。实验期间的温度维持在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$,并以一式两份进行。

[0157] 在pH 1.2的HCl/KCl基缓冲液和在pH 6.8的受激肠液(无胰液素)根据USP方案(Vol 35/NF30)制备。溶液的pH值用pH计(装配有9157BN Triode™ pH-电极的Thermo Scientific Orion®, Benchtop Model 420)确认并且所有的值均发现是在离期望值 ± 0.05 pH单位内。浓度测量在溶出介质中直接执行,处理的结果使用 μ DISS Profiler™ (Pion)仪器实时绘图。轮廓仪(Profiler)使用一个原位光纤浸渍探针UV装置,而探针中心定位于盛有所研究的化合物和10-20 mL介质的小瓶内。当需要光谱光二阶导数法时,因背景浊度所致的干扰被最小化(Avdeef, A;Tsinman, O. “小型化旋转圆盘内在溶速率测量:与传统木质仪器比较的缓冲容量的影响(Miniaturized Rotating Disk Intrinsic Dissolution Rate Measurement: Effects of Buffer Capacity in Comparisons to Traditional Wood's Apparatus)”, Pharm. Res., 2008, DOI:10.1007/s11095-008-96-79-z)。

[0158] 2和20 mm路径长度头被选择用于检测CuATSM分别在pH 1.2和pH 6.8的浓度。使干燥的CuATSM粉末溶解在DMSO中,生成已知浓度的储备液,然后该溶液被用来经连续添加生成标准曲线。标准曲线以波长范围340-366 nm (对于pH 1.2)和445-465 nm (对于pH 6.8),从第二阶导数曲线下的面积来确定,以避免过饱和的UV信号。选择的波长区域中的标准曲线的线性度对于选择的浓度范围是 $r^2 \geq 0.998$ 。

[0159] CuATSM的溶解性在pH 6.8的缓冲液中测定。将CuATSM的样品作为粉末引入pH 6.8的缓冲液中,因此,与标准不同,最终溶液不包含背景中的溶剂。20 mm (at pH 6.8)路径长度提示被选择用于检测CuATSM在溶液中的浓度。所有的实验在室温 $25 \pm 3^\circ\text{C}$ 进行。将CuATSM加入到分析瓶中,以限制CuATSM在溶解度分析的浓度上限至大约0.15 mg/mL。纯CuATSM的浓度在大约8小时后达到其在大约0.45 $\mu\text{g/mL}$ 的最大值并在12-小时监测期间维持于该浓度。

[0160] 实施例14

CuATSM:柠檬酸(1:1)的动力学溶解度测定

CuATSM:柠檬酸(1:1)根据实施例4的方法制备。

[0161] 将非-共价衍生物CuATSM:柠檬酸(1:1)的样品作为粉末引入pH 6.8的缓冲液中,因此,与标准不同,最终溶液不包含背景中的溶剂。20 mm路径长度提示被选择用于检测化合物在pH 6.8的缓冲液溶液中的浓度。所有的实验在室温, $25 \pm 3^\circ\text{C}$ 进行,并按照一式两份执行。

[0162] 生成的对于CuATSM的标准被用来计算CuATSM在用于 CuATSM:柠檬酸(1:1)的溶解度分析中的浓度,因为光谱数据显示出CuATSM和CuATSM:柠檬酸(1:1)的UV-分布的形状之间没有显著差异。将CuATSM:柠檬酸(1:1)加入到分析瓶中,以限制CuATSM:柠檬酸(1:1)在溶解度分析的浓度上限至大约0.15 mg/mL。在加入CuATSM:柠檬酸(1:1)至pH 6.8的缓冲液

后,在0.3小时内达到CuATSM的大约0.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的最大浓度。在大约0.3 h时开始,CuATSM在溶液中的浓度降低,以致到12-小时监测期结束时,CuATSM的浓度已降低至大约0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$,随着时间的推移,CuATSM的浓度仍继续缓慢降低。溶解的CuATSM的水平少于在分析中可获得的最大0.15 mg/mL 的1%。

[0163] 实施例15

CuATSM:糖精(1:2)的动力学溶解度测定。CuATSM:糖精(1:2)根据实施例3的方法制备。CuATSM:糖精(1:2)的动力学溶解度分布以类似于在实施例13和实施例14中给出的方法在pH 6.8的缓冲液中测定。生成CuATSM:糖精(1:2)和糖精的标准曲线并与CuATSM的标准曲线比较。从糖精标准曲线,在292-310 nm波长区,使用零截取法(Zero Intercept Method)确定缓冲液溶液的糖精浓度,以尽量减少来自CuATSM的光谱干扰。从在445-465 nm区的CuATSM(纯)标准曲线确定CuATSM浓度,其中糖精吸光度不干扰。该分析的浓度上限是大约0.12 mg/mL 的CuATSM:糖精(1:2),导致对于CuATSM和对于糖精在溶液中的浓度上限各自为大约60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。所有的实验在约 $25 \pm 3^\circ\text{C}$ 进行,并按照一式两份执行。

[0164] 在加入CuATSM:糖精(1:2)至pH 6.8的缓冲液后,在0.8小时内达到CuATSM的大约2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的最大浓度。在大约0.8 h时开始,CuATSM在溶液中的浓度降低,以致到12小时的监测期结束时,CuATSM的浓度已降低至大约1 $\mu\text{g}/\text{mL}$,且CuATSM的浓度仍随着时间的推移而降低。

[0165] 溶解的CuATSM的量维持CuATSM在CuATSM:糖精(1:2)样品中的总量的少于1%。

[0166] 在相同的时间,监测糖精的浓度。在加入CuATSM:糖精(1:2)至pH 6.8的缓冲液后,在0.3小时内达到大约60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 最大的糖精浓度,经12-小时监测期仍基本上未改变。这种糖精的浓度相当于(在误差限度内),引入的样品中可获得的糖精的完全溶解。

[0167] 实施例16

CuATSM:葡萄糖酸(1:2)在pH 6.8时的动力学溶解度。CuATSM:葡萄糖酸(1:2)根据实施例7的方法制备。CuATSM:葡萄糖酸(1:2)的动力学溶解度分布以类似于在实施例13和实施例14中给出的方法,在pH 6.8的缓冲液中测定。已发现CuATSM:葡萄糖酸(1:2)在0.4 mg/mL 时不完全溶于DMSO中。因此,CuATSM:葡萄糖酸(1:2)的标准曲线从储备液在DMSO中的大约0.4 mg/mL 标示浓度的系列稀释生成,并与CuATSM的标准曲线比较。溶解度分析的浓度上限是大约0.2 mg/mL CuATSM:葡萄糖酸(1:2),导致大约0.09 mg/mL CuATSM和大约0.11 mg/mL 葡萄糖酸的浓度上限。

[0168] 在加入CuATSM:葡萄糖酸(1:2)至pH 6.8缓冲液,CuATSM吸收在开始0.3小时内由450 nm转移至415 nm。在加入CuATSM:葡萄糖酸(1:2)至缓冲液后大约0.5小时后,在区域280 nm-360 nm的光谱特征在波长和强度上也有位移。这些光谱变化表明,在CuATSM:葡萄糖酸(1:2)溶解于pH 6.8的缓冲液中后,CuATSM的化学识别—反应或分解—的变化。因此,只有在0-0.3小时时间间隔内获得的光谱数据被用来估算从CuATSM:葡萄糖酸(1:2)的溶解产生的CuATSM的浓度。生成的用于CuATSM的标准曲线被用来使用在300-310 nm波长范围的二阶导数曲线下的面积,测定从CuATSM:葡萄糖酸(1:2)溶解于pH 6.8的缓冲液产生的CuATSM浓度。在加入CuATSM:葡萄糖酸(1:2)至pH 6.8的缓冲液后,在0.11小时内达到大约3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的最大CuATSM浓度。

[0169] 在0.3小时时间点溶解的CuATSM在溶液的量少于在CuATSM:葡萄糖酸(1:2)样品中

包含的总的可利用的CuATSM的1%。

[0170] 实施例17

CuATSM:葡萄糖酸(1:2)在pH 1.2的KCl/HCl缓冲液中的动力学溶解度。将一部分根据实施例7的方法制备的相同的样品CuATSM:葡萄糖酸(1:2),且其被用来测定在pH 6.8的溶解性,用来测定在pH 1.2的动力学溶解度。分析的浓度上限是大约0.7 mg/mL,导致CuATSM的浓度上限是大约0.3 mg/mL和葡萄糖酸的浓度上限是大约0.4 mg/mL。对于在pH 1.2收集的CuATSM标准品被用来使用在340-366 nm波长范围的二阶导数曲线下的面积,测定(1:2) CuATSM:葡萄糖酸在pH 1.2的缓冲液中的浓度。

[0171] 在加入CuATSM:葡萄糖酸(1:2)至pH 1.2缓冲液后,在大约0.3小时(18-20分钟)达到大约195 $\mu\text{g/mL}$ 最大CuATSM的浓度。然后维持CuATSM在溶液中的浓度,在剩余的3-小时(180-分钟)监测期内未有变化。

[0172] 溶解的CuATSM的量随着浓度平行增加,在0.3小时内(18-20分钟)升高至CuATSM:葡萄糖酸(1:2)样品中CuATSM总量的33%,并保持该水平3-小时(180-min)监测期间的持续时间。

[0173] 实施例18

溶解度测定:CuATSM和非-共价衍生物CuATSM:柠檬酸(1:1)、CuATSM:L-酪氨酸甲酯(1:1)、CuATSM:胱氨酸二甲酯(1:2),和CuATSM:糖精(1:2)的溶解度使用经设计能够测定平衡溶解度的方法测量。

[0174] CuATSM:糖精(1:2)根据实施例3方法制备。CuATSM:柠檬酸(1:1)和CuATSM:L-酪氨酸甲酯(1:1)根据实施例4的方法制备。CuATSM:胱氨酸二甲酯(1:2)根据实施例6的方法制备。

[0175] 将CuATSM和选择的CuATSM的非-共价衍生物的样品粉末称重(2.5 mg)到干净玻璃小瓶中。将对应于选定的pH值1.2、4.0、6.8、7.4和9.0之一的缓冲液(2.5mL)加入到每个小瓶中。分析的溶解度上限是1.0 mg/mL,如通过CuATSM和缓冲液的量所测定的。对小瓶加盖,石蜡膜封和使用Vortex Genie-2以最高速度涡流10秒钟。然后在搅拌下将样品于室温下孵育约20小时。

[0176] 然后过滤(0.2 μm 孔微过滤器)含有固体悬浮液的溶液,并通过与从CuATSM的参考标准获得的UV光谱(230-500 nm)比较,对上清液中存在的CuATSM量进行分析。方法描述于美国专利6,569,686中。

[0177] 通过该方法这样测量的式I的非共价衍生物的水溶液溶解度被发现是在22 $\mu\text{g/mL}$ -大于1,000 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,如在图8中所示。通过该方法测定的溶解度,其中溶液被允许静置延长的时间段,以实现NCD和溶液相之间平衡的期望,将被期望对应于平衡溶解度。已发现通过该方法测定的溶解度在温育之前和之后被UV光谱形状的变化混淆了。这样的变化通常表明可能的杂质或分解,配体的UV-可见吸收光谱与CuATSM的光谱的重叠,或其它混杂机制如CuATSM的再沉淀,伴有或没有沉淀中的配体。本文实施例18中提出的溶解度数据反映了观察到的、如与无配体的CuATSM的溶解度比较的NCDs溶解度的增加,并反映了如与研究的较低pH's比较的,在pH 1.2的溶解度增加,这两个结论都得到了实施例13-实施例17的进一步的支持,但在图8中提出的溶解度有可能不是定量准确的。通过测量动力学溶解度,如在实施例13-实施例17中提出的对CuATSM和选择的NCD组的测量,更好地表征溶解度。

[0178] 实施例19

CuATSM (作为CuATSM、CuATSM:葡萄糖酸(1:2)、CuATSM:糖精(1:2)和CuATSM:柠檬酸(1:1)给予),CuDTSM (作为CuDTSM:糖精(1:2)给予)和CuPTSM (作为CuPTSM:糖精(1:2)给予)在小鼠中的药代动力学测定。

[0179] CuATSM:葡萄糖酸(1:2)根据实施例7的方法制备。CuATSM:糖精(1:2)根据实施例3的方法制备。CuATSM:柠檬酸(1:1)、CuDTSM:糖精(1:2),和CuPTSM:糖精(1:2)根据实施例4的方法制备。CuATSM (作为CuATSM、CuATSM:葡萄糖酸(1:2) CuATSM:糖精(1:2),和CuATSM:柠檬酸(1:1)给予),CuDTSM (作为CuDTSM:糖精(1:2)给予),和CuPTSM (作为CuPTSM:糖精(1:2)给予)的药代动力学在口服给予30 mg/kg剂量的CuXTSM活性药物成分(API)后在小鼠中研究。

[0180] 使CuATSM悬浮于“标准悬浮液媒介”(SSV)中,所述媒介由0.9% (w/v) NaCl、0.5% (w/v)羟甲基纤维素钠、0.5% (v/v)苄醇,和在去离子水中的0.4% (v/v)吐温80组成。使所有的其它试验化合物悬浮于无菌水中。样品通过加入一种化合物至小瓶中的液体媒介(水或SSV)中,然后用内置的搅拌棒涡流该混合物3 min制备。如果粉末状样品没有完全湿润或没有完全悬浮,涡流样品另外一分钟。如果仍未完全湿润,将小瓶超声处理直至获得完全湿润的悬浮液。在给药之间,样品按中等速度搅拌,然后涡流另外20 s,然后立即从小瓶移出下一个剂量。所有的给药在加入化合物至水或SSV中的60 min内,从悬浮液的单一制剂中完成。

[0181] 小鼠被剥脱颗粒状食物过夜,在此时10%葡萄糖,作为Dextroput,在自来水中提供,此后试验项目通过在水或SSV中管饲口服给予。给药后,在15 min、30 min、60 min、2 h、4 h、8 h和24 h对小鼠采集血样,同时用异氟烷麻醉。在采样后将血样在冰上保存并于+4 °C,以1800 × g离心5 min以制备血浆。提取血浆样品并转移至预标记的Eppendorf试验管(50 μl准确地在一个小瓶中,其余的在第二个小瓶中)并于-20 °C冷冻。将样品在干冰上运送到分析场所。血液采样后,小鼠通过颈椎脱臼被处死,然后通过开颅收集脑组织。称重脑组织并置于试管中和放置于冰水上。将磷酸盐-缓冲盐水(PBS,pH 7.4),4 ml/每1 g脑组织,加入试管中并使用Ultra-Turrax T25匀化器/S25N-10G(设定2,9500 rpm,大约10 s)匀化脑。在匀化后立即于-20 °C冷冻匀浆。将样品在干冰上运送到分析场所。

[0182] 对于7个时间点的每一个,按一式三份研究给药的小鼠,对于每个研究的化合物总共给药21只小鼠。从4只未处理动物也获得血浆样品和脑匀浆。血浆样品在室温(RT)下融化,与2-倍体积的乙腈混合,震荡并以13 000 × g (Heraeus Pico 17离心分离机)离心10 min,此后将上清液转移至玻璃小瓶中。使脑匀浆样品与2-倍体积的乙腈:甲醇混合,震荡、超声处理20 min,并以13 000 × g (Heraeus Pico 17离心分离机)离心10 min,此后将上清液转移至玻璃小瓶中。将标准样品以0.5、1、2、5、10、20、50、100、200、500、1000和2000 ng/ml浓度的活性化合物(API)掺入血浆和空白小鼠脑匀浆中并以其它方式作为研究样品处理。制备在血浆或脑匀浆中的浓度10、100和1000 ng/ml的质量控制(QC)样品。

[0183] 使用LC/MS/MS,用在装配有带有前柱滤器的Waters Acquity HSS T3 (2.1 × 50 mm, 1.8 μm)柱的Waters Acquity UPLC + Thermo TSQ Endura三重四极杆MS获得的LC-MS数据分析在给药后暴露0-24h的血浆和脑二者。用0.5%甲酸/乙腈(99:1)逐步增加至(5:95)的梯度液洗脱。

[0184] 研究化合物在血浆和脑中的药代动力学参数使用标准的非-房室方法计算。消除相半衰期($t_{1/2}$)通过对数浓度-时间曲线的终端线性部分的最小二乘回归分析计算。在浓度-时间曲线(AUC)下的面积通过采用线性梯形规则到最后可测量的浓度计算,以确定AUC_{0-24h},然后也使用终端消除相外推到无穷大以确定AUC_{0-inf}。最大浓度(C_{max})和达到 C_{max} 的时间(T_{max})从浓度数据直接导出。平均停留时间(MRT)和消除速率常数(K_e)也从血浆样品的浓度对比时间数据来计算。PK研究的结果在以下各表中给出:

对于CuASTM和NCD见表2,和

对于CuDTSM和CuPTSM NCD见表3。

[0185] 表2. 小鼠的药代动力学(PK)参数,基于口服给予30 mg/kg作为CuATSM、CuATSM:葡萄糖酸(1:2)、CuATSM:糖精(1:2)或CuATSM:柠檬酸(1:1)的CuATSM后的平均血浆和脑浓度。

活性化合物(APD) (以 30 mg/kg 给予)	CuATSM	CuATSM	CuATSM	CuATSM
给予的化合物/媒介	CuATSM/ SSV	CuATSM:葡 萄糖酸(1:2)/ 水	CuATSM:糖 精(1:2)/水	CuATSM:柠 檬酸(1:1)/ 水
血浆				
AUC _{0-24h} (min*ng/mL)	9637	25163	20333	8292
AUC _{0-inf} (min*ng/mL)	9698	25696	20436	8366
C_{max} (ng/mL)	22.2	36.5	29.0	14.5
T_{max} (min)	120	240	120	60
$t_{1/2}$ (min)(时间点的数 目)	196 (4)	252 (3)	170 (2)	204 (3)
MRT (min)	315	357	375	315
K_e (1/min)	0.0035	0.0028	0.0040	0.0034
脑				
AUC _{0-24h} (min*ng/g)	10944	71554	30643	15435
AUC _{0-inf} (min*ng/g)	13843	73544	30979	15563
C_{max} (ng/g)	28.4	133	71.8	77.0
T_{max} (min)	60	240	15	60
$t_{1/2}$ (min)(时间点的数 目)	199 (3)	261 (3)	202 (2)	218 (4)
脑:血浆-比(AUC-基)	1.1	2.8	1.5	1.9
脑:血浆-比(C_{max} -基)	1.3	3.6	2.5	5.3

[0186] 在口服给予30 mg/kg不同形式的CuATSM后,作为CuATSM:葡萄糖酸(1:2) (AUC_{0-24h} 25 163 min*ng/ml)和CuATSM:糖精(1:2) (AUC_{0-24h} 20 333 min*ng/ml)给予时观察到最高的AUC-值,而作为CuATSM:柠檬酸(1:1)或作为CuATSM给予时导致少于这些AUC-值的50%。在给予CuATSM:葡萄糖酸(1:2)后的 C_{max} -值在240 min时间点是36.5 ng/ml,而在给予CuATSM:柠檬酸(1:1)、CuATSM和CuATSM:糖精(1:2)后的 C_{max} -值分别是14.5 ng/ml (在60 min)、22.2 ng/ml (在120 min),和29.0 ng/ml (在120 min)。

[0187] 表3. 小鼠的药代动力学(PK)参数,基于30 mg/kg口服给予作为CuDTSM:糖精(1:2)的CuDTSM或作为CuPTSM:糖精(1:2)的CuPTSM后的平均血浆和脑浓度。

活性化合物(30 mg/kg)	CuDTSM	CuPTSM
给予的化合物	CuDTSM:糖精(1:2)/水	CuPTSM:糖精(1:2)/水
血浆		
AUC _{0-24h} (min*ng/mL)	7474	60004
AUC _{0-inf} (min*ng/mL)	7632	68278
C _{max} (ng/mL)	27.5	91.5
T _{max} (min)	60	60
t _{1/2} (min) (时间点的数目)	372 (2)	439 (2)
MRT (min)	224	474
K _e (1/min)	0.0019	0.0016
脑		
AUC _{0-24h} (min*ng/g)	72364	62832
AUC _{0-inf} (min*ng/g)	73438	72025
C _{max} (ng/g)	206	189
T _{max} (min)	60	30
t _{1/2} (min) (时间点的数目)	239 (3)	487 (2)
脑:血浆-比(AUC-基)	9.7	1.0
脑:血浆-比(C _{max} -基)	7.5	2.1

[0188] 对CuDTSM (作为CuDTSM:糖精(1:2)给予后)观察到最高的AUC-基脑:血浆-比,即9.7。C_{max}脑:血浆-比也是高的,即7.5。对CuPTSM:糖精(1:2)观察到最低的AUC-基脑:血浆比例,即约1.0 (C_{max}-比2.1)。对于其它化合物的相应的AUC-基脑:血浆比例是在1.0-2.8范围内。

[0189] 实施例20

口服-给予的CuATSM、CuATSM:葡萄糖酸(1:2),和CuATSM:糖精(1:2)在PD的甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)-损伤的小鼠模型中的神经保护和症状恢复作用。CuATSM:葡萄糖酸(1:2)根据实施例7的方法制备。CuATSM:糖精(1:2)根据实施例3的方法制备。使CuATSM悬浮于“标准悬浮液媒介”(SSV)中,所述媒介由0.9% (w/v) NaCl、0.5% (w/v)羟甲基纤维素钠、0.5% (v/v)苯醇,和在去离子水中的0.4% (v/v)吐温80组成。使CuATSM:葡萄糖酸(1:2)和CuATSM:糖精(1:2)悬浮于无菌水中。样品通过加入一种化合物至小瓶中的液体媒介(水或SSV)中,然后用内置的搅拌棒涡流该混合物3 min来制备。

[0190] PD的MPTP小鼠模型由(Przedborski & Vila, 2003)描述。在0天经2-小时的时间间隔,用4个10 mg/kg剂量的MPTP经腹膜内注射(Giasson等, 2002)损伤小鼠,其产生大约50%的黑质神经元的减少。在第1天开始,小鼠用试验药物以30 mg/kg CuATSM活性药物成分(API)的当量剂量,或阴性SSV对照,经口服管饲21天处理。行为试验经由以下的丝线试验和组织收获。

[0191] 牵引丝试验:在试验给药前1 hr,小鼠被移到行为室-测试室。小鼠保存自由接近水和食物,并在整个1小时和试验期间采用来自无线电收发设备的背景“白噪声”。每只小鼠都是用一只手抓住尾巴将小鼠提起来的,并将抓住其尾巴的小鼠提到丝线以上,直至它用两个前爪抓住丝线。然后放低其尾巴直至小鼠用其两个前爪悬吊在丝线上。一旦小鼠在没

有试验管理员的帮助下,独立地悬吊时,即开始计时。小鼠用1个后爪抓住丝线,以致两个前爪和1个后爪抓住丝线所耗费的时间,被记录为“牵拉时间(pull-up time)”。对每只小鼠重复试验,一排3次,在每次悬吊于丝线上之间有5分钟试验之间的时间间隔。小鼠在试验之间被送回它们的共享笼子里。如果小鼠掉下,则计数为1次试验,并记录到掉下时为止的时间,并开始试验之间的时间间隔。如果小鼠没有完成该任务并且未在60秒钟内掉下,则将小鼠从丝线上取下并将试验时间记录为60秒钟。

[0192] 总共47只小鼠被给予MPTP。在这些中,然后用SSV阴性对照剂处理总共14只小鼠。总共14只小鼠用在SSV中的CuATSM治疗,其中1只小鼠因为爪子受伤从丝线牵拉研究中排除。总共9只小鼠用水中的CuATSM:糖精(1:2)治疗。总共9只小鼠用水中的CuATSM:葡萄糖酸(1:2)治疗。通常每笼有4-5只小鼠给予普通的处理。其中小鼠在试验期间掉下的试验不包括在平均数内。这些包括1只掉下(1只小鼠)的SSV处理的小鼠;CuATSM/SSV治疗的小鼠没有掉下;1组CuATSM:糖精(1:2)/水治疗的1只小鼠掉下,而两组CuATSM:葡萄糖酸(1:2)/水治疗的小鼠各有1只掉下。在所有的情况下,小鼠成功地完成了另外两次试验,以便计算各小鼠和随后对群体的平均时间。对于对照组和3组治疗群体的每一组的平均牵拉时间在表4和图9中给出。

[0193] CuATSM和CuATSM:糖精(1:2)治疗导致与SSV对照组比较的平均牵拉时间的显著(二者 $p < 0.01$ 或更低)降低。CuATSM:葡萄糖酸(1:2)治疗导致平均牵拉时间的降低,但各小鼠表现的大的变化导致均值的大的标准误差,如此 $p = 0.07$ 刚好未达到CuATSM:葡萄糖酸(1:2)和SSV对照组之间的 $p = 0.05$ 的显著性标准。

[0194] 在CuATSM、CuATSM:糖精(1:2)或CuATSM:葡萄糖酸(1:2)治疗之间的平均牵拉时间没有显著的差异(全部 $p \geq 0.30$)。

[0195] 表2. 治疗的MPTP-损伤的小鼠的平均线牵拉时间

治疗 (化合物/媒介)	牵拉时间 (秒)	标准差 (秒)	均值的标准误差 (秒)
SSV (n = 13)	8.45	4.10	1.10
CuATSM / SSV (n = 14)	4.22	1.79	0.50
CuATSM:糖精(1:2)/水(n = 9)	3.11	2.68	0.89
CuATSM:葡萄糖酸(1:2)/水(n = 9)	4.62	4.76	1.59

CuATSM和NCD的神经保护性作用通过细胞计数确定。

[0196] 丝线牵拉时间测试后,麻醉小鼠,然后获得用于血浆研究的血样,然后用过量的麻醉剂处死小鼠。然后用冷PBS立即灌注小鼠。将脑的右半球放置于在0.1 M磷酸盐缓冲液(于4°C和pH 7.4)中的5 ml冷冻的4% wt/vol多聚甲醛(Sigma-Aldrich)中过夜。然后取出脑并于4°C在PBS中的30% wt/vol蔗糖(民用级)中放置过夜,然后冷冻并在低温恒温器上切片。对于黑质致密部(SNpc),将脑冠状切开成1:3系列的30- μ m切片。

[0197] 得到的切片用中性红(Neutral Red) (Nissl stain;Sigma-Aldrich)染色。仅在免疫染色之前,将冷冻切片再次固定5 min,以确保脑切片正确地固定在玻片上。检查得自正常和损伤两种动物的SNpc核。在每一个采样的切片中,使用光学剖析规则(Gundersen等, 1988)进行SNpc神经元计数和染色的SNpc细胞核是计数单位(Finkelstein等, 2000)。

[0198] 在黑质中的神经元总数使用筛分仪采样(Finkelstein等, 2000;Stanic等,

2003;West & Gundersen, 1990)估算。计数通常在预定的隔距(x, 140 μm;y, 140 μm)中进行。整个SNpc在每个第三部分采样并对各脑具有随机偏移的系列进行分析。立体测量学在由7-9 SNpc切片组成的系列上,使用随机第一切片开始进行。黑质细胞计数从8块具有 $2.48 \times 10^8 \mu^3$ 的平均采样面积的切片生成。从随机起点,拍摄在所有图像中的相同位置的SNpc,用在第三个神经根拍摄的图像,制备由核所占据的区域的系统样品。外观VTA的细微变化可能是由于单一切片的细微差别和染色强度的变化。已知区域(45 μm × 35 μm)的无偏差计数框架使用DMLB显微镜(Leica),使用立体测量学软件包(Stereology Investigator 7;MBF Bioscience),叠加在组织切片的图像上。

[0199] 在以下对照组小鼠和3个治疗组的每一个小鼠黑质中观察到的平均中性红阳性染色细胞在表5中给出并显示于图10中。所有3个治疗组导致与SSV对照组比较的黑质神经元的显著(全部 $p < 0.01$ 或更少)的恢复。在CuATSM、CuATSM:糖精(1:2)或CuATSM:葡萄糖酸(1:2)治疗之间没有显著的差异(全部 $p > 0.25$)。

[0200] 表3. 治疗的、MPTP-损伤的小鼠黑质中的平均中性红阳性细胞。

治疗 (化合物/媒介)	牵拉时间 (秒)	标准差 (秒)	均值的标准误差 (秒)
SSV (n = 14)	3949	488	130
CuATSM / SSV (n = 14)	4988	474	131
CuATSM:糖精(1:2)/水(n = 9)	5231	515	182
CuATSM:葡萄糖酸(1:2)/水(n = 9)	5376	867	289

[0201] 在脑和血浆中的铜吸收用电感耦合等离子体质谱法(ICPMS)测定天然存在的铜同位素Cu-63来测量。脑组织得自脑的左半球。在MPTP-损伤的和治疗小鼠的脑组织和血浆中的平均Cu-63浓度结果在表6中给出,而结果在图11和图12中呈现。所有的治疗导致与SSV对照组比较的脑组织中Cu-63浓度显著(全部 $p < 0.001$)的增加。在CuATSM、CuATSM:糖精(1:2)或CuATSM:葡萄糖酸(1:2)治疗组之间的Cu-63脑吸收没有显著的差异(全部 $p > 0.25$)。未治疗组导致与SSV对照组比较的血浆中的Cu-63浓度显著(全部 $p > 0.05$)改变。在用CuATSM:糖精(1:2)与用CuATSM:葡萄糖酸(1:2);CuATSM:糖精(1:2)治疗之间进行比较时,存在小($p = 0.045$)的差异,具有较高的血浆Cu-63浓度。

[0202] 表4. 在治疗的、MPTP-损伤的小鼠中Cu-63的脑和血浆浓度

治疗 (化合物/媒介)	脑中的 Cu-63			血浆中的 Cu-63		
	平均 (μg/g)	标准差 (μg/g)	均值的标准误差 (μg/g)	平均 (μmol/升)	标准差 (μmol/升)	均值的标准误差 (μmol/升)
SSV (n = 14)	4.72	0.65	0.17	5.82	0.72	0.19
CuATSM / SSV (n = 14)	18.48	11.01	2.94	5.40	0.98	0.26
CuATSM:糖精(1:2)/水(n = 9)	14.66	2.56	0.85	6.13	0.99	0.33
CuATSM:葡萄糖酸(1:2)/水(n = 9)	22.20	12.55	4.18	5.27	0.59	0.20

实施例21

用Cu-ATSM的NCD治疗和大便频率的改善：

实验证实治疗作为帕金森氏病的啮齿动物模型的MPTP损伤的小鼠，导致MPTP 损伤的小鼠的运动表现和认知功能的恢复。

[0203] 因此，某些金属络合物，包括本申请的金属络合物的NCD在递送生物可利用的金属中是有效的并可用于治疗可通过金属递送而预防、治疗或改善的病症。特别地，这些金属络合物被发现在以导致在细胞中观察到的显著抗氧化剂作用的形式，递送金属至细胞中是有效的。在一个方面，某些金属络合物表现出介导OS的能力。

[0204] 罹患某些神经疾病，如帕金森氏病的患者除了经历运动功能障碍外，罹患神经病的患者通常还经历非-运动症状包括胃肠道不适，如便秘。这些症状对患者的生活质量具有显著的不利影响。在本申请的一个方面，提供一种治疗或减轻与神经病患者有关的胃肠道疾病或不适的方法，该方法包括给予治疗有效量的如本文公开的金属络合物。

[0205] 帕金森氏病的几个啮齿动物模型已显示出胃肠道功能障碍，其与肠道神经系统内的神经元亚群的损失相关。腹膜内给予MPTP（1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶）造成C57BL/6小鼠的黑质致密部内多巴胺能神经元数目显著减少。在回肠肌间神经丛内神经元亚群的减少在损伤后21天也被检测到并伴有大便频率的减少，提示消化功能障碍。

[0206] 口服给予CuATSM的NCD已显示是神经保护的并恢复MPTP 损伤的小鼠的运动表现和认知功能。此外，金属络合物，如CuATSM的治疗，也改善大便频率并发现在MPTP损伤小鼠的肌间神经丛中与神经元亚群的恢复相关。经历胃肠道功能障碍如便秘的神经疾病，如帕金森氏病患者，可与胃肠道肌间神经丛内肠胶质细胞反应性的神经元群的损失相关。用在中枢神经系统中为神经保护的金属络合物，如CuATSM治疗这些患者，提供症状的解除并且还导致胃肠道疾病的改善。

[0207] MPTP损伤的小鼠可用CuATSM的NCD治疗，并将结果与未治疗的小鼠比较。NCD治疗的小鼠表现出改善大便频率，并且结果与MPTP损伤小鼠的肌间神经丛中的神经元亚群的恢复相关。这些观察提示帕金森氏病患者经历的便秘可以是与在胃肠道肌间神经丛内的肠胶质细胞反应性相关的神经元细胞群损失的后果，并且提示使用药物如CuATSM的NCDs治疗在中枢神经系统中是有神经保护作用的，并且也可提供症状的解除和胃肠道疾病的改善。图13显示出在媒介和用Cu-ATSM治疗之间大便频率比较的代表性结果。

[0208] 实施例22

细胞外淀粉样蛋白 β 水平的减少：

使用Cu-ATSM：

用NCD Cu-ATSM处理APP-CHO细胞导致细胞内铜水平的增加，如对细胞可渗透的Cu-ATSM所期望的。采用5个治疗方案，即对照、1 μ M、5 μ M、10 μ M、25 μ M和50 μ M。APP-转染的CHO细胞用在无血清培养基中的NCD络合物的每一个剂量处理6 hr，收集条件培养基并通过常规 $A\beta$ ELISA分析 $A\beta$ 1-40肽。当与未复合的ATSMH₂比较时，NCD络合物在测试的所有浓度显著地抑制培养基中的 $A\beta$ 1-40水平。

[0209] 实施例23

细胞 $A\beta$ 的减少：

APP-转染的中国仓鼠卵巢(CHO)的生成：

通过使695氨基酸APP cDNA在pIRESpuro2表达载体(Clontech, Mountain View,

California, USA)中表达,生成APP-CHO细胞。细胞使用Lipofect胺2000转染并在补充有1 mM谷氨酰胺和10%胎牛血清的RPMI-1640培养基(得自Invitrogen, Mount Waverley, Australia)中培养。选择转染的细胞并使用7.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 嘌呤霉素(Sigma-Aldrich)维持。

[0210] 用金属络合物的NCD处理细胞:

APP-CHO细胞以1:5的比例传代并在实验前于6孔板中生长3天。将金属络合物的NCDs制备为在DMSO中的10 mM储备液并加入到补充有嘌呤霉素的无血清的RPMI培养基中。在加入至细胞之前通过抽吸短暂混合培养基。对照培养物用单独的溶媒(DMSO)处理。将培养物培养6 hr并取出条件培养基用于经ELISA的A β 1-40水平测定。

[0211] 用于A β 检测的双抗体捕获酶联免疫吸附试验(ELISA):

在培养基中,使用384孔A β 1-40 ELISA方案测定A β 水平。用单克隆抗体(mAb) G2-10在碳酸盐-碳酸氢盐包被缓冲液(pH 9.6)中包被384孔板用于A β 1-40检测。将所述板在摇动下于4 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。然后在摇动下,于RT用PBST洗涤板3次,在每次洗涤后弃去溶液。然后将在PBS (pH 7.4)中的100 μL 的0.5% (w/v)水解酪蛋白加入到各孔中并于37 $^{\circ}\text{C}$ 放置培养2 hr,以预防非-特异性结合。然后在摇动下,于RT用PBST洗涤板3次。将20 ng生物素化mAb W02(在A β 5-8的抗原决定部位)加入到所述板的各孔(10 $\mu\text{L}/\text{孔}$, 2 ng/ μL)中。加入50 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 的A β 1-40标准肽样品(MHRI, 墨尔本,澳大利亚)、细胞培养基样品和空白剂。将所述板在摇动下于4 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。

[0212] 在摇动下,于RT用PBST洗涤板9次。将25 μL 链霉抗生物素-标记的钬以1:1000的稀释液加入。然后用PBST洗涤板10次,其中第9次和第10次洗液在弃去前放置5 min。为展开所述板,将80 μL 的增强溶液加入到各孔中并在以340 nm激发(Ex)和以613 nm发射(Em)的WALLAC Victor²板读出仪上读板。A β 1-40肽标准品和样品按一式三份分析。从三份重复孔获得的值被用来基于各板生成的标准曲线计算A β 浓度(表示为ng/mL)。

[0213] 实施例24

离子载体分析:

将M17人成神经细胞瘤细胞平铺在6孔板上并放置过夜。加入足够的细胞,在实验的第二天得到大约70 %的汇合。在1 ml培养基中培养试验细胞并于37 $^{\circ}\text{C}$ 混合化合物5小时。在温育结束时,用真空抽吸器移出培养基并将1 ml PBS加入以分开细胞。然后将细胞放入Eppendorf管中并沉淀成粒状。除去PBS并将剩余的细胞颗粒于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻。

[0214] 将类似水平的细胞颗粒置于1.5 ml微离心管中。向各管中的各细胞颗粒加入50 μL 浓硝酸(Aristar, BDH)并使各细胞颗粒消化过夜。将样品于90 $^{\circ}\text{C}$ 加热20 min以完成消化。消化后将各样品的体积减少至~45 μL 。向各样品加入1 ml的1%硝酸稀释剂。测量在适合于常规多-元素分析的操作条件下,使用Varian UltraMass ICPMS设备进行。

[0215] 使用空白、10、50和100 ppb认证的多-元素ICPMS标准溶液(ICP-MS- CA12-1, Accustandard)对1%硝酸中的Cu和Zn进行设备校准。使用认证的含有100 ppb钇(Y 89)的内部标准溶液作为内部对照(ICP-MS- IS-MIX1-1, Accustandard)。

[0216] 报告与已知内部对照水平(Clioquinol)相对的数据。数据证实本发明的络合物在递送金属至细胞中是有效的。

[0217] 实施例25

细胞毒性试验- M17成神经细胞瘤细胞:

第1天. 将试验细胞于37°C/5% CO₂中培养直至几乎在75 cm²烧瓶中汇合。除去培养基并用5 ml PBS培养细胞约5 mins,以从塑料表面分离细胞。吸液管被用来重新悬浮细胞并加入5 ml生长培养基。移去细胞悬浮液并加入到15 ml Falcon管中。通过倒置充分混合悬浮液并将约100 μ l转移至Eppendorf中。

[0218] 使用5块48孔板典型的分析评价15种化合物. 内24孔是仅用来减少经48 hrs的蒸发的量的孔。将200 μ l培养基加入到内24孔的各孔中。通过倒置混合细胞悬浮液并将所需数目的细胞加入到各孔中。细胞添加在每一块板上继续并在各板之间通过倒置在鹰管中混合细胞悬浮液。对板块给予轻微的震动并返回至37°C孵化箱。使板放置过夜以使细胞定植在孔中。

[0219] 第2天. 选择待测试的化合物用于分析。从Eppendorf中的mol wt.和mg的NCD络合物计算加入DMSO的ml数,以制备10 mM储备液。在CQ (Clioquinol)的情况下,由于更浓缩的溶液的沉淀,当在媒介中稀释时需要1 mM储备液。

[0220] 将DMSO加入到Eppendorfs (通常200-500 μ l)中,涡流直至溶解并用化合物在37°C温育60 mins以帮助溶解。移出NCD络合物并再次涡流,检查任何未溶的络合物。然后将10 mM储备液稀释至1:10以制备1 mM的最终浓度。将180 μ l DMSO加入到试验管中,并将20 μ l的各种化合物溶液加入到每一个试验管中以创建试验溶液,其经再次涡流以确保试验混合物的完全匀化。然后将各化合物稀释至10 μ M和1 μ M的最终浓度。

[0221] 将所需量的试验溶液和对照样品加入到板中,于37°C,将所述板返回到孵化箱持续48小时的时间。在48小时时期结束后,从孵化箱除去板并使用吸出器从第一块板除去培养基。然后将220 μ l的MTT (一种用于线粒体分析的四唑鎓盐) /培养基溶液加入到各孔中。然后使板是返回至37°C并孵育1小时。1小时后,从孵化箱取出板并使用吸出器真空泵吸出培养基/MTT溶液。

[0222] 将200 μ l DMSO加入到各孔中并温和地搅动板,以使DMSO溶解MTT晶体和剩余的细胞残骸。约10 mins后,现在孔中的紫色DMSO应是清澈的。MTT是一种通过活性线粒体从黄色转化为紫色的四唑鎓盐。存在的细胞越多,因而线粒体就越多,导致一种更强烈的紫色。现在可在板读出仪上以570 nm读板。

[0223] 实施例26

金属络合物的NCD如Cu-ATSM的NCD络合物作为抗氧化剂在帕金森氏病模型中的作用。进行一系列试验,其中Cu-ATSM的NCD对抑制多巴胺诱导的细胞死亡的作用在WT细胞和A30P细胞上进行。可采样的方案如下所述。

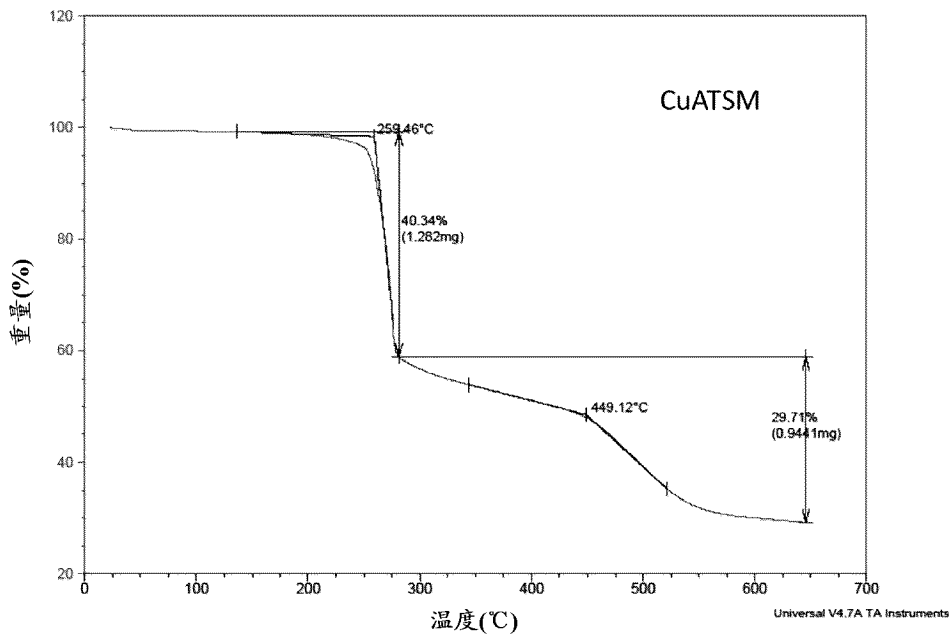
[0224] 细胞培养:

使细胞系在补充有10 %胎牛血清(FCS)、非-必需氨基酸、丙酮酸钠和Penn/Strep的OPTI-MEM (Gibco)中维持。于37°C在95%空气和5 % CO₂的潮湿气氛中培养细胞。细胞分析物以每孔4 x 10⁴细胞被平铺到48孔培养板中。使细胞放置以定植过夜,然后在经历MTT分析细胞活力之前与药物一起培养24 h。

[0225] 制备本申请的金属络合物的程序,以及它们治疗方法公开于国际专利申请PCT/AU2007/001792 (作为WO 2008/061306公布)中,其公开内容以其全文结合到本文中。

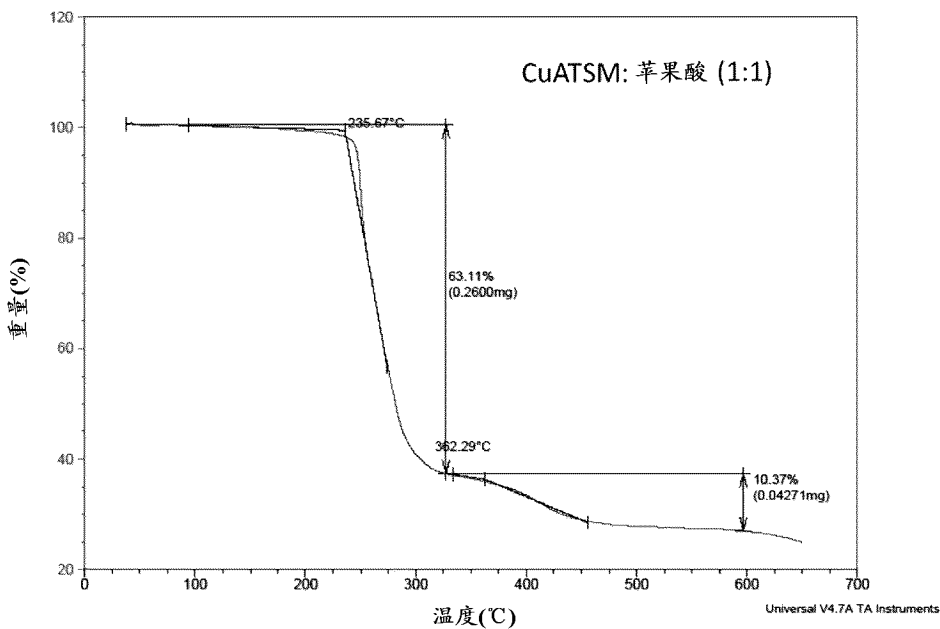
[0226] 虽然许多示例性的实施方案、方面和变化在本文已经提供,本领域技术人员将认识到实施方案、方面和变化的某些修饰、排列、添加和组合和某些亚组合。意欲将以下权利

要求书解释为实施方案、方面和变化的所有这样的修饰、排列、添加和组合和某些亚组合包括在其范围内。本申请通篇引用的所有文献的完整公开内容通过引用结合到本文中。



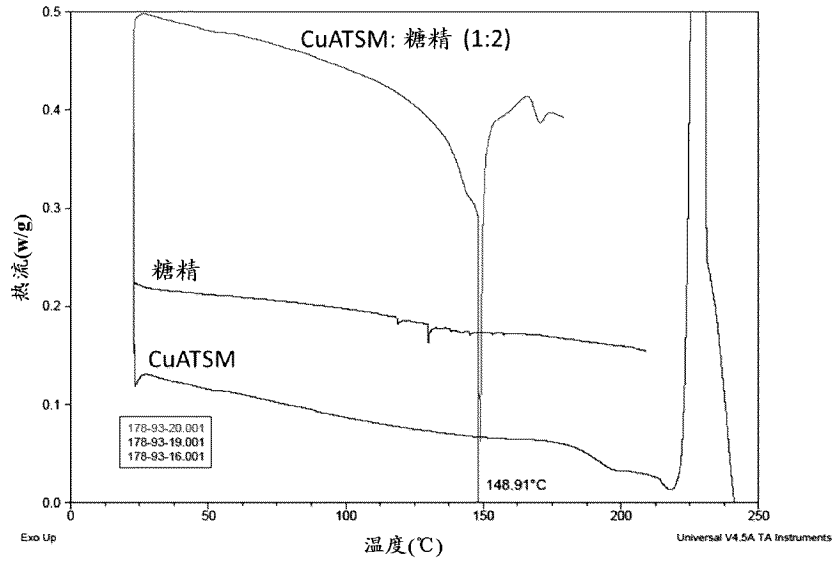
用来制备图 2 的苹果酸 NCD 的 CuATSM 样品(结构 I, R¹和 R⁶ = H; R²、R³、R⁴和 R⁵ = Me)的热解重量分析。

图 1



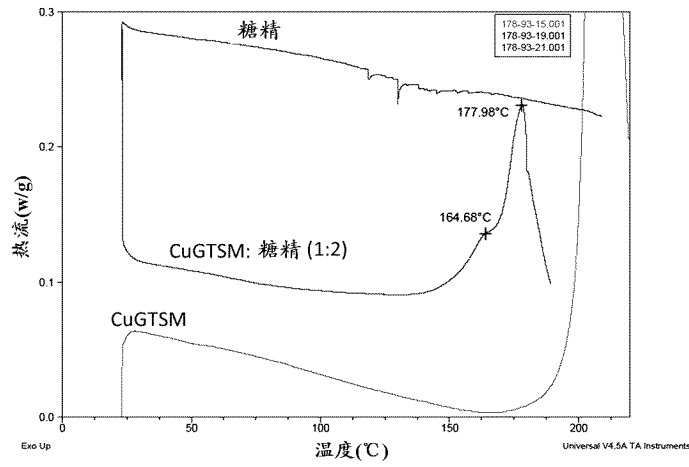
CuATSM 与苹果酸(1:1)的非-共价衍生物的热解重量分析。

图 2



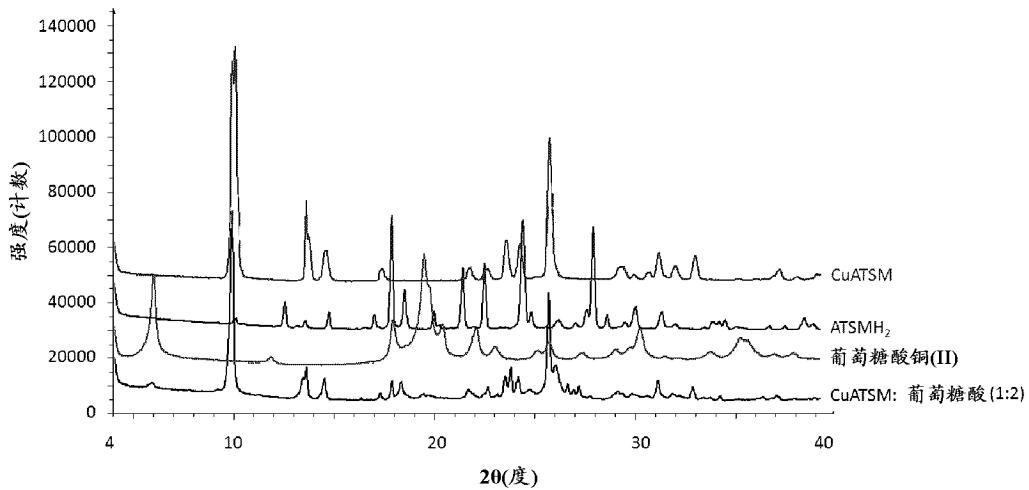
CuATSM:糖精(1:2)的DSC与CuATSM的DSC和糖精的DSC的比较。

图 3



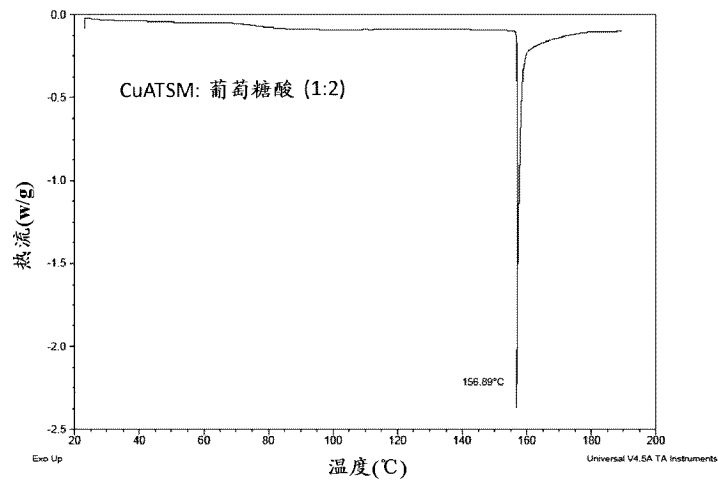
CuGTSM:糖精(1:2)的DSC与糖精的DSC和CuGTSM的DSC的比较

图 4



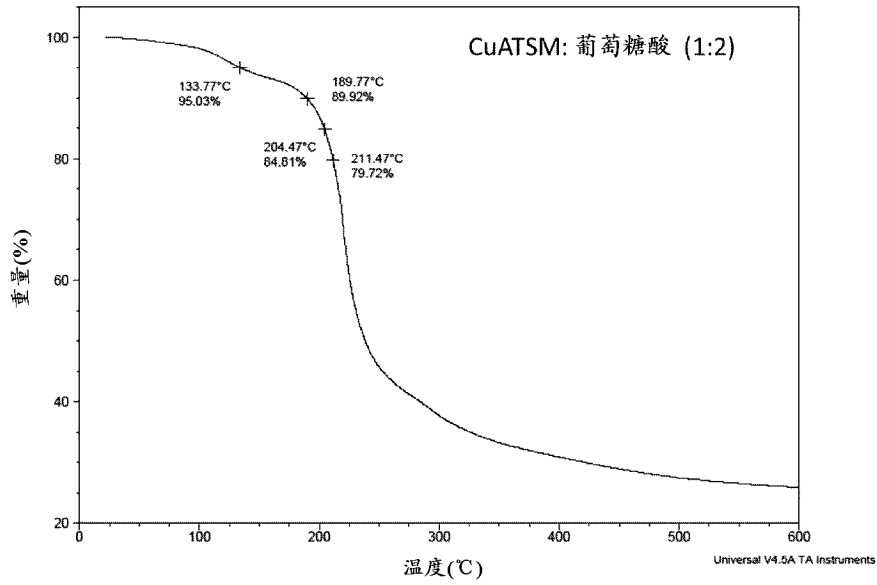
经球磨法制备的 CuATSM:葡萄糖酸(1:2)的 X-射线粉末衍射(XRPD)谱, 与葡萄糖酸铜(II)和 ATSMH₂ 起始原料的 XRPD 谱比较, 以及与 CuATSM 的 XRPD 谱比较。光谱彼此垂直偏移 10000 个计数。

图 5



ASTMH₂与葡萄糖酸铜(II)的 90-分钟球磨法的 CuATSM: 葡萄糖酸(1:2)产物的 DSC。

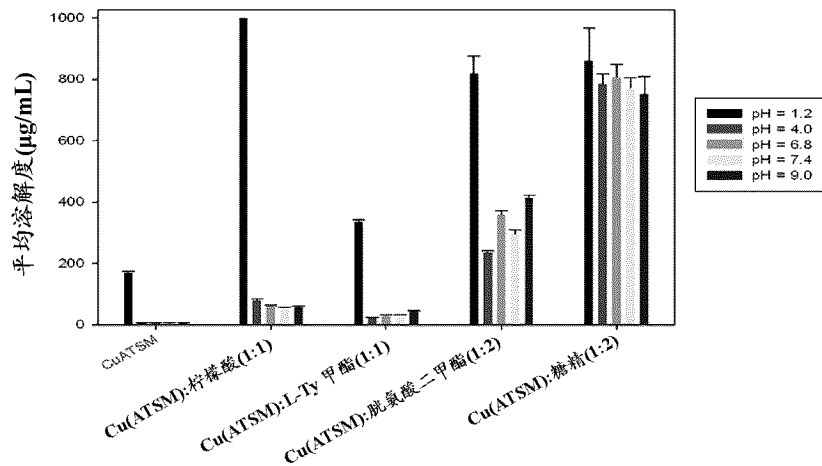
图 6



ASTMH₂ 与葡萄糖酸铜(II)的 90-分钟球磨法的 CuATSM: 葡萄糖酸(1:2)产物的热解重量分析(TGA)。

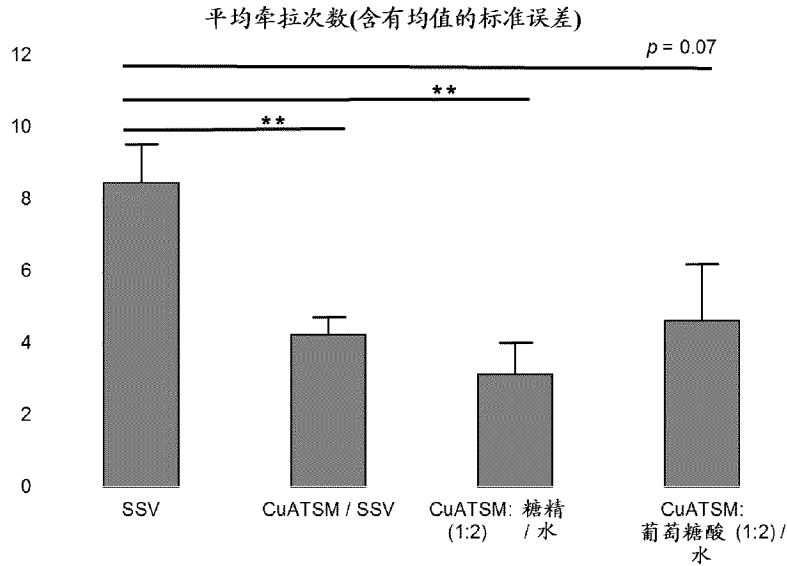
图 7

非-共价衍生物改进 Cu²⁺(ATSM)的溶解度 (注意: 检测的上限=1000 µg/mL)



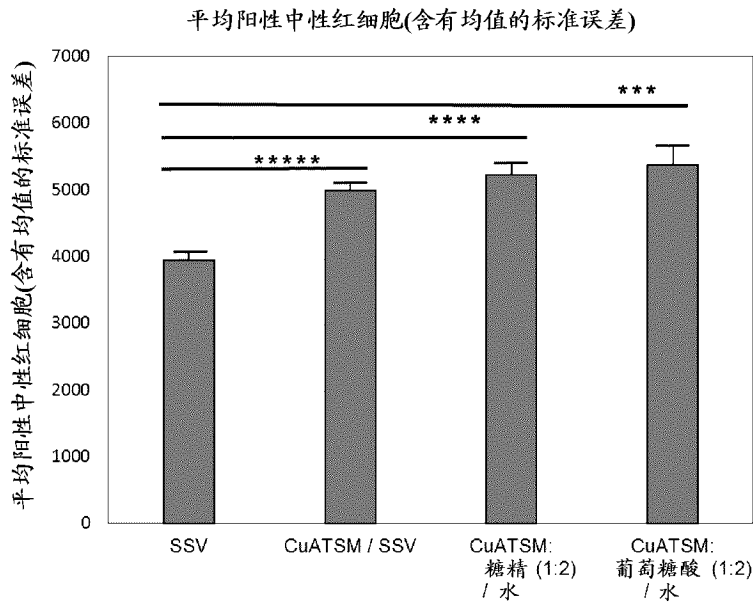
CuATSM 的非-共价衍生物在各种缓冲液中的溶解度, 从缓冲液与固体化合物一起经 20-小时温育后的溶液谱测定。

图 8



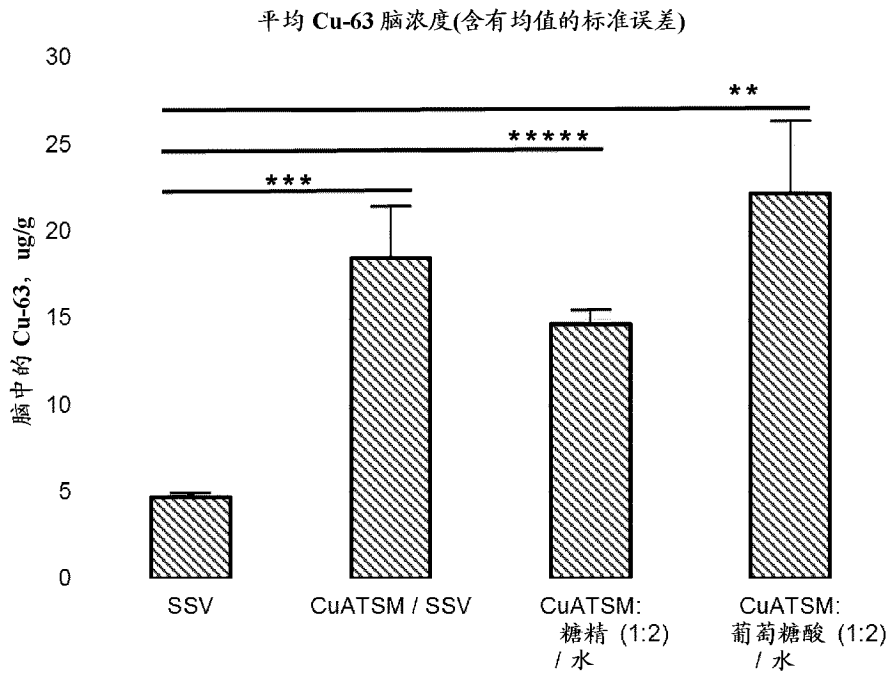
治疗的 MPTP-损伤的小鼠的平均线牵拉次数，显示出各治疗群体中样品均值的标准误差；**， $p < 0.01$ 。

图 9



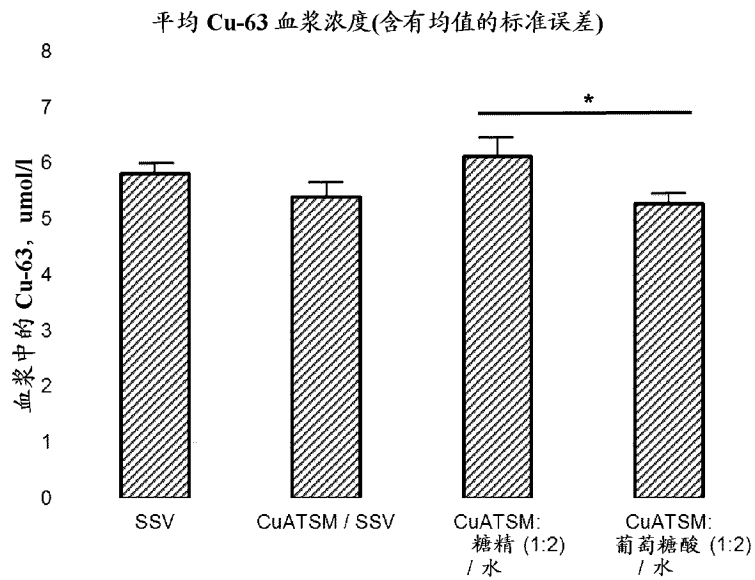
治疗的 MPTP-损伤的小鼠的黑质中阳性中性红细胞计数，显示出各治疗群体中样品均值的标准误差；***， $p < 0.001$ ；****， $p < 0.0001$ ；****， $p < 0.00001$ 。

图 10



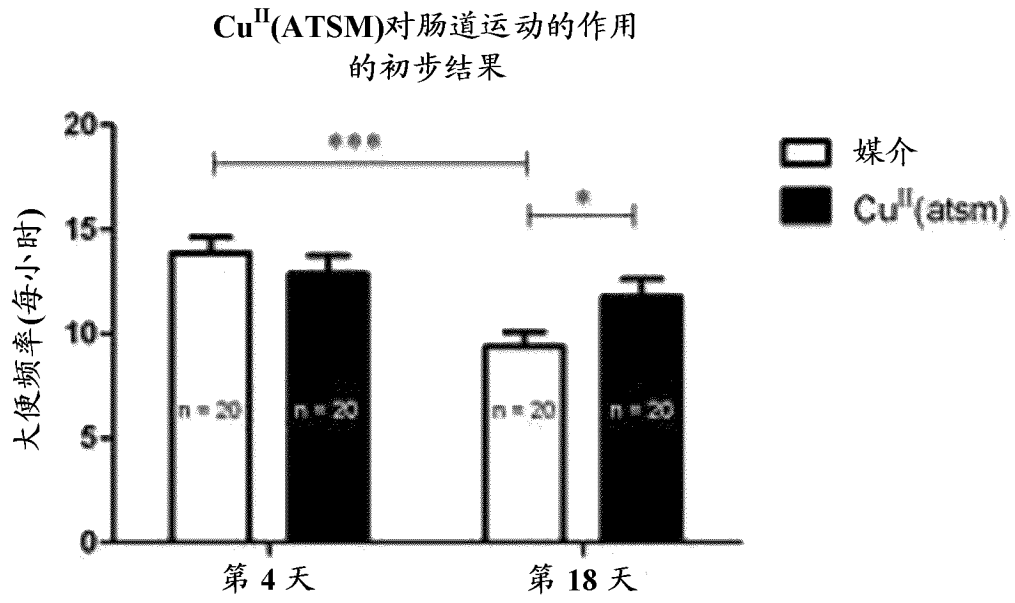
治疗的 MPTP-损伤的小鼠中的平均 Cu-63 脑浓度; **, $p < 0.01$;
, $p < 0.001$; *, $p < 0.00001$.

图 11



治疗的 MPTP-损伤的小鼠中的平均 Cu-63 血浆浓度; *, $p < 0.05$.

图 12



媒介和用 Cu-ATSM 治疗之间的大便次数比较的代表性结果。

图 13