



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I832450 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 02 月 11 日

(21)申請案號：111136599

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 12 月 22 日

(51)Int. Cl.：

*C07C279/14 (2006.01)**C07D271/07 (2006.01)**C07D273/04 (2006.01)**C07D273/06 (2006.01)**A61K31/155 (2006.01)**A61K31/4245 (2006.01)**A61K31/5395 (2006.01)**A61K31/553 (2006.01)**A61P25/28 (2006.01)**A61P9/00 (2006.01)**A61P21/00 (2006.01)*

(30)優先權：2014/12/22 美國

62/095,295

(71)申請人：美商法明頓製藥發展公司(美國) FARMINGTON PHARMA DEVELOPMENT (US)
美國

(72)發明人：布貝克 威廉 BRUBAKER, WILLIAM F. (US)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

WO 2007/146086A1

WO 2008/101310A1

WO 2013/043580A2

期刊 Alexandra Trotier-Faurion, et al. "Synthesis and Biological Evaluation of New Creatine Fatty Esters Revealed Dodecyl Creatine Ester as a Promising Drug Candidate for the Treatment of the Creatine Transporter Deficiency." J. Med. Chem. 56, 12, ACS May 22, 2013 5173-5181.

期刊 George A. Patani, et al. "Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design." Chem. Rev. 96, 8, ACS, December 19, 1996 3147-3176.

審查人員：唐韶璞

申請專利範圍項數：23 項 圖式數：0 共 197 頁

(54)名稱

肌酸前藥、組合物及其使用方法

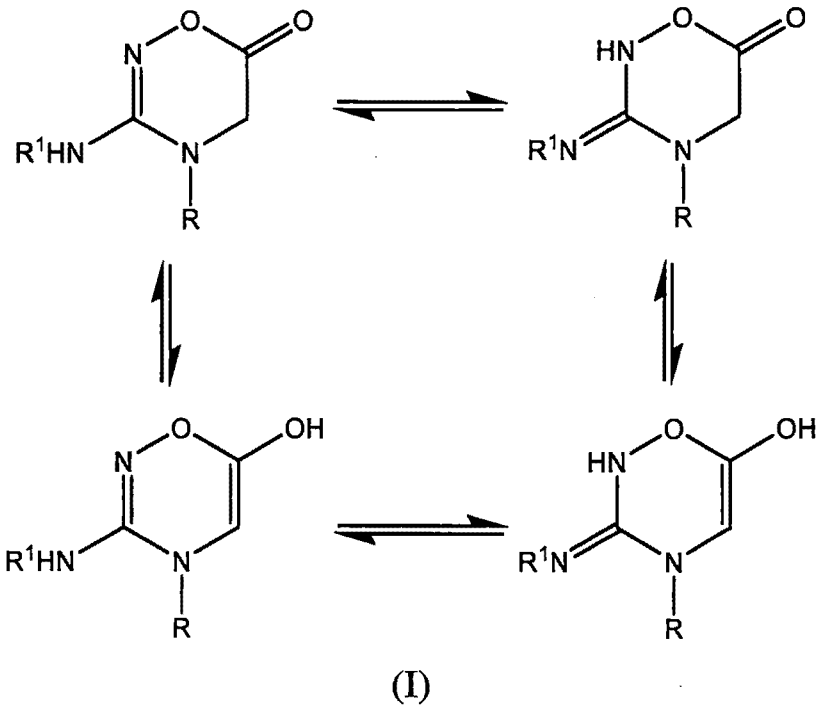
(57)摘要

本發明描述透膜性肌酸前藥、包含透膜性肌酸前藥之醫藥組合物及治療諸如局部缺血、心臟衰竭、神經退化性病徵及影響肌酸激酶系統之遺傳病徵之疾病的方法，該方法包括投與肌酸前藥或其醫藥組合物。本發明亦描述治療影響肌酸激酶系統之遺傳疾病，諸如肌酸轉運體障礙或肌酸合成障礙，其包括投與肌酸前藥或其醫藥組合物。

The invention describes membrane permeable creatine prodrugs, pharmaceutical compositions comprising membrane permeable creatine prodrugs, and methods of treating diseases such as ischemia, heart failure, neurodegenerative disorders and genetic disorders affecting the creatine kinase system comprising administering creatine prodrugs or pharmaceutical compositions thereof. The invention also describes treating a genetic disease affecting the creatine kinase system, such as, for example, a creatine transporter

disorder or a creatine synthesis disorder comprising administering creatine prodrugs or pharmaceutical compositions thereof.

特徵化學式：



【發明摘要】

【中文發明名稱】

肌酸前藥、組合物及其使用方法

【英文發明名稱】

CREATINE PRODRUGS, COMPOSITIONS AND METHODS OF USE
THEREOF

【中文】

本發明描述透膜性肌酸前藥、包含透膜性肌酸前藥之醫藥組合物及治療諸如局部缺血、心臟衰竭、神經退化性病徵及影響肌酸激酶系統之遺傳病徵之疾病的方法，該方法包括投與肌酸前藥或其醫藥組合物。本發明亦描述治療影響肌酸激酶系統之遺傳疾病，諸如肌酸轉運體障礙或肌酸合成障礙，其包括投與肌酸前藥或其醫藥組合物。

【英文】

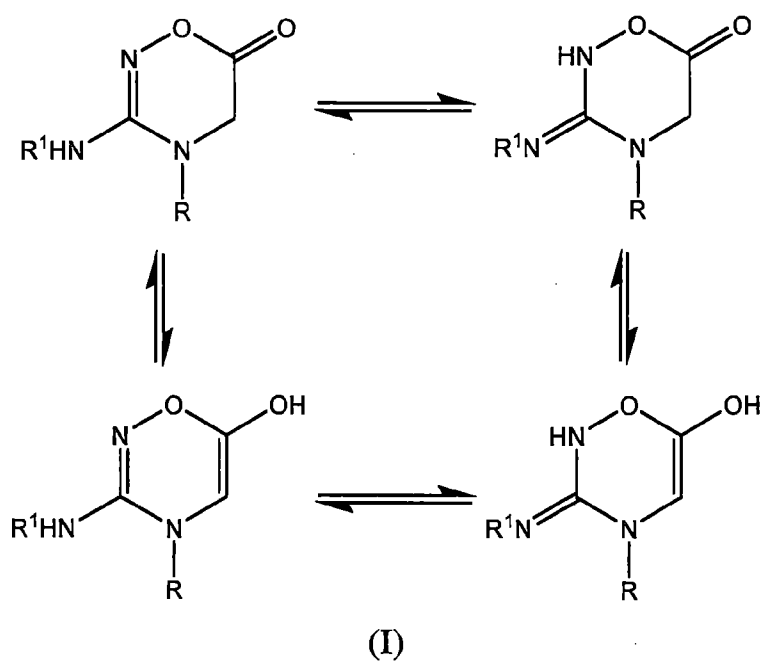
The invention describes membrane permeable creatine prodrugs, pharmaceutical compositions comprising membrane permeable creatine prodrugs, and methods of treating diseases such as ischemia, heart failure, neurodegenerative disorders and genetic disorders affecting the creatine kinase system comprising administering creatine prodrugs or pharmaceutical compositions thereof. The invention also describes treating a genetic disease affecting the creatine kinase system, such as, for example, a creatine transporter disorder or a creatine synthesis disorder comprising administering creatine prodrugs or pharmaceutical compositions thereof.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



【發明說明書】

【中文發明名稱】

肌酸前藥、組合物及其使用方法

【英文發明名稱】

CREATINE PRODRUGS, COMPOSITIONS AND METHODS OF USE
THEREOF

【技術領域】

[0001] 本發明描述透膜性肌酸前藥、包含透膜性肌酸前藥之醫藥組合物及治療諸如局部缺血、心臟衰竭、神經退化性病徵及影響肌酸激酶系統之遺傳病徵之疾病的方法，該方法包括投與肌酸前藥或其醫藥組合物。在一些實施例中，本發明描述治療影響肌酸激酶系統之遺傳疾病，諸如肌酸轉運體障礙或肌酸合成障礙，其包括投與肌酸前藥或其醫藥組合物。

[相關申請案之交叉參考]

本申請案主張 2014 年 12 月 22 日申請且標題為「CREATINE PRODRUGS, COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF」之美國臨時申請案第 62/095,295 號之優先權的權益，其揭示內容為所有目的以全文引用之方式併入本文中。

【 先前技術 】

[0002] 肌酸在細胞能量代謝中發揮重要作用，構成高能磷酸肌酸，一種除三磷酸腺苷(ATP)以外重要的肌肉能量儲備。在肌肉靜止狀態時，ATP 可向肌酸轉移磷酸基，由此形成磷酸肌酸，隨後直接與 ATP 平衡。在肌肉工作期間，至關重要的係儘可能快速地補充 ATP 儲備。磷酸肌酸在最大肌肉負載之最初數秒內可用於此目的；此物質能在極快反應中由肌酸激酶將磷酸基轉移至二磷酸腺苷上，由此再形成 ATP。肌酸激酶系統在細胞內能量代謝中具有雙重作用-充當能量緩衝劑以恢復高 ATP 水解位點處之消耗 ATP 水準及藉由涉及中間能量載體、若干次酶促反應及經各種細胞內結構擴散之過程將能量以磷酸肌酸之形式自粒腺體轉移至細胞之其他部分。

[0003] 多種病理學疾病狀態起因於能量代謝功能障礙。如例如在組織局部缺血期間發生之細胞消耗 ATP 儲備導致組織功能受損及細胞死亡。與醫學最相關地，諸如中風及心臟病發作之局部缺血相關的心血管疾病在北美洲及歐洲仍係死亡及發病之重要原因。因此，期望可預防或逆轉局部缺血相關之組織損害的策略能對公眾健康具有重大影響。能量消耗在手術期間亦促使組織損害且係器官移植衰竭之常見原因。此外，以含氧溶液再灌注可經由產生氧自由基而進一步使組織健康惡化。因此，快速恢復 ATP 水準而不導致再灌注損傷之方法可能具有多種治療性應用。諸如帕金森氏病(Parkinson's disease)、阿茲海默氏病

(Alzheimer's disease)及亨廷頓氏病(Huntington's disease)之神經退化性疾病與能量代謝受損相關，且用於改良 ATP 代謝之策略可潛在地使神經元之損失最小化且由此改良患有該等疾病之患者的預後。最後，能量代謝受損係肌肉疲勞之重要因素且限制身體耐力。因此，預防或逆轉局部缺血或代謝活躍組織中之 ATP 消耗的方法可能在多種適應症中具有廣泛之臨牀用途。

[0004] 肌酸補充增加細胞內磷酸肌酸水準(Harris 等人, Clinical Sci 1992, 83, 367-74)。肌酸易於穿過健康個體中之血液-大腦障壁且可經由口服增加大腦肌酸水準(Dechent 等人, Am J Physiol 1999, 277, R698-704)。延長肌酸補充可提高磷酸肌酸之細胞彙集且增加對組織局部缺血與肌肉疲勞之抗性。因此，儘管投與肌酸可具有一些治療性用途，但更穩定且對障壁組織及細胞膜更具滲透性之改質肌酸分子將具有增強之治療價值。

[0005] 本發明之肌酸前藥經設計成在生物流體中穩定以藉由被動擴散或主動傳輸進入細胞且將肌酸釋放至細胞質中。該等前藥亦可穿過重要之障壁組織，諸如腸黏膜、血液-大腦障壁及血液-胎盤障壁。由於能夠穿過生物膜，因此肌酸前藥在 ATP 耗盡細胞中可經由肌酸激酶系統恢復且維持能量平衡，並快速恢復 ATP 水準以保護組織免受進一步局部缺血應力。亦揭示具有較高自由能或對肌酸激酶具有較低親和性且在更嚴重之能量消耗病況中可再生 ATP 之肌酸前藥。本發明之肌酸前藥亦可用於傳遞

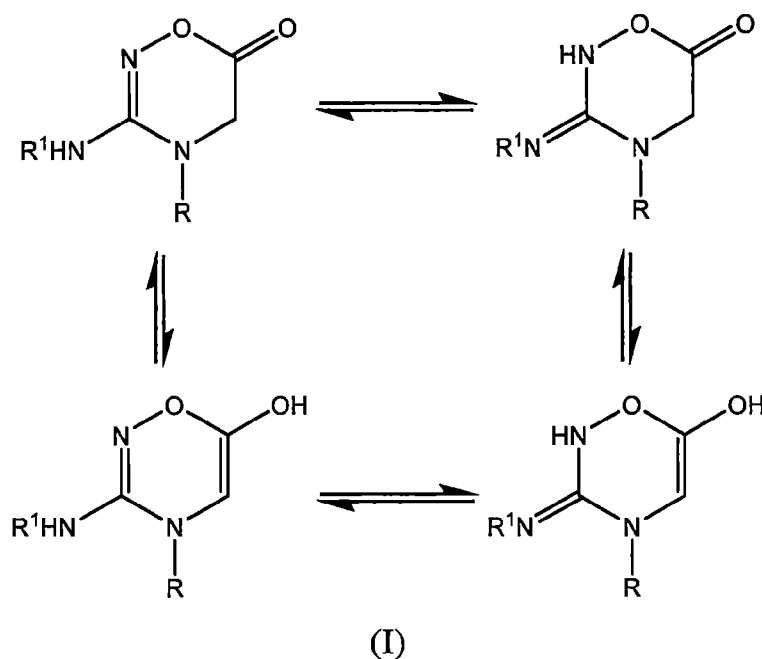
持續全身性濃度之肌酸。本發明係關於該等以及其他重要目的。

【發明內容】

[0006] 本發明係關於透膜性肌酸前藥、包含透膜性肌酸前藥之醫藥組合物及使用透膜性肌酸前藥之方法及其醫藥組合物。在一些實施例中，本發明描述治療影響肌酸激酶系統之遺傳疾病，諸如肌酸轉運體障礙或肌酸合成障礙，其包括投與肌酸前藥或其醫藥組合物。

[0007] 在一實施例中，本發明描述式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體：

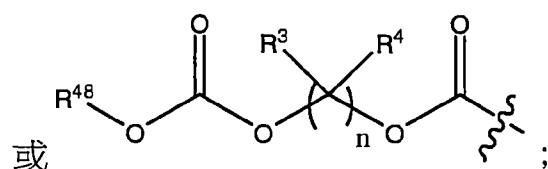
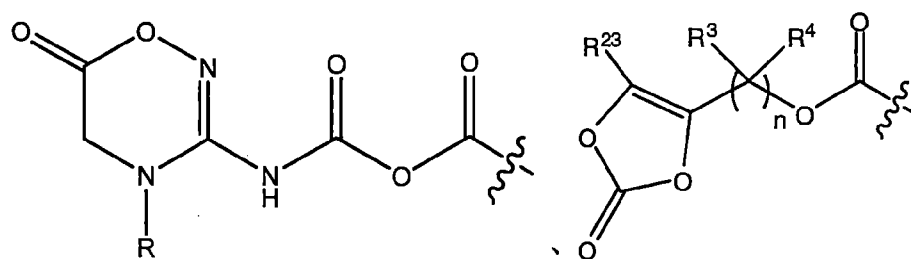
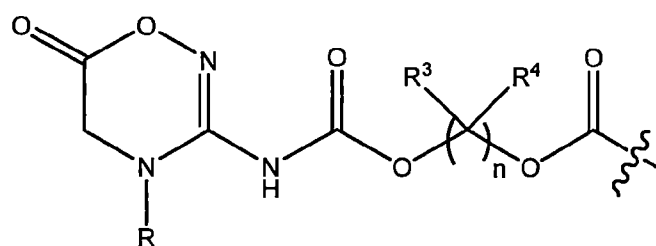
其中式(I)化合物為



其中：

R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^1 為氫、 $-OR^2$ 、 $-C(O)OR^2$ 、 $-C(O)R^2$ 、



n 為 1 至 2 之整數；

R^2 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；

R^{23} 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{5-12} 環烷基、經取代之 C_{5-12} 環烷基、 C_{5-12} 芳基及 C_{5-12} 經取代之

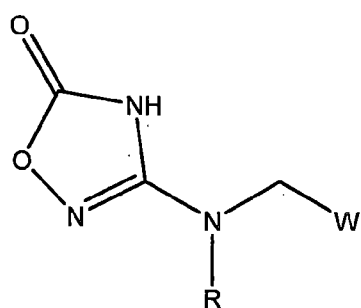
芳基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^{22}$ 或 $-\text{C}(\text{O})-\text{R}^{22}$ ；

R^{22} 為 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基；且

R^{48} 為 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基。

[0008] 又一實施例描述式(III)化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體：

其中式(III)化合物為：



(III)

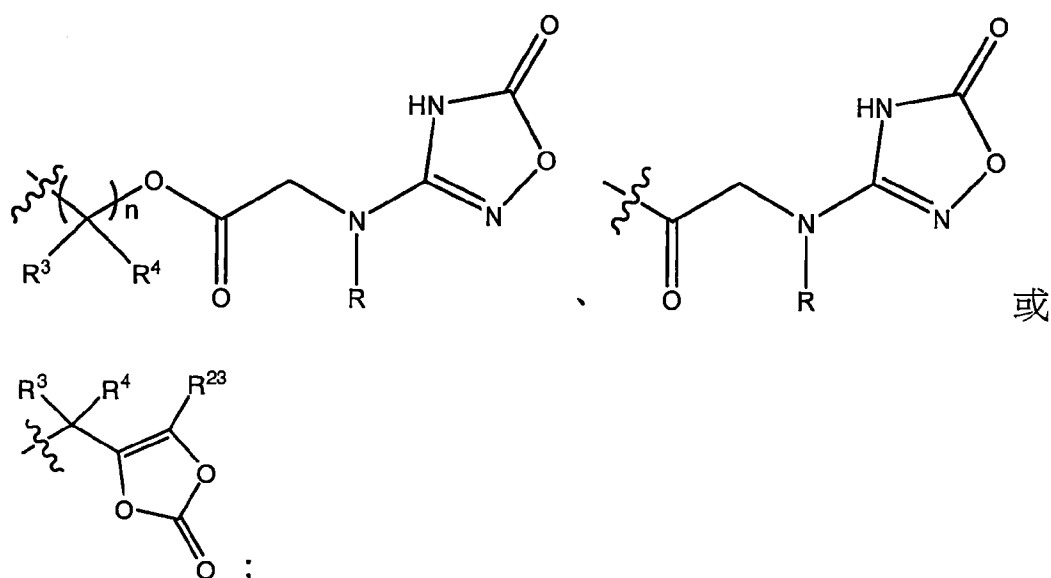
其中：

W 為 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ ；

R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^7 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12}

芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基、 $-C(O)R^5$ 、 $-C(O)OR^5$ 、 $-C(O)(NR^3R^4)$ 、 $-C(R^3R^4)-C(O)OR^{22}$ 、 $-C(R^3R^4)-(O)C(O)R^{22}$ 、 $-C(R^3R^4)-(O)C(O)-OR^{22}$ 、



n 為 1 至 2 之整數；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；且

R^5 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基；

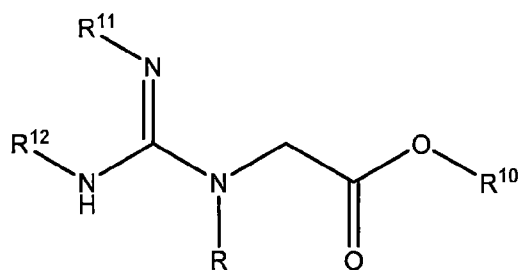
R^{23} 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{5-12} 環

烷基、經取代之 C_{5-12} 環烷基、 C_{5-12} 芳基及 C_{5-12} 經取代之芳基、 $-C(O)-OR^{22}$ 或 $-C(O)-R^{22}$ ；且

R^{22} 為 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基。

[0009] 又一實施例描述式(VI)化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體：

其中式(VI)化合物為：



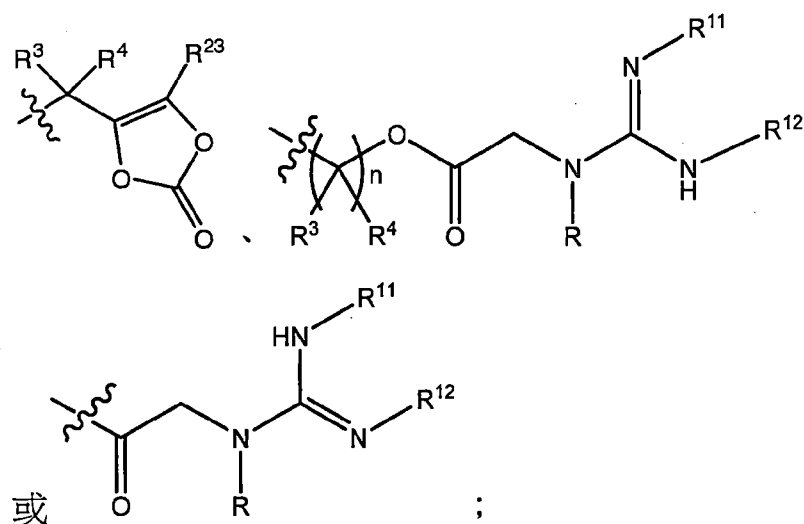
(VI)

其中：

R 為 $-CH_3$ 或 $-CD_3$ ；

R^{10} 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之

C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基、 $-C(O)R^5$ 、 $-C(O)OR^5$ 、 $-C(O)(NR^3R^4)$ 、 $-C(R^3R^4)-C(O)OR^{22}$ 、 $-C(R^3R^4)-(O)C(O)R^{22}$ 、 $-C(R^3R^4)-(O)C(O)-OR^{22}$ 、



R^{11} 與 R^{12} 各自獨立地為氫或 $-OR^{13}$ ；或 R^{11} 與 R^{12} 各自為 $-C(O)R^5$ ，其限制條件為 R^{11} 與 R^{12} 兩者不可均為氫；

R^{13} 獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基、 $-CH(OR^5)$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-C(O)OR^5$ 或 $-C(O)(NR^3R^4)$ ；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；

R^5 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷

基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基；

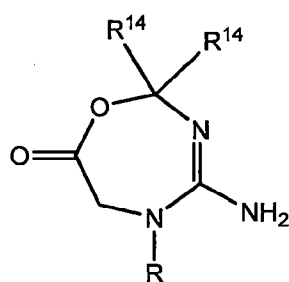
R^{23} 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{5-12} 環烷基、經取代之 C_{5-12} 環烷基、 C_{5-12} 芳基及 C_{5-12} 經取代之芳基、 $-C(O)-OR^{22}$ 或 $-C(O)-R^{22}$ ；

R^{22} 為 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基；且

n 為 1 至 3 之整數。

[0010] 一種其他實施例描述式(VII)化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體：

其中式(VII)化合物為：



(VII)

其中：

R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^{14} 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基、 $-\text{CH}(\text{OR}^5)$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^5$ 或 $-\text{C}(\text{O})(\text{NR}^3\text{R}^4)$ ；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；且

R^5 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基。

[0011] 在某些實施例中，式(I)、(III)、(VI)及(VII)之化合物可包括以下特徵：

R 各自獨立地為 $-\text{CH}_3$ 。

R 各自獨立地為 $-\text{CD}_3$ 。

n 各自獨立地為整數 1。

n 各自獨立地為整數 2。

R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{18} 及 R^{22} 各自獨立地為 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 環烷基、經取代之 C_{3-7} 環烷基、 C_{5-7} 芳基或經取代之 C_{5-7} 芳基。

R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{18} 及 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二甲氧基乙基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、4-甲氧基苯基、苄基、苯乙基、苯乙烯基、環丙基、環丁基、環戊基、環己基、2-吡啶基、3-吡啶基或 4-吡啶基。

R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{18} 及 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、環己基或 3-吡啶基。

R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{18} 及 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、十二烷

基、第三丁基、苯基或環己基。

R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{18} 及 R^{22} 各自獨立地為乙基、異丙基或十二烷基。

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫。

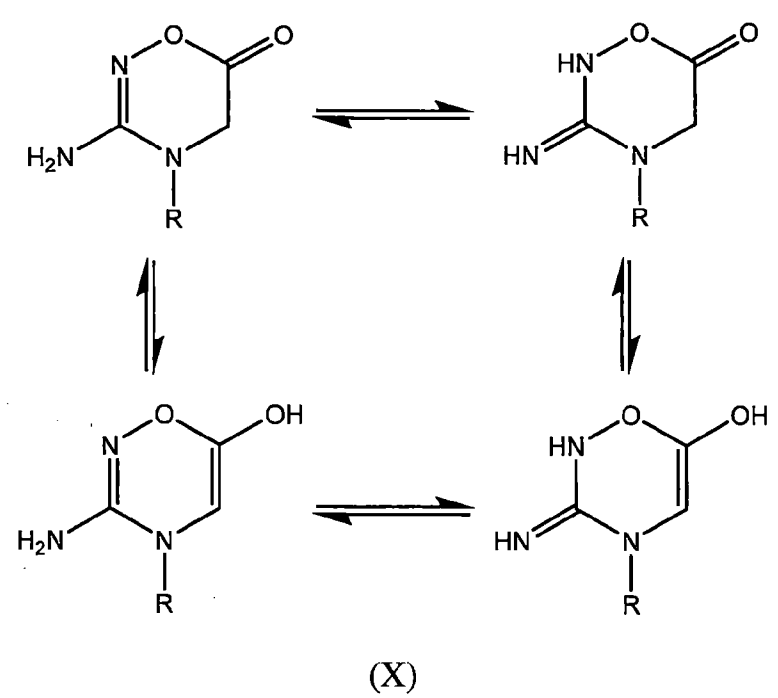
R^{23} 各自為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基。

R^{23} 各自為甲基。

每個取代基獨立地為鹵素、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $=\text{O}$ 、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 烷氧基或經取代之 C_{1-12} 烷氧基、 $-\text{COOR}^{10'}$ (其中 $R^{10'}$ 為氫)、 C_{1-3} 烷基或 $-(\text{NR}^{11'})_2$ (其中 $R^{11'}$ 各自獨立地為氫或 C_{1-3} 烷基)。

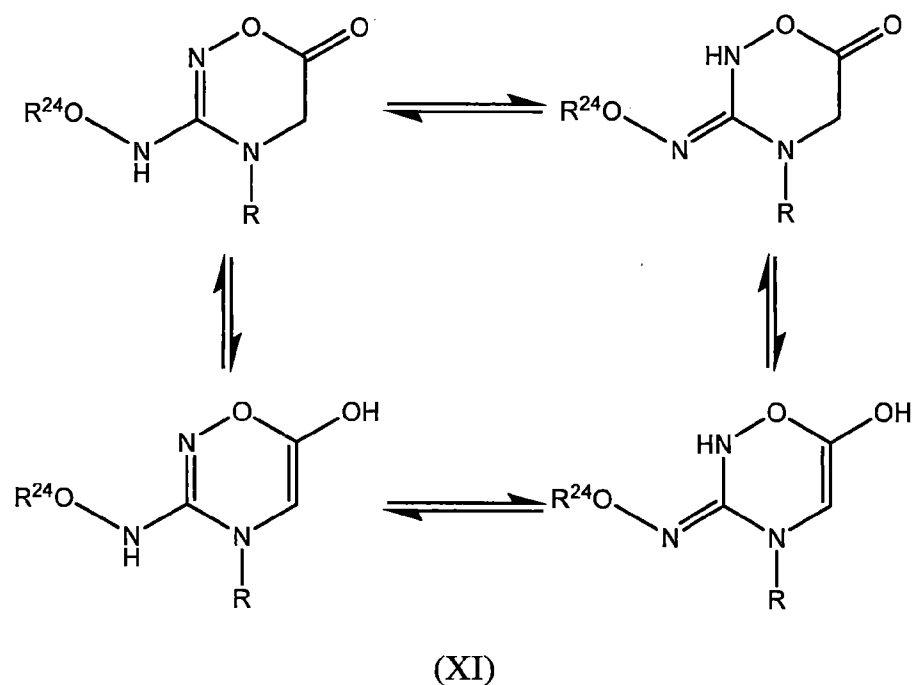
[0012] 在一實施例中，式(I)化合物為式(X)、式(XI)、式(XII)、式(XIII)、式(XIV)、式(XV)、式(XVa)或式(XVb)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體；

其中式(X)化合物為：



其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃ ；

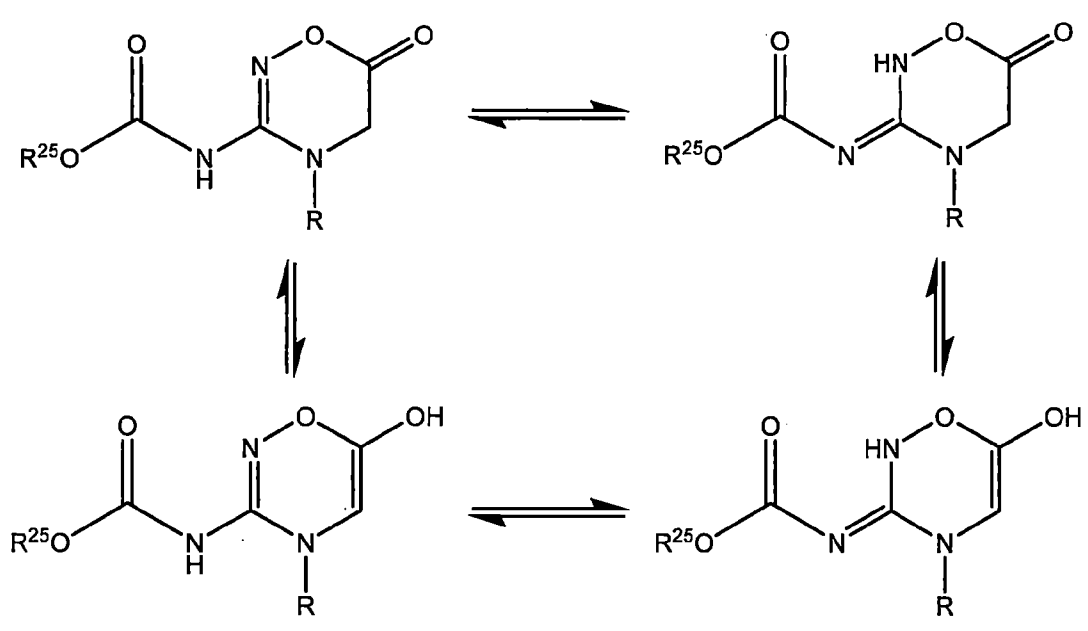
其中式 (XI) 化合物為：



其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃ ； 且

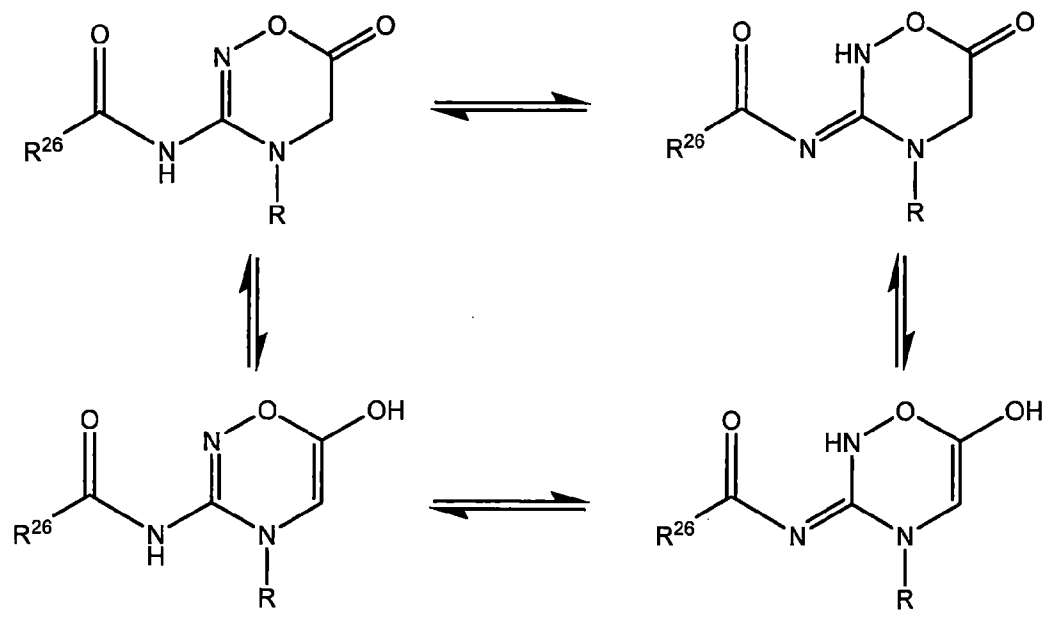
R²⁴ 為 氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基 ；

其中式(XII)化合物為：



(XII)

其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃；且
R²⁵ 為 氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；
其中式(XIII)化合物為：

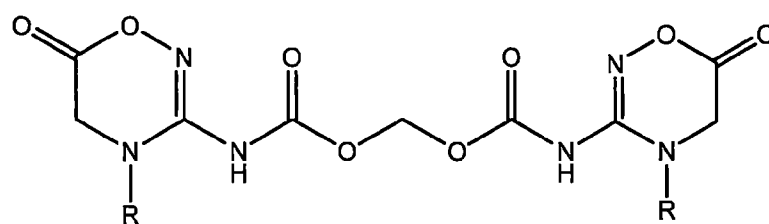


(XIII)

其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；且

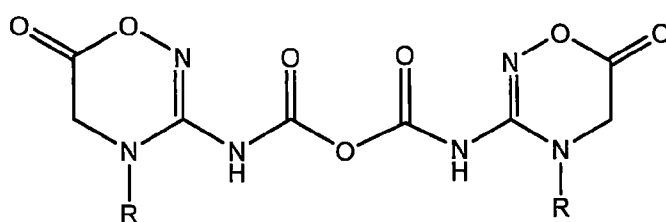
R^{26} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；

其中式 (XIV) 化合物為：



(XIV)

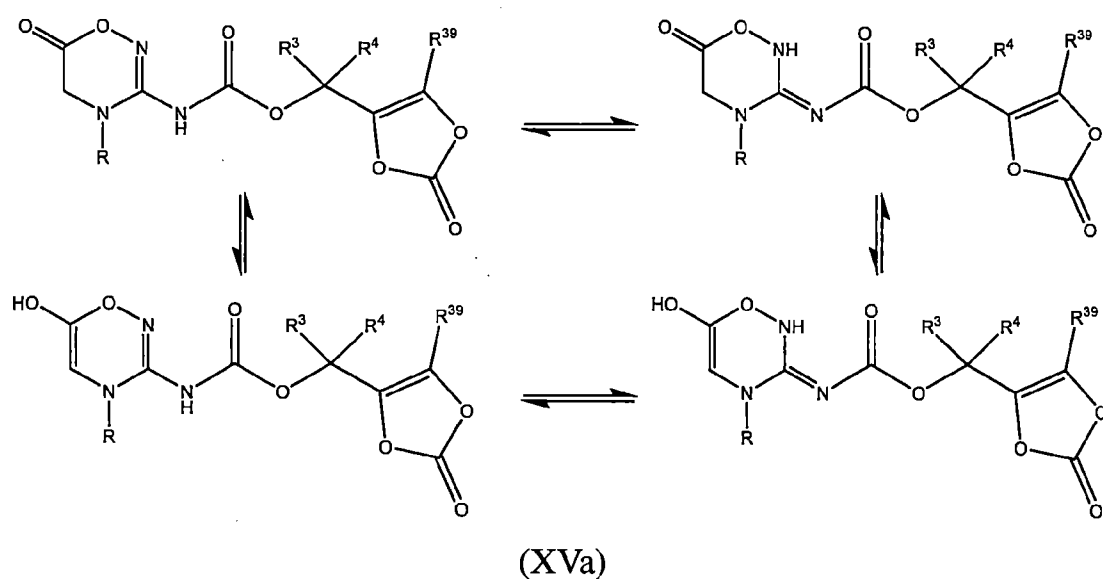
其中式 (XV) 化合物為：



(XV)

其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

其中式 (XVa) 化合物為：

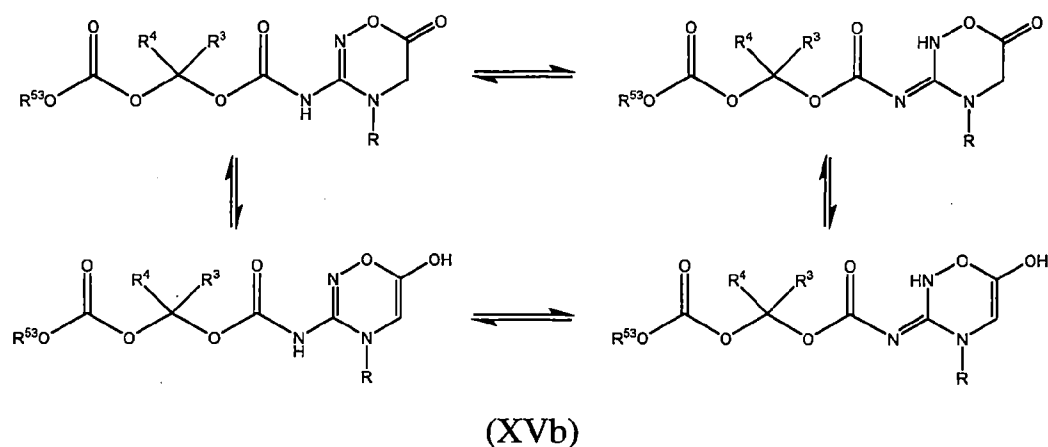


其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^{39} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；且

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；

其中式 (XVb) 化合物為：



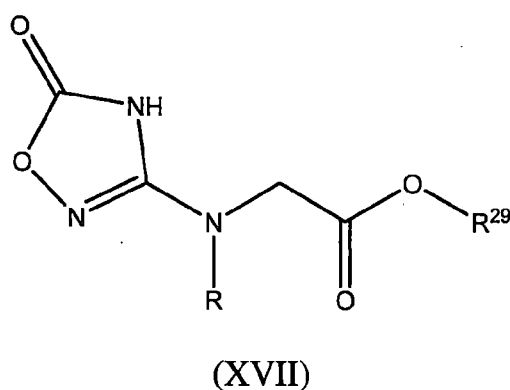
其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；且

R^{53} 為 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基。

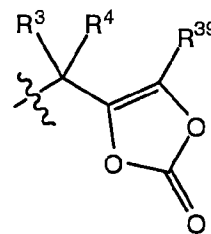
[0013] 在又一實施例中，式(III)化合物為式(XVII)、式(XVIII)或式(XIX)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體；

其中式(XVII)化合物為：



其中 R 為 $-CH_3$ 或 $-CD_3$ ；

R^{29} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基、-環己基、 $-CH_2-C(O)OR^{43}$ 、



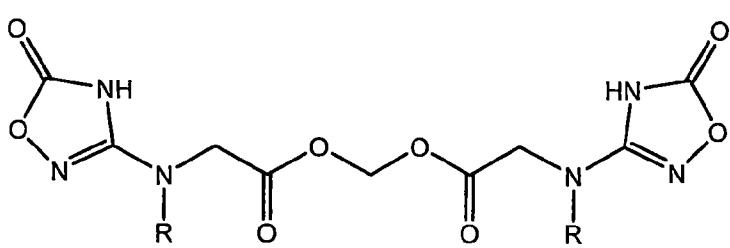
$-CH_2-(O)C(O)R^{43}$ 、 $-CH_2-(O)C(O)OR^{43}$ 或

R^{39} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；

R^{43} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；且

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；

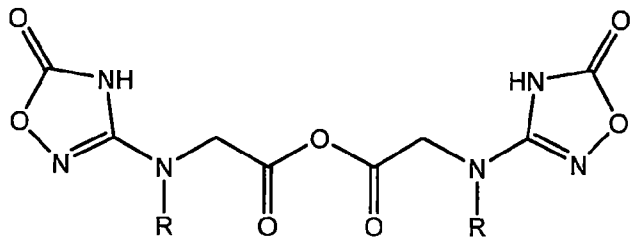
其中式(XVIII)化合物為：



(XVIII)

其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃ ；

其中式 (XIX) 化合物為：

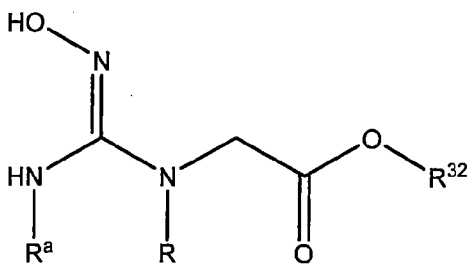


(XIX)

其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃ 。

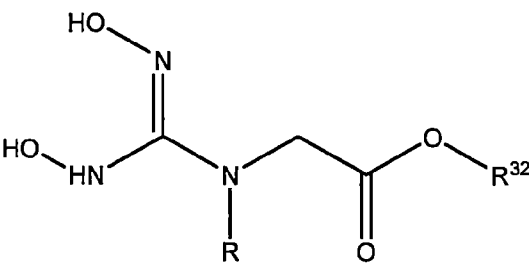
[0014] 在又一實施例中，式 (VI) 化合物為式 (XXII)、式 (XXIII)、式 (XXIV)、式 (XXV)、式 (XXVI)、式 (XXVII) 或式 (XXVIII) 之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體；

其中式 (XXII) 化合物為：



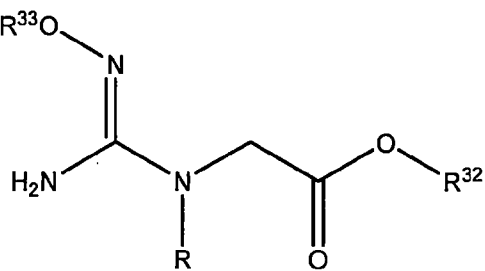
(XXII)

其中式 (XXIII) 化合物為：



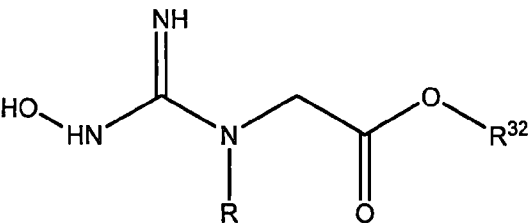
(XXIII)

其中式(XXIV)化合物為：



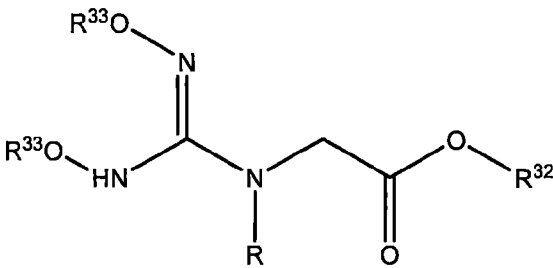
(XXIV)

其中式(XXV)化合物為：



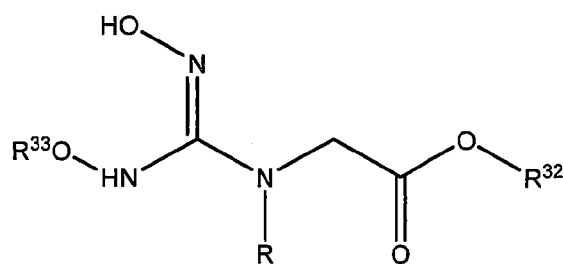
(XXV)

其中式(XXVI)化合物為：



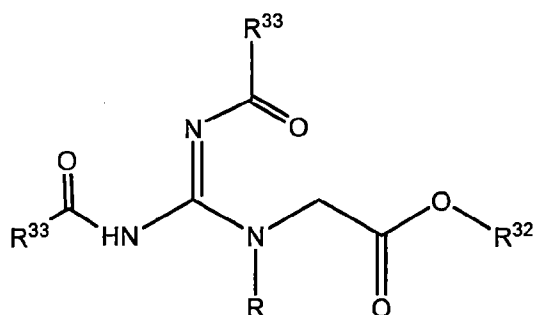
(XXVI)

其中式(XXVII)化合物為：



(XXVII)

其中式 (XXVIII) 化合物為：

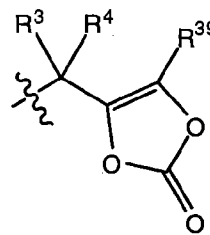


(XXVIII)

其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^a 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第三丁基；

R^{32} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基、環己基、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{43}$ 、



$-\text{CH}_2-(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^{43}$ 、 $-\text{CH}_2-(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{OR}^{43}$ 或

R^{39} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；

R^{33} 獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；

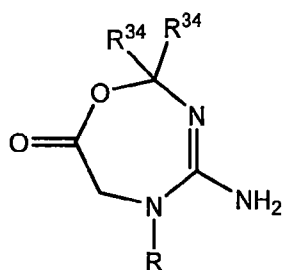
R^{43} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁

基、十二烷基、苯基或環己基；且

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基。

[0015] 在又一實施例中，式(VII)化合物為式(XXIX)化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體；

其中式(XXIX)化合物為：

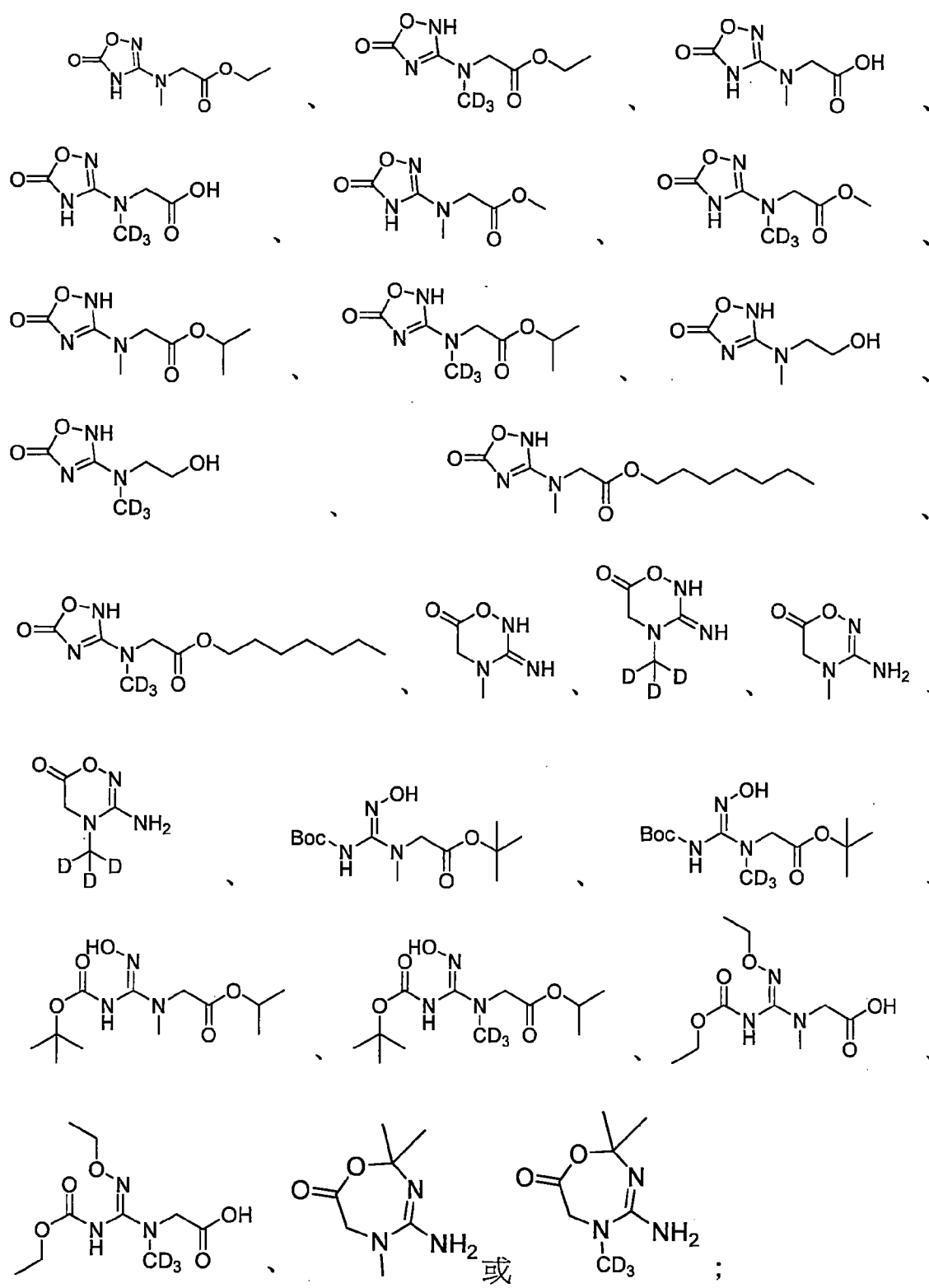


(XXIX)

其中 R 為 $-CH_3$ 或 $-CD_3$ ；且

R^{34} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基。

[0016] 在一實施例中，本發明描述具有以下結構之化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體。

[0017] 在另一實施例中，本發明描述醫藥組合物，

其包含治療有效量之至少一種式(I)、(III)、(VI)及(VII)化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體，或以上各物中任一者之醫藥學上可接受之溶劑合物及醫藥學上可接受之媒劑。在一實施例中，本發明描述醫藥組合物，其包含治療有效量之至少一種如本文所揭示之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體，或以上各物中任一者之醫藥學上可接受之溶劑合物及醫藥學上可接受之媒劑。

[0018] 在一些實施例中，醫藥組合物可經調配為一或多種持續釋放之口服劑型。

[0019] 在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種本發明之化合物，其量可有效治療患者之疾病，其中該疾病為局部缺血、氧化應激、神經退化性疾病、局部缺血再灌注損傷、心血管疾病、影響肌酸激酶系統之遺傳疾病、多發性硬化症、精神障礙及肌肉疲勞；其量足以在受疾病影響之組織或器官中實現能量平衡；其量可有效增強患者之肌肉強度；其量可有效改良組織或器官之存活力；或其量可有效改良細胞之存活力。在另一實施例中，醫藥組合物包含至少一種本發明之化合物，其量可有效治療影響肌酸激酶系統之遺傳疾病。在一些實施例中，醫藥組合物包含至少一種本發明之化合物，其量可有效治療肌酸轉運體障礙。在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種本發明之化合物，其量可有效治療肌酸合成障礙。

[0020] 在一實施例中，本發明描述治療患者之與能量代謝功能障礙相關之疾病的方法，該疾病諸如患者之局部缺血、氧化應激、神經退化性疾病(包括肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、亨廷頓氏病、帕金森氏病或阿茲海默氏病)、局部缺血再灌注損傷、心血管疾病、多發性硬化症(MS)、精神障礙、影響肌酸激酶系統之遺傳疾病或肌肉疲勞，其包括向需要該治療之患者投與治療有效量之至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或包含至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體的醫藥組合物。

[0021] 在另一實施例中，描述用於治療影響肌酸激酶系統之遺傳疾病(諸如患者之肌酸轉運體障礙或肌酸合成障礙)的方法，其包括向需要該治療之患者投與治療有效量之至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或包含至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體的醫藥組合物。

[0022] 在其他實施例中，描述用於增強患者之肌肉強度之方法，其包括向需要該增強之患者投與治療有效量之至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞

屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或包含至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體的醫藥組合物。

[0023] 在又一實施例中，描述用於增加組織或器官之存活力的方法，其包括使組織或器官與有效量之至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或包含至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體的醫藥組合物接觸。

[0024] 在又一實施例中，描述用於改良分離細胞之存活力的方法，其包括使細胞與有效量之至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或包含至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體的醫藥組合物接觸。

[0025] 在另一實施例中，描述用於治療與氧化應激相關之疾病的方法，其包括向需要該治療之患者投與有效量之至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或包含至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之

鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體的醫藥組合物。

[0026] 在另一實施例中，描述用於改良組織或器官之存活力以治療表現能量代謝功能障礙之組織或器官的方法，其包括使至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或包含至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體的醫藥組合物與組織或器官接觸。

[0027] 在又一實施例中，描述用於在組織或器官中實現能量平衡之方法，其包括使至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或包含至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體的醫藥組合物與組織或器官接觸。

[0028] 在另一實施例中，描述用於治療氧化應激組織或器官之方法，其包括使至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或包含至少一種式(I)、(III)、(VI)、(VII)之化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體的醫藥組合物與組織或器官接觸。

[0029] 除非另外定義，否則本文所用之所有技術及

科學術語具有如本發明所屬領域一般技術人員通常所理解之相同含義。在說明書中，除非上下文中另外明確指出，否則單數形式亦包括複數形式。儘管在本發明之實踐或測試中可使用與本文所述彼等類似或等效之方法及材料，但下文描述合適之方法及材料。本文提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考文獻均以引用方式併入。本文引用之參考文獻並非承認作為所主張發明之先前技術。在衝突之情形下，將以本說明書(包括定義)為準。另外，材料、方法及實例僅為說明性的且並非欲限制。

[0030] 本發明之其他特徵及優勢將由下文實施方式及申請專利範圍顯而易見。

【實施方式】

定義

[0031] 並非位於兩個字母或符號之間之短劃線(「-」)用於指示部分或取代基之連接點。舉例而言，-CONH₂係經由碳原子連接。

[0032] 「烷基」本身或作為另一取代基之部分係指藉由自親本烷烴、烯烴或炔烴之單一碳原子移除一個氫原子所衍生之飽和或不飽和、分支鏈或直鏈單價烴基。烷基之實例包括(但不限於)甲基；乙基，諸如乙烷基、乙烯基及乙炔基；丙基，諸如丙-1-基、丙-2-基、丙-1-烯-1-基、丙-1-烯-2-基、丙-2-烯-1-基(烯丙基)、丙-1-炔-1-基、丙-2-炔-1-基等；丁基，諸如丁-1-基、丁-2-基、2-甲基-丙-1-

基、2-甲基-丙-2-基、丁-1-烯-1-基、丁-1-烯-2-基、2-甲基-丙-1-烯-1-基、丁-2-烯-1-基、丁-2-烯-2-基、丁-1,3-二烯-1-基、丁-1,3-二烯-2-基、丁-1-炔-1-基、丁-1-炔-3-基、丁-3-炔-1-基等；及其類似基團。

[0033] 術語「烷基」尤其欲包括具有任何飽和度或水準之基團，亦即專門具有碳碳單鍵之基團、具有一或多個碳碳雙鍵之基團、具有一或多個碳碳參鍵之基團及具有碳碳單鍵、碳碳雙鍵及碳碳參鍵混合物之基團。當想要特定飽和水準時，使用術語「烷基」、「烯基」及「炔基」。在某些實施例中，烷基可具有 1 至 20 個碳原子，在某些實施例中具有 1 至 12 個碳原子，在某些實施例中具有 1 至 10 個碳原子，在某些實施例中具有 1 至 6 個碳原子且在某些實施例中具有 1 至 3 個碳原子。

[0034] 「烷氧基」本身或作為另一取代基之部分係指基團 OR^{31} ，其中 R^{31} 係選自如本文所定義之烷基、雜烷基、環烷基、雜環烷基、環烷基烷基、雜環烷基烷基、芳基、雜芳基、芳基烷基及雜芳基烷基。烷氧基之實例包括(但不限於)甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、環己氧基及其類似基團。

[0035] 「芳基」本身或作為另一取代基之部分係指藉由自親本芳族環系統之單一碳原子移除一個氫原子所衍生之單價芳族烴基。芳基涵蓋 5 員及 6 員碳環芳族環，例如苯；雙環狀環系統，其中至少一個環係碳環且芳族的，例如萘、茚滿及四氫萘；及三環狀環系統，其中至少一個

環係碳環且芳族的，例如萸。芳基涵蓋具有至少一個與至少一個碳環芳族環、環烷基環或雜環烷基環稠合之碳環芳族環的多環系統。舉例而言，芳基包括與含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 5 員至 7 員雜環烷基環稠合之 5 員及 6 員碳環芳族環。對於其中僅一個環為碳環芳族環之該等稠合雙環狀環系統而言，連接點可位於碳環芳族環或雜環烷基環。芳基之實例包括(但不限於)衍生自以下各物之基團：乙烯合蒽、乙烯合萘、乙烯合菲、蒽、萸、苯、蒎、蒎、茋、茋、茋、萸、稠六苯、己芬、己烯、不對稱引達省(as-indacene)、對稱引達省(s-indacene)、茛滿、茛、萘、辛烯(octacene)、辛芬(octaphene)、艾氏劑(octalene)、卵苯、戊-2,4 二烯、稠五苯、并環戊二烯、五苯、茈、非那烯、菲、茈、七曜烯、茈、皮蒽(pyranthrene)、玉紅省(rubicene)、苯并菲(triphenylene)、聯三萘(trinaphthalene)及其類似物。在某些實施例中，芳基可具有 6 至 20 個碳原子、6 至 12 個碳原子且在某些實施例中具有 6 至 8 個碳原子。然而，芳基並不涵蓋本文中單獨定義之雜芳基或以任何方式與其重疊。

[0036] 「芳基烷基」本身或作為另一取代基之部分係指其中與碳原子(通常為末端或 sp^3 碳原子)鍵結之氫原子之一經芳基置換之非環狀烷基。芳基烷基之實例包括(但不限於)苺基、2-苺基乙烷-1-基、2-苺基乙烯-1-基、萘基甲基、2-萘基乙烷-1-基、2-萘基乙烯-1-基、萘并苺基、2-萘并苺基乙烷-1-基及其類似基團。當意指特定烷基

部分時，使用術語芳基烷基、芳基烯基或芳基炔基。在某些實施例中，芳基烷基為 C_{6-30} 芳基烷基，例如芳基烷基之烷基、烯基或炔基部分為 C_{1-10} 且芳基部分為 C_{6-20} ，在某些實施例中芳基烷基為 C_{6-20} 芳基烷基，例如芳基烷基之烷基、烯基或炔基部分為 C_{1-8} 且芳基部分為 C_{6-12} 。

[0037] 「AUC」係表示患者體內生物流體中之化合物或其代謝物之濃度隨向患者投與化合物後之時間而變化之曲線下面積。在某些實施例中，化合物可為前藥且代謝物可為藥物。生物流體之實例包括血漿及血液。AUC 可藉由使用諸如液相層析-串聯式質譜法(LC/MS/MS)之方法以各種時間間隔量測諸如血漿或血液之生物流體中的化合物或其代謝物之濃度並計算血漿濃度相對於時間曲線下之面積來確定。此項技術中熟知由藥物濃度相對於時間曲線計算 AUC 之合適方法。關於本發明，可藉由在向患者投與本發明之相應化合物之後隨時間量測患者之血漿、血液或其他生物流體或組織中之藥物濃度來確定藥物或其代謝物之 AUC。

[0038] 「生物可用性」係指在向患者投與藥物或其前藥後藥物在患者體內達到全身循環的速率及量且可藉由評估例如藥物之血漿或血液濃度相對於時間之概況來確定。適用於表徵血漿或血液濃度相對於時間曲線之參數包括曲線下面積(AUC)、達到最大濃度之時間(T_{max})及最大藥物濃度(C_{max})，其中 C_{max} 係在向患者投與一定劑量之藥物或藥物形式後患者之血漿或血液中藥物的最大濃度，且

$T_{\max}$ 係在向患者投與一定劑量之藥物或藥物形式後患者之血漿或血液中藥物達到最大濃度($C_{\max}$)之時間。

[0039] 「 $C_{\max}$ 」係在向患者投與一定劑量之藥物或前藥後患者之血漿或血液中藥物的最大濃度。

[0040] 「 $T_{\max}$ 」係在向患者投與一定劑量之藥物或前藥後患者之血漿或血液中藥物達到最大(峰值)濃度($C_{\max}$)之時間。

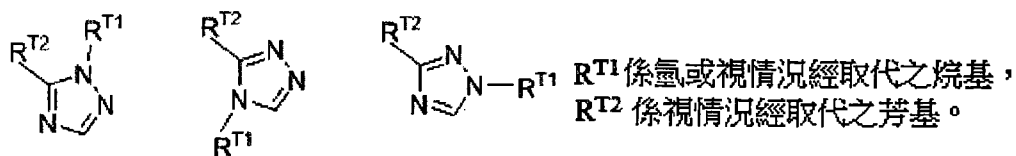
[0041] 「本發明之化合物」包括該等式中之任何特定化合物。化合物可由其化學結構及/或化學名稱來識別。當化學結構與化學名稱衝突時，化學結構決定化合物之身分。本文所述之化合物可包含一或多個對掌性中心及/或雙鍵且因此可以立體異構體形式存在，諸如雙鍵異構體(亦即，幾何異構體)、對映異構體或非對映異構體。因此，所述說明書範疇內具有相對構型之任何化學結構整個或部分地涵蓋所說明化合物之所有可能的對映異構體及立體異構體，包括立體異構純形式(例如，幾何純、對映異構純或非對映異構純)及對映異構與立體異構混合物。對映異構與立體異構混合物可使用熟習此項技術者熟知之分離技術或對掌性合成技術解析為其組分對映異構體或立體異構體。本發明之化合物亦稱為「肌酸前藥」或「本發明之前藥」。

[0042] 本發明之化合物包括(但不限於)本發明化合物之立體異構體或光學異構體、其外消旋物及其其他混合物。在該等實施例中，單一之對映異構體或非對映異構

體，亦即光學活性形式，可藉由不對稱合成或藉由解析外消旋物而獲得。解析外消旋物例如可藉由諸如在解析劑存在下結晶或例如使用對掌性高壓液相層析(HPLC)管柱層析之習知方法來實現。另外，本發明之化合物包括具有雙鍵之 Z 形式及 E 形式(或順及反形式)之化合物。在本發明之化合物以各種互變異構形式存在之實施例中，化合物包括所有互變異構形式之化合物。

[0043] 「立體異構體」係指由相同鍵鍵結之相同原子組成但具有不可互換之不同三維結構的化合物。本發明涵蓋各種立體異構體及其混合物且包括「對映異構體」，其係指分子為彼此之不可疊加鏡像的兩種立體異構體。

[0044] 本發明之化合物亦可存在若干種互變異構形式，且本文關於一種互變異構體之描述僅為方便起見，且亦應理解為涵蓋所示形式之其他互變異構體。因此，本文所述之化學結構涵蓋所說明化合物之所有可能的互變異構形式。如本文所用之術語「互變異構體」係指極易相互變化以便其可一起平衡存在之異構體。舉例而言，酮與烯醇係一種化合物之兩種互變異構形式。在另一實例中，經取代之 1,2,4-三唑衍生物可存在如下所示之至少三種互變異構形式：



[0045] 本發明之化合物亦包括同位素標記之化合

物，其中一或多個原子具有與自然界中常見之原子質量不同之原子質量。可併入本文揭示之化合物中之同位素之實例包括(但不限於) ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 等。化合物可存在非溶劑合物之形式以及溶劑合物之形式，包括水合形式及 N 氧化物形式。一般而言，化合物可為水合物、溶劑合物或 N 氧化物。某些化合物可存在多晶或非晶形式。本發明之化合物包括游離酸形式之任何前述各物以及結晶形式之任何前述各物的醫藥學上可接受之鹽或醫藥學上可接受之溶劑合物。

[0046] 「肌酸激酶系統」包括(但不限於)肌酸轉運體、肌酸、肌酸激酶、磷酸肌酸及肌酸之細胞內能量轉運體、肌酸激酶及/或磷酸肌酸。肌酸激酶系統包括粒腺體及細胞質肌酸激酶系統。影響肌酸激酶系統係指對包含肌酸激酶系統之化合物及蛋白的轉運、合成、代謝、易位及其類似作用。

[0047] 「環烷基」本身或作為另一取代基之部分係指飽和或部分不飽和之環狀烷基。當意指特定飽和水準時，使用術語「環烷基」或「環烯基」。環烷基之實例包括(但不限於)衍生自環丙烷、環丁烷、環戊烷、環己烷及其類似物之基團。在某些實施例中，環烷基為 C_{3-15} 環烷基、 C_{5-12} 環烷基且在某些實施例中為 C_{3-7} 環烷基。

[0048] 「環烷基烷基」本身或作為另一取代基之部分係指其中與碳原子(通常為末端或 sp^3 碳原子)鍵結之氫原子之一經環烷基置換之非環狀烷基。當意指特定烷基部

分時，使用術語環烷基烷基、環烷基烯基或環烷基炔基。在某些實施例中，環烷基烷基為 C_{7-30} 環烷基烷基，例如環烷基烷基之烷基、烯基或炔基部分為 C_{1-10} 且環烷基部分為 C_{6-20} ，且在某些實施例中，環烷基烷基為 C_{7-20} 環烷基烷基，例如環烷基烷基之烷基、烯基或炔基部分為 C_{1-8} 且環烷基部分為 C_{4-20} 或 C_{6-12} 。

[0049] 「疾病」係指疾病、病症、病況、症狀或適應症。

[0050] 「鹵素」係指氟基、氯基、溴基或碘基。

[0051] 「雜烷基」本身或作為另一取代基之部分係指其中一或多個碳原子(及任何相關氫原子)各自獨立地經相同或不同雜原子基團置換之烷基。雜原子基團之實例包括(但不限於)-O-、-S-、-O-O-、-S-S-、-O-S-、-NR⁵⁷R⁵⁸-、=N-N=、-N=N-、-N=N-NR⁵⁹R⁶⁰-、-PR⁶¹-、-P(O)₂-、-POR⁶²-、-O-P(O)₂-、-SO-、-SO₂-、-SnR⁶³R⁶⁴-及其類似基團，其中 R⁵⁷、R⁵⁸、R⁵⁹、R⁶⁰、R⁶¹、R⁶²、R⁶³ 及 R⁶⁴ 各自獨立地選自氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{6-12} 芳基、經取代之 C_{6-12} 芳基、 C_{7-18} 芳基烷基、經取代之 C_{7-18} 芳基烷基、 C_{3-7} 環烷基、經取代之 C_{3-7} 環烷基、 C_{3-7} 雜環烷基、經取代之 C_{3-7} 雜環烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{6-12} 雜芳基、經取代之 C_{6-12} 雜芳基、 C_{7-18} 雜芳基烷基或經取代之 C_{7-18} 雜芳基烷基。當意指特定飽和水準時，使用術語「雜烷基」、「雜烯基」或 R⁶⁰、R⁶¹、R⁶²、R⁶³ 及 R⁶⁴ 「雜炔基」。在某些實施例中，R⁵⁷、

R⁵⁸、R⁵⁹ 各自獨立地選自氫及 C₁₋₃ 烷基。

[0052] 「雜芳基」本身或作為另一取代基之部分係指藉由自親本雜芳族環系統之單一原子移除一個氫原子所衍生之單價雜芳族基團。雜芳基涵蓋具有至少一個與至少一個可為芳族或非芳族之其他環稠合之雜芳族環的多環系統。雜芳基涵蓋含有一或多個，例如 1 至 4 個或在某些實施例中 1 至 3 個選自 N、O 及 S 之雜原子，剩餘環原子為碳之 5 至 7 員芳族單環狀環；及含有一或多個，例如 1 至 4 個或在某些實施例中 1 至 3 個選自 N、O 及 S 之雜原子，剩餘環原子為碳且其中在芳族環中存在至少一個雜原子之雙環狀雜環烷基環。舉例而言，雜芳基包括與 5 至 7 員環烷基環稠合之 5 至 7 員雜芳族環。對於其中僅一個環為碳環芳族環之該等稠合雙環狀環系統而言，連接點可位於碳環芳族環或雜環烷基環。在某些實施例中，雜芳基中 N、S 及 O 原子之總數超過 1，雜原子並非彼此相鄰。在某些實施例中，雜芳基中 N、S 及 O 原子之總數不大於 2。在某些實施例中，芳族雜環中 N、S 及 O 原子之總數不大於 1。雜芳基不涵蓋如本文所定義之芳基或不與其重疊。

[0053] 雜芳基之實例包括(但不限於)衍生自以下各物之基團：吡啶、砷啉、呋唑、β-呋啉、色原烷、色烯、噻啉、呋喃、咪唑、吡唑、吡啉、吡啉啉、吡啉嗪、異苯并呋喃、異色烯、異吡啉、異吡啉啉、異噻啉、異噻唑、異噻唑、蔡啶、噁二唑、噁唑、呋啶、啡啶、啡啉、啡嗪、

呋喃、噻吩、吡啶、嘧啶、咪唑、吡嗪、吡啶、嘧啶、吡咯、吡咯嗪、喹啉、喹啉、喹啉、喹啉、四唑、噁二唑、噁唑、噁吩、三唑、咕啉及其類似物。在某些實施例中，雜芳基為 5 至 20 員雜芳基，在某些實施例中為 5 至 10 員雜芳基且在某些實施例中為 6 至 8 員雜芳基。在某些實施例中，雜芳基為衍生自噁吩、吡咯、苯并噁吩、苯并呋喃、吡啶、喹啉、咪唑、噁唑或吡嗪之彼等基團。

[0054] 「雜芳基烷基」本身或作為另一取代基之部分係指其中與碳原子鍵結之氫原子之一經雜芳基置換之非環狀烷基。末端或 sp^3 碳原子通常為經雜芳基置換之原子。當意指特定烷基部分時，使用術語「雜芳基烷基」、「雜芳基烯基」及「雜芳基炔基」。在某些實施例中，雜芳基烷基為 6 至 30 員雜芳基烷基，例如雜芳基烷基之烷基、烯基或炔基部分為 1 至 10 員且雜芳基部分為 5 至 20 員雜芳基，且在某些實施例中為 6 至 20 員雜芳基烷基，例如雜芳基烷基之烷基、烯基或炔基部分為 1 至 8 員且雜芳基部分為 5 至 12 員雜芳基。

[0055] 「雜環烷基」本身或作為另一取代基之部分係指其中一或多個碳原子(及任何相關氫原子)各自獨立地經相同或不同雜原子置換之部分飽和或不飽和環狀烷基。置換碳原子之雜原子之實例包括(但不限於)N、P、O、S、Si 等。當意指特定飽和水準時，使用術語「雜環烷基」或「雜環烯基」。雜環烷基之實例包括(但不限於)衍生自以

下各物之基團：環氧化物、吡啶、硫雜丙環、咪唑啉、嗎啉、哌嗪、哌啶、吡啶、吡咯啉、奎寧環及其類似物。

[0056] 「雜環烷基烷基」本身或作為另一取代基之部分係指其中與碳原子(通常為末端或 sp^3 碳原子)鍵結之氫原子之一經雜環烷基置換之非環狀烷基。當意指特定烷基部分時，使用術語雜環烷基烷基、雜環烷基烯基或雜環烷基炔基。在某些實施例中，雜環烷基烷基為 6 至 30 員雜環烷基烷基，例如雜環烷基烷基之烷基、烯基或炔基部分為 1 至 10 員且雜環烷基部分為 5 至 20 員雜環烷基，且在某些實施例中為 6 至 20 員雜環烷基烷基，例如雜環烷基烷基之烷基、烯基或炔基部分為 1 至 8 員且雜環烷基部分為 5 至 12 員雜環烷基。

[0057] 「離去基」係指可由親核劑替代之原子或基團且包括鹵素(諸如氯、溴、氟及碘)、烷氧基羰基(例如，乙醯氧基)、芳氧基羰基、甲磺醯氧基、甲苯磺醯氧基、三氟甲烷磺醯氧基、芳氧基(例如，2,4-二硝基苯氧基)、甲氧基、N,O-二甲基羥基胺基及其類似基團。

[0058] 「親本芳族環系統」係指具有共軛 π 電子系統之不飽和環狀或多環狀環系統。「親本芳族環系統」之定義中包括其中一或多個環為芳族且一或多個環飽和或不飽和之稠合環系統，諸如萘、蒽、茚、非那烯等。親本芳族環系統之實例包括(但不限於)乙烯合蒽、乙烯合萘、乙烯合菲、蒽、萘、苯、蒎、蒎、茱萸、萘、稠六苯、己芬、己烯、不對稱引達省、對稱引達省、茱萸、茱、萘、

辛烯、辛芬、艾氏劑、卵苯、戊-2,4 二烯、稠五苯、并環戊二烯、五苯、茈、非那烯、菲、茈、七曜烯、茈、皮蔥、玉紅省、苯并菲、聯三苯及其類似物。

[0059] 「親本雜芳族環系統」係指其中一或多個碳原子(及任何相關氫原子)各自獨立地經相同或不同雜原子置換之芳族環系統。置換碳原子之雜原子的實例包括(但不限於)N、P、O、S 及 Si 等。「親本雜芳族環系統」之定義中特定包括其中一或多個環為芳族且一或多個環為飽和或不飽和之稠合環系統，諸如砷啉、苯并二噁烷、苯并呋喃、色原烷、色烯、吲哚、吲哚啉、咕啉等。親本雜芳族環系統之實例包括(但不限於)砷啉、呋喃、 β -呋喃、色原烷、色烯、噻吩、呋喃、咪唑、吡唑、吲哚、吲哚啉、吲哚嗪、異苯并呋喃、異色烯、異吲哚、異吲哚啉、異噻吩、異噻唑、異噁唑、蔡啶、噁二唑、噁唑、呋啶、啡啶、啡啉、啡嗪、吡嗪、喋啶、嘌呤、嘧啶、吡嗪、吡唑、噻嗪、吡啶、噻啶、吡咯、吡咯嗪、噻吩啉、噻吩、噻嗪、噻啉、四唑、噻二唑、噻唑、噻吩、三唑、咕啉及其類似物。

[0060] 「患者」係指動物，較佳為哺乳動物，最佳為人類且包括男性及女性以及兒童與成人。

[0061] 「醫藥組合物」係指至少一種本發明之化合物與至少一種醫藥學上可接受之媒劑，至少一種本發明之化合物與其一起投與至患者，與組織或器官接觸或與細胞接觸。「醫藥學上可接受」係指為聯邦監管局(regulatory

agency of the Federal)或州政府所認可或可受其認可或在美國藥典或其他普遍認識之藥典中列舉用於動物且更尤其用於人類。

[0062] 「醫藥學上可接受之鹽」係指化合物之鹽，其具備親本化合物所需之藥理學活性。該等鹽包括：(1)酸加成鹽，與諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸及其類似物之無機酸形成；或與諸如乙酸、丙酸、己酸、環戊烷丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、丁二酸、蘋果酸、順丁烯二酸、反丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、3-(4-羥基苄醯基)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲烷磺酸、乙烷磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羥基乙烷磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟腦磺酸、4-甲基雙環[2.2.2]-辛-2-烯-1-甲酸、葡庚糖酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、第三丁基乙酸、月桂基硫酸、葡糖酸、麩胺酸、羥基苯甲酸、水楊酸、硬脂酸、黏康酸及其類似物之有機酸形成；及(2)當親本化合物中存在之酸性質子經金屬離子(例如，鹼金屬離子、鹼土離子或鋁離子)置換；或與諸如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、N-甲基還原葡糖胺及其類似物之有機鹼配位時形成之鹽。在某些實施例中，醫藥學上可接受之鹽係鹽酸鹽。

[0063] 「醫藥學上可接受之媒劑」係指醫藥學上可接受之稀釋劑、醫藥學上可接受之佐劑、醫藥學上可接受之賦形劑、醫藥學上可接受之載劑或可與本發明之化合物一起投與患者且不破壞其藥理學活性且在足以提供治療

有效量之化合物之劑量投與時無毒性的任何以上各物的組合。

[0064] 「前藥」係指需要在體內轉化以釋放活性藥物之藥物分子的衍生物。儘管非必然，但前藥在藥理學上常係非活性的直至轉化為親本藥物。式(I)化合物、(III)、(VI)、(VII)及其任何亞屬或物種係可在患者體內代謝以釋放肌酸之肌酸前藥。

[0065] 「前部分」係指經由在規定使用條件下可斷裂之鍵與藥物鍵結、通常與藥物之官能基鍵結之基團。藥物與前部分之間之鍵可藉由酶促或非酶促方式斷裂。在使用條件下，例如在投與患者後，藥物與前部分之間之鍵可斷裂而釋放親本藥物。前部分之斷裂可自發繼續進行，諸如經由水解反應或其可由另一藥劑催化或誘發，諸如由酶、光、酸或由身體或環境參數之變化或暴露於身體或環境參數(諸如溫度、pH等之變化)。該藥劑可為使用條件內生的，諸如在投與前藥之患者之全身循環中存在之酶或胃之酸性條件，或該藥劑可外源性供應。

[0066] 「保護基」係指在與分子遮罩中之反應性基團連接時減小或防止反應性之原子基團。保護基之實例可見於 Wuts 與 Greene 之「Protective Groups in Organic Synthesis」John Wiley & Sons, 第4版。2006；Harrison等人,「Compendium of Organic Synthetic Methods」第1至11卷, John Wiley & Sons 1971-2003；Larock「Comprehensive Organic Transformations」John Wiley &

Sons, 第 2 版。2000；及 Paquette, 「Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis」 John Wiley & Sons, 第 11 版。2003 中。胺基保護基之實例包括(但不限於)甲醯基、乙醯基、三氟乙醯基、苄基、苄氧羰基(CBZ)、第三丁氧羰基(Boc)、三甲基矽基(TMS)、2-三甲基矽基-乙烷磺醯基(SES)、三苯甲基及經取代之三苯甲基、烯丙氧基羰基、9-芴基甲氧羰基(FMOC)、硝基-藜蘆氧基羰基(NVOC)及其類似基團。羥基保護基之實例包括(但不限於)其中羥基經醯化或烷基化之彼等基團，諸如苄基及三苯甲基醚以及烷基醚、四氫吡喃基醚、三烷基矽基醚及烯丙基醚。

[0067] 「溶劑合物」係指化合物與一或多個溶劑分子以化學計量或非化學計量之量的分子複合物。該等溶劑分子係醫藥學領域中常用之彼等溶劑分子，已知其對接受者無害，例如水、乙醇及其類似物。化合物或化合物之部分與溶劑之分子複合物可由非共價分子內力來穩定，該等非共價分子內力諸如靜電力、凡得瓦氏力(van der Waals force)或氫鍵。術語「水合物」係指其中一或多個溶劑分子係水之複合物，包括單水合物與半水合物。

[0068] 「實質上一種非對映異構體」係指含有兩個或兩個以上立體異構中心以使得非對映異構體過量(d.e.)之化合物大於或約至少為 90%的化合物。在某些實施例中，d.e.例如大於或至少為約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%或約 99%。

[0069] 「經取代」係指其中一或多個氫原子各自獨立地經相同或不同取代基置換之基團。取代基之實例包括(但不限於)-M、 $-R^{70}$ 、 $-O^-$ 、 $=O$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-S^-$ 、 $=S$ 、 $-NR^{70}R^{71}$ 、 $=NR^{70}$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)_2O^-$ 、 $-S(O)_2OH$ 、 $-S(O)_2R^{70}$ 、 $-OS(O)_2O^-$ 、 $-OS(O)_2R^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})(O^-)$ 、 $-OP(O)(OR^{70})(OR^{71})$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{70}R^{71}$ 、 $-C(O)O^-$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{72}C(O)NR^{70}R^{71}$ 、 $-NR^{72}C(S)NR^{70}R^{71}$ 、 $-NR^{72}C(NR^{73})NR^{70}R^{71}$ 及 $-C(NR^{72})NR^{70}R^{71}$ ，其中 M 獨立地為鹵素； R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 與 R^{73} 各自獨立地選自氫、烷基、烷氧基、環烷基、雜環烷基、芳基及雜芳基，或 R^{70} 與 R^{71} 連同其鍵結之氮原子一起形成選自雜環烷基環之環。在某些實施例中， R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 及 R^{73} 各自獨立地選自氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{3-12} 環烷基、 C_{3-12} 雜環烷基、 C_{6-12} 芳基及 C_{6-12} 雜芳基。在某些實施例中，每個取代基獨立地選自鹵素、 $-OH$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $=O$ 、 $-NO_2$ 、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{1-3} 烷基、 $-COOR^{80}$ ，其中 R^{80} 係選自氫、 C_{1-3} 烷基及 $(NR^{74})_2$ ，其中 R^{74} 各自獨立地為氫或 C_{1-3} 烷基。

[0070] 在某些實施例中，經取代之芳基及經取代之雜芳基包括一或多個以下取代基： F 、 Cl 、 Br 、 C_{1-3} 烷基、經取代烷基、 C_{1-3} 烷氧基、 $-S(O)_2NR^{50}R^{51}$ 、 $-NR^{50}R^{51}$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NR^{50}S(O)_2R^{51}$ 、

-NR⁵⁰C(O)R⁵¹、C₅₋₁₀ 芳基、經取代之 C₅₋₁₀ 芳基、C₅₋₁₀ 雜芳基、經取代之 C₅₋₁₀ 雜芳基、-C(O)OR⁵⁰、-NO₂、
 -C(O)R⁵⁰、-C(O)NR⁵⁰R⁵¹、-OCHF₂、C₁₋₃ 鹼基、-SR⁵⁰、
 -S(O)₂OH、-S(O)₂R⁵⁰、-S(O)R⁵⁰、-C(S)R⁵⁰、-C(O)O⁻、
 -C(S)OR⁵⁰、-NR⁵⁰C(O)NR⁵¹R⁵²、-NR⁵⁰C(S)NR⁵¹R⁵² 及
 -C(NR⁵⁰)NR⁵¹R⁵²、C₃₋₈ 環烷基及經取代之 C₃₋₈ 環烷基，其中 R⁵⁰、R⁵¹ 及 R⁵² 各自獨立地選自氫及 C₁₋₄ 烷基。

[0071] 在某些實施例中，取代基可選自鹵素、
 -NO₂、-OH、-COOH、-NH₂、-CN、-CF₃、-OCF₃、C₁₋₈ 烷基、經取代之 C₁₋₈ 烷基、C₁₋₈ 烷氧基及經取代之 C₁₋₈ 烷氧基，其中經取代之 C₁₋₈ 烷基及 C₁₋₈ 烷氧基的每個取代基係獨立地選自鹵素、-NO₂、-OH、-COOH、-NH₂、-CN、
 -CF₃、-OCF₃。

[0072] 在某些實施例中，每個取代基獨立地選自鹵素、-OH、-CN、-CF₃、=O、-NO₂、C₁₋₃ 烷氧基、C₁₋₃ 烷基、-COOR⁸⁰，其中 R⁸⁰ 係選自氫、C₁₋₃ 烷基及 (NR⁷⁴)₂，其中 R⁷⁴ 各自獨立地為氫或 C₁₋₃ 烷基。

[0073] 「治療有效量」係指在投與受檢者以供治療疾病或病症或疾病或病症之至少一種臨牀症狀時足以影響對疾病、病症或症狀之該種治療的化合物之量。「治療有效量」可例如視化合物、疾病、病症及/或疾病或病症之症狀、疾病、病症及/或疾病或病症之症狀的嚴重程度、受治療患者的年齡、體重及/或健康狀況以及處方醫師之判斷而變化。任意給定情形下之適當量可易於由熟習此項

技術者確定或能夠由常規實驗決定。

[0074] 「治療有效劑量」係指為患者之疾病或病症提供有效治療之劑量。治療有效劑量在化合物與化合物之間以及在患者與患者之間可變化，且可取決於諸如患者病況及傳遞途徑之因素。治療有效劑量可根據熟習此項技術者已知之常規藥理學程序來決定。

[0075] 「治療(treating 或 treatment)」任何疾病或病症係指阻止或減輕疾病、病症或疾病或病症之至少一種臨牀症狀、降低罹患疾病、病症或疾病或病症之至少一種臨牀症狀之風險、減少疾病、病症或疾病或病症之至少一種臨牀症狀之發展或降低疾病或病症或疾病或病症之至少一種臨牀症狀發展之風險。「治療」亦係指在身體上(例如，穩定可辨別之症狀)、生理學上(例如，穩定身體參數)或兩方面抑制疾病或病症及抑制患者可辨別或不可辨別之至少一種身體參數。在某些實施例中，「治療」係指延遲可能暴露於疾病或病症或傾向於疾病或病症的患者(即使患者尚未經歷或展現疾病或病症之症狀)的疾病或病症或其至少一或多種症狀的發作。

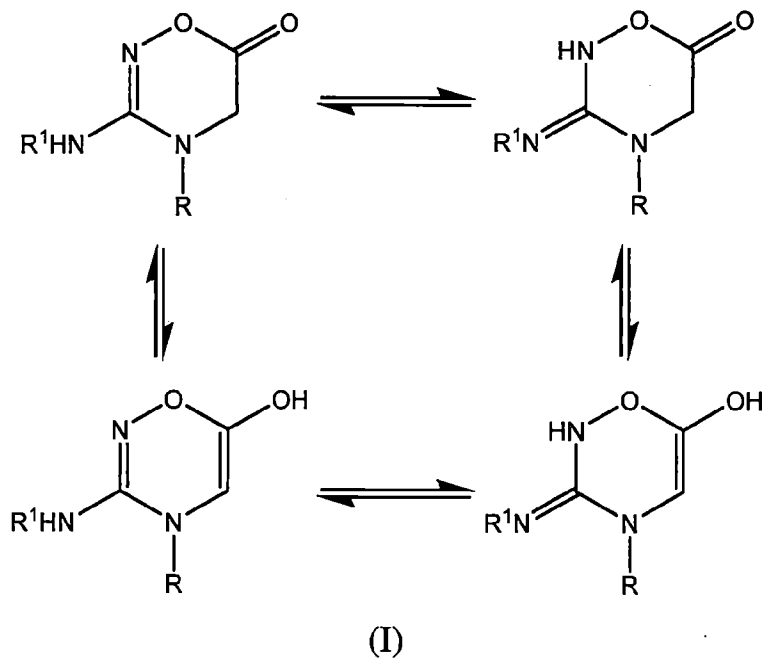
[0076] 現詳細參考化合物、組合物及方法之某些實施例。所揭示之實施例並非欲限制申請專利範圍。相反，申請專利範圍欲涵蓋所有替代物、修改及等效物。

肌酸前藥

[0077] 在某些實施例中，肌酸前藥係式(I)化合物或

其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體：

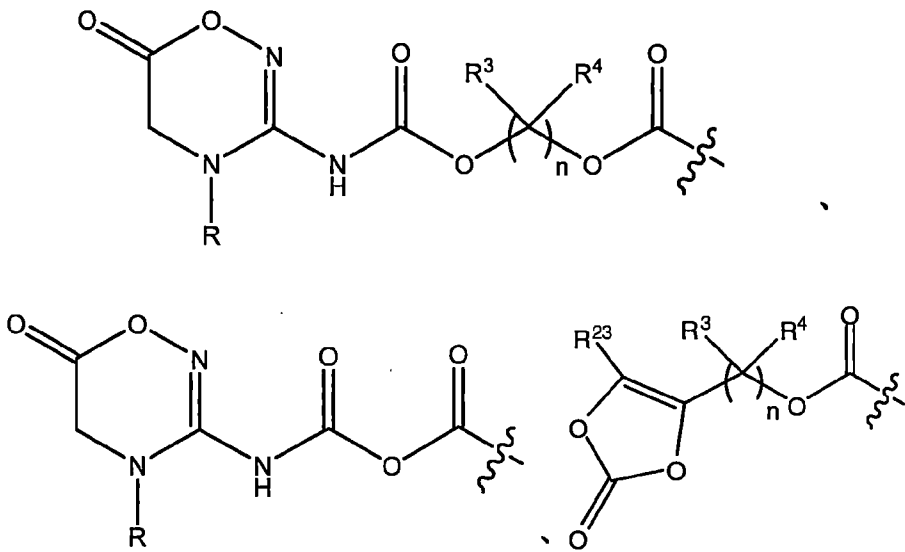
其中式(I)化合物為

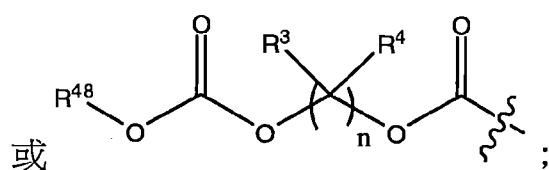


其中：

R 為 $-CH_3$ 或 $-CD_3$ ；

R^1 為氫、 $-OR^2$ 、 $-C(O)OR^2$ 、 $-C(O)R^2$ 、





n 為 1 至 2 之整數；

R^2 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；

R^{23} 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{5-12} 環烷基、經取代之 C_{5-12} 環烷基、 C_{5-12} 芳基及 C_{5-12} 經取代之芳基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^{22}$ 或 $-\text{C}(\text{O})-\text{R}^{22}$ ；

R^{22} 為 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基；且

R^{48} 為 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基。

[0078] 在式(I)化合物之某些實施例中， n 為整數 1。

[0079] 在式(I)化合物之某些實施例中， n 為整數 2。

[0080] 在式(I)化合物之某些實施例中， R^2 與 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二甲氧基乙基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、4-甲氧基苯基、苄基、苯乙基、苯乙烯基、環丙基、環丁基、環戊基、環己基、2-吡啶基、3-吡啶基或 4-吡啶基。

[0081] 在式(I)化合物之某些實施例中， R^2 與 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、環己基或 3-吡啶基。

[0082] 在式(I)化合物之某些實施例中， R^2 與 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、十二烷基、第三丁基、苯基或環己基。

[0083] 在式(I)化合物之某些實施例中， R^2 與 R^{22} 各自獨立地為乙基、異丙基或十二烷基。

[0084] 在式(I)化合物之某些實施例中， R^3 與 R^4 各自獨立地為氫。

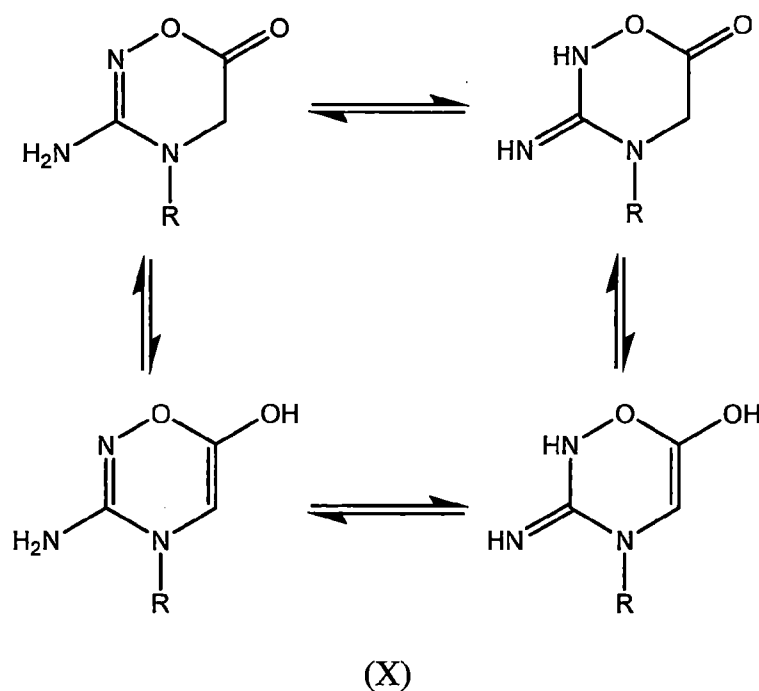
[0085] 在式(I)化合物之某些實施例中， R^{23} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基。

[0086] 在式(I)化合物之某些實施例中， R^{23} 為甲基。

[0087] 在式(I)化合物之某些實施例中，每個取代基獨立地為鹵素、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $=\text{O}$ 、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 烷氧基或經取代之 C_{1-12} 烷氧基、 $-\text{COOR}^{10'}$ ，其中 $R^{10'}$ 為氫、 C_{1-3} 烷基或 $-(\text{NR}^{11'})_2$ ，其中 $R^{11'}$ 各自獨立地為氫或 C_{1-3} 烷基。

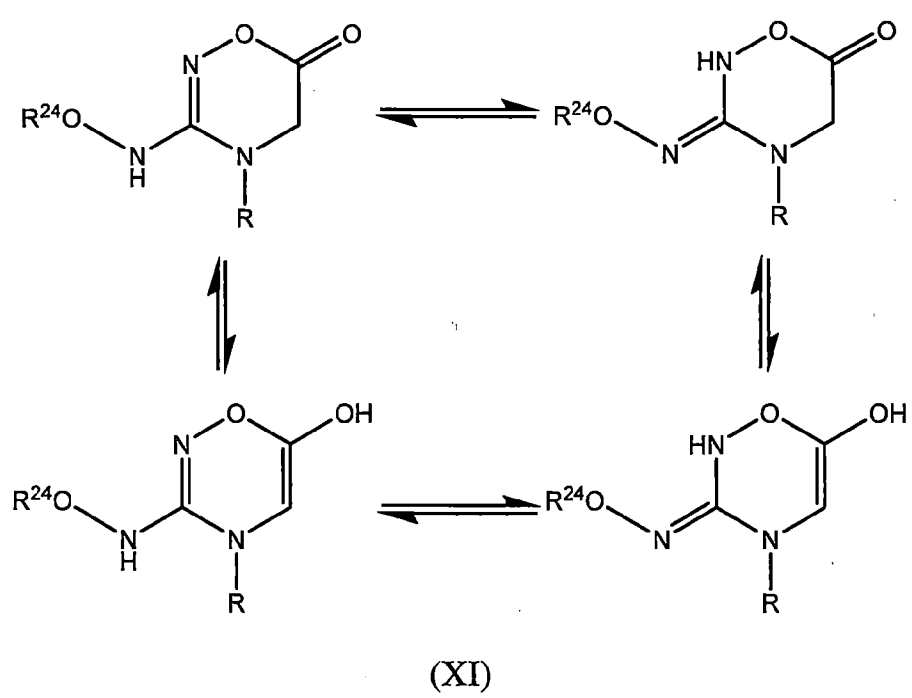
[0088] 在一些實施例中，式(I)化合物為式(X)、式(XI)、式(XII)、式(XIII)、式(XIV)、式(XV)、式(XVa)或式(XVb)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體；

其中式(X)化合物為：

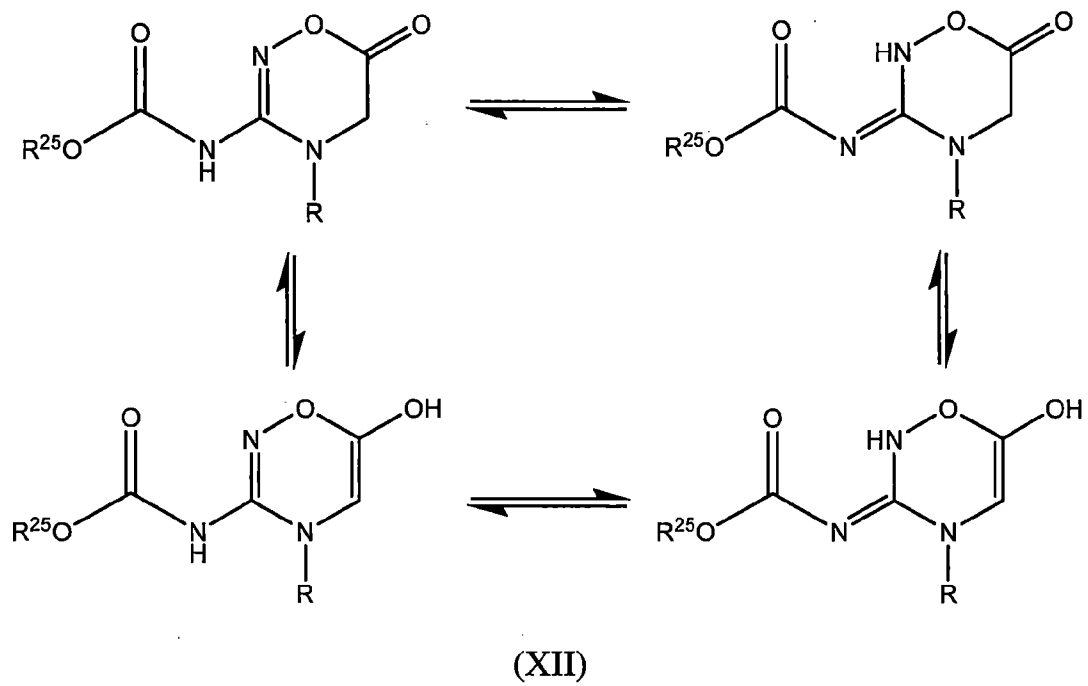


其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

其中式(XI)化合物為：



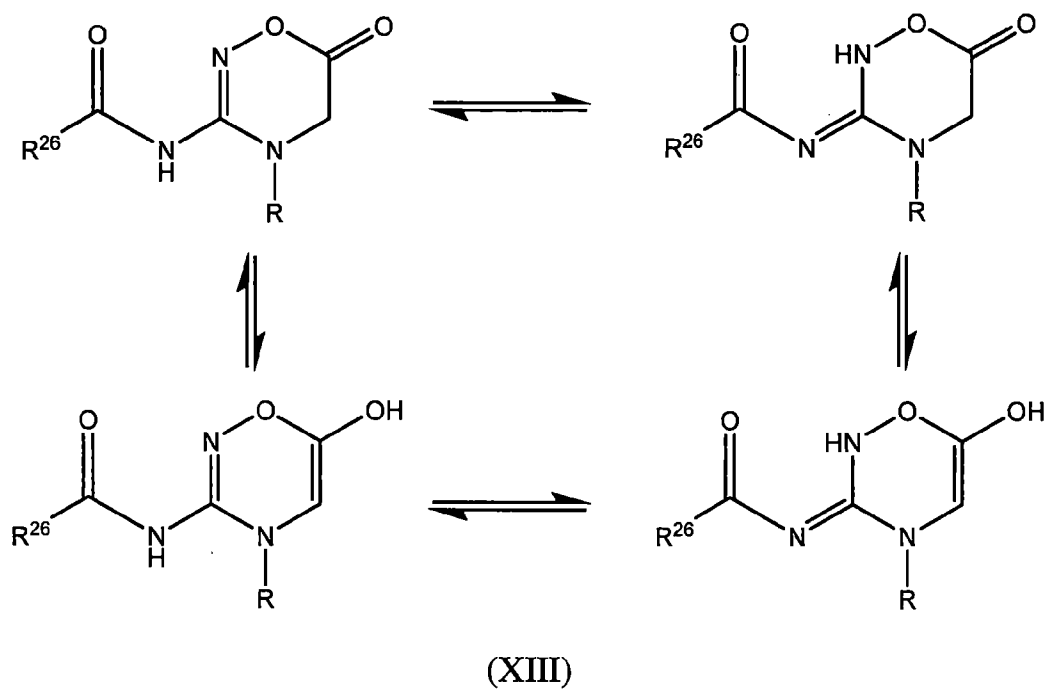
其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃；且
R²⁴ 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；
其中式(XII)化合物為：



其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃；且

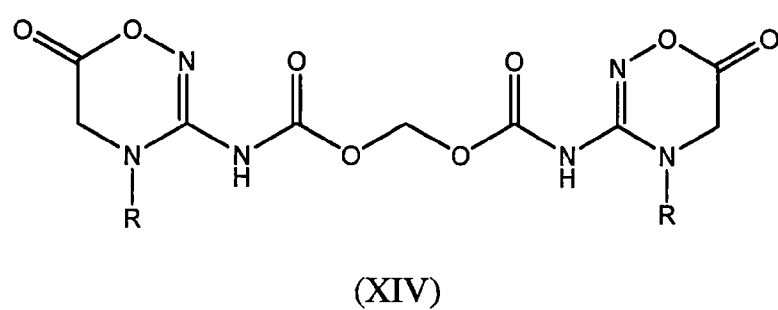
R^{25} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；

其中式(XIII)化合物為：

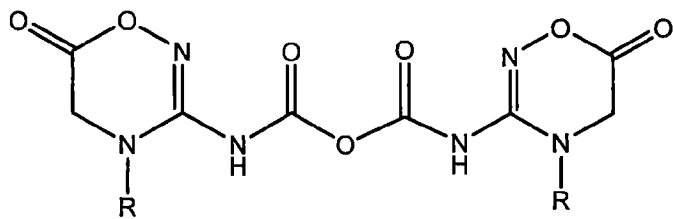


其中 R 為 $-CH_3$ 或 $-CD_3$ ；且
 R^{26} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；

其中式(XIV)化合物為：



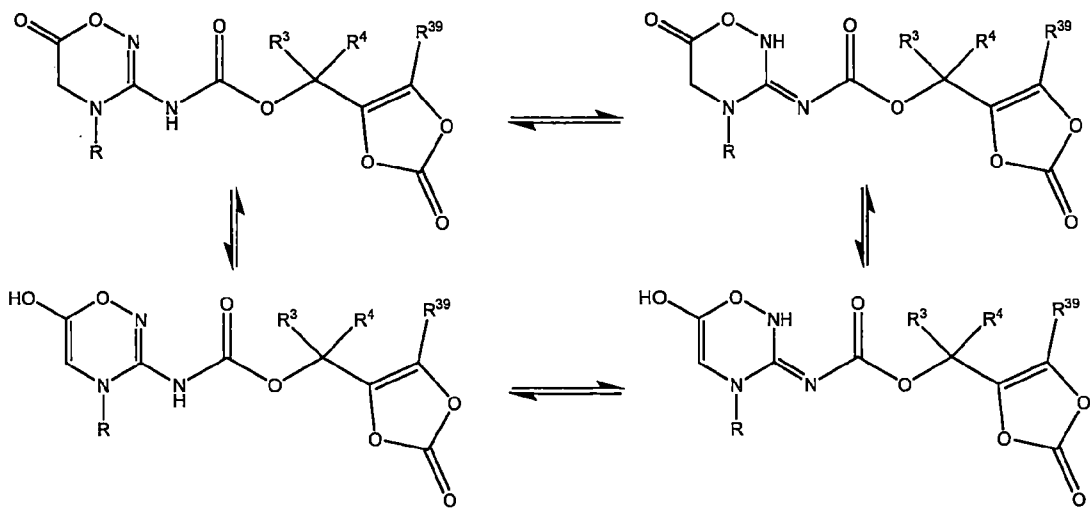
其中 R 為 $-CH_3$ 或 $-CD_3$ ；
其中式(XV)化合物為：



(XV)

其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃ ；

其中式 (XVa) 化合物為：



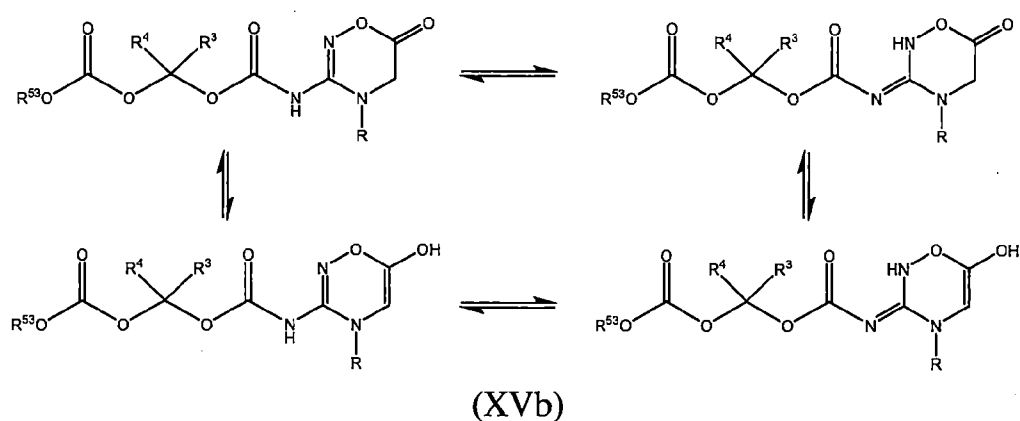
(XVa)

其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃ ；

R³⁹ 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基，且

R³ 與 R⁴ 獨立地為氫、C₁₋₁₂ 烷基或經取代之 C₁₋₁₂ 烷基；

其中式 (XVb) 化合物為：



其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；且

R^{53} 為 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基。

[0089] 在某些實施例中，在式 (XI)、(XII) 及 (XIII) 之化合物中， R^{24} 、 R^{25} 及 R^{26} 各自獨立地為乙基、異丙基或十二烷基。

[0090] 在某些實施例中，在式 (XVa) 化合物中， R^{39} 為甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基。

[0091] 在某些實施例中，在式 (XVa) 化合物中， R^{39} 為甲基。

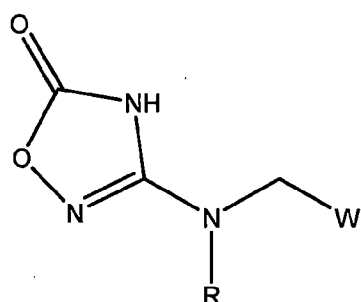
[0092] 在某些實施例中，在式 (XVa) 或 (XVb) 之化合物中， R^3 與 R^4 各自為氫。

[0093] 在某些實施例中，在式 (XVb) 化合物中， R^{53} 為甲基、乙基、正丙基、異丙基或第三丁基。

[0094] 在某些實施例中，肌酸前藥為式 (III) 化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體

異構體：

其中式(III)化合物為：



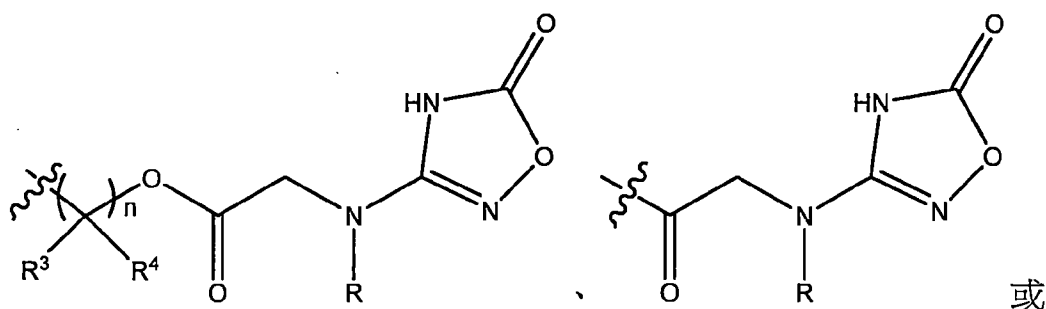
(III)；

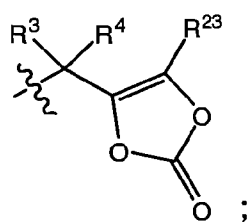
其中：

W 為 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ ；

R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^7 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^5$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{NR}^3\text{R}^4)$ 、 $-\text{C}(\text{R}^3\text{R}^4)-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{22}$ 、 $-\text{C}(\text{R}^3\text{R}^4)-(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^{22}$ 、 $-\text{C}(\text{R}^3\text{R}^4)-(\text{O})\text{C}(\text{O})-\text{OR}^{22}$ 、





n 為 1 至 2 之整數；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；且

R^5 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基；

R^{23} 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{5-12} 環烷基、經取代之 C_{5-12} 環烷基、 C_{5-12} 芳基及 C_{5-12} 經取代之芳基、 $-C(O)-OR^{22}$ 或 $-C(O)-R^{22}$ ；且

R^{22} 為 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基。

[0095] 在式(III)化合物之某些實施例中， n 為整數

1。

[0096] 在式(III)化合物之某些實施例中， n 為整數

2。

[0097] 在式(III)化合物之某些實施例中， R^5 、 R^7 及 R^{22} 各自獨立地為 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 環烷基、經取代之 C_{3-7} 環烷基、 C_{5-7} 芳基或經取代之 C_{5-7} 芳基。

[0098] 在式(III)化合物之某些實施例中， R^5 、 R^7 及 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二甲氧基乙基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、4-甲氧基苯基、苄基、苯乙基、苯乙烯基、環丙基、環丁基、環戊基、環己基、2-吡啶基、3-吡啶基或 4-吡啶基。

[0099] 在式(III)化合物之某些實施例中， R^5 、 R^7 及 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、環己基或 3-吡啶基。

[0100] 在式(III)化合物之某些實施例中， R^5 、 R^7 及 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、十二烷基、第三丁基、苯基或環己基。

[0101] 在式(III)化合物之某些實施例中， R^5 、 R^7 及 R^{22} 各自獨立地為乙基、異丙基或十二烷基。

[0102] 在式(III)化合物之某些實施例中， R^3 及 R^4 各自獨立地為氫。

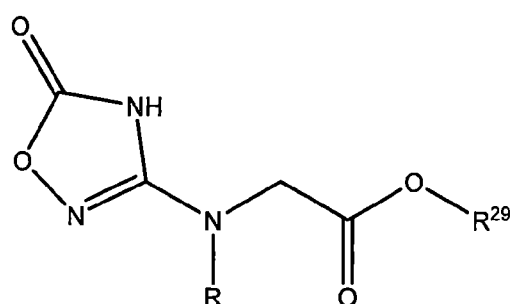
[0103] 在式(III)化合物之某些實施例中， R^{23} 各自為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基。

[0104] 在式(III)化合物之某些實施例中， R^{23} 各自為甲基。

[0105] 在式(III)化合物之某些實施例中，每個取代基獨立地為鹵素、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $=O$ 、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 烷氧基或經取代之 C_{1-12} 烷氧基、 $-COOR^{10'}$ ，其中 $R^{10'}$ 為氫、 C_{1-3} 烷基或 $-(NR^{11'})_2$ ，其中 $R^{11'}$ 各自獨立地為氫或 C_{1-3} 烷基。

[0106] 在又一實施例中，式(III)化合物為式(XVII)、式(XVIII)或式(XIX)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體；

其中式(XVII)化合物為：

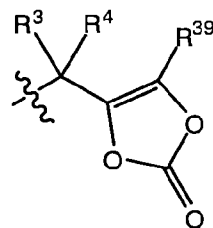


(XVII)

其中 R 為 $-CH_3$ 或 $-CD_3$ ；

R^{29} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁

基、十二烷基、苯基、-環己基、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{43}$ 、



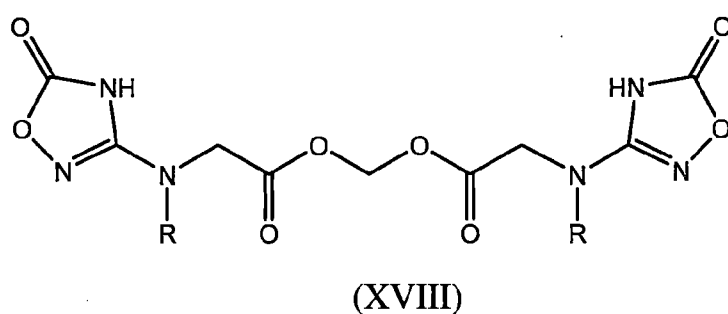
$-\text{CH}_2-(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^{43}$ 、 $-\text{CH}_2-(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{OR}^{43}$ 或

R^{39} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；

R^{43} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；且

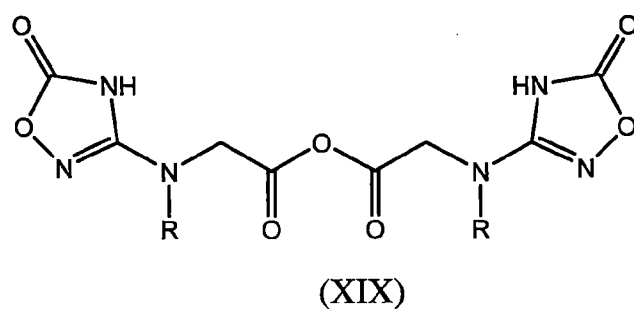
R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；

其中式(XVIII)化合物為：



其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

其中式(XIX)化合物為：



其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ 。

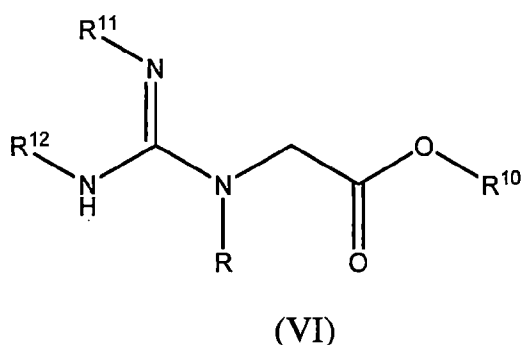
[0107] 在式(XVII)化合物之某些實施例中， R^{29} 與

R^{43} 各自獨立地為乙基、異丙基或十二烷基。

[0108] 在式(XVII)化合物之某些實施例中， R^{39} 各自為甲基。在式(XVII)化合物之某些實施例中， R^3 與 R^4 各自為氫。

[0109] 在某些實施例中，肌酸前藥為式(VI)化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體：

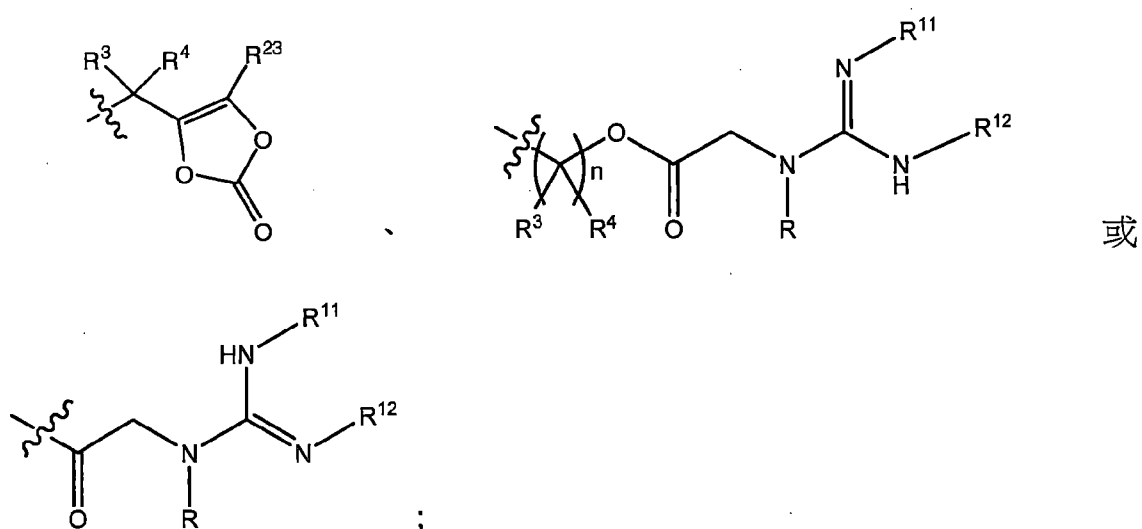
其中式(VI)化合物為：



其中：

R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^{10} 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^5$ 、 $-\text{C}(\text{O})(\text{NR}^3\text{R}^4)$ 、 $-\text{C}(\text{R}^3\text{R}^4)-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{22}$ 、 $-\text{C}(\text{R}^3\text{R}^4)-(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^{22}$ 、 $-\text{C}(\text{R}^3\text{R}^4)-(\text{O})\text{C}(\text{O})-\text{OR}^{22}$ ；



R^{11} 與 R^{12} 各自獨立地為氫或 $-OR^{13}$ ；或 R^{11} 與 R^{12} 各自為 $-C(O)R^5$ ，其限制條件為 R^{11} 與 R^{12} 兩者不可均為氫；

R^{13} 獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基、 $-CH(OR^5)$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-C(O)OR^5$ 或 $-C(O)(NR^3R^4)$ ；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；

R^5 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12}

雜芳基、C₆₋₂₀ 芳基烷基、經取代之 C₆₋₂₀ 芳基烷基、C₆₋₂₀ 雜芳基烷基或經取代之 C₆₋₂₀ 雜芳基烷基；

R²³ 為氫、C₁₋₁₂ 烷基、經取代之 C₁₋₁₂ 烷基、C₅₋₁₂ 環烷基、經取代之 C₅₋₁₂ 環烷基、C₅₋₁₂ 芳基及 C₅₋₁₂ 經取代之芳基、-C(O)-OR²² 或 -C(O)-R²²；

R²² 為 C₁₋₁₂ 烷基、經取代之 C₁₋₁₂ 烷基、C₁₋₁₂ 雜烷基、經取代之 C₁₋₁₂ 雜烷基、C₃₋₁₂ 環烷基、經取代之 C₃₋₁₂ 環烷基、C₄₋₂₀ 環烷基烷基、經取代之 C₄₋₂₀ 環烷基烷基、C₄₋₂₀ 雜環烷基烷基、經取代之 C₄₋₂₀ 雜環烷基烷基、C₅₋₁₂ 芳基、經取代之 C₅₋₁₂ 芳基、C₅₋₁₂ 雜芳基、經取代之 C₅₋₁₂ 雜芳基、C₆₋₂₀ 芳基烷基、經取代之 C₆₋₂₀ 芳基烷基、C₆₋₂₀ 雜芳基烷基或經取代之 C₆₋₂₀ 雜芳基烷基；且

n 為 1 至 2 之整數。

[0110] 在式(VI)化合物之某些實施例中，R⁵、R¹⁰ 及 R²² 各自獨立地為 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₇ 環烷基、經取代之 C₃₋₇ 環烷基、C₅₋₇ 芳基或經取代之 C₅₋₇ 芳基。

[0111] 在式(VI)化合物之某些實施例中，R⁵、R¹⁰ 及 R²² 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二甲氧基乙基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、4-甲氧基苯基、苄基、苯乙基、苯乙炔基、環丙基、環丁基、環戊基、環己基、2-吡啶基、3-吡啶基或 4-吡啶基。

[0112] 在式(VI)化合物之某些實施例中， R^5 、 R^{10} 及 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、環己基或 3-吡啶基。

[0113] 在式(VI)化合物之某些實施例中， R^5 、 R^{10} 及 R^{22} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、十二烷基、第三丁基、苯基或環己基。

[0114] 在式(VI)化合物之某些實施例中， R^5 、 R^{10} 及 R^{22} 各自獨立地為乙基、異丙基或十二烷基。

[0115] 在式(VI)化合物之某些實施例中， R^3 與 R^4 各自獨立地為氫。

[0116] 在式(VI)化合物之某些實施例中， R^{11} 與 R^{12} 各自為羥基。

[0117] 在式(VI)化合物之某些實施例中， R^{11} 或 R^{12} 之一為氫且另一者為羥基。

[0118] 在式(VI)化合物之某些實施例中， R^{23} 各自為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基。

[0119] 在式(VI)化合物之某些實施例中， R^{23} 各自為甲基。

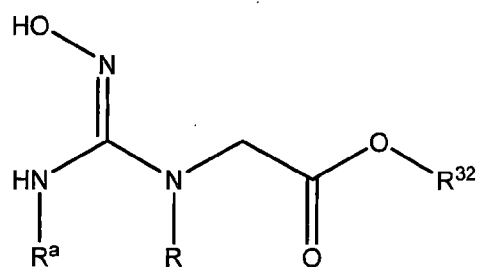
[0120] 在式(VI)化合物之某些實施例中，每個取代基獨立地為鹵素、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $=\text{O}$ 、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 烷氧基或經取

代之 C_{1-12} 烷氧基、 $-\text{COOR}^{10'}$ ，其中 $R^{10'}$ 為氫、 C_{1-3} 烷基或 $-(\text{NR}^{11'})_2$ ，其中 $R^{11'}$ 各自獨立地為氫或 C_{1-3} 烷基。

[0121] 在式(VI)化合物之某些實施例中， n 為整數 1。

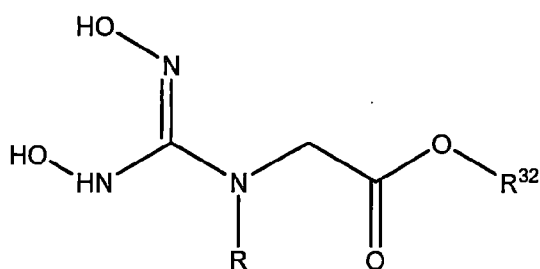
[0122] 在又一實施例中，式(VI)化合物為式(XXII)、式(XXIII)、式(XXIV)、式(XXV)、式(XXVI)、式(XXVII)或式(XXVIII)之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體；

其中式(XXII)化合物為：



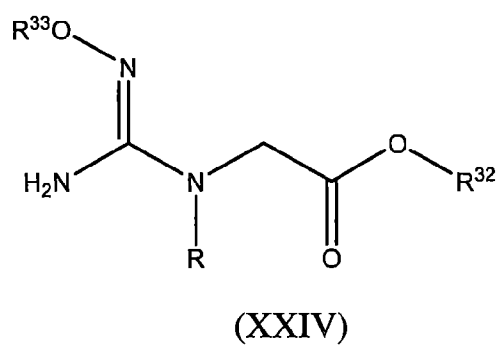
(XXII)

其中式(XXIII)化合物為：

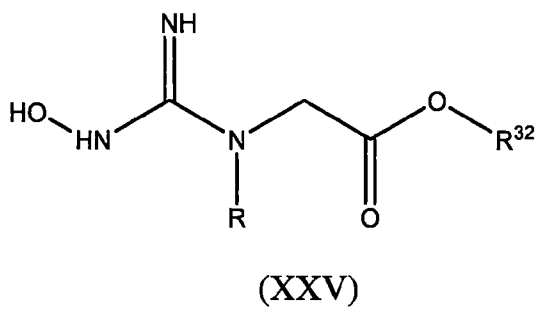


(XXIII)

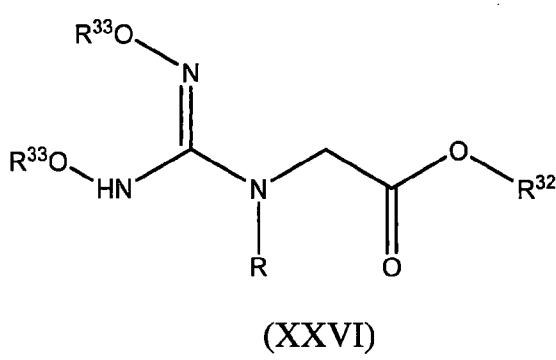
其中式(XXIV)化合物為：



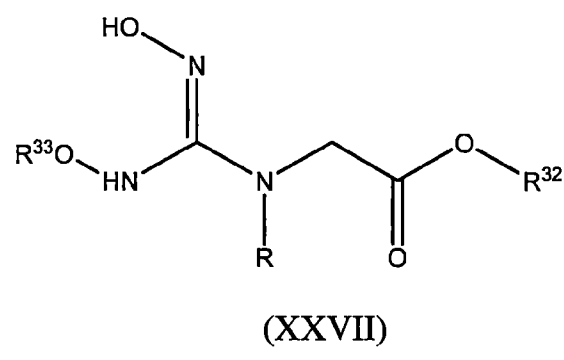
其中式(XXV)化合物為：



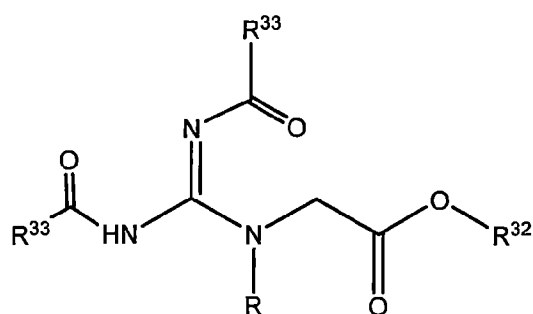
其中式(XXVI)化合物為：



其中式(XXVII)化合物為：



其中式(XXVIII)化合物為：

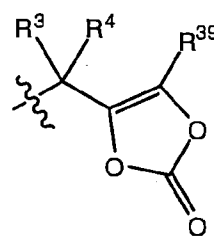


(XXVIII)

其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^a 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第三丁基；

R^{32} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基、環己基、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{43}$ 、



$-\text{CH}_2-(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^{43}$ 、 $-\text{CH}_2-(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{OR}^{43}$ 或

R^{39} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；

R^{33} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基； R^{43} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基；且

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基。

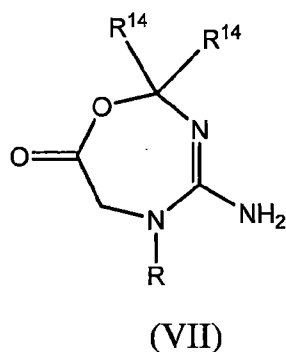
[0123] 在某些實施例中， R^{32} 與 R^{33} 各自獨立地為乙基、異丙基或十二烷基。

[0124] 在某些實施例中， R^{39} 為甲基。

[0125] 在某些實施例中， R^3 與 R^4 各自為氫。

[0126] 在某些實施例中，肌酸前藥為式(VII)化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體：

其中式(VII)化合物為：



其中：

R 為 $-CH_3$ 或 $-CD_3$ ；

R^{14} 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基、 $-CH(OR^5)$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-C(O)OR^5$ 或 $-C(O)(NR^3R^4)$ ；

R^3 與 R^4 各自獨立地為氫、 C_{1-12} 烷基或經取代之 C_{1-12} 烷基；且

R^5 為氫、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 雜烷

基、經取代之 C_{1-12} 雜烷基、 C_{3-12} 環烷基、經取代之 C_{3-12} 環烷基、 C_{4-20} 環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 環烷基烷基、 C_{4-20} 雜環烷基烷基、經取代之 C_{4-20} 雜環烷基烷基、 C_{5-12} 芳基、經取代之 C_{5-12} 芳基、 C_{5-12} 雜芳基、經取代之 C_{5-12} 雜芳基、 C_{6-20} 芳基烷基、經取代之 C_{6-20} 芳基烷基、 C_{6-20} 雜芳基烷基或經取代之 C_{6-20} 雜芳基烷基。

[0127] 在式(VII)化合物之某些實施例中， R^5 為 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、 C_{3-7} 環烷基、經取代之 C_{3-7} 環烷基、 C_{5-7} 芳基或經取代之 C_{5-7} 芳基。

[0128] 在式(VII)化合物之某些實施例中， R^5 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二甲氧基乙基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、4-甲氧基苯基、苄基、苯乙基、苯乙烯基、環丙基、環丁基、環戊基、環己基、2-吡啶基、3-吡啶基或 4-吡啶基。

[0129] 在式(VII)化合物之某些實施例中， R^5 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、異戊基、第二戊基、新戊基、十二烷基、1,1-二乙氧基乙基、苯基、環己基或 3-吡啶基。

[0130] 在式(VII)化合物之某些實施例中， R^5 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、十二烷基、第三丁基、苯基或環己基。

[0131] 在式(VII)化合物之某些實施例中， R^5 為乙基、異丙基或十二烷基。

[0132] 在式(VII)化合物之某些實施例中， R^{14} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基。

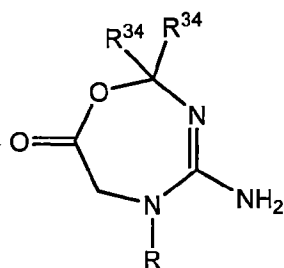
[0133] 在式(VII)化合物之某些實施例中，一個 R^{14} 為甲基且另一 R^{14} 為氫。

[0134] 在式(VII)化合物之某些實施例中， R^3 與 R^4 各自獨立地為氫。

[0135] 在式(VII)化合物之某些實施例中，每個取代基獨立地為鹵素、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $=\text{O}$ 、 C_{1-12} 烷基、經取代之 C_{1-12} 烷基、 C_{1-12} 烷氧基或經取代之 C_{1-12} 烷氧基、 $-\text{COOR}^{10'}$ ，其中 $R^{10'}$ 為氫、 C_{1-3} 烷基或 $-(\text{NR}^{11'})_2$ ，其中 $R^{11'}$ 各自獨立地為氫或 C_{1-3} 烷基。

[0136] 在又一實施例中，式(VII)化合物為式(XXIX)化合物或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體；

其中式(XXIX)化合物為：



(XXIX)

其中 R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；且

R^{34} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、十二烷基、苯基或環己基。

[0137] 在式(XXIX)化合物之某些實施例中，一個 R^{34} 為甲基且另一 R^{34} 為氫。

合成肌酸前藥

[0138] 一般熟習此項技術者將瞭解，式(I)、(III)、(VI)、(VII)之肌酸前藥化合物及其任何亞屬或物種或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體可經由此項技術中可用之一般合成方法來製備(例如，Wuts 與 Greene, 「Protective Groups in Organic Synthesis,」 John Wiley & Sons, 第4版. 2006; Harrison 等人, 「Compendium of Organic Synthetic Methods,」第1-11卷, John Wiley & Sons 1971-2003; Larock 「Comprehensive Organic Transformations,」 John Wiley & Sons, 第2版. 2000; 及 Paquette, 「Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis,」 John Wiley & Sons, 第11版. 2003)。適用於製備化合物及其中間物之起始材料可市售獲得或可由熟知之合成方法來製備。

醫藥組合物

[0139] 本發明之醫藥組合物可包含本發明之化合物及醫藥學上可接受之媒劑。醫藥組合物可包含治療有效量之本發明之化合物及醫藥學上可接受之媒劑。在某些實施例中，醫藥組合物可包括一種以上本發明之化合物。醫藥學上可接受之媒劑包括稀釋劑、佐劑、賦形劑及載劑。

[0140] 醫藥組合物可使用標準程序來生產(參見，例如「Remington's The Science and Practice of Pharmacy,」第 21 版, Lippincott, Williams & Wilcox, 2005)。醫藥組合物可藉由習知之混合、溶解、粒化、製成糖衣藥丸、水磨、乳化、囊封、包埋或凍幹過程來製造。可經習知方式使用一或多種便於將本文揭示之化合物加工成在醫藥學上可用之製劑的生理學上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑或助劑來調配醫藥組合物。適當調配可部分取決於投藥途徑。

[0141] 本發明之醫藥組合物在投與患者時可提供治療性血漿濃度之肌酸。肌酸前藥之前部分可活體內經化學及/或酶促方式裂解以釋放肌酸。哺乳動物之腸腔、腸組織、血液、肝臟、大腦或任何其他組織中存在之一或多種酶可酶促裂解所投與前藥之前部分。舉例而言，前部分可在經胃腸道吸收後裂解(例如，在哺乳動物之腸組織、血液、肝臟或其他合適組織中)。在某些實施例中，肌酸在穿過腸黏膜障壁輸送期間保持與前部分結合從而提供保護以防系統前代謝。在某些實施例中，肌酸前藥基本上不代謝以在腸上皮細胞內釋放相應肌酸，而在全身循環中代謝為親本藥物。肌酸前藥在經胃腸道吸收後裂解前部分可使得前藥經主動運輸、被動擴散或主動與被動過程兩者之組合方式吸收至全身循環中。

[0142] 肌酸前藥可保持完整直至前藥穿過生物障壁(諸如血液-大腦障壁)後。在某些實施例中，本發明之前藥

可部分裂解，例如一或多個但並非全部前部分可裂解之後穿過生物障壁或由細胞、組織或器官吸收。

[0143] 肌酸前藥可在全身循環中保持完整並被動或經主動運輸機制由器官細胞吸收。在某些實施例中，肌酸前藥將係親脂性的且可被動易位穿過細胞膜。細胞吸收後，前藥可經化學及/或酶促方式裂解以向細胞質中釋放相應肌酸，導致肌酸之細胞內濃度增加。在某些實施例中，前藥可滲透細胞內膜(諸如粒腺體膜)且由此促使傳遞前藥，且在前部分裂解後，傳遞肌酸至細胞內之細胞器官(諸如粒腺體)中。

[0144] 在某些實施例中，醫藥組合物可包括促使本發明之化合物經胃腸道上皮吸收之佐劑。該等增強劑例如可開啓胃腸道之緊密連接或改善細胞組分(諸如 p-醣蛋白及其類似物)之效應。合適增強劑可包括水楊酸之鹼金屬鹽(諸如水楊酸鈉)、辛酸或癸酸之鹼金屬鹽(諸如辛酸鈉或癸酸鈉)及其類似物。增強劑可包括例如膽汁鹽，諸如去氧膽酸鈉。各種 p-醣蛋白調節劑描述於美國專利第 5,112,817 號及美國專利第 5,643,909 號中。各種吸收增強化合物及材料描述於美國專利第 5,824,638 號及美國申請案第 2006/0046962 號中。增強細胞膜滲透性之其他佐劑包括間苯二酚、界面活性劑、聚乙二醇及膽酸。

[0145] 在某些實施例中，醫藥組合物可包括減少本發明化合物之酶促降解的佐劑。使用類蛋白微球、脂質體或多醣之微囊封亦可有效減少投與化合物之酶促降解。

[0146] 醫藥組合物亦可包括一或多種醫藥學上可接受之媒劑，包括賦形劑、佐劑、載劑、稀釋劑、黏合劑、潤滑劑、崩解劑、著色劑、穩定劑、界面活性劑、填充劑、緩衝劑、增稠劑、乳化劑、溼潤劑及其類似物。亦可選擇媒劑來改變醫藥組合物之孔隙率及滲透性、改變水合及崩解特性、控制水合、增強可製造性等。

[0147] 在某些實施例中，醫藥組合物可經調配成用於口服。可提供經調配用於口服之醫藥組合物用以經胃腸道或在胃腸道之特定區域中吸收本發明之化合物。在某些實施例中，醫藥組合物可經調配用以增強自胃腸道上部且在某些實施例中自小腸吸收本發明之化合物。該等組合物可以醫藥學領域中已知之方式來製備且除本發明之化合物以外可進一步包含一或多種醫藥學上可接受之媒劑、滲透性增強劑及/或第二治療劑。

[0148] 在某些實施例中，醫藥組合物可進一步包含用以增強、調節及/或控制釋放、生物可用性、治療功效、治療性能、穩定性及其類似方面之物質。舉例而言，為增強治療功效，本發明之化合物可與一或多種活性劑共同投與以增加自胃腸道吸收或擴散藥物或抑制藥物在全身循環中之降解。在某些實施例中，本發明之化合物可與具有增強本發明化合物之治療功效之藥理學效應的活性劑共同投與。

[0149] 在某些實施例中，醫藥組合物可進一步包含增強、調節及/或控制釋放、生物可用性、治療功效、治

療性能、穩定性及其類似方面之物質。舉例而言，為增強治療功效，本發明之化合物可與一或多種活性劑共同投與以增加自胃腸道吸收或擴散本發明之化合物或抑制藥物在全身循環中之降解。在某些實施例中，本發明之化合物可與具有增強本發明化合物之治療功效之藥理學效應的活性劑共同投與。

[0150] 醫藥組合物可採用溶液、懸浮液、乳液、錠劑、藥丸、丸劑、膠囊、含有液體之膠囊、散劑、持續釋放型調配物、栓劑、乳液、氣霧劑、噴霧、懸浮液形式或任何其他適合使用之形式。用於經口傳遞之醫藥組合物例如可呈錠劑、口含劑、水性或油性懸浮液、顆粒、散劑、乳液、膠囊、糖漿或酏劑之形式。口服之組合物可含有一或多種任選藥劑，例如甜味劑(諸如果糖、阿斯巴甜糖(aspartame)或糖精)、調味劑(諸如薄荷、冬青油或櫻桃著色劑)及防腐劑以提供醫藥學上可口之製劑。此外，在呈錠劑或藥丸形式時，可塗佈組合物以延遲在胃腸道中崩解及吸收，由此提供長時間之持續作用。口服組合物可包括標準媒劑，諸如甘露糖醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、纖維素、碳酸鎂等。該等媒劑可具有醫藥學級別。對於口服之液體製劑(諸如懸浮液、酏劑及溶液)而言，合適之載劑、賦形劑或稀釋劑包括水、鹽水、烷二醇(例如，丙二醇)、聚烷二醇(例如，聚乙二醇)油、醇類、pH 4 與 pH 6 之間之弱酸性緩衝劑(例如，約 5 mM 至約 50 mM 之間之乙酸鹽、檸檬酸鹽、抗壞血酸鹽)等。另外，可添加

調味劑、防腐劑、著色劑、膽汁鹽、醃基肉鹼及其類似物。

[0151] 當本發明之化合物係酸性時，其以游離酸、醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、溶劑合物或水合物之形式包括於任何上述調配物種。醫藥學上可接受之鹽實質上保持游離酸之活性、可藉由與鹼反應來製備且傾向於比相應游離酸形式更易溶於水性及其他質子性溶劑中。在一些實施例中，在上述調配物中使用本發明化合物之鈉鹽。

[0152] 本發明之醫藥組合物可經調配用於非經腸投藥，包括例如藉由注射至靜脈(靜脈內)、動脈(動脈內)、肌肉(肌肉內)、皮膚下(皮下或以積存調配物形式)、心包、冠狀動脈或以溶液形式用於傳遞至組織或器官，例如在心肺分流機中使用或浸洗移植組織或器官來投藥。可注射組合物可為用於任何可注射投藥途徑之醫藥組合物，包括(但不限於)靜脈內、動脈內、冠狀動脈內、心包、血管周圍、肌肉內、皮下、皮內、腹膜內及關節內。在某些實施例中，可注射醫藥組合物可為用於直接投與至心臟、心包或冠狀動脈中之醫藥學上適當之組合物。

[0153] 適合非經腸投藥之本發明之醫藥組合物可包含一或多種本發明之化合物與一或多種醫藥學上可接受之無菌等張水性、水可混溶性或非水性媒劑之組合。非經腸使用之醫藥組合物可包括增加且維持藥物溶解性之物質(諸如複合劑及表面活性劑)、使溶液等張或接近生理學 pH 之化合物(諸如氯化鈉、葡萄糖及甘油)、增強溶液之化學

穩定性之物質(諸如抗氧化劑、惰性氣體、螯合劑及緩衝劑)、增強化學及物理穩定性之物質、使自身聚集或界面誘發之聚集最小化之物質、使蛋白與界面之相互作用最小化之物質、防腐劑(包括抗微生物劑、懸浮劑、乳化劑及任何以上各物之組合)。用於非經腸投藥之醫藥組合物可經調配成溶液、懸浮液、乳液、脂質體、微球、奈米系統形式及將復水成溶液形式之散劑形式。非經腸製劑描述於「Remington, The Science and Practice of Pharmacy,」第21版, Lippincott, Williams & Wilkins, 第41-42章, 第802-849頁, 2005中。

[0154] 在某些實施例中, 醫藥組合物可經調配用於在運輸至預期接受者之前、在運輸期間或之後浸洗移植組織或器官。該等組合物可在製備供移植之組織或器官之前或在此期間使用。在某些實施例中, 醫藥組合物可為在心臟手術期間投與之心臟麻痹溶液。在某些實施例中, 醫藥組合物例如可結合心肺分流機使用以向心臟提供醫藥組合物。該等醫藥組合物可在心臟手術之誘發、維持或再灌注階段期間使用(參見例如 Chang 等人, Masui 2003, 52(4), 356-62; Ibrahim 等人, Eur.J. Cardiothorac Surg 1999, 15(1), 75-83; von Oppell 等人, J Thorac Cardiovasc Surg. 1991, 102(3), 405-12; 且 Ji 等人, J. Extra Corpor Technol 2002, 34(2), 107-10)。在某些實施例中, 醫藥組合物可經由諸如泵或灌注器之機械裝置來傳遞(參見例如 Hou 與 March, J Invasive Cardiol 2003, 15(1), 13-7; Maisch 等人,

Am. J. Cardiol 2001, 88(11), 1323-6 ; 及 Macris 與 Igo, Clin Cardiol 1999, 22 (1, 增刊 1), 136-9)。

[0155] 為延長傳遞，可提供積存製劑形式之醫藥組合物以藉由植入來投藥，例如皮下、皮內或肌肉內注射。因此，在某些實施例中，可與合適之聚合或疏水性材料來調配醫藥組合物，例如在醫藥學上可接受之油、離子交換樹脂中調配成乳液形式或調配成微溶性衍生物形式，例如調配成本發明化合物之微溶性鹽形式。

[0156] 本發明之醫藥組合物可經調配以在藉由採用此項技術中已知之程序投與至患者後提供式(I)及/或式(II)化合物之即刻、持續或延遲釋放(參見例如 Allen 等人, 「Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,」 第 8 版 Lippincott, Williams & Wilkins, 2004 年 8 月)。

劑型

[0157] 本發明之醫藥組合物可調配成單位劑型。單位劑型係指適合對經歷治療之患者單位給藥之物理離散單位，其中每一單位含有經計算產生預期治療效應之預定量的本發明之化合物。單位劑型可用於單次每日給藥或多次每日給藥之一，例如每日 2 至 4 次。在使用多次每日給藥時，每次給藥之單位劑量可相同或不同。一或多種劑型可包含可在單一時間點或在一定時間間隔期間投與患者之劑量。

[0158] 本發明之醫藥組合物可使用提供即刻釋放及/或受控釋放本發明之化合物的劑型。適當之劑型類型可取決於經治療之疾病、病症或病況以及投藥方法。舉例而言，為治療諸如心臟衰竭或中風之急性局部缺血性病況，使用非經腸投與之即刻釋放型醫藥組合物或劑型可係適當的。為治療慢性神經退化性病症，經口投與之受控釋放型醫藥組合物或劑型可係適當的。

[0159] 在某些實施例中，劑型可適於每日不超過兩次投與患者，且在某些實施例中僅每日一次。可單獨或與其他藥物組合提供給藥且只要有效治療疾病、病症或病況需要，即可繼續。

[0160] 包含本發明化合物之醫藥組合物可經調配以供非經腸投藥、口服或任何其他適當投藥途徑即刻釋放。

[0161] 受控藥物傳遞系統可設計為以將藥物水準維持在治療窗以內且只要系統繼續以特定速率傳遞藥物即在此段時間維持有效且安全之血液水準的方式來傳遞藥物。受控藥物傳遞可產生與即刻釋放劑型觀測到之波動相比實質上恆定之藥物血液水準。對於一些藥物而言，在整個治療過程中維持恆定之血流及組織濃度係最理想之治療模式。即刻釋放該等藥物可導致血液水準達到高於引發所需反應所需水準之峰值，浪費藥物且可導致或加劇毒性副作用。受控藥物傳遞可導致最佳治療，且不僅可減少給藥頻率，且亦可減輕副作用之嚴重性。受控釋放劑型之實例包括溶解控制系統、擴散控制系統、離子交換樹脂、滲透控

制系統、溶蝕性基質系統、非 pH 依賴性調配物、胃滯留系統及其類似物。

[0162] 在某些實施例中，本發明之口服劑型可為受控釋放劑型。受控傳遞技術可改良藥物在胃腸道特定區域中吸收。對於本發明之特定醫藥組合物之適當口服劑型至少部分地可取決於本發明化合物之胃腸道吸收特性、本發明化合物在胃腸道中之穩定性、本發明化合物之藥物動力學及預期治療概況。可為本發明之特定化合物選擇適當之受控釋放口服劑型。舉例而言，胃滯留口服劑型可適合主要在胃腸道上部吸收之化合物，且持續釋放口服劑型可適合主要在胃腸道下部吸收之化合物。

[0163] 某些化合物主要在小腸中吸收。一般而言，化合物在約 3 至 5 小時內穿過小腸之長度。對於不易由小腸吸收或不易溶解之化合物而言，小腸中之活性劑吸收窗可能過短而無法提供理想治療效應。胃滯留劑型，亦即經設計長時間保留在胃中之劑型，可增加最易於由胃腸道上部吸收之藥物的生物可用性。習知劑型在胃中之滯留時間為 1 至 3 小時。在運輸至胃後，在劑型到達結腸前約有 3 至 5 小時之生物可用性窗。然而，若劑型保留在胃中，則藥物可在到達小腸前釋放且將以可更易於吸收之狀態在溶液中進入腸道。胃滯留劑型之另一用途在於改良在腸道之鹼性條件下不穩定之藥物的生物可用性(參見例如 Hwang 等人，Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1998, 15, 243-284)。為增強自胃腸道上部吸收藥

物，已研發出若干種胃滯留劑型。實例包括水凝膠(參見例如美國申請案第 2003/0008007 號)、活躍基質(參見例如美國申請案第 2006/0013876 號)、聚合物薄板(參見例如美國申請案第 2005/0249798 號)、微孔泡沫(參見例如美國申請案第 2005/0202090 號)及可膨脹劑型(參見例如美國申請案第 2005/0019409 號、美國專利第 6,797,283 號、美國申請案第 2006/0045865 號、美國申請案第 2004/0219186 號、美國專利第 6,723,340 號、美國專利第 6,476,006 號、美國專利第 6,120,803 號、美國專利第 6,548,083 號、美國專利第 6,635,280 號、美國專利第 5,780,057 號)。生物黏附性聚合物亦可提供向除胃黏膜以外之大量黏膜表面受控傳遞藥物之媒劑(參見例如美國專利第 6,235,313 號、美國專利第 6,207,197 號、美國申請案第 2006/0045865 號及美國申請案第 2005/0064027 號)。已證實離子交換樹脂藉由黏附作用潛在地延長胃滯留。

[0164] 在膨脹及擴展系統中，與周圍胃內容物相關而膨脹且改變密度之劑型可比習知劑型在胃中保留更長時間。劑型可吸收水且膨脹而形成凝膠狀外表面並漂浮在胃內容物表面之表面上，同時保持完整性直至釋放藥物。當水合及單獨膨脹不足時，可添加脂肪材料以阻止潤溼且增強漂浮。亦可併入釋放氣體之材料以減小胃滯留劑型之密度。膨脹亦可顯著增加劑型大小且因此阻止經幽門向小腸中排放未崩解之膨脹固體劑型。可膨脹劑型可藉由囊封含有藥物與膨脹劑之核或藉由將藥物、膨脹劑及一或多種溶

蝕性聚合物合併來形成。

[0165] 胃滯留劑型亦可呈含有藥物與非水溶性可擴散聚合物之摺疊薄板形式，其在胃中開啓至其初始大小及形狀，足夠大以防止或抑制擴大之劑型穿過幽門括約肌。

[0166] 漂浮且浮動之胃滯留劑型可設計成用以將氣體截留在可漂浮在胃內容物上之密封囊封核上，且因此在胃中保留更長時間，例如 9 至 12 小時。由於浮動作用，該等系統可提供防止胃內容物逆流至食道區域之保護層且亦可用於受控釋放裝置。漂浮系統例如可含有中空核，其含有以保護膜塗佈之藥物。核中截留之空氣使劑型漂浮在胃內容物上直至釋放可溶性成分且系統瓦解。在其他漂浮系統中，核含有在活化時能產生氣體之藥物及化學物質。舉例而言，含有碳酸鹽及/或碳酸氫鹽之經塗佈核在胃中與鹽酸反應或與系統中併入之有機酸反應中可產生二氧化碳。保留反應產生之氣體以使劑型漂浮。充氣之劑型稍後瓦解且當產生之氣體緩慢透過保護塗層時自胃中清除。

[0167] 生物黏附性聚合物亦可提供用於向除胃黏膜以外之大量黏膜表面受控傳遞藥物之媒劑(參見例如美國專利第 6,235,313 號及美國專利第 6,207,197 號)。生物黏附性系統可藉由在生物黏附性聚合物中併入藥物及其他賦形劑來設計。攝食時，聚合物水合且黏附至胃腸道之黏膜。可選擇與所需胃腸道區域黏附之生物黏附性聚合物。可選擇生物黏附性聚合物以使得最優化地傳遞至胃腸道中之標靶區域，包括胃及小腸。黏附機制認為係經由在聚合

物 - 黏液邊界處形成靜電及氫鍵結。美國申請案第 2006/0045865 號及第 2005/0064027 號揭示適用於向上部及下部胃腸道傳遞藥物之生物黏附性傳遞系統。

[0168] 已證實離子交換樹脂藉由黏附作用潛在地延長胃滯留。

[0169] 胃滯留口服劑型可適當地用於傳遞主要由胃腸道上部吸收之藥物。舉例而言，本發明之某些化合物可展現有限之結腸吸收，且主要由胃腸道上部吸收。因此，在胃腸道上部釋放本發明之化合物及/或延遲劑型經胃腸道上部運輸之劑型將傾向於增強本發明化合物之口服生物可用性。本文揭示之其他形式的肌酸前藥可適當地以胃滯留劑型使用。

[0170] 亦已使用聚合物基質來達成長時間受控釋放藥物。該持續或受控釋放可藉由限制周圍胃液經基質擴散且到達藥物、溶解藥物且由溶解之藥物再次擴散出來的速率或藉由使用緩慢溶蝕之基質、將新鮮藥物連續暴露於周圍流體來實現。關於藉由該等方法起作用之聚合物基質的揭示內容例如可見於 Skinner, 美國專利第 6,210,710 號及第 6,217,903 號、美國專利第 5,451,409 號、美國專利第 5,945,125 號、PCT 國際公開案第 WO 96/26718 號、美國專利第 4,915,952 號、美國專利第 5,328,942 號、美國專利第 5,783,212 號、美國專利第 6,120,803 號及美國專利第 6,090,411 號。

[0171] 長時間保留在胃中之其他藥物傳遞裝置例如

包括含有粒子之水凝膠貯器(美國專利第 4,871,548 號)、可膨脹之羥丙基甲基纖維素聚合物(美國專利第 4,871,548 號)、平面生物溶蝕性聚合物(美國專利第 4,767,627 號)、複數種可壓縮滯留臂(美國專利第 5,443,843 號)、親水性水膨脹性交聯聚合物粒子(美國專利第 5,007,790 號)及白蛋白交聯之聚乙烯吡咯啉酮水凝膠(Park 等人, J. Controlled Release 1992, 19, 131-134)。

[0172] 在某些實施例中，本發明之醫藥組合物可由多種不同劑型來實踐，其可適於經口服提供本發明化合物之持續釋放。持續釋放口服劑型可用於長時間釋放藥物且在需要將藥物或藥物形式傳遞至胃腸道下部時適用。持續釋放口服劑型包括擴散受控系統(諸如貯器裝置與基質裝置)、溶解受控系統、滲透系統及溶蝕受控系統。此項技術中熟知持續釋放口服劑型及其製備方法(參見例如「Remington's Pharmaceutical Sciences,」Lippincott, Williams & Wilkins, 第 21 版, 2005, 第 46 及 47 章; Langer, Science 1990, 249, 1527-1533 及 Rosoff, 「Controlled Release of Drugs,」1989, 第 2 章)。

[0173] 持續釋放口服劑型包括在諸如血漿、血液、腦脊液之生物流體中或在組織或器官中長時間維持藥物之治療濃度的任何口服劑型。持續釋放口服劑型包括擴散受控系統(諸如貯器裝置與基質裝置)、溶解受控系統、滲透系統及溶蝕受控系統。此項技術中熟知持續釋放口服劑型及其製備方法(參見例如「Remington's: The Science and

Practice of Pharmacy,」Lippincott, Williams & Wilkins, 第 21 版, 2005, 第 46 及 47 章; Langer, Science 1990, 249, 1527-1533 及 Rosoff, 「Controlled Release of Drugs,」1989, 第 2 章)。

[0174] 在擴散控制系統中, 非水溶性聚合物控制流體流動及自劑型溶解之藥物的後續排出。在自劑型釋放藥物中涉及到擴散與溶解過程。在貯器裝置中, 包含藥物之核塗佈有聚合物, 且在基質系統中, 藥物分散在整個基質中。諸如乙基纖維素或乙酸纖維素之纖維素聚合物可用於貯器裝置中。適用於基質系統中之材料的實例包括甲基丙烯酸酯、丙烯酸酯、聚乙烯、丙烯酸共聚物、聚氯乙烯、高分子量聚乙烯醇、纖維素衍生物及脂肪化合物, 諸如脂肪酸、甘油酯及巴西棕櫚蠟。

[0175] 在溶解控制系統中, 藥物之溶解速率由溶解緩慢之聚合物或由微囊封控制。塗層一旦溶解, 藥物即可溶解。藉由改變塗層之厚度及/或組成, 可控制藥物釋放速率。在一些溶解控制系統中, 總劑量之一部分可包含即刻釋放型組分。溶解控制系統包括囊封/貯器溶解系統及基質溶解系統。囊封溶解系統可藉由以不同厚度之溶解緩慢聚合物塗佈藥物粒子或顆粒或藉由微囊封來製備。適用於溶解控制系統之塗佈材料的實例包括包括明膠、巴西棕櫚蠟、蟲膠、乙酸鄰苯二甲酸纖維素及乙酸丁酸纖維素。基質溶解裝置例如可藉由將藥物與緩慢溶解之聚合物載劑壓縮成錠劑形式來製備。

[0176] 自滲透泵系統釋放藥物之速率係由穿過半透膜流入貯器之流體決定，該貯器含有滲透劑。藥物與藥劑混合或位於貯器中。劑型含有一或多個小孔，溶解之藥物由此以由於滲透壓使水進入之速率決定之速率泵入。隨着劑型中之滲透壓增加，經孔釋放藥物。釋放速率恆定且可控制在嚴格限制內，產生相對恆定之藥物的血漿及/或血液濃度。滲透泵系統可提供恆定之藥物釋放，而與胃腸道之環境無關。藥物釋放速率可藉由改變滲透劑及一或多個孔之大小來改善。

[0177] 自溶蝕控制系統釋放藥物係由載劑基質之溶蝕速率決定。藥物分散在整個聚合物中且藥物釋放速率取決於聚合物之溶蝕速率。含藥物之聚合物可自塊體及/或自劑型表面降解。

[0178] 持續釋放口服劑型可為適合口服之任何適當形式，諸如錠劑、藥丸或顆粒形式。顆粒可填充至膠囊中、壓制成錠劑或包括於液體懸浮液中。持續釋放口服劑型可另外包括外部塗層以例如提供酸保護、易於吞嚥、調味、識別及其類似作用。

[0179] 在某些實施例中，持續釋放口服劑型可包含治療有效量之本發明之化合物及醫藥學上可接受之媒劑。在某些實施例中，持續釋放口服劑型可包含小於治療有效量之本發明之化合物及醫藥學上有效之媒劑。可單次或經一段時間投與多個持續釋放口服劑型(每個劑型包含小於治療有效量之本發明之化合物)以提供治療有效之劑量或

治療方案以供治療患者之與能量代謝功能障礙相關之疾病，諸如局部缺血、氧化應激、神經退化性疾病(包括肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)、亨廷頓氏病、帕金森氏病或阿茲海默氏病)、局部缺血再灌注損傷、心血管疾病、多發性硬化症(MS)、精神障礙、影響肌酸激酶系統之遺傳疾病或肌肉疲勞。

[0180] 本發明之持續釋放口服劑型可自該劑型釋放本發明之化合物以促進自胃腸道之適當區域，例如小腸或結腸中吸收本發明之化合物的能力。在某些實施例中，持續釋放口服劑型可經至少約 4 小時、至少約 8 小時、至少約 12 小時、至少約 16 小時、至少約 20 小時且在某些實施例中至少約 24 小時之時間自該劑型釋放本發明之化合物。在某些實施例中，持續釋放口服劑型可以在約 0 至約 4 小時內約 0 wt%至約 20 wt%、在約 0 至約 8 小時內約 20 wt%至約 50 wt%、在約 0 至約 14 小時內約 55 wt%至約 85 wt%及在約 0 至約 24 小時內約 80 wt%至約 100 wt%之傳遞模式自該劑型釋放本發明之化合物。在某些實施例中，持續釋放口服劑型可以在約 0 至約 4 小時內約 0 wt%至約 20 wt%、在約 0 至約 8 小時內約 20 wt%至約 50 wt%、在約 0 至約 14 小時內約 55 wt%至約 85 wt%及在約 0 至約 20 小時內約 80 wt%至約 100 wt%之傳遞模式自該劑型釋放式(I)及/或式(II)化合物。在某些實施例中，持續釋放口服劑型可以在約 0 至約 2 小時內約 0 wt%至約 20 wt%、在約 0 至約 4 小時內約 20 wt%至約 50 wt%、在約 0 至約 7

小時內約 55 wt%至約 85 wt%及在約 0 至約 8 小時內約 80 wt%至約 100 wt%之傳遞模式自該劑型釋放本發明之化合物。

[0181] 包含本發明之肌酸前藥化合物之持續釋放口服劑型在經口投藥給患者後隨時間可在患者之血漿、血液或組織中提供一定濃度之肌酸。肌酸之濃度概況可展現與本發明相應化合物之劑量成比例之 AUC。

[0182] 不管所用受控釋放口服劑型之具體形式如何，均可經足夠時間自口服劑型釋放本發明之化合物從而提供本發明之化合物在患者之血漿及/或血液中延長之治療濃度。口服後，包含本發明化合物之劑型可在向患者經口投與該劑型後，在患者之血漿及/或血液中提供治療有效濃度之肌酸歷時至少約 4 小時、至少約 8 小時、至少約 12 小時、至少約 16 小時且在某些實施例中至少約 20 小時之連續時間段。維持肌酸之治療有效濃度期間之連續時間段可相同或不同。維持肌酸之治療有效血漿濃度期間之連續時間段可在口服後或一定時間間隔後即刻開始。

[0183] 在某些實施例中，用於治療患者之疾病、病症或病況之口服劑型可包含本發明之化合物，其中口服劑型適於在向患者單次投與該口服劑型後在患者之血漿中提供治療有效濃度之肌酸歷時選自至少約 4 小時、至少約 8 小時、至少約 12 小時及至少約 16 小時及至少約 20 小時之第一連續時間段。

使用方法

[0184] 肌酸激酶(肌酸-磷酸肌酸)系統在維持細胞內能量體內平衡中發揮多種功能(參見例如 Walsh 等人, J Physiol, 2001, 537, 971-978)。磷酸肌酸在 ATP 利用速率大於由粒腺體呼吸產生 ATP 之速率時操作之高能易位的細胞內位點處充當暫時能量緩衝劑。粒腺體肌酸激酶使得新合成 ATP 之高能磷酸鍵可轉移至肌酸, 因此產生磷酸肌酸, 磷酸肌酸比 ATP 更穩定得多。磷酸肌酸可在整個細胞內擴散且其高能磷酸鍵可用於在其他肌酸激酶戰略性地定位之高能利用位點處自 ADP 再產生 ATP。該等位點包括參與離子運輸之膜、在將材料沿微管在突觸前末端來回運輸中所涉及之軸突區域及神經傳遞需要能量之突觸前末端。神經元合成肌酸, 然而肌酸之量在損傷期間可嚴重耗盡。至於骨骼及心臟肌肉, 神經元肌酸存儲可在某種程度上藉由經口補充肌酸而增加。肌酸激酶系統亦用作細胞內空間能量運輸機制。在作為能量載體之此作用中, 由粒腺體內之 ATP-ADP 系統產生之能量與細胞液中之肌酸-磷酸肌酸系統結合, 此反過來又與粒腺體外之 ATP-ADP 系統在細胞內高能傳導位點處結合。亦咸信肌酸-磷酸肌酸系統充當低閾值之 ADP 感測器, 其維持亞細胞位置中之 ATP-ADP 濃度比, 其中肌酸激酶在功能上與消耗 ATP 及產生 ATP 之路徑結合。舉例而言, 已證實肌酸可與源自粒腺體呼吸之 ATP 經粒腺體肌酸激酶催化之反應發生反應且在功能上與腺核苷酸易位酶結合, 因此導致局部 ADP

濃度增加及對粒腺體呼吸之刺激作用。因此，肌酸激酶系統對於在具有高能耗要求之細胞、組織及器官(諸如神經元及肌肉)中維持能量體內平衡(包括 ATP 體內平衡)尤為重要。

[0185] 本發明之化合物及本發明之醫藥組合物可用於治療與能量代謝功能障礙相關之患者的疾病、病症或病況。在某些實施例中，能量代謝功能障礙包含細胞內 ATP 濃度損耗、細胞內磷酸肌酸濃度減小、細胞內磷酸肌酸與 ATP 濃度比減小及/或受疾病影響之組織或器官中之肌酸激酶系統功能障礙。在某些實施例中，能量代謝功能障礙包含受疾病影響之組織或器官中之細胞內 ATP 濃度減小。在某些實施例中，能量代謝功能障礙包含受疾病影響之組織或器官中之細胞內磷酸肌酸濃度減小。在某些實施例中，能量代謝功能障礙包含受疾病影響之組織或器官中之肌酸激酶系統及/或其他細胞內能量路徑功能障礙。在某些實施例中，與能量代謝功能障礙相關之疾病係選自局部缺血、氧化應激、神經退化性疾病、局部缺血再灌注損傷、心血管疾病、多發性硬化症、精神疾病及肌肉疲勞。在某些實施例中，治療疾病包括在受疾病影響之組織或器官中實現能量平衡。

[0186] 本發明之化合物及其醫藥組合物可用於藉由向需要治療之患者投與治療有效量之本發明之化合物或其醫藥組合物來治療與氧化應激相關之患者的疾病。在某些實施例中，氧化應激與局部缺血或神經退化性病況相關。

本發明之方法包括藉由使組織或器官與本發明之化合物或其醫藥組合物接觸來治療氧化應激組織或器官。

[0187] 本發明之化合物及醫藥組合物可適用於治療疾病、病症或病況，其中細胞內肌酸水準之快速增加具有治療作用。

局部缺血

[0188] 本發明之化合物及醫藥組合物可用於治療急性或慢性局部缺血性疾病、病症或病況。局部缺血係細胞、組織或器官中之氧供應與需求失衡。局部缺血之特徵在於低氧(包括缺氧)、用於正常細胞生物能之代謝受質不足及代謝廢物積聚。組織或器官中之局部缺血可由血管功能不全引起，諸如動脈硬化、血栓、栓塞、扭轉或壓縮、低血壓(諸如休克或出血)、組織塊增加(肥大)、工作負荷增加(心動過速、運動)及/或組織應激減小(諸如心臟舒張)。局部缺血亦可由外傷或手術程序引起。視損傷之嚴重性及持續時間而定，局部缺血可導致可逆性地損失細胞功能或不可逆之細胞死亡。不同細胞類型具有不同之局部缺血損傷閾值，至少部分地取決於受影響組織或器官之細胞能要求。實質細胞，諸如神經元(3 至 4 分鐘)、心臟肌肉、肝細胞、腎小管細胞、胃腸道上皮細胞(20 至 80 分鐘)及纖維母細胞、表皮及骨骼肌(小時)，比基質細胞更易受局部缺血性損傷影響。大量研究表明肌酸激酶系統之功能能力與指定組織之局部缺血耐受性之間的相關性且表明

用以改良肌酸激酶系統功能能力之策略可有效用於改良組織之局部缺血耐受性(參見例如 Wyss 與 Kaddurah-Daouk, *Physiological Reviews*, 2000, 80(3), 1107-1213, 其以全文引用之方式併入本文中)。舉例而言, 經口補充肌酸抑制粒腺體細胞色素 C 釋放及下游半胱天冬酶-3 活化, 導致局部缺血神經保護作用。與抑制細胞色素 C 釋放及半胱天冬酶-3 活化作用相關且與神經保護作用相關, 投與肌酸抑制局部缺血介導之 ATP 損耗。

[0189] 本發明之化合物及醫藥組合物可用於治療急性或慢性局部缺血。在某些實施例中, 化合物或組合物可尤其適用於急性或緊急治療組織或器官之局部缺血, 其特徵在於諸如大腦、神經元、心臟、肺、腎或腸道之高能需求。

[0190] 高能要求與低能儲備相比使得大腦尤其易受缺氧條件傷害。儘管大腦僅構成總體重之一小部分(約 2%), 但其不成比例地佔到大比例之 O_2 消耗(約 20%)。在生理學條件下, 對 O_2 之需求增強快速且充分地由大腦血流增加而得以補償。低氧/局部缺血持續時間愈長, 受影響之大腦面積則愈大且更為分散。最易受局部缺血損害影響之區域係腦幹、海馬區及大腦皮層。除非未恢復氧化作用, 否則損傷發展且最終變得不可逆。急性細胞死亡主要發生在壞死中, 但低氧亦導致細胞凋亡延遲。另外, 自突觸前神經元釋放麩胺酸鹽可進一步增強 Ca^{2+} 流入量且導致突觸後細胞中之毀滅性破壞。若局部缺血並非過於嚴重,

則細胞可抑止某些功能，亦即在稱為半影區之過程中之蛋白合成及自發電活性，倘若重新開始供應 O_2 ，則其可逆轉。然而，使氧含量恢復至局部缺血之應激組織之過程(例如再灌注)亦可主要經由產生反應性氧物質及發炎性細胞浸潤而誘發不可逆之細胞死亡。

[0191] 神經元受到其能量產生受質之可用性的限制，侷限於主要使用葡萄糖、酮體或乳酸鹽。神經元並不產生或儲存葡萄糖或酮體且在無受質時無法存活任意顯著之時間段，其經吸收且自血流直接或間接使用。因此，在血液中必須始終存在能量產生受質之恆定供應，其量足以為整個大腦及其餘身體供應產生能量之受質。大腦細胞需要約 5 mM 葡萄糖(或其等效物)之濃度以維持其最佳之氧化磷酸化速率來產生 ATP。營養物藉由穿過細胞膜進入細胞。營養物傳遞常依賴於細胞膜以外之機制，諸如口服、吸收、循環運輸及間質通量。一旦位於細胞附近，膜特異性過程即在緊接之穿過血液-大腦障壁且隨後進入細胞內部及進入各種亞細胞胞器之營養物運輸中發揮作用。藉由 ATP 酶分解 ATP 可能進行營養物運輸。由 Na^+/K^+ ATP 酶產生之 Na^+ 梯度可由細胞用於運輸營養物分子穿過細胞膜。

[0192] 缺少氧或葡萄糖防止或限制神經元合成 ATP 之能力。細胞內肌酸/磷酸肌酸系統在某種程度上可補償氧或葡萄糖之缺少。肌酸激酶在正常大腦組織中催化自肌酸合成磷酸肌酸。在 ATP 耗盡之情形下，磷酸肌酸可向

ADP 貢獻其磷酸基從而再合成 ATP。然而，在完全缺氧或局部缺血磷酸肌酸亦快速耗盡後，神經元磷酸肌酸之含量係有限的。咸信 ATP 耗盡阻止 Na^+/K^+ ATP 酶，致使神經元去極化且喪失膜潛能。

[0193] 氧水準耗盡對細胞生物能具有若干種其他後果且作用在於可最終導致細胞死亡。舉例而言，功能障礙生物能亦涵蓋鈣體內平衡受損。調節鈣對神經元之適當功能及存活具有重要作用。位於細胞膜上之鈣泵使用 ATP 將鈣離子運輸至神經元以外。鈣泵之適當活性對於維持神經元、粒腺體及內質網體內平衡係必需的。鈣泵功能變化調節細胞內之酶活性且在觸發粒腺體滲透性轉變中亦具有重要作用，其可導致細胞死亡。舉例而言，咸信細胞內之 Ca^{2+} 代謝在阿茲海默氏病中導致細胞死亡。舉例而言，在氧化應激之情形下，氧自由基之產生超過了內源性自由基保護機制。此藉由對包括膜脂質、核酸及功能性蛋白之重要細胞生物分子直接造成自由基損害且藉由調節重要之信號轉導途徑來損害神經元代謝及功能。神經元功能取決於電脈衝在細胞之間之傳遞。此活性取決於各自懸浮於磷脂雙層中之多種膜蛋白的確切作用。此動態膜微環境之最佳活性取決於脂質成分之確切狀態及化學組成。缺乏適當磷脂環境、細胞通道蛋白、酶及受體無法達成持續水準之最佳功能。另外，氧化應激及/或異常甲基代謝可減小膜狀脂質雙層之流動性，後續對嵌埋之功能蛋白具有不利影響。功能障礙生物能療法亦可不利影響高能電子穿過呼吸

鏈。

[0194] 細胞凋亡係指個別神經細胞在適當情形下引發導致細胞死亡之過程時的需要能量之程式化細胞死亡過程。上文論述之某些機制可引發凋亡路徑，包括氧化應激、鈣超載、細胞能量不足、營養因子提取及異常澱粉樣前體蛋白加工。在局部缺血中，受低氧性損傷影響最嚴重之大腦組織區域中之神經元因壞死而快速死亡，而暴露於較低程度低氧之神經元則因細胞凋亡而死亡。自壞死性細胞死亡轉變為凋亡性細胞死亡係與細胞內 ATP 之水準增加相關。已證實肌酸補充可導致更大之能力緩衝 ATP 水準及減少細胞死亡且因此提供保護以免缺氧及局部缺血損害(Balestrino 等人, *Amino Acids*, 2002, 23, 221-229；及 Zhu 等人, *J Neurosci* 2004, 24(26), 5909-5912，其各自以全文引用之方式併入本文中)。

[0195] 在某些實施例中，本發明之化合物及醫藥組合物可用於治療心血管疾病，包括大腦局部缺血(中風)及心肌局部缺血(心臟梗塞)。局部缺血心臟疾病作為多種急性心肌梗塞、充血性心臟衰竭、心律不整及心臟性猝死病例之潛在原因，在所有工業化國家係發病率與死亡率之主要原因。在美國，局部缺血性心臟疾病導致所有死亡中之近 20%(每年約 600,000 例死亡)，其中許多該等死亡均發生在患者到達醫院之前。預計每年將有 110 萬美國人罹患新的或復發急性心肌梗塞且許多倖存者將經歷持久發病率，發展成心臟衰竭並死亡。隨著人群變老及副發病變

(諸如肥胖及糖尿病)更為普遍，由局部缺血性心臟病導致之公共健康負擔可能增加。

[0196] 最佳細胞生物能療法依賴於：(1)向粒腺體充分傳遞氧及受質；(2)粒腺體之氧化能力；(3)足夠量之高能磷酸酯及磷酸肌酸/ATP 比；(4)能量自粒腺體有效轉移至能量利用位點；(5)充分局部調節 ATP/ADP 比接近 ATP 酶；及(6)有效反饋來自利用位點之信號以維持細胞內之能量體內平衡。在心血管疾病中，諸如在各種來源之舒張型及肥厚型心肌病、心臟傳導缺陷及局部缺血性心臟病中已發現該等心臟能量途徑之不足(Saks 等人, J Physiol 2006, 571.2, 253-273；Ventura-Clapier 等人, J Physiol 2003, 555.1, 1-13；及 Ingwall 與 Weiss, Circ Res 2004, 95, 135-145，其各自以全文引用之方式併入本文中)。在衰竭人類心臟及實驗性心臟衰竭中始終報導磷酸肌酸/ATP 比減小，即使在適度之工作負荷下。肌酸、肌酸轉運體、磷酸肌酸及 ATP 顯著減少且磷酸肌酸/ATP 比減小預測先天性心臟衰竭之死亡率。又，已在心臟疾病之實驗性動物模型以及衰竭人類心肌層中展示肌酸轉運體蛋白表現下調，表明在衰竭心臟中量測之通常降低之磷酸肌酸與肌酸水準與下調之肌酸轉運體能力相關。

[0197] 心血管疾病包括高血壓、心臟衰竭(諸如充血性心臟衰竭或心肌梗塞後心臟衰竭)、心律不整、舒張型功能障礙(諸如左心室舒張型功能障礙、舒張型心臟衰竭或舒張型填充受損)、收縮型功能障礙、局部缺血(諸如心

肌局部缺血)、心肌病(諸如肥厚型心肌病及舒張型心肌病)、心臟性猝死、心肌纖維化、血管纖維化、動脈順應性受損、心肌壞死性病變、心臟血管損害、心臟血管發炎、心肌梗塞(包括急性心肌梗塞後病況與慢性心肌梗塞後病況)、冠狀動脈血管成形術、左心室肥大、射血分數減小、冠狀動脈血栓、心臟病變、心臟血管壁肥厚、內皮增厚、心肌炎及冠狀動脈疾病(諸如類纖維蛋白壞死或冠狀動脈)。由於與冠狀動脈局部缺血性心臟疾病相關之全身性高血壓引起之心室肥大認為係猝死、梗塞後心臟衰竭及心臟破裂之主要風險因素。患有嚴重左心室肥大之患者尤其易受低氧或局部缺血影響。

[0198] 本發明化合物之神經保護作用可使用大腦局部缺血動物模型來確定，諸如在 Cimino 等人，*Neurotoxicol* 2005, 26(5), 9929-33；Konstas 等人，*Neurocrit Care* 2006, 4(2), 168-78；Wasterlain 等人，*Neurology* 1993, 43(11), 2303-10；及 Zhu 等人，*J Neuroscience* 2004, 24(26), 5909-5912 中所述之彼等模型。

局部缺血再灌注損傷

[0199] 當血液供應在局部缺血一段時間後返回組織時，再灌注損傷對組織有害。組織或器官中不存在來自血液之氧及營養物創造一種條件，其中恢復循環導致發炎及來自氧之氧化性損害，而非恢復正常功能。局部缺血再灌

注損傷之損害部分係由於受損組織之發炎反應。再灌注導致大腦中之局部缺血級聯，此在中風及大腦外傷中有所涉及。亦咸信局部缺血及再灌注之重複發作係導致形成慢性傷口(諸如褥瘡及糖尿病足部潰瘍)或導致恢復失敗之因素(Mustoe, Am J Surgery 2004, 187(5), S65-S70，其以全文引用之方式併入本文中)。在某些實施例中，本發明之方法及組合物可保護肌肉及器官(諸如心臟、肝、腎、大腦、肺、脾及類固醇生成器官，例如甲狀腺、腎上腺及生殖腺)免受因局部缺血再灌注損傷引起之損害。

[0200] 局部缺血後再灌注係哺乳動物中骨骼與心肌損害之主要原因。局部缺血係因由於血流減少而導致供應給組織或器官之氧減少而引起且可導致器官功能障礙。血液供應減少可因由於血管血栓(諸如心肌梗塞、狹窄、意外血管損傷或手術程序)導致之阻塞或血液轉移而引起。後續重建足夠之含氧血液供應給組織或器官可導致損害增加，此係稱為局部缺血再灌注損傷或阻塞再灌注損傷之過程。由局部缺血再灌注損傷引起之併發症包括中風、致命性或非致命性心肌梗塞、心肌重塑、動脈瘤、周圍血管疾病、組織壞死、腎衰竭及手術後喪失肌肉張力。

[0201] 在短暫階段之局部缺血(再灌注)後恢復冠狀動脈血液流動儘管對於肌細胞存活及恢復需氧代謝而言係必要的，但仍引發單獨之一系列可使細胞損傷惡化之應激。再灌注期間產生之活性含氧物損害心肌細胞內之蛋白及膜結構且可激活導致細胞凋亡之信號轉導路徑。白血球附著

至局部缺血後內皮細胞可堵塞毛細管且釋放發炎介質。經再灌注後，血漿中含有之或在心肌壁內局部複雜化之活化補體、兒茶酚胺及其他信號分子的流入亦可影響心肌層細胞內之事件進程。作為局部缺血之直接後果，再灌注損傷係急性冠狀動脈徵候群之重要特徵。該損傷由於冠狀動脈血栓形成之纖維蛋白分解及由於急性血管成形術之分解纖維蛋白的藥物而自然發生，冠狀動脈血栓形成之纖維蛋白分解及急性血管成形術之分解纖維蛋白的藥物係目前常用於打開阻塞血管之治療。

[0202] 在某些實施例中，本發明之化合物及其組合物可用於治療與局部缺血再灌注損傷相關之病況或減少局部缺血再灌注損傷。局部缺血再灌注損傷可與缺氧、嗜中性白血球活化及/或產生髓過氧化酶相關。局部缺血再灌注損傷可為多種疾病狀態之後果或可例如由血凝塊、狹窄或手術醫源性誘發。

[0203] 在某些實施例中，本發明之化合物及其組合物可用於治療中風、致命性或非致命性心肌梗塞、周圍血管疾病、組織壞死及腎衰竭及因局部缺血再灌注損傷引起之手術後肌肉張力喪失。在某些實施例中，本發明之方法及組合物減少或緩和局部缺血再灌注損傷之程度。

[0204] 在某些實施例中，本發明之化合物及其組合物可用於治療、減少或預防與阻塞相關之局部缺血再灌注損傷或由於血管狹窄、血栓、意外血管損傷或手術程序引起之血液轉移。

[0205] 在某些實施例中，本發明之化合物及其組合物亦可用於治療與局部缺血再灌注相關之任何其他病況，諸如心肌梗塞、中風、間歇性跛行、周圍動脈疾病、急性冠狀動脈徵候群、心血管疾病及由於血管阻塞引起之肌肉損傷。

[0206] 在某些實施例中，本發明之化合物及其組合物可用於治療與心肌梗塞、狹窄、至少一種血凝塊、中風、間歇性跛行、周圍動脈疾病、急性冠狀動脈徵候群、心血管疾病或由於血管阻塞引起之肌肉損傷相關之再灌注損傷。

[0207] 在某些實施例中，本發明之化合物及其組合物可結合心臟手術，例如在心臟麻痺溶液中或與心臟麻痺溶液一起用於預防心肌層之局部缺血或再灌注損傷或使其降至最低程度。在某些實施例中，該等方法及組合物在心臟手術期間可與心肺分流機一起用於預防或減少心肌層之局部缺血再灌注損傷。

[0208] 在某些實施例中，本發明之方法及組合物可保護肌肉及器官(諸如心臟、肝臟、腎、大腦、肺、脾及類固醇生成器官，例如甲狀腺、腎上腺及生殖腺)免受由於局部缺血再灌注損傷引起之損害。

[0209] 本發明之化合物及醫藥組合物可藉由使組織或器官與有效量之化合物或醫藥組合物接觸用於治療組織或器官之局部缺血再灌注損傷。組織或器官可處於患者體內或患者體外，亦即身體外。組織或器官可為移植組織或

器官，且化合物或醫藥組合物可在移除之前、運輸期間、移植期間及/或在接受者體內移植組織或器官之後與移植組織或器官接觸。

[0210] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物可用於治療由手術(諸如心臟手術)引起之局部缺血性灌注損傷。化合物或醫藥組合物可在手術之前、期間及/或之後投與。在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物可用於治療對肌肉(包括心肌、骨骼肌或平滑肌)之局部缺血再灌注損傷，且在某些實施例中用於治療對器官(諸如心臟、肺、腎、脾、肝、神經元或大腦)之局部缺血再灌注損傷。本發明之化合物或其醫藥組合物可在手術之前、期間及/或之後投與。

[0211] 在某些實施例中，本發明之本發明之化合物或醫藥組合物可用於治療對肌肉(包括心肌、骨骼肌及平滑肌)之局部缺血性灌注損傷。

[0212] 本發明之化合物用於治療局部缺血再灌注損傷之功效可使用動物模型並在臨牀試驗中來評估。適用於評估治療局部缺血再灌注損傷之功效的方法實例例如在 Prass 等人, *J Cereb Blood Flow Metab* 2007, 27(3), 452-459; Arya 等人, *Life Sci* 2006, 79(1), 38-44; Lee 等人, *Eur. J. Pharmacol* 2005, 523(1-3), 101-108 及美國申請案第 2004/0038891 號中揭示。適用於評估移植灌注/再灌注之方法例如描述於 Ross 等人, *Am J. Physiol-Lung Cellular Mol. Physiol.* 2000, 279(3), L528-536 中。

移植灌注

[0213] 在某些實施例中，本發明之化合物或其醫藥組合物可藉由以本發明之化合物或其醫藥組合物灌注器官而用於增加器官移植體之存活力。預期增加磷酸肌酸水準預防對器官之局部缺血性損害或使其降至最低程度。在器官移除期間、移除供體器官後、植入期間及/或器官移植後，以肌酸前藥灌注可增強器官(尤其代謝活躍之器官，諸如心臟或胰腺)之存活力，且因此減少排斥速率及/或增加器官移植之時間窗。

[0214] 在某些實施例中，本發明之化合物及其組合物可用於治療、預防或減少身體外部組織或器官之局部缺血再灌注損傷。身體外部組織或器官係並非位於個體內(亦稱為離體)之組織或器官，諸如在移植中。對於組織及器官移植而言，移除之供體組織及器官在移除期間，同時在運輸中、在植入期間及在移植至接受者體內後亦易受再灌注損傷影響。該等方法及組合物可藉由例如補充用於維持或保藏可移植組織或器官之溶液而用於增加可移植組織或器官之存活力。舉例而言，該等方法及組合物可用於在運輸期間浸洗可移植之組織或器官或在移植之前、期間或之後可與可移植之組織或器官接觸放置。

神經退化性疾病

[0215] 以細胞死亡為特徵之神經退化性疾病可分類

為急性(例如，中風、外傷性大腦損傷、脊髓損傷)與慢性(例如，肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、亨廷頓氏病、帕金森氏病及阿茲海默氏病)。儘管該等疾病具有不同病因且影響不同之神經元群體，但其細胞內能量代謝共有類似之損害。舉例而言，ATP 之細胞內濃度減小，導致胞內聚集 Ca^{2+} 且刺激易於形成氧物質。 Ca^{2+} 及反應性氧物質又可觸發凋亡性細胞死亡。對於該等病症而言，如總的肌酸濃度、磷酸肌酸濃度、肌酸激酶活性及/或肌酸轉運體含量減少所反映，大腦肌酸代謝之損害亦係明顯的(參見例如 Wyss 與 Kaddurah-Daouk, *Physiol Rev* 2000, 80, 1107-1213; Tarnopolsky 與 Beal, *Ann Neurol* 2001, 49, 561-574 及 Butterfield 與 Kanski, *Mech Ageing Dev* 2001, 122, 945-962, 其各自以全文引用之方式併入本文中)。

[0216] 急性與慢性神經退化性疾病係與高發病率及死亡率相關之疾病且幾乎無可用於其治療之選擇。許多神經退化性疾病(包括中風、大腦外傷、脊髓損傷、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症、亨廷頓氏病、阿茲海默氏病及帕金森氏病)之特徵在於神經元細胞死亡。因壞死或細胞凋亡而發生細胞死亡。在大腦或脊髓之急性局部缺血或外傷性損傷後中樞神經系統中發生壞死性細胞死亡。其發生於受突發性生物化學破壞影響最嚴重之區域中，此導致產生自由基及興奮毒素。粒腺體及核腫脹、胞器溶解及核周圍之染色質凝集後緊接發生核與細胞質膜破裂且 DNA 因無規酶切而降解。凋亡性細胞死亡可為急性與慢性神經疾病之

特徵。細胞凋亡發生於未受損傷嚴重影響之區域中。舉例而言，在局部缺血之後，在病變核心處發生壞死性細胞死亡，其中低氧最為嚴重且在半影區中發生細胞凋亡，其中並行之血流減小低氧程度。凋亡性細胞死亡亦係在大腦或脊髓損傷後出現之病變組分。在慢性神經退化性疾病中，細胞凋亡係主要之細胞死亡形式。在細胞凋亡中，生物化學級聯使破壞細胞存活所需之分子的蛋白酶及介導細胞死亡程式之其他物質活化。半胱天冬酶直接及間接致使細胞在細胞凋亡期間發生形態改變(Friedlander, N Engl J Med 2003, 348(14), 1365-75)。口服肌酸補充已證實抑制粒腺體細胞色素 C 釋放及下游之半胱天冬酶-3 活化，且 ATP 損耗對大腦局部缺血中半胱天冬酶介導之細胞死亡級聯的抑制作用(Zhu 等人, J Neurosci 2004, 24(26), 5909-5912)表明操縱肌酸激酶系統可有效控制慢性神經退化性疾病中之凋亡性細胞死亡。

[0217] 肌酸投藥展示神經保護作用，尤其在帕金森氏病、亨廷頓氏病及 ALS 之動物模型中(Wyss 與 Schulze, Neuroscience 2002, 112(2), 243-260，其以全文引用之方式併入)且意識到氧化應激之水準可為各種神經退化性疾病中之代謝確定的決定因素。目前關於肌酸介導之神經保護作用機制的假設包括能量儲存增強以及藉由肌酸激酶之八聚體構型穩定粒腺體滲透性轉換孔。因此咸信較高水準之細胞內肌酸可改良細胞之總體生物能量學狀態，使細胞對損傷更具抗性。

帕金森氏病

[0218] 帕金森氏病係一種緩慢發展之神經系統退化性病症，其特徵在於肌肉靜止時顫動(靜止性顫動)、自主性運動緩慢及肌張力增加(僵化)。在帕金森氏病中，基底神經節(例如，黑質)中之神經細胞退化且因此使得產生之多巴胺及基底神經節中神經細胞之間的連接數減少。因此，基底神經節無法使平滑肌運動及協調姿態變化，導致顫動、共濟失調及運動遲緩、減少(運動徐緩)(Blandini, 等人, *Mol. Neurobiol.* 1996, 12, 73-94)。

[0219] 威信氧化應激可係帕金森氏病組織中可見之代謝惡化因素(Ebadi 等人, *Prog Neurobiol* 1996, 48, 1-19; Jenner 與 Olanow, *Ann Neurol* 1998, 44 增刊 1, S72-S84; 及 Sun 與 Chen, *J Biomed Sci* 1998, 5, 401-414, 其各自以全文引用之方式併入本文中)且已證實肌酸補充展示神經保護作用(Matthews 等人, *Exp Neurol*, 1999, 157, 142-149, 其以全文引用之方式併入本文中)。

[0220] 投與本發明之化合物用於治療帕金森氏病之功效可使用帕金森氏病之動物與人類模型及臨牀研究來評估。帕金森氏病之動物與人類模型係已知的(參見例如 O'Neil 等人, *CNS Drug Rev.* 2005, 11(1), 77-96; Faulkner 等人, *Ann. Pharmacother.* 2003, 37(2), 282-6; Olson 等人, *Am. J. Med.* 1997, 102(1), 60-6; Van Blercom 等人, *Clin Neuropharmacol.* 2004, 27(3), 124-8; Cho 等人, *Biochem.*

Biophys. Res. Commun. 2006, 341, 6-12 ; Emborg, J. Neuro. Meth. 2004, 139, 121-143 ; Tolwani 等人, Lab Anim Sci 1999, 49(4), 363-71 ; Hirsch 等人, J Neural Transm 增刊 2003, 65, 89-100 ; Orth 與 Tabrizi, Mov Disord 2003, 18(7), 729-37 ; Betarbet 等人, Bioessays 2002, 24(4), 308-18 ; 及 McGeer 與 McGeer, Neurobiol Aging 2007, 28(5), 639-647)。

阿茲海默氏病

[0221] 阿茲海默氏病係一種心智功能之進行性喪失，其特徵在於大腦組織退化，包括喪失神經細胞且發展老年斑及神經元纖維纏結。在阿茲海默氏病中，部分大腦退化、破壞神經細胞且減少剩餘神經元對神經傳遞質之反應性。大腦組織異常由老年斑或神經斑組成，例如含有稱為類澱粉蛋白之異常不溶性蛋白的死亡神經細胞團塊及在神經細胞中扭結成不溶性蛋白束之神經元纖維纏結。

[0222] 活性氧化應激可為阿茲海默氏病組織中可見之代謝惡化因素，其中肌酸激酶係氧化損害之標靶之一 (Pratico 等人, FASEB J 1998, 12, 1777-1783 ; Smith 等人, J Neurochem 1998, 70, 2212-2215 ; 及 Yatin 等人, Neurochem Res 1999, 24, 427-435，其各自以全文引用之方式併入本文中)且研究已證實磷酸肌酸之細胞內水準與癡呆發展之間的相關性 (Pettegrew 等人, Neurobiol Aging 1994, 15, 117-132，其以全文引用之方式併入本文中)。

[0223] 投與本發明之化合物用於治療阿茲海默氏病之功效可使用阿茲海默氏病之動物與人類模型及臨牀研究來評估。適用於評估化合物用於治療阿茲海默氏病之功效的動物模型例如在 Van Dam 與 De Dyn, *Nature Revs Drug Disc* 2006, 5, 956-970 ; Simpkins 等人, *Ann NY Acad Sci*, 2005, 1052, 233-242 ; Higgins 與 Jacobsen, *Behav Pharmacol* 2003, 14(5-6), 419-38 ; Janus 與 Westaway, *Physiol Behav* 2001, 73(5), 873-86 及 Conn 編, 「*Handbook of Models in Human Aging*,」 2006, Elsevier Science & Technology 中揭示。

亨廷頓氏病

[0224] 亨廷頓氏病係一種常染色體顯性神經退化性病徵，其中在新紋體與皮質中發生特定細胞死亡(Martin, *N Engl J Med* 1999, 340, 1970-80，其以全文引用之方式併入本文中)。通常在生命之第四或第五個十年發作，在發作之年齡平均存活 14 至 20 年。亨廷頓氏病係致命的且無有效治療。症狀包括特徵性運動障礙(亨廷頓氏舞蹈病，Huntington's chorea)、認知功能不全及精神症狀。該疾病係由編碼蛋白(亨廷頓蛋白)中 CAG 編碼之聚麩醯胺酸重複體之異常膨脹的突變所引起。大量研究表明，能量代謝漸進式受損可能係源於氧化應激因自由基產生而導致之粒腺體損害。在亨廷頓氏病動物模型中之臨牀前研究已記載肌酸投藥之神經保護作用。舉例而言，肌酸之神經保護作

用係與大腦中磷酸肌酸與肌酸水準較高及乳酸鹽水準降低相關，此與能量產生得以改良相一致(參見 Ryu 等人，*Pharmacology & Therapeutics* 2005, 108(2), 193-207，其以全文引用之方式併入本文中)。

[0225] 投與本發明之化合物用於治療亨廷頓氏病之功效可使用亨廷頓氏病之動物及人類模型以及臨牀研究來評估。亨廷頓氏病之動物模型例如在 Riess 與 Hoersten, 美國申請案第 2007/0044162 號；Rubinsztein, *Trends in Genetics*, 2002, 18(4), 202-209；Matthews 等人，*J. Neuroscience* 1998, 18(1), 156-63；Tadros 等人，*Pharmacol Biochem Behav* 2005, 82(3), 574-82 及在美國專利第 6,706,764 號及美國申請案第 2002/0161049 號、第 2004/0106680 號及第 2007/0044162 號中揭示。評估肌酸補充對治療亨廷頓氏病之功效的安慰劑控制臨牀試驗在 Verbessem 等人，*Neurology* 2003, 61, 925-230 中揭示。

肌肉萎縮性脊髓側索硬化症

[0226] 肌肉萎縮性脊髓側索硬化症(ALS)係一種漸進式神經退化病症，其特徵在於大腦、腦幹及脊髓中之運動神經元之漸進式及特異性損失(Rowland 與 Schneider, *N Engl J Med* 2001, 344, 1688-1700，其以全文引用之方式併入本文中)。ALS 由虛弱開始，常出現於手部而較少出現於腳部，通常發展至手臂或腿。隨時間流逝，虛弱增加且痙攣發展成具有肌肉顫搐及繃緊之特徵，繼而發生肌肉痙

攣且可能顫動。平均發作年齡為 55 歲且臨牀發作後之平均預期壽命為 4 年。對於 ALS 唯一認可之治療為利魯唑 (riluzole)，其可使存活延長僅約三個月。口服肌酸已證實 在 ALS 之轉基因動物模型中提供神經保護作用 (Klivenyi 等人, Nat Med 1999, 5, 347-50，其以全文引用之方式併入本文中)。

[0227] 投與本發明之化合物用於治療 ALS 之功效可使用 ALS 之動物及人類模型以及臨牀研究來評估。ALS 之天然疾病模型包括小鼠模型(運動神經元退化、漸進性運動神經病變及搖擺病)及遺傳性犬脊髓性肌肉萎縮症犬模型(Pioro 與 Mitsumoto, Clin Neurosci, 19954996, 3(6), 375-85)。實驗產生且基因工程化之 ALS 動物模型亦可適用於評估治療功效(參見例如 Doble 與 Kennel, Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. 2000, 1(5), 301-12; Grieb, Folia Neuropathol. 2004, 42(4), 239-48; Price 等人, Rev Neurol (Paris), 1997, 153(8-9), 484-95 及 Klivenyi 等人, Nat Med 1999, 5, 347-50)。特定而言，SOD1-G93A 小鼠模型係認可之 ALS 模型。適用於評估對 ALS 之治療的臨牀試驗方案實例例如在 Mitsumoto, Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. 2001, 2 增刊 1, S10-S14; Meininger, Neurodegener Dis 2005, 2, 208-14 及 Ludolph 與 Sperfeld, Neurodegener Dis. 2005, 2(3-4), 215-9 中描述。

多發性硬化症

[0228] 多發性硬化症(MS)係由針對中樞神經系統之隔離軸突髓鞘質薄板之自體免疫進攻引起的中樞神經系統之多層面發炎性自體免疫疾病。脫髓鞘作用導致破壞傳導且因破壞局部軸突及不可逆之神經元細胞死亡而導致嚴重疾病。MS 之症狀隨各個別患者而高度變化，展現特定形式之運動、情感及感覺障礙。MS 在病理學上典型地在大腦及脊髓中產生多種發炎性病竈、脫髓鞘斑塊、神經膠瘤病及軸突病理現象，所有該等導致神經疾病之臨牀表現(參見例如 Wingerchuk, Lab Invest 2001, 81, 263-281 及 Virley, NeruoRx 2005, 2(4), 638-649)。儘管尚未完全理解促成疾病之因果事件，但大多數證據暗指自體免疫病因學連同環境因素，以及特定遺傳誘因。功能性損傷、殘疾及殘障表現為麻痺、感覺與認知障礙、痙攣、顫動、缺乏協調及視覺缺陷，其影響個體之生命品質。MS 之臨牀過程在個體間可不同，但疾病總是可分類為三種形式：復發-緩解型、次發-漸進型及首發-漸進型。若干研究暗指因疾病之病因及症狀而發生磷酸肌酸代謝之功能障礙(Minderhoud 等人, Arch Neurol 1992, 49(2), 161-5; He 等人、Radiology 2005, 234(1), 211-7; Tartaglia 等人, Arch Neurology 2004, 61(2), 201-207; Duong 等人, J Neurol 2007 年 4 月 20 日; 及 Ju 等人, Magnetic Res Imaging 2004, 22, 427-429)，儘管單獨攝食肌酸似乎並未有效改善患有 MS 之個體的運動能力(Lambert 等人, Arch Phys Med

Rehab 2003, 84(8), 1206-1210)。

[0229] 可使用諸如擴展殘疾狀況評分表(Kurtzke, Neurology 1983, 33, 1444-1452)與 MS 功能組合(Fischer 等人, Mult Scler, 1999, 5, 244-250)以及磁共振造影病變負載、生物標記及自填生活品質(參見例如 Kapoor, Cur Opin Neurol 2006, 19, 255-259)之工具來實現對臨牀試驗中之 MS 治療功效的評估。展示適用於識別及證實潛在治療之 MS 動物模型包括模擬 MS 之臨牀及病理學表現之實驗室自體免疫/過敏性腦脊髓炎(EAE)齧齒動物模型(Werkerle 與 Kurschus, Drug Discovery Today: Disease Models, Nervous System Disorders, 2006, 3(4), 359-367; Gijbels 等人, Neurosci Res Commun 2000, 26, 193-206 及 Hofstetter 等人, J Immunol 2002, 169, 117-125)及非人類靈長動物 EAE 模型('t Hart 等人, Immunol Today 2000, 21, 290-297)。

精神病性障礙

[0230] 在某些實施例中，本發明之化合物或其醫藥組合物可用於治療精神病性障礙，諸如精神分裂症、雙極症及焦慮症。

精神分裂症

[0231] 精神分裂症係影響全世界約 1%人口(包括 320 萬美國人)之慢性、嚴重且致殘之大腦病症。精神分裂症

涵蓋一組神經精神性病徵，其特徵在於思考過程功能障礙，諸如妄想、幻覺及患者對其他人之興趣廣泛退縮。精神分裂症包括以全神貫注於妄想或聽力幻覺為特徵之妄想型精神分裂症亞型、以語無倫次、行為紊亂及情感單調或不當為特徵之青春型或紊亂型精神分裂症；主要為諸如固定不動、過度運動活性或假想奇異姿態之身體症狀的緊張型精神分裂症；以其他亞型之症狀特徵組合為特徵之未分化型精神分裂症；及殘餘型精神分裂症，其中患者目前尚未罹患陽性症狀，但表現出精神分裂症之陰性及/或認知性症狀(參見 DSM-IV-TR 分類 295.30 (妄想型)、295.10 (紊亂型)、295.20 (緊張型)、295.90 (未分化型)及 295.60 (殘餘型)；Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 第4版, American Psychiatric Association, 297-319, 2005)。精神分裂症包括該等類型及其他密切相關之精神病性障礙，諸如類精神分裂病性疾患、分裂情感性疾患、妄想疾患、短暫精神障礙、共生型精神障礙、由於一般醫學狀況引起之精神障礙、物質誘發之精神障礙及未分型之精神病性障礙(DSM-IV-TR, 第4版, 第297-344頁, American Psychiatric Association, 2005)。

[0232] 精神分裂症症狀可分類為陽性、陰性或認知性。精神分裂症之陽性症狀包括妄想及幻覺，其例如可使用陽性與陰性症狀量表(the Positive and Negative Syndrome Scale, PANSS)來量測(Kay 等人, Schizophrenia Bulletin 1987, 13, 261-276)。精神分裂症之陰性症狀包括

情感遲鈍、無力、失語及社會退縮，其例如可使用陰性症狀評估量表(the Scales for the Assessment of Negative Symptom, SANS)來量測(Andreasen, 1983, Scales for the Assessment of Negative Symptom(SANS), Iowa City, Iowa)。精神分裂症之認知性症狀包括獲得組織及使用智力知識之能力受損，其可使用陽性與陰性症狀量表-認知性分量表(PANSS-認知性分量表)(Lindenmayer 等人, J Nerv Ment Dis 1994, 182, 631-638)或藉由諸如使用威斯康辛卡分類測試(Wisconsin Card Sorting Test)評估執行認知任務之能力(參見例如 Green 等人, Am J Psychiatry 1992, 149, 162-67；及 Koren 等人, Schizophr Bull 2006, 32(2), 310-26)來量測。

[0233] 大量研究支持精神分裂症與大腦高能磷酸鹽代謝功能障礙之間的相關性(Fukuzako, World J Biol Psychiatry 2001, 2(2), 70-82；及 Gangadhar 等人, Prog Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 2006, 30, 910-913)。罹患精神分裂症之患者在其大腦之左右額區中展現較低之磷酸肌酸水準，此與敵意疑心及焦慮症-抑鬱症評估分量表高度相關(Deicken 等人, Biol Psychiatry 1994, 36(8), 503-510；Volz 等人, Biol Psychiatry 1998, 44, 399-404；及 Volz 等人, Biol Psychiatry 2000, 47, 954-961)。因此已建議肌酸補充用於治療精神分裂症(參見例如 Lyoo 等人, Psychiatry Res: Neuroimaging 2003, 123, 87-100)。

[0234] 肌酸前藥及其醫藥組合物用於治療精神分裂症之功效可由熟習此項技術者已知之方法來確定。舉例而言，可在治療患者之前及之後量測精神分裂症之陰性、陽性及/或認知性症狀。該(等)症狀減少表明患者之病況得以改良。精神分裂症症狀改良例如可使用陰性症狀評估量表(SANS)、陽性與陰性症狀量表(PANSS)(參見例如 Andreasen, 1983, Scales for the Assessment of Negative Symptom(SANS), Iowa City, Iowa；及 Kay 等人, Schizophrenia Bulletin 1987, 13, 261-276)及使用認知性缺陷測試(諸如威斯康辛卡分類測試(WCST)及其他認知性功能量測(參見例如 Keshavan 等人, Schizophr Res 2004, 70(2-3)、187-194；Rush, Handbook of Psychiatric Measures, American Psychiatric Publishing 2000；Sajatovic 及 Ramirez, Rating Scales in Mental Health, 第2版, Lexi-Comp, 2003, Keefe, 等人, Schizophr Res. 2004, 68(2-3), 283-97；及 Keefe 等人, Neuropsychopharmacology, 2006 年 4 月 19 日)來評估。

[0235] 肌酸前藥及其醫藥組合物之功效可使用精神分裂症動物模型來評估(參見例如 Geyer 與 Moghaddam, 在「Neuropsychopharmacology,」Davis 等人編, 第50章, 689-701, American College of Neuropsychopharmacology, 2002)。舉例而言，大鼠體內之條件性迴避反應行為(CAR)及強直症測試證實分別適用於預測抗精神病活性及 EPS 效應可能性(Wadenberg 等人,

Neuropsychopharmacology, 2001, 25, 633-641)。

雙極症

[0236] 雙極症係一種以極端情緒期為特徵之精神狀況。可發生自抑鬱(例如，持久感受到悲傷、焦慮、內疚、氣憤、孤立及/或絕望、睡眠及食慾困擾、疲勞且對通常喜歡之活動喪失興趣、難以集中注意力、孤獨、自我討厭、冷漠或漠不關心、喪失個性、對性活動喪失興趣、羞怯或社交焦慮症、易怒、慢性疼痛、缺乏動力及病態/自殺意念)至狂躁(例如，振奮、欣快、惱怒及/或疑心)範圍之情緒。在精神病診斷與統計學手冊(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)，第4版，Text Revision (DSM-IV-TR)，American Psychiatric Assoc., 2000，第382至401頁中對雙極症進行定義及分類。雙極症包括第一型雙極症、第二型雙極症、循環性情感疾患及未另外規定之雙極症。

[0237] 患有雙極抑鬱症之患者展示其大腦高能磷酸鹽代謝受損，其特徵在於磷酸肌酸與肌酸激酶之水準降低(Kato 等人, J Affect Disord 1994, 31(2), 125-33；及 Segal 等人, Eur Neuropsychopharmacology 2007, 17, 194-198)，可能涉及粒腺體能量代謝(Stork 與 Renshaw, Molecular Psychiatry 2005, 10, 900-919)。

[0238] 可在臨牀試驗中使用諸如蒙哥馬利亞斯伯格抑鬱等級量表(Montgomery-Asberg Depression Rating

Scale)、漢密爾頓抑鬱量表(Hamilton Depression Scale)、拉斯金抑鬱量表(Raskin Depression Scale)、Feighner 標準及/或臨牀整體印象量表分值(Clinical Global Impression Scale Score)之等級量表對雙極症之治療進行評估(Gijsman 等人, Am J Psychiatry 2004, 161, 1537-1547)。

焦慮症

[0239] 在精神病診斷與統計學手冊，第 4 版，Text Revision (DSM-IV-TR)，American Psychiatric Assoc., 200, 第 429 至 484 頁中對焦慮症進行定義及分類。焦慮症包括恐慌發作，懼空曠症，無懼空曠症之恐慌症、無恐慌症病史之懼空曠症、特定對象畏懼症、社會畏懼症、強迫症、創傷後壓力症、急性壓力症、廣泛焦慮症、由於一般醫病況引起之焦慮症、物質誘發之焦慮症及未另外規定之焦慮症。近期文獻已記載了半卵圓中心(腦白質之代表區域)中之肌酸/磷酸肌酸水準降低與焦慮症嚴重程度之相關性(Coplan 等人, Neuroimaging, 2006, 147, 27-39)。

[0240] 適用於評估焦慮症治療之動物模型包括因恐懼而增強之驚嚇(Brown 等人, J Experimental Psychol, 1951, 41, 317-327)、高架十字迷宮(Pellow 等人, J Neurosci. Methods 1985, 14, 149-167 及 Hogg, Pharmacol Biochem Behavior 1996, 54(1), 21-20)及高架十字迷宮中因恐懼而增強之行為(Korte 與 De Boer, Eur J Pharmacol 2003, 463, 163-175)。已知焦慮症之遺傳動物模型(Toh,

Eur J Pharmacol 2003, 463, 177-184)如同其他動物模型般對抗焦慮劑敏感(Martin, Acta Psychiatr Scand 增刊 1998, 393, 74-80)。

[0241] 在臨牀試驗中，可使用心理學程序來評估功效以誘發對健康志願者及焦慮症患者施用之實驗性焦慮症(參見例如 Graeff,等人, Brazilian J Medical Biological Res 2003, 36, 421-32)或藉由基於關於如 First 等人, Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Patient Edition (SCIDIP)，第 2 版，Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute, New York, 1995 所述 Structured Clinical interview for DSM-IV Axis I Disorders 選擇患者。多種量表之任一者均可用於評估焦慮症及治療功效，例如包括賓州憂慮量表(Penn State Worry Questionnaire, Behar 等人, J Behav Ther Exp Psychiatr 2003, 34, 25-43)、漢密爾頓焦慮症與抑鬱症量表、史畢爾柏格情境－特質焦慮量表(Spielberger State-Trait Anxiety Inventory)及李氏社交焦慮量表(the Liebowitz Social Anxiety Scale)(Hamilton, J Clin Psychiatry 1980, 41, 21-24; Spielberger 與 Vagg, J Personality Assess 1984, 48, 95-97 及 Liebowitz, J Clin Psychiatry 1993, 51, 31-35 (增刊))。

影響肌酸激酶系統之遺傳疾病

[0242] 細胞內肌酸集合係藉由自飲食中吸收肌酸及

藉由內源性肌酸合成來維持。許多組織(尤其大腦、肝臟及胰腺)含有 $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ 依賴型肌酸運輸體(SLC6A8)，其負責經血漿膜運輸活性肌酸。肌酸生物合成涉及兩種酶之作用：L-精胺酸:甘胺酸甲脒基轉移酶(AGAT)與胍基乙酸轉移酶(GAMT)。AGAT 催化使精胺酸之甲脒基轉移至甘胺酸以產生鳥胺酸及胍基乙酸。胍基乙酸在甲脒基處經 GAMT 甲基化以產生肌酸(參見例如 Wyss 與 Kaddurah-Daouk, *Phys Rev* 2000, 80, 1107-213)。

[0243] 在人類中，肌酸生物合成中之兩種遺傳錯誤及肌酸轉運體中之一種遺傳錯誤係已知的且涉及 AGAT、GAMT 及肌酸轉運體之不足(Schulze, *Cell Biochem*, 2003, 244(1-2), 143-50；Sykut-Cegielska 等人, *Acta Biochimica Polonica* 2004, 51(4), 875-882)。患肌酸合成障礙之患者全身耗盡肌酸與磷酸肌酸。受 AGAT 不足影響之患者可展示心智及行動遲緩、言語發展嚴重延遲及熱痙攣(Item 等人, *Am J Hum Genet.* 2001, 69, 1127-1133)。受 GAMT 不足影響之患者可展示發展延遲，不存在主動言語、伴隨自我傷害之自閉症、錐體外症狀及癲癇症(Stromberger 等人, *J Inherit Metab Dis* 2003, 26, 299-308)。肌酸轉運體不足之患者展現細胞內耗盡肌酸與磷酸肌酸。編碼肌酸轉運體之基因位於 X-染色體上且受影響之男性患者展示輕度至重度之心智延遲，受影響之女性則具有較輕之呈現症狀(Salomons 等人, *J. Inherit Metab Dis* 2003, 26, 309-18；Rosenberg 等人, *Am J Hum Genet.* 2004, 75, 97-105；

deGrauw 等人, *Neuropediatrics* 2002, 33(5), 232-238 ;
Clark 等人, *Hum Genet*, 2006 年 4 月)。

[0244] 已證實每日每公斤體重約 350 mg 至 2 g 劑量之肌酸補充可有效解決 AGAT 或 GAMT 不足之臨牀症狀(參見例如 Schulze, *Cell Biochem*, 2003, 244(1-2), 143-50)。然而, 與在 GAMT 與 AGAT 不足之患者中不同, 在肌酸轉運體不足之患者中, 經口補充肌酸並未導致大腦肌酸水準增加(參見 Stockler-Ipsiroglu 等人, 在 *Physician's Guide to the Treatment and Follow up of Metabolic Diseases*, Blau 等人編, Springer Verlag, 2004 中)。

肌肉疲勞

[0245] 在高強度運動中, 初始由磷酸肌酸經由肌酸激酶反應緩衝 ATP 水解(Kongas 與 van Beek, 2nd Int. Conf. Systems Biol 2001, Los Angeles Calif., Omnipress, Madison, Wis., 198-207; 及 Walsh 等人, *J Physiol* 2001, 537.3, 971-78, 其各自以全文引用之方式併入本文中)。運動期間, 儘管磷酸肌酸可即刻用於 ATP 再生, 但延遲數秒誘發醣解且對粒腺體氧化磷酸化作用之刺激作用甚至進一步延遲。由於肌肉中之磷酸肌酸存儲有限, 因此在高強度運動期間, 磷酸肌酸在約 10 秒鐘內即耗盡。已提議可藉由增加磷酸肌酸之肌肉存儲且因此延遲磷酸肌酸耗盡來增強肌肉性能。儘管補充肌酸及/或磷酸肌酸可改良間歇性超大運動中之肌肉性能, 但未表明補充增強耐力性能。

另一方面，靜脈內注射磷酸肌酸在長期超大運動期間似乎改良運動耐受性(Clark, *J Athletic Train*, 1997, 32, 45-51，其以全文引用之方式併入本文中)。

肌肉強度

[0246] 正常健康個體中之飲食肌酸補充對肌肉功能具有有益之副作用且因此業餘運動員與職業運動員對其之使用增加。證據表明，肌酸補充可藉由增加磷酸肌酸之肌肉儲存來增強總體肌肉性能，此係在高強度運動之最初數秒內藉由在恢復期期間快速恢復磷酸肌酸集合且藉由壓制腺苷核苷酸降解且亦可能在運動期間積聚乳酸鹽用於使ATP即刻再生的最重要能量來源(參見例如 Wyss 與 Kaddurah-Daouk, *Physiol Rev* 2000, 80(3), 1107-1213)。

[0247] 然而，在正常健康個體中，連續且延長使用肌酸無法維持肌肉中之高肌酸及磷酸肌酸(參見例如 Juhn 等人, *Clin J Sport Med* 1998, 8, 286-297; Terjung 等人, *Med Sci Sports Exerc* 2000, 32, 706-717 及 Vandenberghe 等人, *J Appl Physiol* 1997, 83, 2055-2063，其各自以全文引用之方式併入本文中)，可能係由於對肌酸轉運體活性及轉運體蛋白含量之下調(Snow 與 Murphy, *Mol Cell Biochem* 2001, 224(1-2), 169-181，其以全文引用之方式併入本文中)。因此，本發明之肌酸前藥可用於維持、恢復及/或增強哺乳動物且尤其人類之肌肉強度。

[0248] 投與本發明之化合物用於維持、恢復及/或增

強肌肉強度之功效可使用動物與人類模型及臨牀研究來評估。可用於評估肌肉強度之動物模型例如在 Wirth 等人, J Applied Physiol 2003, 95, 402-412 及 Timson, J. Appl Physiol 1990, 69(6), 1935-1945 中揭示。肌肉強度可在人類中使用例如在 Oster, 美國申請案第 2007/0032750 號、美國申請案第 2007/0012105 號中揭示之方法及/或使用熟習此項技術者已知之其他方法來評估。

器官及細胞存活力

[0249] 在某些實施例中，用於研究或細胞移植之存活大腦、肌肉、胰腺或其他細胞類型之分離可藉由灌注細胞及/或使細胞與含有磷酸肌酸類似物前藥之分離或生長培養基接觸來增強。在某些實施例中，可藉由使組織器官或細胞與有效量之本發明之化合物或其醫藥組合物接觸來改良組織器官或細胞之存活力。

與葡萄糖水準調節相關之疾病

[0250] 投與磷酸肌酸減小血漿葡萄糖水準且因此可用於治療與葡萄糖水準調節相關之疾病，諸如高血糖症、胰島素依賴型或非依賴型糖尿病及糖尿病繼發之相關疾病(美國申請案第 2005/0256134 號)。

[0251] 投與本發明之化合物用於治療與葡萄糖水準調節相關之疾病的功效可使用動物及人類模型以及臨牀研究來評估。可向動物(諸如大鼠、兔或猴)投與化合物且測

定各個時間之血漿葡萄糖濃度(參見例如美國申請案第 2003/0232793 號)。化合物用於治療胰島素依賴型或非依賴型糖尿病及糖尿病繼發之相關疾病的功效可使用例如在 Shafrir, 「Animal Models of Diabetes,」 Ed., 2007, CRC Press ; Mordes 等人, 「Animal Models of Diabetes,」 2001, Harwood Academic Press ; Mathe, Diabete Metab 1995, 21(2), 106-111 及 Rees 與 Alcolado, Diabetic Med. 2005, 22, 359-370 中揭示之糖尿病動物模型來評估。

劑量

[0252] 可投與本發明之化合物或醫藥學上可接受之鹽或任何以上各物之醫藥學上可接受之溶劑合物來治療與能量代謝功能障礙相關之疾病或病症。

[0253] 將有效治療本文揭示之特定疾病、病症或病況的本發明化合物之量將取決於疾病、病症或病況之性質且可藉由此項技術中已知之標準臨牀技術來確定。另外，可視情況採用活體外或活體內分析來輔助確認最佳之劑量範圍。投與化合物之量尤其可取決於受治療之患者、患者之體重、患者之健康狀況、受治療之疾病、患病之嚴重性、投藥途徑、化合物之性能及處方醫師之判斷。

[0254] 對於全身投藥而言，可由活體外分析來初始估計治療有效劑量。舉例而言，可在動物模型中調配劑量以達成有益之循環組合物濃度範圍。亦可使用此項技術中已知之技術由活體內資料(例如動物模型)來估計初始劑

量。該等資訊可用於更準確地確定人類之適用劑量。一般熟習此項技術者可基於動物資料來優化對人類之投藥。

[0255] 肌酸在人體內天然存在且部分由腎、胰腺及肝來合成(每天約 1 至 2 公克)且部分經食物攝取(每天約 1 至 5 公克)。細胞經由肌酸轉運體主動吸收肌酸。在細胞內，肌酸激酶使肌酸磷酸化以形成磷酸肌酸集合，其可用作暫時及空間能量緩衝劑。

[0256] 肌酸、磷酸肌酸及其類似物可高劑量投與而無不利副作用。舉例而言，已向運動員及健身者每天投與 2 至 3 gm 範圍內之量的肌酸單水合物且已藉由每天靜脈內注射高達 8 gm 向心臟病患者投與磷酸肌酸而無不利副作用。餵飼含有高達 1%環肌酸之飲食的動物亦並未展示不利作用(參見例如 Griffiths 與 Walker, J. Biol. Chem. 1976, 251(7), 2049-2054; Annesley 等人, J Biol Chem 1978, 253(22), 8120-25; Lillie 等人, Cancer Res 1993, 53, 3172-78 及 Griffiths, J Biol Chem 1976, 251(7), 2049-54)。

[0257] 在某些實施例中，本發明化合物之治療有效劑量可包含每天約 1 mg-當量至約 20,000 mg-當量之磷酸肌酸類似物、每天約 100 mg-當量至約 12,000 mg-當量之磷酸肌酸類似物、每天約 1,000 mg-當量至約 10,000 mg-當量之磷酸肌酸類似物及在某些實施例中每天約 4,000 mg-當量至約 8,000 mg-當量之磷酸肌酸類似物。

[0258] 劑量可經單一劑型或以多個劑型投與。在使

用多個劑型時，每一劑型中所含化合物之量可相同或不同。一次給藥中所含本發明化合物之量可取決於投藥途徑及患者之疾病、病症或病況是否藉由急性、慢性或急性與慢性投藥組合而有效治療。

[0259] 在某些實施例中，投藥劑量小於毒性劑量。本文所述組合物之毒性可藉由標準醫藥學程序在細胞培養物或實驗動物中例如藉由測定 LD_{50} (使群體之 50%致死之劑量)或 LD_{100} (使群體之 100%致死之劑量)來確定。毒性作用與治療作用之劑量比係治療指數。在某些實施例中，醫藥組合物可展現高治療指數。由該等細胞培養物分析及動物研究獲得之資料可用於調配對用於人類而言無毒之劑量範圍。本發明醫藥組合物之劑量可在例如血液、血漿或中樞神經系統中之循環濃度的範圍內，其包括有效劑量且展示極小或無毒性。視採用之劑型及所用之投藥途徑而定，劑量可在此範圍內變化。

[0260] 在治療期間，劑量及給藥時程可提供充足或穩定狀態水準之有效量的磷酸肌酸類似物以治療疾病。在某些實施例中，可投與逐步上升之劑量。

投藥

[0261] 本發明之化合物、其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或任何以上各物之醫藥學上可接受之溶劑合物或任何以上各物之醫藥組合物可藉由任何適當途徑投與。在某些實施例中，本發明之化合

物可間歇性地或連續地投與。合適投藥途徑之實例包括(但不限於)皮內、肌肉內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻內、硬膜外、經口、舌下、鼻內、大腦內、陰道內、經皮、經直腸、吸入或局部。投藥可為全身性或局部的。投藥可為快速注射、連續輸注或藉由經上皮或黏膜與皮膚襯裏(例如，口腔黏膜、直腸及腸黏膜等)吸收。

[0262] 在某些實施例中，可能需要藉由任何合適途徑(包括心室內、鞘內及硬膜外注射)將本發明之化合物、醫藥學上可接受之鹽或任何以上各物之醫藥學上可接受之溶劑合物或任何以上各物之醫藥組合物直接引入中樞神經系統中。可藉由使用例如連接至貯器(諸如 Ommaya 貯器)之心室內導管以便於心室內注射。

[0263] 在某些實施例中，本發明之化合物、其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或任何以上各物之醫藥學上可接受之溶劑合物或任何以上各物之醫藥組合物可非經腸投與，諸如藉由注射，例如包括靜脈內、肌肉內、動脈內、鞘內、囊內、眼眶內、心臟內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛網膜下、脊椎內及胸骨內注射或輸注。

[0264] 本發明之化合物、其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或任何以上各物之醫藥學上可接受之溶劑合物或任何以上各物之醫藥組合物可經全身及/或局部投與特定器官。

[0265] 在某些實施例中，本發明之化合物或其醫藥

組合物可作為單一、一次性給藥或慢性投與。慢性意謂本發明之方法及組合物對給定個體實施一次以上。舉例而言，如熟習此項技術者所顯而易見，慢性投藥可為對動物(包括個體)基於每天一次、每天兩次或以更多或更少之頻率投與多次劑量之醫藥組合物。在另一實施例中，急性實施該等方法及組合物。急性意謂在接近局部缺血或阻塞性事件或與此同時之時間段內實施本發明之方法及組合物。舉例而言，急性投藥可為在局部缺血或阻塞性事件(諸如急性心肌梗塞)發作時、在早期表現出局部缺血或阻塞性事件(諸如中風)或在手術程序之前、期間或之後投與單次劑量或多次劑量之醫藥組合物。接近或與局部缺血或阻塞性事件同時期之時間段將根據局部缺血事件而變化，但例如可在經歷心肌梗塞、中風或間歇性跛行症狀之約 30 分鐘以內。在某些實施例中，急性投藥係在局部缺血事件之約一小時內投藥。在某些實施例中，急性投藥係在局部缺血事件後之約 2 小時、約 6 小時、約 10 小時、約 12 小時、約 15 小時或約 24 小時內投藥。

[0266] 在某些實施例中，本發明之化合物或其醫藥組合物可慢性投與。在某些實施例中，慢性投藥可包括在一天內定期投與若干次靜脈內注射。在某些實施例中，慢性投藥可包括每天、約每隔一天、約每 3 至 15 天、約每 5 至 10 天及在某些實施例中約每 10 天以快速輸注或連續輸注之形式單次投與靜脈內注射。

組合療法

[0267] 在某些實施例中，本發明之化合物、其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、互變異構體或立體異構體或任何以上各物之醫藥學上可接受之溶劑合物可用於與至少一種其他治療劑之組合療法中。本發明之化合物與其他治療劑可疊加性作用或，且在某些實施例中協同作用。在一些實施例中，本發明之化合物可與投與另一治療劑同時投與，該另一治療劑諸如用於治療與能量代謝功能障礙相關之疾病、治療肌肉疲勞、增強肌肉強度及耐力、增加器官移植體之存活力及改良分離細胞之存活力的化合物。在一些實施例中，本發明之化合物、醫藥學上可接受之鹽或任何以上各物之醫藥學上可接受之溶劑合物可在投與另一治療劑之前或之後投與，該另一治療劑諸如用於治療與能量代謝功能障礙相關之疾病(諸如局部缺血)、心室肥大、神經退化性疾病(諸如 ALS、亨廷頓氏病、帕金森氏病或阿茲海默氏病)、手術相關局部缺血性組織損害及再灌注組織損害；治療多發性硬化症(MS)、治療精神障礙(諸如精神分裂症、雙極症或焦慮症)；治療肌肉疲勞；增強肌肉強度及耐力；增加器官移植體之存活力及改良分離細胞之存活力的化合物。

[0268] 本發明之醫藥組合物除一或多種本發明之化合物以外可包括一或多種有效用於治療相同或不同疾病、病症或病況之治療劑。

[0269] 本發明之方法包括投與一或多種本發明之化

合物或醫藥組合物及一或多種其他治療劑，其限制條件為組合投藥並不抑制一或多種本發明之化合物之治療功效及/或不產生不利之組合作用。

[0270] 在某些實施例中，本發明之組合物可與投與另一治療劑同時投與，該另一治療劑可為含有本發明化合物之相同醫藥組合物或劑型之部分或處於與含有本發明化合物不同之組合物或劑型中。在某些實施例中，本發明之化合物可在投與另一治療劑之前或之後投與。在組合療法之某些實施例中，組合療法包含在投與本發明之組合物與包含另一治療劑之組合物之間交替，例如以最小化與特定藥物相關之不利副作用。當本發明之化合物與潛在地可產生包括(但不限於)毒性之不利副作用的另一治療劑同時投與時，治療劑可有利地以低於引發不利副作用閾值之劑量來投與。

[0271] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療帕金森氏病之化合物或可與其一起投與患者，該化合物諸如阿曼牠丁(amantadine)、苯紮托品(benzotropine)、溴麥角環肽(bromocriptine)、左旋多巴(levodopa)、培高利特(pergolide)、普拉克索(pramipexole)、羅匹尼羅(ropinirole)、司來吉蘭(selegiline)、三己芬迪(trihexyphenidyl)或任何以上各物之組合。

[0272] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療阿茲海默氏病之化合物或可與其一

起投與患者，該化合物諸如多奈哌齊(donepezil)、加蘭他敏(galantamine)、美金剛(memantine)、利巴斯狄明(rivastigmine)、他可林(tacrine)或任何以上各物之組合。

[0273] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療 ALS 之化合物或可與其一起投與患者，該化合物諸如利魯唑(riluzole)。

[0274] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療局部缺血性中風之化合物或可與其一起投與患者，諸如阿司匹靈(aspirin)、尼莫地平(nimodipine)、氯吡格雷(clopidogrel)、普伐他汀(pravastatin)、未分級肝素、埃替非巴肽(eptifibatide)、 β -阻斷劑、血管收縮素轉化酶(ACE)抑制劑、依諾肝素(enoxaparin)或任何以上各物之組合。

[0275] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療局部缺血性心肌病或局部缺血性心臟病之化合物或可與其一起投與患者，該化合物諸如 ACE 抑制劑，諸如雷米普利(ramipril)、卡託普利(captopril)及賴諾普利(lisinopril)； α -阻斷劑，諸如醋丁洛爾(acebutolol)、阿替洛爾(atenolol)、倍他洛爾(betaxolol)、比索洛爾(bisoprolol)、卡替洛爾(carteolol)、納多洛爾(nadolol)、噴布洛爾(penbutolol)、普萘洛爾(propranolol)、噻嗎洛爾(timolol)、美託洛爾(metoprolol)、卡維地洛(carvedilol)及醛固酮；利尿劑；洋地黃毒素或任何以上各物之組合。

[0276] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療心血管疾病之化合物或可與其一起投與患者，該化合物諸如血液稀釋劑、降膽固醇劑、抗血小板劑、血管舒張劑、 β -阻斷劑、血管收縮素阻斷劑、洋地黃及其衍生物或任何以上各物之組合。

[0277] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療 MS 之化合物或可與其一起投與患者。適用於治療 MS 之藥物實例包括皮質類固醇，諸如甲潑尼龍；IFN- β ，諸如 IFN- β 1a 及 IFN- β 1b；醋酸格拉替美 (glatiramer acetate) (Copaxone®)；與極遲抗原-4 (VLA-4) 整合素 (Tysabri®) 結合之單株抗體，諸如那他珠單抗 (natalizumab)；免疫調節劑，諸如 FTY 720 鞘氨醇-1 磷酸酯調節劑及 COX-2 抑制劑，諸如 BW755c、吡羅昔康 (piroxicam) 及菲尼酮 (phenidone)；及神經保護治療，包括麩胺酸鹽興奮毒性與 iNOS 之抑制劑、自由基淨化劑及陽離子通道阻斷劑；美金剛；AMPA 拮抗劑，諸如託吡酯 (topiramate)；及甘胺酸-位點 NMDA 拮抗劑 (Virley, NeruoRx 2005, 2(4), 638-649 及其中之參考文獻；以及美國申請案第 2004/0102525 號)。

[0278] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療精神分裂症之化合物或可與其一起投與患者。適用於治療精神分裂症之抗精神病藥劑之實例包括(但不限於)醋奮乃靜 (acetophenazine)、阿舍西隆 (alseroxylon)、阿米替林 (amitriptyline)、阿立哌唑、阿司

咪唑 (astemizole)、苯喹胺 (benzquinamide)、卡奮乃靜 (carphenazine)、氯美扎酮 (chlormezanone)、氯丙嗪 (chlorpromazine)、氯丙硫蒽 (chlorprothixene)、氯氮平 (clozapine)、地昔帕明 (desipramine)、氟哌利多 (droperidol)、氟哌啶醇 (aloferidol)、氟奮乃靜 (fluphenazine)、氟哌噻噸 (flupenthixol)、甘胺酸、洛沙平 (oxapine)、美索達嗪 (mesoridazine)、嗎茆酮 (molindone)、奧氮平 (olanzapine)、昂丹司瓊 (ondansetron)、奮乃靜 (perphenazine)、匹莫齊特 (pimozide)、普氯苯噻嗪 (prochlorperazine)、普環啶 (procyclidine)、普馬嗪 (promazine)、丙噻馬嗪 (propiomazine)、喹硫平 (quetiapine)、瑞莫必利 (remoxipride)、利舍平 (reserpine)、利培酮 (risperidone)、舍引哌 (sertindole)、舒必利 (sulpiride)、特非那定 (terfenadine)、硫乙拉嗪 (thiethylperazine)、硫利達嗪 (thioridazine)、硫次克辛 (thiothixene)、三氟拉嗪 (trifluoperazine)、三氟丙嗪 (triflupromazine)、三甲潑拉嗪 (trimeprazine) 及齊拉西酮 (ziprasidone)。適用於治療精神分裂症症狀之其他抗精神病藥劑包括氨磺必利 (amisulpride)、帕利哌酮 (balaperidone)、布南色林 (blonanserin)、布他哌嗪 (butaperazine)、卡奮乃靜、依利色林 (eplavanserin)、伊潘立酮 (iloperidone)、拉莫三嗪 (lamictal)、昂森那坦 (onsanetant)、帕利哌酮 (paliperidone)、哌羅匹隆 (perospirone)、哌西他嗪

(piperacetazine)、雷氯必利(raclopride)、瑞莫必利(remoxipride)、沙立佐坦(sarizotan)、埃索美拉唑(sonepiprazole)、舒必利、齊拉西酮及佐替平(zotepine)；血清素及多巴胺(5HT/D2)促效劑，諸如阿塞那平(asenapine)及聯苯魯諾(bifeprunox)；神經激肽 3 拮抗劑，諸如他奈坦(talnetant)及奧沙奈坦(osanetant)；AMPAkine，諸如 CX-516、加蘭他敏(galantamine)、美金剛、莫達非尼(modafinil)、奧卡哌酮及託卡朋(tolcapone)；及 α -胺基酸，諸如 D-絲胺酸、D-丙胺酸、D-環絲胺酸及 N-甲基甘胺酸。

[0279] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療雙極症之化合物或可與其一起投與患者，該化合物諸如阿立哌唑(ariiprazole)、痛癢寧(carbamazepine)、氯硝西泮(clonazepam)、克氯尼定(clonidine)、拉莫三嗪(lamotrigine)、噻硫平、異搏定(verapamil)及齊拉西酮。

[0280] 在某些實施例中，本發明之化合物或醫藥組合物包括另一用於治療焦慮症之化合物或可與其一起投與患者，該化合物諸如阿普唑侖(alprazolam)、阿替洛爾(atenolol)、布匹隆(busipirone)、氯二氮平(chlordiazepoxide)、可尼丁(clonidine)、氯氮平酸鹽(clorazepate)、安定(diazepam)、多慮平(doxepin)、依地普侖(escitalopram)、哈拉西泮(halazepam)、羥嗪、勞拉西泮(lorazepam)、普氯苯塞(prochlorperazine)、納多洛爾

(nadolol)、奧沙西洋(oxazepam)、帕羅西汀(paroxetine)、普氯苯塞、三氟拉嗪及文拉法辛(venlafaxine)。

實例

[0281] 以下實例詳細描述用於表徵本發明化合物之分析及本發明化合物之用途。熟習此項技術者將顯而易見，在不偏離本發明範疇下可實踐對材料及方法之多種修改。

一般實驗

[0282] 在 25°C 下獲取化合物在 400 或 500 MHz (^1H) 下之 NMR 光譜。除非另外規定，否則以 0.3 Hz 譜線增寬處理 ^1H NMR 光譜。對於 LC/MS 分析而言，使用 Shimadzu LCMS 2010 (管柱：sepax ODS 50×2.0 mm, 5μm)、以 ES (+)離子化模式操作之 Agilent 1200 HPLC、1956 MSD (管柱：Waters XBridge C18 4.6×50mm, 3.5mm) Shim-pack XR-ODS 30×3.0, 2.2μm)、Agilent 3110TM (或 Agilent Zorbax Bonus RP TM, 2.1×50mm, 3.5 μm)。例示性之設置為在 50°C 溫度下且以 0.8 mL/min 之流動速率，2 μL 注射，移動相：A = 水與 0.1%甲酸及 1%乙腈，移動相 B = 甲醇與 0.1%甲酸；滯留時間以分鐘計。方法詳情：(I)在具有 UV/Vis 二極體陣列偵測器 G1315C 及 Agilent 6130TM質譜儀之二元泵 G1312BTM上以陽性與陰性離子電噴霧模式在 220 及 254 nm 下以在 2.5 min 線性梯度中 5-

95% B 之梯度的 UV 偵測運行；(II)在 95% B 下維持 0.5 min；(III)在 0.1 min 線性梯度內自 95% B 減少至 5% B；(IV)在 5% B 下維持 0.29 min。對於分析型 HPLC 樣品分析而言，在 60°C 溫度及 0.5 mL/min 之流動速率，移動相：A = 水與 0.1%甲酸及 0.1%乙腈，移動相 B =乙腈與 0.1% 甲酸；滯留時間以分鐘給定之情形下使用裝配有 Waters HSS T3™管柱、2.1 x 50mm, 1.8 μm 之 Agilent 1200 Series™。使用 Thomas Hoover Unimelt™毛細管熔點裝置記錄熔點溫度。使用 UV 光及/或以碘處理進行觀察而在 Merck EMD 60 F254 矽膠塗佈之玻璃板上藉由薄層層析來監控反應進程。以 5-100 mL/min 之變化流動速率在 Teledyne ISCO CombiFlash Companion™上進行層析純化。所用管柱為 Teledyne ISCO RediSep 拋棄式急驟管柱 (4、12、24、40、80 或 120 g 預裝填矽膠)。藉由可變波長之 UV 吸收 (200-360 nm)偵測峰值。使用裝配有使用 Chromeleon™軟體操作之 Varian Model 218 泵的 Gilson 215 Liquid Handler 來完成製備型逆相層析。使用 Varian Pro Star™ UV-Vis 或 Sedex 55™ ELSD 裝置進行偵測。使用 Phenomenex Kinetex™ 5u C18 100A, Axia, 100×30 mm 管柱以 28 mLmin⁻¹ 之流動速率進行層析分離。

[0283] 生物分析中測試之化合物，諸如化合物 A、B、C、D、E、F、G、H、J、K、L 及 M 對應於本文所述合成程序所例示之化合物。舉例而言，化合物 E 係實例 26 之化合物，步驟 5A 如本申請案中所述。

實例 1：測定前藥之活體外酶促裂解的方法

[0284] 對於肌酸前藥而言，通常需要前藥在全身循環中保持完整(亦即，未裂解)而在標靶組織中裂解(亦即，釋放親本藥物)。適用水準之穩定性可至少部分地由前藥之機制及藥物動力學來決定。適用水準之不穩定性亦可至少地由前藥及親本藥物(例如，肌酸)在全身循環中及/或在胃腸道中(若口服)之藥物動力學來決定。一般而言，在胃腸道中更穩定(如可由在模擬胃液、模擬腸液、腸道 S9、胰酶或結腸清洗分析中之穩定性所評估)且在小鼠血漿、大鼠血漿、人類血漿、小鼠、大鼠及/或人類肝臟 S9、肝臟微粒體及/或肝細胞製劑中更不穩定之前藥可適合作為口服前藥。一般而言，在小鼠血漿、大鼠血漿、人類血漿、小鼠、大鼠及/或人類肝臟 S9、肝臟微粒體及/或肝細胞製劑中更穩定且在標靶組織細胞均質物或標靶組織細胞分離製劑(諸如大腦、肌肉及 Caco-2 S9 製劑)中更不穩定之前藥可適合作為全身投與之前藥及/或可更有效將前藥傳遞至標靶組織。一般而言，在不同 pH 之生理學緩衝劑中更穩定之前藥可更適用作前藥。一般而言，在標靶組織細胞均質物及/或標靶組織細胞分離製劑(諸如大腦、肌肉及 Caco-2 S9 製劑)中更不穩定之前藥可經細胞內裂解以將親本藥物釋放至標靶組織中。諸如在此實例中描述之用於活體外測定前藥之酶促或化學裂解之彼等測試結果可用於選擇用於活體內測試之前藥。

[0285] 可根據此項技術中已知之方法使用各種製劑在一或多個活體外系統中評估前藥之穩定性。組織及製劑係由商業來源獲得(例如，Pel-Freez Biologicals、Rogers, Ark.或 GenTest Corporation, Woburn, Mass.)。適用於活體外研究之實驗條件在表 1 中描述。向每種製劑中添加前藥，一式三份。

表 1：前藥活體外穩定性及代謝研究之標準^a條件

分析	酶/蛋白濃度	受質濃度(μM)	輔因子
SGF	+/- 0.1 mg/mL 胃蛋白酶	1 - 10	NA
SIF	+/- 1 % w/v 胰酶	1 - 10	NA
血漿	NA	1 - 10	+/- DIFP，10 mM ^d
血液	NA	1 - 10	+/- DIFP，10 mM ^d
肝臟微粒體	0.5 mg/mL	1 - 10	+/- NADPH ^b
肝臟或腸 S9	1 mg/mL	1 - 10	+/- NADPH ^b
肝細胞	NA	1 - 10	NA
組織均質物 ^c	NA	1 - 10	NA

^a提供典型測試範圍，視前藥之預期臨床使用可超範圍；^bNADPH 產生系統，例如 1.3 mM NADP+、3.3 mM 葡萄糖-6-磷酸鹽、0.4 U/mL 葡萄糖-6-磷酸脫氫酶、3.3 mM 氯化鎂及 0.95 mg/mL 磷酸鉀，pH 7.4；^c實例：大腦組織均質物，肌肉組織均質物；^d可在添加及不添加氟膦酸二異丙酯(DIFP，絲胺酸蛋白酶抑制劑)之情形下進行分析以確定是否由絲胺酸蛋白酶，例如羧酸酯酶(CES)介導降解

[0286] 對於含有鹼性磷酸酶之製劑而言，在存在及不存在磷酸酶抑制劑混合物(Sigma)之情形下測試前藥。將樣品在 37°C 下培育 30 分鐘至 24 小時之時間。在每個時間點，以 50%乙醇淬滅樣品。藉由直接向 50%乙醇/製劑混合物(t=0)中添加化合物來測定前藥之基線濃度。使樣品以 14,000 rpm 離心 15 分鐘且使用 LC/MS/MS 測定完整前藥及釋放之親本藥物的濃度。亦藉由以純化酶培育來活體外評估前藥針對特異性酶(例如，肽酶等)之此穩定性。

[0287] 藉由在 37°C 下在含有 0.5 M NaCl (pH 7.5)之

0.025 M Tris 緩衝劑中以 1% (w/v)胰酶(Sigma, P-1625，來自豬胰腺)培育前藥(5 μM)來進行胰酶穩定性研究。藉由添加 3 體積之 50%乙醇使反應停止。在以 14,000 rpm 離心 15 min 後，移除上清液且藉由 LC/MS/MS 分析前藥、肌酸及肌酸酐。

[0288] 為測定在模擬胃液(SGF)中之穩定性，在 37℃ 下在添加及不添加胃蛋白酶(每公升 3.2 g 純化胃蛋白酶，其活性為每 mg 蛋白 800 至 2500 單位)之情形下以 SGF (0.2 % NaCl w/v，0.7 % HCl v/v，pH1.2)培育前藥(10 μM)。在選定之時間點(例如，0、15、30、60 及 120 min)，移除 50 μL 等分試樣且藉由添加 50 μL 0.1M 碳酸氫鈉溶液，繼而添加 150 μL 冰冷乙腈進行中和。在 4℃ 下將樣品以 4,000 x g 離心 15 min 且移除上清液並藉由 LC-MSMS 分析前藥、肌酸及肌酸酐濃度(表 2)。

表 2：具有及不具有胃蛋白酶之前藥模擬胃液(SGF)之穩定性

化合物 ID	下式之化合物	T _{1/2} (min)	
		(+) 胃蛋白酶	(-) 胃蛋白酶
A	III	117	> 360
B	III	133	> 360
C	III	> 360	> 360
D	III	> 360	> 360
E	III	> 360	> 360
F	III	> 360	> 360
G	III	> 360	> 360

[0289] 為測定在模擬腸液(SIF)中之穩定性，在 37℃

下在添加及未添加胰酶(1 % w/v)之 SIF (0.68 % KH_2PO_4 w/v , 0.86 % NaOH v/v , pH 6.8)中培育前藥(10 μM)。在選定之時間點(例如 , 0、15、30、60 及 120 min)移除 50 μL 等分試樣且藉由添加 150 μL 冰冷乙腈終止反應。使樣品在 4°C 下以 4,000 x g 離心 15 min 且移除上清液並藉由 LC-MSMS 分析前藥、肌酸及肌酸酐濃度(表 3)。

表 3：具有及不具有胰酶之前藥模擬腸液(SIF)之穩定性

化合物 ID	下式化合物	$T_{1/2}$ (min)	
		(+) 胃蛋白酶	(-) 胃蛋白酶
A	III	> 360	> 360
B	III	> 360	> 360
C	III	> 360	> 360
D	III	> 360	> 360
E	III	> 360	> 360
F	III	> 360	> 360
G	III	> 360	> 360

[0290] 為測定在 Caco-2 均質物 S9 中之穩定性，使 Caco-2 細胞在收集之前生長 21 天。移除培養基並沖洗細胞單層且刮除至冰冷之 10 mM 磷酸鈉/0.15 M 氯化鉀(pH 7.4)中。藉由在 4°C 下使用探針超音波發生器進行超音波處理來溶解細胞。隨後將溶解之細胞轉移至 1.5 mL 離心小瓶中並在 4°C 下以 9,000 g 離心 20 min。將所得上清液(Caco-2 細胞均質物 S9 部分)等分試樣至 0.5 mL 小瓶中且儲存於 -80°C 下直至使用。

[0291] 為進行穩定性研究，在 37°C 下在 Caco-2 均質

物 S9 部分 (0.5 mg/mL 於 0.1M Tris 緩衝劑中，pH 7.4) 中培育前藥 (5 μ M)。在每個時間點以 50%乙醇淬滅一式三份之樣品。藉由直接向 50%乙醇/Caco-2 均質物混合物中添加 5 μ M 前藥來確定前藥之初始 ($t=0$) 濃度。使樣品經受 LC/MS/MS 分析以確定前藥、肌酸及肌酸酐之濃度。

[0292] 為測定前藥在小鼠、大鼠、人類或來自其他物種之血漿中之穩定性，將前藥 (10 μ M) 或陽性對照物 (10 μ M，普魯本辛 (propantheline) 或普魯卡因 (procaine)) 培育在未經稀釋之血漿中。製備前藥與對照物之雙重樣品並分析。在 DMSO (10 mM) 中製備前藥之儲備溶液並在 pH 7.4 磷酸鹽緩衝劑中稀釋至 0.1 mM 以製備峰值溶液。將前藥峰值溶液等分試樣 (10 μ L) 至 96 孔培養盤中。指定在 5、15、30、45 及 60 min 時間點向各孔中添加預熱 (37°C) 血漿 (90 μ L)； $t = 0$ min 時直接向含前藥之孔中添加淬滅溶液 (400 μ L 乙腈)，繼而添加 90 μ L 預熱血漿。在 5、15、30、45 及 60 min 時向各孔中添加 400 μ L 乙腈等分試樣以停止反應。淬滅之後，將培養盤震盪 10 min (600 rpm) 且隨後以 5500 g 離心 15 min。將等分試樣 (50 μ L) 轉移至分析培養盤中且以 100 μ L 超純水 (Millipore) 稀釋以用於對前藥濃度之 LC-MSMS 定量，且在某些情形下對肌酸及/或肌酸酐之 LC-MSMS 定量。基於每種前藥之親油性及極性來選擇層析管柱 (例如，Atlantis HILIC Silica, Gemini C-18, Ultimate XB-C18)。亦基於每種前藥之需求來選擇 LC-MSMS 平臺 (例如，Sciex API4000, Sciex API6500)。本發

明化合物(前藥)在小鼠血漿培育液中之穩定性展示於表 4 中且在人類血漿培育液中之穩定性展示於表 5 中。

表 4：選定化合物在小鼠血漿培育液中之穩定性

化合物 ID	下式之化合物	剩餘%		T _{1/2} (min)
		5 min	60 min	
A	III	102	94.0	> 180
B	III	110	96.0	> 180
C	III	85.0	114	> 180
D	III	124	118	> 180
E	III	100	89.0	> 180
F	III	103	88.2	118
G	III	101	91.1	> 180
H	III	96.6	94.5	> 180
J	VI	53.8	<LOD	3.32
K	VI	37.2	0.08	NC
L	I			
M	I	97.9	101	> 180

LOD =偵測極限
化合物(前藥)與陽性對照物之濃度：10 μM
每個時間點獲得之雙重樣品

表 5：選定化合物在人類血漿培育液中之穩定性

化合物 ID	下式之化合物	剩餘%		T _{1/2} (min)
		5 min	60 min	
A	III	105	88.8	>180
B	III	97.4	87.8	>180
C	III	86.5	119	131
D	III	100	109	138
E	III	101	75.6	154
F	III	92.7	68.1	> 180
G	III	115	90.8	> 180
H	III	114	109	> 180
J	VI	56.4	0.01	4.32
K	VI	42.5	0.05	3.16
M	I	96.1	91.6	> 180

化合物(前藥)與陽性對照物之濃度：10 μM
每個時間點獲得之雙重樣品

[0293] 對於肝臟微粒體穩定性研究而言，在來自小

鼠、人類、犬、猴及/或大鼠之肝或腸部分中以 5 μ M 培育 (雙重) 前藥或陽性對照物 (羥固酮、普羅帕酮 (propafenone)、雙氯芬酸 (diclofenac)、7-乙氧基香豆素或普萘洛爾)。在 NADPH 再生系統存在或不存在時，在 37 $^{\circ}$ C 下進行培育以指示代謝是否經由需要 NADPH 之酶 (亦即，P450、FMO、NADPH-P450 還原酶或其他氧化酶) 繼續進行。製備前藥與對照物之雙重樣品並分析。在 DMSO (10 mM) 中製備前藥之儲備溶液且在 25% MeOH/pH 7.4 磷酸鹽緩衝劑之混合物中稀釋至 0.05 mM 以製備峰值溶液。將前藥峰值溶液等分試樣 (10 μ L) 至 96 孔培養盤中。指定在 5、15、30、45 及 60 min 時間點向各孔中添加預熱 (37 $^{\circ}$ C) 微粒體溶液 (80 μ L) 且培育 10 min，之後以 10 μ L NADPH 再生溶液引發反應。t = 0 min 時直接向含有前藥之孔中添加淬滅溶液 (300 μ L 乙腈)，繼而添加微粒體溶液及 NADPH 溶液。在熱失活之部分或緩衝劑中進行培育前藥以使酶促降解區別於非酶促降解。在規定之時間點 (例如，0、5、10、20、30 及 60 min)，獲取樣品且以相同體積之含有合適內標準物 (例如，拉貝洛爾 (labetalol)、甲苯磺丁脲) 之冷乙腈終止。淬滅後，將培養盤以 4000 g 離心 20 min。將等分試樣 (100 μ L) 轉移至分析盤中且以 400 μ L 超純水 (Millipore) 稀釋以供 LC-MSMS 定量前藥濃度且在某些情形下定量肌酸及/或肌酸酐。基於每種前藥之親油性及極性來選擇層析管柱 (例如，ACE 5 Phenyl, Phenomenex C18 Synergi Hydro-RP, Atlantis HILIC

Silica)。亦基於每種前藥之要求來選擇 LC-MSMS 平臺(例如，Sciex API4000, Sciex API6500)。本發明化合物在小鼠肝臟微粒體培育物中之代謝穩定性展示於表 6 中且在人類肝臟微粒體培育物中之代謝穩定性展示於表 7 中。

表 6：選定化合物在小鼠肝臟微粒體培育液中之代謝穩定性

化合物 ID	下式之化合物	剩餘% (w/ NADPH)		剩餘% (無 NADPH)	T _{1/2} (min)	活體內 Clint (ml/min/kg)
		5 min	30 min	30 min		
A	III	109	112	111	>90	<71
B	III	109	103	99.0	>90	<71
C	III	109	112	103	>90	<71
D	III	89.3	69.5	91	34.7	183
E	III	89.1	26.0	15.6	20.0	407
F	III	111	94.7	309	>90	<71
G	III	124	96.9	223	>90	<71
H	III	126	107	125	>145	< 38
J	VI	25.3	0.10	1.3	4.7	1160
L	I	76.6	53.5	72.3	33.2	165
M	I	NA	41.5	52.6	19.6	280

化合物(前藥)與陽性對照物之濃度：10 μM
每個時間點獲得之雙重樣品

表 7：選定化合物在人類肝臟微粒體培育液中之代謝穩定性

化合物 ID	下式之化合物	剩餘% (w/ NADPH)		剩餘% (無 NADPH)	T _{1/2} (min)	活體內 Clint (ml/min/kg)
		5 min	30 min	30 min		
A	III	114.2	99.2	89.0	>90	<21
B	III	96.8	85.5	91	>90	<21
C	III	112.8	76.2	103	74.4	25
D	III	83.6	91.9	108	>90	51
E	III	103.8	82.1	106	>90	<21
F	III	102.8	90.8	85.0	>90	<21
G	III	111.2	83.0	103	>90	<21
H	III	66.5	64.9	72.4	130	9.60
J	VI	38.9	1.80	5.0	11.2	111
L	I	64.5	48.1	61.1	20.9	59.8
M	I	64.1	38.8	56.6	21.5	57.9

化合物(前藥)與陽性對照物之濃度：10 μM
每個時間點獲得之雙重樣品

[0294] 對於 S9 穩定性研究而言，在 37℃ 下在小鼠、人類、犬、猴及/或大鼠肝臟或腸 S9 均質物(0.5 mg/mL 在 0.1M 磷酸鉀緩衝劑中，pH 7.4, 1 mM NADPH)中培育前藥 (5 μM)。在存在或不存在 NADPH 再生系統時進行培育以指示代謝是否經由需要 NADPH 之酶(亦即，P450、FMO、NADPH-P450 還原酶或其他氧化酶)繼續進行。在每個時間點以 50%乙醇淬滅一式三份之樣品。藉由向 50%乙醇/S9 均質物混合物中直接添加 5 μM 前藥來確定前藥之初始(t=0)濃度。使樣品經受 LC/MS/MS 分析以確定前藥、肌酸及肌酸酐之濃度。

[0295] 對於肝細胞穩定性研究而言，以塗敷之肝細胞

胞(例如，小鼠、大鼠、人類)培育前藥(5 μ M)。接受新鮮肝細胞(Life Technologies)以具有疊加之 12 孔格式塗敷(除不具有疊加大鼠以外)。一經接收，即刻移除運輸培養基且以 1 mL 經預熱之培養基置換。使細胞在 37°C 下在 5% CO₂ 氣氛下適應隔夜。自培養盤抽出培養基且以 1 mL 含有前藥(5 μ M)或溶劑對照物(0.0125% DMSO)之新鮮培養基置換。將樣品(一式三份)在 37°C 下在 5% CO₂ 氣氛下培育 0、0.25、0.5、0.75、1、2 及 4 hr。包括具有溶劑對照物之額外孔用於產生校準曲線及量測背景。在選定之時間點，移除培養基且冷凍。將細胞以冷的 PBS 洗滌兩次。向每孔中添加 0.5 mL 含有內標準物之冷的 70%乙腈且藉由刮擦自培養盤輕柔移除細胞。將懸浮在有機溶液中回收細胞抽至小瓶中且在 -80°C 下冷凍。為進行分析，自冷凍器移除在 70% ACN 中之細胞溶液、解凍且使其形成渦流。向每管中添加 500 μ L 水且使樣品再次形成渦流。將管在 4°C 下以 13000 rpm 離心 10 分鐘。移除細胞上清液及初始回收之培養基且藉由 LC-MS/MS 進行分析以確定前藥、肌酸及肌酸酐。

[0296] 使用三種緩衝劑來確定前藥之化學穩定性：(1) 0.1M 磷酸鉀、0.5 M NaCl，pH 2.0，(2) 0.1 M Tris-HCl、0.5 M NaCl，pH 7.4 及(3) 0.1 M Tris-HCl、0.5 M NaCl，pH 8.0。向每種緩衝劑中一式三份添加前藥(5 μ M)。在每個時間點以 50%乙醇淬滅樣品。藉由直接向 50%乙醇/pH 緩衝劑混合物中添加 5 μ M 前藥來確定前藥

之初始($t=0$)濃度。使樣品經受 LC/MS/MS 分析以確定前藥、肌酸及肌酸酐之濃度。

實例 2：活體外確定自前藥釋放肌酸

[0297] 為評估前藥釋放肌酸且優先釋放肌酸至不利環境化為肌酸酐的能力，以專門製備用以保持 N-還原酶活性之肝臟均質物(例如，小鼠、人類)培育經 d3 標記之(氘標記之甲基)前藥。為使源自前藥之肌酸(d3-肌酸)區別於高濃度之內源性(未經標記)肌酸，有必要使用經 d3 標記之前藥。在 100 mM 磷酸鉀緩衝劑(pH 6.0)中進行培育(37 °C)以使 N-還原酶活性最優化。以 20 μ M 與 200 μ M 之最終濃度測試前藥。每次反應使用約 4 至 5 mg 之均質物。包括最終濃度為 1 mM 之輔因子(NADH)。使用苯甲醯胺肼(500 μ M 最終濃度)作為 N-還原酶活性之陽性對照物。藉由將苯甲醯胺肼轉化為苯甲脒來證實 N-還原酶活性。陰性對照物包括無 NADH 培育(以評估 NADH-非依賴型前藥裂解)及無肝均質物(但具有 NADH)培育以評估在分析條件下之非酶促前藥裂解。藉由向 100 μ L 磷酸鉀緩衝劑中添加 10 μ L 前藥儲備溶液(400 或 4000 μ M，40% DMSO 於水中)，繼而添加 70 μ L 肝臟均質物來製備前藥培育液。藉由添加 20 μ L NADH 溶液(10 mM)或 20 μ L 水用於(-)NADH 陰性對照物來引發反應。在選定之時間點(例如，0、30、60 及 180 min)，移除 50 μ L 等分試樣且藉由添加 150 μ L 冰冷乙腈(80% ACN/20%水)停止溶液終止反應。將

樣品在 4℃ 下以 15890 x g 離心 10 分鐘，繼而轉移上清液以供儲存在 40C 下直至 LC-MSMS 分析。藉由 LC-MSMS (HILIC 管柱)分析樣品上清液以確定 d3-前藥、d3-肌酸及 d3-肌酸酐之水準(表 8)。

表 8：在小鼠肝臟均質物(MLH)培育液中自 d3-前藥活體外釋放 d3-肌酸及 d3-肌酸酐

化合物 ID	下式之化合物	培育條件	120 min 時之濃度(μM)		
			前藥	d3-肌酸	d3-肌酸酐
A	III	前藥+MLH+NADH	195	45.4	ND
		陰性對照 (無 NADH)	254	15.0	ND
		陰性對照 (無 MLH)	361	0.29	ND
E	III	前藥+MLH+NADH	4.70	39.1	ND
		陰性對照 (無 NADH)	ND	10.0	ND
		陰性對照 (無 MLH)	240	ND	ND
F	III	前藥+MLH+NADH	157	9.68	19.9
		陰性對照 (無 NADH)	176	2.25	4.52
		陰性對照 (無 MLH)	259	ND	ND

ND =未確定

實例 3：活體外確定前藥之 Caco-2 細胞滲透性

[0298] 活體外使用此項技術中熟知之標準方法來評估肌酸前藥之被動滲透性(參見例如 Stewart 等人，Pharm. Res., 1995, 12, 693)。舉例而言，可藉由檢查穿過培養之極化細胞單層(例如，Caco-2 細胞)之前藥通量來評估被動滲透性。

[0299] 將由連續培養(繼代小於 28 次)獲得之 Caco-2

細胞以高密度接種至 Transwell 聚碳酸酯過濾器上。以 DMEM/10% 胎牛血清 +0.1 mM 非必需胺基酸 +2 mM L-Gln, 5% CO₂/95% O₂ 在 37°C 下維持細胞直至實驗之日。在外排泵抑制劑 (250 μM MK-571、250 μM 異搏定、1 mM 氧氟沙星 (Ofloxacin)) 存在下, 頂部在 pH 6.5 下 (在含有 1 mM CaCl₂、1 mM MgCl₂、150 mM NaCl、3 mM KCl、1 mM NaH₂PO₄、5 mM 葡萄糖之 50 mM MES 緩衝劑中) 且底部在 pH 7.4 下 (在含有 10 mM HEPES 之漢克斯平衡鹽溶液 (Hank's balanced salt solution) 中) 進行滲透性研究。將插入物置於含有緩衝劑之 12 或 24 孔培養盤中且在 37°C 下培育 30 min。向頂部或底部隔室 (供體) 中添加前藥 (100 μM、250 μM、300 μM 或 500 μM) 且使用 LC/MS/MS 以歷經 1 小時之間隔測定相對隔室 (接受者) 中之前藥及/或所釋放之親本藥物 (肌酸) 的濃度。表觀滲透性 (P_{app}) 之值係使用以下等式來計算：

$$P_{app} = V_r (dC/dt) / (A C_o)$$

其中 V_r 為接收隔室之體積, 以 mL 計; dC/dt 係前藥與母體藥物之總通量 (μM/s), 由接收隔室中之濃度相對於時間之曲線斜率測定; C_o 係前藥之初始濃度, 以 μM 計; 且 A 係膜之表面積, 以 cm² 計。在某些實施例中, 具有顯著跨細胞滲透性之前藥展示 $\geq 1 \times 10^{-6}$ cm/s 之 P_{app} 值, 在某些實施例中之 P_{app} 值 $\geq 1 \times 10^{-5}$ cm/s 且在某些實施例中之 P_{app} 值 $\geq 5 \times 10^{-5}$ cm/s。

實例 4：由 Caco-2 及 HEK-2 細胞吸收

[0300] 分別以每孔 250,000 個及 500,000 個細胞將 Caco-2 或 HEK 峰接種至經聚離胺酸塗佈之 24 孔塑料細胞培養盤上。將細胞在 37°C 下培育隔夜。在 1 mL 新鮮培養基中向每孔添加前藥。一式三份測試每種前藥之濃度。僅向對照孔中添加培養基。在每個時間點，將細胞在漢克斯平衡鹽溶液中洗滌四次。溶解細胞且藉由在室溫下向每孔中添加 200 μ L 50%乙醇歷時 20 分鐘來萃取化合物。將乙醇溶液之等分試樣轉移至 96 孔 V 形底之培養盤中且在 4°C 下以 5,700 rpm 離心 20 分鐘。藉由 LC/MS/MS 分析上清液以測定前藥、肌酸及/或肌酸酐之濃度。

實例 5：哺乳動物細胞中之 SMVT 表現

[0301] 將鈉依賴性綜合維生素轉運體 (SMVT；SLC5A6 基因之產物) 次選殖至允許由四環素可誘導表現之質體中 (TREX 質體，Invitrogen Inc., Carlsbad Calif.)。將 SMVT 表現質體轉染至人類胚胎腎臟 (HEK) 細胞株中且藉由 G418 選擇及流式活化細胞揀選 (FACS) 來分離穩定純系。使用 SMVT-HEK 細胞純系中之生物素吸收進行確認。將 SMVT-HEK/TREX 細胞在 37°C 下以每孔 100,000 個細胞歷時 24 小時塗於 96 孔培養盤中，且再歷時 24 小時向每孔中添加四環素 (1 μ g/mL) 以誘發 SMVT 轉運體表現。向每孔中添加放射性標記之 ^3H -生物素 (每孔約 100,000 cpm)。將培養盤在室溫下培育 10 min。移除過量

^3H -生物素且將細胞以具有冷的分析緩衝劑之 96 孔培養盤洗滌器洗滌三次。向每孔中添加閃爍流體且密封培養盤並在基於 96 孔培養盤之閃爍計數器中計數。

[0302] 可使用類似方法來製備表現其他轉運體之 HEK 細胞或表現 SMVT 或其他轉運體之其他細胞株。

[0303] 人類 SMVT 之 GenBank 登錄號為 NM.021095，其以引用方式併入本文中。提及 SMVT 轉運體包括 GenBank 參考號碼 NM.021095 中描述或由其編碼之胺基酸序列及保留基本上相同轉運體活性之對偶基因、同源及誘發之變體及其片段。該等變體通常展示與例示性 GenBank 核酸或胺基酸序列至少 90% 之序列一致性。SMVT 之受質為含有游離羧酸及末端為環狀或支鏈基團之短鏈烷基(例如 C_{1-6} 烷基)的化合物。SMVT 受質之實例包括生物素、泛酸及 4-苯基丁酸。

實例 6：使用 SMVT 之競爭分析

[0304] 為確定肌酸前藥是否結合 SMVT 轉運體，研發一種競爭結合分析。此分析量測不同濃度之測試化合物如何阻斷放射性標記受質(諸如生物素或泛酸)之吸收。測試化合物抑制受質轉運之最大半抑制濃度(IC_{50})係指示測試化合物對 SMVT 轉運體之親和性。若測試化合物與放射性標記之受質競爭結合 SMVT，則較少之放射性標記受質轉運至 HEK 細胞中。對於不以與受質競爭之方式與 SMVT 相互作用之測試化合物而言，曲線仍基本上為平坦

直線，亦即無可見之劑量反應。藉由溶解細胞且量測每分鐘之放射性計數來量測細胞吸收放射性標記受質之量。如下進行競爭結合研究。在 37°C 下歷時 24 小時將 SMVT-HEK/TREX 細胞以每孔 100,000 個細胞塗於 96 孔培養盤中，且再歷時 24 小時向每孔中添加四環素(1 $\mu\text{g/mL}$)以誘發 SMVT 轉運體表現。在存在及不存在各種濃度之未標記生物素或泛酸之情形下以一式兩份或一式三份向每孔中添加放射性標記之 ^3H -生物素(每孔約 100,000 cpm)。將培養盤在室溫下培育 10 min。移除過量 ^3H -生物素且使用具有冷的分析緩衝劑之 96 孔培養盤洗滌器將細胞洗滌三次。向每孔中添加閃爍流體且密封培養盤並在基於 96 孔培養盤之閃爍計數器中計數。對數據繪圖並使用 Prism 軟體之非線性迴歸分析進行分析(GraphPad, Inc., San Diego, Calif.)。

實例 7：以肌酸前藥治療 HEK SMVT 細胞

[0305] 在穩定表現 SMVT 之 HEK 細胞中量測未標記肌酸前藥之吸收。將細胞以每孔 250,000 個細胞之密度塗於經聚離胺酸塗佈之 24 孔組織培養盤中。24 小時後以四環素(1 $\mu\text{g/mL}$)處理細胞以誘發 SMVT 表現或保持不處理。次日(接種後約 48 小時)，進行分析。向緩衝之鹽水溶液(HBSS)中添加肌酸前藥(0.1 mM 最終濃度)且向每孔中添加每種測試溶液各 0.5 mL。使細胞吸收測試化合物歷時 1 或 3 小時。抽出測試溶液且將細胞以冰冷 HBSS 洗滌 4

次。隨後在室溫下以 50%乙醇溶液(每孔 0.2 mL)溶解細胞歷時 15 分鐘。將溶解產物以 $5477 \times g$ 在 4°C 下離心 15 分鐘以移除細胞碎片。藉由分析型 LC/MS/MS 測定細胞中之肌酸前藥與肌酸之濃度。藉由與缺乏轉運體表現之對照細胞比較來測定轉運體特異性吸收。

實例 8：治療對肌酸激酶系統之影響

[0306] 根據實例 6 之實驗方案，以緩衝劑、肌酸前藥($100 \mu\text{M}$)、肌酸($100 \mu\text{M}$)或肌酸類似物($100 \mu\text{M}$)治療表現 SMVT 之 HEK 細胞歷時規定之時間段。治療後，藉由分析型 LC/MS/MS 量測肌酸前藥、磷酸肌酸、ATP 及肌酸及/或肌酸類似物之細胞內濃度。

實例 9：疊氮化鈉治療後恢復細胞能量平衡

[0307] 使用 Weinstock 與 Shoham, Neural Transm. 2004, 111(3), 347-66 所述之適應方法來評估本發明化合物對細胞內能量平衡之保護性作用。

[0308] 將 HEK TREX SMVT 細胞株以每孔 25 萬個接種於 24 孔之經聚離胺酸塗佈之組織培養盤中。次日，以去氧羥四環素($1 \mu\text{g/mL}$)處理細胞以表現 SMVT 轉運體，此為有效吸收所測試之肌酸前藥(例如本發明之化合物)所需。培育細胞且在次日進行分析。將細胞以缺少葡萄糖之 HBSS 緩衝劑洗滌兩次。隨後將細胞在 37°C 下在 5% CO_2 培育器中在具有或不具有疊氮化鈉之相同緩衝劑中培育

20 mM。該等實驗中所用疊氮化鈉之典型範圍為 1 mM 至 9 mM。此後，向細胞中添加 300 μ M 肌酸類似物之前藥或使細胞保持不進行處理。在某些實驗中，使用肌酸作為對比。將細胞再培育 20 min 且隨後以緩衝劑洗滌。以 50% 乙醇萃取樣品歷時 15 min 且進行加工用於 LC/MS/MS 來偵測肌酸前藥、肌酸及 ATP 水準。暴露於肌酸前藥後，經疊氮化鈉處理之細胞中之磷酸肌酸與 ATP 水準增加表明前藥能夠恢復細胞能量平衡。

實例 10：保護以防 3-硝基丙酸誘發之毒性

[0309] 使用 Brouillet 等人，J. Neurochem 2005, 95(6), 1521-40 所述之適應方法來評估本發明化合物對細胞內能量平衡之保護作用。

[0310] 大鼠心肌梗塞細胞療法(cardiomyoblast)細胞株 H9c2 由 ATCC (#CRL-1446)獲得。製備 3-硝基丙酸(3-NP)之 20 mM 儲備溶液後即刻用於正常培養基(DMEM/葡萄糖(4.5 g/L)/10% FBS/6 mM L-麩醯胺酸/PSF)中且藉由逐滴添加 1N 氫氧化鈉將 pH 調整至 7.4。在 DMSO 中製備肌酸前藥(例如，本發明之化合物)之 40 mM 儲備溶液且將肌酸以 10 mM 直接溶解於無血清之培養基中。

[0311] 為量測肌酸前藥及/或肌酸類似物提供之針對 3-NP 毒性之細胞保護作用程度，將 H9c2 細胞以每孔 1 萬個細胞在正常培養基中塗於 96 孔透明底部之黑色組織培養盤中且在 37°C 下培育隔夜。次日，移除培養基且以含

有連續稀釋之肌酸前藥或肌酸之無血清培養基替換。講培養盤在 37°C 下培育 2 小時。隨後藉由抽吸移除培養基且以含有各種濃度之 3-NP 的正常培養基替換並將培養盤在 37°C 下再培育 20 小時。為測定每孔中活細胞之數量，添加等體積之 CellTiter-Glo 試劑(Promega)且在室溫下在培養盤震盪器上混合 10 分鐘。藉由在亮度計中讀取培養盤來量測發光。在此分析中產生之發光與存在之 ATP 的量成正比，且與代謝活躍細胞之數量直接相關。

[0312] 暴露於 3-NP 及肌酸前藥之細胞之存活力與暴露於 3-NP 及肌酸之細胞之存活力相比增加表明肌酸前藥能夠維持細胞能量平衡。

實例 11：肌酸前藥在大鼠體內結腸投藥後之藥物動力學

[0313] 經約 6 至約 24 小時之時間段緩慢釋放藥物之持續釋放口服劑型通常在結腸內釋放顯著比例之劑量。因此，適合以該等劑型使用之藥物應係結腸吸收的。在結腸內投與相應肌酸前藥(諸如本發明之化合物)後，進行此實驗以評估肌酸前藥及肌酸在諸如血漿/血液或腦脊液(CSF)之生物流體中之吸收及最終水準，且由此確定肌酸前藥用於口服持續釋放劑型之適合性。可相對於口服及/或結腸投與肌酸前藥來計算肌酸前藥及肌酸在共同投與肌酸前藥後之生物可用性。

步驟 A：投藥方案

[0314] 大鼠係商業獲得且在上行結腸及頸靜脈中預插管。動物在實驗時係有意識的。使所有動物禁食隔夜且直至給藥肌酸前藥後 4 小時。以每公斤體重相等至約 1 mg 至約 200 mg 肌酸前藥之劑量經由插管直接向結腸中投與溶液(在水中或其他適當溶劑及媒劑)形式之肌酸前藥。歷經 8 小時之間隔自頸部插管獲得血液樣品(0.3 mL)且即刻以偏亞硫酸氫鈉或其他適當抗氧化劑淬滅以預防肌酸前藥氧化。可由甲醇/過氯酸進一步淬滅血液樣品以防止肌酸前藥之取樣後水解。如下所述分析血液樣品。亦可自 CSF 或其他適當生物流體獲得樣品。

步驟 B：製備樣品用於結腸吸收之前藥

[0315] 向空的 1.5 mL 微量離心管(Eppendorf tube)中添加甲醇/過氯酸(300 μ L)。在不同時間將大鼠血液(300 μ L)收集至含有 75 μ L 偏亞硫酸氫鈉之 EDTA 管中且使其渦流混合。即刻將固定體積之血液(100 μ L)添加至微量離心管中且使其渦流混合。向 80 μ L 空白大鼠血液中添加 10 微升肌酸前藥標準儲備溶液(0.04、0.2、1、5、25 及 100 μ g/mL)及 10 μ L 10%之偏亞硫酸氫鈉溶液以製成最終之校準標準物(0.004、0.02、0.1、0.5、2.5 及 10 μ g/mL)。隨後向每管中添加甲醇/過氯酸(300 μ L 50/50)，繼而添加 20 μ L 對氯苯基丙胺酸。使樣品渦流且以 14,000 rpm 離心 10 min。藉由 LC/MS/MS 分析上清液。

步驟 C：LC/MS/MS 分析

[0316] 在分析期間使用裝配有 Agilent 1100 二元泵、CTC HTS-PAL 自動進樣器及 Zorbax XDB C8 4.6 x 150 mm 管柱之 API 4000 LC/MS/MS 光譜儀。可使用適當之移動相，諸如 (A)0.1%之甲酸及 (B)含有 0.1%甲酸之乙腈。可使用適當之梯度條件，諸如：5% B 歷時 0.5 min，隨後在 3 min 內達到 98% B，在 98% B 處維持 2.5 min 且隨後恢復至 2% B 歷時 2 min。在 API 4000 上使用 TurboIon 噴霧源。以適當離子模式進行分析且使用標準溶液使每種分析物之 MRM 轉變最優化。每種樣品注射 5 μ L。使用 WinNonlin 軟體 (3.1 版 Professional Version, Pharsight Corporation, Mountain View, Calif.)對個別動物概況進行非隔室分析。對主要參數估計值進行概要統計以獲得 C_{max} (給藥後之峰值觀測濃度)、 T_{max} (達到最大濃度之時間係觀測到峰值濃度之時間)、 $AUC_{(0-t)}$ (自零時刻至最後收集時刻之血清濃度-時間曲線下之面積，使用對數-線性梯形方法估計)、 $AUC_{(0-\infty)}$ (自零時刻至無限之血液濃度時間曲線下之面積，使用對數-線性梯形方法估計至最後收集時刻，外推至無限)及 $t_{1/2,z}$ (末端半衰期)。

[0317] 確定結腸投與相應肌酸前藥後肌酸前藥與肌酸之藥物動力學參數並與等效結腸給藥肌酸前藥後獲得之彼等藥物動力學參數相比較。血液中之肌酸前藥與肌酸之最大濃度(C_{max} 值)及結腸內給藥肌酸前藥後之血液濃度相對於時間曲線下之面積(AUC)值高於結腸投與相應肌酸前

藥所達成之彼等值表明前藥提供增強之結腸生物可用性。

實例 12：肌酸前藥在靜脈內投與大鼠或大鼠口服後之藥物動力學

[0318] 以靜脈內快速注射形式或藉由口腔餵食向四至六隻成年雄性斯潑累格·多雷大鼠 (Sprague-Dawley rat) (約 250 g) 群投與肌酸前藥。動物在實驗時係有意識的。在口服時，以每公斤體重相等之適當肌酸前藥劑量以水溶液(或視情況包括適當媒劑之另一適當溶劑之溶液)之形式投與肌酸前藥。口服給藥後，歷經 8 小時之間隔經由頸靜脈插管獲得血液樣品(0.3 mL)。即刻例如使用乙腈與 1% 甲酸淬滅血液且隨後冷凍在 $\pm 80^{\circ}\text{C}$ 下直至分析。亦可自 CSF 或其他適當生物流體獲取樣品。

[0319] 向空的 1.5 mL 管中添加三百(300) μL 乙腈中之 0.1% 甲酸。在不同時間向含有 EDTA 之管中收集大鼠血液(300 μL)且使其渦流混合。即刻向管中添加固定體積之血液(100 μL)且使其渦流混合。向 90 μL 經 300 μL 乙腈中之 0.1% 甲酸淬滅之空白大鼠血液中添加 10 微升肌酸前藥標準儲備溶液(0.04、0.2、1、5、25 及 100 $\mu\text{g/mL}$)。隨後向每管中添加 20 μL 對氯苯基丙胺酸以製成最終校準標準物(0.004、0.02、0.1、0.5、2.5 及 10 $\mu\text{g/mL}$)。使樣品渦流且以 14,000 rpm 離心 10 min。藉由 LC/MS/MS 分析上清液。

[0320] 在分析中使用裝配有 Agilent 1100 二元泵、

CTC HTS-PAL 自動進樣器及 Phenomenex Synergihydro-RP 4.6 x 30 mm 管柱之 API 4000 LC/MS/MS 光譜儀。使用適當之移動相及梯度條件進行分析。以適當離子模式進行分析且使用標準溶液使每種分析物之 MRM 轉變最優化。每種樣品注射五 (5) μL 。使用 WinNonlin (3.1 版 Professional Version, Pharsight Corporation, Mountain View, Calif.)對個別動物概況進行非隔室分析。對主要參數估計值進行概要統計以獲得 $C_{\max}$ (給藥後之峰值觀測濃度)、 $T_{\max}$ (達到最大濃度之時間係觀測到峰值濃度之時間)、 $\text{AUC}_{(0-t)}$ (自零時刻至最後收集時刻之血清濃度-時間曲線下之面積，使用對數-線性梯形方法估計)、 $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ (自零時刻至無限之血液濃度時間曲線下之面積，使用對數-線性梯形方法估計至最後收集時刻，外推至無限)及 $t_{1/2}$ (末端半衰期)。

[0321] 基於標準化劑量，藉由將口服後之肌酸前藥濃度相對於時間曲線(AUC)下之面積與靜脈內投與肌酸前藥後之肌酸前藥濃度相對於時間曲線之 AUC 相比較來確定肌酸前藥之口服生物可用性(F%)。

[0322] 亦可由 CSF 獲得樣品且測定肌酸前藥與肌酸之藥物動力學。肌酸前藥及/或肌酸之水準較高可表明前藥能穿越血液-大腦障壁易位。

[0323] 可在包括(但不限於)犬、猴及人類之其他動物體內對肌酸前藥之藥物動力學進行類似研究。

實例 13：使用動物模型來評估肌酸前藥用於治療肌肉萎縮性脊髓側索硬化症之功效

[0324] 已研發出 SOD1 突變相關 ALS 之鼠類模型，其中小鼠表現殘基 93 處之人類過氧化物歧化酶(SOD)突變甘胺酸.fwdarw.丙胺酸(SOD1)。該等 SOD1 小鼠展示主要獲得 SOD 之不利特性，且發展類似於人類 ALS 之運動神經元退化及功能障礙 (Gurney 等人，Science 1994, 264(5166), 1772-1775；Gurney 等人，Ann. Neurol. 1996, 39, 147-157；Gurney, J. Neurol. Sci. 1997, 152, S67-73；Ripps 等人，Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1995, 92(3), 689-693；及 Bruijn 等人，Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1997, 94(14), 7606-7611)。SOD1 轉基因小鼠在約 3 個月大小時展示後肢無力之跡象且在 4 個月時死亡。人類 ALS 共有之特徵包括星狀膠質細胞增多、微神經膠瘤病、氧化應激、環氧合酶/前列腺素水準增加且隨著疾病發展，運動神經元發生極大損失。

[0325] 在過度表現人類 Cu/Zn-SOD G93A 突變 (B6SJL-TgN(SOD1-G93A) 1 Gur)之轉基因小鼠與非轉基因 B6/SJL 小鼠及其野生同窩仔畜上進行研究。將小鼠圈養在每天 12-hr 光循環中且(自 45 天大時開始)使其可任意獲取測試化合物補充之食物或作為一種加工成相同顆粒之對照規律配方冷壓食物。如 Gurney 等人，Science 1994, 264(5166), 1772-1775 中所述，可在 21 天大時進行基因型分型。將 SOD1 小鼠分組並以測試化合物進行治療或用作

對照。

[0326] 每日觀察小鼠且每週稱重。為評估健康狀況，每週對小鼠稱重且檢查流淚/流涎、眼瞼閉合、耳朵抽動及瞳孔反應、晶須定向、姿態及翻正反射以及整體身體條件計分之變化。在處死時進行整體病理學檢查。

[0327] 可藉由熟習此項技術者已知之一或多種方法來評估動物之運動協調性能。舉例而言，可使用神經計分方法來評估運動協調。在神經計分中，監控每個肢體之神經分值且根據規定之 4 點量表進行記錄：0=後肢正常反射(動物在經其尾部擡起時張開其後肢)；1=後肢異常反射(在由尾部擡起動物時後肢未張開)；2=肢體異常反射且出現麻痺跡象；3=無反射且完全麻痺；及 4=側向放置時在 30 秒鐘內無法復正或發現死亡。主要終點因神經計分與體重之次要終點而存活。進行神經計分觀測及體重且每週記錄五天。使用適當之統計學方法進行數據分析。

[0328] 轉棒測試評估動物停留在旋轉銷上之能力，使得可評估運動協調性及本體感受之敏感性。該裝置為例如以每分鐘 12 圈旋轉的 3 cm 直徑之自動棒。轉棒測試量測小鼠在輪軸上可自我保持不跌落之時長。該測試可在例如 120 sec 之任意極限後停止。若動物在 120 sec 之前跌落，則記錄性能並再進行兩次試驗。計算 3 次試驗之平均時間。行走時間減少指示運動缺陷。

[0329] 在網格測試中，將小鼠置放於位於平面支架上之網格(長度：37 cm，寬度：10.5 cm，篩孔大小：1 x

1 cm²)上。對小鼠將其爪子伸出網格之次數進行計數並作為對運動協調性之量測。

[0330] 懸掛測評評估動物懸掛在線上之能力。該裝置為在平臺上方 40 cm 處水準拉伸之線。動物前爪連接在線上。在三次連續試驗期間記錄動物後爪抓住繩子所需之時間(最大 60 秒)。

[0331] 亦可適用電生理學量測(EMG)來評估運動活性條件。使用肌電圖裝置進行肌電圖記錄。在 EMG 監控期間，麻醉小鼠。量測之參數係複合肌肉動作電位(CMAP)之幅度及潛伏期。在刺激坐骨神經後，量測腓腸肌中之 CMAP。將參考電極插在接近跟腱(Achilles tendon)處且將活動針置於尾基處。將地針插在小鼠之下背部上。以超大強度(12.9 mA)之單次 0.2 msec 脈衝刺激坐骨神經。量測反應之幅度(mV)及潛伏期(ms)。幅度表示主動運動單位之數量，而遠端潛伏期反映運動神經之傳導速度。

[0332] 亦可使用生物標記分析來評估測試化合物之功效。為評估蛋白生物標記在 SOD1 小鼠體內之調節作用，在運動損害發作期間，將腰椎脊髓之樣品(蛋白萃取物)塗覆至具有不同表面化學/生物化學特性之蛋白晶片陣列上，且例如藉由表面增強之雷射解吸附電離飛行時間式質譜法進行分析。隨後，使用整合蛋白質質量概況分析方法，使用數據來比較各種治療組之蛋白表現概況。可使用適當之統計學方法進行分析。

實例 14：臨牀試驗用於評估肌酸前藥用於治療帕金森氏病之功效

[0333] 以下臨牀研究可用於評估肌酸前藥治療帕金森氏病之功效。滿足運動波動及規定之短持續時間 GABA 類似物反應(1.5 至 4 小時)之 Queen Square Brain Bank 標準(Gibb 等人, J Neurol Neurosurg Psychiatry 1988, 51, 745-752)的自發性 PD 患者符合納入其中。在每次清晨給藥其目前之藥物治療後的臨牀相關峰值給藥運動障礙係另一先決條件。在開始研究前亦需要患者對固定劑量之治療穩定至少一個月之時間。若患者目前之藥物方案包括 L-多巴之緩釋調配物、COMT 抑制劑、司來吉蘭、抗副交感神經藥物或可能潛在地干擾胃吸收之其他藥物(例如, 抗酸劑), 則排除該等患者。其他排除標準包括具有精神病症狀之患者或接受抗精神病治療之患者、具有臨牀上相關認知性損害之患者, 定義為 MMS(簡易智力狀態)分值小於 24 (Folstein 等人, J Psychiatr Res 1975, 12, 189-198)、妊娠風險、關閉狀態之嚴重不穩定糖尿病之第 5 階段 Hoehn & Yahr 及諸如不穩定心血管疾病或中度至重度腎或肝損害之醫學病況。在基線處及完成研究後獲取全血計數、肝及腎功能血液測試。

[0334] 使用隨機、雙盲及交叉研究設計。可藉由以適當之時間間隔測定血液濃度來評估肌酸前藥及所釋放肌酸之藥物動力學。亦可藉由磁共振光譜法(MRS)非侵入性地測定大腦中之肌酸水準。

[0335] 對於臨牀評估而言，使用 UPDR(統一帕金森氏病等級量表)運動計分及大腦測試(Giovanni 等人，J Neurol Neurosurg Psychiatry 1999, 67, 624-629)評估運動功能，此係由患者在膝上型電腦之鍵盤上更易受影響之手進行的敲擊測試。在基線處進行該等測試且隨後即刻追蹤每份血液樣品直至患者達到其開啓狀態且此後以一定間隔追蹤直至患者達到其基線關閉狀態。一旦患者達到其完全開啓狀態，即以 20 min 之間隔進行三次視訊記錄。在每次視訊階段期間監控以下智力及運動任務，其已證實增加運動障礙(Duriff 等人，Mov Disord 1999, 14, 242-245)：(1)靜坐 1 分鐘；(2)進行智力計算；(3)穿上外套並扣鈕釦；(4)端起茶杯並喝水；及(5)行走。例如使用 Goetz 等級量表及異常非自主運動量表版本對錄影帶進行計分以記載測試化合物誘發之運動障礙的可能增加。

[0336] 由運動障礙監控器量測運動障礙之實際發生率及嚴重性(Manson 等人，J Neurol Neurosurg Psychiatry 2000, 68, 196-201)。將裝置用膠帶捆紮在患者更易受影響側之肩上。監控器在整個挑戰性階段期間進行記錄且提供對正在發生之運動障礙之頻率及嚴重性的量測。

[0337] 可使用適當統計學方法來分析結果。

實例 15：肌酸前藥在帕金森氏病之 MPTP 誘發神經毒性動物模型中之功效

[0338] MPTP (1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氫吡啶)為在

人類及實驗動物體內均產生帕金森氏病徵候群之神經毒素。研究 MPTP 神經毒性機制表明其涉及產生由單胺氧化酶在 MPTP 上之活動形成之主要代謝物 MPP^+ 。單胺氧化酶抑制劑阻斷 MPTP 在小鼠及靈長類動物體內之神經毒性。 MPP^+ 對多巴胺能神經元之神經毒性作用特異性似乎係由於突觸多巴胺轉運體吸收 MPP^+ 。此轉運體之阻斷劑防止 MPP^+ 神經毒性。已證實 MPP^+ 係粒腺體複合物 I 活性之相對特異性抑制劑，在魚藤酮結合微點與複合物 I 結合且損害氧化磷酸化作用。活體內研究已證實，MPTP 可耗盡小鼠體內之紋狀體 ATP 濃度。已表明，紋狀體內投與大鼠之 MPP^+ 導致 ATP 顯著耗盡以及乳酸鹽濃度增加侷限於注射位點之紋狀體。增強 ATP 產量之化合物可保護小鼠免受 MPTP 毒性。

[0339] 在以 MPTP 治療之前，對諸如小鼠或大鼠之動物投與肌酸前藥歷時三週。在處死前以適當劑量、給藥間隔及投藥模式投與 MPTP 歷時 1 週。對照組僅接受生理鹽水或 MPTP 鹽酸鹽。處死後，快速解剖兩塊紋狀體且置放於冷凍之 0.1 M 過氯酸中。隨後超音波處理組織且使用螢光計分析來分析等分試樣之蛋白含量。亦對多巴胺、3,4-二羥基苯基乙酸 (DOPAC) 及高香草酸 (HVA) 進行定量。多巴胺及代謝物之濃度表述為 nmol/mg 蛋白。

[0340] 由 MPTP、HVA 及/或多巴胺損耗誘發起保護作用以防 DOPAC 損耗之肌酸前藥具有神經保護性且因此可適用於治療帕金森氏病。

實例 16：使用氟哌醇(Haloperidol)誘發之運動功能低下動物模型評估潛在之抗帕金森氏病活性

[0341] 已證實，腺苷拮抗劑(諸如茶鹼)可逆轉多巴胺拮抗劑(諸如氟哌醇)在齧齒動物中之行為抑制作用且認為係一種用於篩選具有潛在抗帕金森氏病作用之藥物的有效方法(Mandhane,等人, Eur. J. Pharmacol. 1997, 328, 135-141)。肌酸前藥在小鼠體內阻斷氟哌醇誘發之自主活動缺陷的能力可用於評估活體內及潛在之抗帕金森氏病功效。

[0342] 將用於實驗之小鼠圈養於受控環境中且使其在實驗使用之前適應。測試前 1.5 h，向小鼠投與 0.2 mg/kg 氟哌醇，此係使基線自主活動減少至少 50%之劑量。在測試前 5 至 60 min 投與測試化合物。隨後將動物個別地置於具有平的穿孔蓋之清潔、透明的聚碳酸酯籠中。藉由將籠置放於含有與用於對束中斷製表之電腦接合之光細胞的 3 x 6 陣列之框架中來測定水準自主活動。使小鼠不受干擾以考察 1 h 且此期間產生之束中斷數量作為對自主活動之指示，將其與對照動物之數據對比以產生具有統計學意義之差異。

實例 17：帕金森氏病之 6-羥基多巴胺動物模型

[0343] 可藉由向含有黑質紋狀體神經元之細胞體或軸突纖維之大腦區域中局部注射多巴胺能神經毒素、6-羥基多巴胺(6-OHDA)來複製在帕金森氏病中可見之神經化

學缺陷。藉由僅使大腦一側上之黑質紋狀體路徑發生單側病變，觀測到運動抑制作用之行為不對稱性。儘管單側病變之動物仍可移動且能夠自理，但病變側上剩餘之多巴胺敏感性神經元變得對刺激過度敏感。此由以下觀測結果得以證實，即在全身投與諸如阿朴嗎啡(apomorphine)之多巴胺促效劑之後，動物在病變側對側之方向上展示明顯旋轉。化合物在 6-OHDA 病變大鼠體內誘發對側旋轉之能力已證實作為用以預測在治療帕金森氏病中之藥物功效的敏感模型。

[0344] 將雄性斯潑累格·多雷大鼠圈養於受控環境中且使其在實驗使用之前適應。手術前 15 分鐘，對動物經腹膜內注射給藥去甲腎上腺素能吸收抑制劑地昔帕明(desipramine, 25 mg/kg)以預防對非多巴胺神經元之損害。隨後將動物置放於麻醉室中且使用氧與異氟烷之混合物進行麻醉。一旦失去意識，即將動物轉移至立體定位架，在其中經由面罩來維持麻醉。剔除動物頭頂部之毛髮且使用碘溶液消毒。乾燥後，沿頭皮中線切開 2 cm 長切口且使皮膚縮回並夾回以使頭蓋骨暴露。隨後在注射位點上對頭蓋骨鑽出小孔。為使黑質紋狀體路徑發生病變，使注射插管緩慢降至距前囟前後 -3.2 mm、距內側外側 -1.5 mm 且在硬腦膜下方 7.2 mm 深度處之右內側前腦束上方之位置。降低插管兩分鐘後，以 0.5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 之速率輸注 6-OHDA 歷經 4 min，產生 8 μg 之最終劑量。使插管再保留在原處 5 min 以利於擴散，之後緩慢取出。隨後縫合關

閉皮膚，將動物自立體定位架移開且返回其圈舍。使大鼠自手術後恢復兩週之後進行行為測試。

[0345] 使用具有不鏽鋼碗(直徑 45 cm x.高度 15 cm)之旋轉流量計系統量測旋轉行為，其中不鏽鋼碗封裝在沿碗邊緣運行且延伸至 29 cm 高度之透明有機玻璃蓋(Plexiglas cover)中。為評估旋轉，將大鼠置放於與連接至位於碗上方之光學旋轉流量計之彈簧繫繩相連的布夾克中，其評估向左或向右部分(45°)或完全(360°旋轉)運動。

[0346] 為減少在投與測試化合物期間之應激，初始使大鼠習慣該裝置 15 min 連續四天。測試當日，給予大鼠測試化合物，例如肌酸前藥。測試前即刻給予動物皮下注射閼下劑量之阿朴嗎啡且隨後置於挽具中並歷時一小時記錄旋轉次數。測試期間之完全對側旋轉總數作為抗帕金森氏病藥物功效指數。

實例 18：用於評估肌酸前藥在局部缺血損傷中之功效的動物研究

[0347] 對成年雄性大鼠給予肌酸前藥，且在約 24 h 後麻醉並準備用於冠狀動脈阻塞。在程序開始時投與另一劑量之肌酸前藥且使左側主冠狀動脈閉塞 30 min 且隨後釋放。隨後在手術後以適當之間隔及持續時間投與相同劑量之肌酸前藥。隨後研究動物之心臟功能。接受假注射(鹽水)之動物展示左端舒張壓大幅增加，指示心肌梗塞繼發舒張型強直心臟。與假操作之對照物相比消除或減少心

臟功能缺陷之肌酸前藥適用於預防局部缺血損傷。

實例 19：用於評估肌酸前藥維持器官存活力之能力的動物研究

[0348] 在移除心臟前 24 h 對稱重為 300 至 330 g 之威斯塔(Wistar)雄性大鼠投與肌酸前藥或煤劑以進行離體研究。以戊巴比妥(pentobarbital)(0.3 mL)及靜脈內肝素化(0.2 mL)使動物致死。初始時使心臟平衡 15 min。隨後使左心室球囊擴張至產生約 8 mm Hg 末端舒張壓之體積。藉由 0.02 mL 等分試樣增加球囊體積之擴張來構建左心室壓力-體積曲線。零體積定義為左心室末端舒張壓為零之點。壓力-體積曲線完成時，左心室球囊緊縮以使末端舒張壓設定回 8 mmHg 且在檢查冠狀動脈流量後再繼續 15 min 控制期。隨後以 50 mL Celsior + 分子使心臟停止以靜止於 4°C 下之 60 cm H₂O 壓力下。隨後移除心臟且在 4°C 下在填充有相同溶液且以碎冰包圍之塑料容器中儲存 5 h。

[0349] 儲存之後，將心臟轉移至 Langendorff 裝置。將球囊導管再插入左心室中且再擴張至與局部缺血前時期相同之體積。在 37°C 下再灌注心臟至少 2 h。再灌注壓力設定為 50 cm H₂O 歷時 15 min 再流動且隨後設定回 100 cm H₂O 再歷時接下來之 2 h。再設置節奏(每分鐘 320 次)。在再灌注之 25、45、60 及 120 min 時一式三份獲取收縮指數與舒張壓之等容量測。在此時間點，獲得壓力體

積曲線且收集 45 min 再灌注期間之冠脈流出液以量測肌酸激酶漏出量。在以肌酸類似物治療後左心室壓力改良以及體積壓力曲線改良、左心室舒張壓減小且肌酸激酶漏出量減小表明肌酸前藥能夠維持器官存活力。

實例 20：肌酸類似物之前藥在亨廷頓氏病之轉基因小鼠模型中之神經保護作用

[0350] 自 10 周大起以肌酸類似物之前藥或媒劑治療 N171-82Q 菌株之轉基因 HD 小鼠及非轉基因之同窩仔畜。將小鼠置於旋轉棒(「轉棒」)上。記錄小鼠自轉棒跌落之時間長度作為對運動協調性之量測。亦記錄小鼠行進之總距離作為對總體運動之量測。在 N171-82Q 轉基因 HD 小鼠模型中具有神經保護性之投與小鼠之肌酸前藥較長時間保留在轉棒上且比投與小鼠之媒劑行進得更遠。

實例 21：肌酸前藥在亨廷頓氏病丙二酸鹽模型中之功效

[0351] 在能量產生路徑中涉及之酶的一系列可逆及不可逆抑制劑已用於產生諸如帕金森氏病及亨廷頓氏病之神經退化性疾病的動物模型。琥珀酸脫氫酶(一種影響細胞能量平衡之酶)之抑制劑已用於產生亨廷頓氏病模型(Brouillet 等人, J. Neurochem. 1993, 60, 356-359; Beal 等人, J. Neurosci. 1993, 13, 4181-4192; Henshaw 等人, Brain Research 1994, 647, 161-166 (1994); 及 Beal 等人, J. Neurochem. 1993, 61, 1147-1150)。酶琥珀酸脫氫酶在

粒腺體中之三羧酸循環以及電子傳遞鏈中均具有重要作用。丙二酸鹽為琥珀酸脫氫酶之可逆抑制劑丙二酸鹽。對大鼠紋狀體內注射丙二酸鹽已證實產生由競爭性及非競爭性 NMDA 拮抗劑減弱之劑量依賴性紋狀體興奮毒性病變 (Henshaw 等人, Brain Research 1994, 647, 161-166)。麩胺酸鹽釋放抑制劑拉莫三嗪亦減弱病變。與琥珀酸鹽共同注射阻斷病變, 此與對琥珀酸脫氫酶之作用一致。如化學位移共振造影所示, 病變伴隨活體內 ATP 水準之顯著降低以及乳酸鹽水準之顯著增加 (Beal 等人, J. Neurochem. 1993, 61, 1147-1150)。病變產生與亨廷頓氏病中所見之相同細胞保留圖案, 支持丙二酸鹽挑戰作為亨廷頓氏病之神經病理學與神經化學特徵的適用模型。

[0352] 為評估肌酸前藥在此丙二酸鹽模型中對亨廷頓氏病之作用, 以適當之劑量、給藥間隔及途徑向雄性斯潑累格·多雷大鼠投與肌酸前藥。在投與丙二酸鹽之前投與兩週前藥, 且隨後在處死前再投與一週。將丙二酸鹽溶解於蒸餾去離子水中且以 0.1 M HCl 將 pH 調節至 7.4。在中線外側 2.4 mm 且硬腦膜腹側 4.5 mm 之前囟水準處向左側紋狀體中紋狀體內注射 1.5 μ L 含有 3 μ mol 之丙二酸鹽。在第 7 天藉由去頭處死動物且快速移除腦部並置於冰冷之 0.9% 鹽水溶液中。在大腦模具中以 2 mm 的間隔分段大腦。隨後將切片以後側向下置於 2% 之 2,3,5-三苯基氯化四唑中。在室溫下在黑暗中歷時 30 min 對切片染色且隨後移除並置於 4% 之多聚甲醛 (pH 7.3) 中。在每一部分之

後表面上評估由淡染色表示之病變。藉由與在相鄰尼斯爾染色(Nissl stain)部分上獲得之量測相比來證實該等量測。

[0353] 展示神經保護作用且因此適用於治療亨廷頓氏病之化合物展示丙二酸鹽誘發之病變減少。

實例 22：肌酸前藥在肌酸轉運體障礙模型中之功效

[0354] 已產生人類 CrT 缺陷之小鼠模型，其使得可研發針對此病況之治療(Skelton 等人, PloS One, 201, 6 (1), e16187)。使具有 loxP 位點側接 Slc6a8 之外顯子 2 至 4 的小鼠與 Cre:CMV 小鼠雜交以產生表現一條普遍存在之 CrT 基因剔除的小鼠。雄性 CrT⁻/y (受影響)小鼠之大腦及肌肉中缺少 Cr，其中包括心臟及睪丸之其他組織中之 Cr 顯著減少。CrT⁻/y 小鼠在莫里斯水迷宮(Morris water maze)中之獲取及逆轉學習期間展示路徑長度增加。在探針試驗期間，CrT⁻/y 小鼠展示與平臺位點之平均距離增加。CrT⁻/y 小鼠與 CrT⁺/y 相比展示對新穎物體認知及條件性恐懼記憶減少。CrT⁻/y 小鼠之海馬區及前額葉皮質中之血清素及 5-羥基吲哚乙酸增加。普遍存在之 CrT 基因剔除小鼠具有如同人類 CrT 缺乏之學習及記憶缺陷，且此模型適用於理解此病症且測試肌酸前藥作為對於此病症之治療。

[0355] 為評估肌酸前藥在莫里斯水迷宮(MWM)中之作用，以適當劑量、給藥間隔及途徑向雄性 CrT⁻/y 小鼠

投與肌酸前藥。MWM 係一種對空間學習及參考物記憶之測試(Vorhees 等人, Nature Protocols 2006, 1: 848-858)且如 Skelton 等人, Brain Res 2003, 984: 1-10]及 Schaefer 等人, Neuroscience 2009, 164: 1431-1443 所述對動物進行測試。在隱藏平臺測試之前, 進行 6 天可見之平臺訓練(暗示學習)。在此階段期間, 關閉迷宮周圍之窗簾以使突出的遠端提示變得模糊且在預定象限中放置一 10 cm 直徑平臺, 其上在黃銅棒上安裝一橙色球。第一天, 以平臺進行 6 次試驗(90 s)且在相同位置開始; 接下來每天進行 2 次試驗, 開始及平臺位置隨機。

[0356] 分三階段進行 MWM 測試之隱藏平臺部分(每個階段 6 天: 獲取、逆轉及轉移), 對動物而言由每天 4 次試驗歷時 6 天組成以瞭解隱藏平臺之位置, 繼而在第 7 天進行單次探針試驗(無平臺)(Vorhees 等人, Nature Protocols 2006, 1: 848-858)。對獲取而言之平臺直徑為 10 cm, 對逆轉而言為 7 cm (位於相對象限中)且對轉移而言為 5 cm (位於相鄰象限之一中)。使用 AnyMaze 軟體來量測性能(Stoelting Company, Wood Dale, IL)。藉由將對照物(未經治療之雄性 CrT-/y 小鼠及/或野生型小鼠)之性能與經前藥治療之小鼠相比來分析前藥治療之作用。

[0357] 為評估肌酸前藥在條件性恐懼模型中之作用, 以適當之劑量、給藥間隔及途徑向雄性 CrT-/y 小鼠投與肌酸前藥。如 Peters 等人, Science 2010, 328: 1288-1290)所述評估暗示與關聯性恐懼。第 1 天, 使未經治療

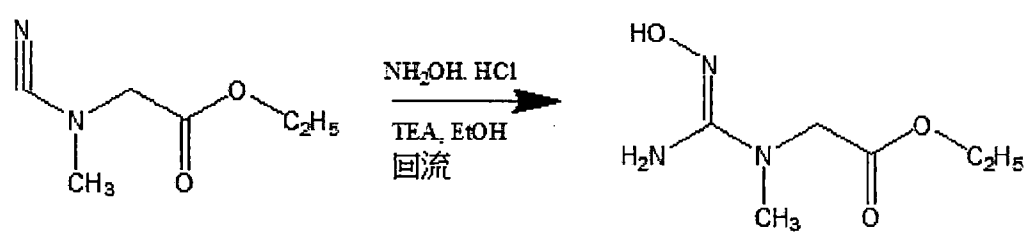
(對照)及經治療(投與前藥)之小鼠暴露於 30 種音調(82 dB、2 kHz、30 s 開/關循環)，繼而為 3 種音調-足底電擊配對(0.5 mA 歷時 1 s)。次日，使動物返回不存在音調或電擊之隔室作為對關聯性恐懼之測試。次日，將動物置放於具有新穎網格地板之隔室中。適應 3 min 後，出現音調且對懼怕行為進行計分。隨後使動物暴露於 30 s 有音調且 30 s 無音調之 30 個循環來量測恐懼記憶消除。使用定格軟體及 Coulbourn 測試室(Coulbourn Instruments, Allentown, PA)。分析懼怕時間百分比。藉由將對照物(未經治療之雄性 CrT-/y 小鼠及/或野生型小鼠)之性能與經前藥治療之小鼠相比來分析前藥治療之作用。

[0358] 為評估肌酸前藥在新穎物體認知(NOR)模型中之作用，以適當之劑量、給藥間隔及途徑向雄性 CrT-/y 小鼠投與肌酸前藥。NOR 係對短期記憶之測試(Clark 等人, J Neurosci 2000, 20: 8853-8860)。使小鼠習慣舞臺(91 cm 直徑)2 天(每天 10 min)，繼而習慣兩種相同物體 2 天(每天 10 min)。測試之日，為動物提供兩種新的相同物體直至獲得 30 s 之累積觀測時間。一小時後，藉由與新穎物體一起為動物提供熟悉物體之一之相同複本來測試記憶。藉由自觀測新物體消耗之時間減去觀測熟悉物體之時間來計算辨別指數。藉由將對照物(未經治療之雄性 CrT-/y 小鼠及/或野生型小鼠)之性能與經前藥治療之小鼠相比來分析前藥治療之作用。

[0359] 適用於治療肌酸轉運體障礙之化合物在經治

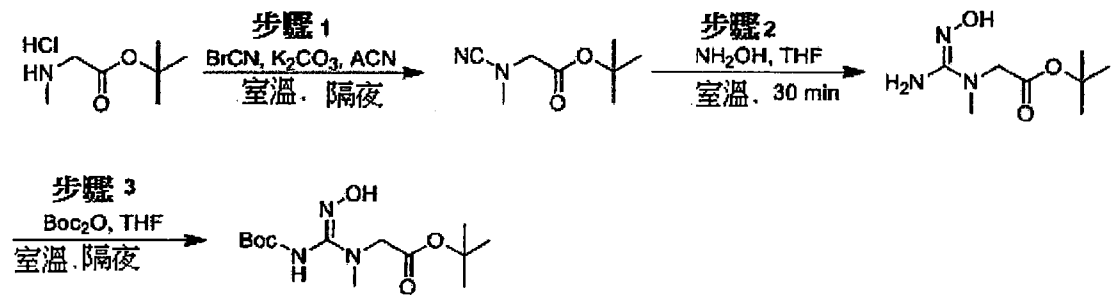
療之雄性 CrT^{-/-} 小鼠相對於未經治療之對照物在上文概述之一或多個評估方面或在用於測試行為、神經及/或神經肌肉功能之替代模型中均將展示改良。

實例 23： 合成 (N'-羥基 -N-甲基胺基甲醯亞胺醯胺基) 乙酸乙酯

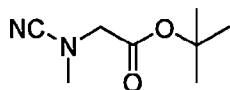


[0360] (N'-羥基 -N-甲基胺基甲醯亞胺醯胺基) 乙酸乙酯可使用 Zbinden 等人, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2005, 15: 5344-5352 中所述之程序來合成。簡言之, 使購自 MP Biomedicals, Inc. 之 [氰基(甲基)胺基] 乙酸乙酯與鹽酸羥基胺在 EtOH 中回流以產生標題化合物。

實例 24： 合成 2-(3-(第三丁氧基羰基)-2-羥基-1-甲基胍基) 乙酸酯-3-基) 胺基] 乙酸第三丁酯

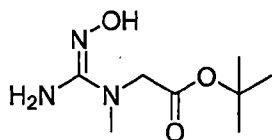


步驟 1：合成 2-(N-甲基氰胺基) 乙酸第三丁酯



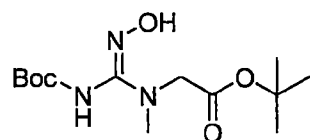
[0361] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中饋入 2-(甲胺基)乙酸第三丁酯(500 mg, 2.75 mmol)、碳酸鉀(761 mg, 5.50 mmol)及乙腈(10 mL)。將混合物在室溫下攪拌 30 min, 此時添加溴化氰(320 mg, 3.025 mmol)於乙腈(2 ml)中之溶液。使反應在室溫下攪拌隔夜且傾析溶劑, 留下不溶性殘餘物。隨後在減壓下蒸發溶劑且藉由以石油醚-乙酸乙酯(梯度 0%至 40%之乙酸乙酯)溶離之急驟層析純化材料以產生白色固體狀之 2-(*N*-甲基氰胺基)乙酸第三丁酯(410 mg, 2.41 mmol, 88%產率)。ES LC-MS m/z = 171 ($M+H^+$) & 193 ($M+Na^+$)。

步驟 2: 合成 2-(2-羥基-1-甲基胍基)乙酸第三丁酯



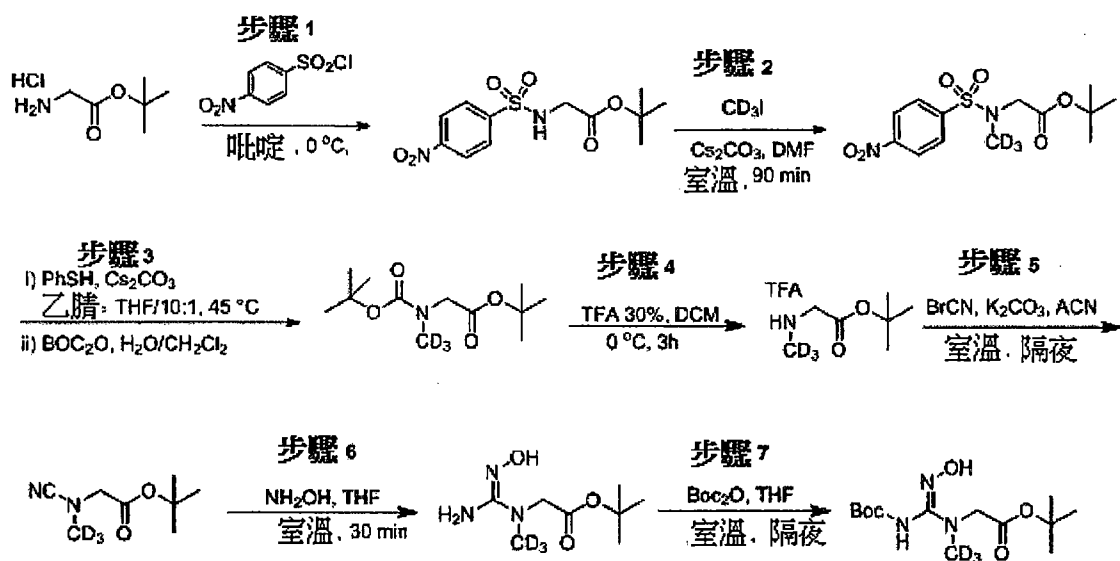
[0362] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中饋入 2-(*N*-甲基氰胺基)乙酸第三丁酯(300 mg, 1.76 mmol)及四氫呋喃(5 mL)。向此混合物中添加羥基胺(50%水溶液, 583 mg, 8.80 mmol)。1 小時後, 添加 10 mL 水且將混合物以 5 ml 二氯甲烷萃取 3 次。隨後將有機層以 $MgSO_4$ 乾燥、過濾且在減壓下濃縮以產生白色固體狀之粗 2-(2-羥基-1-甲基胍基)乙酸第三丁酯(349 mg, 1.72 mmol, 98%產率), 其即刻用於下一步驟中。ES LC-MS m/z = 204 ($M+H^+$)。

步驟 3：合成 2-(3-(第三丁氧基羰基)-2-羥基-1-甲基胍基)乙酸第三丁酯

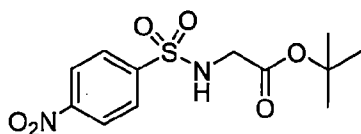


[0363] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中饋入 2-(2-羥基-1-甲基胍基)乙酸第三丁酯(349 mg, 1.72 mmol)及四氫呋喃(5 mL)。向此混合物中添加二碳酸二第三丁酯(375 mg, 1.72 mmol)。將反應在室溫下攪拌隔夜。隨後在減壓下蒸發溶劑且藉由以二氯甲烷-乙酸乙酯(梯度為 0%至 30%之乙酸乙酯)溶離之急驟層析純化材料以產生白色固體狀之 2-(3-(第三丁氧基羰基)-2-羥基-1-甲基胍基)乙酸第三丁酯(151 mg, 0.50 mmol, 29%產率)。ES LC-MS m/z = 304 ($M+H^+$)。 1H NMR (二甲亞砜- d) δ : 5.73 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 2.76 (s, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.41 (s, 9H)。

實例 25：合成 2-(3-(第三丁氧基羰基)-2-羥基-1-三氬甲基胍基)乙酸第三丁酯



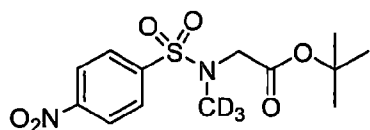
步驟 1：合成 2-(4-硝基苯基磺醯胺基)乙酸第三丁酯



[0364] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中且在氮氣下饋入甘胺酸第三丁酯鹽酸鹽(20 g, 119.76 mmol)及吡啶(260 mL)。將混合物冷卻至 0°C，此時逐份添加 4-硝基苯磺醯氯(28.98 g, 131.74 mmol)，維持混合物低於 10°C。隨後使反應溫至室溫。在室溫下 18 h 後，將反應混合物傾入水(1000 mL)中。將形成之沈澱物過濾且在真空下乾燥以產生黃色固體狀之 2-(4-硝基苯基磺醯胺基)乙酸第三丁酯(30.8 g, 97.46 mmol, 81%產率)。¹H NMR (CDCl₃) δ: 8.36-8.34 (m, 2H), 8.07-8.05 (m, 2H), 5.23 (br s, 1H), 3.75-3.74 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 1.35 (s, 9H)。

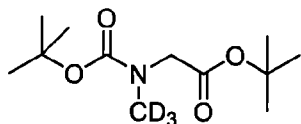
步驟 2：合成 2-[(4-硝基苯基)磺醯基-(三氬甲基)胺基]乙

酸第三丁酯



[0365] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中且在氮氣下饋入 2-(4-硝基苯基磺醯胺基)乙酸第三丁酯(30.8 g, 97.46 mmol)、DMF (320 mL)及 CD_3I (14.13 g, 97.46 mmol)。在室溫下向此混合物中添加 Cs_2CO_3 (34.85 g, 107.22 mmol) 且將反應攪拌 45 min。隨後將反應混合物傾入水(1000 mL)中且以 EtOAc (3×500 mL)萃取。將合併之有機相以 NaCl (500 mL)洗滌、乾燥(Na_2SO_4)、過濾且在減壓下蒸發溶劑以產生淺黃色固體狀之 2-[(4-硝基苯基)磺醯基-(三氬甲基)胺基]乙酸第三丁酯(27.8 g, 83.48 mmol, 81%產率)。 ^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.36-8.33 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 8.01-7.99 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 3.98 (s, 2H), 1.38 (s, 9H)。

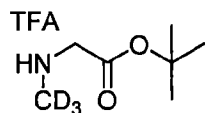
步驟 3：合成 2-(第三丁氧基羰基(三氬甲基)胺基)乙酸第三丁酯



[0366] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中且在氮氣下饋入 2-[(4-硝基苯基)磺醯基-(三氬甲基)胺基]乙酸第三丁酯(27.8 g, 83.48 mmol)、 Cs_2CO_3 (67.83 g, 208.7 mmol)、乙腈(400 mL)及 THF (40 mL)。向此溶液中添加苯硫酚(34 mL, 333.93 mmol)且將反應在 45°C 下加熱 90 min, 此時將

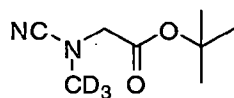
反應混合物以 MTBE (500 mL)稀釋且以水(5 x 100 mL)萃取。將合併之水萃取物以 MTBE(500 mL)洗滌且向水混合物中添加 DCM (500 mL)，繼而添加(BOC)₂O (36.4 g，166.97 mmol)。將雙相反應混合物劇烈攪拌隔夜。隨後分離各相且以 DCM (500 mL x 5)萃取含水層。將合併之有機相乾燥(Na₂SO₄)、過濾且在減壓下蒸發溶劑。藉由使用以庚烷- EtOAc (梯度為 0%至 30%之 EtOAc)溶離之 120 g 二氧化矽濾筒之層析純化材料以產生無色油狀之 2-(第三丁氧基羰基(三氘甲基)胺基)乙酸第三丁酯(6 g，24.19 mmol，28%產率)。¹H NMR (CDCl₃) δ: 3.84-3.74 (m, 2H), 1.45-1.41 (m, 18H)。

步驟 4：合成 2-(N-三氘甲胺基)乙酸第三丁酯 TFA 鹽



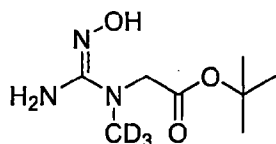
[0367] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中饋入 2-(第三丁氧基羰基(三氘甲基)胺基)乙酸第三丁酯(500 mg，2.02 mmol)及二氯甲烷(2 mL)。將混合物冷卻至 0℃，此時添加 1 mL 三氟乙酸(TFA)。隨後將混合物在 0℃下攪拌 3 小時。隨後在減壓下蒸發溶劑以產生淺棕色油狀之 2-(N-三氘甲胺基)乙酸第三丁酯 TFA 鹽(320 mg，2.02 mmol，100%產率)，其直接用於下一步驟中。ES LC-MS m/z = 149 (M+H⁺)。

步驟 5：合成 2-(*N*-三氘甲基氰胺基)乙酸第三丁酯



[0368] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中饋入 2-(*N*-三氘甲胺基)乙酸第三丁酯 TFA 鹽(320mg, 2.02mmol)、碳酸鉀(837 mg, 6.06 mmol)及乙腈(10 mL)。將混合物在室溫下攪拌 0.5 小時，此時添加溴化氰(235 mg, 2.22 mmol)於乙腈(2 mL)中之溶液。使反應在室溫下攪拌隔夜。隨後傾析溶劑，留下不溶性殘餘物。在減壓下蒸發溶劑且隨後藉由以石油醚-乙酸乙酯(梯度為 0%至 40%之乙酸乙酯)溶離之急驟層析純化以產生白色固體狀之 2-(*N*-三氘甲基氰胺基)乙酸第三丁酯(260 mg, 1.50 mmol, 74%產率)。ES LC-MS m/z = 174 ($M+H^+$) & 196 ($M+Na^+$)。

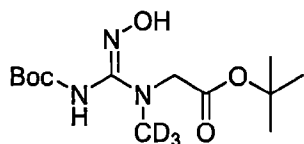
步驟 6：合成 2-(2-羥基-1-三氘甲基胍基)乙酸第三丁酯



[0369] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中饋入 2-(*N*-三氘甲基氰胺基)乙酸第三丁酯(260 mg, 1.50 mmol)及四氫呋喃(5 mL)。向此混合物中添加羥基胺(50%水溶液, 495 mg, 7.50 mmol)。1 小時後，添加 10 mL 水且將混合物以 5 mL 二氯甲烷萃取 3 次。將有機層以 $MgSO_4$ 乾燥、過濾且在減壓下濃縮以產生白色固體狀之 2-(2-羥基-1-三氘甲基胍基)乙酸第三丁酯(298 mg, 1.45 mmol, 97%產率)，

其即刻用於下一步驟中。ES LC-MS $m/z = 207$ ($M+H^+$)。

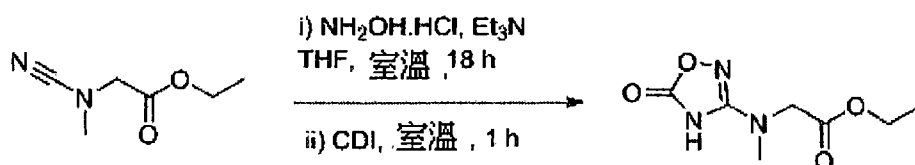
步驟 7：合成 2-(3-(第三丁氧基羰基)-2-羥基-1-三氘甲基胍基)乙酸第三丁酯



[0370] 向裝配有攪拌棒之圓底燒瓶中饋入 2-(2-羥基-1-三氘甲基胍基)乙酸第三丁酯 (298 mg, 1.45 mmol) 及四氫呋喃 (5 mL)。向此混合物中添加二碳酸二第三丁酯 (316 mg, 1.72 mmol)。將反應在室溫下攪拌隔夜。隨後在減壓下蒸發溶劑且藉由以二氯甲烷-乙酸乙酯 (梯度為 0% 至 30% 之乙酸乙酯) 溶離之急驟層析純化材料以產生白色固體狀之 2-(3-(第三丁氧基羰基)-2-羥基-1-三氘甲基胍基)乙酸第三丁酯 (90 mg, 0.29 mmol, 20% 產率)。ES LC-MS $m/z = 307$ ($M+H^+$)。 1H NMR (二甲亞砜- d_6) δ : 5.71 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.41 (s, 9H)。

[0371] 可藉由選擇適當起始材料，使用上述程序來合成其他肌酸前藥及其衍生物。

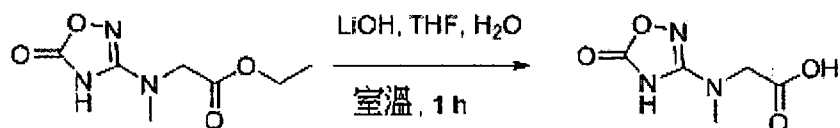
實例 26：合成 2-[甲基-(5-酮基-4H-1,2,4-噁二唑-3-基)]胺基]乙酸乙酯



[0372] 向裝配有攪拌棒及氮氣入口之圓底燒瓶中饋入 2-[氰基(甲基)胺基]乙酸乙酯(852 mg, 6.0 mmol)及四氫呋喃(30 mL)。向此混合物中添加鹽酸羥基胺(2.1 g, 30.0 mmol)及三乙胺(1.3 mL, 9.0 mmol)。18 h 後, 添加羰基二醯亞胺(5.8 g, 36.0 mmol)且使得反應 1 h。傾析溶劑, 留下不溶性殘餘物。在減壓下蒸發溶劑且藉由以經 0.1%三氟乙酸改質之水-乙腈溶離之逆相層析純化材料。此產生白色固體狀之 2-[甲基-(5-酮基-4H-1,2,4-噁二唑-3-基)胺基]乙酸乙酯: 80 mg, 0.40 mmol, 7%產率。ES LC-MS $m/z = 202$ ($M+H^+$)。 1H NMR (氯仿- d) δ : 4.25 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.96 (s, 2H), 3.04 (s, 3H), 1.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。熔點: 120-123°C。

[0373] 亦可使用 Kitamura 等人, Chem. Pharm. Bull., 2001, 49(3) 268-277 中所述之程序來合成 2-[甲基-(5-酮基-4H-1,2,4-噁二唑-3-基)胺基]乙酸乙酯。

實例 27: 合成 2-[甲基-(5-酮基-4H-1,2,4-噁二唑-3-基)胺基]乙酸

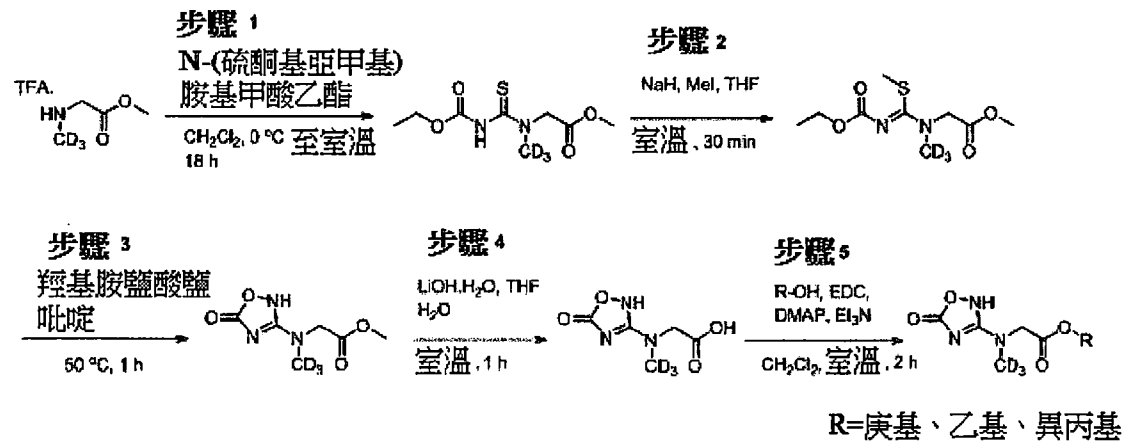


[0374] 向裝配有攪拌棒及氮氣入口之圓底燒瓶中饋入 2-[甲基-(5-酮基-4H-1,2,4-噁二唑-3-基)胺基]乙酸乙酯(20 mg, 0.1 mmol)、四氫呋喃(5 mL)及水(5 mL)。向此混合物中添加氫氧化鋰單水合物(4 mg, 0.1 mmol)。1 小時

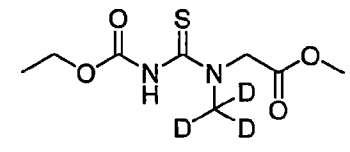
後，在減壓下蒸發溶劑且藉由以水-經 0.1%三氟乙酸改質之乙腈溶離之逆相層析純化材料。此產生白色固體狀之 2-[甲基-(5-酮基-4H-1,2,4-噁二唑-3-基)胺基]乙酸：15 mg，0.09 mmol，90%產率。ES LC-MS $m/z = 174 (M+H^+)$ 。 1H NMR (甲醇- d_4) δ : 3.97 (s, 2H), 2.96 (s, 3H)。熔點：150-155°C。

[0375] 可使用上述程序，藉由選擇適當之起始材料來合成其他肌酸前藥及其衍生物。

實例 28：合成 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸烷基酯



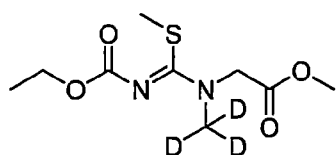
步驟 1：合成 2-[乙氧基羰基胺甲硫基(三氘甲基)胺基]乙酸甲酯



[0376] 向裝配有攪拌棒及氮氣入口之圓底燒瓶中饋入 N-(硫酮基亞甲基)胺基甲酸乙酯(4.1 mL, 35.0 mmol)及

二氯甲烷(300 mL)。將混合物冷卻至 0°C 且添加 2-(三氬甲基)乙酸甲酯三氟乙酸鹽(7.70 g, 35.0 mmol)，繼而添加三乙胺(4.9 mL, 35.0 mmol)。將混合物攪拌隔夜，同時溫至室溫。將混合物以 1N HCl (100 mL)洗滌、乾燥(Na_2SO_4)且在減壓下蒸發溶劑。藉由使用以梯度為 0 至 30%乙酸乙酯之庚烷-乙酸乙酯溶離之 120 g 二氧化矽濾筒的層析純化材料。此產生 2-[乙氧基羰基胺甲硫基(三氬甲基)胺基]乙酸甲酯：8.0 g, 33.8 mmol, 96%產率。ES LC-MS $m/z = 238$ ($M+H^+$)。 ^1H NMR (氯仿- d) δ : 7.38 (br s, 1H), 4.41-4.59 (m, 2H), 4.20 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 1.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

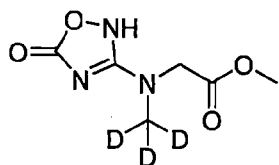
步驟 2：合成 2-[[(Z) -N-乙氧基羰基-C-甲基硫基-碳醯亞胺基]-(三氬甲基)胺基]乙酸甲酯



[0377] 向裝配有攪拌棒及氮氣入口之圓底燒瓶中饋入[乙氧基羰基胺甲硫基(三氬甲基)胺基]乙酸酯(7.82 g, 33.0 mmol)、碘代甲烷(4.1 mL, 66.0 mmol)及四氫呋喃(200 mL)。在室溫下向此混合物中添加氫化鈉(60%於油中；1.32 g, 33.0 mmol)。1 小時後，將材料傾入飽和氯化銨溶液(100 mL)中，將含水相以乙酸乙酯(3 X 100 mL)萃取、乾燥(Na_2SO_4)且在減壓下蒸發溶劑。藉由使用以梯度為 0 至 40%乙酸乙酯之庚烷-乙酸乙酯溶離之 120 g 二氧化

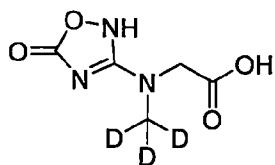
矽濾筒的層析純化材料。此產生 2-[[[(Z)-N-乙氧基羰基-C-甲基硫基-碳醯亞胺基]-(三氬甲基)胺基]乙酸甲酯：8.0 g，32.0 mmol，97%產率。ES LC-MS $m/z = 252$ ($M+H^+$)。 1H NMR (氯仿-d) δ : 4.30 (s, 2H), 4.16 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 1.30 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

步驟 3：合成 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氬甲基)胺基]乙酸甲酯



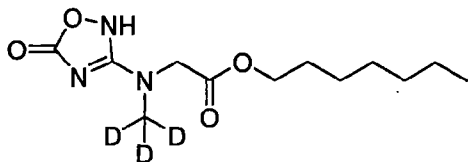
[0378] 向裝配有攪拌棒、Vigreux 管柱及氮氣入口之圓底燒瓶中饋入 2-[[[(Z)-N-乙氧基羰基-C-甲基硫基-碳醯亞胺基]-(三氬甲基)胺基]乙酸甲酯(7.53 g，30.0 mmol)及吡啶(50 mL)。向此混合物中添加鹽酸脛基胺(2.09 g，30.0 mmol)且將混合物在 60°C 下加熱 1 小時。在減壓下蒸發溶劑。添加乙酸乙酯(100 mL)及水(100 mL)。分離各相且以乙酸乙酯(3 X 100 mL)萃取含水相。將合併之有機相乾燥(Na_2SO_4)且在減壓下蒸發溶劑。藉由使用以梯度為 0 至 100%乙酸乙酯之庚烷-乙酸乙酯溶離之 120 g 二氧化矽濾筒的層析純化材料。此產生白色固體狀之 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氬甲基)胺基]乙酸甲酯：3.0 g，15.8 mmol，53%產率。ES LC-MS $m/z = 191$ ($M+H^+$)。 1H NMR (氯仿-d) δ : 3.98 (s, 2H), 3.79 (s, 3H)。熔點 120-125 °C。

步驟 4：合成 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸



[0379] 向裝配有攪拌棒及氮氣入口之圓底燒瓶中饋入 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸甲酯(95 mg, 0.5 mmol)、四氫呋喃(5 mL)及水(5 mL)。向此混合物中添加氫氧化鋰單水合物(21 mg, 0.5 mmol)。1 小時後，在減壓下蒸發溶劑且藉由以水-經 0.1%三氟乙酸改質之乙腈溶離之逆相層析純化材料。此產生白色固體狀之 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸：50 mg, 0.28 mmol, 57%產率。ES LC-MS m/z = 177 ($M+H^+$)。 1H NMR (甲醇- d_4) δ : 3.98 (s, 2H)。熔點 150-155°C。

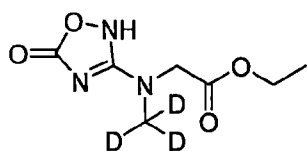
步驟 5A：合成 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸庚酯



[0380] 向裝配有攪拌棒之閃爍小瓶中饋入 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸(88 mg, 0.50 mmol)、1-庚醇(58 mg, 0.50 mmol)、二甲胺基吡啶(92

mg, 0.75 mmol)及二氯甲烷(10 mL)。向此混合物中添加 N-(3-二甲胺基丙基)-N'-乙基碳化二醯亞胺鹽酸鹽(144 mg, 0.75 mmol)。1 小時後, 添加三乙胺(0.07 mL, 0.50 mmol)。使得再反應 1 小時。在減壓下蒸發溶劑且藉由以水-經 0.1%三氟乙酸改質之乙腈溶離之逆相層析純化材料。此產生白色固體狀之 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸庚酯: 70 mg, 0.25 mmol, 50% 產率。ES LC-MS $m/z = 275$ ($M+H^+$)。 1H NMR (氯仿- d) δ : 11.06 (br s, 1H), 4.17 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.95 (s, 2H), 1.56-1.82 (m, 4H), 1.19-1.44 (m, 7H), 0.85-0.94 (m, 2H)。熔點 110-115°C。

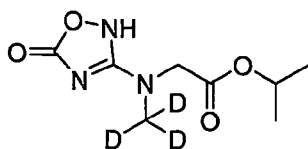
步驟 5B: 合成 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸乙酯



[0381] 向裝配有攪拌棒之閃爍小瓶中饋入 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸(176 mg, 1.00 mmol)、乙醇 (46 mg, 1.00 mmol)、二甲胺基吡啶(183 mg, 1.50 mmol)及二氯甲烷(20 mL)。向此混合物中添加 N-(3-二甲胺基丙基)-N'-乙基碳化二醯亞胺鹽酸鹽(288 mg, 1.50 mmol)。1 小時後, 添加三乙胺(0.14 mL, 1.00 mmol)。使得再反應 1 小時。在減壓下蒸發溶劑且藉由以水-經 0.1%三氟乙酸改質之乙腈溶離之逆相層析純化

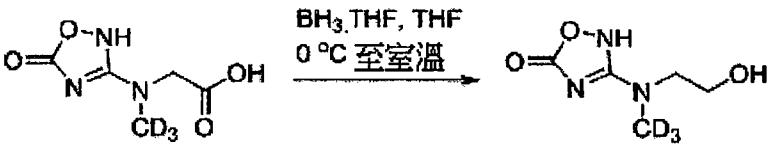
材料。此產生白色固體狀之 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸乙酯：133 mg，0.65 mmol，65%產率。ES LC-MS $m/z = 205$ ($M+H^+$)。 1H NMR (氯仿- d) δ : 11.13 (br s, 1H), 4.24 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.96 (s, 2H), 1.30 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。熔點 12-130°C。

步驟 5C：合成 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸異丙酯



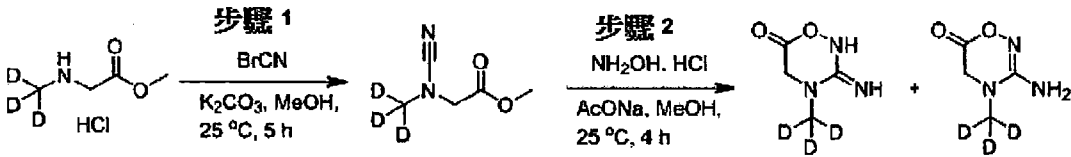
[0382] 向裝配有攪拌棒之閃爍小瓶中饋入 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸 (176 mg，1.00 mmol)、異丙醇 (60 mg，1.00 mmol)、二甲胺基吡啶 (183 mg，1.50 mmol) 及二氯甲烷 (20 mL)。向此混合物中添加 N-(3-二甲胺基丙基)-N'-乙基碳化二醯亞胺鹽酸鹽 (288 mg，1.50 mmol)。1 小時後，添加三乙胺 (0.14 mL，1.00 mmol)。使得再反應 1 小時。在減壓下蒸發溶劑且藉由以水-經 0.1% 三氟乙酸改質之乙腈溶離之逆相層析純化材料。此產生白色固體狀之 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸異丙酯：139 mg，0.64 mmol，64%產率。ES LC-MS $m/z = 219$ ($M+H^+$)。 1H NMR (氯仿- d) δ : 11.09 (br s, 1H), 5.10 (九重峰, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.91 (s, 2H), 1.28 (d, $J = 6.2$ Hz, 6H)。熔點 143-145°C。

實例 29： 合成 3-[2-羥基乙基(三氘甲基)胺基]-2H-1,2,4-噁二唑-5-酮

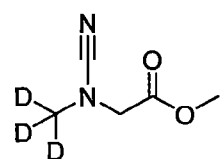


[0383] 向裝配有攪拌棒及氮氣入口之圓底燒瓶中饋入 2-[(5-酮基-2H-1,2,4-噁二唑-3-基)-(三氘甲基)胺基]乙酸(528 mg, 3.0 mmol)及四氫呋喃(THF) (60 mL)。向此混合物中添加 $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ (1.0 M 於 THF 中) (6.0 mL, 6.0 mmol)。2 h 後，以甲醇(5 mL)淬滅反應且在減壓下蒸發溶劑。藉由以水-經 0.1%三氟乙酸改質之乙腈溶離之逆相層析純化材料。此產生白色固體狀之 3-[2-羥基乙基(三氘甲基)胺基]-2H-1,2,4-噁二唑-5-酮：372 mg, 2.30 mmol, 77%產率。ES LC-MS $m/z = 163$ ($\text{M} + \text{H}^+$)。 ^1H NMR (甲醇- d_4) δ : 3.70 (t, $J = 5.4$ Hz, 3H), 3.33 (s, 1H)。熔點 98-104 $^\circ\text{C}$ 。

實例 30： 合成 3-亞胺基-4-(甲基- d_3)-1,2,4-噁二嗪-6-酮及 3-胺基-4-(甲基- d_3)-4,5-二氫-6H-1,2,4-噁二嗪-6-酮

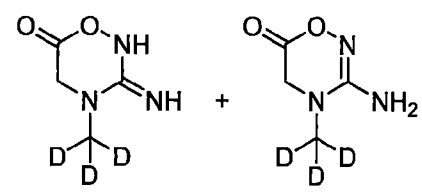


步驟 1：合成 2-[氰基(三氘甲基)胺基]乙酸甲酯



[0384] 向燒瓶中饋入 2-(三氘甲胺基)乙酸甲酯(3.00 g , 21.04 mmol , HCl 鹽)、K₂CO₃ (5.82 g , 42.08 mmol)及 MeOH (20.00 mL)。隨後添加溴化氰(2.23 g , 21.04 mmol)。此後，將反應混合物在 25℃下攪拌約 5 小時。蒸發反應混合物以產生殘餘物。添加 H₂O (20 mL)且使用 EtOAc (35 mL X 5)來萃取產物。將有機層以鹽水(20 mL)洗滌、經無水 Na₂SO₄ 乾燥且蒸發以產生黃紅色油狀之 2-[氰基(三氘甲基)胺基]乙酸甲酯(2.00 g , 72.48%產率)。¹H NMR (MeOD, 400 MHz) δ: 3.91 (s, 2H), 3.79 (s, 3H)。

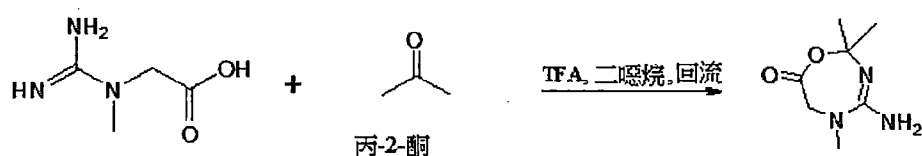
步驟 2：合成 3-亞胺基-4-(甲基-d₃)-1,2,4-噁二嗪-6-酮及 3-胺基-4-(甲基-d₃)-4,5-二氫-6H-1,2,4-噁二嗪-6-酮



[0385] 向燒瓶中饋入 2-[氰基(三氘甲基)胺基]乙酸甲酯(1.00 g , 7.62 mmol)、羥基胺(2.12 g , 30.50 mmol , HCl 鹽)及 MeOH (20.00 mL)中之 AcONa (2.81 g , 34.31 mmol)。將反應混合物在 25℃下攪拌約 4 h。蒸發反應溶液以移除大部分 MeOH。隨後添加 H₂O (約 3 mL)以使得所有固體溶解。藉由專用製備型 HPLC (中性)直接純化一半溶液以產生具有所需 MS 之 4 個峰。C 峰，39.7 mg，淺

粉色。ES LC-MS $m/z = 130$ ($M+H^+$)。 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.67 (s, 2H)。D 峰，70.7 mg，白色固體。ES LC-MS $m/z = 130$ ($M+H^+$)。 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.64 (s, 2H)。剩餘峰可對應於 3-羥基-2-亞胺基-1-(甲基- d_3)咪唑啉-4-酮、(Z)-2-(羥基亞胺基)-1-(甲基- d_3)咪唑啉-4-酮或(E)-2-(羥基亞胺基)-1-(甲基- d_3)咪唑啉-4-酮。

實例 31：合成 4-胺基-2,5-二甲基-5,6-二氫-1,3,5-噁二氮呼-7(2H)-酮



[0386] 標題化合物 4-胺基-2,5-二甲基-5,6-二氫-1,3,5-噁二氮呼-7(2H)-酮可由易於購得之起始材料肌酸(購自 Sigma Aldrich)及丙-2-酮(丙酮，亦購自 Sigma Aldrich)來合成。歷經 10 分鐘向肌酸(6.55 g; 50 mmol)與丙酮(3.70 mL, 50 mmol)在無水二噁烷(100 mL)中之攪拌溶液中添加三氟乙酸(TFA; 2.0 mL; 26 mmol)。將溶液在室溫下攪拌 10 min，繼而回流 1 h，隨後在真空中濃縮以產生粗產物。將粗產物溶解於最小量之無水二噁烷中，繼而引入無水 HCl 氣體流。過濾所得沈澱物且以無水乙醚洗滌以產生標題化合物之 HCl 鹽。

[0387] 藉由使用其他醛或酮代替丙-2-酮，可製備其他 4-胺基-5,6-二氫-1,3,5-噁二氮呼-7(2H)-酮化合物。

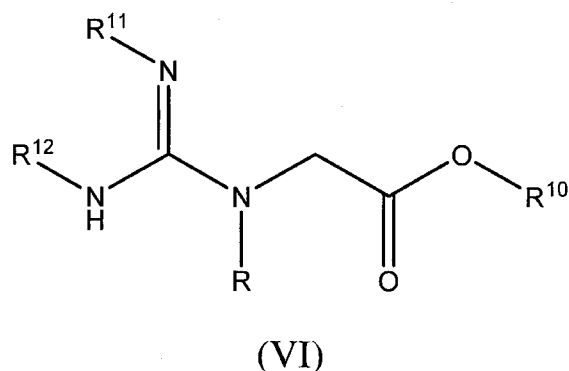
[0388] 可藉由選擇適當之起始材料，使用上述程序

來合成其他肌酸前藥。

[0389] 本說明書中引用之所有公開案，例如包括非專利文獻、專利申請案及專利，均為所有目的以引用之方式併入本文中。在不偏離本發明之精神或必要特徵之情形下，本發明可具體化為其他特定形式。因此，以上實施方案就各個方面而言均認為係說明性的，而非限制為本文所述之本發明。因此本發明之範疇係由隨附之申請專利範圍而非由以上描述來表示，且在與申請專利範圍等效之含義及範圍內的所有改變均欲涵蓋其中。

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】一種式(VI)化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體，其中：



R 為 $-\text{CH}_3$ 或 $-\text{CD}_3$ ；

R^{10} 為氫、 C_{1-12} 烷基、或 C_{1-12} 雜烷基；

R^{11} 為氫或 $-\text{OR}^{13}$ ；及

R^{12} 為氫、 $-\text{OR}^{13}$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ ，其限制條件為 R^{11} 與 R^{12} 兩者不可均為氫；

R^{13} 為氫、或 C_{1-12} 烷基；以及

R^5 為氫、 $-\text{O}-(\text{C}_{1-11} \text{ 烷基})$ 、或 C_{1-12} 雜烷基。

【請求項 2】如請求項 1 之式(VI)化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體，其中， R^{10} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、十二烷基、或第三丁基。

【請求項 3】如請求項 1 之式(VI)化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體，其中：

R^5 為 C_{2-6} 烷基；以及

R^{10} 為 C_{1-6} 烷基。

【請求項 4】如請求項 1 之式(VI)化合物、或其醫藥學

上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體，其中：

R^5 為氫、乙基、正丙基、異丙基、十二烷基、或第三丁基；以及

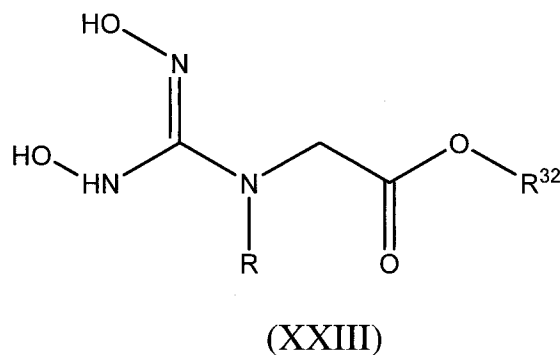
R^{10} 為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、十二烷基、或第三丁基。

【請求項 5】如請求項 1 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體，其中， R^{11} 與 R^{12} 各自獨立地為 $-OR^{13}$ ，或其中， R^{11} 為 $-OR^{13}$ ，而 R^{12} 為 $-C(O)R^5$ 。

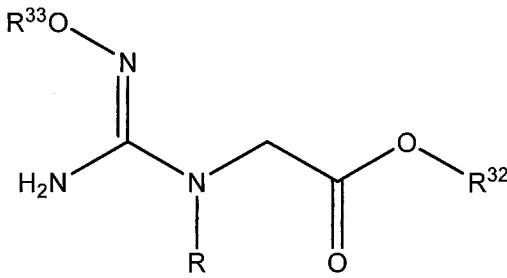
【請求項 6】如請求項 1 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體，其中， R^5 為 $-O-(C_{1-6}\text{烷基})$ 。

【請求項 7】如請求項 1 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體，其中，該式 (VI) 化合物為式 (XXIII)、式 (XXIV)、式 (XXV)、式 (XXVI)、或式 (XXVII) 之化合物或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體；

其中該式 (XXIII) 化合物為：

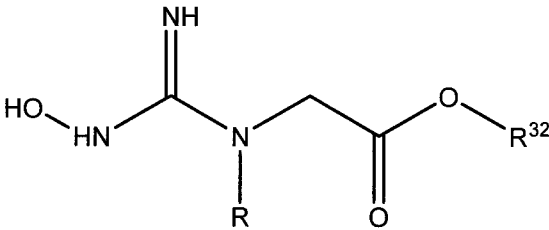


其中該式 (XXIV) 化合物為：



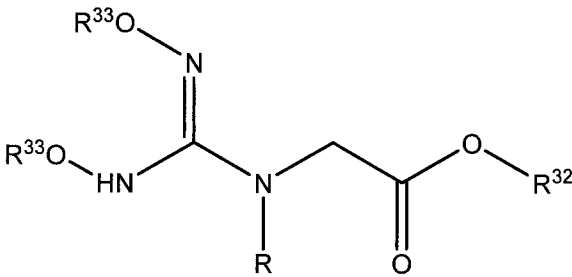
(XXIV)

其中該式(XXV)化合物為：



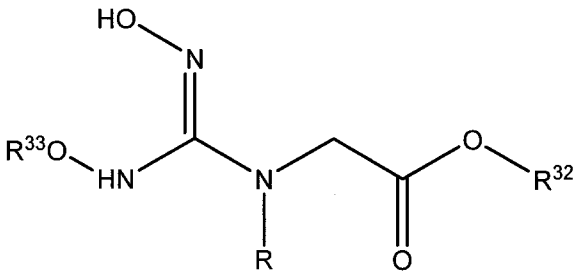
(XXV)

其中該式(XXVI)化合物為：



(XXVI)

其中該式(XXVII)化合物為：



(XXVII)

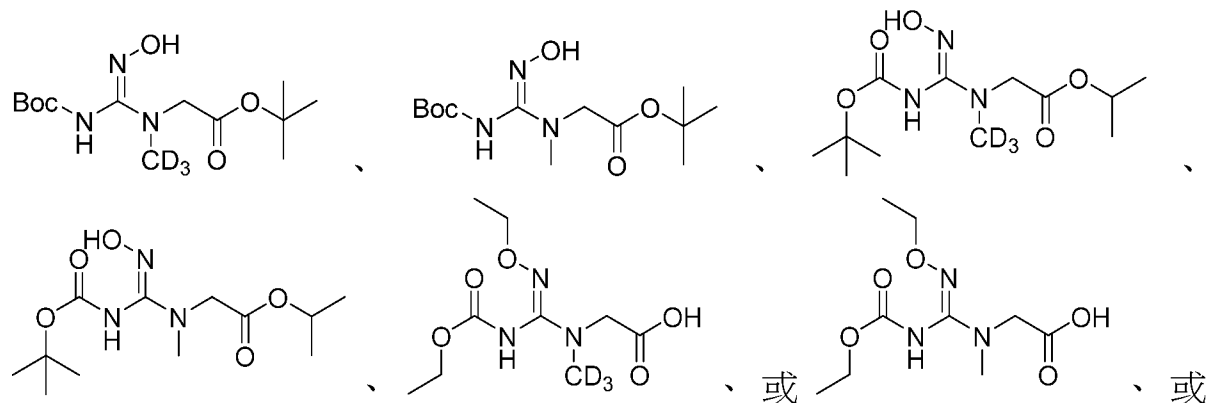
其中 R 為 -CH₃ 或 -CD₃；

R³² 為 氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁

基、或十二烷基；以及

R^{33} 各自獨立地為氫、甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、或十二烷基。

【請求項 8】如請求項 1 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體，其係選自：



其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體。

【請求項 9】一種醫藥組合物，其包含治療有效量之至少一種如請求項 1 至 8 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體及醫藥學上可接受之媒劑。

【請求項 10】如請求項 9 之醫藥組合物，其係呈一或多種持續釋放口服劑型。

【請求項 11】如請求項 9 之醫藥組合物，其中該至少一種化合物係以有效治療患者疾病之量存在，其中該疾病係局部缺血、氧化應激、神經退化性疾病、局部缺血再灌注損傷、心血管疾病、影響肌酸激酶系統之遺傳疾病、多發性硬化症、精神障礙及肌肉疲勞；以足以實現受疾病影響之組織或器官中能量平衡之量存在；以有效增強患者肌肉強度之量存在；以有效改良組織或器官存活力之量存

在；或以有效改良細胞存活力之量存在。

【請求項 12】如請求項 9 之醫藥組合物，其中該至少一種化合物係以有效治療影響該肌酸激酶系統之遺傳疾病之量存在。

【請求項 13】如請求項 9 之醫藥組合物，其中該至少一種化合物係以有效治療肌酸轉運體障礙之量存在。

【請求項 14】如請求項 9 項之醫藥組合物，其中該至少一種化合物係以有效治療肌酸合成障礙之量存在。

【請求項 15】一種至少一種如請求項 1 至 8 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體於製造在有需要之患者中治療局部缺血、氧化應激、神經退化性疾病、局部缺血再灌注損傷、心血管疾病、影響肌酸激酶系統之遺傳疾病、多發性硬化症、精神障礙或肌肉疲勞的醫藥組合物之用途。

【請求項 16】如請求項 15 之用途，其中該影響肌酸激酶系統之遺傳疾病為肌酸轉運體障礙或肌酸合成障礙。

【請求項 17】一種至少一種如請求項 1 至 8 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體於製造在有需要之患者中治療影響肌酸激酶系統之遺傳疾病的醫藥組合物之用途。

【請求項 18】一種至少一種如請求項 1 至 8 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體於製造在有需要之患者中治療肌酸轉運體障礙的醫藥組合物之用途。

【請求項 19】一種至少一種如請求項 1 至 8 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體於製造在有需要之患者中治療肌酸合成障礙的醫藥組合物之用途。

【請求項 20】一種至少一種如請求項 1 至 8 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體於製造增強有需要之患者肌肉強度的醫藥組合物之用途。

【請求項 21】一種至少一種如請求項 1 至 8 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體於製造改良細胞存活力的醫藥組合物之用途。

【請求項 22】一種至少一種如請求項 1 至 8 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體於製造改良組織或器官存活力的醫藥組合物之用途。

【請求項 23】一種至少一種如請求項 1 至 8 之式 (VI) 化合物、或其醫藥學上可接受之鹽、互變異構體或立體異構體於製造實現組織或器官中之能量平衡的醫藥組合物之用途。