[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl[7]
C07C323/59
A61K 31/195 A61K 31/22
A61K 31/225

[12]发明专利申请公开说明书

[21]申请号 99804227.7

[43]公开日 2001年5月2日

[11]公开号 CN 1293659A

[22]申请日 1999.3.16 [21]申请号 99804227.7
[30]优先权
[32]1998.3.20 [33]SE [31]9800932-7
[86]国际申请 PCT/SE99/00415 1999.3.16
[87]国际公布 WO99/48865 英 1999.9.30
[85]进入国家阶段日期 2000.9.20
[71]申请人 阿斯特拉曾尼卡有限公司
地址 瑞典南泰利耶
[72]发明人 H·贝里斯特兰德 J·达门
B·赛恩斯特兰德

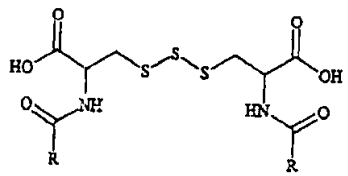
[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 张元忠 谭明胜

权利要求书2页 说明书6页 附图页数0页

[54]发明名称 新的化合物

[57]摘要

本发明涉及具有免疫刺激作用的通式(Ⅰ)化合物或其药学上可接受的盐和/或其旋光异构体,其中R代表含有1—16个碳原子的直链或支链烷基;这些化合物适用于治疗关节硬化。



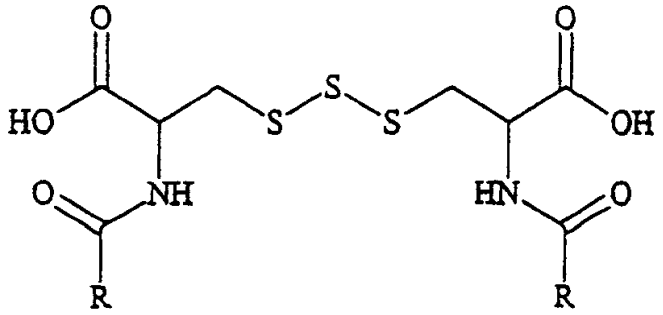
(Ⅰ)

ISSN1008-4274

00.09.20

权 利 要 求 书

1. 通式(I)的化合物或其药学上可接受的盐和/或其旋光异构体:

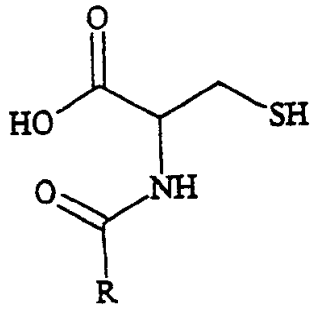


(I)

其中 R 代表含有 1－16 个碳原子的直链或支链烷基。

2. 按照权利要求 1 所述的化合物，其中 R 代表甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基、正十一烷基、正十二烷基、正十三烷基、正十四烷基、正十五烷基、正十六烷基、异丙基、1－甲基丙基、叔丁基、2－甲基丁基或 3－甲基丁基。

3. 一种用于制备如权利要求 1 或 2 定义的化合物的方法，该方法包括令式(II)的化合物:



(II)

其中 R 定义如上；与硫转移偶联剂反应，和，所得产物任选地与适当碱反应，得到药学上可接受的盐，和/或分离出旋光异构体。

4. 按照权利要求 3 所述的方法，其中硫转移偶联剂是 N,N'－硫代－双(邻苯二甲酰亚胺)。

5. 适用于医学治疗的按照权利要求 1 或 2 所述的化合物。

6. 权利要求 5 定义的化合物，其中所述医学治疗是免疫刺激。

00.09.20

7. 权利要求 5 定义的化合物，其中所述医学治疗是关节硬化。

8. 一种药物组合物，该组合物中含有与药学上可接受载体和/或赋形剂结合的如权利要求 1 或 2 中定义的化合物。

9. 如权利要求 1 或 2 定义的化合物在制备具有免疫刺激作用的药物中的应用。

10. 如权利要求 1 或 2 定义的化合物或如权利要求 8 定义的组合物在制备用于治疗关节硬化的药物中的应用。

11. 一种免疫刺激的方法，该方法包括给需要免疫刺激的宿主施用有效量的如权利要求 1 或 2 定义的化合物或如权利要求 8 定义的组合物。

12. 一种用于治疗关节硬化的方法，该方法包括给需此治疗的宿主施用有效量的如权利要求 1 或 2 定义的化合物或如权利要求 8 定义的组合物。

00·09·20

说　明　书

新的化合物

发明领域

本发明涉及新的化合物，特别涉及新的三硫化物及其盐、它们的制备方法、含有它们的组合物和它们的应用方法。

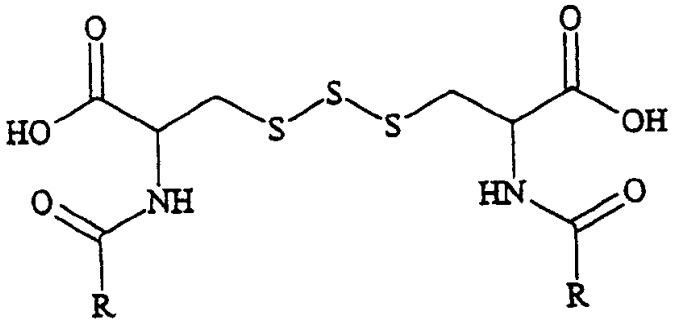
发明背景

N－乙酰基－L－半胱氨酸是一种公知化合物，它们通常被用作对抗慢性阻塞性肺病，尤其是慢性支气管炎的治疗药物。该化合物的作用方式还不完全清楚，但人们认为该化合物是溶真菌剂或抗氧剂。有报导称 N－乙酰基－L－半胱氨酸能够减轻慢性支气管炎患者的恶化程度。对此效应的一种可能性解释是该化合物增强这些患者的宿主防御能力(参见Bergstrand, H. 等人, J. Free Radic. Biol. Med. 2, 119-127, 1986)。

相应的 N－乙酰基－L－半胱氨酸的二硫化物，N,N'－二乙酰基胱氨酸(DiNAC)是一种有效的免疫刺激剂，因其在小鼠中显示出提高接触性敏感反应的能力。

发明详述

本发明提供一种通式(I)的化合物及其药学上可接受的盐和/或其旋光异构体:



(I)

其中 R 代表含有 1－16 个碳原子的直链或支链烷基。

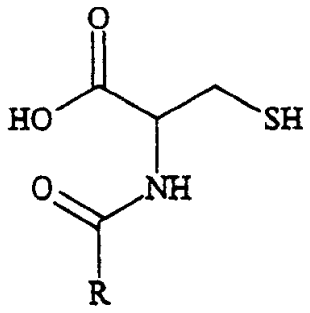
优选 R 代表甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基、正十一烷基、正十二烷基、正十三烷基、正十四烷基、正十五烷基、正十六烷基、异丙基、1－甲基丙基、

叔丁基、2－甲基丁基或3－甲基丁基。

本发明所述化合物的药学上可接受盐的实例包括、钠盐、钾盐、钙盐、镁盐或铵盐，或一－或二－质子化有机胺的盐，例如赖氨酸、乙二胺、N,N'－二苄基乙二胺、金刚烷胺、N－苄基－2－苯基乙胺、苯乍生、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、葡甲胺、普鲁卡因、苄乙胺、克立咪唑、氨丁三醇、乙醇胺、2－氨基－2－甲基－1,3－丙二醇、叔丁胺、三乙醇胺、吡哆醇、烟酰胺、烟酸甲酯、精氨酸、组氨酸、吗啉、N－甲基哌啶、精胺、精脒、半胱胺、胱胺、甲胺、哌嗪。

本发明的化合物可以任选地是外消旋混合物的形式或D,D－或L,L－异构体或内消旋型。优选其为L,L－异构体的形式。

按照本发明，进一步提供一种用于制备式(I)化合物的方法，该方法包括令式(II)的化合物:



(II)

其中 R 定义如上；与硫转移偶联剂反应，和，所得产物任选地与适当碱反应，得到药学上可接受的盐，和/或分离出旋光异构体。

适用于本发明所述方法的硫转移偶联剂包括 N,N'－硫代－双(邻苯二甲酰亚胺)、N,N'－二苯并亚氨基(benzimidazyl)硫化物、硫代双(咪唑)、二氯化硫、一氯化硫、元素硫，优选 N,N'－硫代－双(邻苯二甲酰亚胺)。

本发明的方法优选在极性溶剂中，更优选在水和极性有机溶剂的混合物中进行。适用的极性有机溶剂的实例包括正丙醇、异丙醇、乙醇、丁醇、丙酮、四氢呋喃和/或乙腈。特别优选水和异丙醇的混合物。

利用常规方法可以分离旋光异构体。

式(II)的化合物可以由市售的起始原料、利用所属领域熟知的方法来制备。

本发明还提供一种含有式(I)化合物以及药学上可接受的载体和/

或赋形剂的药物组合物。可以将本发明所述组合物任选地配制为适合吸入给药、口服给药、局部给药或非肠道给药的形式。所述组合物可以任选地采取，如气溶胶、片剂、包衣片剂、明胶胶囊或溶液的形式。

为了制备片剂、包衣片剂或明胶胶囊，将本发明的化合物与适当的药学上可接受的载体如乳糖、磷酸二钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、明胶、纤维素衍生物、胶体二氧化硅、滑石和/或硬脂酸和/或其盐结合。

为了制备溶液，将本发明的化合物与药学上可接受的赋形剂如水、蔗糖、葡萄糖、山梨糖醇、果糖和/或木糖醇结合。

本发明的药物组合物可以任选地还含有防腐剂、稳定剂、粘度调节剂、乳化剂、甜味剂、着色剂、矫味剂、等渗调节剂、缓冲剂和/或氧化剂。它还可以任选地含有另一种治疗活性物质。

本发明提供了用于医疗的化合物，特别是所述化合物在疾病的治疗中，尤其是在无变应性的免疫反应或异常免疫反应或无效宿主防御的疾病治疗中具有优越的特性。所述疾病包括慢性支气管炎，其中目前已经有报导用免疫反应调节剂可以降低疾病恶化率，所述免疫反应调节剂例如是 Biostim® (Radermecker, M. 等人 .In. J. Immunopharmac. 10, 913-917, 1988; Scheffer, J 等人, Arzneim Forsch/Drug Res. 41, 815-820, 1991)、Ribomynyl® 和 Broncho Vaxom (Paupe, 《呼吸学杂志》58, 150-154, 1991)以及 N－乙酰基半胱氨酸 (Bergstrand, H. 等人, J. Free Radic. Biol. Med. 2, 119-127, 1986)。

可以应用本发明所述化合物治疗的疾病包括某些形式的恶性疾病。文献中的许多综述涉及了对患不同形式恶性疾病患者中的免疫反应的刺激方式(Stevenson, F.K. FASEB J 5: 2250-2257, 1991; Melief, C.J.M. 《癌症研究的进展》58:143-75, 1992; Chen, J. 等人, 《现代免疫学》(Immunology Today)14: 10, 483-86, 1993)。例如，颅内肿瘤(神经胶质瘤)患者表现出免疫性严重降低，这可能归因于这些患者 T 细胞中的 IL－2 分泌以及 IL－2 受体表达的缺损(Roszman, T. 等人, 《现代免疫学》12, 370-374, 1991)。现已有文献报导了免疫刺激剂左旋咪唑在黑素瘤和结肠癌的免疫疗法中的一种显著辅助效应 (Van Wauwe, J. & Janssen, P.A.J; Int J. Immunopharmac. 13, 3-9,

1991)。其它应用 IL－2 的体内免疫疗法或离体 IL－2 治疗患者淋巴因子激活杀伤细胞可以引起癌症消退(Rosenberg, S.A. 《现代免疫学》9, 58-62, 1988)。

本发明化合物能够产生有益作用的恶性疾病包括：间质起源的肿瘤，例如肉瘤样纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、骨原性肉瘤、背索肉瘤、肉瘤样血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管成内皮肉瘤、滑膜肉瘤和间皮肉瘤、白血病和淋巴瘤样粒细胞白血病、单核细胞性白血病、淋巴细胞白血病、恶性淋巴瘤、浆细胞瘤、网状细胞肉瘤、何杰金氏病、肉瘤样平滑肌肉瘤或横纹肌肉瘤；上皮起源的肿瘤(癌)，例如扁平细胞癌、基底细胞癌、汗腺癌、皮脂腺癌、腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、未分化癌、支气管癌、黑素瘤、肾细胞癌、肝细胞瘤、胆管癌、乳头状癌、过渡型细胞癌、扁平细胞癌、绒毛膜癌、semonoma 或胚胎性癌；中枢神经系统样肿瘤，例如神经胶质瘤、脑脊膜瘤、成神经管细胞瘤、神经鞘瘤或室管膜瘤。

此外，本发明的化合物对于慢性感染的治疗也具有优越特性，所述慢性感染例如是疱疹、溃疡性(aphtous)口腔炎和其中业已报导用免疫刺激剂治疗能够产生临床改善的最小病变综合征，泌尿道或耳、鼻或咽喉内的慢性炎性疾病，这些疾病适宜用免疫刺激剂如 Biostim®、Broncho-Vaxom 和 Ribomynyl® 治疗，以及 HIV 感染或 AIDS。

此外，人们推测在变应性疾病如变应性皮炎、鼻炎和哮喘中存在免疫反应的损伤、缺损或失调(Katz, D.H. 《免疫学评论》41, 77-108, 1977)。由于理论原因认为，对免疫反应的刺激可能是恢复失调和自身免疫性的最佳途径(Varela, F.J. & Coutinho, A. 《现代免疫学》12, 159-166, 1991)，本发明的化合物被认为对于哮喘、鼻炎、变应性皮炎和自身免疫性疾病的治疗具有有益特性，所述自身免疫性疾病例如是非肥胖型糖尿病、全身性红斑狼疮、硬皮病、斯耶格伦氏综合征、皮肤肌炎、多发性硬化、类风湿性关节炎和牛皮癣。

而且，因其免疫刺激特性，本发明的化合物被确信　　在多种形式的疫苗制剂中具有作为佐剂的有益特性。因其免调节性质，本发明的化合物还被认为在抑制移植器官的排异中具有适宜特性。

最后，本发明的化合物在关节硬化(artheriosclerosis)的治疗中

具有优越性(Hansson,. G. K. 等人《美国科学院院报》88, 10530, 1991)。

本发明的化合物特别适合于治疗:

- 恶性疾病如黑素瘤、乳腺癌、胃肠癌、神经胶质瘤、膀胱癌和颈和头部区域的扁平细胞癌;
- 呼吸道内疾病，如慢性支气管炎、哮喘、鼻炎;
- 变应性疾病，如变应性皮炎;
- 感染，如肝炎、感染后无变应性和获得性免疫缺损如 AIDS;
- 创伤后免疫无变应性; 和
- 特异性自身免疫性疾病，例如类风湿性关节炎、多发性硬化、关节硬化和牛皮癣。

本发明的另一个目的是本发明的化合物在制备具有免疫刺激作用的药物和尤其是在制备用于治疗关节硬化的药物中的应用。

本发明的再一个目的是一种免疫刺激方法，该方法包括给需此治疗的宿主施用有效量的本发明化合物。

本发明的另一个目的是一种治疗关节硬化的方法，该方法包括给需此治疗的宿主施用有效量的本发明化合物。

本发明通过下列实施例举例说明，这些实施例应不被解释为对本发明范围的限定。

实施例

(R,R') - 3,3' - 三硫代双 - 2 - 乙酰氨基丙酸[N,N'-二乙酰基 - L - 胱氨酸-三硫化物(酸式)]

将 N - 乙酰基半胱氨酸(5g, 30.6mmol)悬浮在异丙醇和水(1:1, 3.0L)的混合物中并且加入 N,N'-硫 - 双(邻苯二甲酰亚胺)(5g, 15.4mmol)。混合物在室温下搅拌 24 小时，此后蒸发该澄清溶液至异丙醇不存在。过滤沉淀物质，随后冷冻干燥，得到三硫化物粗产物，该产物中含有的主要杂质是邻苯二甲酰亚胺。通过制备 HPLC[Kromasil K100-10-C18 柱(2'' × 250mm)，利用含有 0.1% 三氟乙酸的乙腈/水(19/81)作为洗脱剂，流速为 40ml/min，在 220nm 检测]，冷冻干燥后，

得到纯净的标题化合物，收率定量。M+H: 357。

药理学试验

利用以下在小鼠中进行的动物迟发型过敏(DTH)试验来证实本发明化合物调节免疫反应的能力

试验采用体重 18－20g 的得自 Bomholtsgaard(Denmark)的雄性和雌性 Balb/c 小鼠。在本试验中用 4－乙氧基亚甲基－2－苯氧基噁唑啉－5－酮(OXA，购自 BDH，英国)作为抗原。

在第 0 天，在刮净的腹部经上皮施用 150ml 的无水乙醇－丙酮(3:1)溶液，该溶液含有 3％OXA。处理是在起始时通过在致敏后立刻口服喂食本发明的化合物或载体(0.9%NaCl)，并且持续每天 1 次直至第 6 天。致敏后 7 天(第 6 天)，通过 20ml 的 1％OXA 的局部给药来刺激所有小鼠左右耳的双侧，所述 1％OXA 溶解在花生油中。在刺激之前和刺激后 24 或 48 小时用 Oditest 弹簧卡钳测量耳的厚度。刺激和测量均是在轻微的苯巴比妥麻醉下完成。

在各个试验(T)中，按照公式：Tt24/48-Tt0mm 单位来表达 DTH 反应的强度，其中 t0、t24 和 t48 分别代表刺激之前和刺激后 24 或 48 小时的耳厚度。结果表示为平均值±S.E.M.。通过学生双侧 t-试验获得不同组平均值之间的显著性水平。通过与空白组对比耳厚度的增量获得所述化合物的免疫刺激效能。