



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116782912 A

(43) 申请公布日 2023. 09. 19

(21) 申请号 202180080169.0

(22) 申请日 2021.11.30

(30) 优先权数据

63/119,764 2020.12.01 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.05.29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/061053 2021.11.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/119784 EN 2022.06.09

(71) 申请人 维尔斯达医疗公司

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 R·A·加西亚·加西亚

J·A·赛多夫 D·M·辛普森

R·W·范博斯特尔

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

专利代理师 李栋修 张培源

(51) Int.Cl.

A61K 31/7072 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

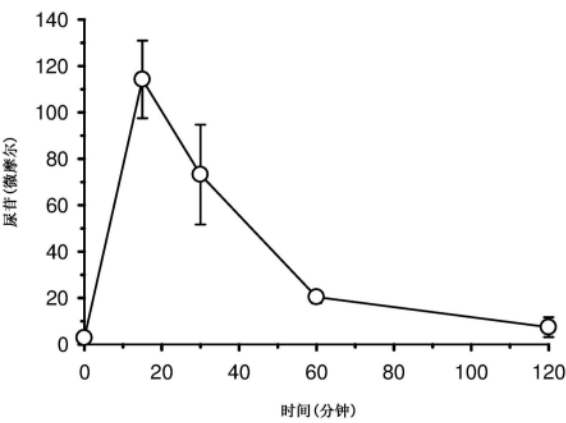
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54) 发明名称

5'-O-苯乙酰基尿苷及其治疗用途

(57) 摘要

5'-O-苯基乙酰尿苷有效地将乙酸苯酯和尿苷递送至受试者。其可用于治疗肝性脑病和肝氮循环的遗传病症。



1. 一种化合物, 5'-O-苯乙酰基尿苷。
2. 一种治疗或预防哺乳动物受试者中的病症的方法, 其中, 所述病症选自由肝性脑病和肝氮循环的遗传疾病组成的组, 所述方法包括向所述受试者施用有效量的权利要求1所述的化合物, 从而治疗或预防所述病症。
3. 根据权利要求2所述的方法, 其中, 所述施用是口服。
4. 根据权利要求3所述的方法, 其中, 所述哺乳动物受试者是人类受试者。
5. 根据权利要求4所述的方法, 其中, 所述施用是口服。
6. 根据权利要求5所述的方法, 其中, 所述有效量为1-5克/平方米体表面积, 每天施用1、2或3次。
7. 权利要求1所述的化合物, 其应用于治疗或预防哺乳动物受试者的病症, 其中所述病症选自由肝性脑病和肝氮循环的遗传病症组成的组。
8. 根据权利要求7所述应用的化合物, 其中, 所述化合物口服施用至所述哺乳动物受试者。
9. 根据权利要求7所述应用的化合物, 其中, 所述哺乳动物受试者是人类受试者。
10. 根据权利要求9所述应用的化合物, 其中, 所述化合物口服施用至所述人类受试者。
11. 根据权利要求10所述应用的化合物, 其中, 所述化合物以1至5克/平方米体表面积的剂量施用, 每天施用1、2或3次。
12. 权利要求1所述的化合物, 其应用于制造用于治疗或预防哺乳动物受试者的病症的药物, 其中所述病症选自由肝性脑病和肝氮循环的遗传病症组成的组。
13. 根据权利要求12所述应用的化合物, 其中, 所述药物被配制成为用于向所述哺乳动物受试者口服施用。
14. 根据权利要求12所述应用的化合物, 其中, 所述哺乳动物受试者是人类受试者。
15. 根据权利要求14所述应用的化合物, 其中, 所述药物被配制用于向所述人类受试者口服施用。
16. 根据权利要求15所述应用的化合物, 其中, 所述药物被配制成为用于以1至5克/平方米体表面积的剂量施用所述化合物, 每天施用1、2或3次。
17. 一种药物组合物, 其包含药学上可接受的载剂和有效治疗或预防哺乳动物受试者中的病症的量的权利要求1的化合物, 其中所述病症选自由肝性脑病和肝氮循环的遗传疾病组成的组。
18. 根据权利要求17所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物被配制成为用于向所述哺乳动物受试者口服施用。
19. 根据权利要求17所述的药物组合物, 其中, 所述哺乳动物受试者是人类受试者。
20. 根据权利要求19所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物被配制成为用于向所述人类受试者口服施用。
21. 根据权利要求20所述的药物组合物, 其被配制成为用于以1至5克/平方米体表面积的剂量施用所述化合物, 每天施用1、2或3次。

## 5'-0-苯乙酰基尿苷及其治疗用途

### [0001] 发明背景

[0002] 乙酸苯酯及其前体丁酸苯酯具有重要的治疗应用,利用乙酸苯酯的活性作为氨清除剂以消除病症如肝性脑病和氮循环的遗传病中过量的氨。此外,已利用乙酸苯酯作为分子伴侣以减轻内质网中的蛋白质错误折叠和作为组蛋白脱乙酰化的抑制剂的额外活性在各种其它疾病和疾病模型中获得治疗益处。

[0003] 在诸如肝性脑病的病症中,过量的氨不是疾病发病机理和进展中的唯一因素,因为还涉及神经炎症和线粒体功能降低。嘧啶核苷尿苷具有广泛的全身和脑中抗炎活性,并为具有缺陷的线粒体电子传递和氧化磷酸化的细胞(包括神经元)提供支持。口服2',3',5'-三-0-乙酰尿苷比口服尿苷本身更有效地增加血浆尿苷,部分是由于口服尿苷的剂量限制性副作用。

### 发明内容

[0004] 本发明提供化合物5'-0-苯乙酰基尿苷。本发明提供了治疗或预防受试者中选自由肝性脑病和肝氮循环的遗传病症组成的组的病症的方法,其包括向所述受试者施用有效治疗所述病症的量的本发明化合物。本发明还提供了本发明的化合物,其用于治疗或预防选自由肝性脑病和肝氮循环的遗传疾病组成的组的病症或用于制备治疗或预防选自由肝性脑病和肝氮循环的遗传疾病组成的组的病症的药物。并且提供包含本发明化合物和药学上可接受的载剂的药物组合物。

[0005] 已经发现当口服施用时,化合物5'-0-苯乙酰基尿苷(PAU)比尿苷本身更有效地增加血浆尿苷。并且为了比丁酸苯酯更有效地将乙酸苯酯递送到血流中,丁酸苯酯是由于乙酸苯酯的令人不快的气味而比乙酸苯酯更有利于作为药物的前体,并且其被FDA批准用作氨清除剂。

### 附图说明

[0006] 图1:口服施用5'-苯乙酰基尿苷后小鼠中的血浆尿苷

[0007] 图2:口服施用5'-苯乙酰基尿苷后小鼠中的血浆尿嘧啶

[0008] 图3:口服施用5'-苯乙酰基尿苷后小鼠中的血浆尿苷+尿嘧啶

### 具体实施方式

[0009] 如本文所用,过渡术语“包含”是开放式的。利用该术语的权利要求可以包含除了在该权利要求中所述的那些之外的元素。因此,例如,权利要求记载的治疗方案可以也包括其中没有具体列举的其它治疗剂或治疗病毒剂量,只要存在列举的要素或它们的等同物。

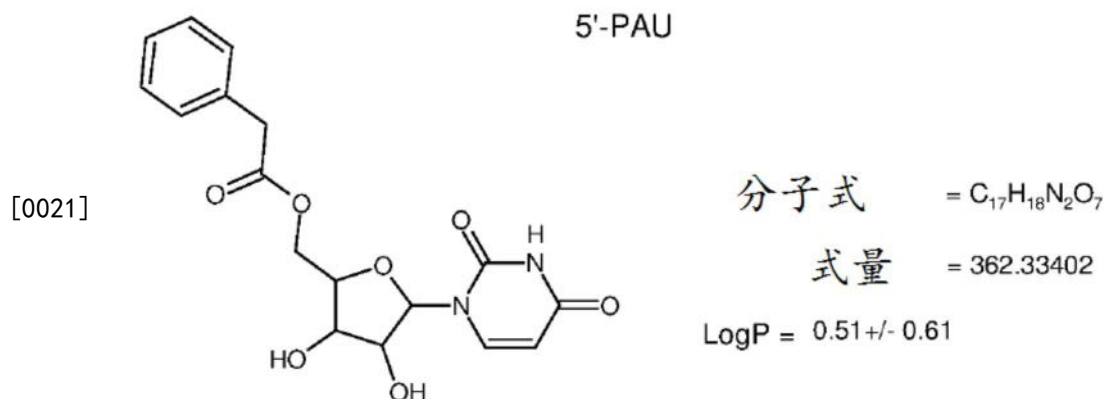
[0010] 缩写:

[0011] PAU或5'-PAU:5'-0-苯乙酰基酰脲,还称为5'-苯乙酰基尿苷

[0012] PA:乙酸苯酯

[0013] PB:丁酸苯酯

- [0014] NaPB: 苯丁酸钠  
 [0015] DMF: 二甲基甲酰胺  
 [0016] TLC: 薄层色谱  
 [0017] DMSO: 二甲基亚砷  
 [0018] HPMC: 羟丙基甲基纤维素  
 [0019] LPS: 脂多糖  
 [0020] TNF: 组织坏死因子



[0022] 除了提供源自同时递送尿苷和乙酸苯酯的治疗益处之外,通过使用尿苷与乙酸苯酯的组合实现了重要的安全因素,因为尿苷可以减轻由乙酸苯酯或其前体丁酸苯酯引起的代谢失衡。

[0023] 根据本发明的方法、所使用的化合物、应用和药物组合物,可以治疗或预防哺乳动物受试者中特征在于由乙酸苯酯和尿苷赋予的潜在益处的任何常规疾病。基于乙酸苯酯或其前体丁酸苯酯的几种已知活性和作用机制中的任一种来选择这类病症,其中也表明由治疗剂量的尿苷赋予的广泛的组织-神经保护和组织保护活性。在一个实施方式中,用5'-苯乙酰基尿苷治疗肝性脑病,其中乙酸苯酯部分清除与该病症相关的过量循环氨和组织氨,并且尿苷提供针对也表征肝性脑病的神经炎症和线粒体功能障碍的直接神经保护活性。用5'-苯乙酰基尿苷治疗从急性危象到轻微临床症状的所有严重程度阶段的肝性脑病。对于严重的肝性脑病,每天施用1至9克/平方米体表面积 of 苯乙酰基尿苷一次至三次,根据特定患者的氨超负荷的严重程度选择剂量。

[0024] 肺动脉高压中的右心室衰竭和肺动脉重塑涉及影响心脏和肺动脉的病理性代谢重塑,伴有过度的有氧糖酵解,类似于许多癌症中的瓦博格效应(Warburg effect)。乙酸苯酯抑制丙酮酸羧化酶,部分减轻病理性有氧糖酵解。此外,尿苷改善了压力超负荷心肌的收缩力。因此,作为单一药剂或与三乙酸尿苷组合用于调节尿苷/乙酸苯酯比率,5'-苯乙酰基尿苷比单独的任一药剂提供对肺动脉高压中的右心室的更完全保护;右心室衰竭是原发性肺动脉高压患者死亡的主要原因。为了治疗肺动脉高压,5'-苯乙酰基尿苷的剂量为1-5克/平方米体表面积,每天施用1-3次。

[0025] 根据本发明,所述化合物可以施用至任何哺乳动物受试者。在一个实施方式中,哺乳动物受试者是人类受试者。根据本发明,可以使用任何常规的施用途径。该化合物优选口服施用。熟练的医师可以滴定以优化特定患者的剂量。通常,化合物以1至5克/平方米体表面积的剂量口服施用至人类患者。所述剂量通常每天施用1-3次。

[0026] PB通常以5-25g/天的剂量作为钠盐(Buphenyl®)施用至患者。由于钠包含12%重量/重量的钠,因此10g/天的NaPB治疗将导致1.2g的钠摄入。推荐的每日钠摄入量为2.3g,过量钠摄入量与高血压、心肌梗死和中风的发生率增加有关(Strazzullo,D'Elia et al.2009;Frieden and Briss 2010)。本发明的一个目的是提供不增加过量钠摄入的形式的PB的生物活性衍生物。这通过与尿苷的酯键实现。

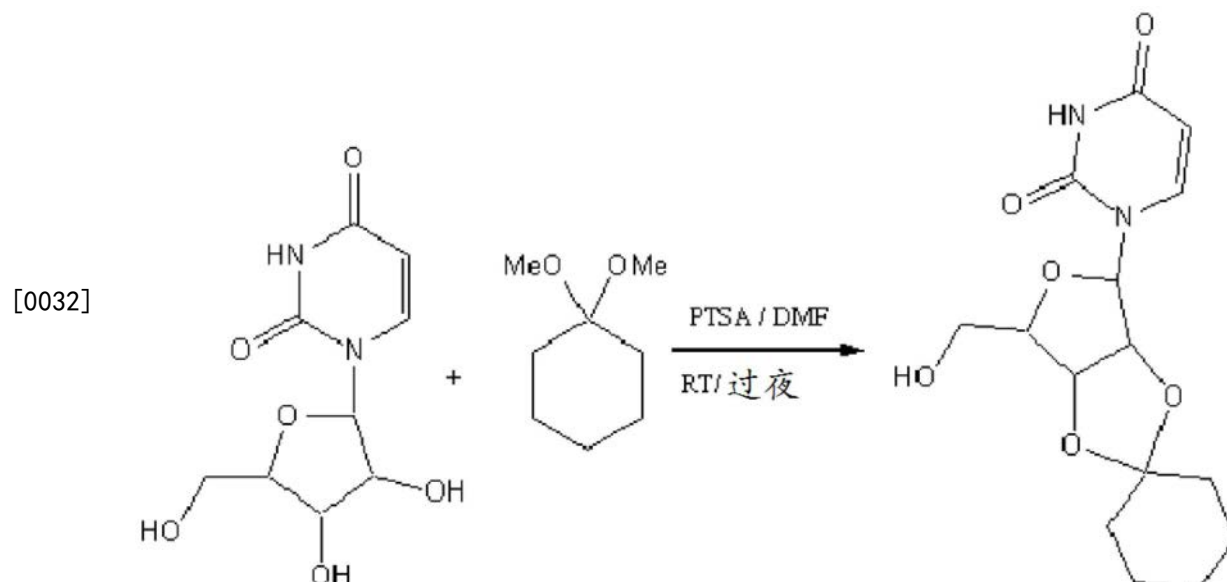
[0027] 由PB引起的谷氨酰胺耗竭代表哺乳动物中不具有尿素循环障碍或氨水平过高的额外代谢损害。谷氨酰胺耗竭和导致的氨损失可导致嘧啶(尿苷和胞苷)的消耗,因为嘧啶合成需要谷氨酰胺。可通过谷氨酰胺或饮食蛋白质的水平改变嘧啶的合成(Monks,Chisena et al.1985;Nelson,Qureshi et al.1993;Zaharevitz,Grubb et al.1993)。使用尿苷酯连接的PB相关衍生物提供尿苷且因此防止尿苷消耗。

[0028] 通过参考以下实施例将更好地理解本发明,所述实施例说明但不限制本文所述的发明。

[0029] 实施例

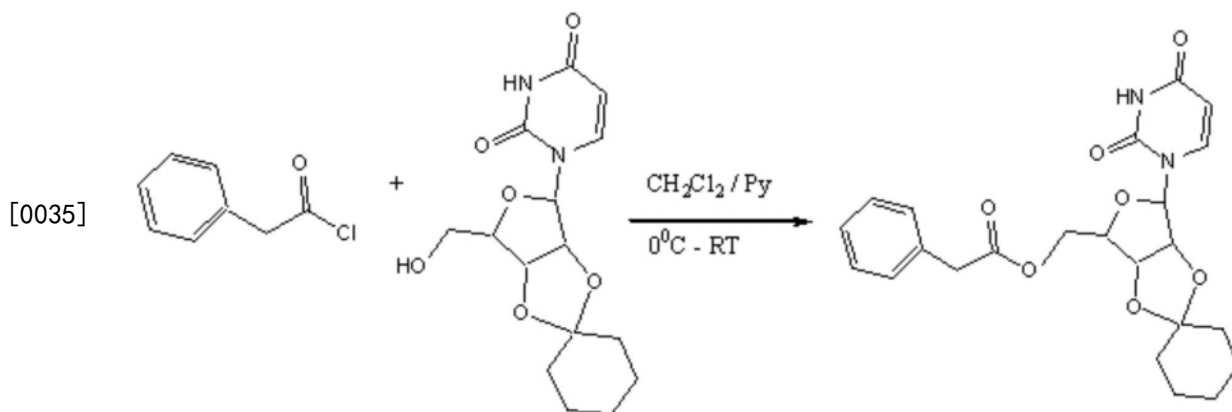
[0030] 实施例1:5'-O-苯乙酰基尿苷的制备

[0031] 1.2',3'-O-亚环己基尿苷的制备



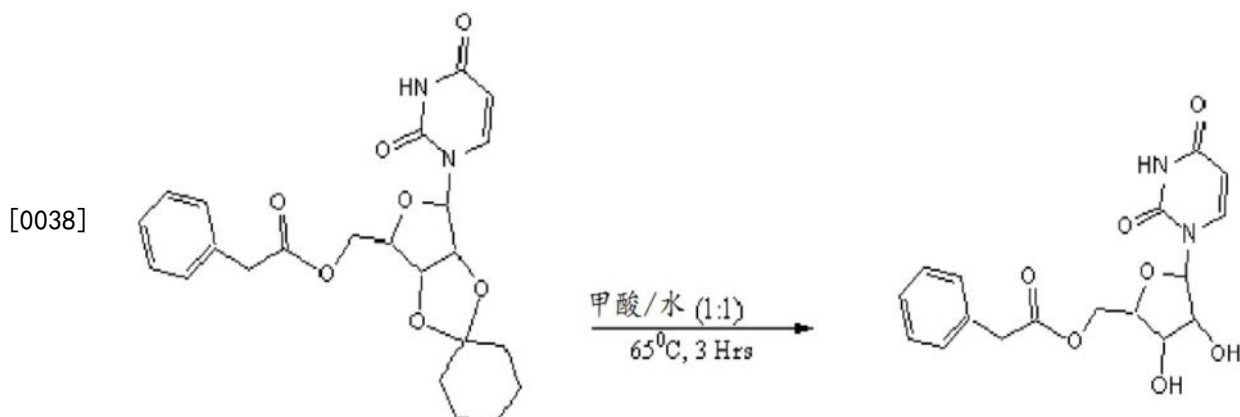
[0033] 将尿苷(50g,205mmol)溶解于无水DMF(250mL),加入催化量的对甲苯磺酸(1.8g),同时在氩气下在室温搅拌。20分钟后,加入31mL或2.0当量的1,1-二甲氧基环己烷。将反应混合物在室温在氩气下搅拌过夜。通过TLC(EtOAc,Rf=0.2)检查反应完成,加入250mL甲醇,然后蒸发两次。通过使用硅胶和乙酸乙酯的快速色谱法纯化粗反应混合物,得到33克期望的产物(50%收率)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ1.34-1.69(m,10H),3.55(宽s,2H)4.03-4.05(m,1H),4.73(d,1H,J=3.6Hz),4.86-4.88(m,1H),5.06(s,0H),5.61(d,1H,J=8.1Hz),5.82(dd,1H,J=2.6,7.0Hz),7.76-7.80(m,1H),11.35(s,NH)

[0034] 2.2',3'-O-亚环己基-5'-O-苯乙酰基尿苷的制备



[0036] 在氩气下,将2',3'-O-亚环己基尿苷(26.0g,84.4mmol)溶解于250mL无水 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,加入125mL吡啶,并将混合物冷却至 $0^\circ\text{C}$ 。然后,在30分钟内滴加苯基乙酰氯(16mL,1.2eq)。将反应混合物在 $0^\circ\text{C}$ 搅拌4小时。并在室温下再搅拌4小时。通过TLC(EtOAc, $R_f=0.6$ )证实反应完成。将反应用甲醇淬灭并蒸发至干燥。将残余物溶解于EtOAc(500mL)中,用0.1N HCl、0.05N HCl、水、饱和 $\text{NaHCO}_3$ 洗涤,最后用水洗涤。通过快速色谱法使用硅胶和50% EtOAc/己烷纯化粗产物,得到30g所需产物(85%产率)。 $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ 1.33-1.69(m,10H), 3.69(s,2H), 4.19-4.24(m,3H), 4.73-4.74(m,1H), 4.88(dd,1H,  $J=2.2$ , 6.6Hz), 5.61(d,1H,  $J=8.1\text{Hz}$ ), 5.77(d,1H,  $J=1.9\text{Hz}$ ), 7.24-7.32(m,5H), 7.60(d,1H,  $J=8.1\text{Hz}$ ), 11.42(s, NH)。

[0037] 3.5'-O-苯乙酰基尿苷的制备



[0039] 将2',3'-O-亚环己基-5'-O-苯乙酰基尿苷(32.80g,77.1mmol)溶解于300mL的甲酸和水的1:1混合物中。将反应混合物在65-70°C加热4小时。不同于反应图TLC(乙酸乙酯)证实了起始原料的消耗。通过真空蒸发除去水和甲酸。将粗产物溶解在水(250mL)中并蒸发至干燥两次。使用硅胶和乙酸乙酯通过快速色谱法纯化,得到15.1克(56%)所需产物。尝试从溶剂乙酸乙酯/己烷、乙醚/己烷、甲醇/己烷、乙醇/己烷、乙醇/乙醚、丙酮/己烷、乙醇/乙醚、甲醇/乙醚中重结晶产物是不成功的。通过LC-MS分析显示,在 $\lambda_{230}$ 处光的总吸光度的92%对应于产物。 $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ 3.71(ABq,2H), 3.85-4.05(m,3H), 4.15-4.30(m,2H), 5.28(d,OH,  $J=5.1\text{Hz}$ ), 5.43(d,OH,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 5.61(d,1H,  $J=8.1\text{Hz}$ ), 5.72(d,1H,  $J=5.1\text{Hz}$ ), 7.24-7.31(m,5H), 7.46(d,1H,  $J=8.1\text{Hz}$ ), 11.35(s, NH)。熔点55-57°C

[0040] 实施例2:口服施用5'-O-苯乙酰基尿苷(PAU)后的血浆尿苷和尿嘧啶药代动力学

[0041] 化学品:HPMC(羟丙基甲基纤维素;SIGMA-Aldrich:cat#H3785,CAS9004-65-3),

5'-O-苯乙酰基尿苷 (PAU, lot432-132)

[0042] 载体:水性HPMC(0.75%)用作口服施用的悬浮载体。

[0043] 给药配方:将PAU加入0.75%HPMC中并均化以消除团块。将悬浮液补足至所需的体积和浓度,并超声处理以将任何小的剩余团块解聚集成细颗粒。将悬浮液储存在4℃下直至使用。在制备24小时内使用悬浮液。

[0044] 给药:小鼠接受587mg/Kg PAU剂量(摩尔当量为400mg/kg尿苷),以0.02ml/g体重灌胃。

[0045] 动物:雌性CD-1小鼠。

[0046] (页面的剩余部分故意为空白。)

| 物种 | 菌株   | 性别 | 编号 | 装运时的年龄和体重范围 | 供应商    | 饮食和住房                              |
|----|------|----|----|-------------|--------|------------------------------------|
| 小鼠 | CD-1 | 雌性 | 9  | ~ 26-30 g   | Envigo | Harlan Teklad 2016, 自由采食, 圈养 5 只/笼 |

[0048] 实验的一般初始布局涉及用PAU灌胃6只小鼠的组,然后在若干时间点获得血样(3只小鼠在2个时间点(15和60分钟)放血,另外3只小鼠在另外2个时间点(30和120分钟)放血。每个实验包括3只小鼠的HPMC(仅载体)时间点以建立血液尿苷的基线。

| 组号   | 动物数量 | 给药后出血时间               |
|------|------|-----------------------|
| PAU  | 6    | 15, 30, 60, & 120 min |
| HPMC | 3    |                       |

[0050] 将血样收集到血浆分离管中,在血液收集后立即将其离心,并将血浆的等分试样冷冻以用于随后的处理。随后将血浆脱蛋白,使用UV吸光度检测和质谱通过液相色谱定量尿苷和尿嘧啶。

[0051] 通过监测血浆尿苷以及尿苷和尿嘧啶的总和[尿苷+尿嘧啶]来评估尿苷向血流中的递送,因为尿嘧啶是尿苷酶促降解中的第一产物。与人相比,小鼠更快速和更广泛地将施用的尿苷转化为尿嘧啶,使得尿苷+尿嘧啶为人提供比单独测量尿苷更好的剂量和药代动力学转化指数。

[0052] 施用PAU后的血浆尿苷、尿嘧啶和[尿苷+尿嘧啶]浓度分别示于图1、2和3中。

[0053] 还评价了口服施用PAU后乙酸苯酯向血流中的递送。苯丁酸钠在临床实践中用作肝性脑病或遗传性氮循环障碍中的氨清除剂,或用作伴侣蛋白或组蛋白脱乙酰酶抑制剂。其主要通过肝脏中的 $\beta$ -氧化代谢为乙酸苯酯,且乙酸苯酯介导丁酸苯酯的治疗益处。以与200mg/kg苯丁酸钠等摩尔的剂量口服施用PAU。对雌性BALB/c小鼠(n=3-5组)经口给予测试化合物且在30分钟后进行眼眶后放血以获得血浆。总结PAU和苯丁酸钠衍生物的比较生物利用度的表格表明在以生物利用度指数等摩尔口服施用这些化合物后在血清中获得的

最大浓度( $C_{\text{max}}$ )。使用等摩尔剂量的尿苷作为通过口服施用PAU将尿苷递送到循环中的功效的比较物。

[0054] 表1. 口服施用苯丁酸钠或PAU后尿苷、PB及相应代谢物的血浆浓度

| 化合物  | 尿苷 | 尿嘧啶 | PB | PA   |
|------|----|-----|----|------|
| NaPB | NA | NA  | 26 | 401  |
| PAU  | 76 | 159 | <1 | 1281 |
| 尿苷   | 10 | 24  | NA | NA   |

[0056] 血浆浓度单位为微摩尔/升( $\mu\text{M}$ )

[0057] NaPB= 苯丁酸钠

[0058] PB= 丁酸苯酯

[0059] PA= 乙酸苯酯

[0060] PAU= 5'-O- 苯乙酰基尿苷

[0061] 口服PAU对于提高血浆苯乙酸盐浓度比等摩尔剂量的口服苯丁酸钠实质上更有效, 在施用后30分钟产生>3倍更高的循环苯乙酸盐浓度。此外, PAU提高血浆尿苷和尿嘧啶优于口服等摩尔剂量的尿苷。

[0062] 实施例3: 5'-O- 苯乙酰基尿苷(PAU)的抗炎作用

[0063] 注射细菌细胞壁组分脂多糖(LPS)已被用作炎症模型。当未检查时, 炎症级联可导致细胞和器官损伤。组织坏死因子 $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 在炎症过程中被强烈诱导, 并且减弱这种响应在包括类风湿性关节炎、银屑病、血管炎和阿尔茨海默病的许多疾病中可以是保护性的。

[0064] 用口服载体(0.75%HPMC)或PAU处理41周龄的雌性BALB/c小鼠( $n=7-8/\text{组}$ ), 30分钟后施用LPS(2.5mg/kg腹膜内)。LPS后1小时, 处死小鼠并收集血液用于测量血浆TNF $\alpha$ 。

[0065] 表2: PAU对LPS引起的血浆TNF $\alpha$ 变化的影响

| 治疗             | TNF $\alpha$ (pg/ml) $\pm$ SEM |
|----------------|--------------------------------|
| 载体             | 15,981 $\pm$ 2,951             |
| PAU (165mg/kg) | 10,068 $\pm$ 2,583             |
| PAU (331mg/kg) | 7,034 $\pm$ 1,236+             |

[0067] +表示与载体对照相比 $p<.05$ 。

[0068] PAU在LPS诱导的血浆TNF $\alpha$ 升高中提供显著的抗炎作用。

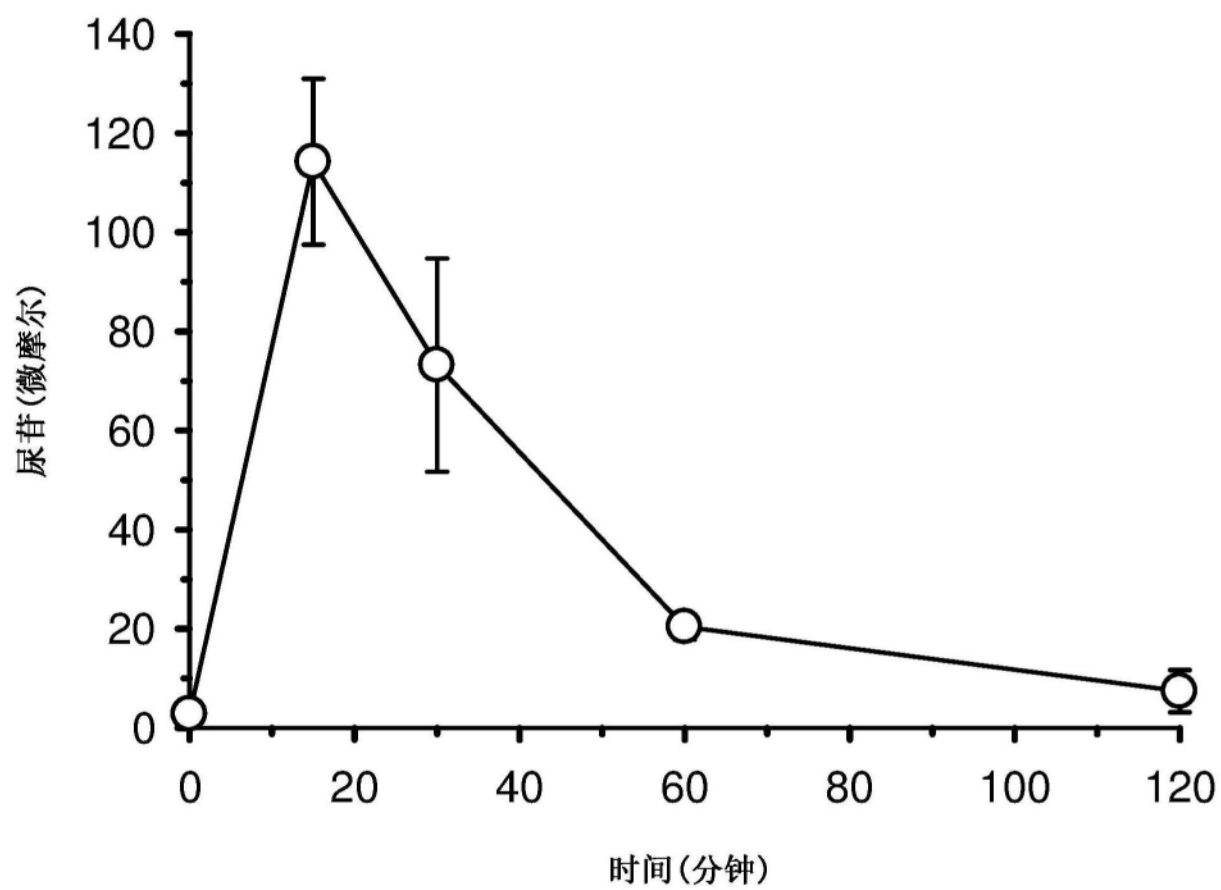


图1

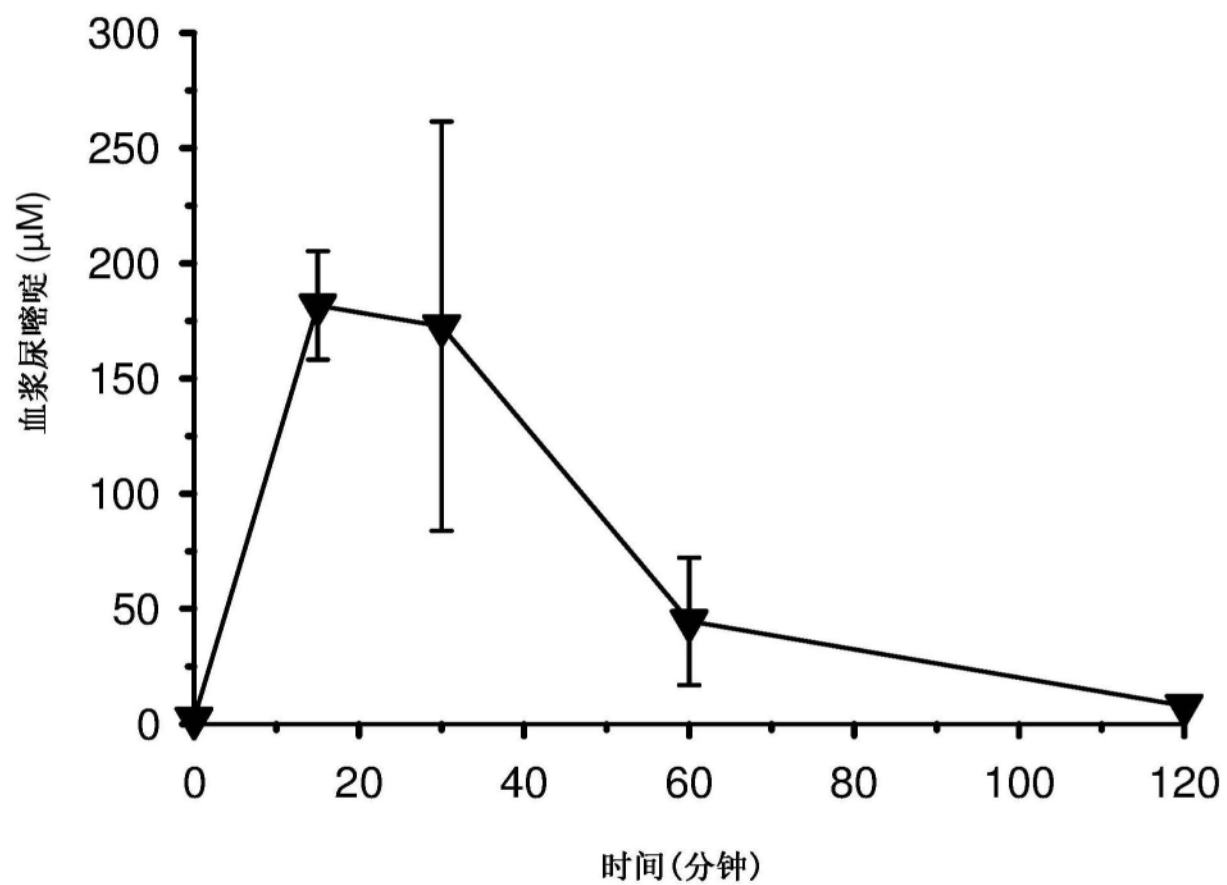


图2

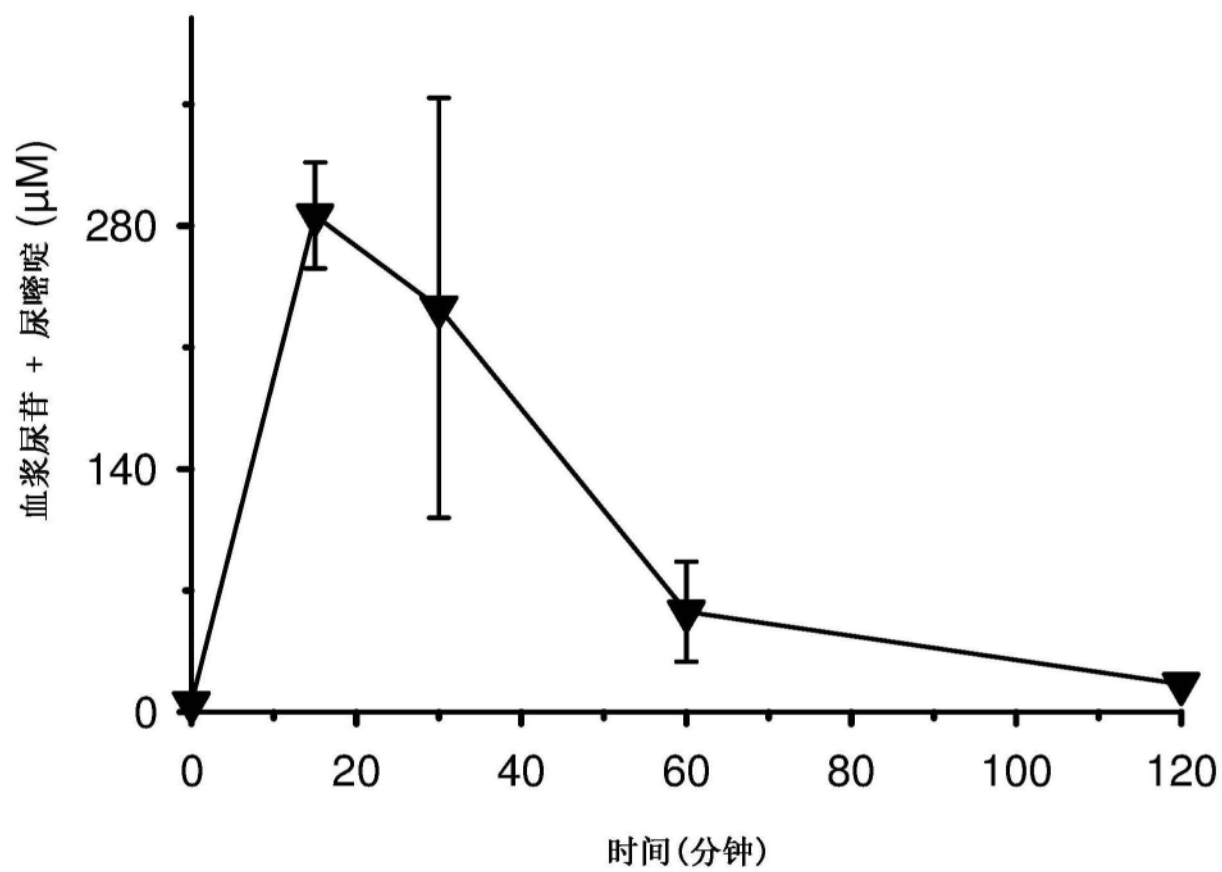


图3