(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113383005 A
(43)申请公布日 2021.09.10

(21)申请号 201980083870.0
(22)申请日 2019.11.19
(30)优先权数据
62/781,156 2018.12.18 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.06.17
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/062284 2019.11.19
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/131283 EN 2020.06.25
(71)申请人 隐形生物治疗公司
地址 摩纳哥摩纳哥市
(72)发明人 G·郑 M·J·巴姆伯格
I·斯穆克斯特
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 李进 初明明
(51)Int.Cl.
*C07K 5/10*(2006.01)
*C07K 5/11*(2006.01)
*A61P 9/10*(2006.01)
*A61K 38/00*(2006.01)

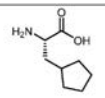
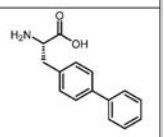
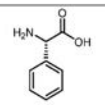
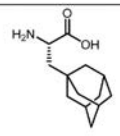
权利要求书25页 说明书48页 附图2页

(54)发明名称

靶向线粒体疾病的类似物

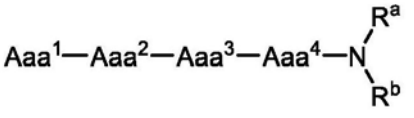
(57)摘要

公开了依拉瑞肽(MTP-131)的类似物。化合物用于治疗和预防缺血-再灌注损伤(例如,心脏缺血-再灌注损伤)或心肌梗塞。

| CAS号 | 供应商(目录号)或文献引用 | 结构 |
|---|---|---|
| 96539-87-6 | Aldrich (38473) |  |
| 155760-02-4 | QM Bio (8253011) |  |
| 2935-35-5 | Alfa Aesar (30314) |  |
| 95975-81-8 | Do, 等人Helvetica,1979, 第62卷, 第4期, 956-964. |  |

CN 113383005 A

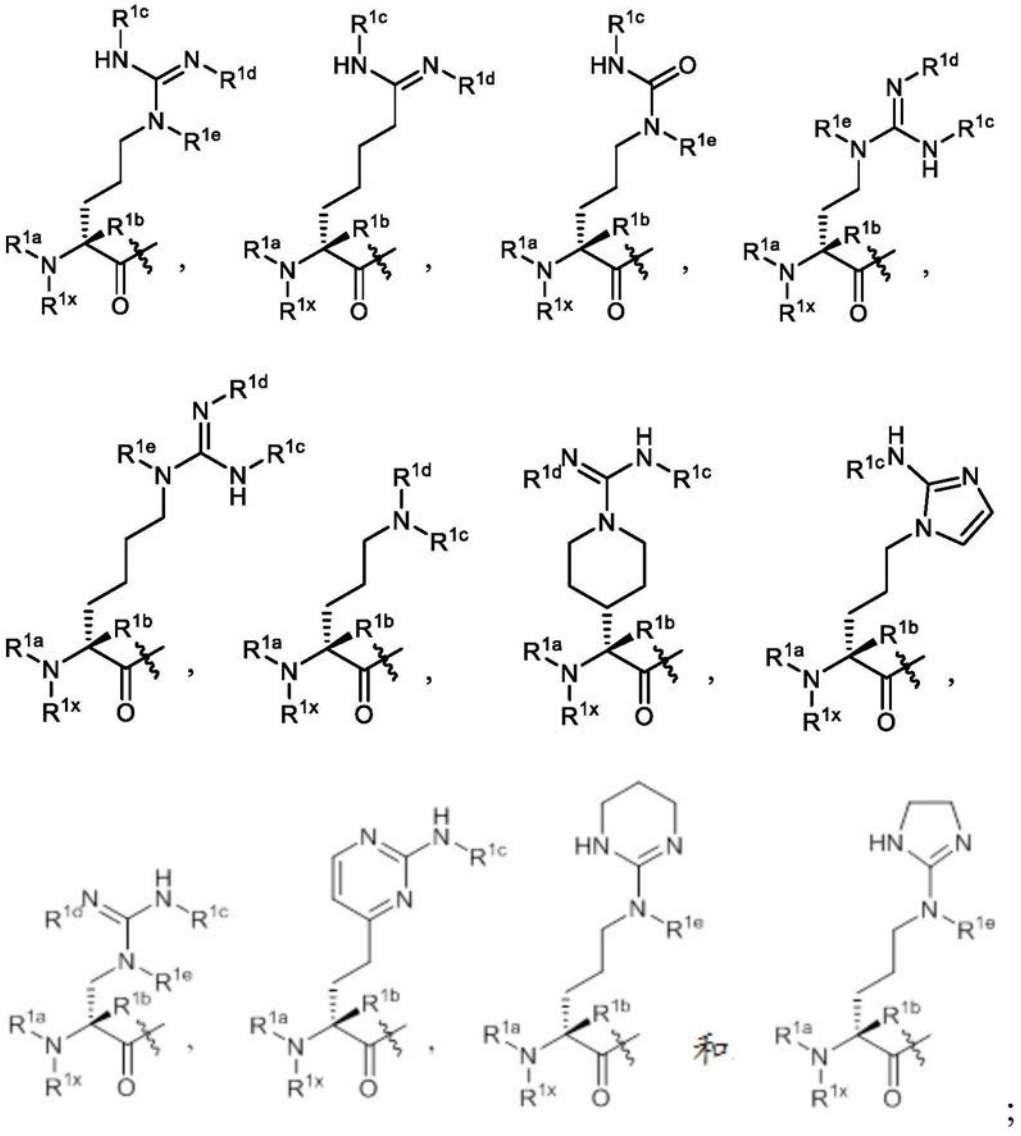
1.一种式(I)化合物,或其药学上可接受的盐:



(I);

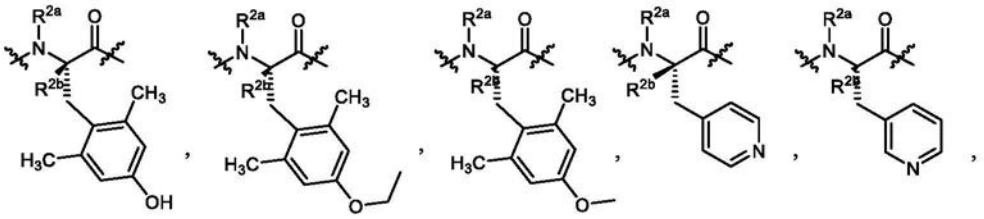
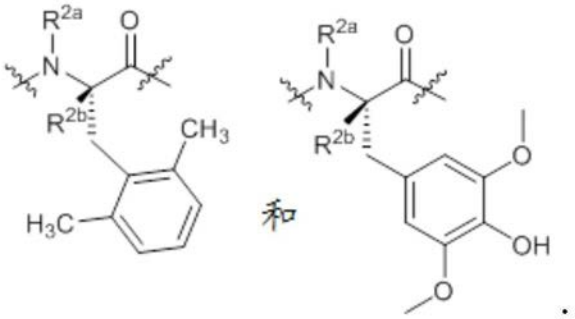
其中:

$Aaa^1$是选自由以下组成的组的氨基酸残基:



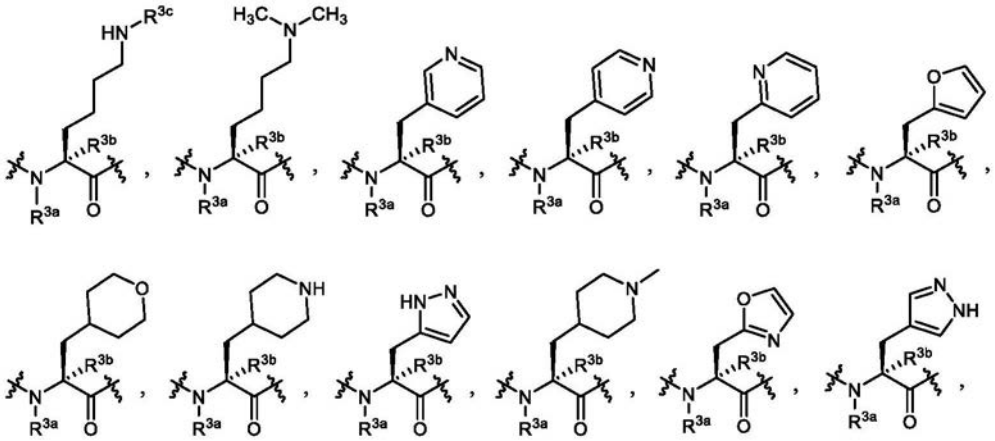
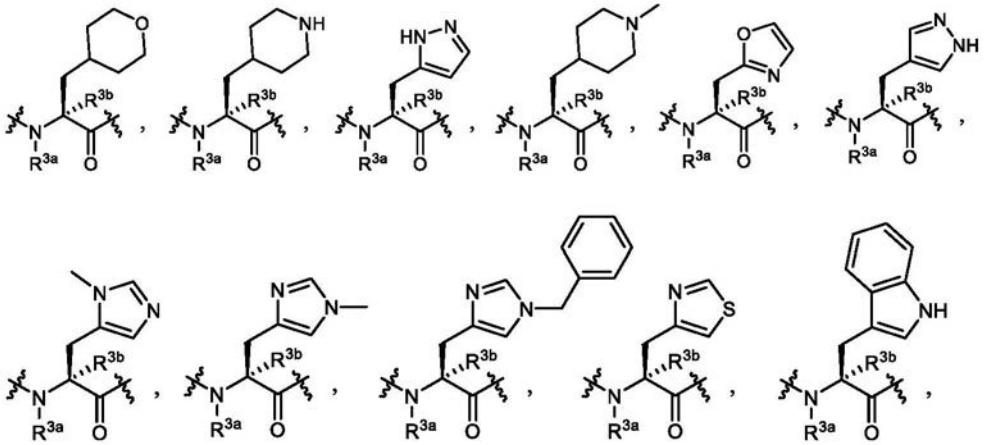
;

$Aaa^2$是选自由以下组成的组的氨基酸残基:

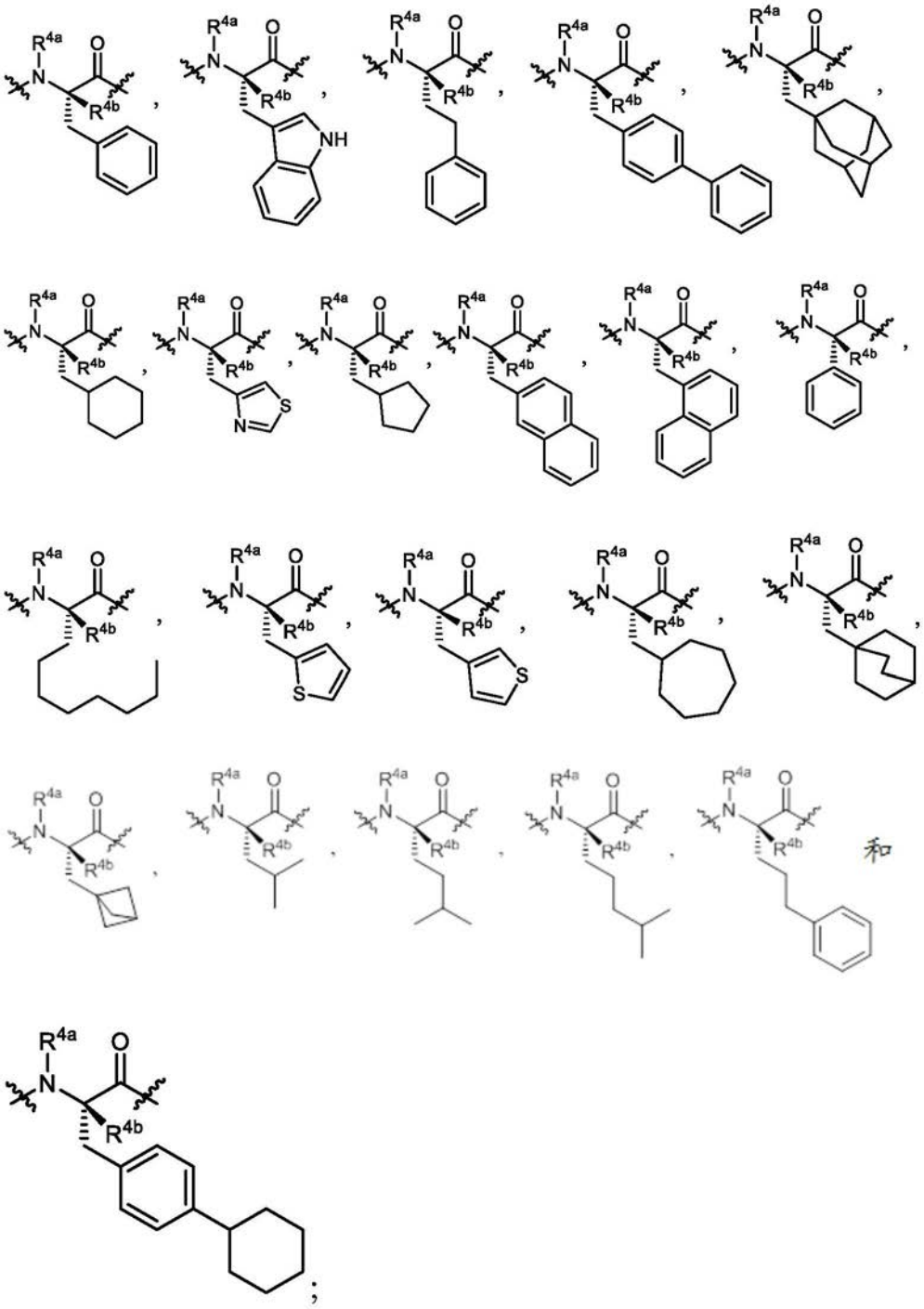
;

$Aaa^3$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：


;

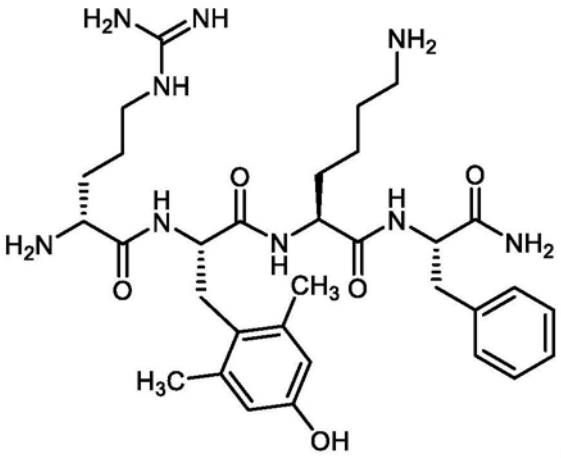
$Aaa^4$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：



$R^{1a}$、$R^{1b}$、$R^{1e}$、$R^{1x}$、$R^{2a}$、$R^{2b}$、$R^{3a}$、$R^{3b}$、$R^{3c}$、$R^{4a}$和$R^{4b}$各自独立地选自由以下组成的组:H、甲基、乙基、丙基、环丙基、环丁基和$(C_1-C_6)$烷基;或者$R^{1a}$和$R^{1x}$与它们所连接的N原子一起形成4-6元杂环基;并且

$R^a$、$R^b$、$R^{1c}$和$R^{1d}$各自独立地选自由以下组成的组:H、甲基、乙基、丙基、环丙基、环丁基、$(C_1-C_6)$烷基、C(O)($(C_1-C_6)$烷基)、C(O)($(C_1-C_6)$卤代烷基)、C(O)O($(C_1-C_6)$烷基)和C(O)O(芳基$(C_1-C_6)$烷基);或者$R^a$和$R^b$与它们所连接的N原子一起形成4-6元杂环基;

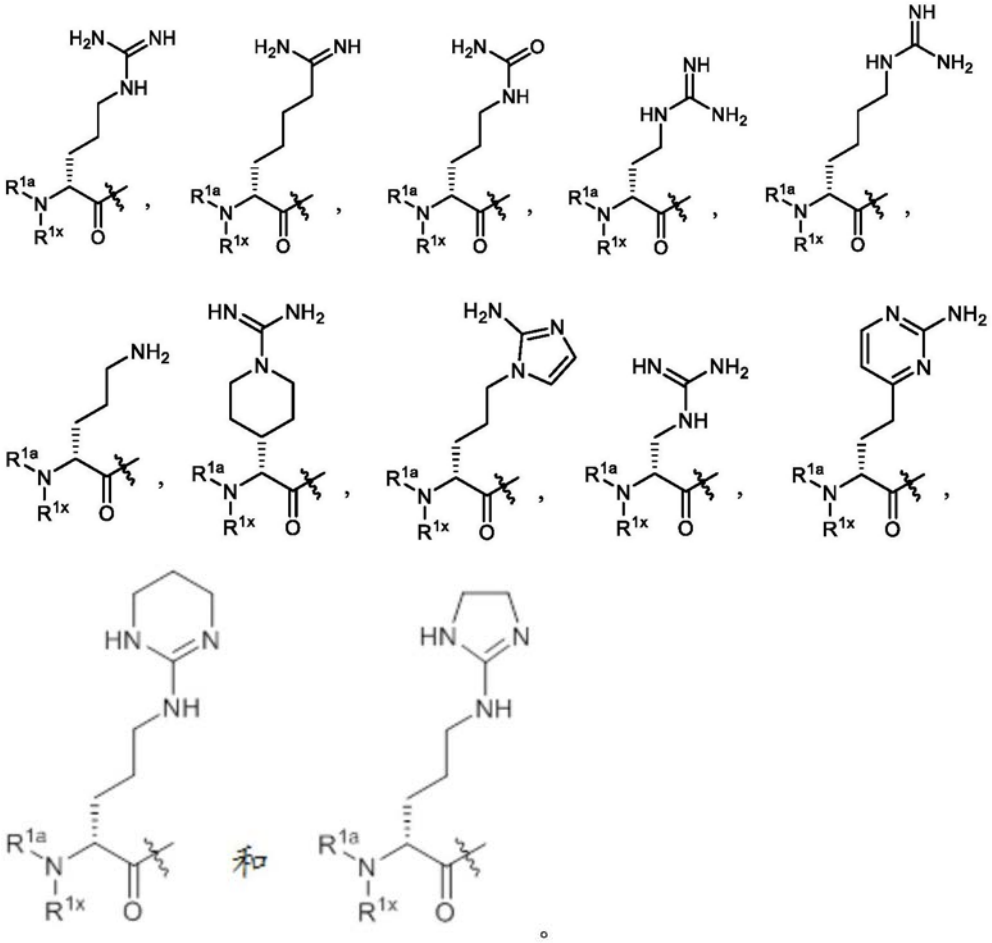
前提是所述式(I)化合物不是



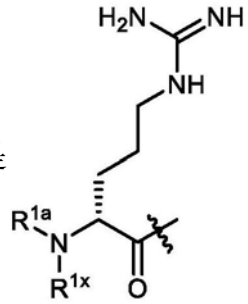
。

2.如权利要求1所述的化合物，其中$R^{1a}$和$R^{1x}$独立地是H、甲基、乙基、丙基、环丙基或环丁基；或者$R^{1a}$和$R^{1x}$与它们所连接的N原子一起形成4-6元杂环基。

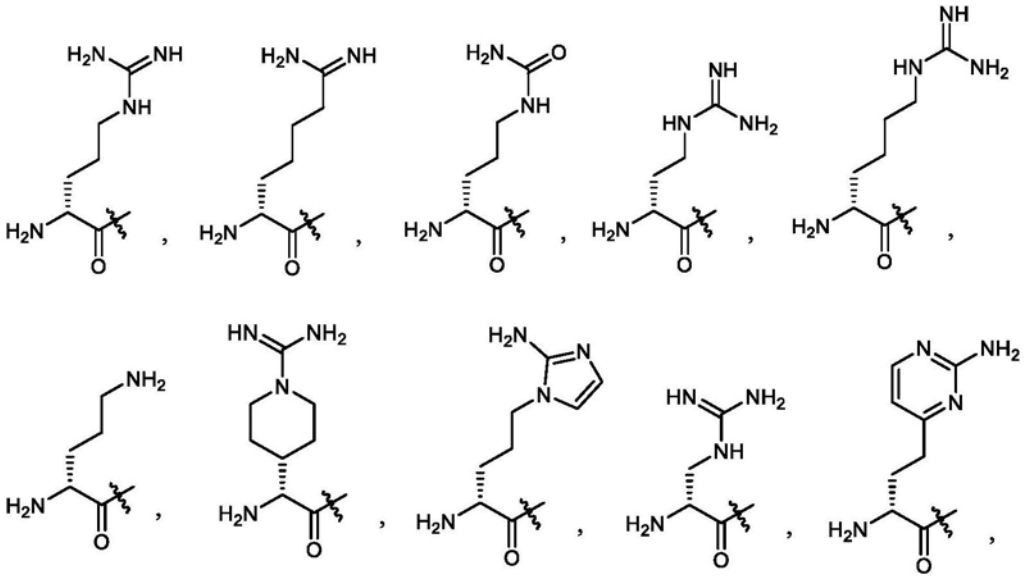
3.如权利要求1或2所述的化合物，其中$Aaa^1$选自由以下组成的组：

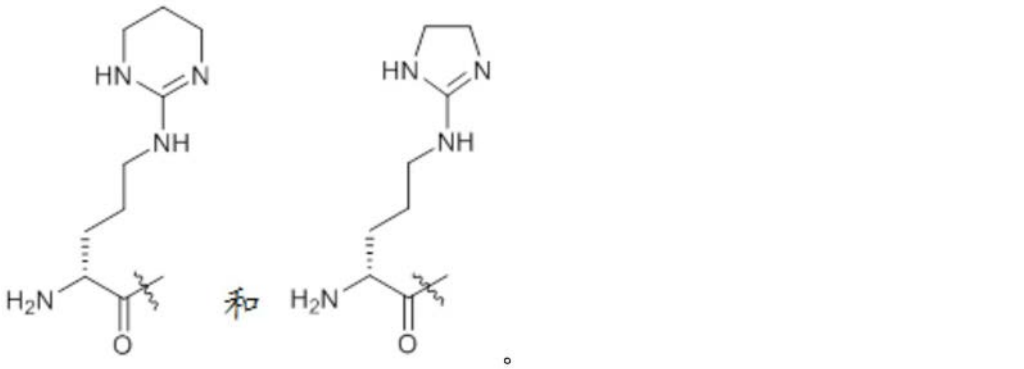


。

4.如权利要求1-3中任一项所述的化合物,其中$Aaa^1$是。

5.如权利要求1或2所述的化合物,其中$Aaa^1$是选自由以下组成的组的氨基酸残基:

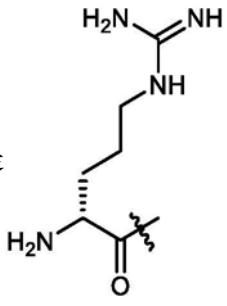




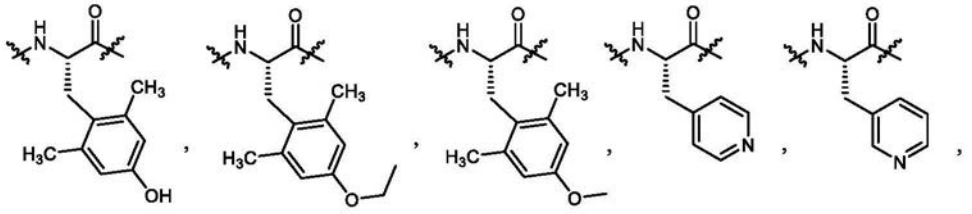


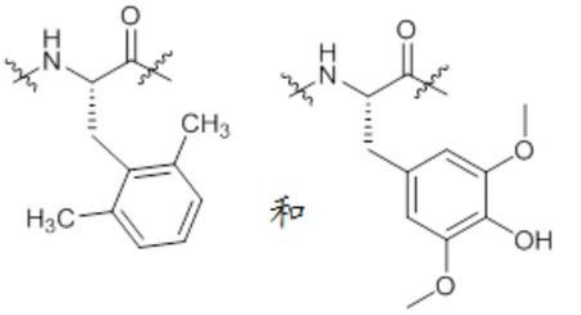
和

。

6.如权利要求5所述的化合物,其中$Aaa^1$是。

7.如权利要求1-6中任一项所述的化合物,其中$Aaa^2$选自由以下组成的组:



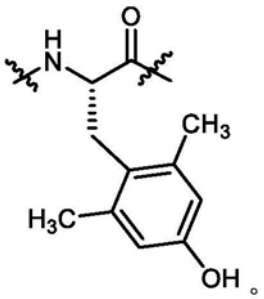


和



。

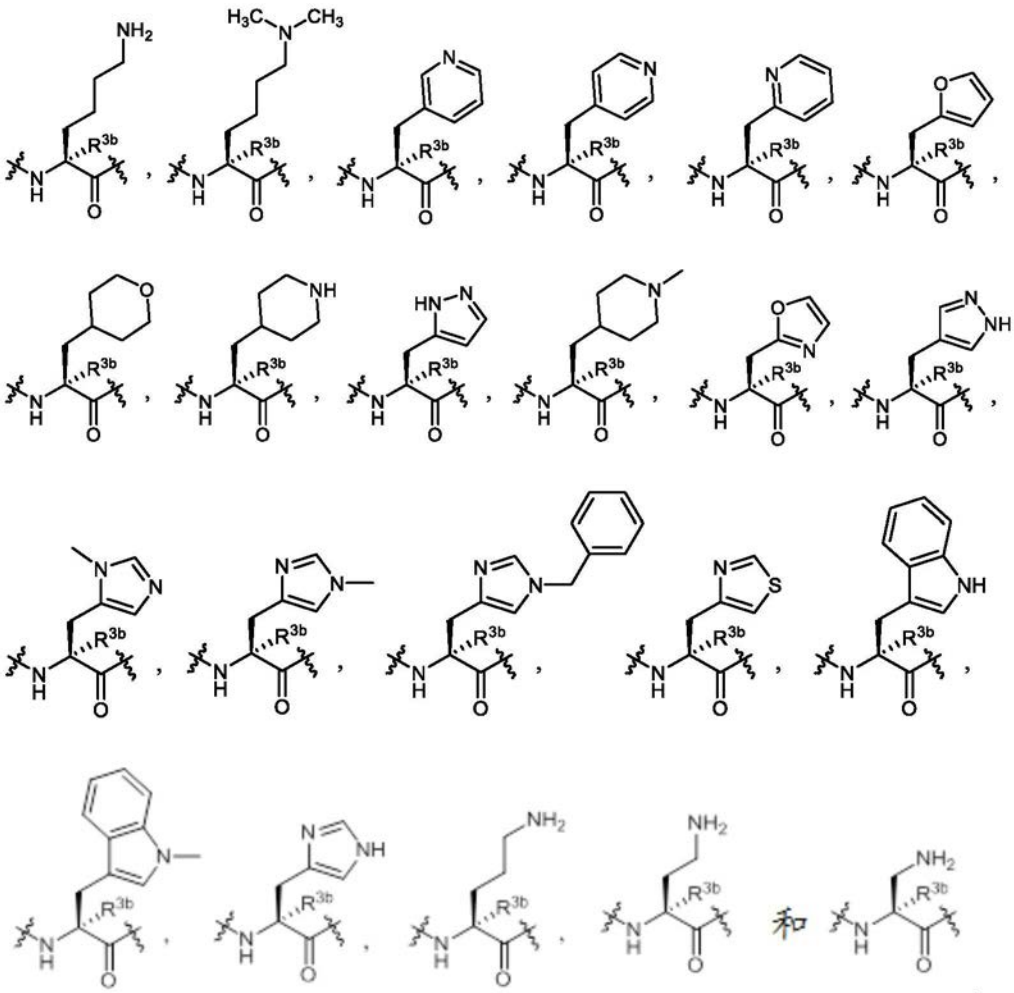
8.如权利要求1-7中任一项所述的化合物,其中$Aaa^2$是



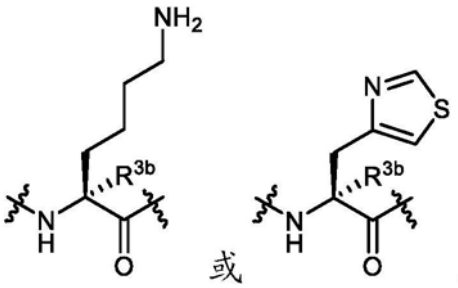
。

9.如权利要求1-8中任一项所述的化合物,其中$R^{3b}$是H或甲基。

10.如权利要求1-9中任一项所述的化合物,其中$Aaa^3$选自由以下组成的组:



11.如权利要求1-10中任一项所述的化合物,其中$Aaa^3$是

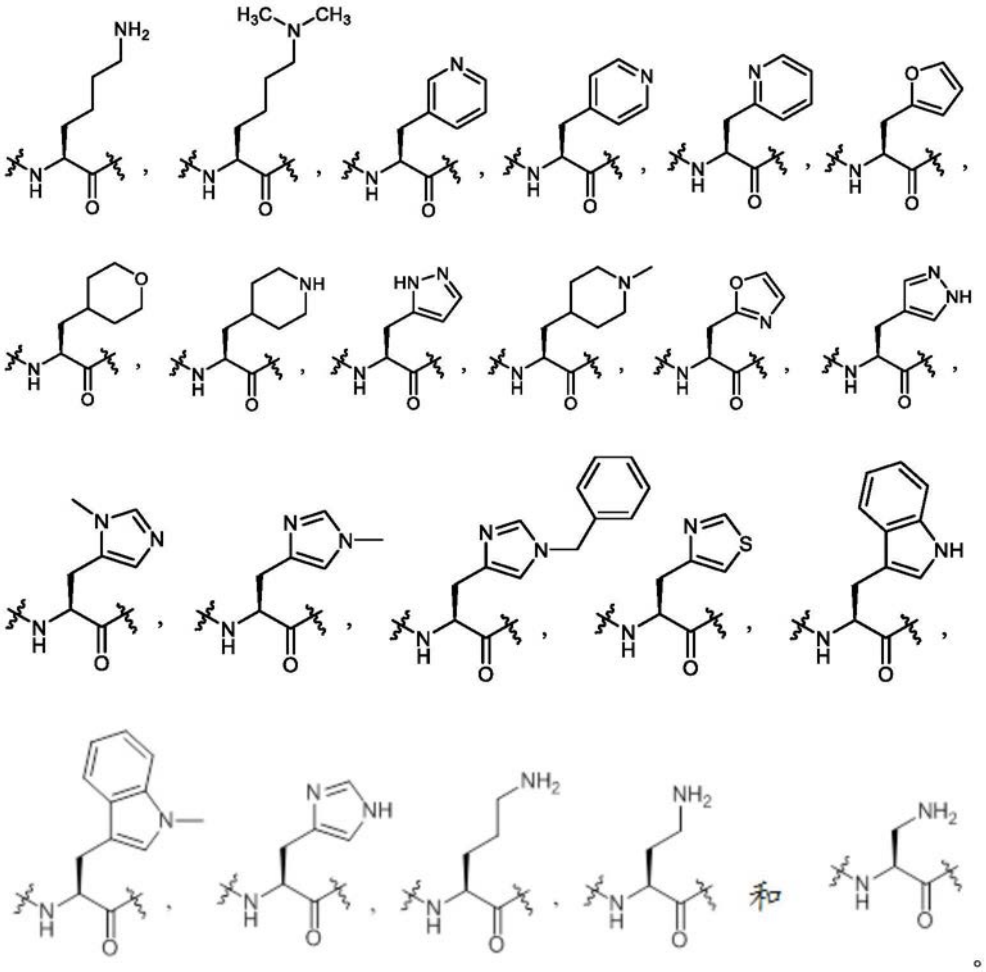


或

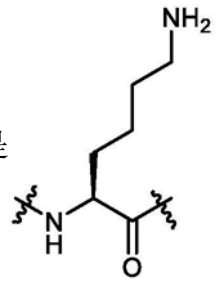


。

12.如权利要求1-9中任一项所述的化合物,其中$Aaa^3$选自由以下组成的组:



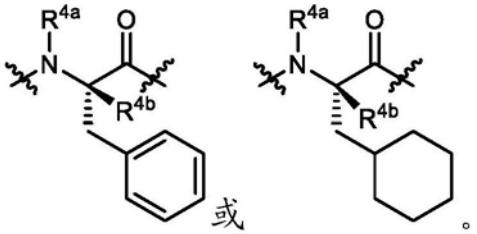
13.如权利要求12所述的化合物,其中$Aaa^3$是



。

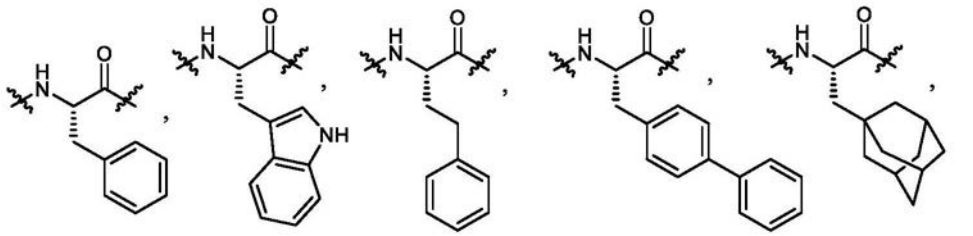
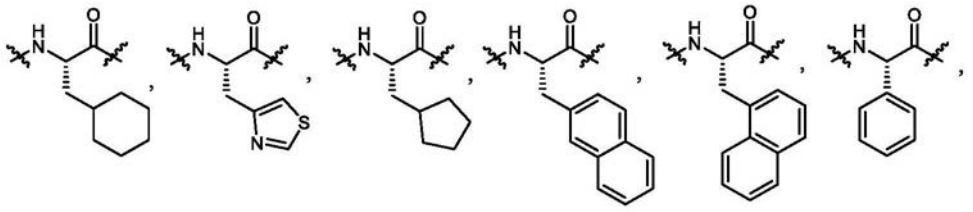
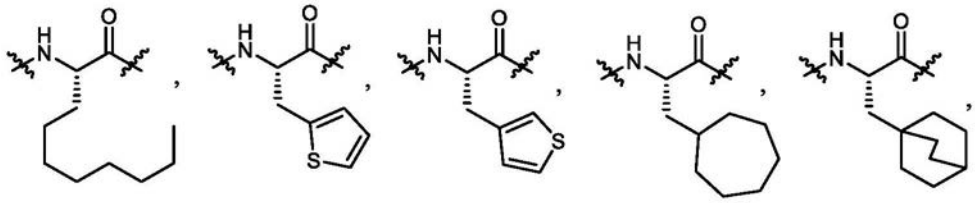
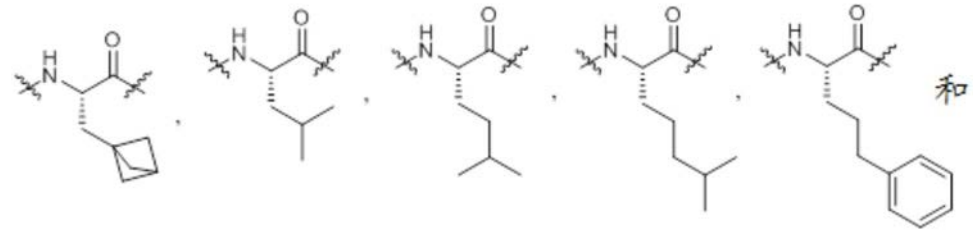
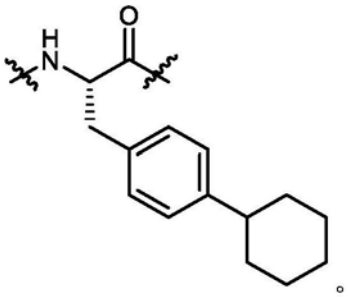
14.如权利要求1-13中任一项所述的化合物,其中$R^{4a}$和$R^{4b}$各自独立地是H或甲基。

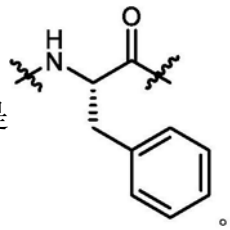
15.如权利要求1-14中任一项所述的化合物,其中$Aaa^4$是



。

16.如权利要求1-13中任一项所述的化合物,其中$Aaa^4$选自由以下组成的组:

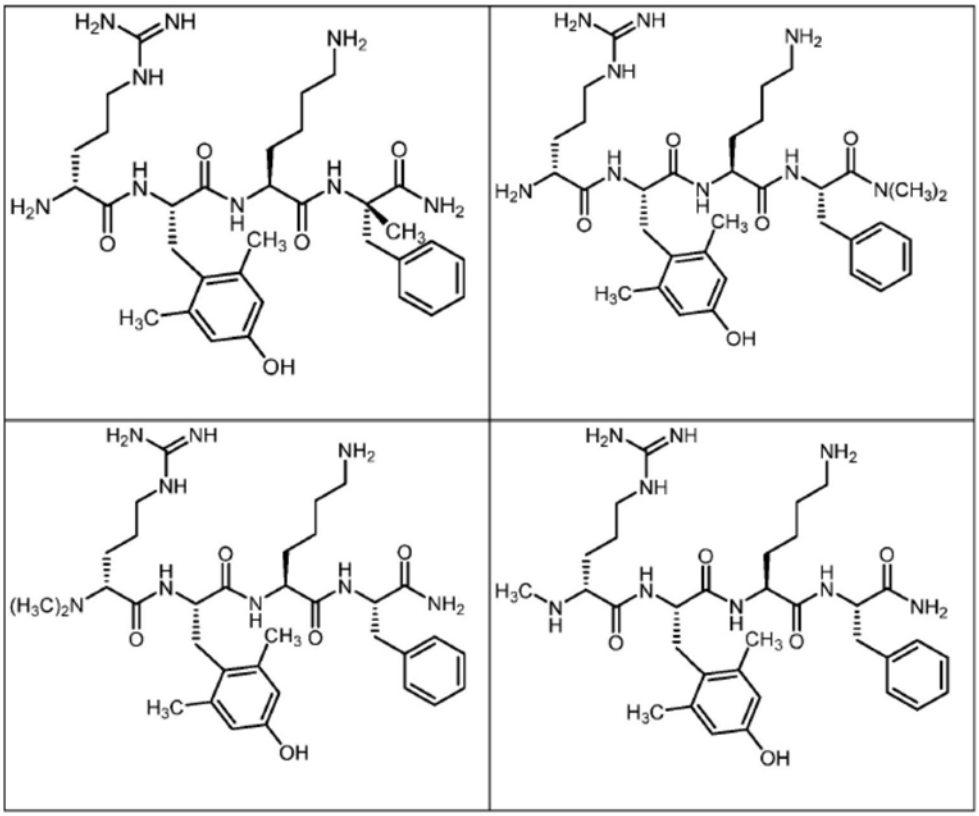






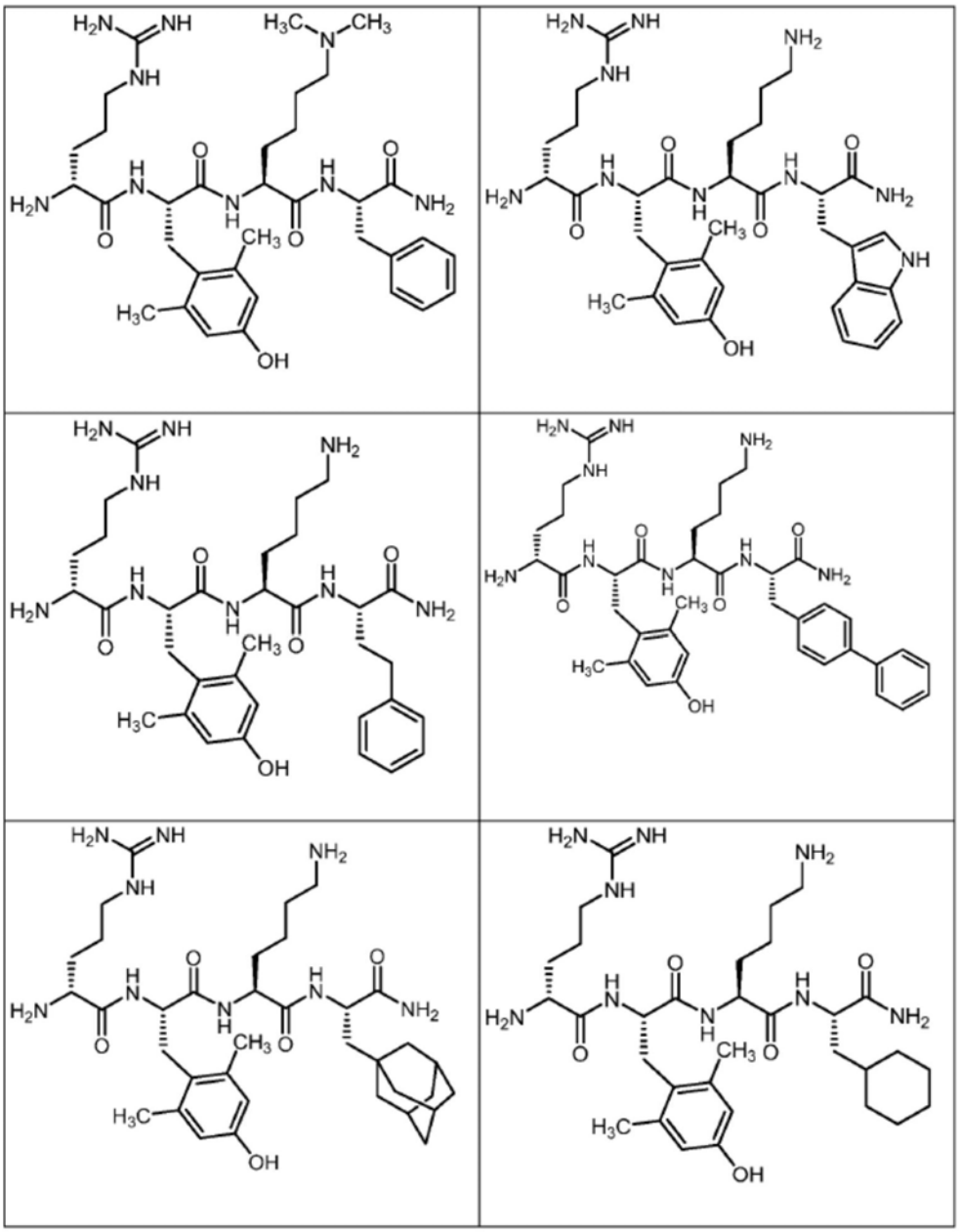
17.如权利要求16所述的化合物,其中$Aaa^4$是。

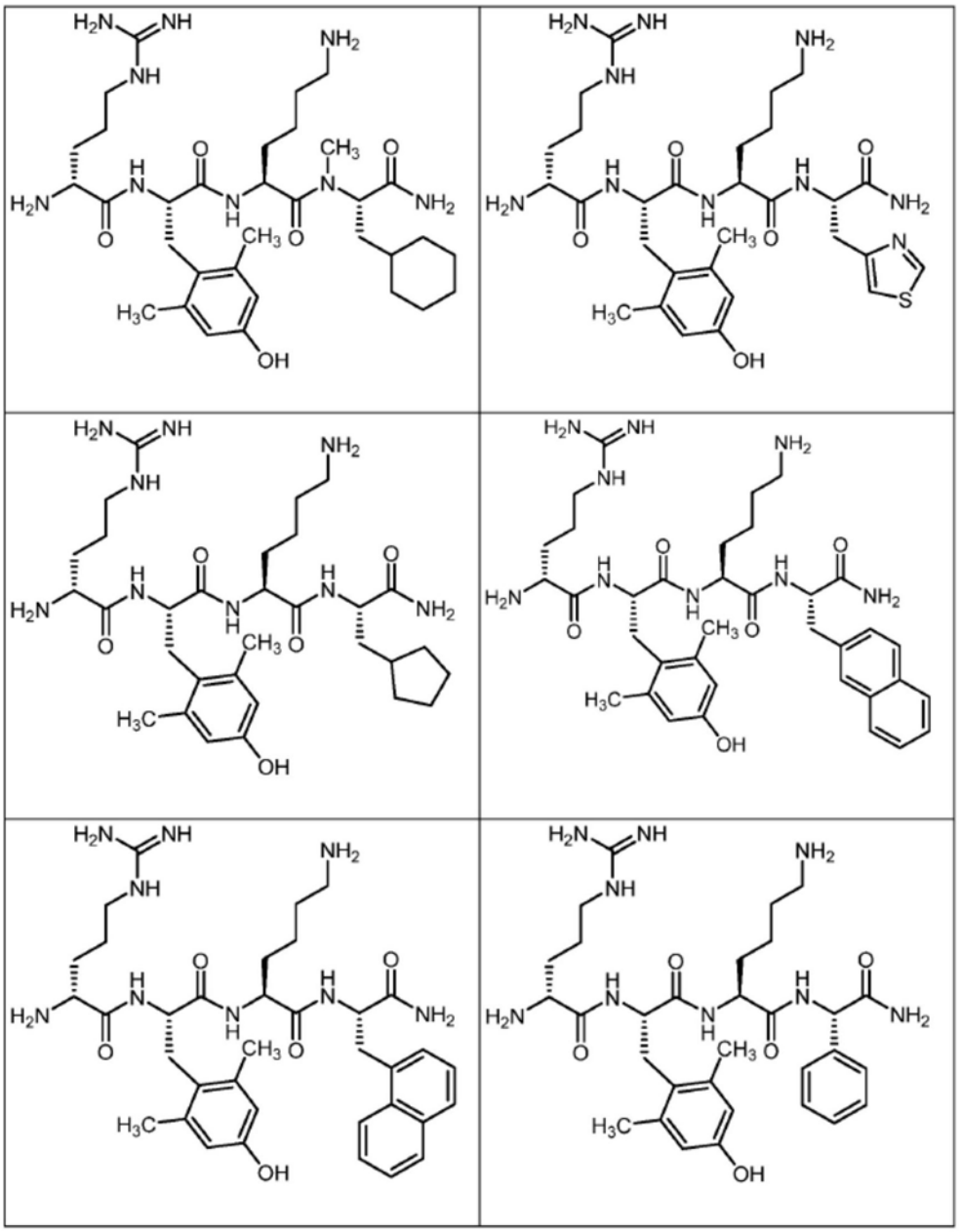
18.如权利要求1-17中任一项所述的化合物,其中$R^a$和$R^b$各自独立地是H或甲基。

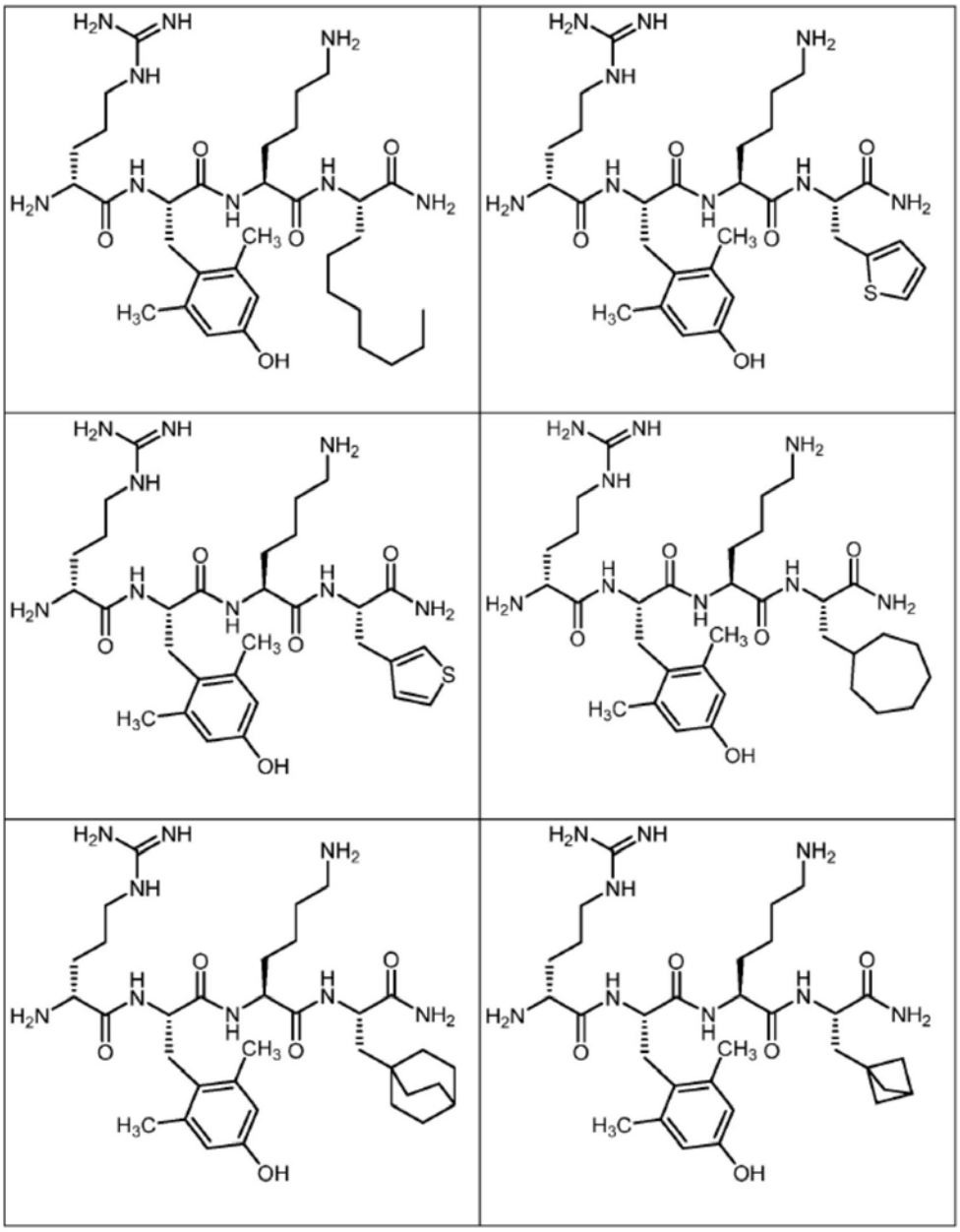
19.如权利要求18所述的化合物,其中$R^a$和$R^b$各自是H。

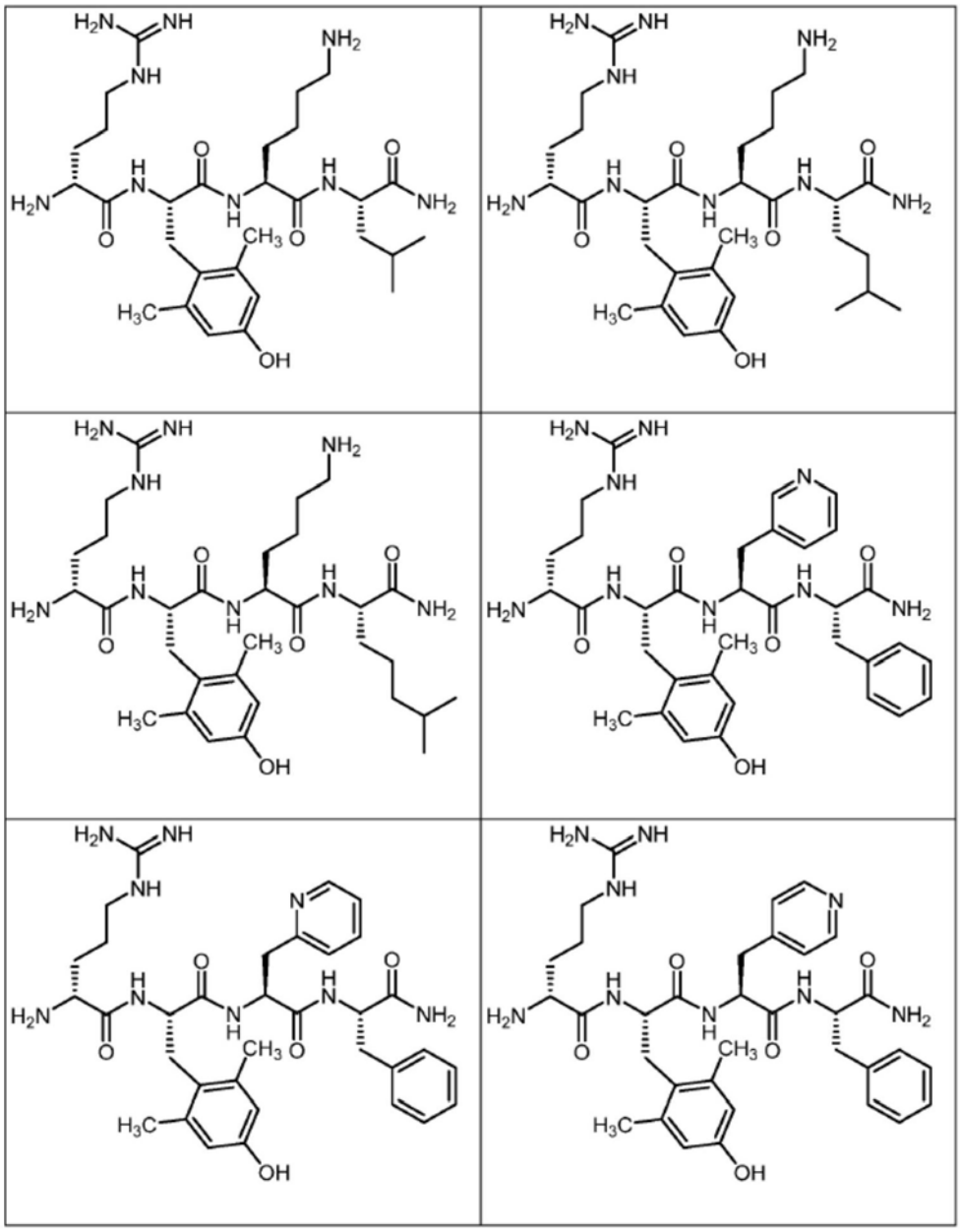
20.如权利要求1所述的化合物,所述化合物选自下表:

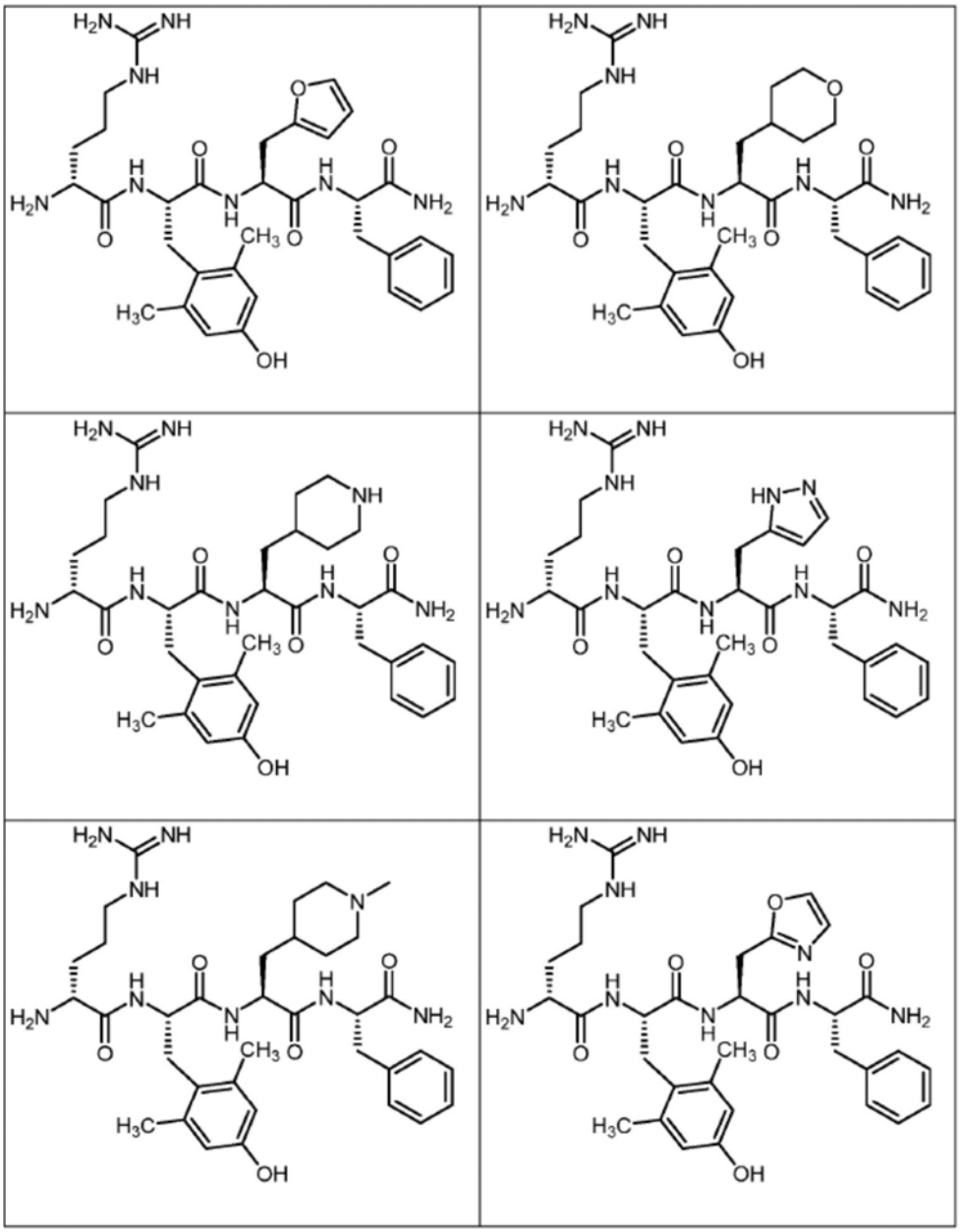


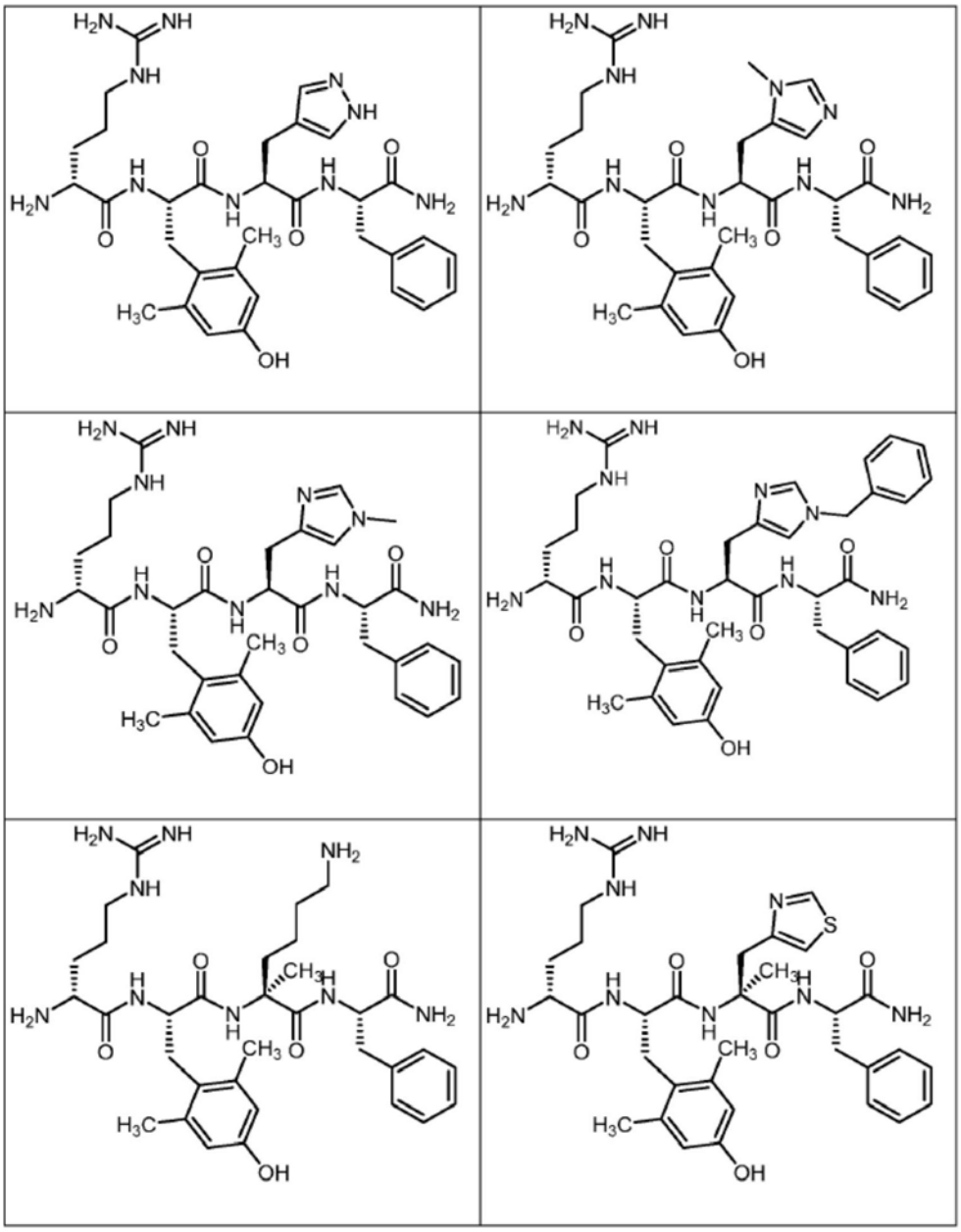


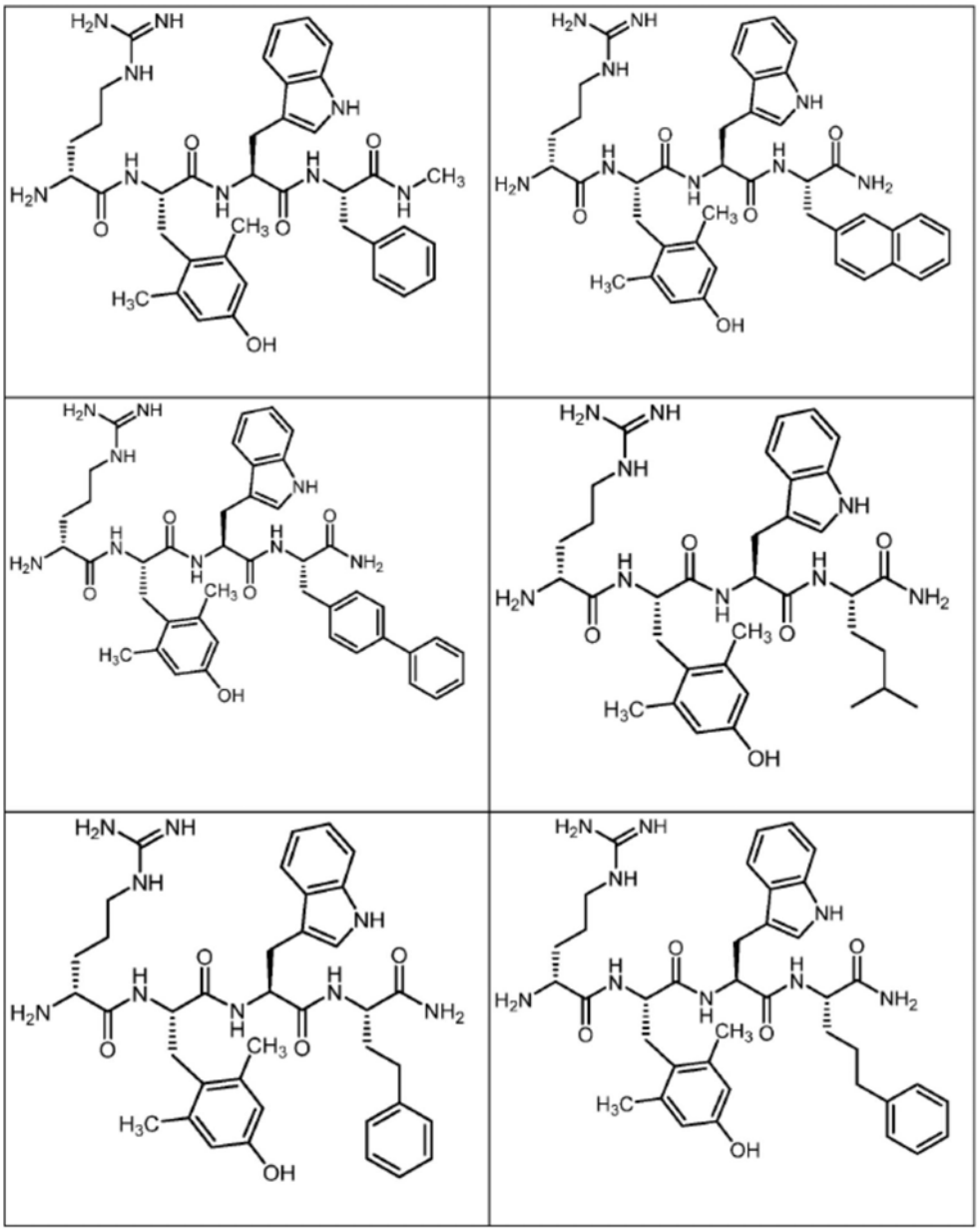


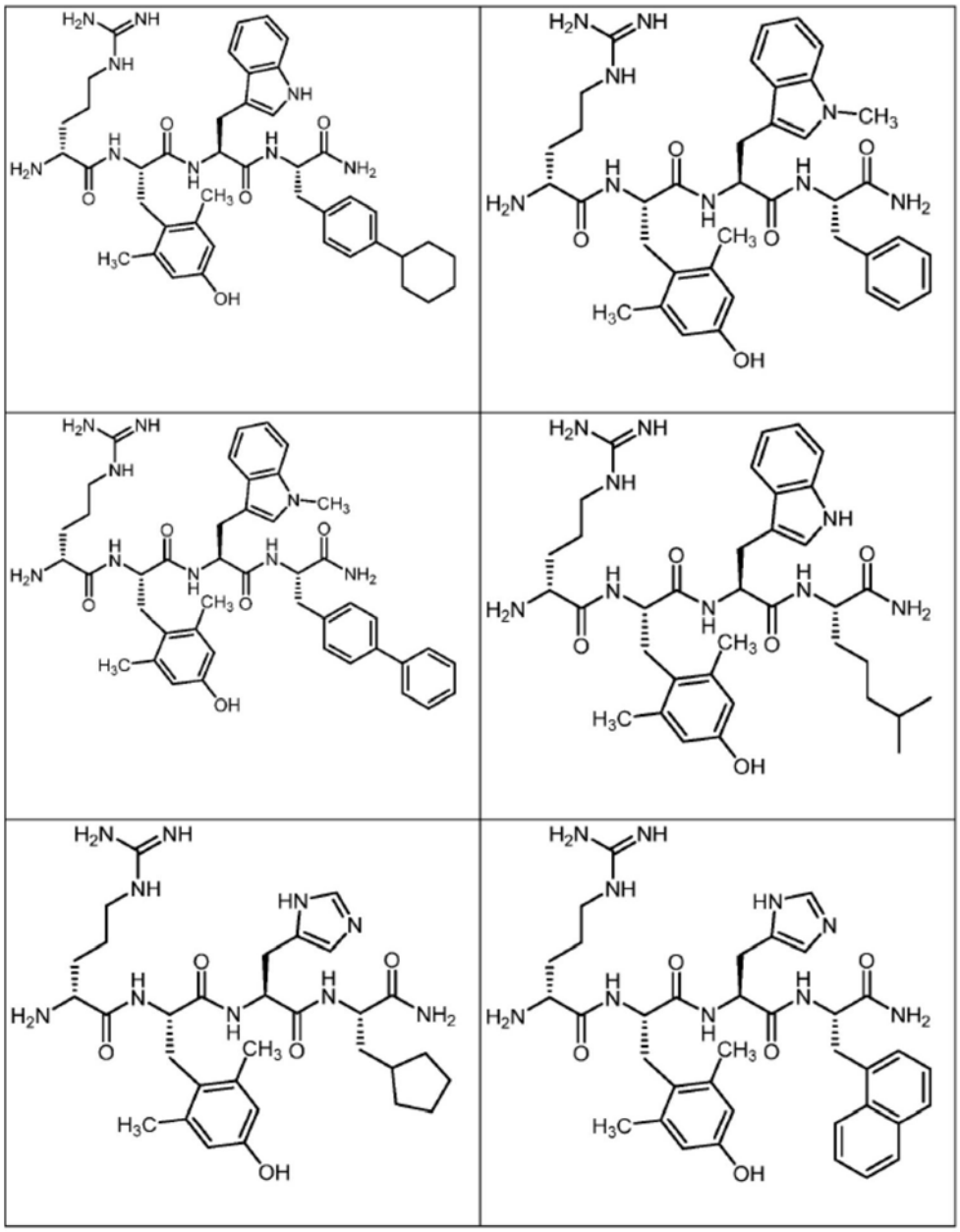


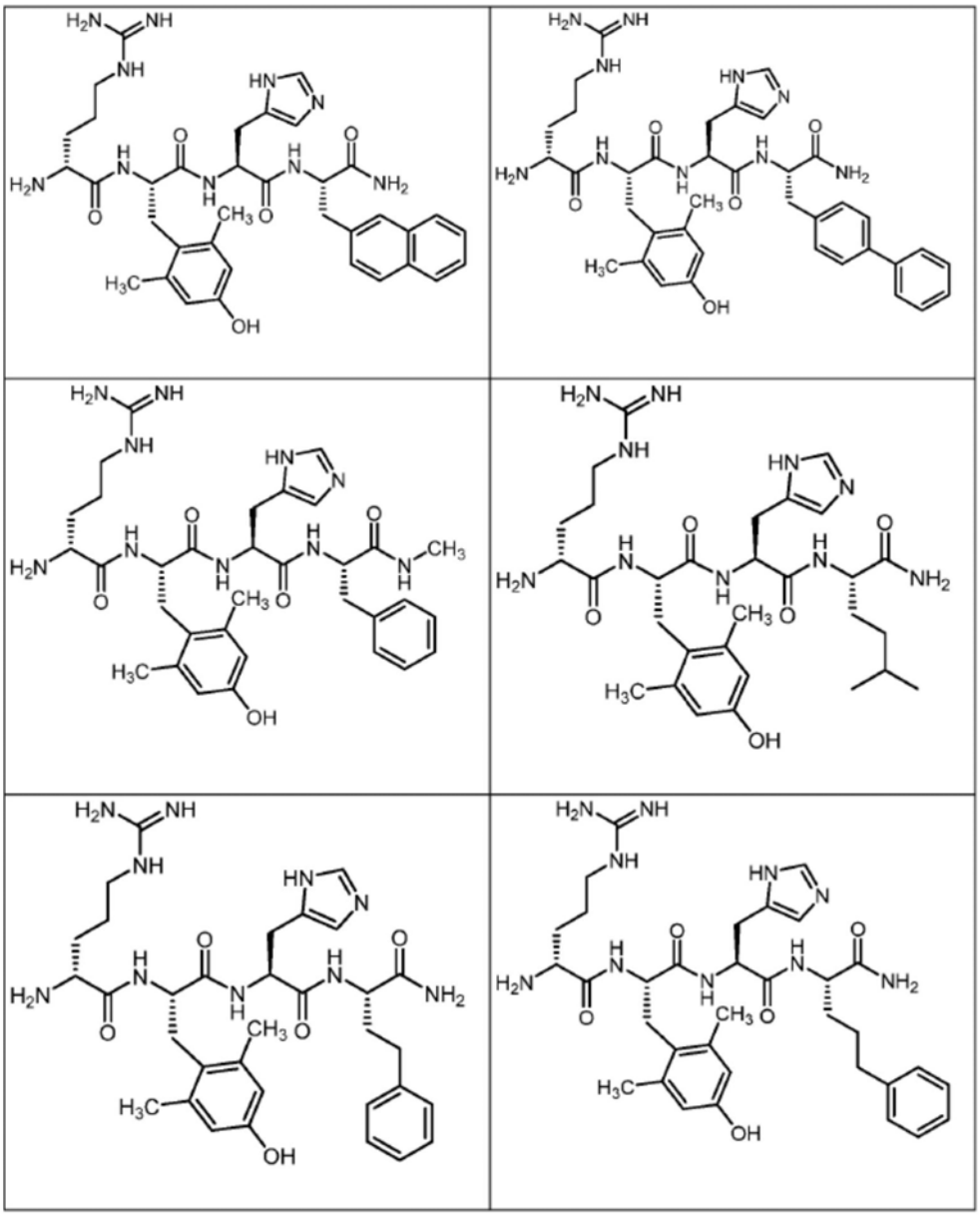


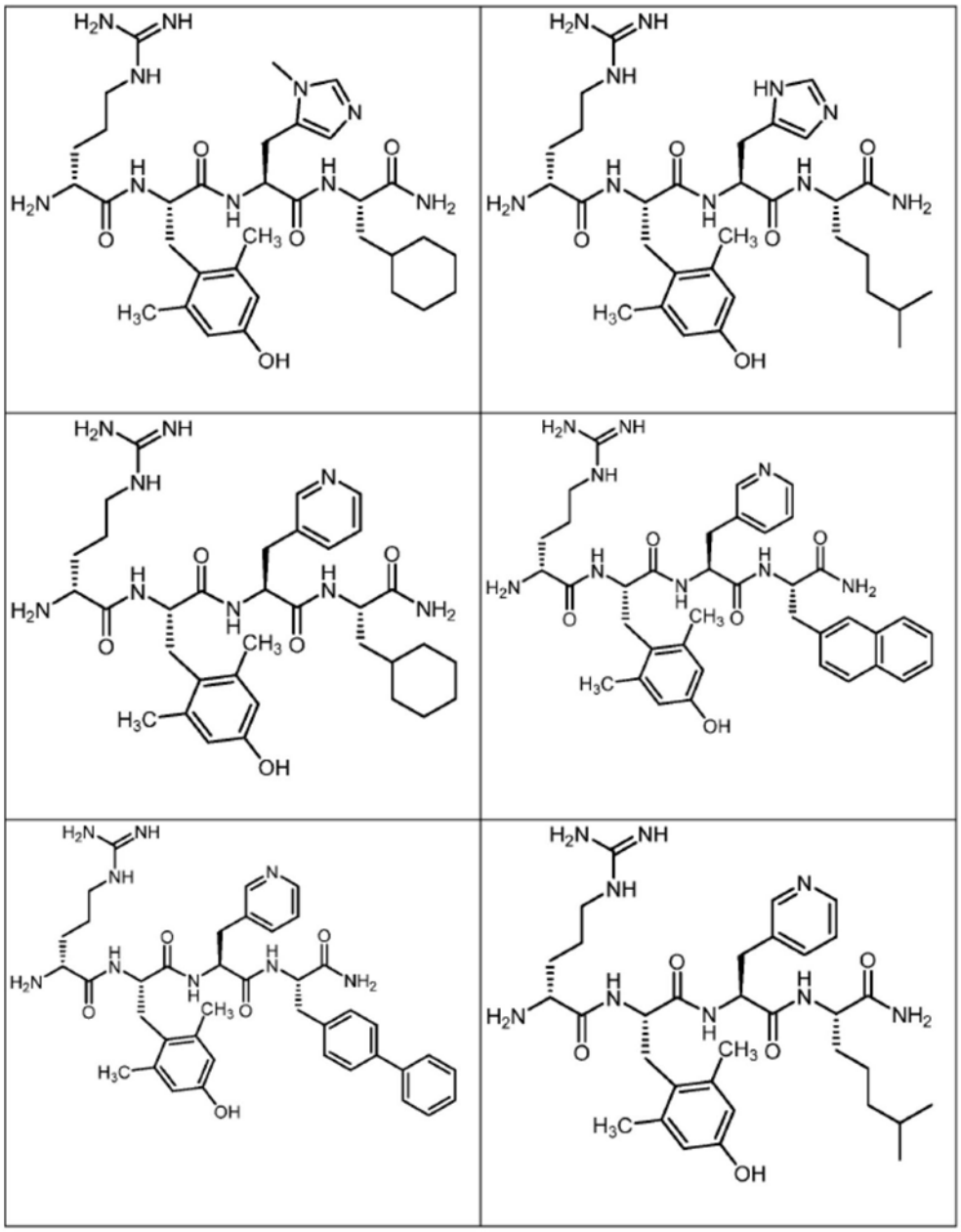


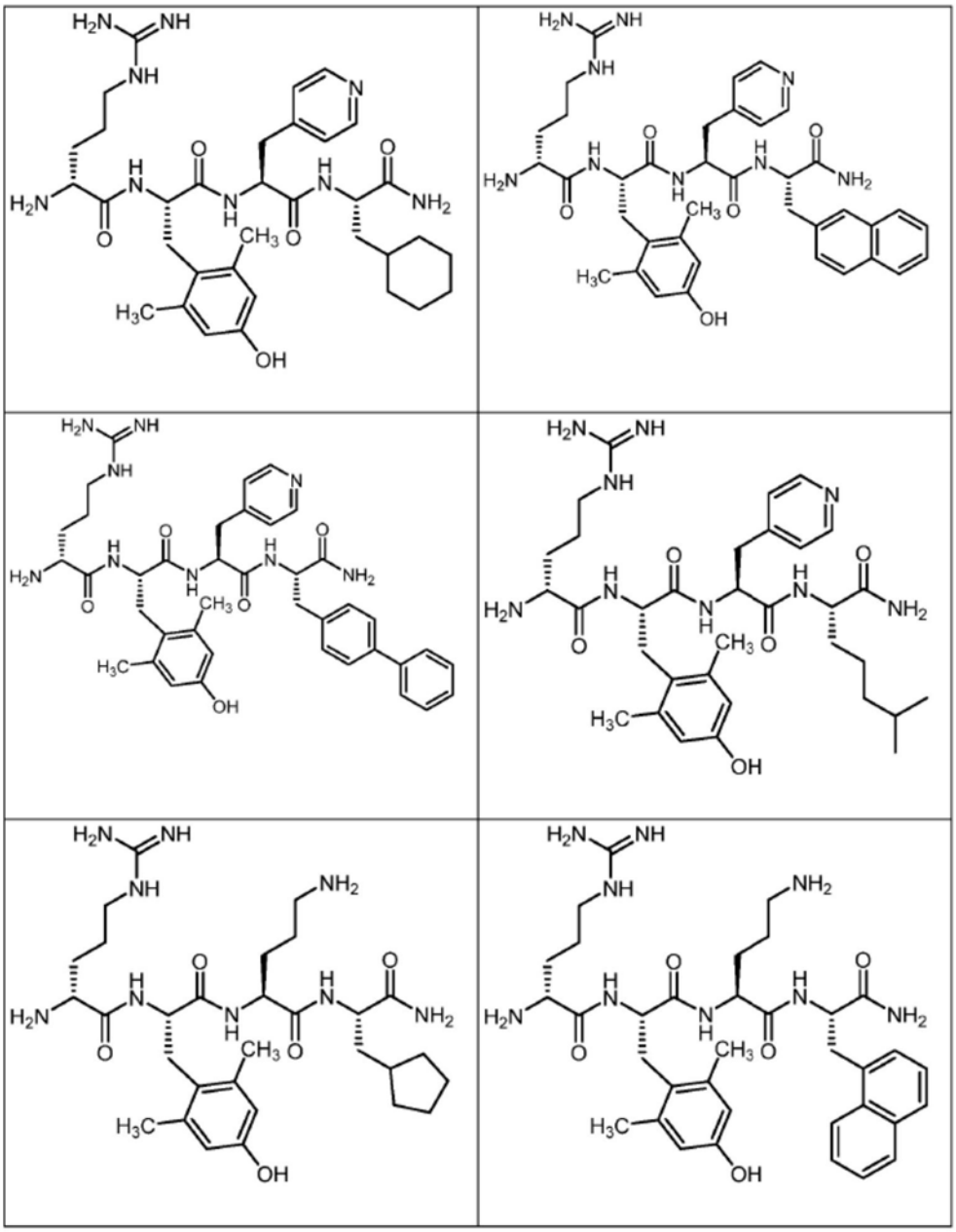


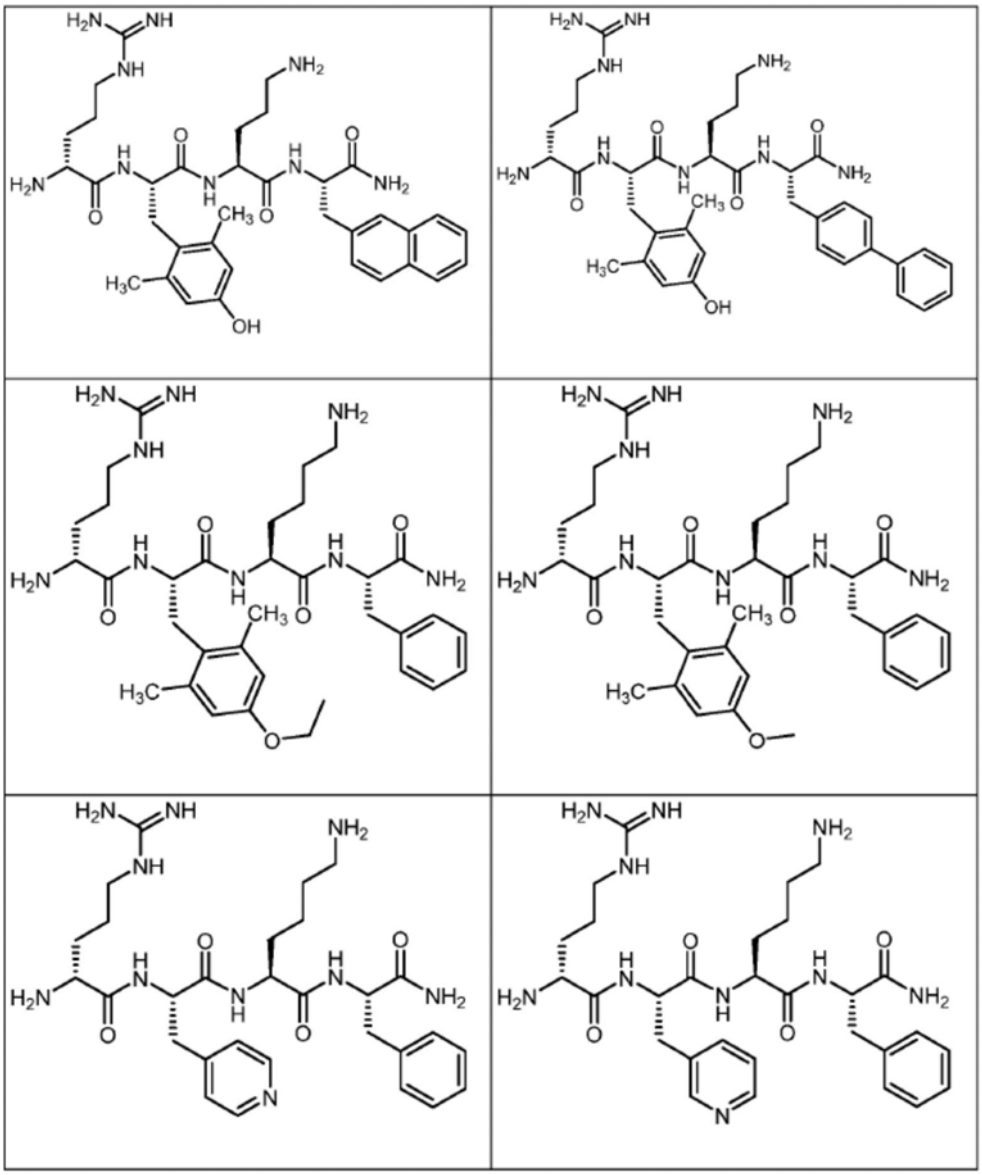


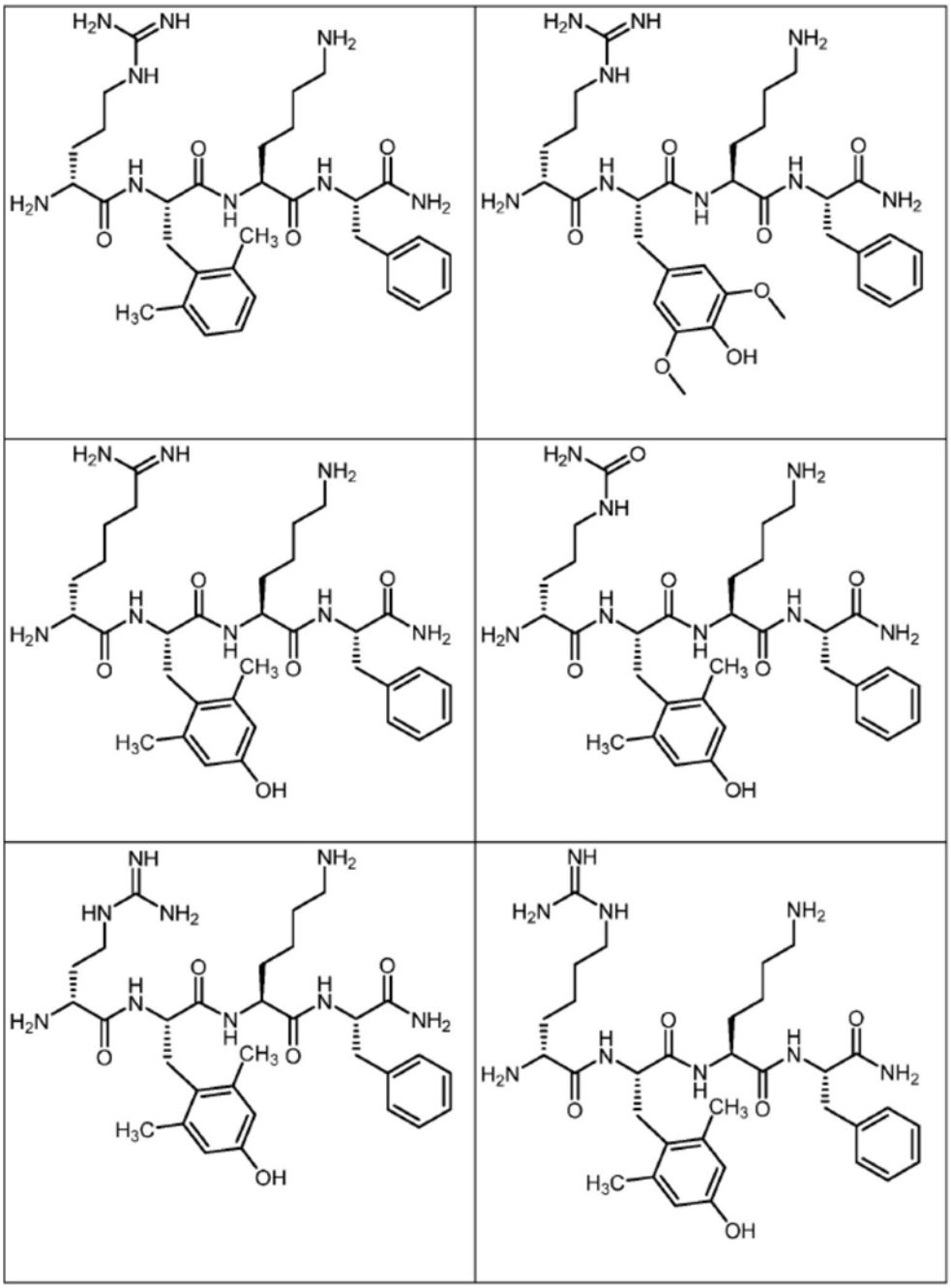


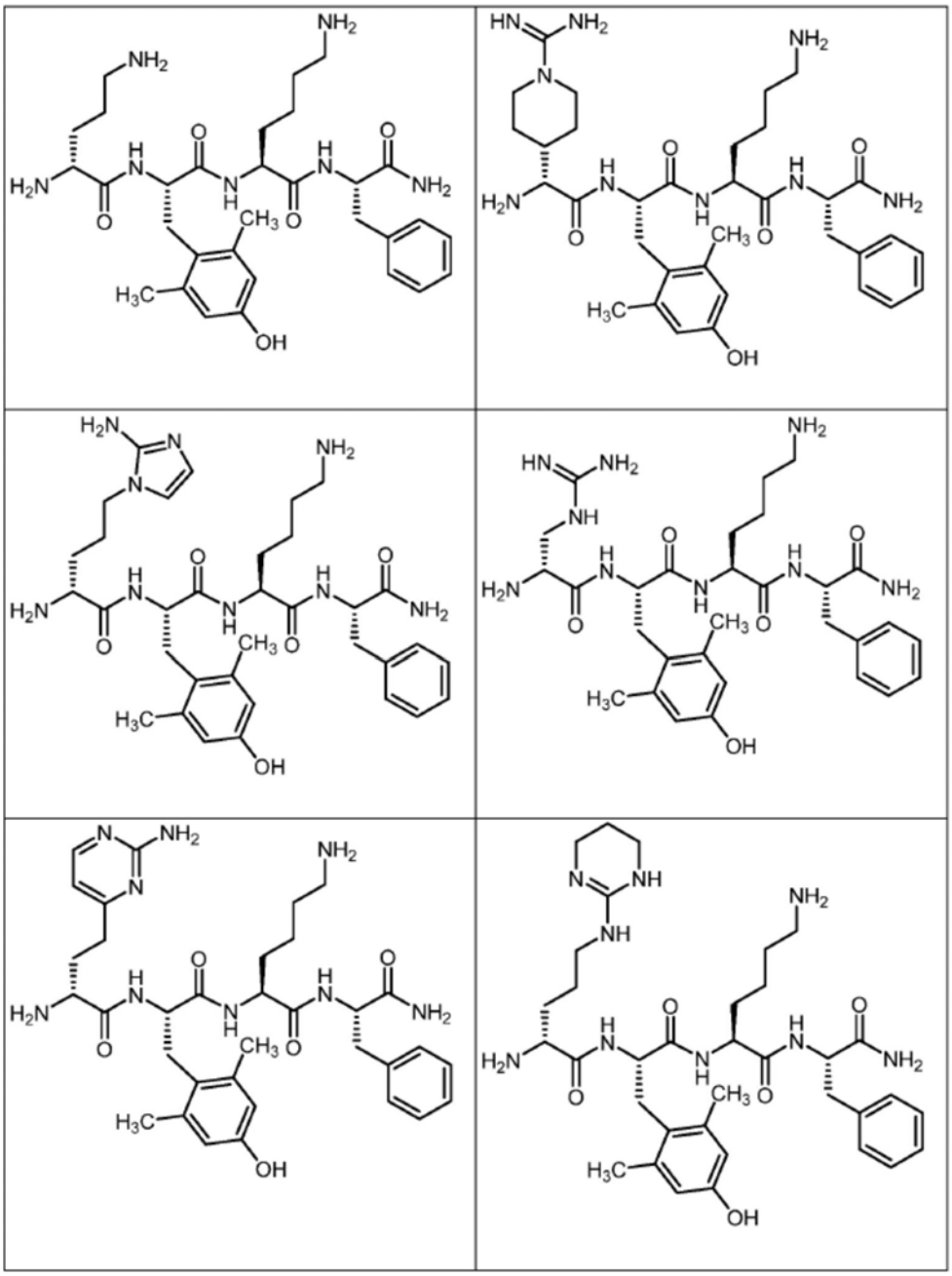


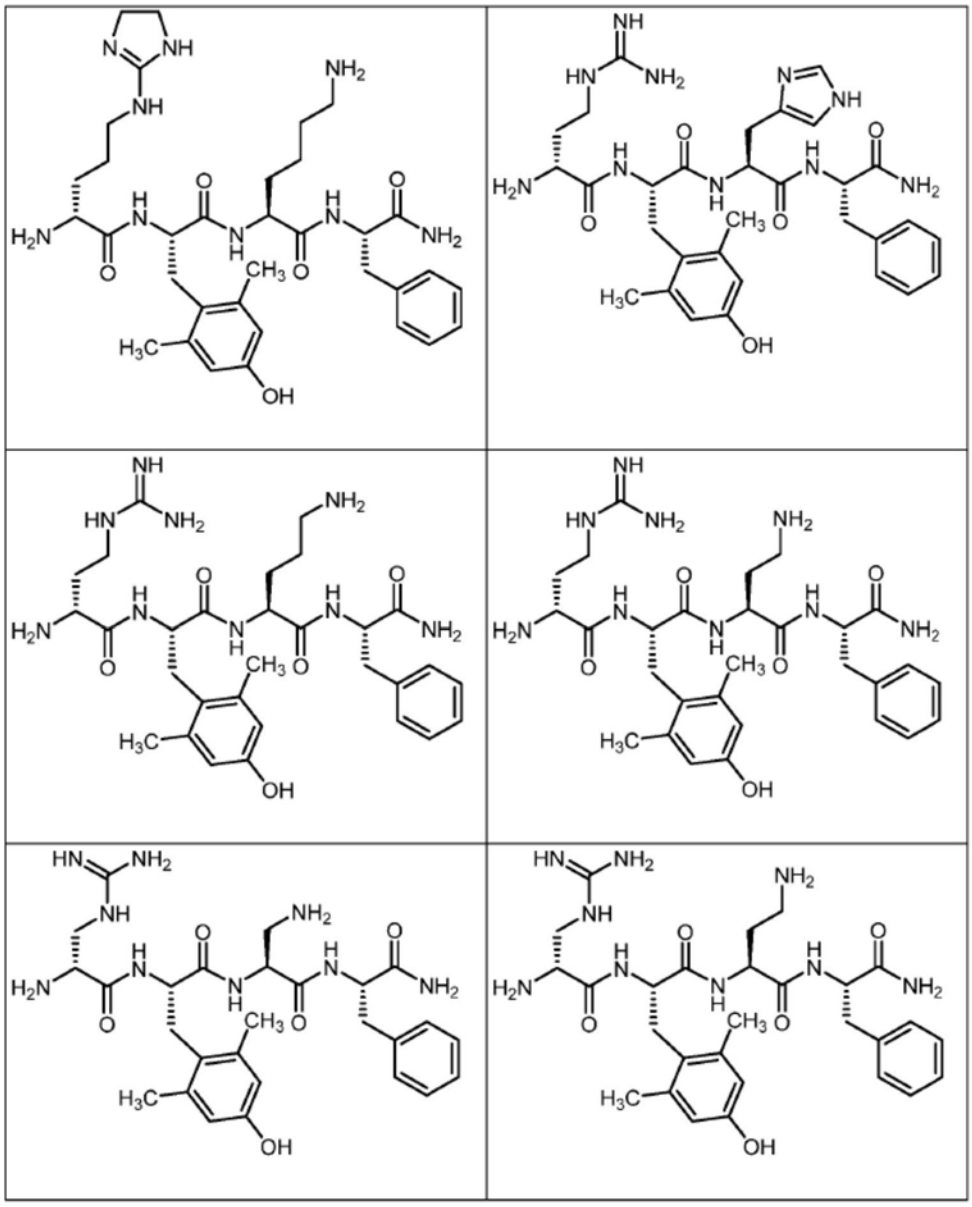












。

21.一种药物组合物，所述药物组合物包含如权利要求1-20中任一项的化合物和药学上可接受的载体。

22.一种用于治疗或预防有需要的受试者的缺血-再灌注损伤的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1-20中任一项的化合物。

23.如权利要求22所述的方法，其中所述缺血-再灌注损伤是心脏缺血-再灌注损伤。

24.一种用于治疗或预防有需要的受试者的心肌梗塞的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1-20中任一项的化合物。

25.如权利要求22-24中任一项所述的方法，其中所述化合物经口服、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌内施用。

# 靶向线粒体疾病的类似物

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2018年12月18日提交的美国临时专利申请号62/781,156的优先权权益。

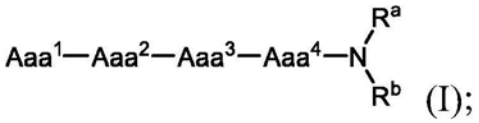
[0003] 发明背景

[0004] 依拉瑞肽(Elamipretide)(MTP-131)是具有治疗与线粒体功能障碍相关的疾病的治疗潜力的线粒体靶向肽化合物。由于依拉瑞肽(MTP-131)的潜在治疗应用,需要开发具有改善的治疗特征谱(therapeutic profile)的这些化合物的类似物。

## 发明内容

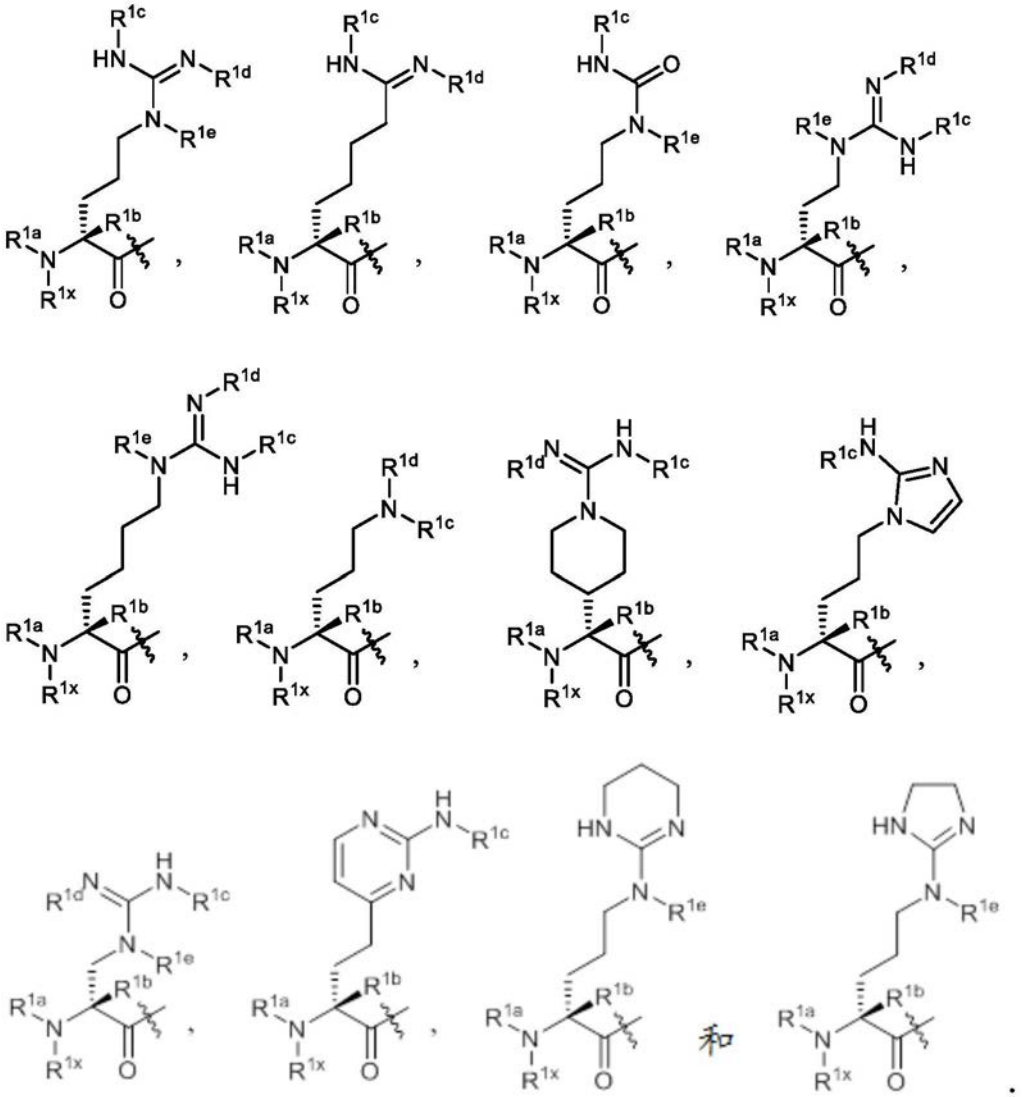
[0005] 本发明的一个方面是依拉瑞肽(MTP-131)的类似物。

[0006] 更具体地,本发明提供一种式(I)化合物,或其药学上可接受的盐:

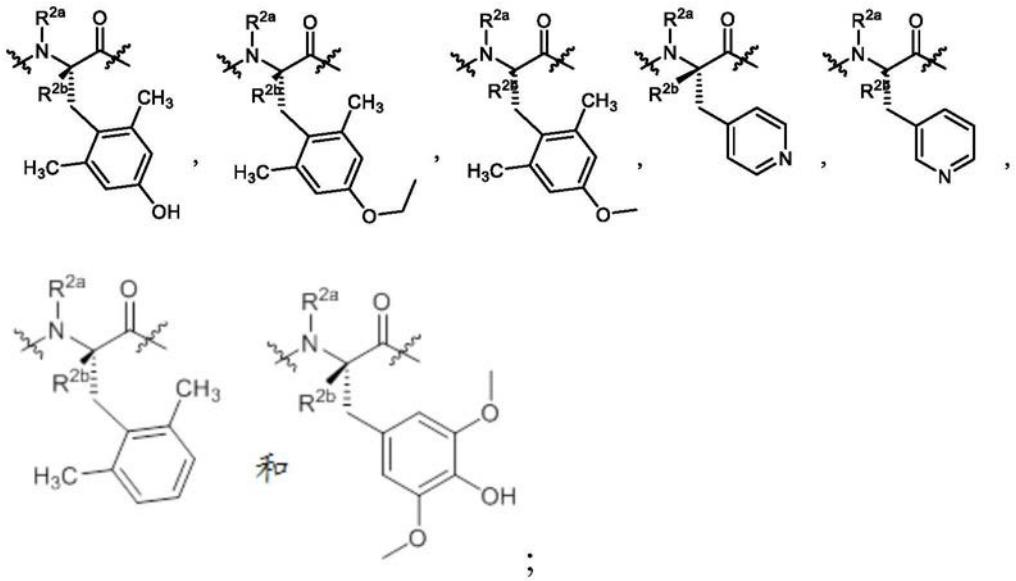
[0007]  (I);

[0008] 其中:

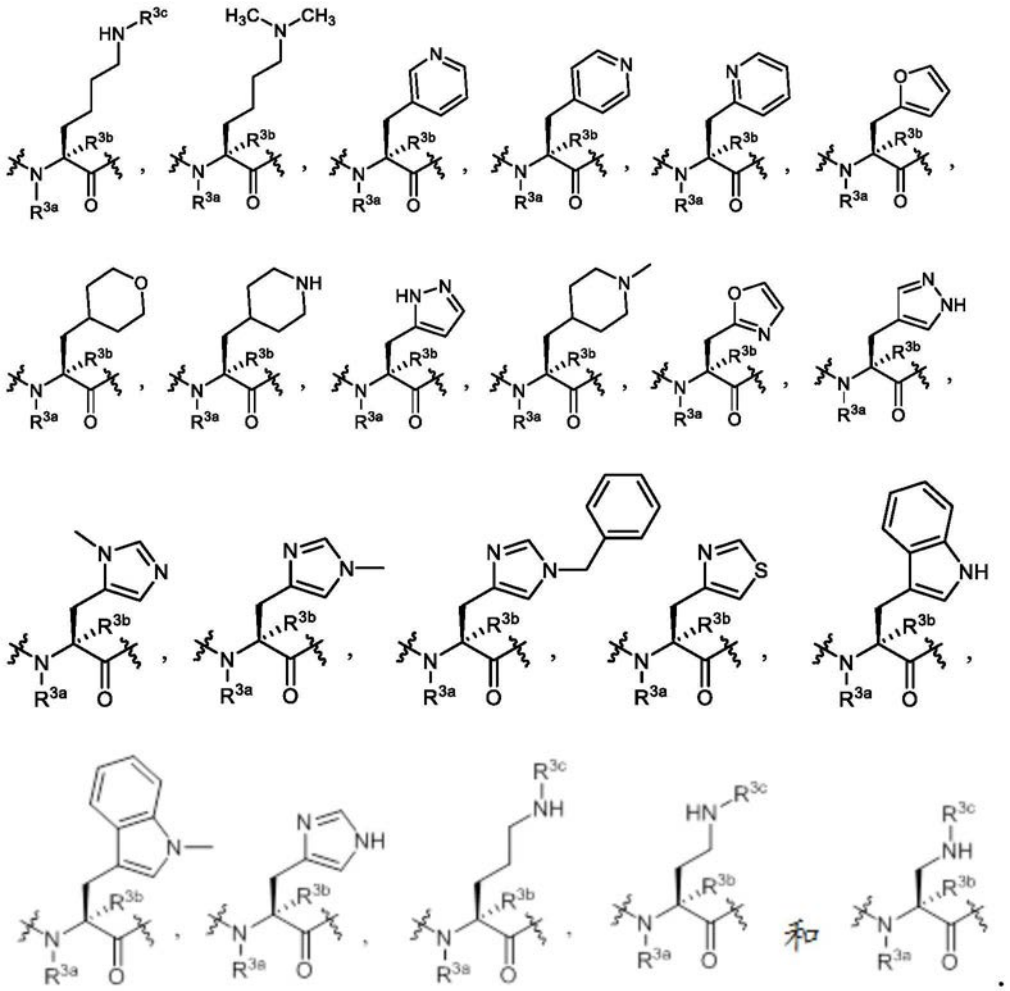
[0009] $Aaa^1$是选自由以下组成的组的氨基酸残基:

[0010] 

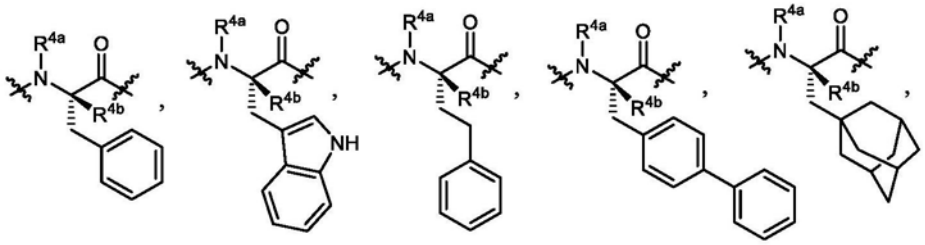
[0011] $Aaa^2$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：



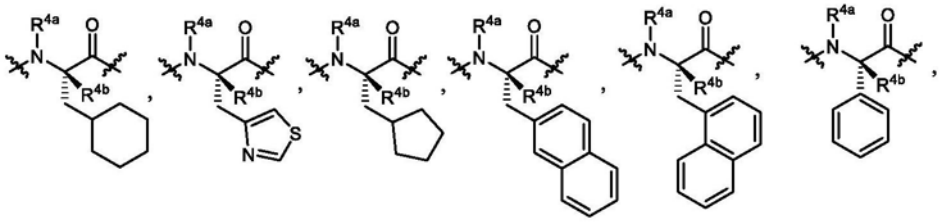
[0012] $Aaa^3$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：

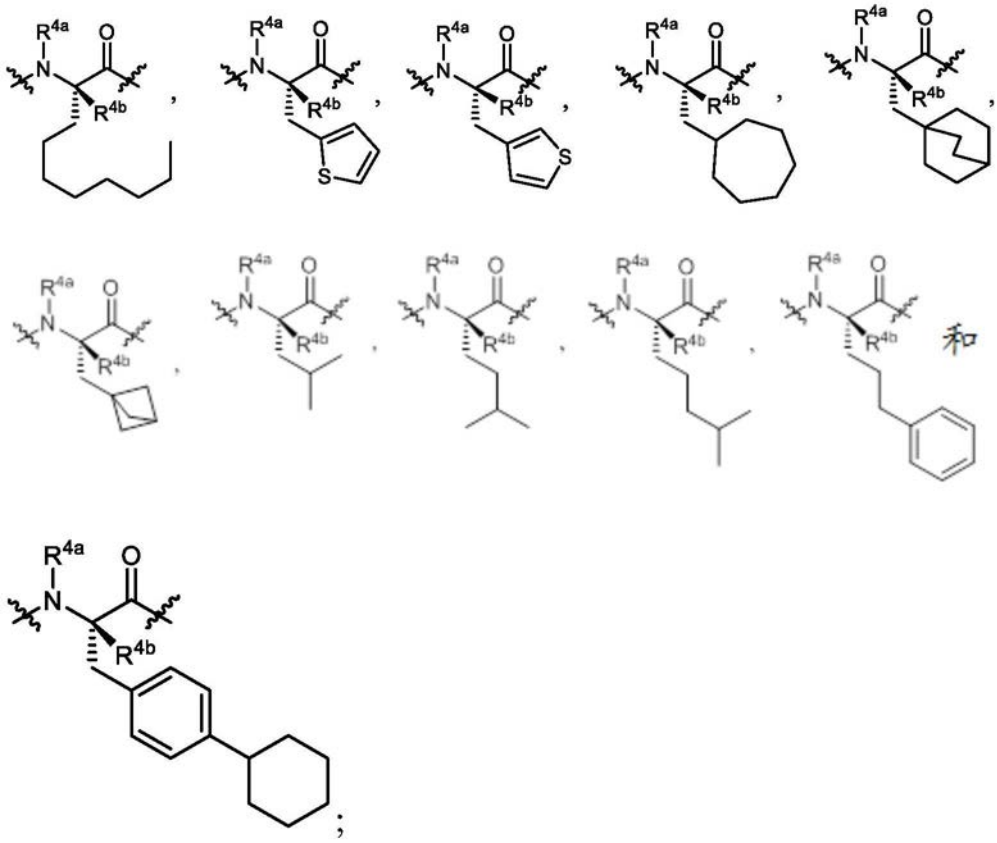


[0013] $Aaa^4$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：



[0014]



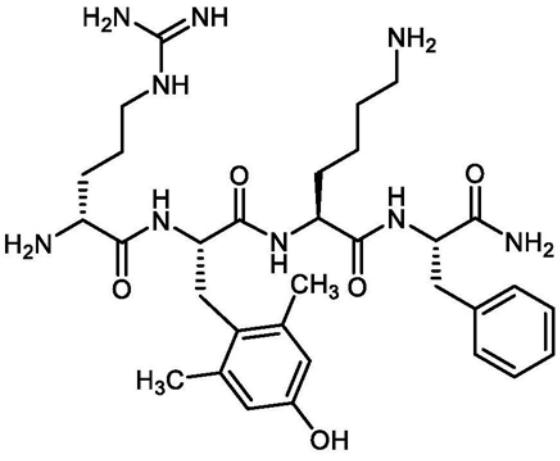
[0015] 



[0016] $R^{1a}$、$R^{1b}$、$R^{1e}$、$R^{1x}$、$R^{2a}$、$R^{2b}$、$R^{3a}$、$R^{3b}$、$R^{3c}$、$R^{4a}$和$R^{4b}$各自独立地选自由以下组成的组:H、甲基、乙基、丙基、环丙基、环丁基和$(C_1-C_6)$烷基;或者$R^{1a}$和$R^{1x}$与它们所连接的N原子一起形成4-6元杂环基;并且

[0017] $R^a$、$R^b$、$R^{1c}$和$R^{1d}$各自独立地选自由以下组成的组:H、甲基、乙基、丙基、环丙基、环丁基、$(C_1-C_6)$烷基、C(O)($(C_1-C_6)$烷基)、C(O)($(C_1-C_6)$卤代烷基)、C(O)O($(C_1-C_6)$烷基)和C(O)O(芳基$(C_1-C_6)$烷基);或者$R^a$和$R^b$与它们所连接的N原子一起形成4-6元杂环基;

[0018] 前提是所述式(I)化合物不是

[0019] 

(MTP-131)。

[0020] 本发明的另一方面是一种药物组合物,所述药物组合物包含本发明的化合物和药学上可接受的载体。

[0021] 本发明还提供了治疗或预防缺血-再灌注损伤的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的化合物。

[0022] 本发明还提供了治疗或预防心肌梗塞的方法，所述包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的化合物。

## 附图说明

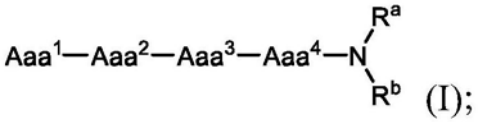
[0023] 图1描绘用于本发明中的各种氨基酸残基。

[0024] 图2描绘用于本发明中的各种氨基酸残基。

## 具体实施方式

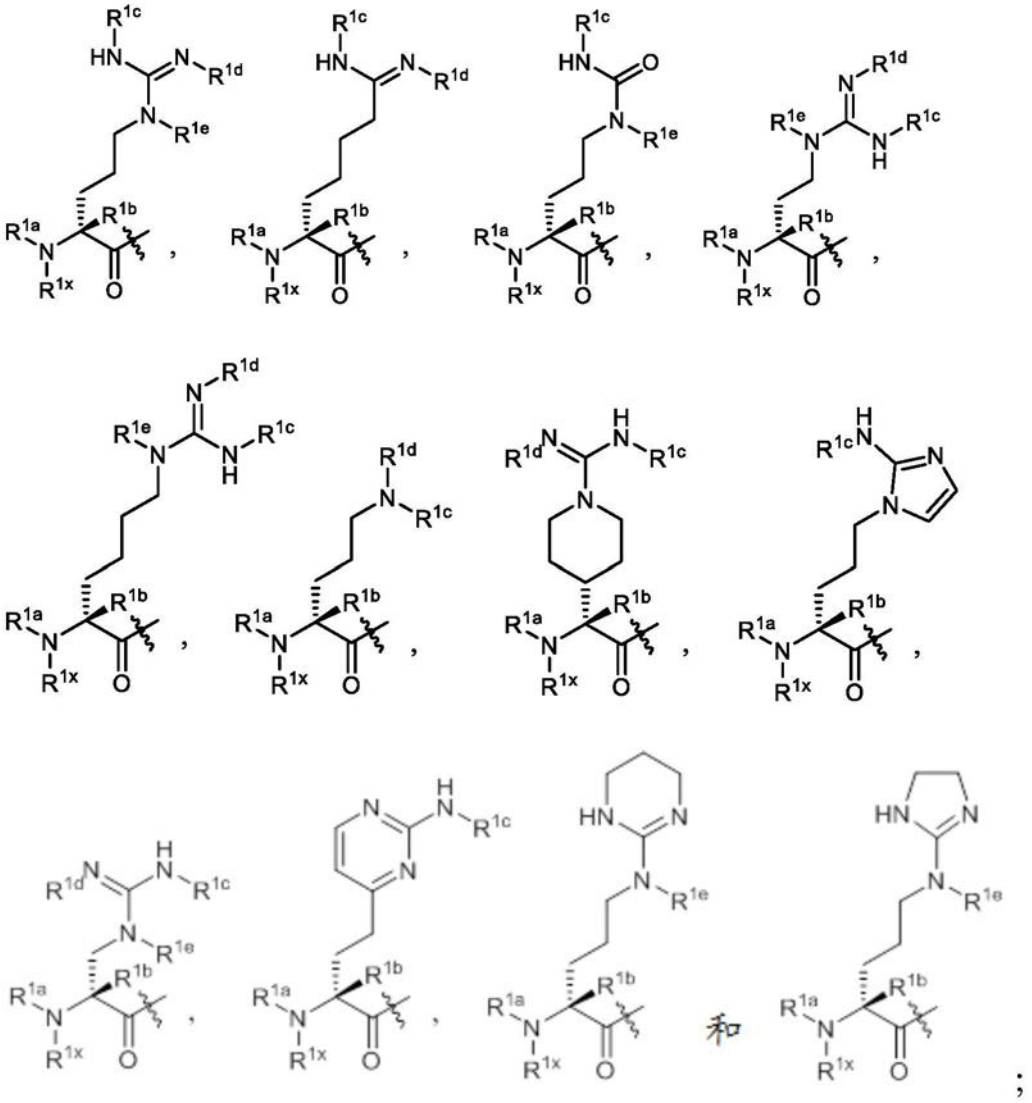
[0025] 依拉瑞肽(MTP-131;D-Arg-DMT-Lys-Phe-$NH_2$;其中DMT是2,6-二甲基-L-Tyr)是具有治疗缺血-再灌注损伤(例如，心脏缺血-再灌注损伤)和心肌梗塞的治疗潜力的线粒体靶向化合物。这种化合物的类似物可具有改善的治疗特征谱，包括改善的代谢性质、选择性或效力。

[0026] 因此，在某些实施方案中，本发明提供一种式(I)化合物，或其药学上可接受的盐：

[0027] 

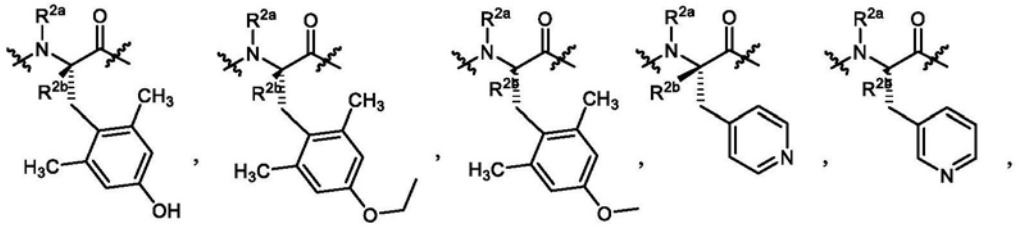
[0028] 其中：

[0029] $Aaa^1$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：

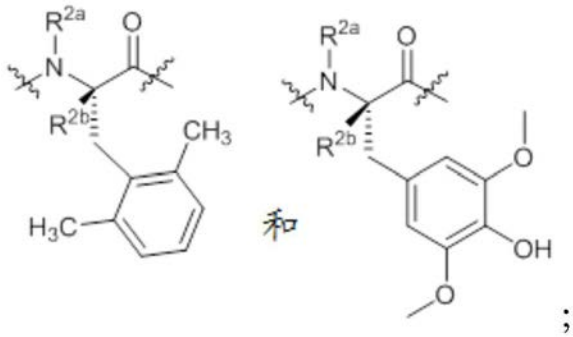


[0030] $Aaa^2$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：

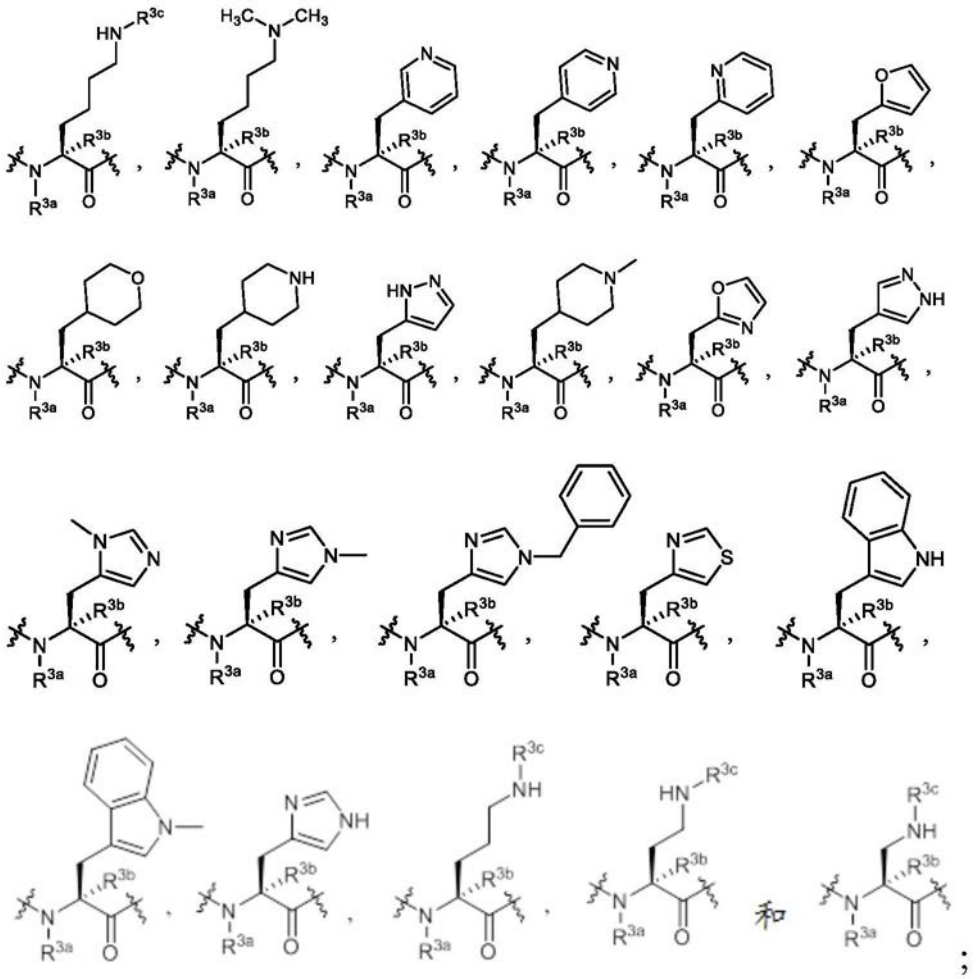
[0031]



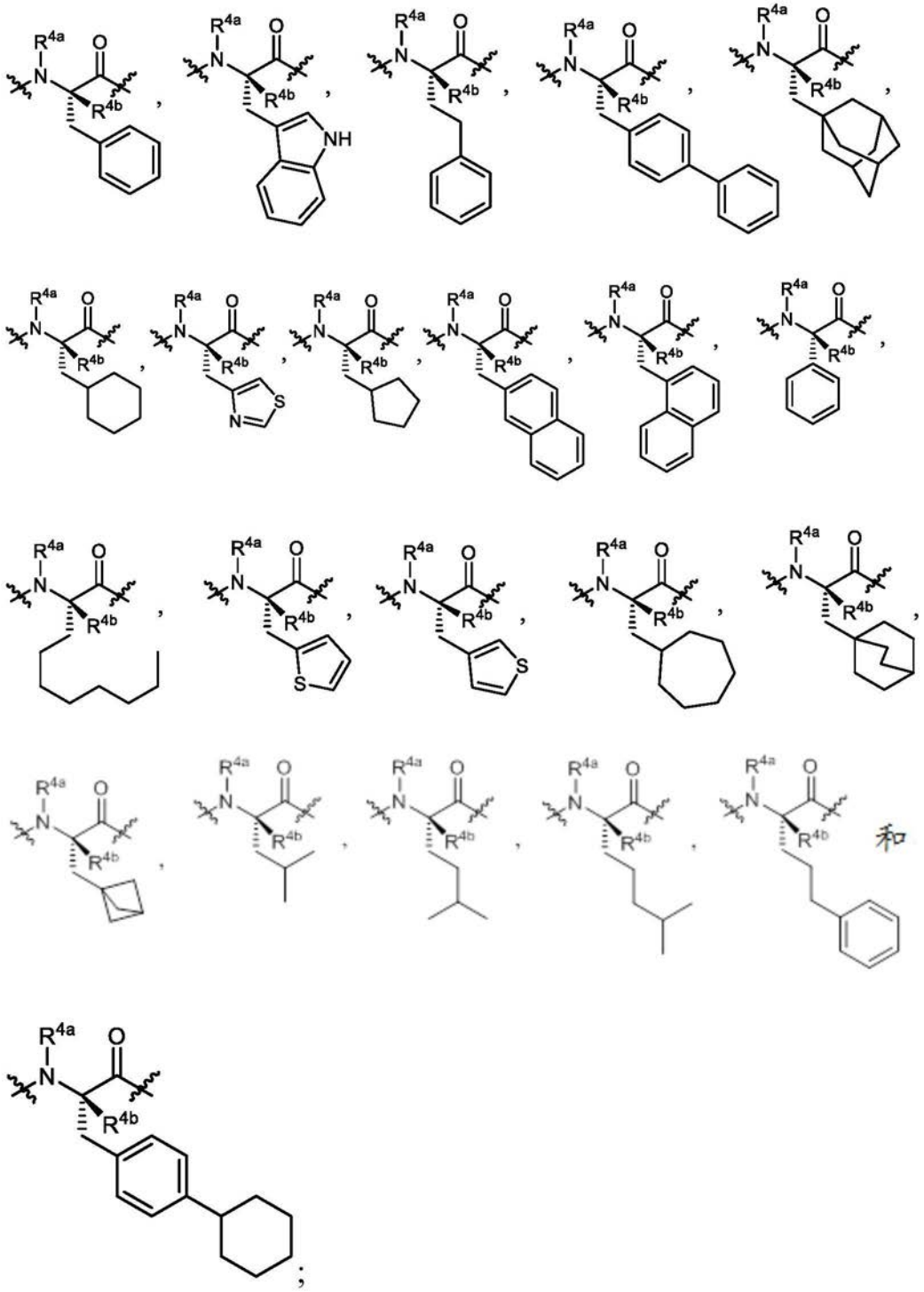
[0032]



[0033] $Aaa^3$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：

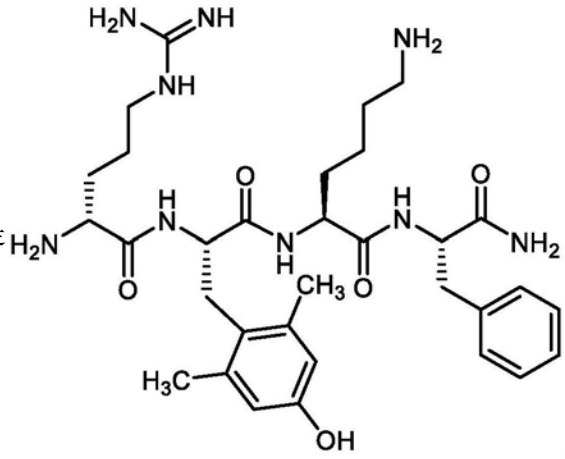


[0034] $Aaa^4$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：

[0035] 

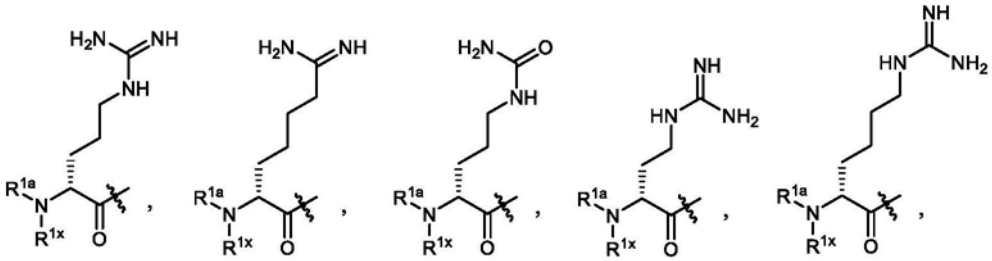
[0036] $R^{1a}$、$R^{1b}$、$R^{1e}$、$R^{1x}$、$R^{2a}$、$R^{2b}$、$R^{3a}$、$R^{3b}$、$R^{3c}$、$R^{4a}$和$R^{4b}$各自独立地选自由以下组成的组：H、甲基、乙基、丙基、环丙基、环丁基和$(C_1\text{-}C_6)$烷基；或者$R^{1a}$和$R^{1x}$与它们所连接的N原子一起形成4-6元杂环基；并且

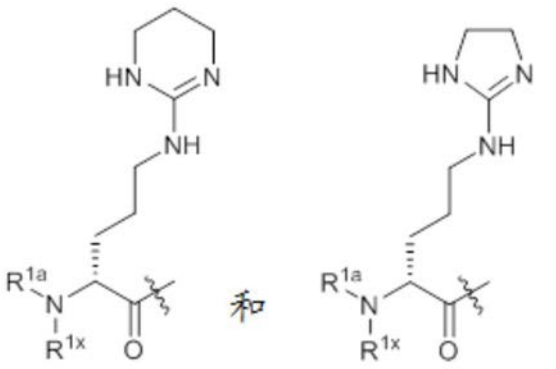
[0037] $R^a$、$R^b$、$R^{1c}$和$R^{1d}$各自独立地选自由以下组成的组：H、甲基、乙基、丙基、环丙基、环丁基、$(C_1\text{-}C_6)$烷基、C(O)$((C_1\text{-}C_6)$烷基)、C(O)$((C_1\text{-}C_6)$卤代烷基)、C(O)O$((C_1\text{-}C_6)$烷基)和C(O)O(芳基$(C_1\text{-}C_6)$烷基)；或者$R^a$和$R^b$与它们所连接的N原子一起形成4-6元杂环基；

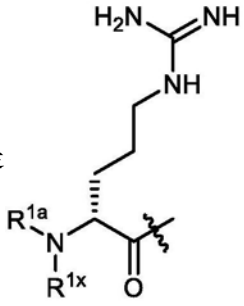
[0038] 前提是所述式(I)化合物不是。

[0039] 在某些实施方案中，$R^{1a}$和$R^{1x}$独立地是H、甲基、乙基、丙基、环丙基或环丁基；或者$R^{1a}$和$R^{1x}$与它们所连接的N原子一起形成4-6元杂环基。

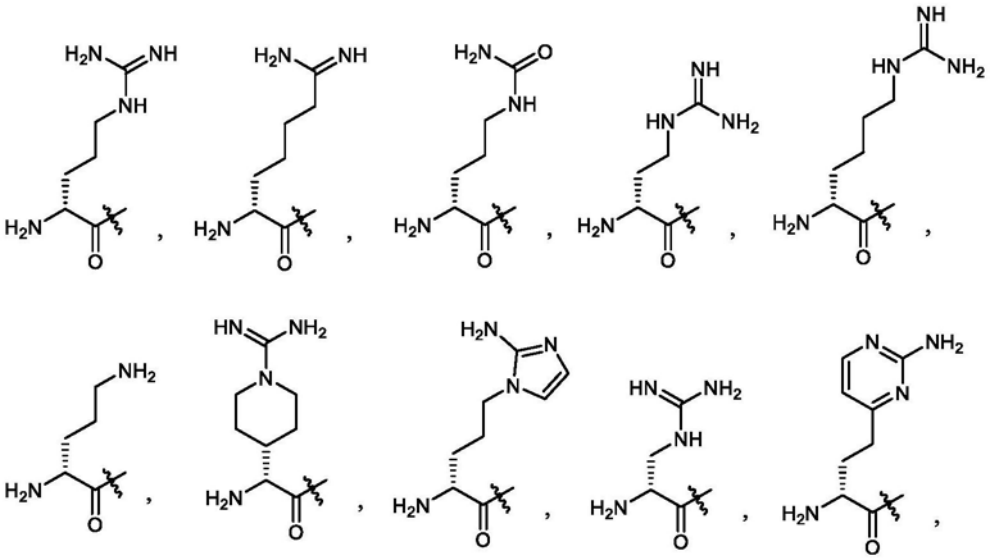
[0040] 在某些实施方案中，$Aaa^1$选自由以下组成的组：

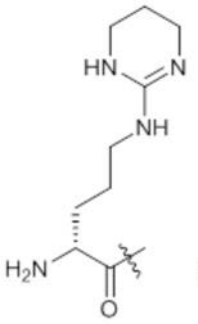
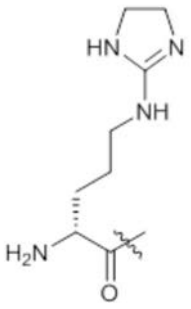
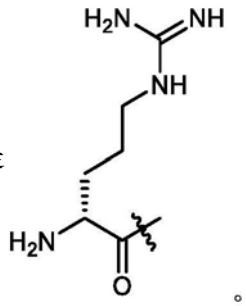
[0041] 

[0042] 和。

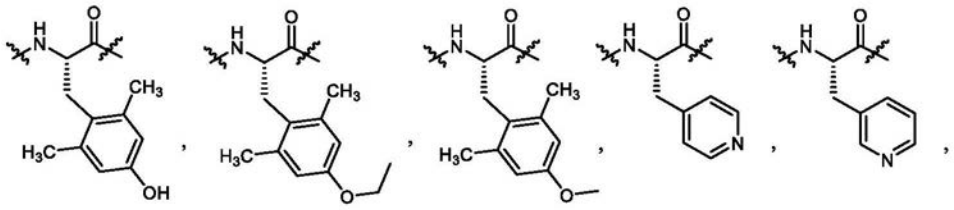
[0043] 在其它实施方案中，$Aaa^1$是。

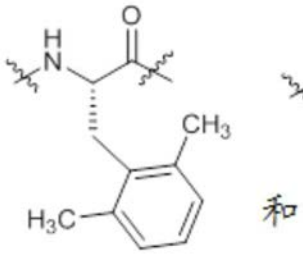
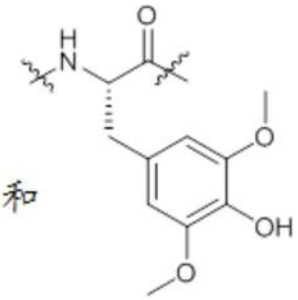
[0044] 可替代地，在某些实施方案中，$Aaa^1$是选自由以下组成的组的氨基酸残基：

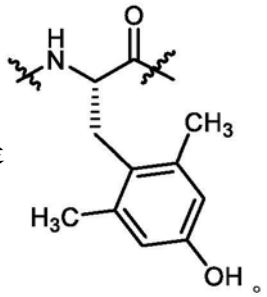
[0045] 

[0046] 和。在某些实施方案中，$Aaa^1$是。

[0047] 在某些实施方案中，$Aaa^2$选自由以下组成的组：

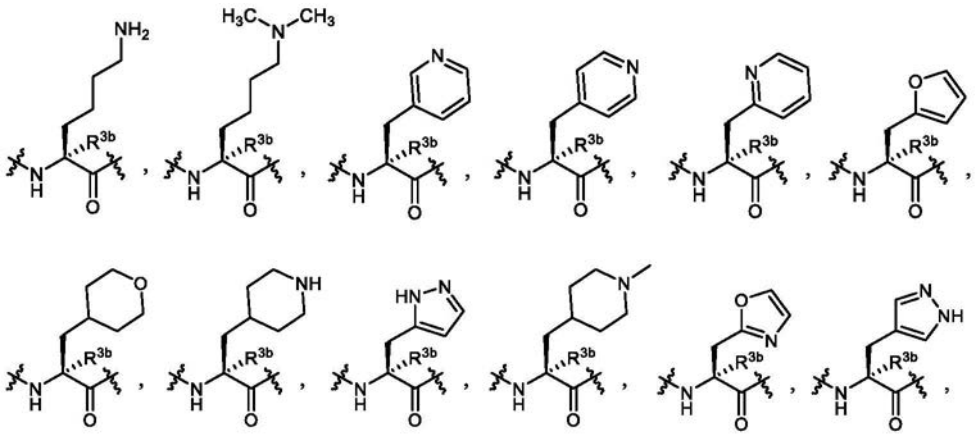


[0048] 
和

。

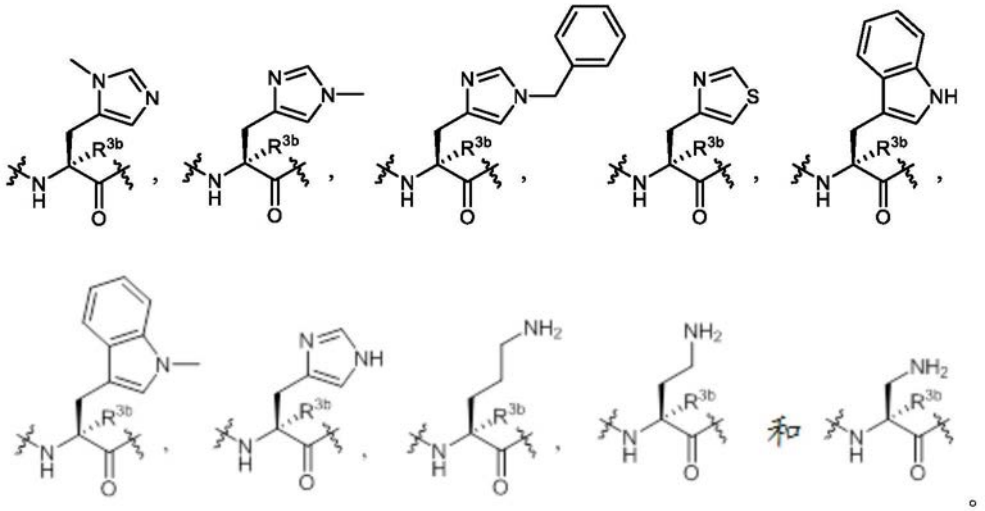
[0049] 在某些实施方案中，$Aaa^2$是

。

[0050] 在某些实施方案中，$R^{3b}$是H或甲基。

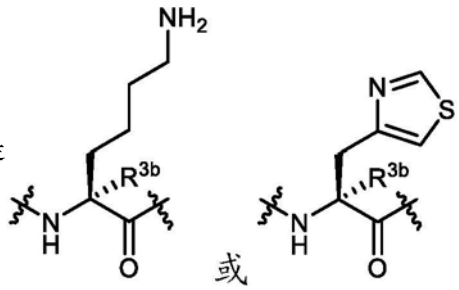
[0051] 在一些实施方案中，$Aaa^3$选自由以下组成的组：



[0052]

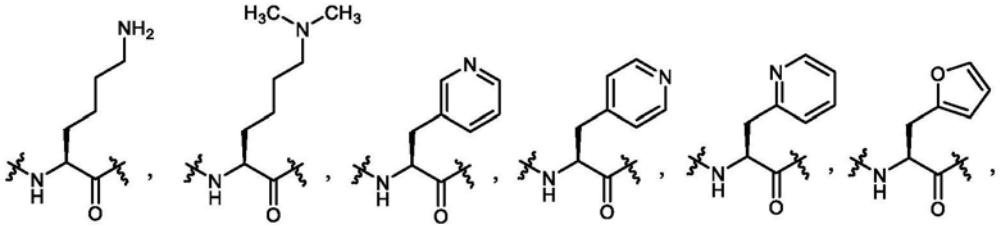


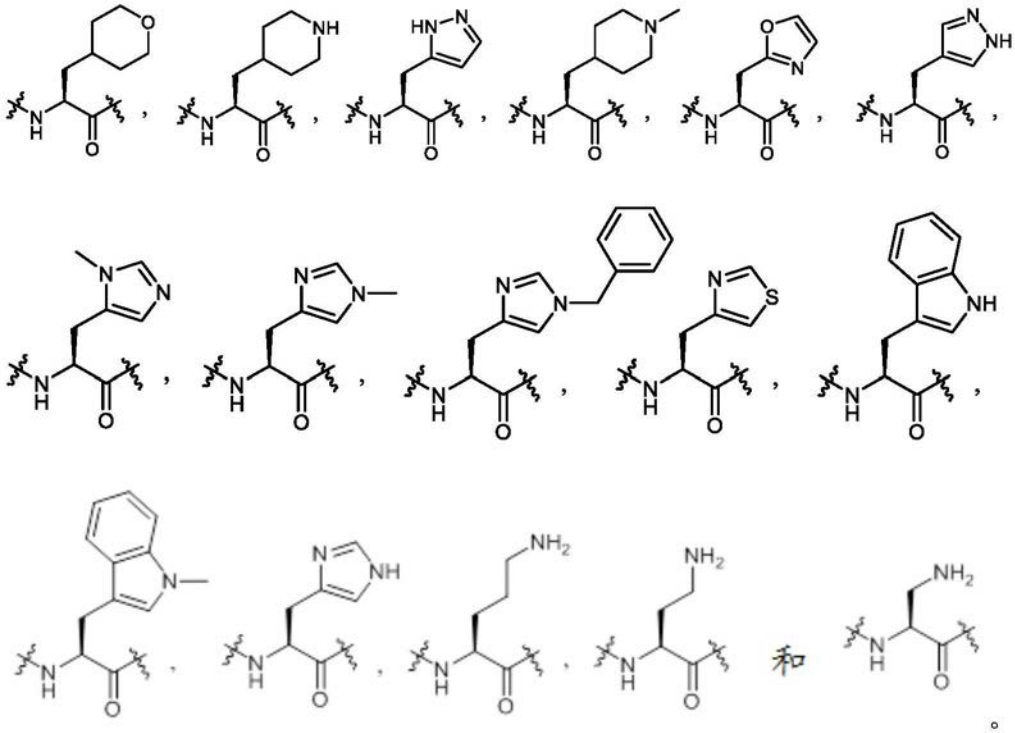
[0053] 例如，$Aaa^3$可以是

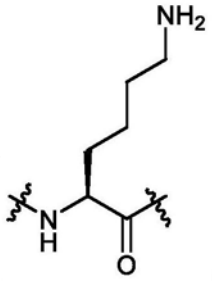


[0054] 可替代地，在一些实施方案中，$Aaa^3$选自由以下组成的组：

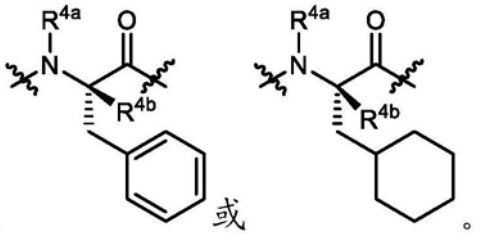
[0055]



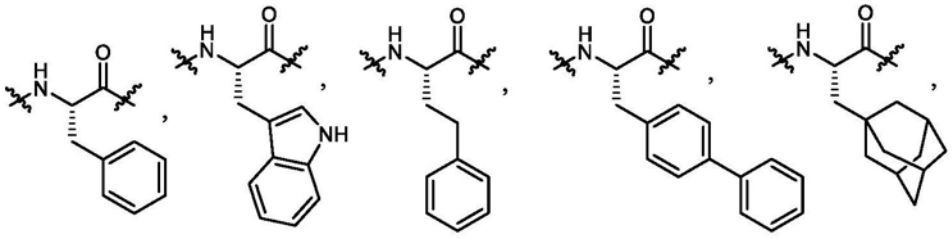
[0056] 

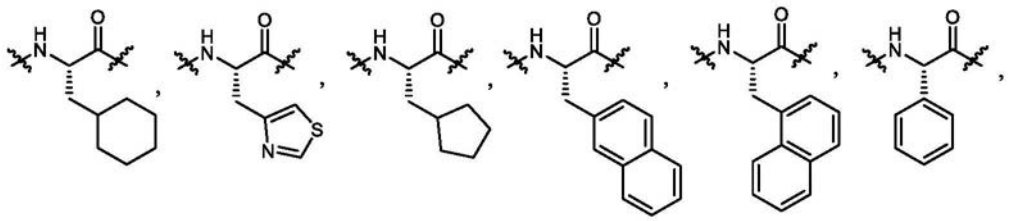
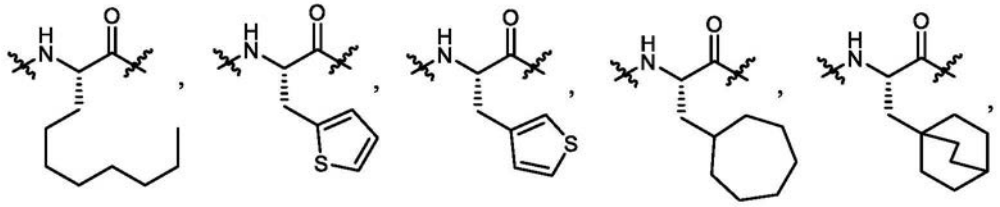
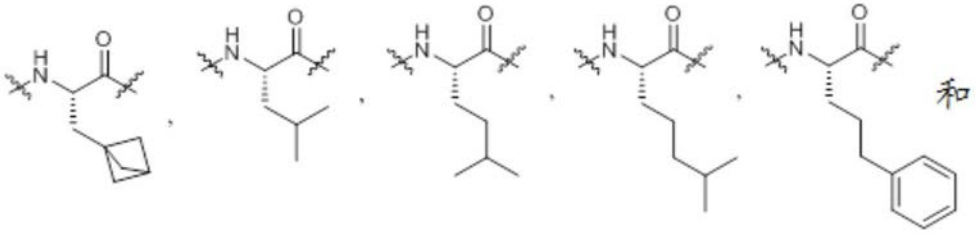
[0057] 在一些实施方案中，$Aaa^3$是。

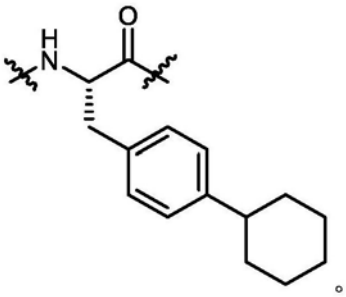
[0058] 在某些实施方案中，$R^{4a}$和$R^{4b}$各自独立地是H或甲基。

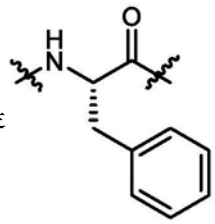
[0059] 在某些实施方案中，$Aaa^4$是。

[0060] 可替代地，在一些实施方案中，$Aaa^4$选自由以下组成的组：

[0061] 

[0062] 


和

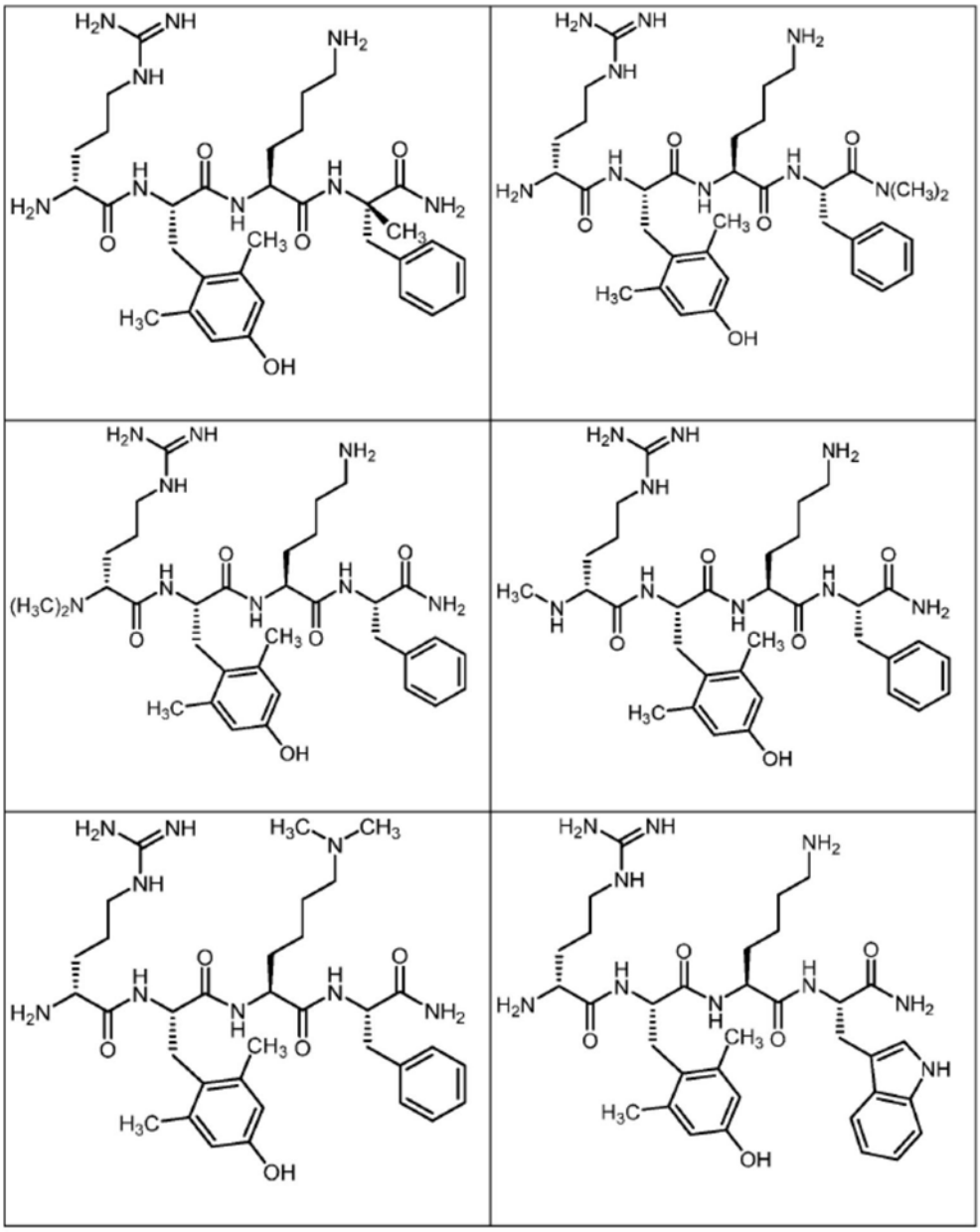

。

在某些实施方案中，$Aaa^4$是 
。

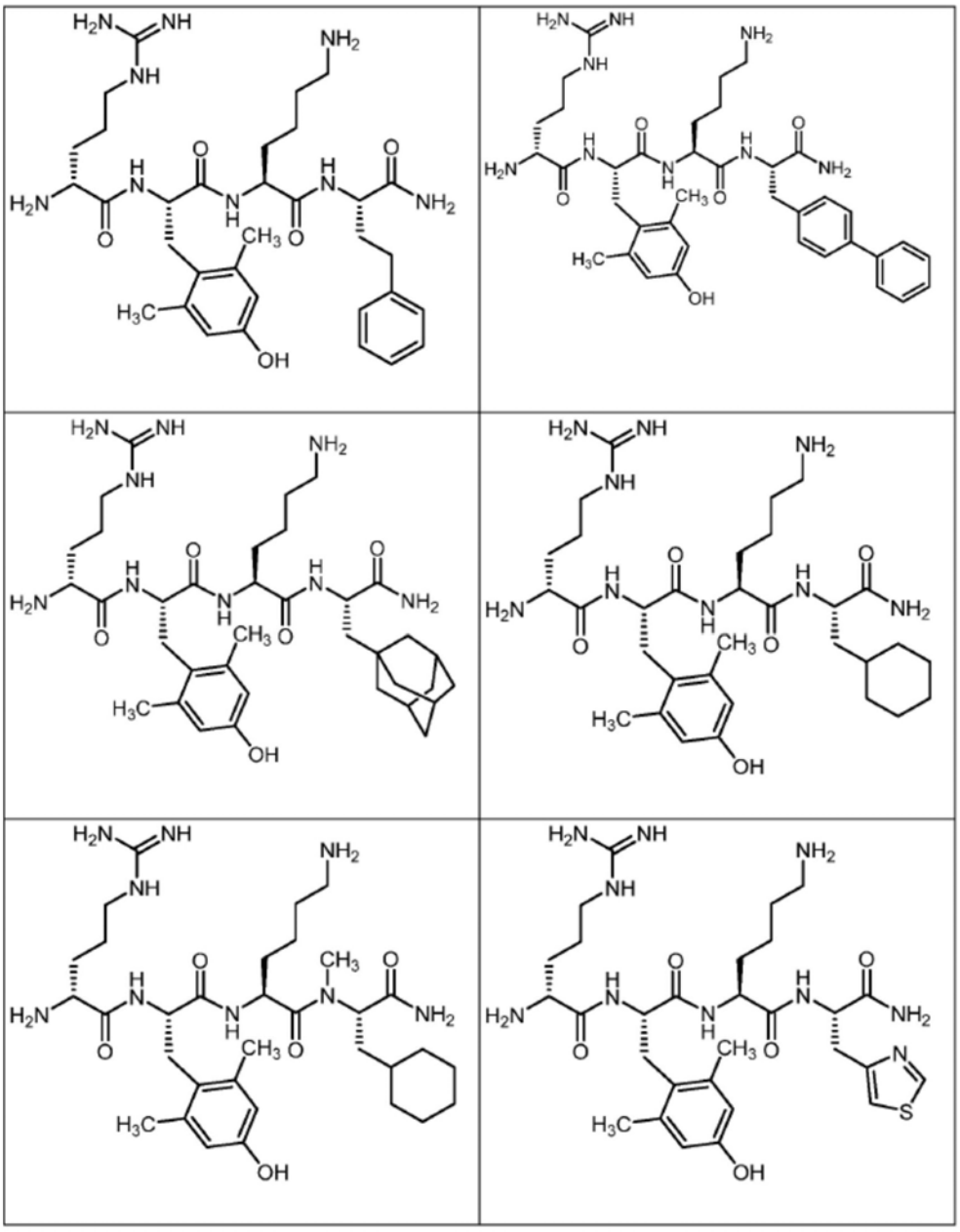
[0063] 在某些实施方案中，$R^a$和$R^b$各自独立地是H或甲基，优选H。

[0064] 在某些实施方案中，式(I)化合物选自下表：

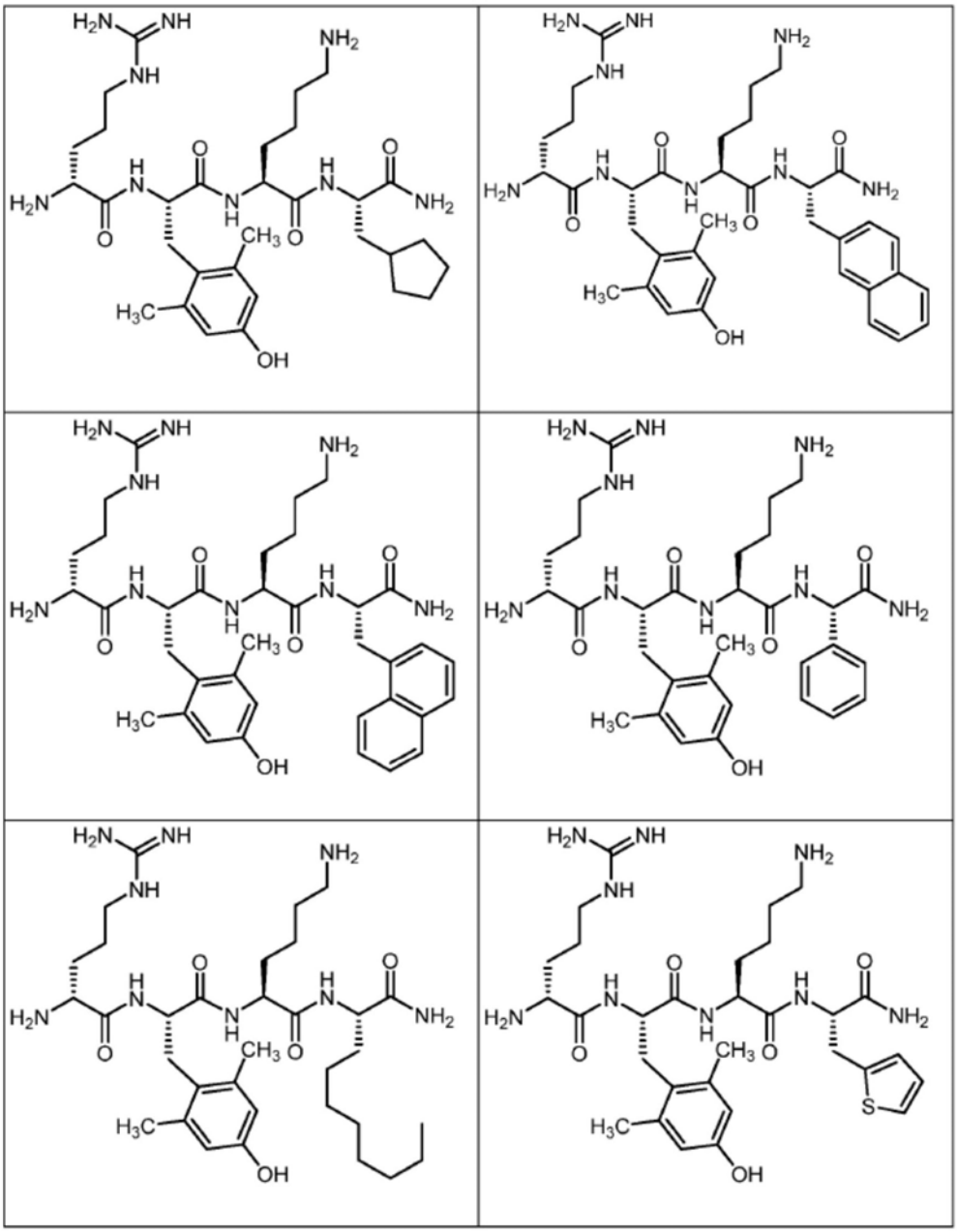
[0065]



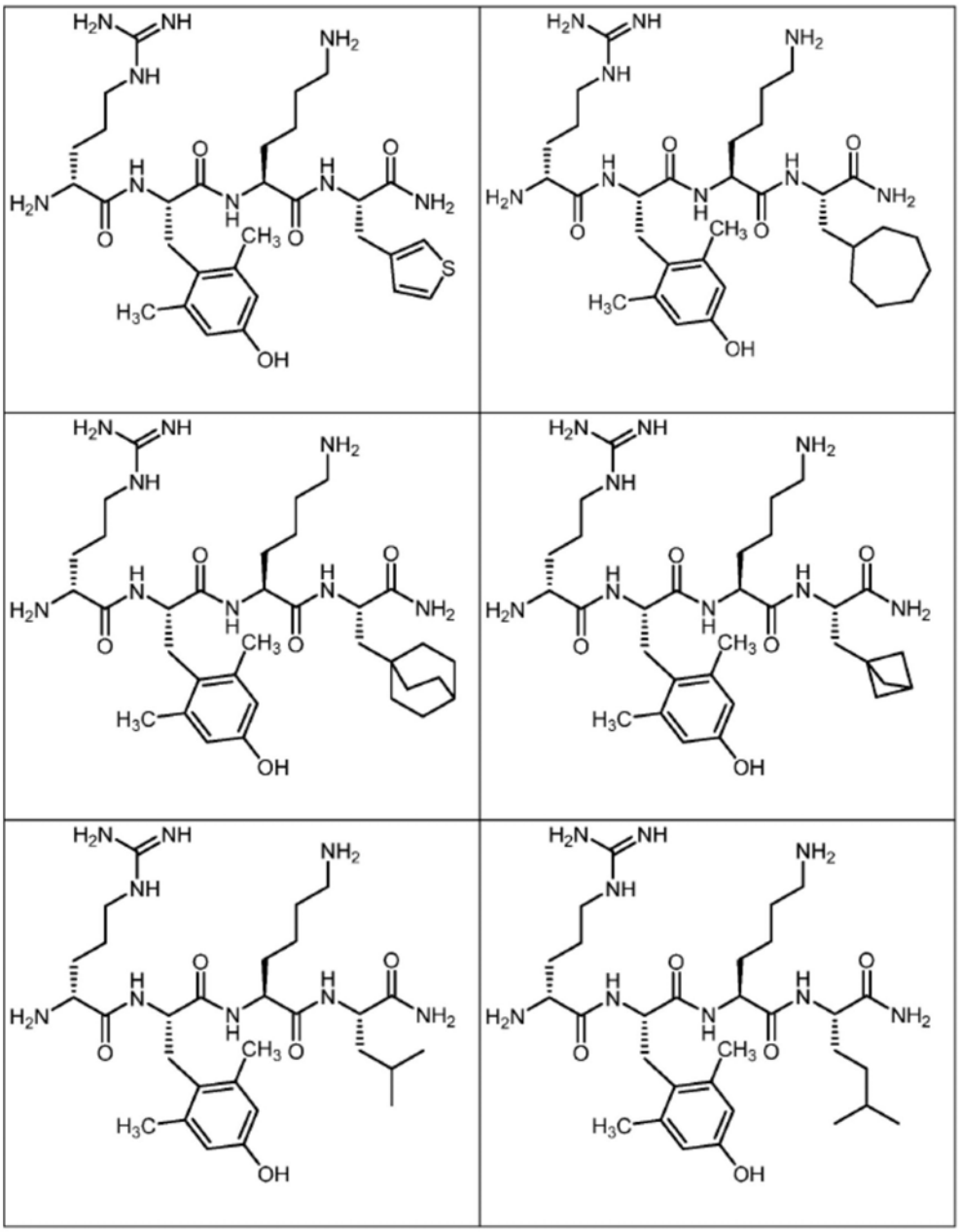
[0066]



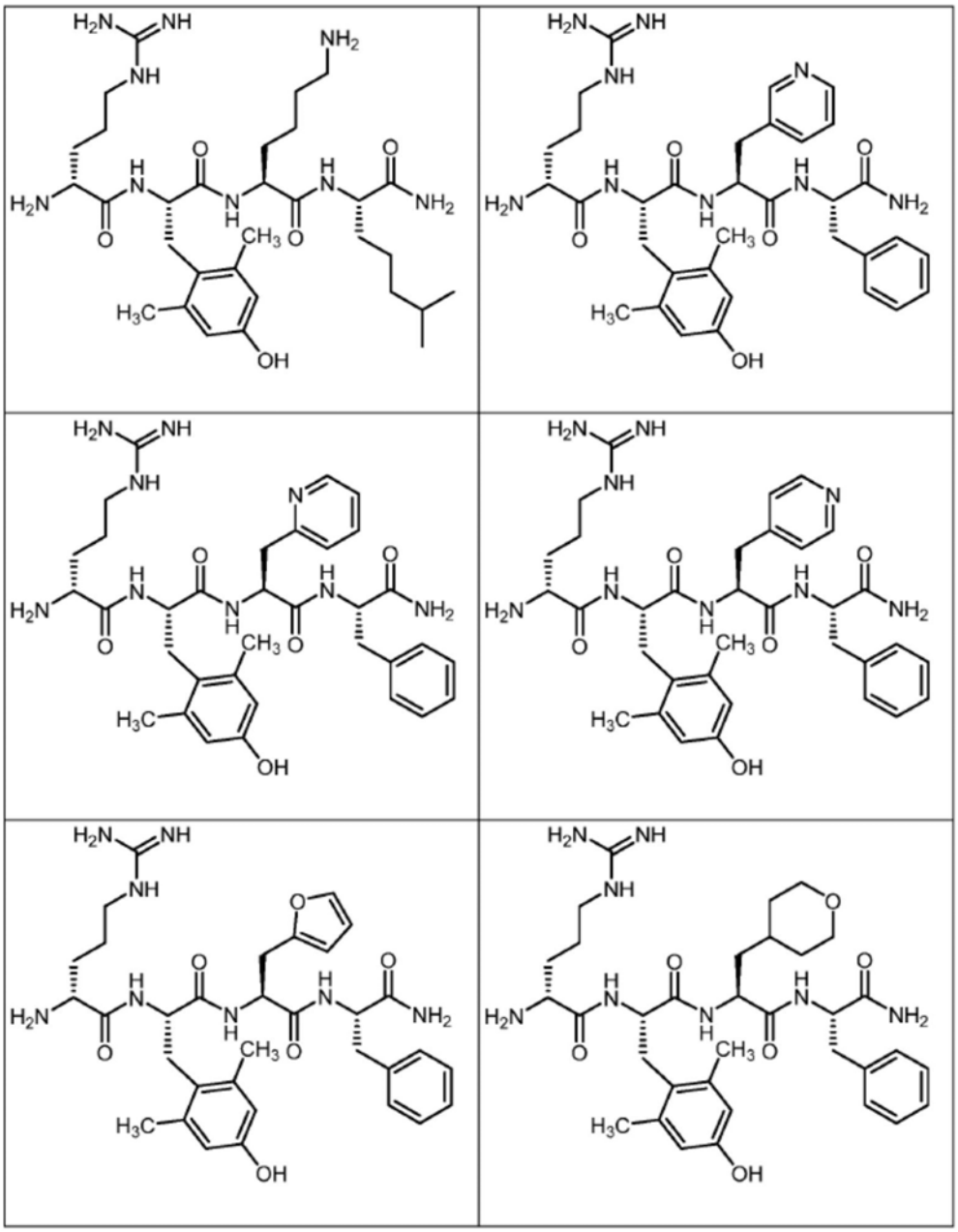
[0067]



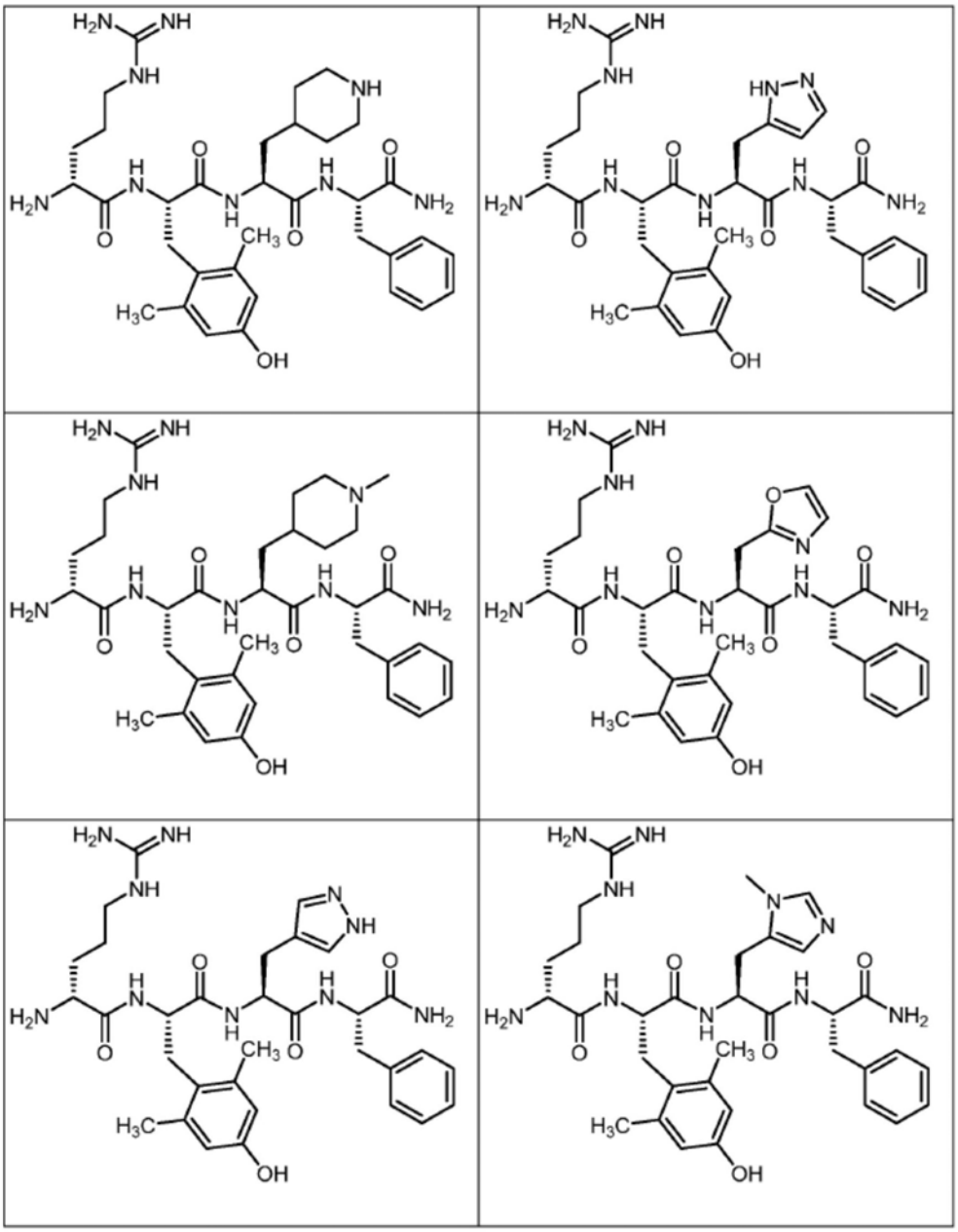
[0068]



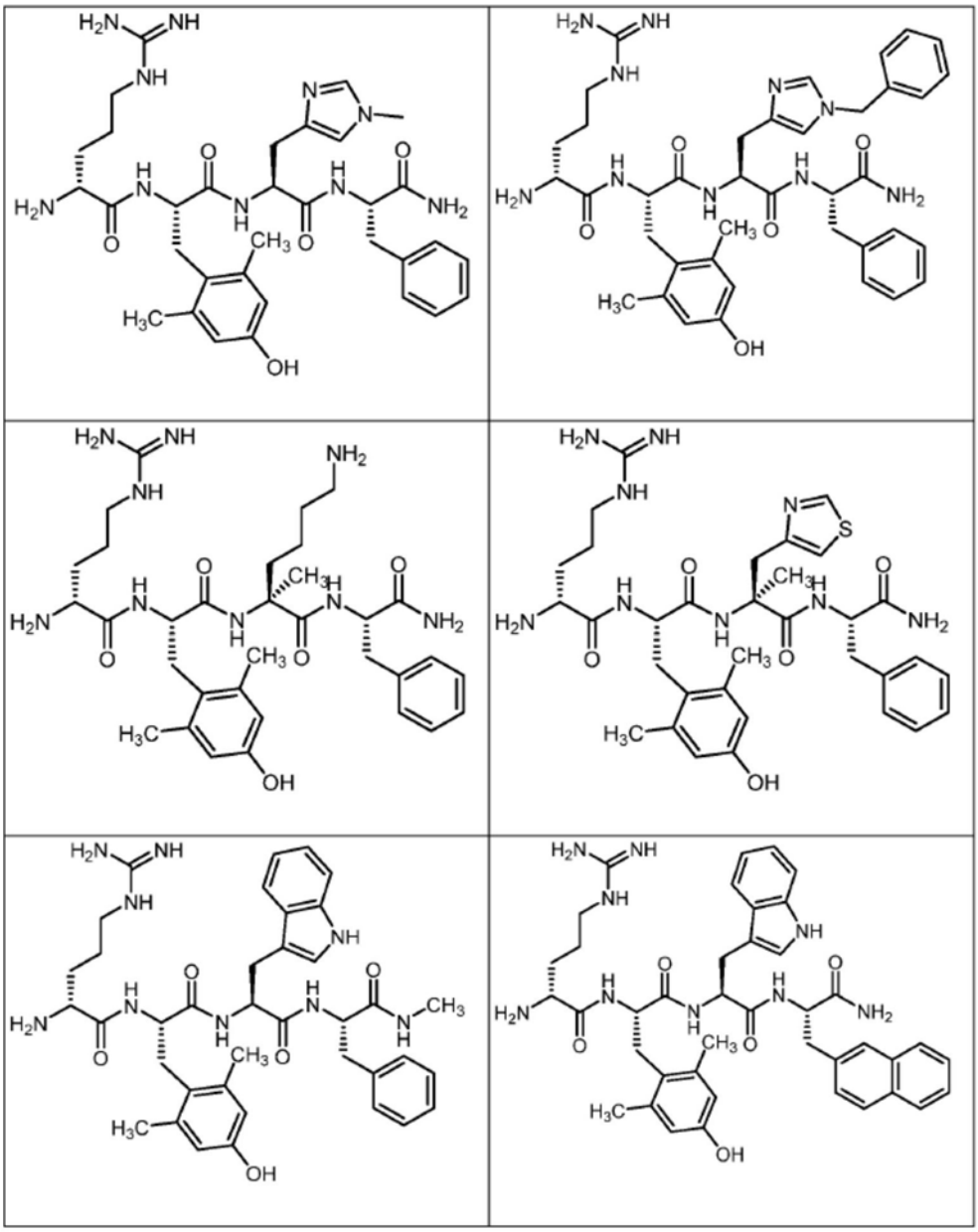
[0069]



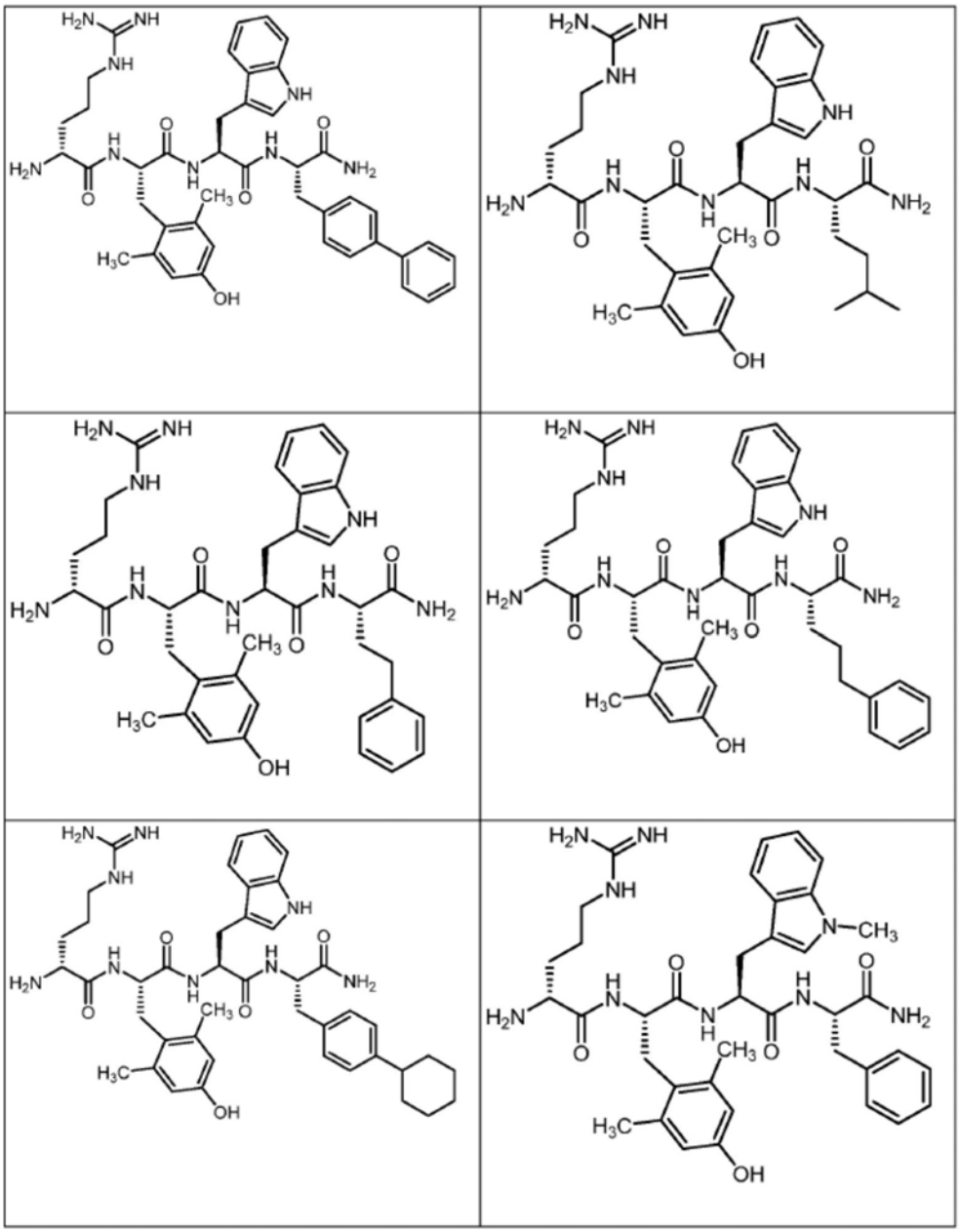
[0070]



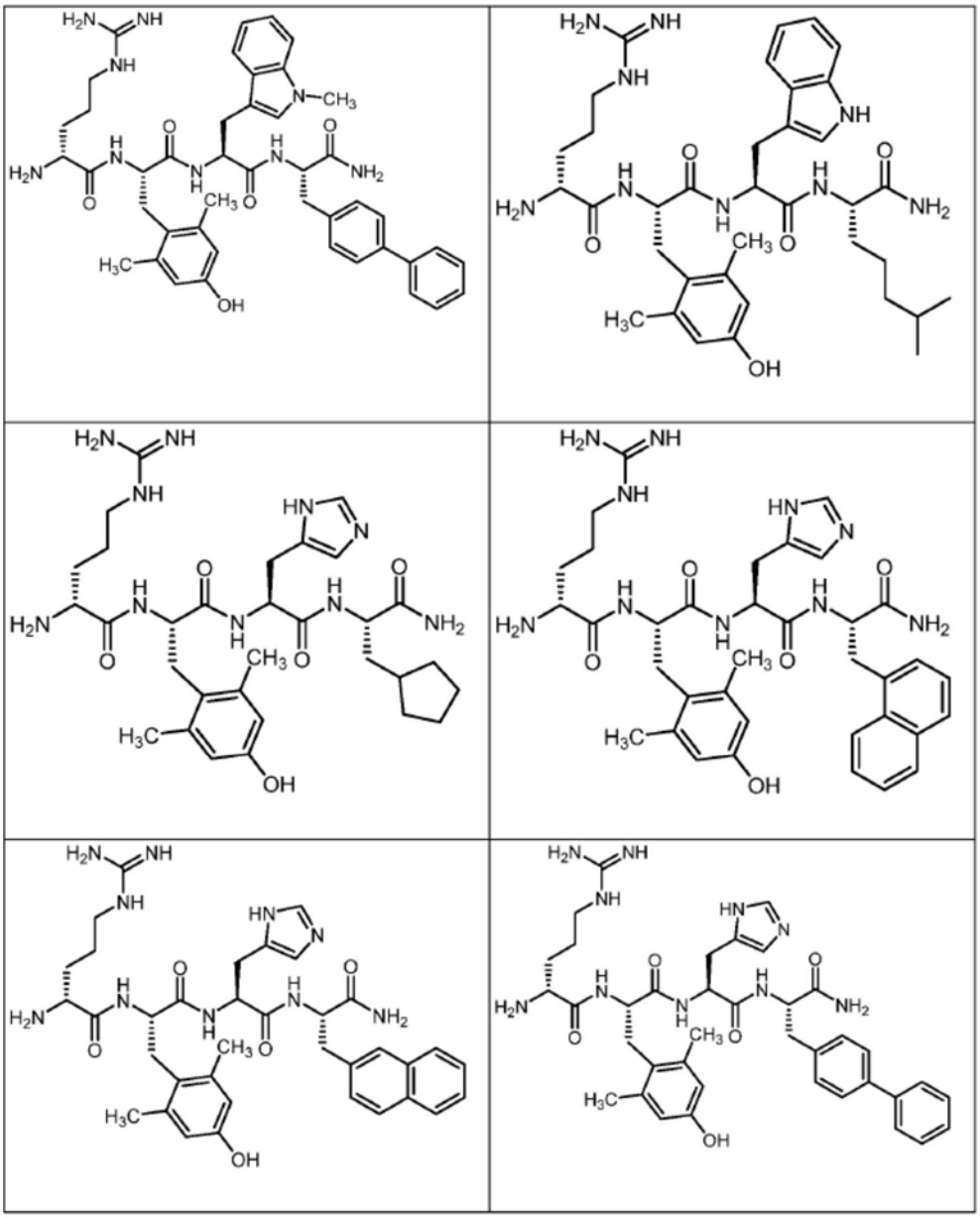
[0071]



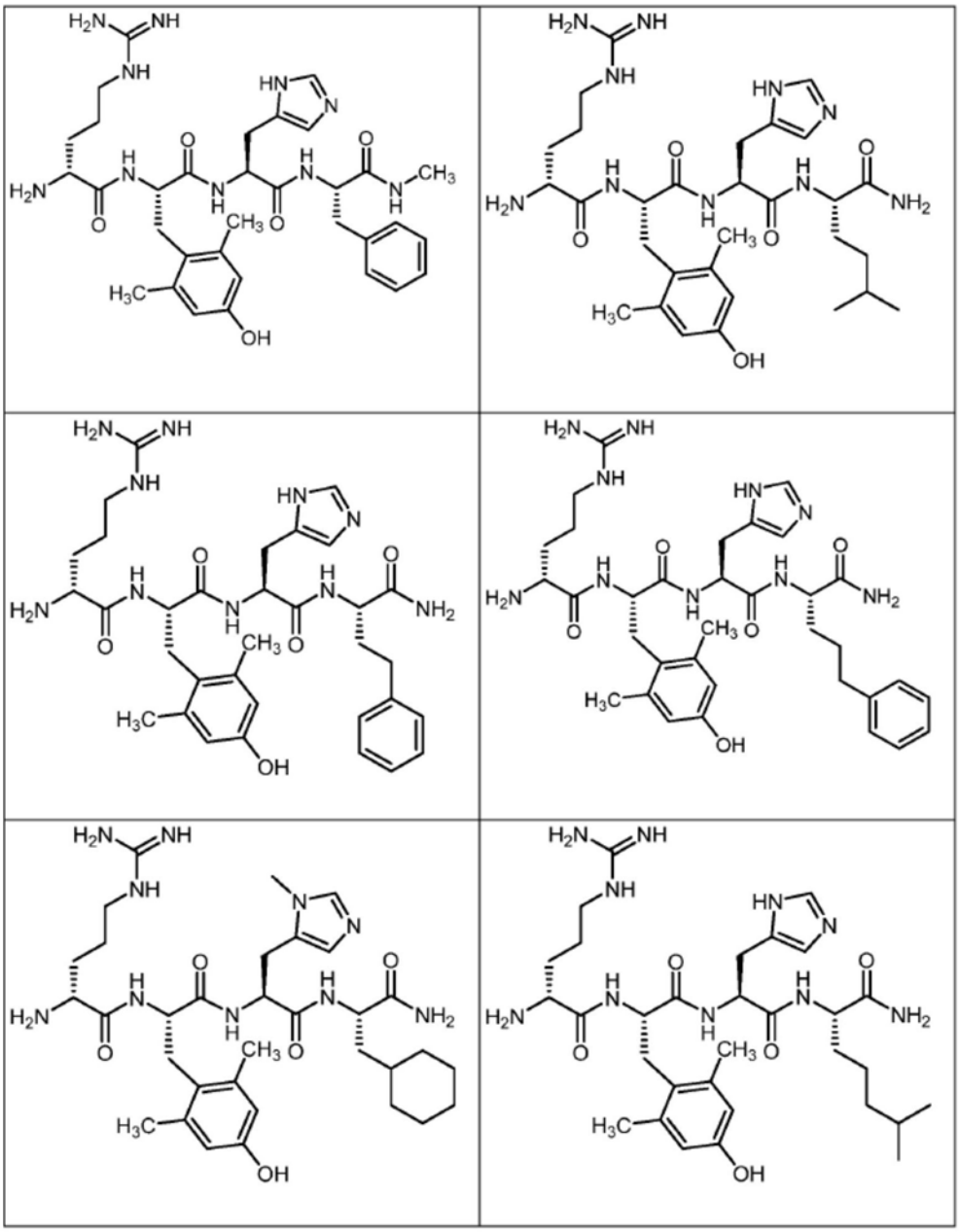
[0072]



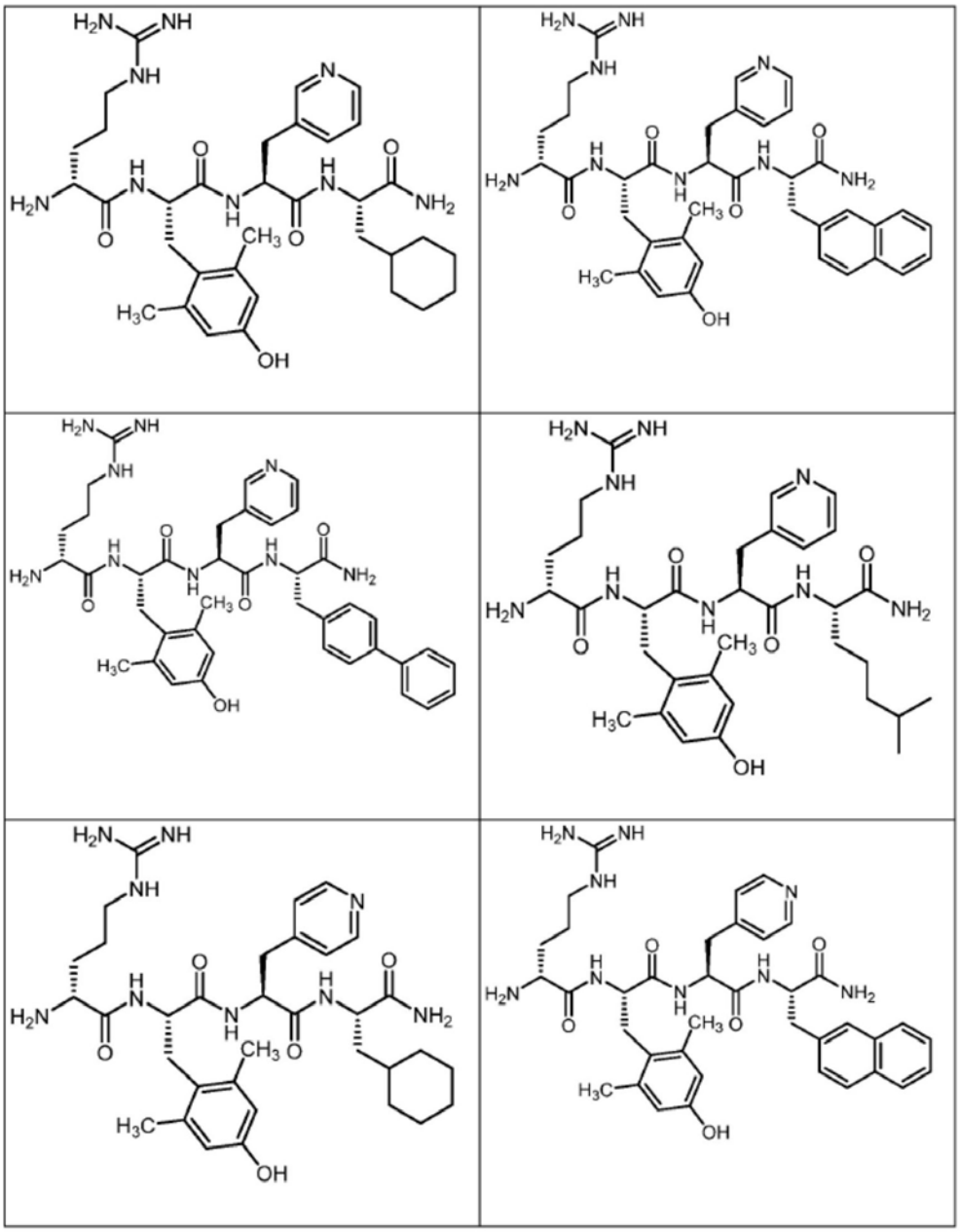
[0073]



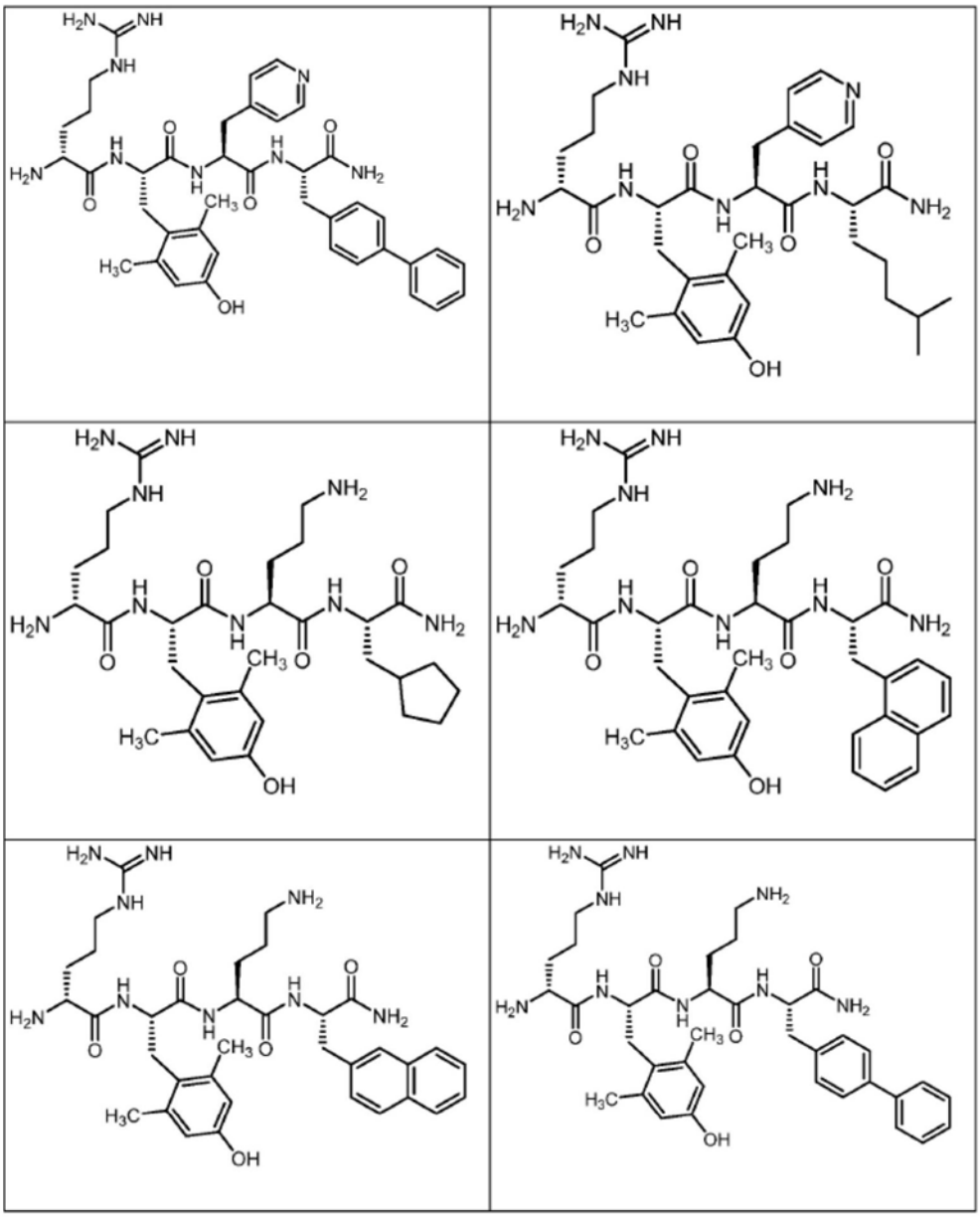
[0074]



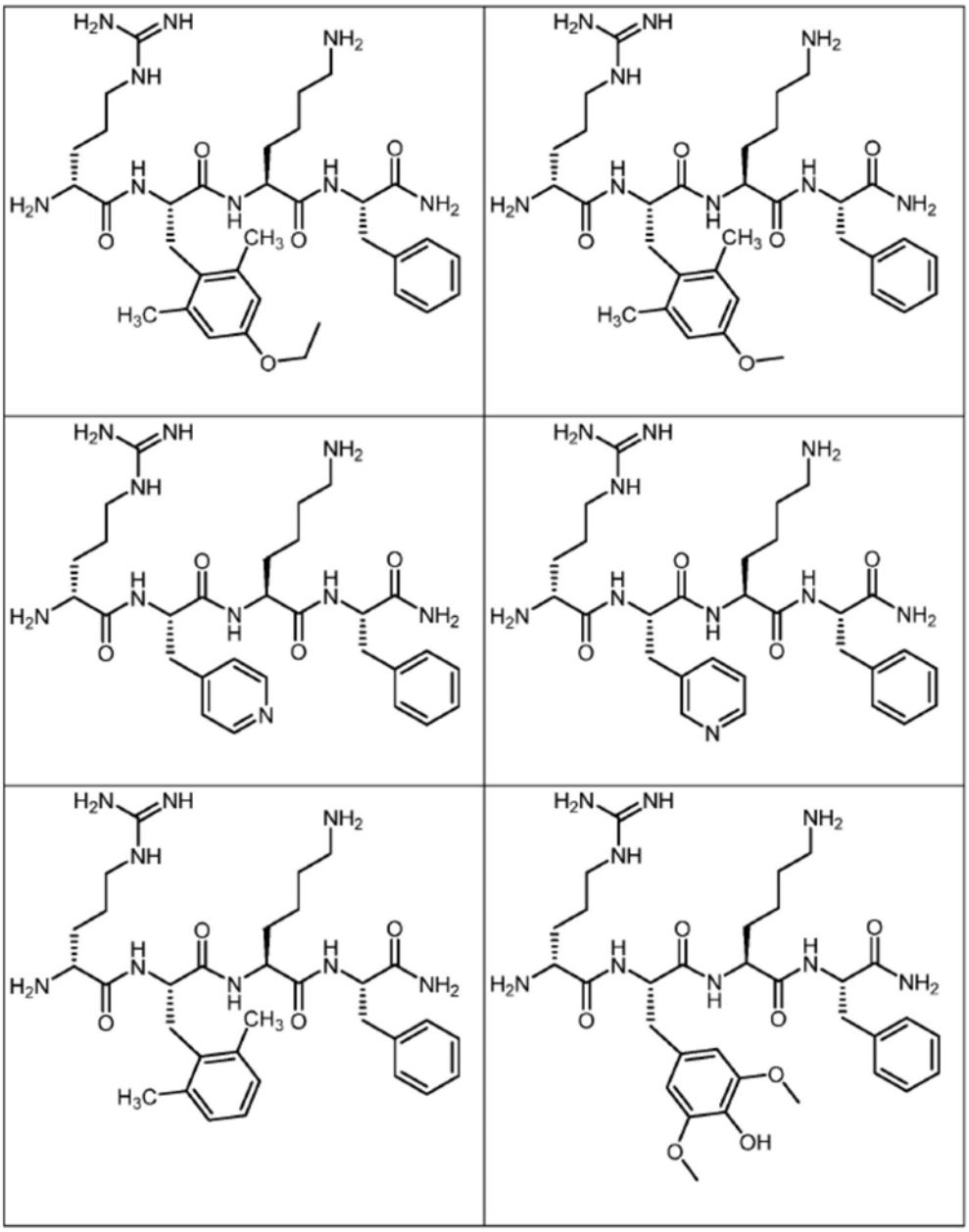
[0075]



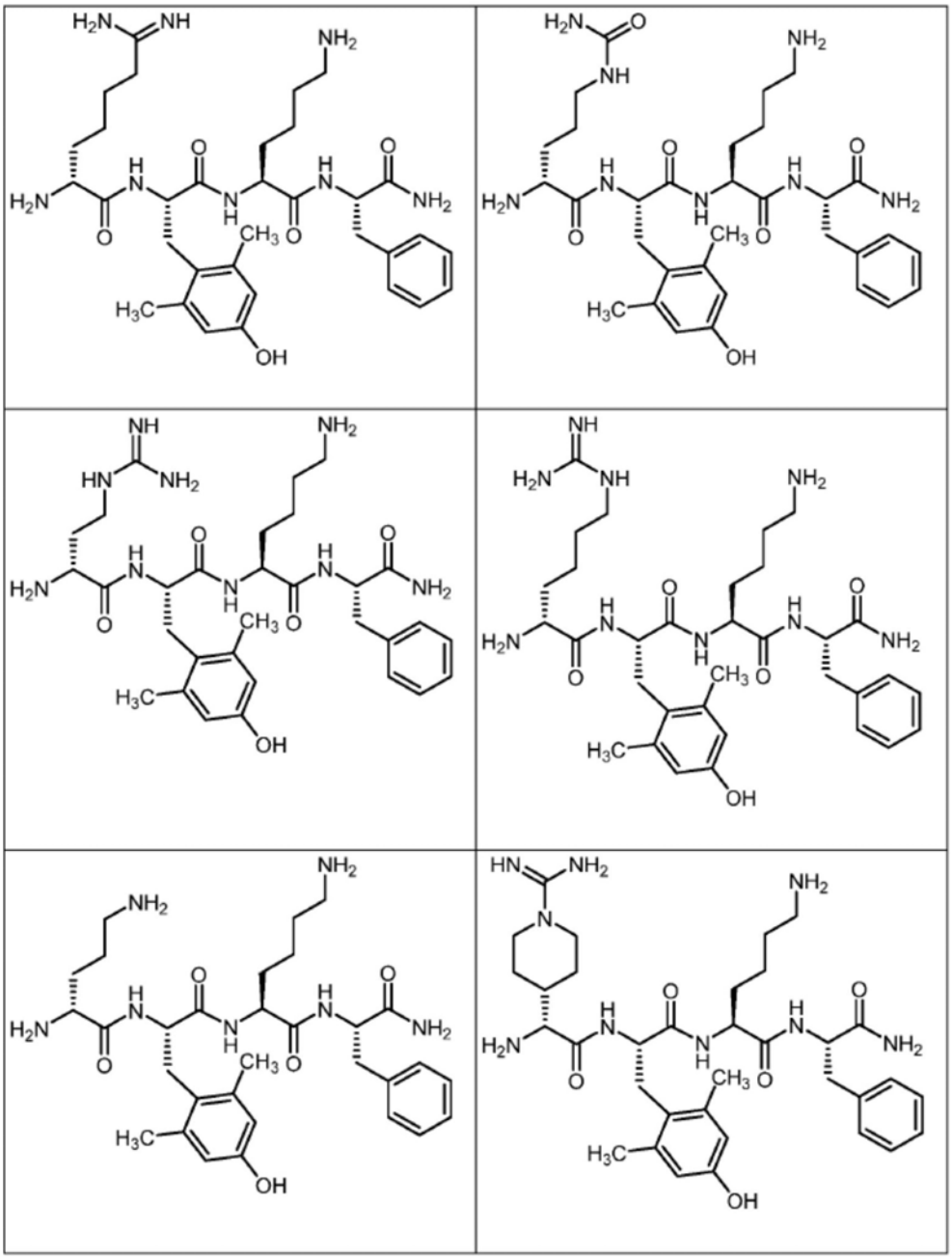
[0076]



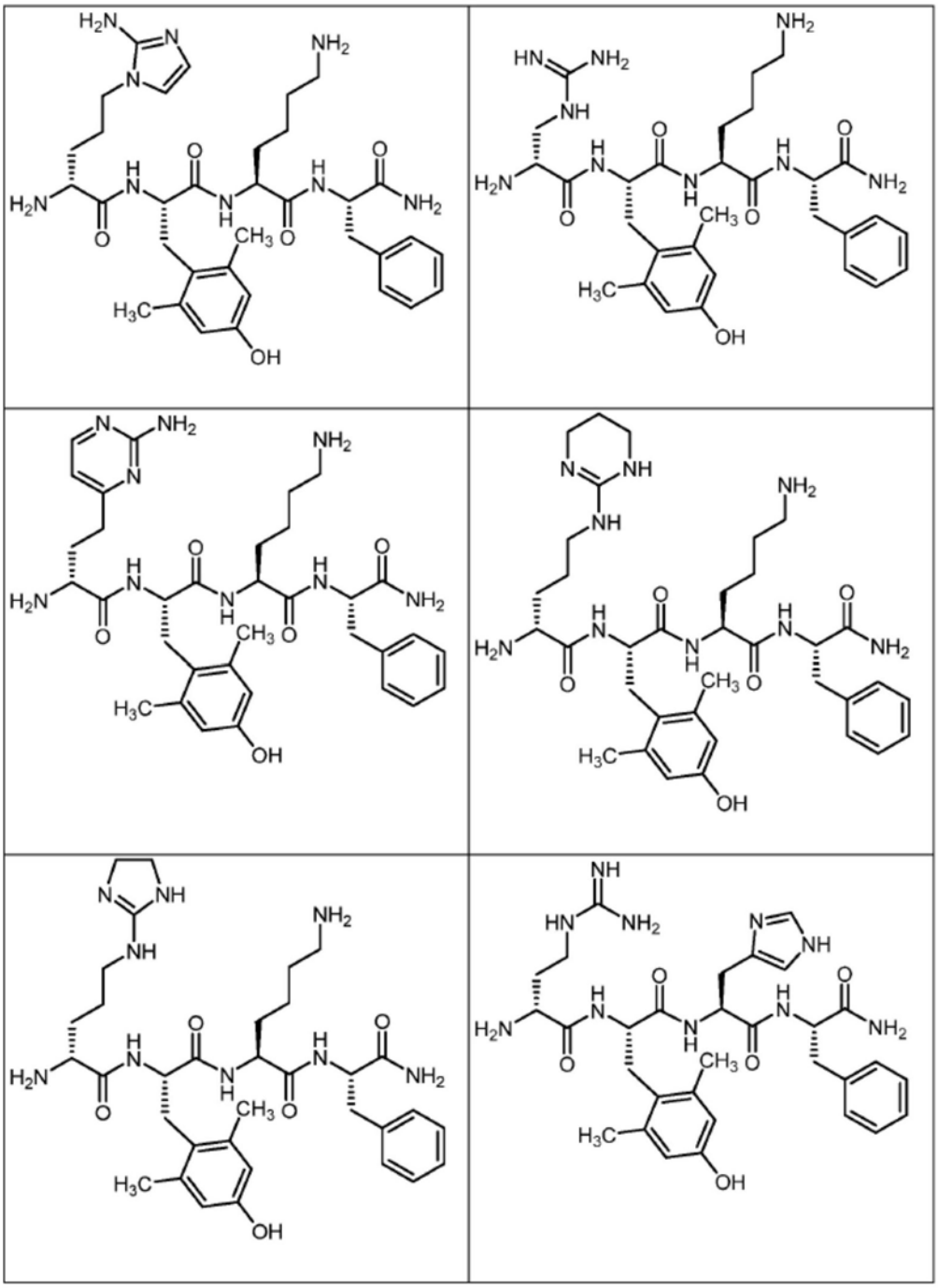
[0077]

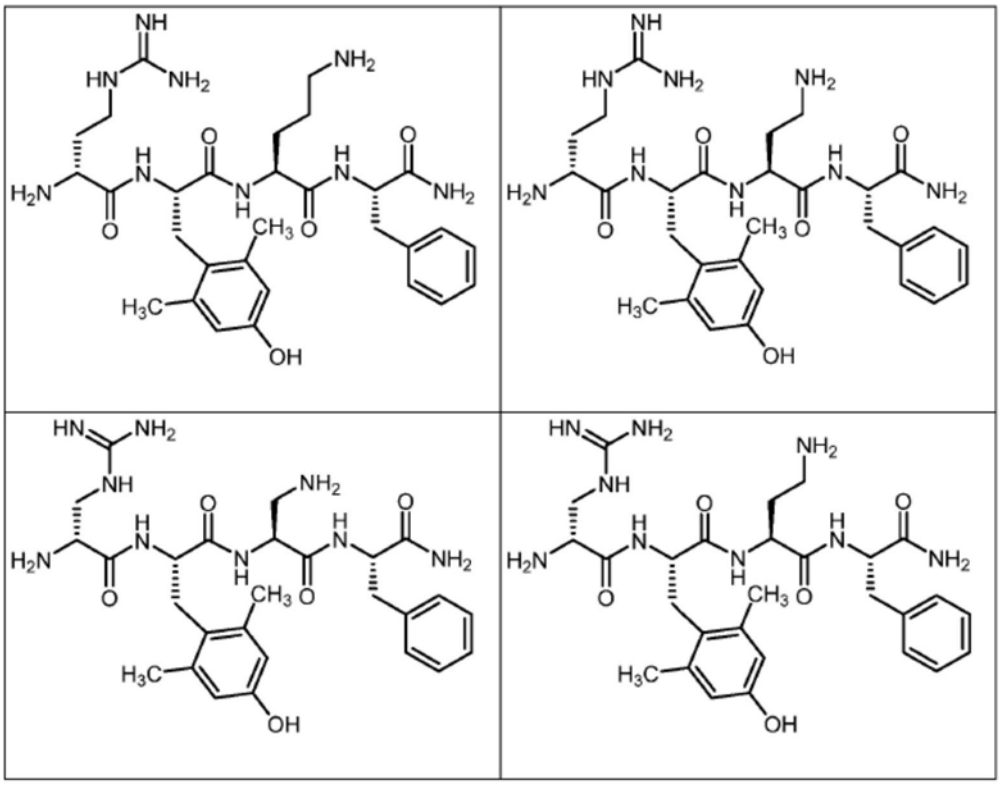


[0078]



[0079]



[0080] 

[0081] 肽合成

[0082] 本发明的肽化合物可使用肽合成方法(如常规液相肽合成或固相肽合成)或通过借助于自动化肽合成仪的肽合成来制备(Kelley等人,Genetics Engineering Principles and Methods,Setlow,J.K.编辑,Plenum Press NY.(1990)第12卷,第1至19页;Stewart等人,Solid-Phase Peptide Synthesis(1989)W.H.;Houghten,Proc.Natl.Acad.Sci.USA(1985)82:p.5132)。可通过常规方法,例如色谱法(如凝胶过滤色谱法、离子交换柱色谱法、亲和色谱法、反相柱色谱法和HPLC)、硫酸铵分级分离、超滤和免疫吸附来收集或纯化由此产生的肽。

[0083] 在固相肽合成中,通常从氨基酸链的羰基侧(C末端)至氨基侧(N末端)合成肽。在某些实施方案中,通常经由酯或酰胺键以及任选地经由连接基团,通过氨基酸的羧基将氨基保护的氨基酸共价结合至固体载体材料。可使用偶联试剂使氨基脱保护并与第二氨基保护的氨基酸的羰基反应(即"偶联"),从而产生与固体载体结合的二肽。可重复这些步骤(即脱保护、偶联)以形成所需的肽链。一旦所需的肽链完成,所述肽就可从固体载体裂解。

[0084] 在某些实施方案中,在氨基酸残基的氨基上使用的保护基团包括9-芴基甲基氧基羰基(Fmoc)和叔丁氧基羰基(Boc)。用碱从氨基末端除去Fmoc基团,而用酸除去Boc基团。在替代实施方案中,氨基保护基团可以是甲酰基;丙烯酰基(Acr);苯甲酰基(Bz);乙酰基(Ac);三氟乙酰基;芳烷氧基羰基类型的取代的或未取代的基团,如苄氧基羰基(Z)、对氯苄氧基羰基、对溴苄氧基羰基、对硝基苄氧基羰基、对甲氧基苄氧基羰基、二苯甲基氧基羰基、2(对联苯基)异丙氧基羰基、2-(3,5-二甲氧基苯基)异丙氧基羰基、对苯基偶氮苄氧基羰基、三苯基膦酰基乙基氧基羰基或9-芴基甲基氧基羰基(Fmoc);烷氧基羰基类型的取代的或未取代的基团,如叔丁氧基羰基(BOC)、叔戊基氧基羰基、二异丙基甲基氧基羰基、异丙氧基羰基、乙氧基羰基、烯丙氧基羰基、2甲基磺酰基乙基氧基羰基或2,2,2-三氯乙基氧基羰

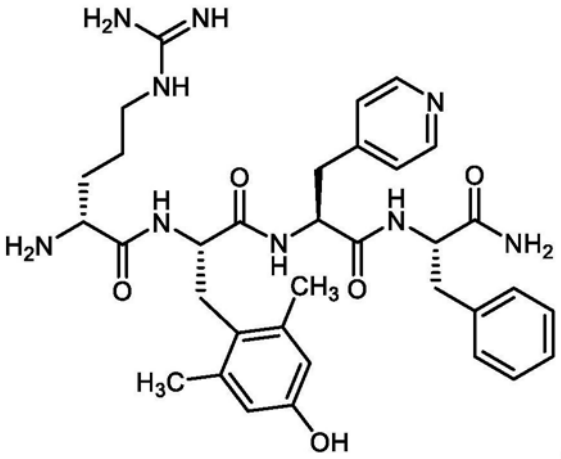
基;环烷氧基羰基类型的基团,如环戊基氧基羰基、环己基氧基羰基、金刚烷基氧基羰基或异冰片基氧基羰基;以及含杂原子的基团,如苯磺酰基、对甲苯磺酰基、均三甲苯磺酰基、甲氧基三甲基苯基磺酰基、2-硝基苯磺酰基、2-硝基苯亚磺酰基、4-硝基苯磺酰基或4-硝基苯亚磺酰基。

[0085] 许多氨基酸在侧链中携带反应性官能团。在某些实施方案中,保护此类官能团以防止官能团与进入的氨基酸反应。与这些官能团一起使用的保护基团必须对肽合成的条件稳定,但是可在从固体载体裂解肽之前、之后或同时除去。

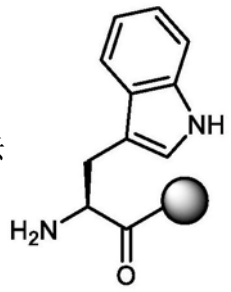
[0086] 在某些实施方案中,用于固相肽合成方法中的固体载体材料是凝胶型载体,如聚苯乙烯、聚丙烯酰胺或聚乙二醇。或者,可将诸如多孔玻璃、纤维素纤维或聚苯乙烯的材料在其表面上官能化以提供用于肽合成的固体载体。

[0087] 可用于本文所述的固相肽合成中的偶联试剂通常是碳二亚胺试剂。碳二亚胺试剂的实例包括但不限于N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC)、N-环己基-N'-异丙基碳二亚胺(CIC)、N,N'-二异丙基碳二亚胺(DIC)、N-叔丁基-N'-甲基碳二亚胺(BMC)、N-叔丁基-N'-乙基碳二亚胺(BEC)、双[[4-(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烯基)]-甲基]碳二亚胺(BDDC)和N,N-二环戊基碳二亚胺。DCC是优选的偶联试剂。

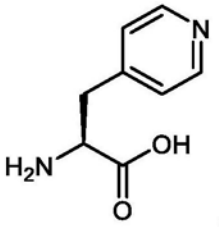
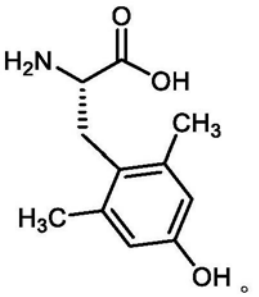
[0088] 在某些实施方案中,根据方案1中描绘的固相合成,以线性顺序方式合成本发明的化合物,例如下图所示的化合物:

[0089] 

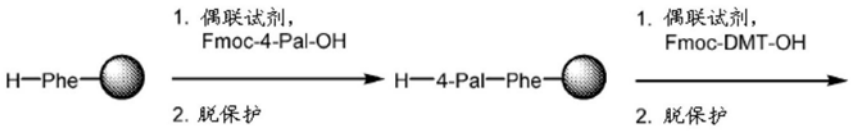
。

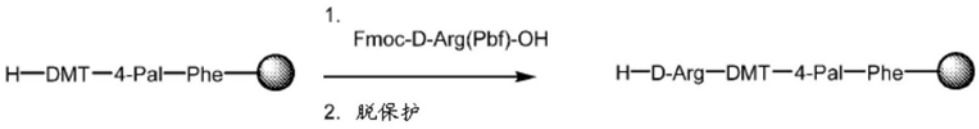
[0090] 作为参考,在以下方案中,H—Trp—● 表示 

,其中● 表示固体载体和任选的连接基团。另外,缩写4-Pal表示3-(4-吡啶基)-丙氨酸的残基。3-(4-吡啶

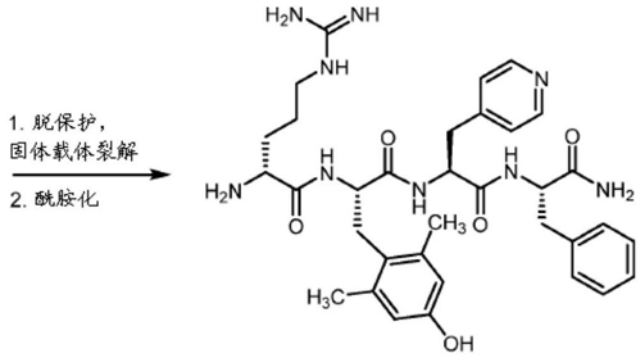
基)-丙氨酸具有以下结构：。缩写DMT表示2,6-二甲基酪氨酸的残基。2,6-二甲基酪氨酸具有以下结构：。

[0091] 方案1



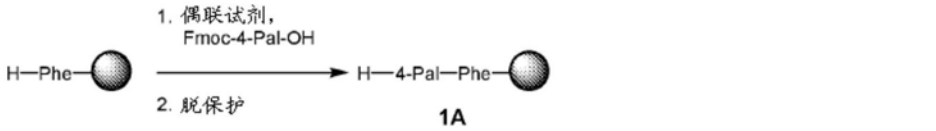



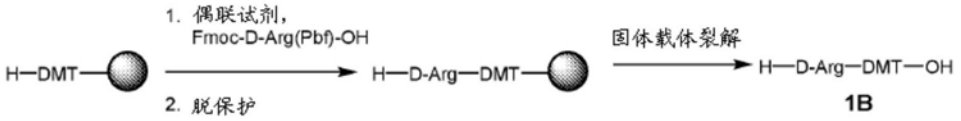

[0092]



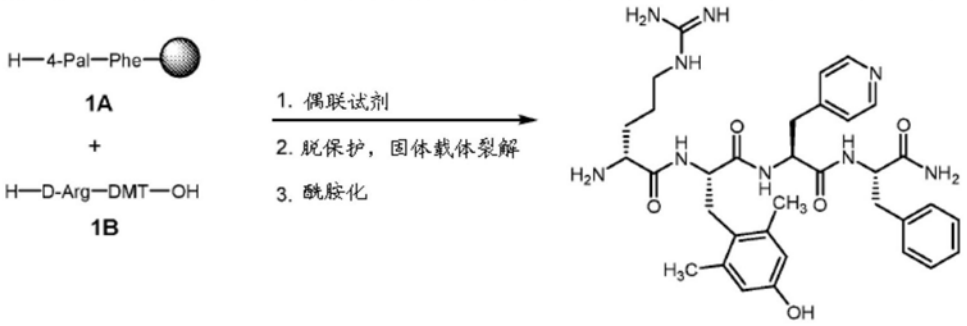

[0093] 或者，本发明的化合物可根据方案2以汇集方式合成：

[0094] 方案2



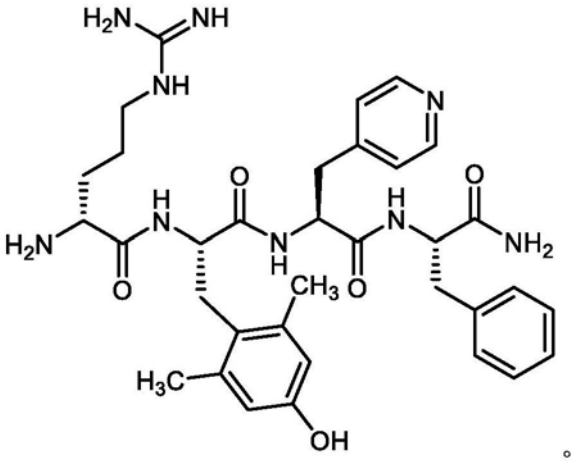




[0095]



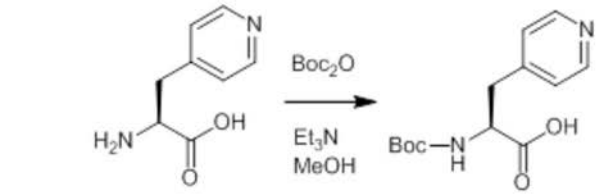

[0096] 本发明的化合物也可根据常规液相肽合成途径来合成。例如，下图所示的化合物可在汇集液相合成中合成，如方案3所描绘。

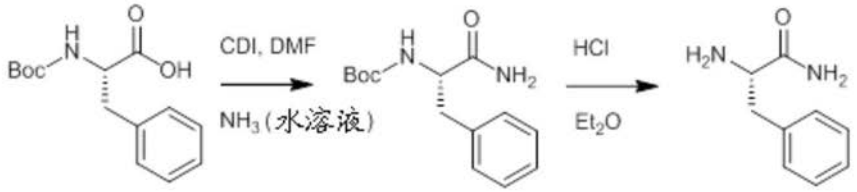
[0097]



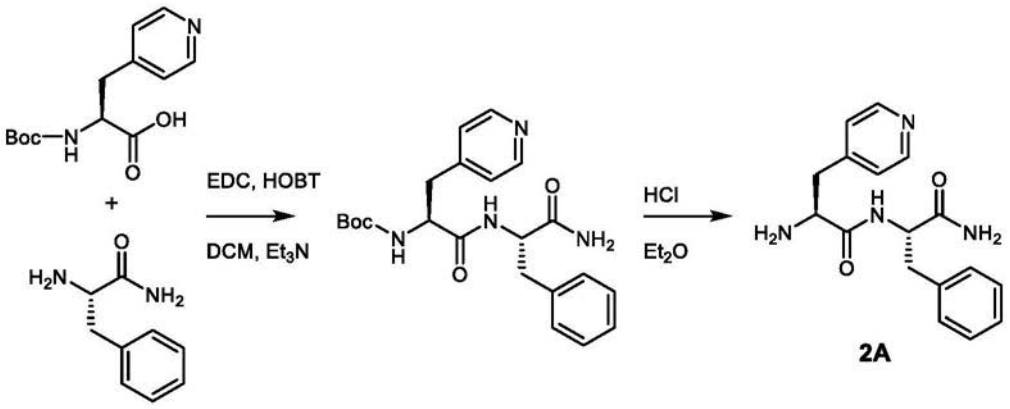
。

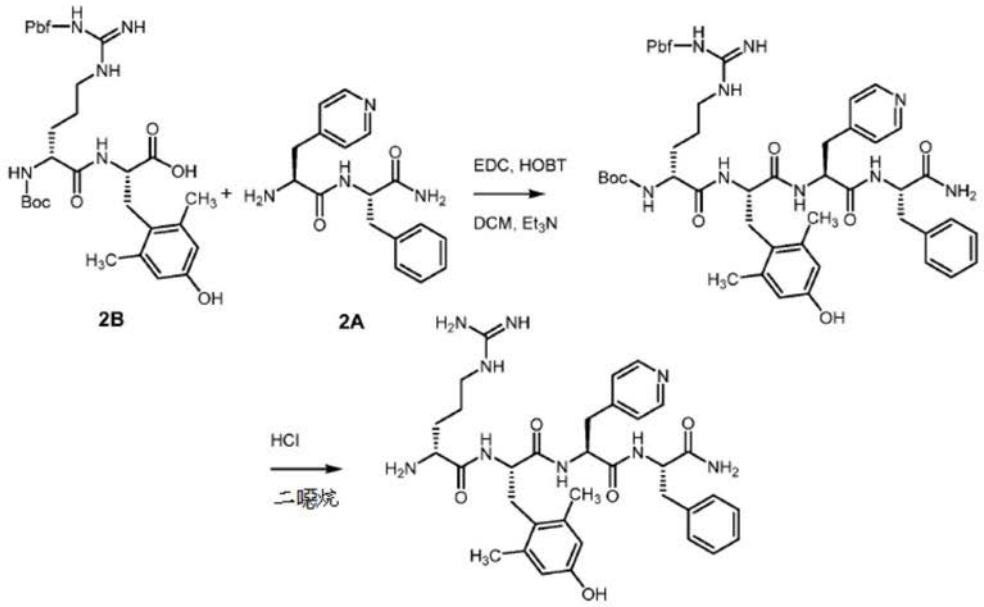
[0098] 方案3




[0099]

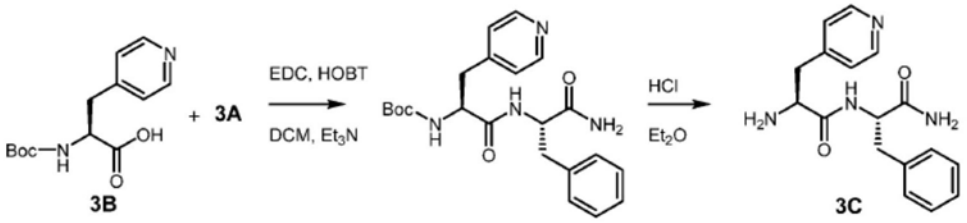


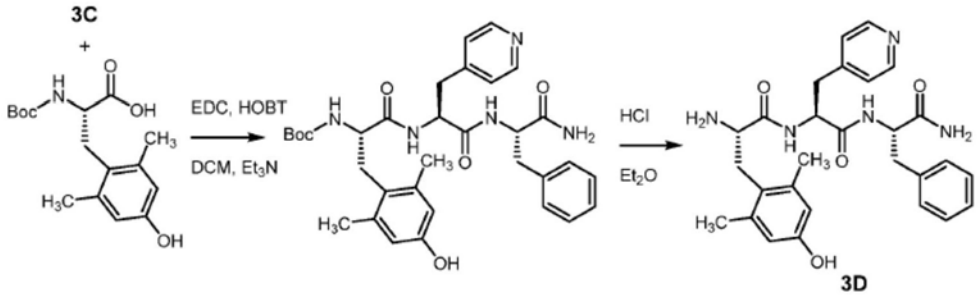

[0100] 在另一个示例性实施方案中,本发明的化合物通过方案4中描绘的线性顺序液相合成来制备。

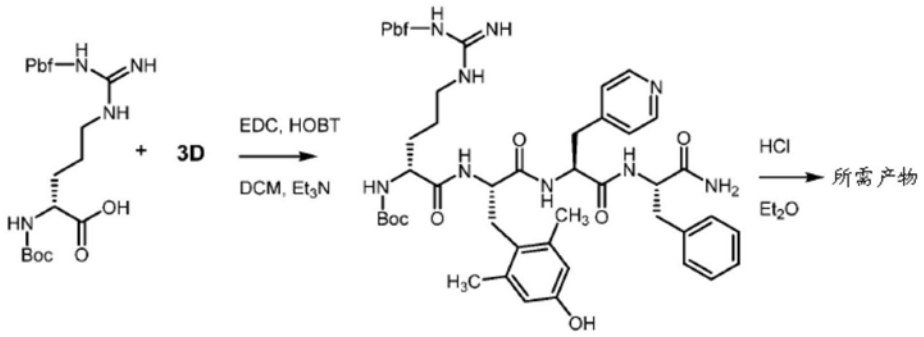
[0101] 方案4




[0102]




[0103] 定义

[0104] 用于定义本文所述的肽化合物的命名法是本领域通常使用的命名法,其中N末端的氨基出现在左边,并且C末端的羧基出现在右边。

[0105] 如本文所用,术语“氨基酸”包括天然存在的氨基酸和非天然氨基酸。除非另外指明,否则术语“氨基酸”包括分离的氨基酸分子(即,包含氨基连接的氢和羰基碳连接的羟基两者的分子)和氨基酸的残基(即,其中氨基连接的氢或羰基碳连接的羟基中的任一者或两者被除去的分子)。氨基可以是α-氨基、β-氨基等。例如,术语“氨基酸丙氨酸”可指分离的丙氨酸H-Ala-OH或丙氨酸残基H-Ala-、-Ala-OH或-Ala-中的任一个。除非另有说明,否则本文所述的化合物中发现的所有氨基酸可呈D或L构型。呈D构型的氨基酸可书写成使得“D”在氨基酸缩写之前。例如,“D-Arg”表示呈D构型的精氨酸。术语“氨基酸”包括其盐,包括药学上可接受的盐。任何氨基酸可为保护或未保护的。保护基团可连接至氨基(例如α-氨基)、主链羧基或侧链的任何官能团。作为实例,在α-氨基上被苄氧羰基(Z)保护的苯丙氨酸将表示为Z-Phe-OH。

[0106] 本文使用的许多氨基酸是可商购的,或者是本领域已知的。

[0107] 除N末端氨基酸外,本公开中所有的氨基酸缩写(例如,Phe)代表—NH—C(R)

(R′)—CO—的结构,其中R和R'各自独立地是氢或氨基酸的侧链(例如,对于Phe,R=苄基并且R′=H)。因此,苯丙氨酸是H-Phe-OH。对于这些氨基酸或对于肽(例如,Lys-Val-Leu-OH),名称"OH"指示C末端是游离酸。在例如Phe-D-Arg-Phe-Lys-$NH_2$中的名称"$NH_2$"指示受保护的肽片段的C末端被酰胺化。此外,单独或组合作为环结构的某些R和R'可包括在液相合成过程中需要保护的官能团。

[0108] 在氨基酸具有异构体形式的情况下,除非另外明确指示为D形式(例如D-Arg),否则所代表的是氨基酸的L形式。值得注意的是,许多氨基酸残基均可以D-和L-形式商购。例如,D-Arg是可商购的D-氨基酸。

[0109] 与氨基酸残基的缩写结合使用的大写字母"D"是指氨基酸残基的D形式。

[0110] 如本文所用,术语"肽"是指通过至少一个酰胺键(即,一个氨基酸的氨基与选自肽片段的另一个氨基酸的羧基之间的键)共价连接的两个或更多个氨基酸。术语"肽"包括其盐,包括药学上可接受的盐。

[0111] 冠词"一个/种(a/an)"在本文中用来指代冠词的语法对象中的一个或多于一个(即,"至少一个")。通过举例,"一个元件"意指一个元件或多于一个元件。

[0112] 如本文所用,术语"烷基"是本领域的术语,并且是指饱和脂族基团,包括直链烷基、支链烷基、环烷基(脂环族)基团、烷基取代的环烷基和环烷基取代的烷基。在某些实施方案中,直链或支链烷基在其主链中具有约30个或更少碳原子(例如,对于直链$C_1$-$C_{30}$,对于支链$C_3$-$C_{30}$),以及可替代地约20个或更少、10个或更少(即,$C_1$-$C_{10}$)或6个或更少(即,$C_1$-$C_6$)。烷基的代表性实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基和正己基。

[0113] 如本文所用的术语"杂环基"是指非芳族环系统的基团,包括但不限于单环、双环和三环,其可以是完全饱和的或者其可含有一个或多个不饱和单元(为避免疑问,不饱和度不产生芳族环系统)并且具有3至12个原子,包括至少一个杂原子,如氮、氧或硫。为了举例说明的目的,不应解释为限制此术语的范围,以下是杂环基环的实例:氮丙啶基、吖丙啶基(azirinyl)、环氧乙烷基、硫杂环丙烷基、硫杂环丙烯基(thiirenyl)、二环氧乙烷基、二吖丙啶基、氮杂环丁二烯基(azetyl)、氧杂环丁烷基、氧杂环丁二烯基(oxetyl)、硫杂环丁烷基、硫杂环丁二烯基(thietyl)、二氮杂环丁烷基、二氧杂环丁烷基、二氧杂环丁烯基、二硫杂环丁烷基、二硫杂环丁二烯基、呋喃基、二氧戊环基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、噁二唑基、噻二唑基、三唑基、三嗪基、异噻唑基、异噁唑基、苯硫基、吡唑基、四唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基、四嗪基、喹啉基、异喹啉基、喹喔啉基、喹唑啉基、吡啶并吡嗪基、苯并噁唑基、苯并苯硫基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、苯并噁二唑基、苯并噻二唑基、吲哚基、苯并三唑基、萘啶基、氮杂卓、氮杂环丁烷基、吗啉基、氧代哌啶基、氧代吡咯烷基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基、quinicludinyl、硫代吗啉基、四氢吡喃基和四氢呋喃基。

[0114] 本发明还提供了本发明化合物的盐。

[0115] 如本文所用的术语"药学上可接受的盐"包括源自无机酸或有机酸的盐,所述无机酸或有机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、磷酸、甲酸、乙酸、乳酸、马来酸、富马酸、琥珀酸、酒石酸、乙醇酸、水杨酸、柠檬酸、甲磺酸、苯磺酸、苯甲酸、丙二酸、三氟乙酸、三氯乙酸、萘-2-磺酸以及其它酸。药学上可接受的盐形式可包括其中包含所述盐的分子的比例不为1:1的形式。例如,盐可包含碱的每个分子多于一个无机或有机酸分子,如化合物

的每个分子两个盐酸分子。作为另一个实例，盐可包含碱的每个分子少于一个无机或有机酸分子，如酒石酸的每个分子化合物的两个分子。

[0116] 如本文所用的术语“载体”和“药学上可接受的载体”是指与化合物一起施用或配制用于施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒介物。此类药学上可接受的载体的非限制性实例包括液体，如水、盐水和油；和固体，如阿拉伯胶、明胶、淀粉糊、滑石、角蛋白、胶体二氧化硅、尿素等。此外，可使用助剂、稳定剂、增稠剂、润滑剂和着色剂。合适的药物载体的其它实例描述于E.W.Martin的Remington'sPharmaceutical Sciences中，所述文献以引用的方式整体并入本文。

[0117] 如本文所用，“抑制(inhibit)”或“抑制(inhibiting)”意指与对照相比降低客观上可测量的量或程度。在一个实施方案中，抑制或抑制意指与对照相比降低至少统计学上显著的量。在一个实施方案中，抑制或抑制意指与对照相比降低至少5％。在各个单独实施方案中，抑制或抑制意指与对照相比降低至少10％、15％、20％、25％、30％、33％、40％、50％、60％、67％、70％、75％、80％、90％、95％或99％。

[0118] 如本文所用，术语“治疗(treating)”和“治疗(treat)”是指进行干预以使得(a)预防疾患或疾病在可能有发展所述疾患或疾病的风险或易患所述疾患或疾病、但尚未被诊断为患有所述疾患或疾病的受试者中发生；(b)抑制疾患或疾病，例如减缓或阻止其发展或进展；或(c)减轻或改善疾患或疾病，例如引起所述疾患或疾病消退。在一个实施方案中，术语“治疗(treating)”和“治疗(treat)”是指进行干预以使得(a)抑制疾患或疾病，例如减缓或阻止其发展；或(b)减轻或改善疾患或疾病，例如引起所述疾患或疾病消退。

[0119] 如本文所用，“受试者”是指活动物。在各个实施方案中，受试者是哺乳动物。在各个实施方案中，受试者是非人类哺乳动物，包括但不限于小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠、兔、绵羊、山羊、猫、狗、猪、马、牛或非人类灵长类动物。在某些实施方案中，受试者是人。

[0120] 如本文所用，“施用”具有其通常的含义，并且涵盖通过任何合适的施用途径施用，所述施用途径包括但不限于静脉内、肌肉内、腹膜内、皮下、直接注射、粘膜、吸入、口服和局部。

[0121] 如本文所用，短语“有效量”是指足以实现所需生物作用的任何量。“治疗有效量”是足以实现所需的治疗效果，例如治疗缺血-再灌注损伤的量。

[0122] 本发明的化合物及其盐可与其它治疗剂组合。本发明的化合物和其它治疗剂可同时或顺序施用。当同时施用其它治疗剂时，它们可在相同或分开的制剂中施用，但它们基本上同时施用。当其它治疗剂和本发明化合物的施用在时间上分开时，所述其它治疗剂与彼此并与本发明化合物顺序施用。施用这些化合物之间的时间分隔可能是几分钟，或者它可更长。

[0123] 药物组合物、施用途径和给药

[0124] 在某些实施方案中，本发明涉及药物组合物，所述药物组合物包含本发明的化合物和药学上可接受的载体。在某些实施方案中，所述药物组合物包含多种本发明的化合物和药学上可接受的载体。

[0125] 在某些实施方案中，本发明的药物组合物还包含除本发明化合物以外的至少一种另外的药物活性剂。所述至少一种另外的药物活性剂可以是用于治疗缺血-再灌注损伤的剂。

[0126] 本发明的药物组合物可通过将一种或多种本发明的化合物与药学上可接受的载体和任选的一种或多种另外的药物活性剂组合来制备。

[0127] 如上所述，“有效量”是指足以实现所需生物作用的任何量。结合本文提供的教义，通过在各种活性化合物和权重因子如效力、相对生物利用度、患者体重、不良副作用的严重程度和施用模式之中选择，可计划有效的预防或治疗方案，所述方案不会引起实质性不想要的毒性并且对于治疗特定受试者是有效的。用于任何特定应用的有效量可取决于诸如所治疗的疾病或病状、所施用的特定本发明化合物、受试者的大小或疾病或病状的严重程度的因素而变化。本领域的普通技术人员可凭经验确定本发明的具体化合物和/或其它治疗剂的有效量而无需过度实验。可使用最大剂量，即根据一些医学判断的最高安全剂量。可考虑每天多个剂量以实现化合物的适当全身水平。适当的全身水平可通过例如测量患者的峰值或持续血浆药物水平来确定。“剂量”和“用量”在本文中可互换使用。

[0128] 在某些实施方案中，化合物的静脉内施用通常可以是0.1mg/kg/天至20mg/kg/天。在一个实施方案中，化合物的静脉内施用通常可以是0.1mg/kg/天至2mg/kg/天。在一个实施方案中，化合物的静脉内施用通常可以是0.5mg/kg/天至5mg/kg/天。在一个实施方案中，化合物的静脉内施用通常可以是1mg/kg/天至20mg/kg/天。在一个实施方案中，化合物的静脉内施用通常可以是1mg/kg/天至10mg/kg/天。

[0129] 一般来说，对于人受试者，化合物的每日口服剂量将是每天约0.01毫克/kg至每天1000毫克/kg。预期每天一次或多次施用的在0.5至50毫克/kg范围内的口服剂量将产生治疗结果。取决于施用模式，可适当地调整剂量以实现所需的局部或全身性药物水平。例如，预期静脉内施用将是每天一个数量级至几个数量级的较低剂量。如果受试者的反应在此类剂量下不足，则可采用甚至更高的剂量(或通过不同的更局部的递送途径的有效更高剂量)至患者耐受允许的程度。预期每天多个剂量以实现化合物的适当全身水平。

[0130] 对于本文所述的任何化合物，治疗有效量可初始地从动物模型确定。治疗有效剂量也可根据已经在人中进行了测试的化合物和已知表现出类似药理学活性的化合物(例如其它相关活性剂)的人数据确定。对于胃肠外施用，可能需要更高的剂量。所施加的剂量可基于所施用化合物的相对生物利用度和效力进行调整。基于上述方法和本领域中众所周知的其它方法调整剂量以实现最大功效完全在普通技术人员的能力范围内。

[0131] 本发明的制剂可以药学上可接受的溶液施用，所述溶液可常规地含有药学上可接受浓度的盐、缓冲剂、防腐剂、相容性载体、佐剂以及任选的其它治疗成分。

[0132] 为了用于治疗，可通过将化合物递送至所需表面的任何模式将有效量的化合物施用至受试者。施用药物组合物可通过本领域的技术人员已知的任何方式来完成。施用途径包括但不限于静脉内、肌内、腹膜内、膀胱内(膀胱)、口服、皮下、直接注射(例如，注射到肿瘤或脓肿中)、粘膜(例如眼部局部)、吸入和局部。

[0133] 对于静脉内和其它肠胃外施用途径，本发明的化合物可被配制成冻干制剂、脂质体嵌入或包封的活性化合物的冻干制剂、水性悬浮液中的脂质复合物或盐复合物。冻干制剂通常在施用前不久在合适的水溶液中，例如在无菌水或盐水中重构。

[0134] 对于口服施用，可通过使一种或多种活性化合物与本领域熟知的药学上可接受的载体组合而容易地配制化合物。此类载体使得本发明的化合物能够被配制成用于由待治疗的患者口服摄取的片剂、丸剂、糖衣剂、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等。用于口服使

用的药物制剂可通过以下方式获得:添加固体赋形剂,任选地研磨所得混合物,并且(如果需要)在添加合适的助剂之后,加工颗粒的混合物以获得片剂或糖衣丸核心。合适的赋形剂具体地是填充剂如糖类,包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨糖醇;纤维素制剂,例如像玉米淀粉、小麦淀粉、米淀粉、土豆淀粉、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧基甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。如果需要,可添加崩解剂,如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸或其盐,如海藻酸钠。任选地,口服制剂还可配制在盐水或缓冲液(例如用于中和内部酸性条件的EDTA)中,或者可在没有任何载体的情况下施用。

[0135] 还特别考虑了一种或多种上述组分的口服剂型。一种或多种组分可被化学改性,以使得衍生物的口服递送是有效的。一般来说,所考虑的化学改性是至少一个部分与组分分子本身的连接,其中所述部分允许(a)抑制酸水解;和(b)从胃或肠摄取到血流中。还需要一种或多种组分的整体稳定性的增加以及体内循环时间的增加。此类部分的实例包括:聚乙二醇、乙二醇与丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮以及聚脯氨酸。Abuchowski和Davis,"Soluble Polymer-Enzyme Adducts",In:Enzymes as Drugs,Hocenberg and Roberts,编辑,Wiley-Interscience,New York,N.Y.,第367-383页(1981);Newmark等人,J Appl Biochem 4:185-9(1982)。其它可使用的聚合物是聚-1,3-二氧戊环和聚-1,3,6-三氧杂环辛烷(tioxocane)。如上所述,对于药物用途,聚乙二醇部分是合适的。

[0136] 对于组分(或衍生物),释放的位置可以是胃、小肠(十二指肠、空肠或回肠)或大肠。本领域的技术人员具有可用的制剂,所述制剂将不会溶解在胃中,但将物质释放在十二指肠或肠中的其它地方中。优选地,通过保护本发明的化合物(或衍生物)或通过将生物活性物质释放到胃环境以外(如肠中),释放将避免胃环境的有害作用。

[0137] 为了确保完全的胃阻力,不可渗透至少pH 5.0的包衣是必不可少的。用作肠溶衣的更常见的惰性成分的实例是乙酸偏苯三酸纤维素(CAT)、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素(HPMCP)、HPMCP 50、HPMCP55、聚乙酸邻苯二甲酸乙烯酯(PVAP)、Eudragit L30D、Aquateric、邻苯二甲酸乙酸纤维素(CAP)、Eudragit L、Eudragit S以及虫胶。这些包衣可用作混合膜。

[0138] 片剂上也可使用包衣或包衣的混合物,所述片剂不意图用于提供针对胃的保护。这可包括糖衣或使片剂易于吞咽的包衣。胶囊可由用于递送干燥治疗剂(例如粉末)的硬壳(如明胶)组成;对于液体形式,可使用软明胶壳。扁囊剂的壳材料可以是厚淀粉或其它可食用纸。对于丸剂、锭剂、模制片剂或片剂研磨剂,可使用湿润成团技术。

[0139] 治疗剂可作为呈粒度约1mm的颗粒或小丸形式的精细多微粒包含在制剂中。用于胶囊施用的材料的制剂也可作为粉末、略微压制的栓剂或甚至作为片剂。治疗剂可通过压制来制备。

[0140] 着色剂和调味剂都可包括在内。例如,可配制本发明的化合物(或衍生物)(如通过脂质体或微球封装),且然后进一步包含在可食用产品如含有着色剂和调味剂的冷冻饮料中。

[0141] 可用惰性材料稀释或增加治疗剂的体积。这些稀释剂可包括碳水化合物,特别是甘露糖醇、α-乳糖、无水乳糖、纤维素、蔗糖、改性的葡聚糖以及淀粉。某些无机盐也可用作填充剂,包括三磷酸钙、碳酸镁和氯化钠。一些可商购的稀释剂是Fast-Flo、Emdex、STA-

Rx1500、Emcompress以及Avicell。

[0142] 崩解剂可包含在治疗剂制剂中成为固体剂型。用作崩解剂的材料包括但不限于淀粉，包括基于淀粉的商业崩解剂Explotab。淀粉羟乙酸钠、安伯来特、羧甲基纤维素钠、超支链淀粉、海藻酸钠、明胶、橙皮、酸性羧甲基纤维素、天然海绵以及膨润土都可使用。另一种形式的崩解剂是不溶性阳离子交换树脂。粉状树胶可用作崩解剂和粘合剂，并且这些可包括粉状树胶如琼脂、刺梧桐胶或黄芪胶。海藻酸及其钠盐也用作崩解剂。

[0143] 可使用粘合剂来将治疗剂保持在一起以形成硬片剂并且包括来自天然产物如阿拉伯胶、黄芪胶、淀粉以及明胶的材料。其它包括甲基纤维素(MC)、乙基纤维素(EC)和羧甲基纤维素(CMC)。聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和羟丙基甲基纤维素(HPMC)两者均可用于醇溶液中以使治疗剂颗粒化。

[0144] 抗摩擦剂可包含于治疗剂的配方中以防止配制过程中的粘连。润滑剂可用作治疗剂与模壁之间的层，并且这些可包括但不限于：硬脂酸(包括其镁盐和钙盐)、聚四氟乙烯(PTFE)、液体石蜡、植物油以及蜡。也可使用可溶性润滑剂，如月桂基硫酸钠、月桂基硫酸镁、各种分子量的聚乙二醇、Carbowax 4000和6000。

[0145] 可添加助流剂，所述助流剂可在配制过程中改进药物的流动性质并在压制过程中帮助重排。助流剂可包括淀粉、滑石、热解二氧化硅以及水合硅铝酸盐。

[0146] 为了帮助治疗剂溶解到水性环境中，可添加表面活性剂作为润湿剂。表面活性剂可包括阴离子洗涤剂，如月桂基硫酸钠、磺基丁二酸钠二辛酯和磺酸钠二辛酯。可使用阳离子洗涤剂，并且可包括苯扎氯铵和苄索氯铵。可作为表面活性剂包含在制剂中的潜在非离子型洗涤剂包括聚桂醇400、聚氧乙烯40硬脂酸酯、聚氧乙烯氢化蓖麻油10、50和60、单硬脂酸甘油酯、聚山梨酯40、60、65和80、蔗糖脂肪酸酯、甲基纤维素以及羧甲基纤维素。这些表面活性剂可单独或作为不同比例的混合物存在于本发明化合物或衍生物的制剂中。

[0147] 可口服使用的药物制剂包括由明胶制成的推入配合型胶囊(push-fit capsule)以及由明胶和增塑剂(如甘油或山梨糖醇)制成的软密封型胶囊。推入配合型胶囊可含有与填充剂(如乳糖)、粘合剂(如淀粉)和/或润滑剂(如滑石或硬脂酸镁)以及任选的稳定剂混合的活性成分。在软胶囊中，活性化合物可溶解或悬浮于合适的液体，如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇中。此外，可添加稳定剂。为口服施用配制的微球也可使用。此类微球在本领域中已被良好地定义。用于口服施用的所有制剂都应处于适用于这种施用的剂量。

[0148] 对于经颊施用，组合物可采用以常规方式配制的片剂或锭剂的形式。

[0149] 对于局部施用，化合物可被配制为本领域中熟知的溶液、凝胶、软膏、乳膏、悬浮液等。全身制剂包括被设计用于通过注射(例如皮下、静脉内、肌内、鞘内或腹膜内注射)施用的制剂，以及被设计用于经皮、经粘膜口服或肺部施用的那些制剂。

[0150] 对于吸入施用，根据本发明使用的化合物可使用适合的推进剂(例如，二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它合适的气体)从加压包装或喷雾器以气溶胶喷雾剂呈现形式方便地递送。在加压气雾剂的情况下，可以通过提供阀门以便递送计量的量来确定剂量单位。可配制含有化合物与适合的粉末基质(如乳糖或淀粉)的粉末混合物的用于在吸入器或吹入器中使用的(例如)明胶的胶囊和药筒。

[0151] 本文也考虑了本文公开的化合物(或其盐)的肺部递送。化合物在吸入时被递送至哺乳动物的肺并穿过肺上皮层至血流。其它吸入分子的报告包括Adjei等人，Pharm Res 7:

565-569(1990);Adjei等人,Int JPharmaceutics 63:135-144(1990)(醋酸亮丙瑞林);Braquet等人,JCardiovasc Pharmacol 13(增刊5):143-146(1989)(内皮素-1);Hubbard等人,Annal Int Med 3:206-212(1989)(α1-抗胰蛋白酶);Smith等人,1989,J Clin Invest 84:1145-1146(a-1-蛋白酶);Oswein等人,1990,"Aerosolization of Proteins",Proceedings of Symposium on Respiratory Drug Delivery II,Keystone,Colorado,March,(重组人生长激素);Debs等人,1988,J Immunol 140:3482-3488(干扰素γ和肿瘤坏死因子α)以及Platz等人,美国专利号5,284,656(粒细胞集落刺激因子;以引用的方式并入)。出于全身作用用于药物的肺部递送的方法和组合物描述于Wong等人的1995年9月19日发布的美国专利号5,451,569(以引用的方式并入)中。

[0152] 考虑用于本发明的实践中的是被设计用于肺部递送治疗产品的广泛范围的机械装置,包括但不局限于雾化器、计量剂量吸入器以及粉末吸入器,这些全部是本领域的技术人员所熟悉的。

[0153] 适用于本发明实践的可商购装置的一些具体实例是由Mallinckrodt,Inc.,St.Louis,Mo.制造的Ultravent雾化器;由Marquest Medical Products,Englewood,Colo.制造的Acorn II雾化器;由Glaxo Inc.,Research Triangle Park,North Carolina制造的Ventolin计量剂量吸入器;以及由Fisons Corp.,Bedford,Mass.制造的Spinhaler粉末吸入器。

[0154] 所有此类装置都需要使用适用于分配本发明化合物的制剂。通常,每种制剂对于所用装置的类型具有特异性,并且除了适用于治疗的常用稀释剂、佐剂和/或载体之外,还可涉及使用适当的推进剂材料。此外,考虑使用脂质体、微胶囊或微球、包合复合物或其它类型的载体。取决于化学改性的类型或所用装置的类型,本发明的化学改性的化合物也可以不同的制剂制备。

[0155] 适用于与喷雾器(喷射型或超声波型)一起使用的制剂通常将包含以每mL溶液约0.1至25mg本发明的生物活性化合物的浓度溶于水中的本发明化合物(或衍生物)。所述制剂还可包含缓冲剂和简单糖(例如,用于抑制剂稳定化和调控渗透压)。喷雾器制剂也可含有表面活性剂以降低或防止由溶液在形成气雾剂时的雾化引起的表面诱导的本发明化合物的聚集。

[0156] 与计量剂量吸入器装置一起使用的制剂通常将包含含有借助于表面活性剂悬浮在推进剂中的本发明化合物(或衍生物)的细碎粉末。推进剂可以是用于此目的的任何常规材料,如氯氟烃、氢氯氟烃、氢氟烃或烃,包括三氯氟甲烷、二氯二氟甲烷、二氯四氟乙醇以及1,1,1,2-四氟乙烷或其组合。合适的表面活性剂包括脱水山梨糖醇三油酸酯和大豆卵磷脂。油酸也用作表面活性剂。

[0157] 用于从粉末吸入器装置分配的制剂将包含含有本发明化合物(或衍生物)的细碎干燥粉末,并且还可包含促进粉末从所述装置分散的量(例如制剂的50重量%-90重量%)的增积剂,如乳糖、山梨糖醇、蔗糖或甘露糖醇。本发明化合物(或衍生物)应有利地以平均粒度小于10微米(μm)、最优选0.5至5μm的微粒形式制备,以最有效地递送至肺深部。

[0158] 还考虑本发明的药物组合物的经鼻递送。经鼻递送允许本发明的药物组合物在将治疗产品施用于鼻后直接进入血流,而无需将产品沉积在肺中。用于经鼻递送的制剂包括具有葡聚糖或环糊精的制剂。

[0159] 对于经鼻施用，有用的装置是附有计量剂量喷雾器的小硬瓶。在一个实施方案中，通过将本发明溶液的药物组合物抽吸到限定体积的腔室中来递送计量剂量，所述腔室具有尺寸设定为在腔室中的液体被压缩时通过形成喷雾而使气雾剂制剂雾化的孔。所述腔室被压缩以施用本发明的药物组合物。在具体实施方案中，所述腔室是活塞布置。此类设备是可商购的。

[0160] 或者，使用具有孔或开口的塑料挤压瓶，所述孔或开口的尺寸设定为在使用挤压时通过形成喷雾而使气雾剂制剂雾化。开口通常位于瓶的顶部中，并且所述顶部通常是锥形的以部分配合在鼻道中以有效施用气雾剂制剂。优选地，鼻吸入器将提供计量量的气雾剂制剂，以用于施用测量剂量的药物。

[0161] 当需要全身递送化合物时，所述化合物可配制用于通过注射(例如通过快速浓注或连续输注)进行胃肠外施用。注射用制剂可以单位剂量呈现，例如在安瓿中或在多剂量容器中，并加有防腐剂。组合物可采用诸如于油性或水性媒介物中的悬浮液、溶液或乳液的形式，且可含有诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂的配制剂。

[0162] 用于肠胃外施用的药物制剂包括呈水溶性形式的活性化合物的水溶液。此外，活性化合物的悬浮液可被制备为适当的油性注射悬浮液。合适的亲脂性溶剂或媒介物包括脂肪油(如芝麻油)或合成脂肪酸酯(如油酸乙酯或甘油三酸酯)或脂质体。水性注射悬浮液可含有增加悬浮液粘度的物质，如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或葡聚糖。任选地，悬浮液也可包含合适的稳定剂或增加化合物的溶解度以允许制备高浓度溶液的试剂。

[0163] 或者，活性化合物可呈在使用前用合适媒介物(例如无菌无热原水)复原的粉末形式。

[0164] 化合物还可被配制为直肠或阴道组合物，如(例如)含有常规栓剂基质(如可可脂或其它甘油酯)的栓剂或保留灌肠剂。

[0165] 除以上所述的制剂以外，化合物还可被配制为储库制剂。此类长效制剂可用合适的聚合或疏水性材料(例如，配制为在可接受的油中的乳液)或离子交换树脂配制，或配制为微溶性衍生物，例如配制为微溶性盐。

[0166] 药物组合物还可包含合适的固体或凝胶相载体或赋形剂。此类载体或赋形剂的实例包括但不限于碳酸钙、磷酸钙、各种糖、淀粉、纤维素衍生物、明胶和聚合物如聚乙二醇。

[0167] 合适的液体或固体药物制剂形式是例如用于吸入的水性或盐水溶液，微囊化、螺旋化、涂覆到微观金颗粒上，包含于脂质体中，雾化去污剂，用于植入皮肤中的球丸或干燥到尖锐物体上以划入皮肤中。药物组合物还包括颗粒、粉末、片剂、包衣片剂、(微)胶囊、栓剂、糖浆、乳液、混悬液、乳膏、滴剂或延长释放活性化合物的制剂，在所述制剂中赋形剂和添加剂和/或诸如崩解剂、粘合剂、包衣剂、溶胀剂、润滑剂、调味剂、甜味剂或增溶剂的助剂通常如上所述使用。药物组合物适用于多种药物递送系统中。对于药物递送方法的简评，参见Langer R,Science 249:1527-33(1990)。

[0168] 本发明的化合物和任选的其它治疗剂可本身(净)或以药学上可接受的盐的形式施用。当在药物中使用时，盐应该是药学上可接受的，但是非药学上可接受的盐可常规地用于制备其药学上可接受的盐。此类盐包括但不限于由以下酸制备的那些盐：盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、马来酸、乙酸、水杨酸、对甲苯磺酸、酒石酸、柠檬酸、甲磺酸、甲酸、丙二酸、琥珀酸、萘-2-磺酸以及苯磺酸。而且，此类盐可被制备成碱金属盐或碱土金属盐，如羧

酸基团的钠盐、钾盐或钙盐。

[0169] 合适的缓冲剂包括:乙酸和盐(1-2%w/v);柠檬酸和盐(1-3%w/v);硼酸和盐(0.5-2.5%w/v);以及磷酸和盐(0.8-2%w/v)。合适的防腐剂包括苯扎氯铵(0.003-0.03%w/v);氯丁醇(0.3-0.9%w/v);对羟基苯甲酸酯(0.01-0.25%w/v)和硫柳汞(0.004-0.02%w/v)。

[0170] 本发明的药物组合物含有有效量的如本文所述的化合物和任选地包含在药学上可接受的载体中的治疗剂。术语“药学上可接受的载体”是指适于向人或其它脊椎动物施用的一种或多种相容的固体或液体填充剂、稀释剂或包封物质。术语“载体”表示天然的或合成的有机或无机成分,活性成分与所述载体组合以促进应用。药物组合物的组分还能够与本发明的化合物以及与彼此以这样一种方式共混:所述方式使得不存在会实质性地减损所需药物效率的相互作用。

[0171] 治疗剂(具体地包括但不限于本发明的化合物)可以颗粒形式提供。如本文所用的颗粒是指可全部或部分由本发明化合物或本文所述的其它治疗剂组成的纳米颗粒或微颗粒(或在一些情况下较大颗粒)。颗粒可包含被包衣(包括但不限于肠溶包衣)包围的核心中的治疗剂。治疗剂也可分散在整个颗粒中。治疗剂也可被吸附到颗粒中。颗粒可具有任何级数的释放动力学,包括零级释放、一级释放、二级释放、延迟释放、持续释放、立即释放及其任何组合等。除治疗剂外,颗粒还可包含药学和药物领域中常规使用的那些材料中的任一种,包括但不限于可侵蚀的、不可侵蚀的、可生物降解的或不可生物降解的材料或其组合。颗粒可以是含有处于溶液或半固体状态的本发明化合物的微胶囊。颗粒可具有实际上任何形状。

[0172] 生物不可降解和生物可降解的聚合物材料均可用于制造用于递送治疗剂的颗粒。此类聚合物可以是天然的或合成的聚合物。基于期望释放的时间段来选择聚合物。特别感兴趣的生物粘附聚合物包括Sawhney H S等人(1993)Macromolecules 26:581-7中描述的生物可侵蚀性水凝胶,其教义并入本文。这些包括聚透明质酸、酪蛋白、明胶、明胶蛋白、聚酸酐、聚丙烯酸、海藻酸盐、壳聚糖、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(甲基丙烯酸乙酯)、聚(甲基丙烯酸丁酯)、聚(甲基丙烯酸异丁酯)、聚(甲基丙烯酸己酯)、聚(甲基丙烯酸异癸酯)、聚(甲基丙烯酸月桂酯)、聚(甲基丙烯酸苯酯)、聚(丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸异丙酯)、聚(丙烯酸异丁酯)以及聚(丙烯酸十八烷基酯)。

[0173] 一种或多种治疗剂可包含在控制释放系统中。术语“控制释放”意图指任何含药物的制剂,其中控制从制剂中释放药物的方式和概况。这是指立即释放和非立即释放制剂,其中非立即释放制剂包括但不限于持续释放制剂和延迟释放制剂。术语“持续释放”(也称为“延长释放”)以其常规意义用于指在延长的时间段内提供药物的逐渐释放并且优选地(但不一定)在延长的时间段内产生药物的基本上恒定的血液水平的药物制剂。术语“延迟释放”以其常规意义用于指药物制剂,其中在施用制剂与从其释放药物之间存在时间延迟。“延迟释放”可能或可能不涉及在延长的时间段内逐渐释放药物,并且因此可能或可能不是“持续释放”。

[0174] 长期持续释放植入物的使用可能特别适用于慢性病状的治疗。如本文所用,“长期”释放是指植入物被构建且布置成递送治疗水平的活性成分持续至少7天,并且优选30-60天。长期持续释放植入物是本领域的普通技术人员所熟知的并且包括上述释放系统中的

一些。

[0175] 相关领域的普通技术人员将理解，根据本文所包含的本发明的描述，鉴于本领域普通技术人员已知的信息，对本文所述的组合物和方法的其它合适的修改和改编是显而易见的，并且可在不脱离本发明或其任何实施方案的范围的情况下进行。现已详细描述本发明，通过参考以下实施例将更明确地了解本发明，所述实施例是仅出于说明目的包括于此且不意图限制本发明。

[0176] 使用方法

[0177] 本发明提供了用于治疗或预防缺血-再灌注损伤或心肌梗塞或与心肌梗塞相关的损伤的肽化合物。

[0178] 因此，在某些实施方案中，本发明涉及治疗或预防缺血-再灌注损伤的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本文所述的式(I)化合物或其药学上可接受的化合物。在某些此类实施方案中，缺血-再灌注损伤是心脏缺血-再灌注损伤。在一些实施方案中，化合物经口服、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌内施用。

[0179] 在其它实施方案中，本发明提供了用于治疗或预防心肌梗塞的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的式(I)化合物，或其药学上可接受的盐。此类方法可通过预防梗塞的起始或进展来防止再灌注时对心脏的损伤。在一些实施方案中，化合物经口服、局部、全身、静脉内、皮下、腹膜内或肌内施用。

[0180] 缺血是组织或器官的血液供应降低或减少，并且具有许多不同的原因。缺血可以是局部的，例如由血栓或栓子引起；或者可以是更总体的，例如由于低灌注压力。缺血事件可导致低氧(氧气减少)和/或缺氧(不存在氧)。

[0181] 哺乳动物的组织或器官中的缺血是由氧剥夺(低氧)和/或葡萄糖(例如底物)剥夺引起的多方面的病理学状况。组织或器官的细胞中的氧和/或葡萄糖剥夺导致能量产生能力的降低或完全丧失，并且因此导致跨细胞膜的活性离子转运的功能丧失。氧和/或葡萄糖剥夺还导致其它细胞膜的病理变化，包括线粒体膜的通透性转变。此外，其它分子，如通常在线粒体内分隔的凋亡蛋白，可能渗漏到细胞质中并且导致凋亡细胞死亡。深度缺血可导致坏死细胞死亡。

[0182] 特定组织或器官的缺血或低氧可由组织或器官的血液供应丧失或严重减少引起。血液供应的丧失或严重减少可能是由于例如血栓栓塞性中风、冠状动脉粥样硬化或周围血管疾病。受缺血或低氧影响的组织通常是肌肉，如心肌、骨骼肌或平滑肌。

[0183] 受缺血或低氧影响的器官可以是遭受缺血或低氧的任何器官。举例来说，但不以限制的方式，心肌缺血或低氧通常是由动脉粥样硬化或血栓形成堵塞引起的，其导致通过心脏动脉和毛细血管供血向心脏组织的氧气递送减少或丢失。这种心脏缺血或低氧可引起受影响的心肌疼痛和坏死，并且最终可能导致心力衰竭。

[0184] 再灌注是血液流动减少或阻塞的任何器官或组织的血流恢复。例如，血流可恢复至受缺血影响的任何器官或组织。血流的恢复(再灌注)可通过本领域技术人员已知的任何方法进行。例如，缺血性心脏组织的再灌注可源于血管成形术、冠状动脉旁路搭桥术或溶栓药物的使用。

[0185] 缺血-再灌注损伤是在一段时间的缺血后血液供应返回受影响区域时引起的细胞或组织损伤。缺血期间氧气和营养物质的缺乏造成循环恢复导致组织受损的疾患。作为举

例但不以限制的方式，心肌再灌注损伤的形式包括再灌注引起的心律不齐、心肌顿抑、表现为冠脉血流缓慢的微血管阻塞和致命的心肌再灌注损伤(即再灌注诱导的在指数缺血事件结束时存活的心肌细胞死亡)。研究表明，致命的心肌再灌注损伤占最终心肌梗塞面积的约50％。

[0186] 在某些实施方案中，肽经口服、静脉内或肠胃外施用。

[0187] 在某些实施方案中，受试者是人。

[0188] 本发明的肽化合物或其药学上可接受的盐(如乙酸盐、酒石酸盐或三氟乙酸盐)可以足以治愈或至少部分地阻止疾病的症状(包括疾病发展过程中的其并发症和中间病理表型)的量施用至疑似患有或已经患有缺血性损伤的受试者。可通过本领域已知的诊断或预后测定中的任一种或组合来鉴定患有缺血性损伤的受试者。作为举例，但不以限制的方式，在一些实施方案中，缺血性损伤与心脏缺血、脑缺血、肾缺血、脑缺血、肠缺血、肝缺血或心肌梗塞有关。

[0189] 作为举例，但不以限制的方式，心脏缺血的典型症状包括但不限于心绞痛(例如，胸痛和胸闷)、呼吸急促、心悸、虚弱、头晕、恶心、出汗、快速心跳和疲劳。

[0190] 在一些实施方案中，用本文公开的至少一种肽治疗被诊断患有心脏缺血的受试者可改善或消除心脏缺血的一种或多种以下症状：心绞痛(例如胸痛和胸闷)、呼吸急促、心悸、虚弱、头晕、恶心、出汗、快速心跳和疲劳。

[0191] 作为举例，但不以限制的方式，肾缺血的典型症状包括但不限于尿毒症(即，血液高水平的蛋白质副产物，例如尿素)、由肺部流体突然积聚引起的呼吸困难的急性发作(用力呼吸或呼吸困难)、高血压、肾脏附近感到疼痛、虚弱、高血压、恶心、腿痛史、反映腿部血液循环不良的大步前进以及可在颈部(例如，颈动脉杂音)、腹部(其可能反映肾动脉变窄)和腹股沟(股动脉杂音)中检测到的由动脉内血液湍流引起的杂音(用听诊器听见的声音或杂音)。

[0192] 在一些实施方案中，用本文公开的至少一种肽治疗被诊断患有肾缺血的受试者可改善或消除肾缺血的一种或多种以下症状：尿毒症(即，血液高水平的蛋白质副产物，例如尿素)、由肺部流体突然积聚引起的呼吸困难的急性发作(用力呼吸或呼吸困难)、高血压、肾脏附近感到疼痛、虚弱、高血压、恶心、腿痛史、反映腿部血液循环不良的大步前进以及可在颈部(例如，颈动脉杂音)、腹部(其可能反映肾动脉变窄)和腹股沟(股动脉杂音)中检测到的由动脉内血液湍流引起的杂音(用听诊器听见的声音或杂音)。

[0193] 作为举例，但不以限制的方式，脑(或脑)缺血的典型症状包括但不限于一只眼睛失明、一只手臂或一条腿无力、身体整个一侧的虚弱、头晕、眩晕、复视、身体两侧无力、说话困难、口齿不清以及协调感缺失。

[0194] 在一些实施方案中，用本文公开的至少一种肽治疗被诊断患有脑(或脑)缺血的受试者可改善或消除脑(或脑)缺血的一种或多种以下症状：一只眼睛失明、一只手臂或一条腿无力、身体整个一侧的虚弱、头晕、眩晕、复视、身体两侧无力、说话困难、口齿不清以及协调感缺失。

[0195] 在另一方面，本发明涉及治疗缺血再灌注损伤和/或与针对缺血再灌注损伤的现有疗法相关的副作用的方法。在治疗应用中，将包含至少一种本发明化合物或其药学上可接受的盐(如乙酸盐、酒石酸盐或三氟乙酸盐)的组合物或药物以足以治愈或至少部分地阻

止疾病的症状(包括疾病发展过程中的其并发症和中间病理表型)的量施用至疑似患有或已经患有缺血再灌注损伤的受试者。可通过本领域已知的诊断或预后测定中的任一种或组合来鉴定患有缺血-再灌注损伤的受试者。在一些实施方案中,缺血-再灌注损伤与心脏缺血、脑缺血、肾缺血、脑缺血、肠缺血和肝缺血有关。在一些实施方案中,本文公开的肽化合物用于治疗心脏缺血-再灌注损伤。

[0196] 在一些实施方案中,本文公开的肽化合物用于治疗受试者的心肌梗塞,以预防再灌注时对心脏的损伤。在一些实施方案中,本发明涉及冠状动脉血运重建的方法,所述方法包括向哺乳动物受试者施用治疗有效量的本发明的肽化合物或其药学上可接受的盐,并对所述受试者进行冠状动脉旁路搭桥术(CABG)。

[0197] 在一些实施方案中,用本文公开的肽化合物治疗心肌梗塞可减小梗塞面积、增加LVDP并增加最大收缩和舒张率(±dP/dt)。

[0198] 预防方法

[0199] 在一些实施方案中,本发明提供了用于预防有患缺血损伤风险的受试者中的缺血性损伤或缺血性损伤的症状或延迟其发作的方法。在一些实施方案中,本技术提供了用于预防或减轻有患缺血损伤风险的受试者中的缺血性损伤的症状的方法。

[0200] 在一些实施方案中,本发明提供了用于预防有患缺血-再灌注损伤风险的受试者中的缺血-再灌注损伤或缺血-再灌注损伤的症状或延迟其发作的方法。在一些实施方案中,本发明提供了用于预防或减轻有患缺血-再灌注损伤风险的受试者中的缺血再灌注损伤的症状的方法。

[0201] 在一些实施方案中,缺血性损伤、缺血-再灌注损伤或缺血性或缺血-再灌注损伤的症状与心脏缺血、脑缺血、肾缺血、脑缺血、肠缺血和肝缺血有关。在一些实施方案中,缺血性损伤是心肌梗塞。

[0202] 在一些实施方案中,本文公开的肽化合物用于治疗或预防心脏缺血-再灌注损伤。在一些实施方案中,本文公开的肽化合物用于预防心脏缺血-再灌注损伤。

[0203] 可通过例如本领域已知的诊断或预后测定中的任一种或组合来鉴定处于缺血性损伤或缺血-再灌注损伤风险的受试者。在预防性应用中,将本发明化合物或其药学上可接受的盐(如乙酸盐、酒石酸盐或三氟乙酸盐)的药物组合物或药物以足以消除疾病、降低疾病风险或延迟疾病发作(包括在疾病发展过程中出现的疾病的生物化学、组织学和/或行为症状、其并发症以及中间病理表型)或减轻疾病发展过程中出现的症状和/或并发症和中间病理表型的量施用于易患缺血性损伤或缺血再灌注损伤或有患缺血性损伤或缺血再灌注损伤的受试者。预防性肽的施用可在疾病或病症的特征性症状的表现之前发生,以使得疾病或病症得以预防,延迟其进展,或者疾病或病症的症状或副作用的严重程度降低。

[0204] 作为举例,在一些实施方案中,如果受试者患有冠状动脉疾病(动脉粥样硬化)、血凝块或冠状动脉痉挛,则所述受试者可能处于心脏缺血的风险。

[0205] 作为举例,但不以限制的方式,在一些实施方案中,如果受试者患有肾损伤(例如,急性肾损伤)和/或由于肾脏被剥夺正常血液流动持续延长时间段的手术(例如,心脏搭桥手术)引起的损伤或并发症,则所述受试者可处于肾缺血的危险中。

[0206] 作为举例,但不以限制的方式,在一些实施方案中,如果受试者患有镰状细胞性贫血、受压迫的血管、室性心动过速、动脉中斑块积聚、血栓、由于心脏病发作、有过中风或先

天性心脏缺陷所致的极低血压，则所述受试者可能处于脑缺血的风险。

[0207] 对于治疗性和/或预防性应用，将包含至少一种本文所述的肽化合物或其药学上可接受的盐(如乙酸盐、酒石酸盐或三氟乙酸盐)的组合物施用于有需要的受试者。在一些实施方案中，肽组合物每天施用1、2、3、4或5次。在一些实施方案中，每天施用肽组合物超过五次。另外或可替代地，在一些实施方案中，肽组合物每天、每隔一天、每三天、每四天、每五天或每六天施用。在一些实施方案中，肽组合物每周一次、每两周一次、每三周一次或每月一次施用。在一些实施方案中，施用肽组合物持续一周、两周、三周、四周或五周的时间段。在一些实施方案中，肽施用六周或更长时间。在一些实施方案中，肽施用十二周或更长时间。在一些实施方案中，肽施用少于一年的时间段。在一些实施方案中，肽施用超过一年的时间段。在一些实施方案中，用本文公开的至少一种肽治疗将预防心脏缺血的一种或多种以下症状或延迟其发作：心绞痛(例如胸痛和胸闷)、呼吸急促、心悸、虚弱、头晕、恶心、出汗、快速心跳和疲劳。

[0208] 在一些实施方案中，用本文公开的至少一种肽治疗将预防肾缺血的一种或多种以下症状或延迟其发作：尿毒症(即，血液高水平的蛋白质副产物，例如尿素)、由肺部流体突然积聚引起的呼吸困难的急性发作(用力呼吸或呼吸困难)、高血压、肾脏附近感到疼痛、虚弱、高血压、恶心、腿痛史、反映腿部血液循环不良的大步前进以及可在颈部(例如，颈动脉杂音)、腹部(其可能反映肾动脉变窄)和腹股沟(股动脉杂音)中检测到的由动脉内血液湍流引起的杂音(用听诊器听见的声音或杂音)。

[0209] 在一些实施方案中，用本文公开的至少一种肽治疗将预防脑(或脑)缺血的一种或多种以下症状或延迟其发作：一只眼睛失明、一只手臂或一条腿无力、身体整个一侧的虚弱、头晕、眩晕、复视、身体两侧无力、说话困难、口齿不清以及协调感缺失。

[0210] 评估代谢稳定性的方法

[0211] 在某些实施方案中，以下方法可用于评估本发明化合物的代谢稳定性。

[0212] 先前在以下参考文献中描述了某些体外肝脏代谢研究：Obach,RS,Drug Metab Disp,1999,27:1350;Houston,J B等人,Drug Metab Rev,1997,29:891;Houston,J B,Biochem Pharmacol,1994,47:1469;Iwatsubo,T等人,Pharmacol Ther,1997,73:147;以及Lave,T,等人,Pharm Res,1997,14:152。

[0213] 微粒体测定：人肝微粒体(20mg/mL)可从Xenotech,LLC(Lenexa,Kans.)获得。可从Sigma-Aldrich购买还原型β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)、氯化镁($MgCl_2$)和二甲基亚砜(DMSO)。

[0214] 代谢稳定性的确定：在DMSO中制备测试化合物的7.5mM储备溶液。将7.5mM储备溶液在乙腈(ACN)中稀释至12.5-50μM。将20mg/mL人肝微粒体在含有3mM $MgCl_2$的0.1M磷酸钾缓冲液(pH 7.4)中稀释至0.625mg/mL。将稀释的微粒体一式三份添加至96孔深孔聚丙烯板的孔中。将12.5-50μM测试化合物的10μL等分试样添加至微粒体中，并将混合物预热10分钟。通过添加预热的NADPH溶液来引发反应。最终反应体积是0.5mL，并且含有0.1M磷酸钾缓冲液(pH 7.4)和3mM $MgCl_2$中的0.5mg/mL人肝微粒体、0.25-1.0μM测试化合物和2mM NADPH。将反应混合物在37℃下孵育，并在0、5、10、20和30分钟时取出50μL等分试样，并添加至含有50μL冰冷ACN和内部标准品的浅孔96孔板中以终止反应。将板在4℃下储存20分钟，之后将100μL的水添加至板的孔中，然后离心以使沉淀的蛋白质沉降。将上清液转移至另一

个96孔板中,并使用Applied Bio-systems API 4000质谱仪通过LC-MS/MS分析剩余母体的量。测试一式三份进行。

[0215] 数据分析:测试化合物的体外半衰期($t_{1/2}$s)是根据母体剩余%(ln)对比孵育时间的线性回归的斜率计算的:体外$t_{1/2}$=0.693/k,其中k=-[母体剩余%(ln)对比孵育时间的线性回归的斜率]

[0216] 等效方案

[0217] 为了清楚地理解,已经通过说明和实施例的方式对本发明进行了详细描述,对于本领域的普通技术人员显而易见的是,可通过在广泛且等效的条件范围内修改或改变制剂和其它参数来执行本发明,而不影响本发明或其任何具体实施方案的范围,并且可此类修改或改变意图包括在所附权利要求的范围之内。

[0218] 以引用的方式并入

[0219] 以上描述中提到的所有美国专利以及美国和PCT公布的专利申请都以引用的方式整体并入本文。

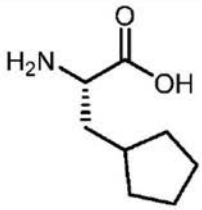
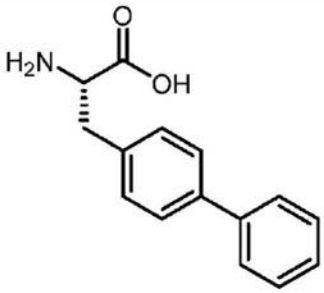
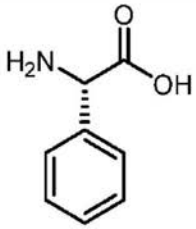
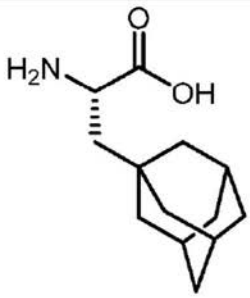
| CAS号 | 供应商(目录号)或文献引用 | 结构 |
|---|---|---|
| 96539-87-6 | Aldrich (38473) |  |
| 155760-02-4 | QM Bio (8253011) |  |
| 2935-35-5 | Alfa Aesar (30314) |  |
| 95975-81-8 | Do, 等人Helvetica,1979, 第62卷, 第4期, 956-964。 |  |

图1

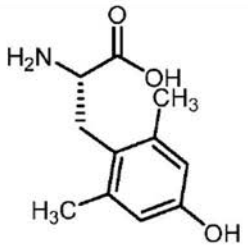
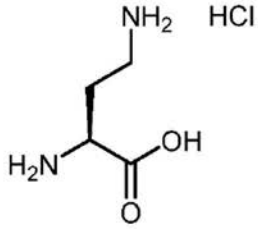
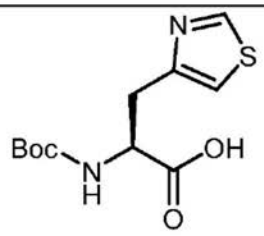
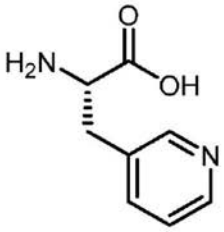
| CAS号 | 供应商(目录号)<br>或文献引用 | 结构 |
|---|---|---|
| 81806-45-3 | e-Novation Chemicals (D111000) |  |
| 1482-98-0 | Aldrich (19589) |  |
| 119434-75-2 | Aldrich (670553) |  |
| 70702-47-5 | Alfa Aesar (H63132) |  |

图2