



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108033921 B

(45) 授权公告日 2021.07.20

(21) 申请号 201710088762.5

(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理

有限公司 44224

(22) 申请日 2012.06.26

代理人 郑小粤

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108033921 A

(51) Int.CI.

C07D 241/32 (2006.01)

A61K 31/4965 (2006.01)

(43) 申请公布日 2018.05.15

(56) 对比文件

CN 101534813 A, 2009.09.16

WO 03070182 A2, 2003.08.28

(30) 优先权数据

审查员 解晓妮

61/501,687 2011.06.27 US

61/635,745 2012.04.19 US

(62) 分案原申请数据

201280040628.3 2012.06.26

(73) 专利权人 帕里昂科学公司

地址 美国北卡罗来纳州

(72) 发明人 迈克尔·R··约翰逊

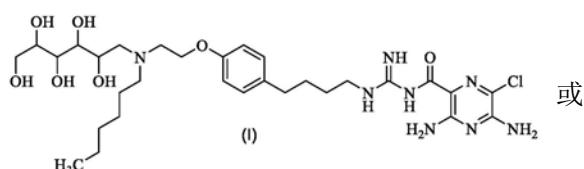
权利要求书10页 说明书52页 附图7页

(54) 发明名称

3,5-二氨基-6-氯-N-(4-(4-(2-(己基(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺

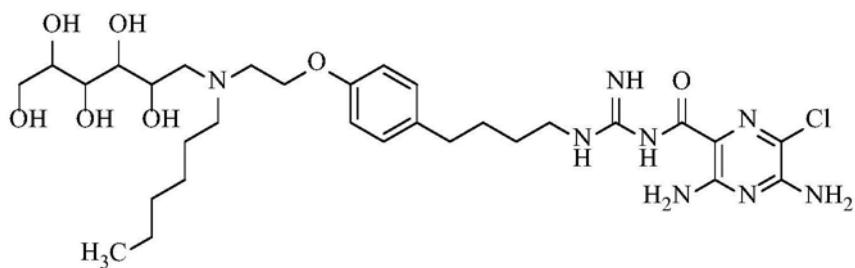
(57) 摘要

本发明涉及化合物3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺,具有以下化学式:



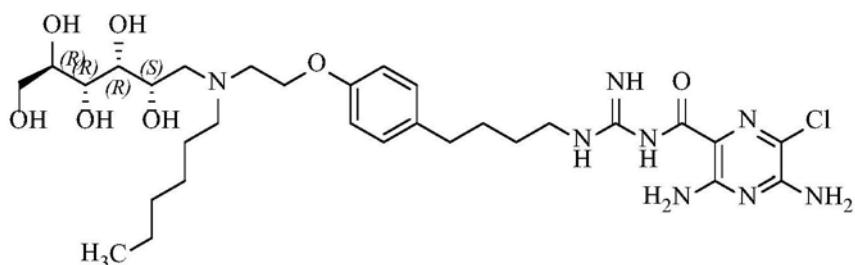
其药学上可接受的盐,以及含有所述化合物的组合物,制备所述化合物的方法,及用于促进粘膜表面水化剂和治疗疾病(包括慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、支气管扩张、急性和慢性支气管炎、囊性纤维化、气肿和肺炎)的治疗方法。

1. 一种式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于阻断接受者体内钠通道的药物中的用途:



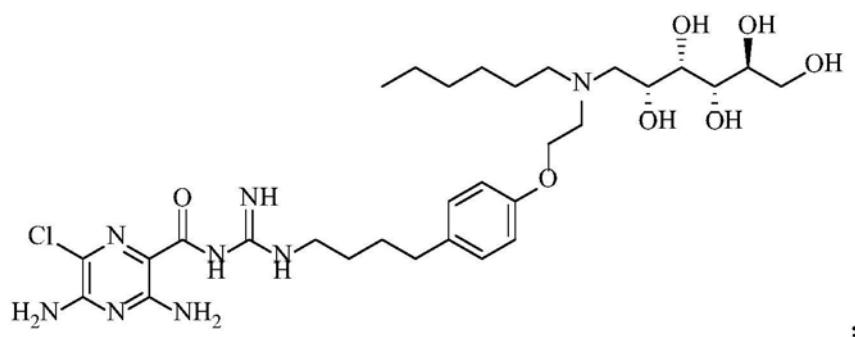
(I)。

2. 根据权利要求1所述的用途,其特征在于,所述化合物为式(Ia)的化合物或其药学上可接受的盐:

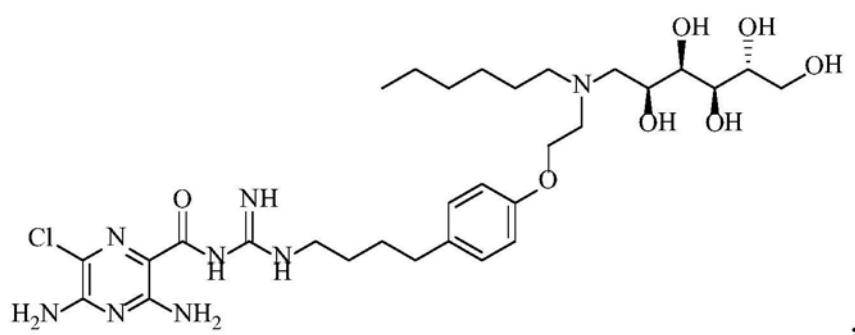


(Ia)。

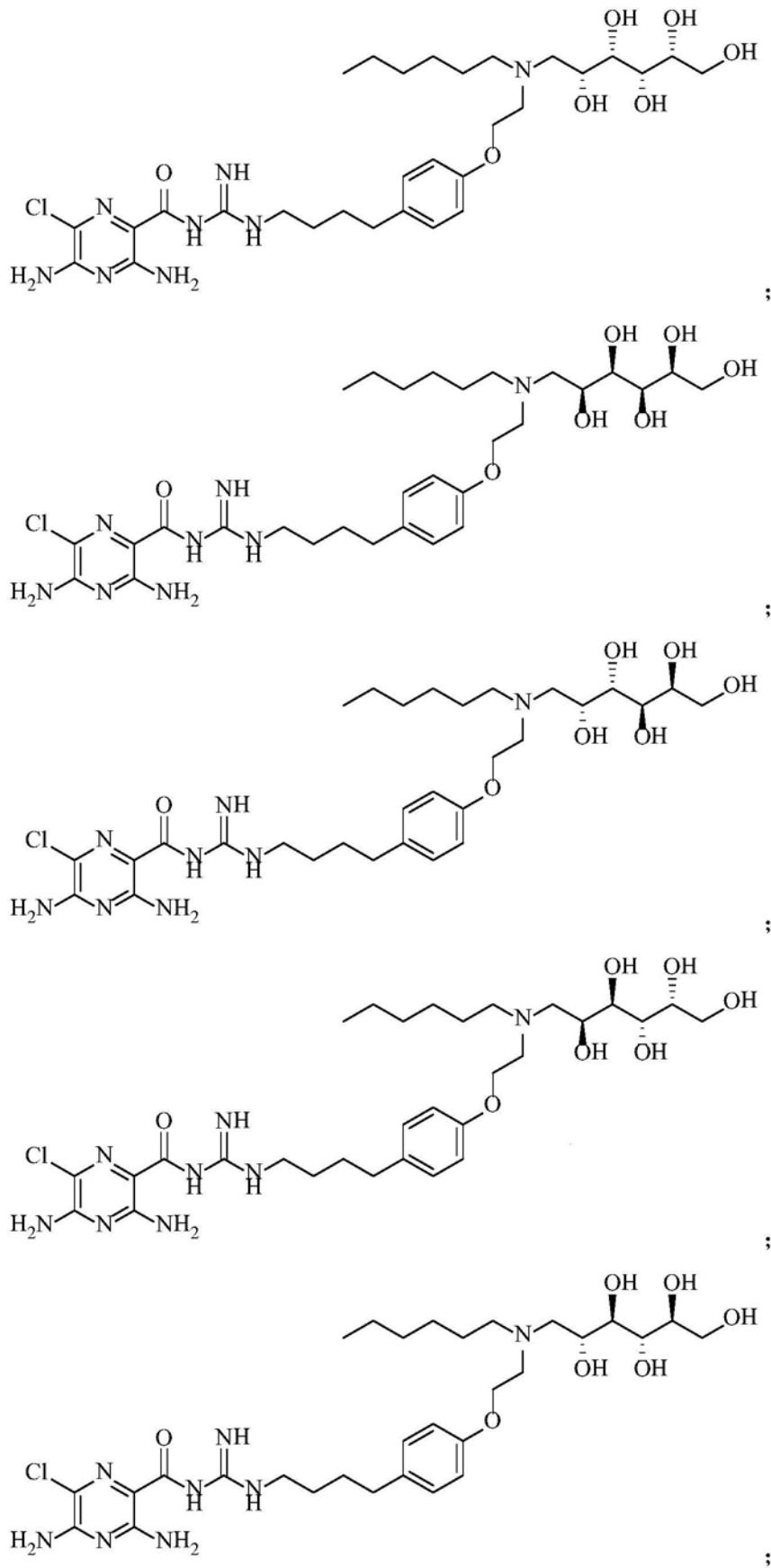
3. 根据权利要求1所述的用途,其特征在于,所述化合物选自由下列化合物和其药学上可接受的盐组成的组:

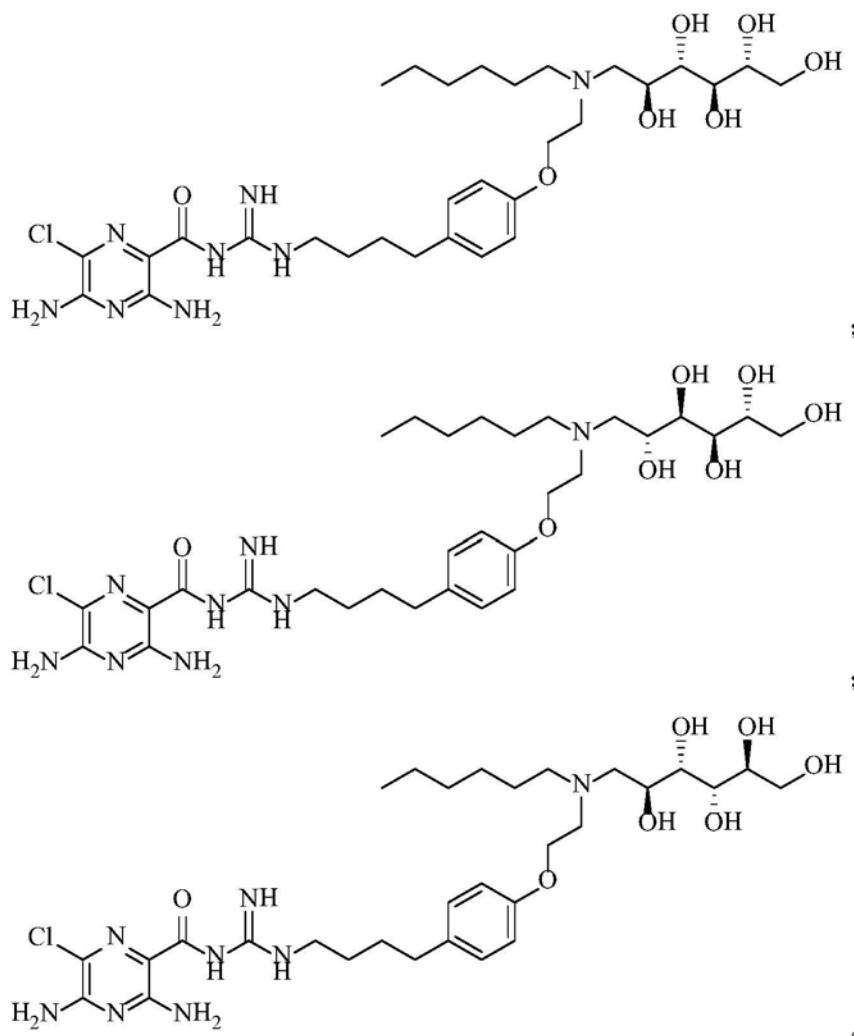


;



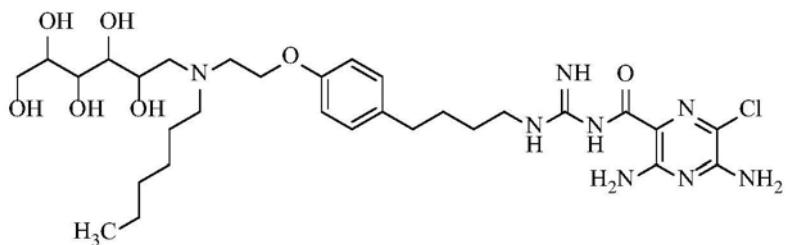
;





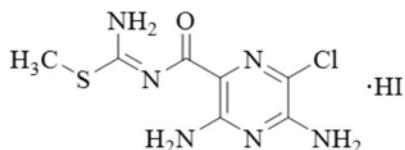
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其特征在于,所述接受者为人。

5. 一种式(I)的化合物或其盐的制备方法,

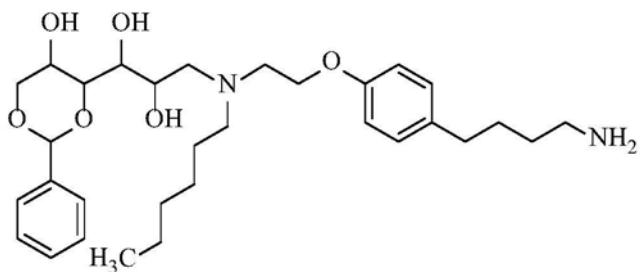


(I),

所述制备方法包括使式(2)的化合物与式(3)的化合物进行反应:

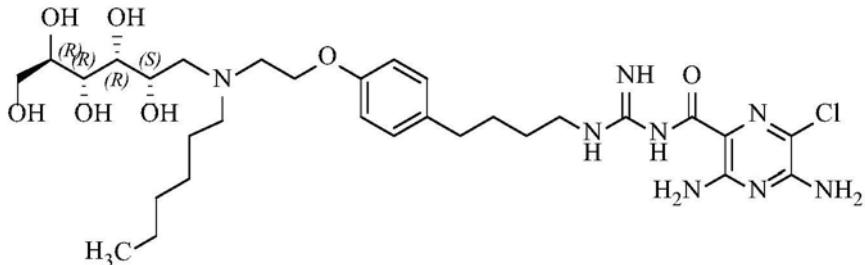


(2),



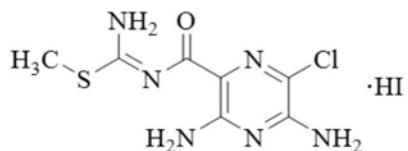
(3)。

6. 一种式(Ia)的化合物或其盐酸盐或1-羟基-2-萘甲酸盐的制备方法，

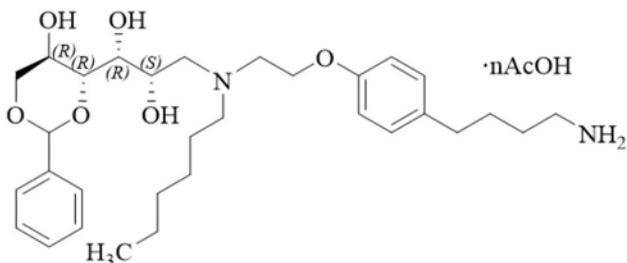


(Ia),

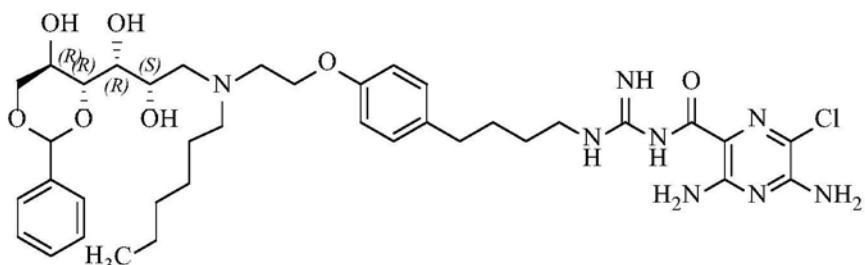
所述制备方法包括使式(2)的化合物与式(17)的化合物进行反应以生成式(19)的化合物：



(2),

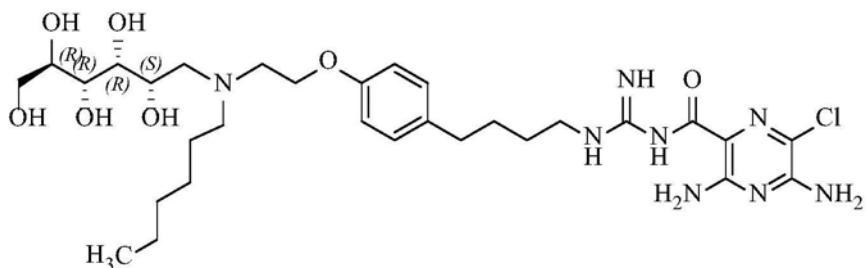


(17),



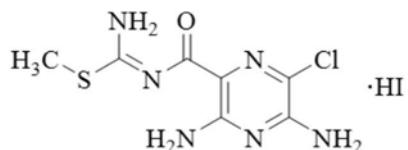
(19)。

7. 一种式(Ia)的化合物或其盐酸盐或1-羟基-2-萘甲酸盐的制备方法，

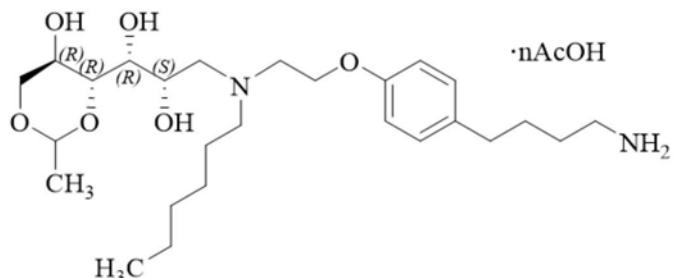


(Ia),

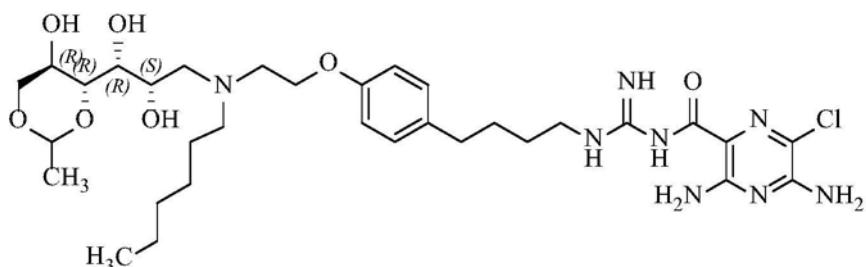
所述制备方法包括使式(2)的化合物与式(28)的化合物进行反应以生成式(20)的化合物的步骤：



(2),



(28),



(20)。

8. 根据权利要求5至7中任一项所述的制备方法，其特征在于，所述反应在碱的存在下进行。

9. 根据权利要求8所述的制备方法，其特征在于，所述碱是三乙胺或二异丙基乙胺。

10. 根据权利要求5至7中任一项所述的制备方法，其特征在于，所述反应在溶剂中进行。

11. 根据权利要求10所述的制备方法，其特征在于，所述溶剂是甲醇、乙醇或四氢呋喃。

12. 根据权利要求5至7中任一项所述的制备方法，其特征在于，所述反应在70℃进行。

13. 根据权利要求6至12中任一项所述的制备方法，进一步包括在酸的存在下，水解式(19)或(20)的化合物以形成式(Ia)的化合物或其盐酸盐或者1-羟基-2萘甲酸盐的步骤。

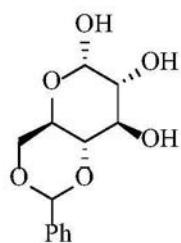
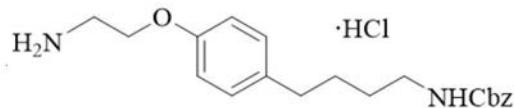
14. 根据权利要求13所述的制备方法,其特征在于,所述水解的步骤在盐酸的存在下进行。

15. 根据权利要求13所述的制备方法,其特征在于,所述水解的步骤在乙醇中进行。

16. 根据权利要求13所述的制备方法,其特征在于,所述水解的步骤在55℃至65℃的温度范围内进行。

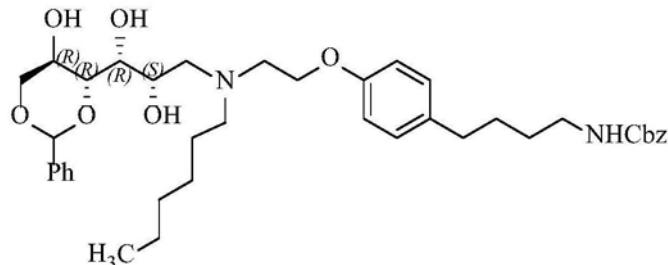
17. 根据权利要求6所述的制备方法,进一步包括以下步骤:

(i) 用式(15)的化合物处理式(14)的化合物:



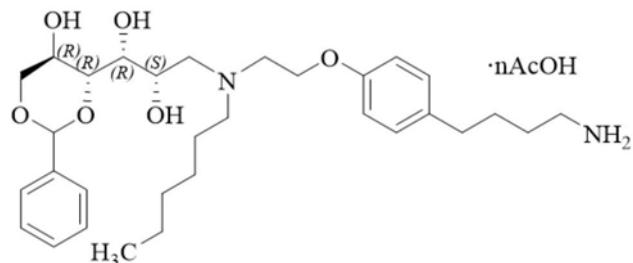
(15),

在还原剂的存在下,接着用己醛处理以形成式(16)的化合物:



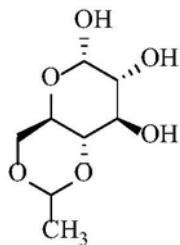
(16); 以及

(ii) 使式(16)的化合物经历催化加氢以形成式(17)的化合物:

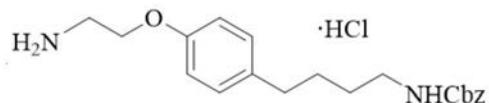


(17)。

18. 根据权利要求7所述的制备方法,其特征在于,进一步包括以下步骤:(i) 用下列化合物

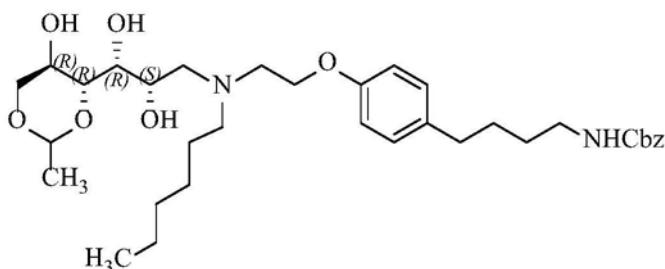


处理式(14)的化合物：



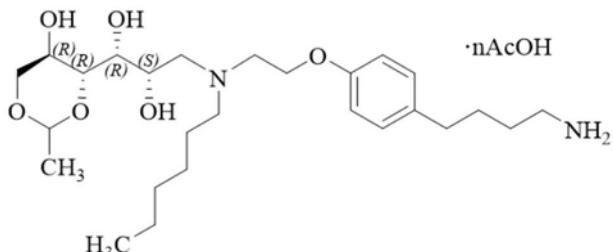
(14)，

在还原剂存在下，接着用己醛处理以形成式(27)的化合物：



(27)；以及

(i i) 使式(27)的化合物经历催化加氢以形成式(28)的化合物：



(28)。

19. 根据权利要求17或18所述的制备方法，其特征在于，所述步骤(i)中的所述还原剂是NaCNBH<sub>3</sub>。

20. 根据权利要求17或18所述的制备方法，其特征在于，所述步骤(i)在AcOH和MeOH存在下进行。

21. 根据权利要求17或18所述的制备方法，其特征在于，所述步骤(i)在室温下进行。

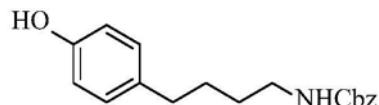
22. 根据权利要求17或18所述的制备方法，其特征在于，所述步骤(ii)在H<sub>2</sub>和Pd/C存在下进行。

23. 根据权利要求17或18所述的制备方法，其特征在于，所述步骤(ii)在AcOH和MeOH存在下进行。

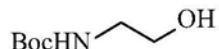
24. 根据权利要求17或18所述的制备方法，其特征在于，所述步骤(ii)在室温下进行。

25. 根据权利要求17或18所述的制备方法，其特征在于，进一步包括以下步骤：

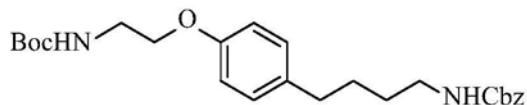
(i) 将式(11)的化合物与式(12)的化合物偶联以形成式(13)的化合物：



(11),



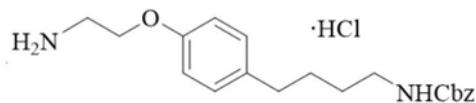
(12),



(13);

以及

(ii) 使式(13)的化合物去保护以形成式(14)的化合物:



(14)。

26. 根据权利要求25所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(i)在DIAD和Ph<sub>3</sub>P存在下进行。

27. 根据权利要求25所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(i)在四氢呋喃中进行。

28. 根据权利要求25所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(i)在0℃至室温的温度范围内进行。

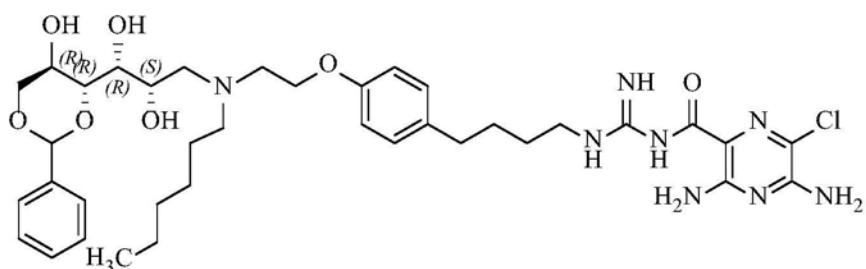
29. 根据权利要求25所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(ii)在盐酸的存在下进行。

30. 根据权利要求25所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(ii)在二氧六环中进行。

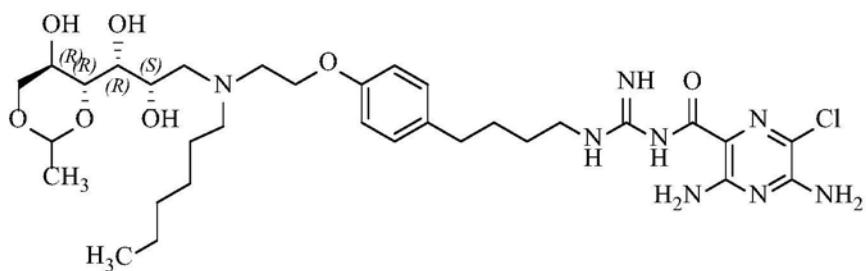
31. 根据权利要求25所述的制备方法,其特征在于,所述步骤(ii)在室温下进行。

32. 根据权利要求5至7中任一项所述的制备方法,其特征在于,进一步包括纯化、拆分立体异构体、结晶和/或制备盐形式的步骤。

33. 一种化合物,选自由下列化合物组成的组:

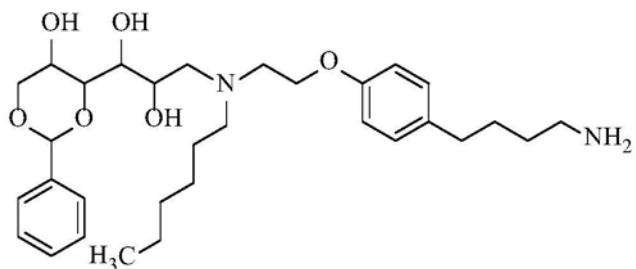


(19); 以及



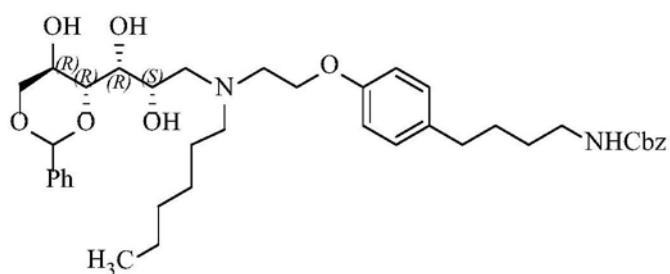
(20)。

34. 一种如式(3)的化合物:

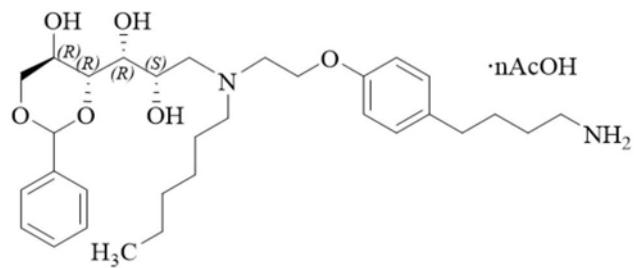


(3)。

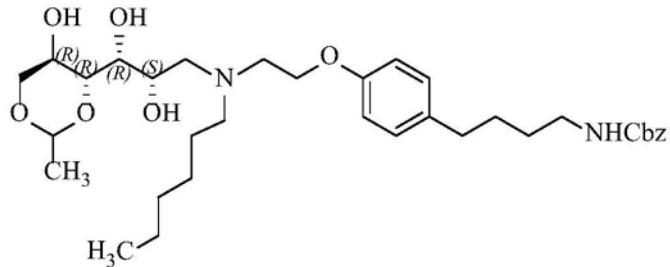
35. 一种化合物,选自由下列化合物组成的组:



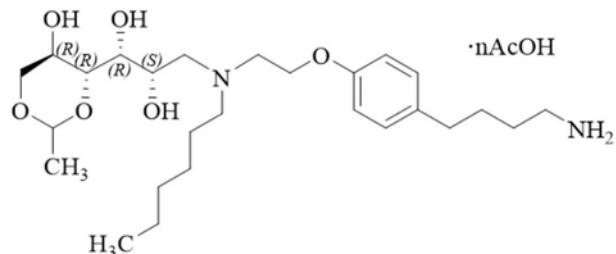
(16);



(17);



(27);



(28)。

### 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺

[0001] 本申请是申请日为2012年6月26日、申请号为201280040628.3,发明名称为“3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺”的中国发明专利申请的分案申请。

#### 技术领域

[0002] 本发明涉及新的化合物,特别包括3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺及其药学上可接受的盐、其作为Na<sup>+</sup>通道阻断剂的用途、包含上述化合物的组合物、及所述化合物的治疗方法及治疗用途和所述化合物的制备方法。

#### 背景技术

[0003] 在环境和机体之间界面的粘膜表面上已经发展出了许多“固有防御”,即保护性机制。这样的固有防御的主要形式是用液体清洁这些表面。通常,粘膜表面上液体层的量反映出上皮液体分泌和上皮液体吸收之间的平衡,所述上皮液体分泌常反映出与水(和抗衡阳离子)相结合的阴离子(Cl<sup>-</sup>和/或HCO<sup>3-</sup>)的分泌,所述上皮液体吸收常反映出与水和抗衡阴离子(Cl<sup>-</sup>和/或HCO<sup>3-</sup>)相结合的Na<sup>+</sup>的吸收。粘膜表面的许多疾病都是由于分泌(太少)和吸收(相对太多)之间失衡导致粘膜表面上保护性液体太少而引起的。以这些粘膜功能紊乱为特征的有缺陷的盐转运过程存在于所述粘膜表面的上皮层。

[0004] 一种补充粘膜表面上保护性液体层的方法是通过阻断Na<sup>+</sup>通道和液体吸收使系统“重新平衡”。介导Na<sup>+</sup>和液体吸收的限速步骤的上皮蛋白是上皮细胞Na<sup>+</sup>通道(“ENaC”)。ENaC位于上皮细胞的顶端表面,即粘膜表面-环境界面。理想情况下,为了抑制ENaC介导的Na<sup>+</sup>和液体吸收,阿米洛利类的ENaC阻断剂将被递送至粘膜表面并保留在该位点以获得最好的治疗效果。

[0005] 已报道将ENaC阻断剂用于多种疾病,其通过增强的粘膜水化缓解这些疾病。特别是,已报道使用ENaC阻断剂治疗呼吸性疾病,比如慢性支气管炎(CB)、囊性纤维化(CF)及COPD,其反映为身体无法从肺部正常清除粘液,并最终导致慢性气道感染。参见,在CF气道疾病中作为起始事件的气道表面脱水的证据(Evidence for airway surface dehydration as the initiating event in CF airway disease),R.C.Boucher,Journal of Internal Medicine,Vol.261,Issue 1,January 2007,pages 5-16;和囊性纤维化:一种容易气道表面脱水的疾病(Cystic fibrosis:a disease of vulnerability to airway surface dehydration),R.C.Boucher,Trends in Molecular Medicine,Vol.13,Issue 6,June 2007,pages 231-240。

[0006] 数据表明,慢性支气管炎和囊性纤维化的初始问题是无法从气道表面清除粘液。无法清除粘液反映为气道表面上的气道表面液体(ALS)的粘液数量失衡。这种失衡导致ALS的相对减少,其导致粘液浓缩,纤毛周围液(PCL)的润滑活性降低,粘液附着到气道表面,且

不能通过纤毛活性将粘液清除至口腔。这种粘液清除的减少导致粘液慢性细菌菌落附着在气道表面。细菌的长期滞留，局部抗菌物质不能杀死基于慢性基础的粘液包裹的细菌，由此引发的对这类表面感染的慢性炎症反应，在慢性支气管炎和囊性纤维化中表现明显。

[0007] 目前具有大量、未满足的医疗产品需求，其专门治疗由增强的粘膜水化缓解的多种疾病，这些疾病包括慢性支气管炎、COPD和囊性纤维化。目前针对慢性支气管炎、COPD和囊性纤维化的治疗主要集中在治疗这些疾病的症状和/或晚期效应。然而，这些疗法中没有一种能够有效地治疗无法从肺中清除粘液的基本问题。

[0008] R.C.Boucher在美国专利6,264,975中描述了用于水化粘膜表面的吡嗪酰基胍(pyrazinoylguanidine)钠通道阻断剂的用途，其代表为众所周知的利尿剂阿米洛利(amiloride)、苯扎米尔(benzamil)和非那米尔(phensamil)。然而，这些化合物(1)是相对无效的，考虑到可被肺吸入的药物的量有限；(2)被快速吸收，且因此不期望地展现出在粘膜表面上的短半衰期；和(3)可与ENaC自由解离。需要在粘膜表面具有长半衰期的更有效药物。

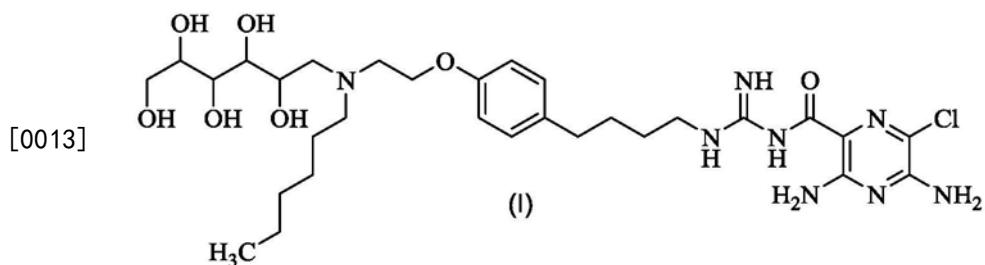
[0009] 其他粘膜表面上的保护性表面液体太少是多数疾病的常见病理生理。例如，在口腔干燥(口干)中，尽管Na<sup>+</sup>(ENaC)转运持续介导从口腔吸收液体，但是由于腮腺、舌下腺和下颌下腺不能分泌液体，所以口腔中液体耗尽。角膜结膜炎(干眼)是由于泪腺不能分泌液体而结膜表面上却持续存在Na<sup>+</sup>依赖性液体吸收而引起的。在鼻窦炎中，存在粘蛋白分泌和ASL相对消耗之间的不平衡。在近端小肠中不能分泌Cl<sup>-</sup>(和液体)，加之回肠末端Na<sup>+</sup>(和液体)吸收增加导致远端肠梗阻综合征(DIOS)。在老年患者中，降结肠中Na<sup>+</sup>(和体积)吸收过量产生便秘和憩室炎。

[0010] 已公开的文献包括大量专利申请和Parion Sciences公司的已授权专利，针对吡嗪酰基胍(pyrazinoylguanidine)类似物用作Na<sup>+</sup>通道阻断剂。这种公开文本的实例包括PCT公开号W02003/070182、W02003/070184、W02004/073629、W02005/025496、W02005/016879、W02005/018644、W02006/022935、W02006/023573、W02006/023617、W02007/018640、W02007/146869、W02008/031028、W02008/031048及美国专利号6858614、6858615、6903105、7064129、7186833、7189719、7192958、7192959、7192960、7241766、7247636、7247637、7317013、7332496、7368447、7368450、7368451、7375102、7388013、7399766、7410968、7807834、7842697及7868010。

[0011] 本领域仍然需要对粘膜组织具有增强的效力和有效性的新型Na<sup>+</sup>通道阻断化合物。仍然需要能提供治疗效果，但最小化或消除患者高钾血症的发病或发展的新型Na<sup>+</sup>通道阻断化合物。

## 发明内容

[0012] 本发明提供了化合物3,5-二氨基-6-氯-N-(4-(4-(2-(己基(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺，其化学式为：



[0014] 或其药学上可接受的盐。本发明还提供了3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基(2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺的溶剂化物和水合物,单个立体异构体,其包括光学异构体(对映异构体和非对映异构体)和几何异构体(顺/反异构现象),立体异构体混合物,及互变异构体,或其药学上可接受的盐,以及包含所述化合物的药物组合物,或其药学上可接受的盐,其在治疗方法中的用途及其制备方法。

### 附图说明

[0015] 通过参考本文中信息并结合以下附图可容易地获得本发明更完整的理解及其更多优点:

[0016] 图1通过狗支气管上皮(CBE)细胞得到的化合物(Ia)对短路电流的浓度-效应关系的代表性曲线。

[0017] 图2是化合物(Ia)在给药后4小时对羊粘膜纤毛清除(MCC)的剂量-反应曲线。

[0018] 图3是化合物(Ia)和高渗盐水(HS)在给药后4小时对羊MCC的效应曲线。

[0019] 图4化合物(Ia)和HS在给药后8小时对羊MCC的效应曲线。

[0020] 图5是在体外CBE细胞模型中Na<sup>+</sup>通道阻断化合物(Ia)在表面液体潴留(retention)0-8小时的效应曲线。

[0021] 图6是在体外CBE细胞模型中化合物(Ia)在表面液体潴留24小时的效果柱状图。

[0022] 图7是ENaC阻断剂化合物Ia及比较实施例1在8小时对羊MCC的效应曲线。

[0023] 图8是ENaC阻断剂化合物Ia及比较实施例1对羊血钾水平的效应曲线。

[0024] 图9是比较实施例4及化合物Ia在给药后4小时对羊MCC的比较活性曲线。

[0025] 图10是比较实施例4及化合物Ia的羊血K<sup>+</sup>水平的比较效应曲线。

### 具体实施方式

[0026] 如本文所使用的,下列术语如以下所定义。

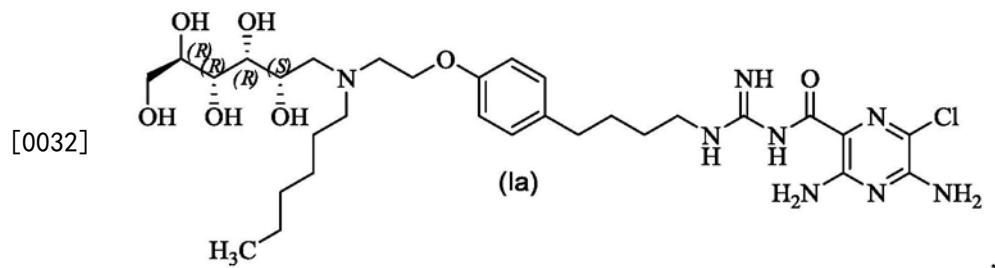
[0027] “本发明的化合物”意指式I的化合物或其盐,特别是其药学上可接受的盐。

[0028] “式I的化合物”意指具有本文中指定为式I的结构式的化合物。式I的化合物包括溶剂化物及水合物(即,式I的化合物与溶剂的加合物)。在那些实施方案中,其中式I的化合物包括一种或多种手性中心,其旨在包括各种单个立体异构体及立体异构体的混合物,所述立体异构体包括光学异构体(对映异构体和非对映异构体)及几何异构体(顺/反异构现象)。此外,式I的化合物还包括所述式的互变异构体。

[0029] 在整个说明书和实施例中,使用标准IUPAC命名原则命名化合物,在可能的情况下,其包括使用ChemDraw Ultra 11.0软件程序命名化合物,所述程序由CambridgeSoft Corp./PerkinElmer出售。

[0030] 在一些化学结构代表中,其中碳原子不具有足够数量连接所述变量以产生四价,需要提供四价的剩余的碳取代基应假设为氢。相似地,在一些化学结构中,其中键的标示未指定端基,这种键表示为甲基(Me,-CH<sub>3</sub>)基团,这在本领域是常规技术。

[0031] 在一个优选的实施方案中,式(I)的化合物是3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺,化学式为:



[0033] 或其药学上可接受的盐。

[0034] 式I的化合物,可以是游离碱或盐的形式,特别是药学上可接受的盐。药学上可接受的盐的综述参见Berge等,J.Pharma Sci.(1977)66:1-19。

[0035] 由无机酸或有机酸形成的药学上可接受的盐包括,例如,盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、硝酸盐、氨基磺酸盐、磷酸盐、磷酸氢盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、延胡索酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、甲酸盐、葡萄糖酸盐、琥珀酸盐、丙酮酸盐、单宁酸盐、抗坏血酸盐、棕榈酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、邻苯二甲酸盐、藻酸盐、聚谷氨酸、草酸、草酰乙酸盐、糖酸盐、苯甲酸盐、烷基或芳基磺酸盐(例如、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐或萘磺酸盐)和异硫代硫酸盐,与氨基酸形成的复合物,所述氨基酸比如赖氨酸、精氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸等。本发明的化合物也可以是元素阴离子形成的形式存在,所述元素例如氯、溴或碘。

[0036] 对于治疗用途,式I的化合物活性成分的盐将是药学上可接受的,即其是源自药学上可接受的酸的盐。然而,非药学上可接受的酸的盐类也可找到用途,例如,制备或纯化药学上可接受的化合物。三氟乙酸盐,例如,可发现这种用途。所有盐类,不论其是否源自药学上可接受的酸,都在本发明范围内。

[0037] 术语“手性”是指具有不可重叠镜像特性的分子,同时术语“非手性”是指镜像体可重叠的分子。

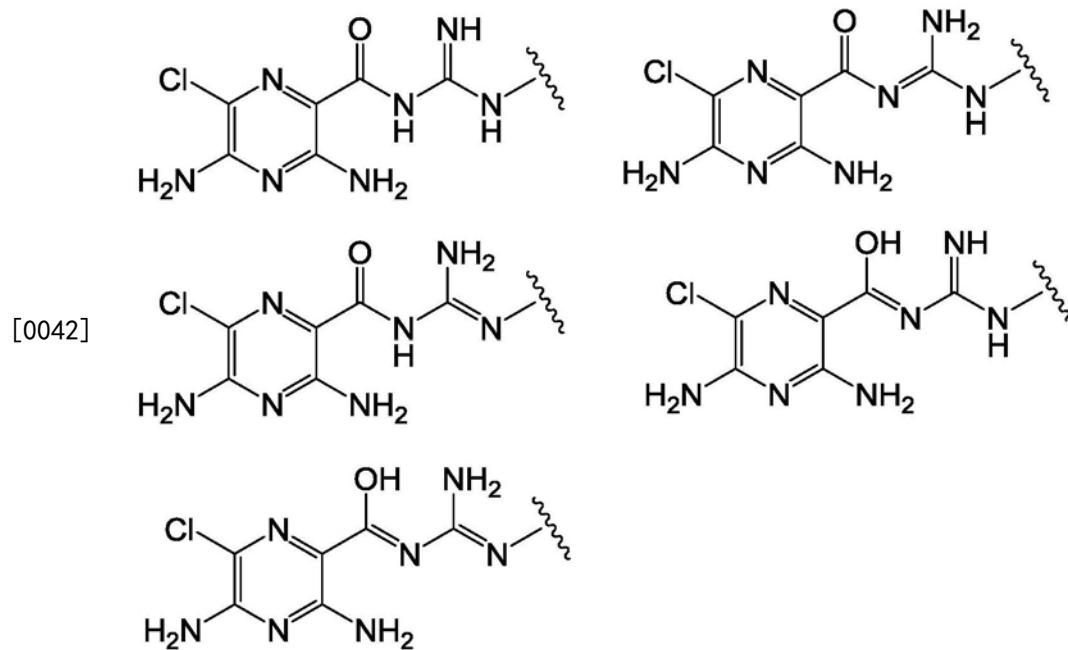
[0038] 术语“立体异构体”是指具有相同化学组成,但空间原子或基团排列不同的化合物。“非对映异构体”是指具有两个或多个手性中心的立体异构体,且其分子与其他分子是非镜像的。非对映异构体具有不同物理特性,例如熔点、沸点、光谱性质及反应性。可通过高分辨率分析方法比如电泳和色谱法分离非对映异构体的混合物。“对映异构体”是指彼此为不可重叠镜像的化合物的两个立体异构体。

[0039] 本文中使用的立体化学定义及惯例通常遵循S.P.Parker,Ed.,McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(1984)McGraw-Hill Book Company,New York;and Eliel,E.and Wilen,S.,有机化合物的立体化学(Stereochemistry of Organic Compounds)(1994)John Wiley&Sons,Inc.,New York。

[0040] 许多有机化合物以光学活性形式存在,即,其有能力旋转平面偏振光的平面。在描

述光学活性化合物时,使用前缀D和L或R和S表示分子关于其手性中心的绝对构型。具体的立体异构体也可以称为对映异构体,且这种同分异构体的混合物通常称为对映异构体混合物。对映异构体的50:50的混合物被称为外消旋混合物或外消旋体,其可以在当化学反应或方法中没有立体选择性或立体特异性时出现。术语“外消旋混合物”和“外消旋体”指两种对映异构体的等摩尔混合物。

[0041] 术语“互变异构体”是指立体异构体的一种类型,其中氢原子的转移导致两种或多种结构。式I的化合物可以不同的互变异构体形式存在。本领域技术人员将认识到,脒、酰胺、胍、脲、硫脲、杂环等可以以互变异构形式存在。通过实施例的方式而不过限制的方式,式I的化合物可以多种互变异构体形式存在,如下所示:



[0043] 所有可能的脒、酰胺、胍、脲、硫脲、杂环的互变异构体形式及所有式I的实施方案在本发明的范围内。互变异构体平衡存在,且因此描述式中提供的单个互变异构体将被本领域技术人员理解为等同于所有可能的互变异构体。

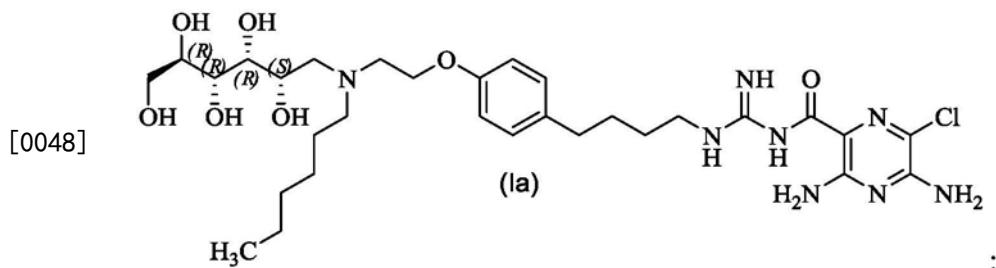
[0044] 应当注意,式I范围内的化合物的所有对映异构体、非对映异构体和外消旋混合物、互变异构体、多晶型物、假多晶型物及其药学上可接受的盐都包括在本发明内。这种对映异构体和非对映异构体的所以混合物,包括对映异构体富集的混合物和非对映异构体富集的混合物在本发明的范围内。对映异构体富集的混合物是这样的对映异构体的混合物,其中特定对映异构体与另一对映异构体的比例大于50:50。更具体地说,对映异构体富集的混合物包含至少约75%的特定对映异构体,且优选地包含至少约85%的特定对映异构体。在一个实施方案中,对映异构体富集的混合物基本上不含有其他对映异构体。相似地,非对映异构体富集的混合物是非对映异构体的混合物,其中特定非对映异构体的数量大于其他各种非对映异构体。更具体地说,非对映异构体富集的混合物包含至少约75%的特定非对映异构体,且优选地包含至少约85%的特定非对映异构体。在一个实施方案中,非对映异构体富集的混合物基本上不含有其他非对映异构体。术语“基本上不含有”将被本领域技术人员理解为表示少于5%的其他非对映异构体,优选地少于1%,更优选地少于0.1%。在其他实施方案中,无其他非对映异构体存在或存在的任何其他非对映异构体低于检测水平。可

通过本领域已知技术分离立体异构体,所述技术包括高效液相色谱法(HPLC)及手性盐的结晶。

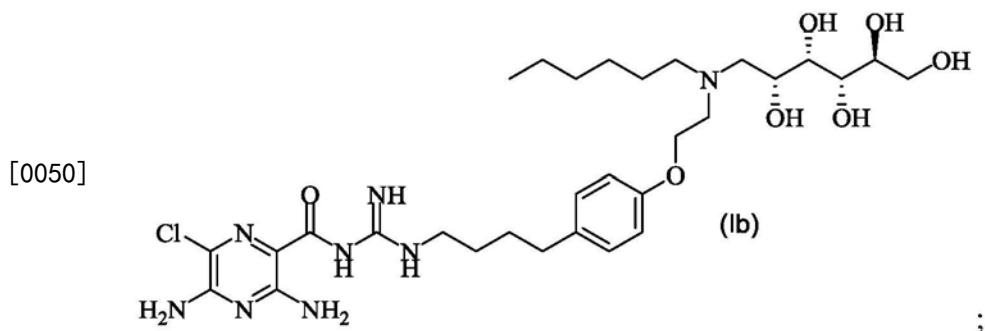
[0045] 可以通过使用诸如利用光学活性拆分试剂形成非对映异构体的方法拆分外消旋混合物来获得单个立体异构体,例如基本上不含有其立体异构体的对映异构体(E.L.Eliel,McGraw Hill;Lochmuller,C.H.,(1975) J.Chromatogr.,113: (3) 283-302的“碳化合物的立体化学”("Stereochemistry of Carbon Compounds,") (1962))。可以通过任何合适的方法来分开和分离本发明手性化合物的外消旋混合物,所述方法包括:(1)与手性化合物形成离子的非对映体盐,并通过分级结晶或其它方法分离,(2)与手性衍生试剂形成非对映异构体化合物,分离该非对映异构体,并转化成纯立体异构体,和(3)直接在手性条件下分离基本上纯的或富集的立体异构体。

[0046] 出于说明的目的,在本发明内的式(I)的化合物对映异构体的具体实施例包括,但不限于:

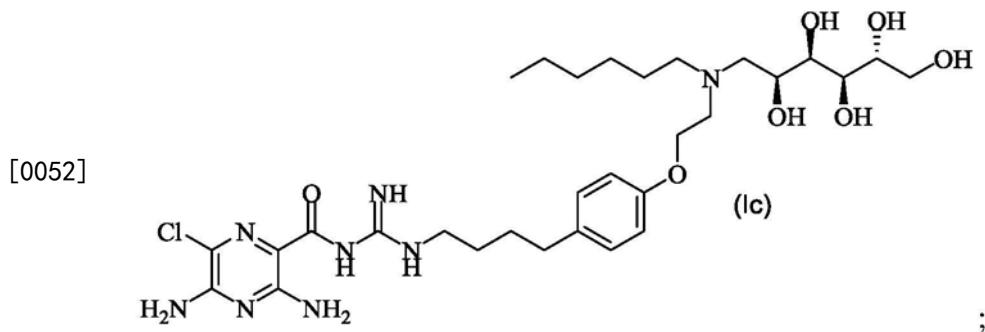
[0047] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺



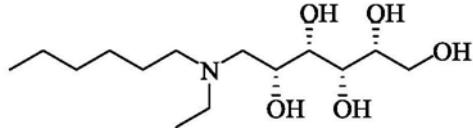
[0049] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺



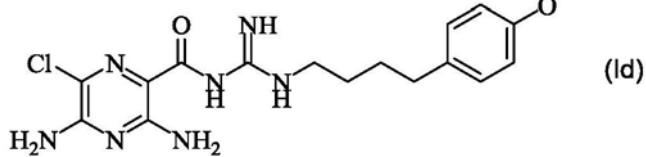
[0051] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺



[0053] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2R,3S,4S,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺

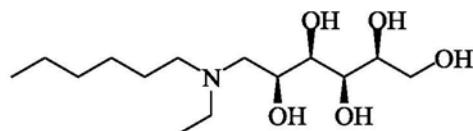


[0054]

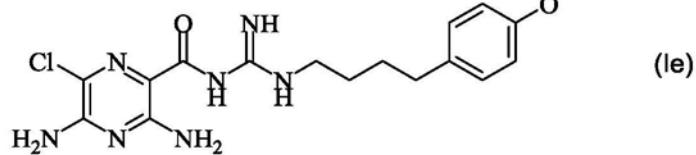


;

[0055] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5S)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺

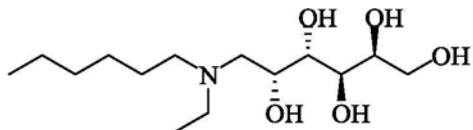


[0056]

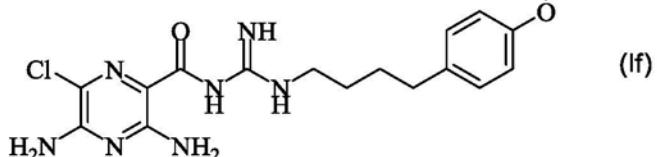


;

[0057] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2R,3S,4R,5S)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺

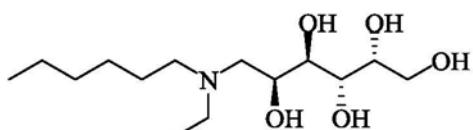


[0058]

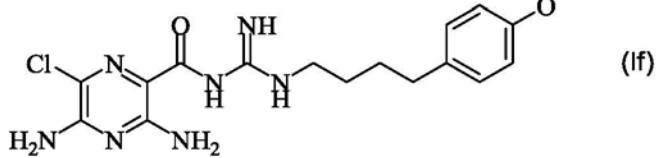


;

[0059] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4S,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺



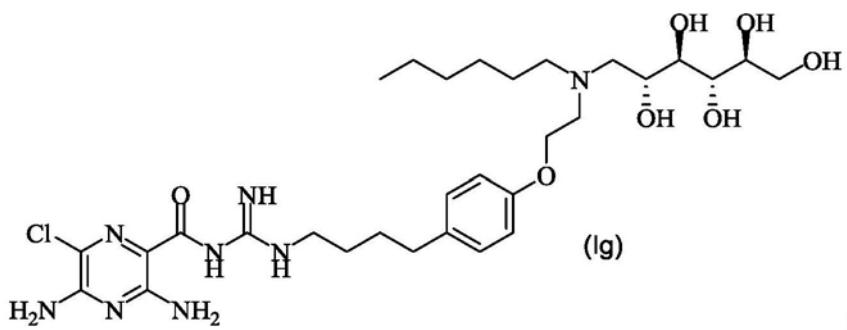
[0060]



;

[0061] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2R,3R,4S,5S)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺

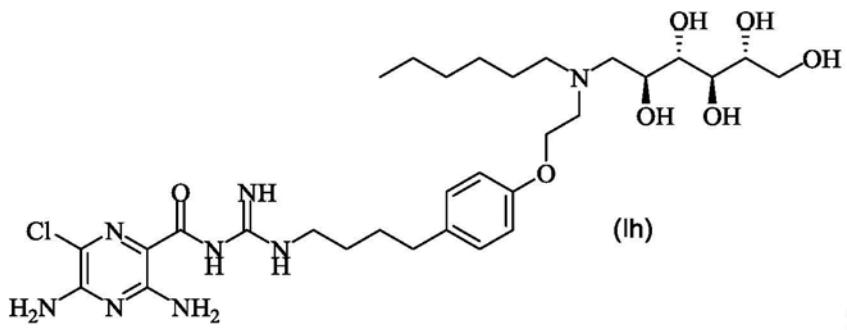
[0062]



;

[0063] 3,5-二氨基-6-氯-N- (N- (4- (4- (2- (己基 ((2S,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基) 氨基) 乙氧基) 苯基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺

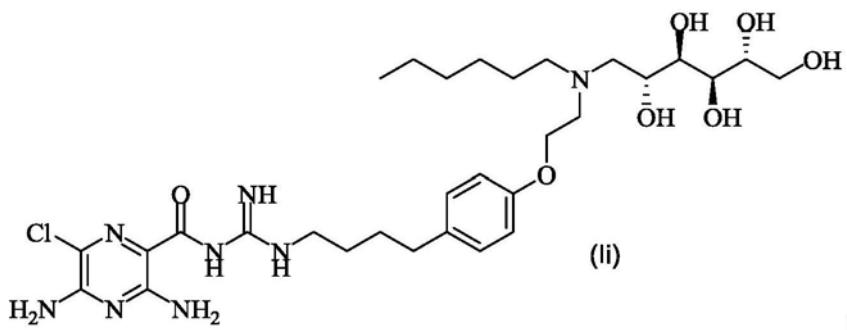
[0064]



;

[0065] 3,5-二氨基-6-氯-N- (N- (4- (4- (2- (己基 ((2R,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基) 氨基) 乙氧基) 苯基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺

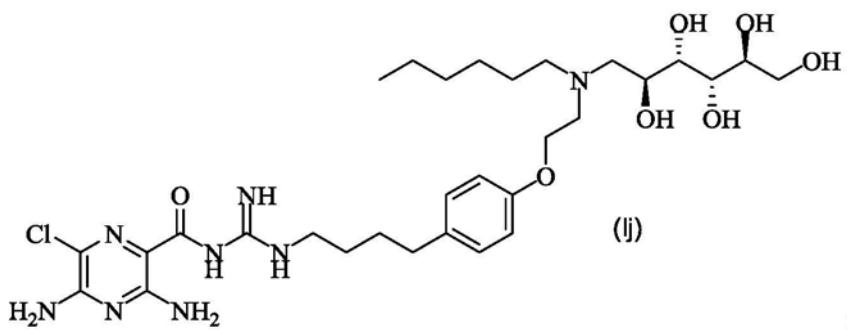
[0066]



;

[0067] 3,5-二氨基-6-氯-N- (N- (4- (4- (2- (己基 ((2S,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-五羟基己基) 氨基) 乙氧基) 苯基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺

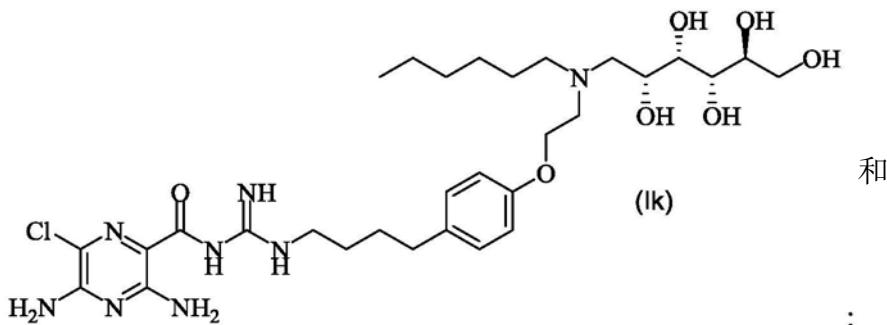
[0068]



;

[0069] 3,5-二氨基-6-氯-N- (N- (4- (4- (2- (己基 ((2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-五羟基己基) 氨基) 乙氧基) 苯基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺

[0070]

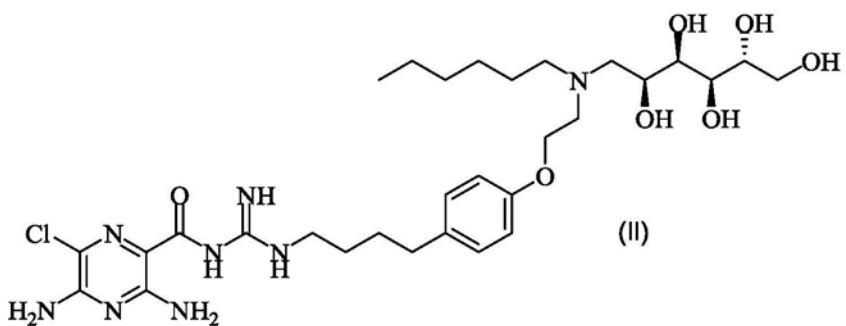


和

；

[0071] 3,5-二氨基-6-氯-N- (N- (4- (4- (2- (己基 ((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基) 氨基) 乙氧基) 苯基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺

[0072]



。

[0073] 在一个实施方案中,本发明提供了对映异构体富集的混合物或包含5-二氨基-6-氯-N- (N- (4- (4- (2- (己基 ((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基) 氨基) 乙氧基) 苯基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺的组合物,或其药学上可接受的盐,,作为主要的异构体。

[0074] 其他实施方案包含对映异构体富集的混合物或组合物,分别包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物,或其药学上可接受的盐,作为每种各自混合物的主要的异构体。

[0075] 在另一个实施方案中,本发明提供了对映异构体富集的混合物或包含5-二氨基-6-氯-N- (N- (4- (4- (2- (己基 ((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基) 氨基) 乙氧基) 苯基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺的组合物,或其药学上可接受的盐,基本上不含有其他同分异构体。

[0076] 四个其他实施方案包含对映异构体富集的混合物或分别包含式(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物的组合物,或其药学上可接受的盐,在每种各自混合物中基本上不含有其他同分异构体。

[0077] 式I的化合物及其药学上可接受的盐可以以不同的多晶型物或假晶型物存在。本文使用的晶体多晶型指晶体化合物以不同的晶体结构存在的能力。晶体多晶型可以由晶体堆积的差异(堆积多晶型)引起或者由相同分子的不同构象异构体之间的差异(构象多晶型)引起。本文使用的晶体假多晶型还包括化合物的水合物或溶剂化物以不同晶体结构存在的能力。本发明的假多晶型物可由于晶体堆积差异(堆积假多晶型)或由于相同分子的不同构象异构体之间堆积的差异(构象假多晶型)而存在。本发明包括式I的化合物的所有多晶型物和假多晶型物及其药学上可接受的盐。

[0078] 式I的化合物及其药学上可接受的盐还可以以无定形固体存在。本文使用的无定形固体为一种固体,其中在固体中不存在原子位置的长程有序性。当晶体大小为两纳米或

更小时,该定义同样适用。可使用添加剂(包括溶剂)来产生本发明的无定形形式。本发明,包括所有药物组合物,治疗方法,组合产物,及本文中描述的用途,包括式I化合物的所有无定形形式及其药学上可接受的盐。

[0079] 用途

[0080] 本发明的化合物作为钠通道阻断剂起作用。不限于任何特定的理论,相信本发明的化合物可在体内通过阻断粘膜表面中存在的上皮钠通道且因此减少了粘膜表面对水的吸收起作用。这种作用增加了粘膜表面上保护性液体的体积,使系统重新平衡。

[0081] 因此,本发明的化合物用作药物,特别是用于治疗钠通道阻断剂可指示的临床病症。这种疾病包括有此需要的人的肺部疾病,比如与可逆性或不可逆性气道阻塞、慢性阻塞性肺病(COPD),其包括COPD的急性恶化、哮喘、支气管扩张(包括由于囊性纤维化以外的疾病产生的支气管扩张)、急性支气管炎、慢性支气管炎、病毒感染后的咳嗽、囊性纤维化、气肿、肺炎、细支气管炎、及移植相关的细支气管炎相关的疾病,其包括肺和骨髓移植相关的细支气管炎。本发明的化合物还可在通气患者中用于治疗呼吸机相关气管支气管炎和/或预防呼吸机相关肺炎。本发明包含用于治疗有此需要的哺乳动物(优选的有此需要的人)的这些疾病的方法,每种方法包含向所述哺乳动物施用药学上的有效量的本发明的化合物,或其药学上可接受的盐。还提供了(a)用于减轻有此需要的哺乳动物的COPD恶化的方法;(b)用于减轻有此需要的哺乳动物的CF恶化的方法;(c)改善有此需要的哺乳动物的肺功能(FEV1)的方法;(d)改善患有COPD的哺乳动物的肺功能(FEV1)的方法;(e)改善患有CF的哺乳动物的肺功能(FEV1)的方法;(f)减少有此需要的哺乳动物的气道感染的方法。

[0082] 本发明还提供了刺激、增强或改善哺乳动物粘膜纤毛清除的方法,所述方法包含向有此需要的哺乳动物施用药学上的有效量的式(I)的化合物,或其药学上可接受的盐。粘膜纤毛清除将被理解为包括转移中涉及的自然的粘膜纤毛作用或清除气道中的粘液,其包括支气管的自净机制。因此,还提供了改善有此需要的哺乳动物的气道中粘液清除的方法。

[0083] 此外,钠通道阻断剂可指示用于治疗疾病,其通过除了肺粘膜表面的粘膜表面中的粘膜水化增强改善所述疾病。这种疾病的实例包括口干(口干症)、干燥皮肤、阴道干燥、窦炎、鼻窦炎、鼻腔脱水(包括施用干燥氧气引起的鼻腔脱水)、干眼症、舍格伦病、中耳炎、原发性纤毛运动障碍、远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘和慢性憩室炎。本发明的化合物还可用于促进眼睛或角膜的水化作用。

[0084] 本发明的化合物还可用于获得人唾液样本的方法。所述方法可这样进行,向患者的至少一个肺施用本发明的化合物,然后诱导并收集该人的唾液样本。

[0085] 相应地,一方面,本发明提供了治疗哺乳动物(比如人)的疾病的方法,其中钠通道阻断剂为指示。

[0086] 在其他实施方案中,本发明提供了本发明所述的每种方法的其他益处,最小化或消除所述方法的接受者中的高钾血症。还提供了实施方案,其包含在本文中描述的每种方法中实现了改善的治疗指数。

[0087] 本文中使用的术语治疗(treat)、正在治疗(treating)及治疗(treatment),是指逆转、缓解、抑制疾病或病症的发展,或预防疾病或病症或一种或多种这种疾病或病症的症状。

[0088] 本文中所述的所有治疗方法通过向需要治疗的受试者(通常是哺乳动物优选为

人)施用有效量的本发明的化合物、式I的化合物或其药学上可接受的盐而实施。

[0089] 在一实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的疾病的方法,所述疾病可通过增强的粘膜水化改善。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的可逆性或不可逆性气道阻塞相关的疾病的方法。在一个特定的实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的慢性阻塞性肺病(COPD)的方法。在一个特定的实施方案中,本发明提供了减少有此需要的哺乳动物(特别是人)的COPD急性恶化的频率、严重性或持续时间的方法,或治疗COPD急性恶化一种或多种症状的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的哮喘方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的支气管扩张(包括由于除了囊性纤维化的疾病引起的支气管扩张)的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的支气管炎(包括急性和慢性支气管炎)的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的病毒感染后的咳嗽的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的囊性纤维化的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的气肿方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的肺炎的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的慢性细支气管炎的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的移植相关的细支气管炎(包括肺和骨髓移植相关的细支气管炎)的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的通气患者的呼吸机相关气管支气管炎的方法和/或预防呼吸机相关肺炎的方法。

[0090] 本发明提供了治疗有此需要的人的疾病的具体方法,所述疾病选自可逆性或不可逆性气道阻塞、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、支气管扩张(包括由于除了囊性纤维化的疾病引起的支气管扩张)、急性支气管炎、慢性支气管炎、病毒感染后的咳嗽、囊性纤维化、气肿、肺炎、慢性细支气管炎、移植相关的细支气管炎及呼吸机相关气管支气管炎或预防呼吸机相关肺炎,每种方法包含向所述人施用有效量的式1(a)的化合物或其药学上可接受的盐。在每种治疗方法的其他实施方案中,药学上可接受的盐形式是式1(a)化合物的盐酸盐或羟基萘甲酸盐。在每种治疗方法的另一实施方案中,使用式1(a)化合物的游离碱。

[0091] 在一实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的口干(口干症)的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的皮肤干燥的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的阴道干燥的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的窦炎、鼻窦炎、鼻腔脱水(包括施用干燥氧气引起的鼻腔脱水)的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的干眼症或舍格伦病的方法,或促进眼睛或角膜水化的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的中耳炎的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的原发性纤毛运动障碍的方法。在一个实施方案中,本发明提供了治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘和慢性憩室炎方法。

[0092] 本发明还提供了用于医学治疗的本发明的化合物,特别是用于治疗哺乳动物(比如人)的疾病,其中钠通道阻断剂作为指示。本文中所述的所有治疗用途通过向需要治疗的

受试者施用有效量的本发明的化合物来实施。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的肺部疾病(比如与可逆性或不可逆性气道阻塞相关的疾病)。在一个特定的实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的慢性阻塞性肺病(COPD)。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于减少有此需要的哺乳动物(特别是人)的COPD急性恶化的频率、严重性或持续时间,或治疗COPD急性恶化一种或多种症状。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的哮喘。在一个实施方案中,提供了一种化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的支气管扩张(包括由于除了囊性纤维化的疾病引起的支气管扩张)或支气管炎(包括急性支气管炎和慢性支气管炎)。在一个实施方案中,提供了一种化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的病毒感染后的咳嗽。在一个实施方案中,提供了一种化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的囊性纤维化。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的气肿。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的肺炎。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的慢性细支气管炎或移植相关的细支气管炎(包括肺和骨髓移植相关的细支气管炎)。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的通气患者的呼吸机相关气管支气管炎或预防呼吸机相关肺炎。

[0093] 在一实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的疾病,所述疾病通过粘膜表面增强的粘膜水化而改善。在一个实施方案中,提供了一种化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的口干(口干症)。在一个实施方案中,提供了一种化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的干燥皮肤。在一个实施方案中,提供了一种化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的阴道干燥。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的窦炎、鼻窦炎、鼻腔脱水(包括施用干燥氧气引起的鼻腔脱水)的方法。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的干眼症或舍格伦病,或促进眼睛或角膜水化。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的中耳炎。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的原发性纤毛运动障碍。在一个实施方案中,提供了一种本发明的化合物,其用于治疗有此需要的哺乳动物(特别是人)的远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘和慢性憩室炎。

[0094] 本发明还提供了本发明的化合物在药物制备中用途,所述药物用于治疗哺乳动物(比如人)的疾病,其中钠通道阻断剂作为指示。在一个实施方案中,提供了本发明的化合物在药物制备中的用途,所述药物用于治疗与可逆性或不可逆性气道阻塞、慢性阻塞性肺病(COPD)、COPD的急性恶化、哮喘、支气管扩张(包括由于除了囊性纤维化的疾病引起的支气管扩张)、支气管炎(包括急性支气管炎和慢性支气管炎)、病毒感染后的咳嗽、囊性纤维化、气肿、肺炎、慢性细支气管炎、移植相关的细支气管炎(包括肺和骨髓移植相关的细支气管炎)、呼吸机相关气管支气管炎或预防呼吸机相关肺炎相关的疾病。

[0095] 在一个具体的实施方案中,提供了本发明的化合物在药物制备中的用途,所述药

物用于治疗由粘膜表面增强的粘膜水化改善的疾病,治疗口干(口干症)、干燥皮肤、阴道干燥、窦炎、鼻窦炎、鼻腔脱水(包括施用干燥氧气引起的鼻腔脱水),治疗干眼症、舍格伦病,促进眼睛或角膜的水化作用,治疗中耳炎、原发性纤毛运动障碍、远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘和慢性憩室炎。

[0096] 如本文所使用的术语“有效量”、“药学上的有效量”、“有效剂量”及“药学上的有效剂量”,是指本发明化合物的数量,其对于所施用的受试者是足够引起细胞培养物、组织、系统或哺乳动物(包括人)的生物或医学反应,其由研究人员或临床医生所寻求。术语还包括在其范围内,以增强正常生理机能的有效量。在一个实施方案中,有效量是在气道和肺的分泌物及组织中提供所需药物水平需要的数量,或可选地,被治疗受试者血液中的数量,所述治疗通过吸入施用这种组合为时达到预期的生理反应或所需生物效果。例如,用于治疗钠通道阻断剂作为指示的疾病的本发明的化合物的有效量在施用其的受试者中是足够治疗特定疾病的。在一个实施方案中,有效量是足够治疗人COPD或囊性纤维化的本发明的化合物的数量。

[0097] 本发明的化合物的精确有效量将取决于许多因素,其包括但不限于,被治疗受试者的物种、年龄和重量,需要治疗的精确情况并且及其严重程度,生物利用率,效力及施用的具体化合物的其他性质,制剂性质,施用途径及递送装置,且最终取决于主治医师或兽医的判断。关于合适剂量的其他原则将可以通过考虑其他钠通道阻断剂(比如阿米洛利)的常规剂量与阿米洛利和本发明的化合物的效力制剂的任何差异而发现。

[0098] 局部施用于(例如,通过吸入)受试者气道表面的用于70kg人的本发明化合物的治疗药学上的有效剂量范围为约10ng至约10mg。在另一个实施方案中,药学上的有效剂量可以为约0.1至约1000 $\mu$ g。通常,局部施用于气道表面的每日剂量是足够实现气道表面上活性剂的溶解浓度为约10<sup>-9</sup>、10<sup>-8</sup>或10<sup>-7</sup>至约10<sup>-4</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-2</sup>或10<sup>-1</sup>mol/L的量,更优选地,约10<sup>-9</sup>至约10<sup>-4</sup>mol/L的量。用于患者具体剂量的选择将由具有本领域常规技术的主治医生、临床医生或兽医基于包括上述因素的多种因素确定。在一个特定的实施方案中,用于治疗70kg人的本发明化合物的剂量范围为约10纳克(ng)至约10mg。在另一个实施方案中,有效剂量为约0.1 $\mu$ g至约1,000 $\mu$ g。在一个实施方案中,用于治疗70kg人的本发明化合物的剂量范围为约0.5 $\mu$ g至约0.5mg。在另一实施方案中,剂量为约0.5 $\mu$ g至约60 $\mu$ g。在另一个实施方案中,药学上的有效剂量为约1至约10 $\mu$ g。在另一个实施方案中,药学上的有效剂量为约5 $\mu$ g至约50 $\mu$ g。另一实施方案的有效剂量为约10 $\mu$ g至约40 $\mu$ g。在另两个实施方案中,药学上的有效剂量分别为约15 $\mu$ g至约50 $\mu$ g及约15 $\mu$ g至约30 $\mu$ g。应当理解,在每种剂量范围中,包括范围内的所有增量剂量。例如,0.5至50 $\mu$ g范围包括的单独剂量为:0.5 $\mu$ g、0.6 $\mu$ g、0.7 $\mu$ g、0.8 $\mu$ g、0.9 $\mu$ g、1.0 $\mu$ g、1.1 $\mu$ g、1.2 $\mu$ g、1.3 $\mu$ g、1.4 $\mu$ g、1.5 $\mu$ g、1.6 $\mu$ g、1.7 $\mu$ g、1.8 $\mu$ g、1.9 $\mu$ g、2.0 $\mu$ g、2.1 $\mu$ g、2.2 $\mu$ g、2.3 $\mu$ g、2.4 $\mu$ g、2.5 $\mu$ g、2.6 $\mu$ g、2.7 $\mu$ g、2.8 $\mu$ g、2.9 $\mu$ g、3.0 $\mu$ g、3.1 $\mu$ g、3.2 $\mu$ g、3.3 $\mu$ g、3.4 $\mu$ g、3.5 $\mu$ g、3.6 $\mu$ g、3.7 $\mu$ g、3.8 $\mu$ g、3.9 $\mu$ g、4.0 $\mu$ g、4.1 $\mu$ g、4.2 $\mu$ g、4.3 $\mu$ g、4.4 $\mu$ g、4.5 $\mu$ g、4.6 $\mu$ g、4.7 $\mu$ g、4.8 $\mu$ g、4.9 $\mu$ g、5.0 $\mu$ g、5.1 $\mu$ g、5.2 $\mu$ g、5.3 $\mu$ g、5.4 $\mu$ g、5.5 $\mu$ g、5.6 $\mu$ g、5.7 $\mu$ g、5.8 $\mu$ g、5.9 $\mu$ g、6.0 $\mu$ g、6.1 $\mu$ g、6.2 $\mu$ g、6.3 $\mu$ g、6.4 $\mu$ g、6.5 $\mu$ g、6.6 $\mu$ g、6.7 $\mu$ g、6.8 $\mu$ g、6.9 $\mu$ g、7.0 $\mu$ g、7.1 $\mu$ g、7.2 $\mu$ g、7.3 $\mu$ g、7.4 $\mu$ g、7.5 $\mu$ g、7.6 $\mu$ g、7.7 $\mu$ g、7.8 $\mu$ g、7.9 $\mu$ g、8.0 $\mu$ g、8.1 $\mu$ g、8.2 $\mu$ g、8.3 $\mu$ g、8.4 $\mu$ g、8.5 $\mu$ g、8.6 $\mu$ g、8.7 $\mu$ g、8.8 $\mu$ g、8.9 $\mu$ g、9.0 $\mu$ g、9.1 $\mu$ g、9.2 $\mu$ g、9.3 $\mu$ g、9.4 $\mu$ g、9.5 $\mu$ g、9.6 $\mu$ g、9.7 $\mu$ g、9.8 $\mu$ g、9.9 $\mu$ g、10.0 $\mu$ g、10.1 $\mu$ g、10.2 $\mu$ g、10.3 $\mu$ g、10.4 $\mu$ g、10.5 $\mu$ g、10.6 $\mu$ g、10.7 $\mu$ g、10.8 $\mu$ g、10.9 $\mu$ g。

g、11.0 $\mu$ g、11.1 $\mu$ g、11.2 $\mu$ g、11.3 $\mu$ g、11.4 $\mu$ g、11.5 $\mu$ g、11.6 $\mu$ g、11.7 $\mu$ g、11.8 $\mu$ g、11.9 $\mu$ g、12.0 $\mu$ g、12.1 $\mu$ g、12.2 $\mu$ g、12.3 $\mu$ g、12.4 $\mu$ g、12.5 $\mu$ g、12.6 $\mu$ g、12.7 $\mu$ g、12.8 $\mu$ g、12.9 $\mu$ g、13.0 $\mu$ g、13.1 $\mu$ g、13.2 $\mu$ g、13.3 $\mu$ g、13.4 $\mu$ g、13.5 $\mu$ g、13.6 $\mu$ g、13.7 $\mu$ g、13.8 $\mu$ g、13.9 $\mu$ g、14.0 $\mu$ g、14.1 $\mu$ g、14.2 $\mu$ g、14.3 $\mu$ g、14.4 $\mu$ g、14.5 $\mu$ g、14.6 $\mu$ g、14.7 $\mu$ g、14.8 $\mu$ g、14.9 $\mu$ g、15.0 $\mu$ g、15.1 $\mu$ g、15.2 $\mu$ g、15.3 $\mu$ g、15.4 $\mu$ g、15.5 $\mu$ g、15.6 $\mu$ g、15.7 $\mu$ g、15.8 $\mu$ g、15.9 $\mu$ g、16.0 $\mu$ g、16.1 $\mu$ g、16.2 $\mu$ g、16.3 $\mu$ g、16.4 $\mu$ g、16.5 $\mu$ g、16.6 $\mu$ g、16.7 $\mu$ g、16.8 $\mu$ g、16.9 $\mu$ g、17.0 $\mu$ g、17.1 $\mu$ g、17.2 $\mu$ g、17.3 $\mu$ g、17.4 $\mu$ g、17.5 $\mu$ g、17.6 $\mu$ g、17.7 $\mu$ g、17.8 $\mu$ g、17.9 $\mu$ g、18.0 $\mu$ g、18.1 $\mu$ g、18.2 $\mu$ g、18.3 $\mu$ g、18.4 $\mu$ g、18.5 $\mu$ g、18.6 $\mu$ g、18.7 $\mu$ g、18.8 $\mu$ g、18.9 $\mu$ g、19.0 $\mu$ g、19.1 $\mu$ g、19.2 $\mu$ g、19.3 $\mu$ g、19.4 $\mu$ g、19.5 $\mu$ g、19.6 $\mu$ g、19.7 $\mu$ g、19.8 $\mu$ g、19.9 $\mu$ g、20.0 $\mu$ g、20.1 $\mu$ g、20.2 $\mu$ g、20.3 $\mu$ g、20.4 $\mu$ g、20.5 $\mu$ g、20.6 $\mu$ g、20.7 $\mu$ g、20.8 $\mu$ g、20.9 $\mu$ g、21.0 $\mu$ g、21.1 $\mu$ g、21.2 $\mu$ g、21.3 $\mu$ g、21.4 $\mu$ g、21.5 $\mu$ g、21.6 $\mu$ g、21.7 $\mu$ g、21.8 $\mu$ g、21.9 $\mu$ g、22.0 $\mu$ g、22.1 $\mu$ g、22.2 $\mu$ g、22.3 $\mu$ g、22.4 $\mu$ g、22.5 $\mu$ g、22.6 $\mu$ g、22.7 $\mu$ g、22.8 $\mu$ g、22.9 $\mu$ g、23.0 $\mu$ g、23.1 $\mu$ g、23.2 $\mu$ g、23.3 $\mu$ g、23.4 $\mu$ g、23.5 $\mu$ g、23.6 $\mu$ g、23.7 $\mu$ g、23.8 $\mu$ g、23.9 $\mu$ g、24.0 $\mu$ g、24.1 $\mu$ g、24.2 $\mu$ g、24.3 $\mu$ g、24.4 $\mu$ g、24.5 $\mu$ g、24.6 $\mu$ g、24.7 $\mu$ g、24.8 $\mu$ g、24.9 $\mu$ g、25.0 $\mu$ g、25.1 $\mu$ g、25.2 $\mu$ g、25.3 $\mu$ g、25.4 $\mu$ g、25.5 $\mu$ g、25.6 $\mu$ g、25.7 $\mu$ g、25.8 $\mu$ g、25.9 $\mu$ g、26.0 $\mu$ g、26.1 $\mu$ g、26.2 $\mu$ g、26.3 $\mu$ g、26.4 $\mu$ g、26.5 $\mu$ g、26.6 $\mu$ g、26.7 $\mu$ g、26.8 $\mu$ g、26.9 $\mu$ g、27.0 $\mu$ g、27.1 $\mu$ g、27.2 $\mu$ g、27.3 $\mu$ g、27.4 $\mu$ g、27.5 $\mu$ g、27.6 $\mu$ g、27.7 $\mu$ g、27.8 $\mu$ g、27.9 $\mu$ g、28.0 $\mu$ g、28.1 $\mu$ g、28.2 $\mu$ g、28.3 $\mu$ g、28.4 $\mu$ g、28.5 $\mu$ g、28.6 $\mu$ g、28.7 $\mu$ g、28.8 $\mu$ g、28.9 $\mu$ g、29.0 $\mu$ g、29.1 $\mu$ g、29.2 $\mu$ g、29.3 $\mu$ g、29.4 $\mu$ g、29.5 $\mu$ g、29.6 $\mu$ g、29.7 $\mu$ g、29.8 $\mu$ g、29.9 $\mu$ g、30.0 $\mu$ g、30.1 $\mu$ g、30.2 $\mu$ g、30.3 $\mu$ g、30.4 $\mu$ g、30.5 $\mu$ g、30.6 $\mu$ g、30.7 $\mu$ g、30.8 $\mu$ g、30.9 $\mu$ g、31.0 $\mu$ g、31.1 $\mu$ g、31.2 $\mu$ g、31.3 $\mu$ g、31.4 $\mu$ g、31.5 $\mu$ g、31.6 $\mu$ g、31.7 $\mu$ g、31.8 $\mu$ g、31.9 $\mu$ g、32.0 $\mu$ g、32.1 $\mu$ g、32.2 $\mu$ g、32.3 $\mu$ g、32.4 $\mu$ g、32.5 $\mu$ g、32.6 $\mu$ g、32.7 $\mu$ g、32.8 $\mu$ g、32.9 $\mu$ g、33.0 $\mu$ g、33.1 $\mu$ g、33.2 $\mu$ g、33.3 $\mu$ g、33.4 $\mu$ g、33.5 $\mu$ g、33.6 $\mu$ g、33.7 $\mu$ g、33.8 $\mu$ g、33.9 $\mu$ g、34.0 $\mu$ g、34.1 $\mu$ g、34.2 $\mu$ g、34.3 $\mu$ g、34.4 $\mu$ g、34.5 $\mu$ g、34.6 $\mu$ g、34.7 $\mu$ g、34.8 $\mu$ g、34.9 $\mu$ g、35.0 $\mu$ g、35.1 $\mu$ g、35.2 $\mu$ g、35.3 $\mu$ g、35.4 $\mu$ g、35.5 $\mu$ g、35.6 $\mu$ g、35.7 $\mu$ g、35.8 $\mu$ g、35.9 $\mu$ g、36.0 $\mu$ g、36.1 $\mu$ g、36.2 $\mu$ g、36.3 $\mu$ g、36.4 $\mu$ g、36.5 $\mu$ g、36.6 $\mu$ g、36.7 $\mu$ g、36.8 $\mu$ g、36.9 $\mu$ g、37.0 $\mu$ g、37.1 $\mu$ g、37.2 $\mu$ g、37.3 $\mu$ g、37.4 $\mu$ g、37.5 $\mu$ g、37.6 $\mu$ g、37.7 $\mu$ g、37.8 $\mu$ g、37.9 $\mu$ g、38.0 $\mu$ g、38.1 $\mu$ g、38.2 $\mu$ g、38.3 $\mu$ g、38.4 $\mu$ g、38.5 $\mu$ g、38.6 $\mu$ g、38.7 $\mu$ g、38.8 $\mu$ g、38.9 $\mu$ g、39.0 $\mu$ g、39.1 $\mu$ g、39.2 $\mu$ g、39.3 $\mu$ g、39.4 $\mu$ g、39.5 $\mu$ g、39.6 $\mu$ g、39.7 $\mu$ g、39.8 $\mu$ g、39.9 $\mu$ g、40.0 $\mu$ g、40.1 $\mu$ g、40.2 $\mu$ g、40.3 $\mu$ g、40.4 $\mu$ g、40.5 $\mu$ g、40.6 $\mu$ g、40.7 $\mu$ g、40.8 $\mu$ g、40.9 $\mu$ g、41.0 $\mu$ g、41.1 $\mu$ g、41.2 $\mu$ g、41.3 $\mu$ g、41.4 $\mu$ g、41.5 $\mu$ g、41.6 $\mu$ g、41.7 $\mu$ g、41.8 $\mu$ g、41.9 $\mu$ g、42.0 $\mu$ g、42.1 $\mu$ g、42.2 $\mu$ g、42.3 $\mu$ g、42.4 $\mu$ g、42.5 $\mu$ g、42.6 $\mu$ g、42.7 $\mu$ g、42.8 $\mu$ g、42.9 $\mu$ g、43.0 $\mu$ g、43.1 $\mu$ g、43.2 $\mu$ g、43.3 $\mu$ g、43.4 $\mu$ g、43.5 $\mu$ g、43.6 $\mu$ g、43.7 $\mu$ g、43.8 $\mu$ g、43.9 $\mu$ g、44.0 $\mu$ g、44.1 $\mu$ g、44.2 $\mu$ g、44.3 $\mu$ g、44.4 $\mu$ g、44.5 $\mu$ g、44.6 $\mu$ g、44.7 $\mu$ g、44.8 $\mu$ g、44.9 $\mu$ g、45.0 $\mu$ g、45.1 $\mu$ g、45.2 $\mu$ g、45.3 $\mu$ g、45.4 $\mu$ g、45.5 $\mu$ g、45.6 $\mu$ g、45.7 $\mu$ g、45.8 $\mu$ g、45.9 $\mu$ g、46.0 $\mu$ g、46.1 $\mu$ g、46.2 $\mu$ g、46.3 $\mu$ g、46.4 $\mu$ g、46.5 $\mu$ g、46.6 $\mu$ g、46.7 $\mu$ g、46.8 $\mu$ g、46.9 $\mu$ g、47.0 $\mu$ g、47.1 $\mu$ g、47.2 $\mu$ g、47.3 $\mu$ g、47.4 $\mu$ g、47.5 $\mu$ g、47.6 $\mu$ g、47.7 $\mu$ g、47.8 $\mu$ g、47.9 $\mu$ g、48.0 $\mu$ g、48.1 $\mu$ g、48.2 $\mu$ g、48.3 $\mu$ g、48.4 $\mu$ g、48.5 $\mu$ g、48.6 $\mu$ g、48.7 $\mu$ g、48.8 $\mu$ g、38.9 $\mu$ g、49.0 $\mu$ g、49.1 $\mu$ g、49.2 $\mu$ g、49.3 $\mu$ g、49.4 $\mu$ g、49.5 $\mu$ g、49.6 $\mu$ g、49.7 $\mu$ g、49.8 $\mu$ g、39.9 $\mu$ g和50 $\mu$ g。

[0099] 如果所述化合物通过不同途径给药, 可使用常规剂量计算调节前述建议的剂量。确定由其他途径给药的合适剂量是本领域技术人员根据前面描述和本领域公知常识所具有的技术。

[0100] 递送有效量的本发明的化合物可能需要递送单一剂型或多单位剂量,其可以在指定时间内(比如24小时)同时或分开递送。本发明的化合物的剂量(单独的或以包含其的组合物形式)可以每天施用1至10次。通常,本发明的化合物(单独的或以包含其的组合物形式)将每天(24小时)施用4次、3次、2次或1次。

[0101] 本发明的式(I)的化合物还用于治疗空气传播的感染。空气传播的感染的实例包括,例如,RSV。本发明的式(I)的化合物还用于治疗炭疽感染。本发明涉及本发明的式(I)的化合物的用途,其用于预防性、暴露后预防性、防止性或治疗性治疗病原体引起的疾病或病症。在一优选实施方案中,本发明涉及式(I)的化合物的用途,其用于预防性、暴露后预防性、防止性或治疗性治疗可用于生物恐怖的病原体引起的疾病或病症。

[0102] 近年来,已经实施了多个研究项目和生物防御措施来解决有关在恐怖主义行为中使用生物剂的问题。这些措施旨在解决有关生物恐怖或者使用微生物或生物毒素杀人、散布恐惧和扰乱社会的问题。例如,国家变态反应和传染病研究所(NIAID)已开发了用于生物防御研究的战略计划,其列出了针对在生物恐怖和出现及再次出现传染病的广泛区域中的研究需要的计划。根据该计划,故意将美国居民暴露于炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)孢子暴露出抗生物恐怖的国家整体预案的空白。此外,该报告详细说明这些攻击揭示了对快速诊断测试、用于预防的疫苗和免疫治疗,以及治疗生物恐怖剂引起的疾病的药物和生物制品的未满足需求。

[0103] 各研究工作大多集中于针对研究被鉴定为具有同生物恐怖剂一样潜在危险的病原体的生物学、研究宿主针对这些制剂的应答、开发抗传染病的疫苗、评价抵抗这些制剂的现有的和研究中的治疗法以及开发用于鉴定威胁性制剂的征兆和症状的诊断剂。这些努力值得赞赏,但考虑到已经鉴定为可能用于生物恐怖的大量病原体,这些努力还没有能够提供针对所有可能的生物恐怖威胁的令人满意的应对措施。此外,已经鉴定为具有同生物恐怖制剂一样潜在危险的许多病原体并不能为工业上开发治疗或预防措施提供足够经济上的动力。而且,即使对于可用于生物恐怖的每种病原体的预防措施(例如疫苗)都是可用的,但向一般人群施用所有这些疫苗的费用也是过高的。

[0104] 在获得抵抗每种生物恐怖威胁的方便有效的治疗之前,强烈需要可以预防或减少感染病原制剂的风险的防止性、预防性或治疗性治疗方法。

[0105] 本发明提供了这种预防性治疗方法。在一方面,提供了一种预防性治疗方法,其包括向需要抵抗一种或多种空气传播病原体的感染的预防性治疗的对象施用预防有效量的式(I)的化合物。空气传播病原体的一个特别实例是炭疽。

[0106] 在另一个方面,提供了一种用于减少可引起人疾病的空气传播病原体的感染风险的预防性治疗方法,所述方法包括向可能处于感染空气传播病原体但没有疾病症状的人的肺部施用有效量的式(I)的化合物,其中所述钠通道阻断剂和渗透质的有效量足以减少所述人感染的风险。空气传播病原体的一个特别实例是炭疽。

[0107] 在另一方面,提供了一种用于治疗空气传播病原体感染的治疗暴露后预防性治疗或治疗性治疗方法,其包括向此需要抗空气传播病原体感染治疗的个体的肺部施用有效量的式(I)的化合物。可以通过本发明的暴露后预防性、援救性和治疗性治疗方法防止的病原体包括可以通过口、鼻或鼻腔气道进入肺从而进入身体的任何病原体。通常,所述病原体是天然存在的或通过气溶胶化的空气传播病原体。所述病原体可以是天然存在的,或者可以

在气溶胶化后被故意引入环境中,或者采用其它方法将病原体引入环境中。许多原本在空气中不传播的病原体已经或者可以被气溶胶化以用于生物恐怖中。可使用本发明处理的病原体包括但不限于NIAID列出的A类、B类和C类重点病原体。这些类别通常对应于由疾病控制和预防中心(CDC)汇编的名单。根据CDC的建立的名单,A类病原体是易于在人与人之间传播或传染、引起高死亡率且对公共健康可能造成重大影响的那些。B类病原体是次一级重点的,其包括中等易于传播并且引起中等发病率和低死亡率的那些。C类由因为其可获得性、易于产生和传播以及高发病率和死亡率的潜力使得将来可被改造从而大范围传播的新出现病原体组成。这些病原体的特别实例为炭疽和鼠疫。可防止或降低感染风险的其它病原体包括流感病毒、鼻病毒、腺病毒和呼吸道合胞病毒等。另一种可以防止的病原体是被认为引起严重急性呼吸综合征(SARS)的冠状病毒。

[0108] 本发明还涉及式I的钠通道阻断剂或其药学上可接受的盐的用途,用于预防、减轻和/或治疗暴露于放射性材料的呼吸道的确定性健康效应,特别是含有放射性核素的可吸入气溶胶,所述放射性核素由核攻击(比如射线扩散装置(RDD)的爆炸)或事故(比如核电站灾害)产生。同样,本文中提供了一种预防、减轻和/或治疗有此需要的接受者(包括有此需要的人)由含有放射性核素的可吸入气溶胶引起的呼吸道和/或其他身体器官的确定性健康效应的方法,所述方法包含向所述人施用有效量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。

[0109] 与公众成员暴露于含有放射性核素的可吸入气溶胶的结果管理计划相关的主要问题是如何预防、减轻或治疗呼吸道(主要是肺)的潜在的确定性健康效应,所述放射性核素由核攻击(比如射线扩散装置(RDD)的爆炸)或事故(比如核电站灾害)产生。具有管理和治疗这种高度内污染个体的药物、技术和方法及受过训练的人员是有必要的。

[0110] 已经进行研究以确定预防、减轻或治疗由内部沉积的放射性核素引起的体内呼吸道及多种器官的潜在损伤。迄今为止,大部分研究关注集中于旨在通过加速内部沉积放射性核素的排泄或去除以减轻其引起的健康效应的策略。这些策略集中于能够到达血流中并沉积在特异于给定放射性元素的远程系统位点的可溶性化学形式。这种方法在沉积的放射性核素是相对不可溶形式的情况下不起作用。研究已表明,如果不是大多数理化形式的来自RDD的分散的放射性核素,许多放射性核素是以相对不可溶形式存在的。

[0111] 已知的唯一的有效降低吸入的不可溶放射性气溶胶对肺的辐射剂量是支气管肺泡灌洗或BAL。这种技术,由用于治疗患有肺泡蛋白沉积症的患者的用途调整而来,已证明是一种安全、可重复的方法,即使使用超过延长的时间周期时。尽管方法存在变化,但BAL的基本方法是麻醉受试者,然后将等渗盐水缓慢诸如单个肺叶以至达到能够残气量。然后通过重力加入并排空其他体积。

[0112] 对动物使用BAL的研究结果表明约40%的深度肺含量可通过BAL的合理序列去除。在一些研究中,动物之间回收的放射性核素的量存在明显差异。目前还未理解差异的原因。

[0113] 此外,基于对动物的研究,相信BAL治疗的显著剂量减少能够减轻由吸入不可溶放射性核素引起健康效应。在研究中,成年狗吸入不可溶<sup>144</sup>Ce-FAP颗粒。两组狗给定已知的<sup>144</sup>Ce肺含量(约2MBq/kg体重),该已知<sup>144</sup>Ce导致辐射性肺炎和肺纤维化,其中一组在暴露后2天至56天之间用10单侧灌洗治疗,另一组不进行治疗。第三组暴露在相当于治疗后BAL-治疗组中观察到的<sup>144</sup>Ce水平(约1MBq/kg),但这些动物是未治疗的。允许所有动物活到其寿命

期限,延长至16年。因为每组狗之间<sup>144</sup>Ce的初始肺含量存在不同,所有每组的剂量率和累计剂量重叠。然而,在存活曲线上BAL降低肺炎/纤维化风险的作用是明显的。在未治疗的狗中,肺含量为1.5-2.5MBq/kg,平均存活时间为370±65天。对于治疗组的狗,平均存活时间为1270±240天,其在统计学上显著不同。第三组的<sup>144</sup>Ce肺含量为0.6-1.4MBq,平均存活时间为1800±230天,其与治疗组无统计学差异。与存活率提高同等重要的,高剂量未治疗组的狗死于肺的确定性效应(肺炎/纤维化),然而治疗组没有死亡。相反,治疗组的狗,与低剂量未治疗组的狗一样,多数患有肺部肿瘤(血管内皮瘤或癌)。因此,由BAL治疗导致的剂量减少显示出具有可预测的肺部生物作用,基于肺接收的辐射剂量。

[0114] 基于这些结果,相信通过提高肺部颗粒清除的任何方法或方法的组合降低残余放射剂量将进一步降低肺部健康效应的概率。然而,BAL是具有许多缺点的方法。BAL是一种高侵入性方法,其必须由受过训练的肺脏学家在专业医疗中心进行。同样地,BAL方法昂贵。鉴于BAL的缺点,其不是能够容易并立即用于需要加速去除反射性颗粒的患者的治疗选择,如在核攻击的事件中。在核攻击或核事故的事件中,需要立即并相对容易地对已暴露或有暴露风险的患者给药治疗。作为吸入气溶胶给予的钠通道阻断剂已显示恢复呼吸道表面的水化作用。这种呼吸道表面的水化作用帮助清除肺部积累的粘液分泌物及相关颗粒物。因此,不束缚于任何特定理论,相信钠通道阻断剂可用于加速去除呼吸道的放射性颗粒。

[0115] 如上所述,肺部受放射性攻击(比如脏弹)后最大的风险来自不可溶放射性颗粒的吸入和潴留。由于放射性颗粒的潴留,肺的累积暴露量显著增加,最后导致肺纤维化/肺炎及潜在死亡。通过螯合剂不能全身地清除不可溶颗粒,因为这些颗粒不在溶液中。迄今为止,通过BAL物理去除颗粒物是有效减轻辐射诱导的肺部疾病的唯一治疗方案。如上所述,BAL对于减少已吸收入体内的放射性颗粒的效应不是可行的治疗方案。因此,希望提供有效地帮助清除气道的放射性颗粒的治疗方案,其不同于BAL,相对容易地施用且在大规模辐射暴露的情况下是可调整的。此外,还希望该治疗方案能在相对短的时间周期内用于许多人。

[0116] 在本发明的另一方面,一种预防、减轻和/或治疗含有放射性核素的可吸入气溶胶导致的呼吸道和/或其他身体器官的确定性健康效应的方法,其包含向需要的个体施用有效量的式I的钠通道阻断剂或其药学上可接受的盐。在本方面的一个特征中,钠通道阻断剂与渗透质一起施用。进一步关于该特征,所述渗透质是高渗盐水(HS)。在另一特征中,所述钠通道阻断剂和所述渗透质与离子转运调节剂一起施用。进一步关于该特征,所述离子转运调节剂可由β-激动剂、CFTR增效剂、嘌呤受体激动剂、鲁比前列酮和蛋白酶抑制剂组成的组。在本方面另一特征中,所述放射性核素选自由钴-60、铯-137、铱-192、镭-226、磷32、锶-89和90、碘-125、铊-201、铅-210、钍-234、铀-238、钚、钴-58、铬-51、镅和锔组成的组。在另一特征中,所述放射性核素来自放射性处理装置。在还一特征中,钠通道阻断剂或其药学上可接受的盐以个体吸入的可吸入颗粒的气溶胶悬浮液形式施用。在另一特征中,钠通道阻断剂或其药学上可接受的盐在暴露于放射性核素后施用。

[0117] 组合物

[0118] 当本发明的化合物可能单独施用时,在一些实施方案中其优选地以组合物形式存在,特别是药物组合物(制剂)。因此,在另一方面,本发明提供了组合物,且特别是药物组合物(比如可吸入药物组合物),其包含药学上的有效量的本发明的化合物作为活性成分,及药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体。本文中使用的术语“活性成分”是指药物组合物中

本发明的任何化合物或本发明的两种或多种化合物的组合。还提供了特定实施方案，其中药物组合物单独地包含药学上的有效量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物或其药学上可接受的盐，或所述化合物与药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体组合。

[0119] 在一些实施方式中，药物组合物单独地包含药学上的有效量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物或其药学上可接受的盐，或所述化合物与稀释剂组合。在单独的实施方案中，药物组合物包含药学上的有效量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物或其药学上可接受的盐，分别于高渗盐水和无菌水中，其中盐水浓度如本文中所述。在一个实施方案中，盐水浓度为0.17%w/v，在另一实施方案中其为2.8%w/v。

[0120] 还提供了一种试剂盒，其包含i)药学上的有效量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物或其药学上可接受的盐；ii)一种或多种药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂；iii)向有此需要的受试者施用组i)的化合物及组ii)的赋形剂、载体或稀释剂的说明书；及iv)容器。由此需要是受试者包括任何需要本文中所述治疗方法的受试者，特别包括有此需要的人受试者。其他实施方案还包含了雾化装置，其选自雾化器(包括振动筛雾化器和喷雾式雾化器)、干粉吸入器(主动和被动干粉吸入器)及计量剂量吸入器(包括压缩、干粉和微雾计量剂量吸入器)。

[0121] 在一实施方案中，试剂盒包含i)每剂量约10ng至约10mg的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物或其药学上可接受的盐；ii)每剂量约1至约5mL的稀释剂；iii)向有此需要的受试者施用组i)的化合物及组ii)的稀释剂的说明书；及iv)容器。在另一实施方案中，稀释剂是每剂量约1至约5mL的如本文所述的盐水溶液。在另一实施方案中，稀释剂是每剂量约1至约5mL的低渗盐水溶液。在另一个实施方案中，稀释剂是每剂量约1至约5mL的高渗盐水溶液。再在另一实施方案中，稀释剂是每剂量约1至约5mL的无菌水。

[0122] 还提供了一种试剂盒，其包含i)包含药学上的有效量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物或其药学上可接受的盐溶于药学上可接受的稀释剂的溶液；ii)给有此需要的受试者施用组i)的溶液的说明书；及iii)容器。

[0123] 还提供了一种试剂盒，其包含i)包含约10ng至约10mg的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物或其药学上可接受的盐溶于药学上可接受的稀释剂的溶液；ii)向有此需要的受试者施用组i)的溶液的说明书；及iii)容器。在另一实施方案中，稀释剂是每剂量约1至约5mL的如本文所述的盐水溶液。

[0124] 另一是实施方案包含一种试剂盒，其包含i)药学上的有效量的式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik)和(Il)的化合物或其药学上可接受的盐于适于吸入的干粉制剂中；ii)可选地，一种或多种适于吸入的药学上可接受的赋形剂或载体；iii)向有此需要的受试者施用组i)的化合物及组ii)的赋形剂或载体的说明书；及iv)容器。在另一实施方案中，试剂盒还包含适于递送干粉制剂至接受者的干粉吸入器。在其他实施方案中，所述干粉吸入器可以是单剂量吸入器或多剂量吸入器。

[0125] 本文中描述的每种试剂盒的其他实施方案包括，每剂量式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、

(Id)、(Ie)、(If)、(Ig)、(Ih)、(Ii)、(Ij)、(Ik) 和 (Il) 的化合物或其药学上可接受的盐的浓度是本文中所述有效剂量范围之一, 所述范围包括a) 约0.1 $\mu\text{g}$ 至约1,000 $\mu\text{g}$ ; b) 约0.5 $\mu\text{g}$ 至约0.5mg; 及c) 约0.5 $\mu\text{g}$ 至约50 $\mu\text{g}$ 。

[0126] 对于每种上述的试剂盒, 还有一实施方案, 其中稀释剂是本文所述浓度的高渗盐水。在每种试剂盒的另一实施方案中, 稀释剂是本文所述浓度的低渗盐水。再在每种试剂盒的一个实施方案中, 稀释剂是适于吸入的无菌水。

[0127] 药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体必须是在与制剂的其他成分相容的意义上可接受的且对其接受者无害。通常药物制剂中使用的药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体是“无毒的”意味着其被认为在制剂中有效量传递消耗是安全的, 且“惰性的”意味着其不适于与活性成分的治疗活性反应或导致不理想的活性成分治疗活性的效应。药学上可接受的赋形剂、稀释剂及载体在本领域是常见的, 且其可使用基于所需的给药途径的常规技术进行选泽, 参见REMINGTON' S, PHARMACEUTICAL SCIENCES, Lippincott Williams&Wilkins; 21<sup>st</sup> Ed (May 1, 2005)。优选地, 药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体根据FDA通常认为是安全的。

[0128] 根据本发明的药物组合物包括适于口服施用; 肠胃外施用(包括皮下、皮内、肌内、静脉内和关节内); 局部施用(包括局部给药于皮肤、眼睛、耳朵等); 阴道或直肠施用; 呼吸道施用(包括鼻腔和鼻窦, 口服和胸腔外气道, 及肺, 包括使用可通过各种类型的干粉吸入器、加压计量剂量吸入器、微雾吸入器、雾化器或吹入器递送的气溶胶)。最合适的施用途径可能取决于几种因素, 其包括患者及正在治疗的病症或疾病。

[0129] 所述制剂可以单位剂量形式或本体形式存在, 例如在制剂由吸入器计量的情况下, 且所述制剂可通过药学领域熟知的任何方法制备。通常, 所述方法包括将活性成分与载体、稀释剂或赋形剂及可选地一种或多种辅助成分混合的步骤。通常, 通过将活性成分与一种或多种液体载体、稀释剂或赋形剂或精细分散的固体载体、稀释剂或赋形剂或两种同时均匀且紧密地结合而制备制剂, 且然后, 如果必要使产品成形为所需制剂。

[0130] 在一个优选的实施方案中, 组合物是可吸入的药物组合物, 其适于吸入并递送至支气管内空间。通常, 这种组合物以包含颗粒物的气溶胶形式存在, 使用雾化器、加压计量剂量吸入器(MDI)、微雾吸入器或干粉吸入器(DPI)递送。本发明方法种使用的所述气溶胶制剂可以是适于雾化器、微雾吸入器或MDI施用的液体(例如, 溶液)或适于MDI或DPI施用的干粉。

[0131] 用于施用药物至呼吸道的气溶胶通常是多分散的, 即其由许多不同大小的颗粒组成。通常用质量中值空气动力学直径(MMAD)和几何标准偏差(GSD)描述颗粒大小分布。对于最佳药物递送至支气管内空间, MMAD的范围为约1至约10 $\mu\text{m}$ 且优选地约1至约5 $\mu\text{m}$ , 且GSD少于3, 优选地少于约2。MMAD超过10 $\mu\text{m}$ 的气溶胶对于吸入至肺部通常过大。GSD大于约3的气溶胶对于肺部递送是非优选的因为其递送高百分比的药物至口腔。为了实现粉末制剂的颗粒大小, 使用常规技术比如微粉化或喷雾干燥减小活性成分颗粒的大小。可用于产生可吸入颗粒的其他方法或技术的非限制性实施例包括喷雾干燥、沉淀、超临界液体及冷冻干燥。可通过空气分类或筛分来分离所需部分。在一个实施方案中, 所述颗粒是晶体。对于液体制剂, 通过所选雾化器、微雾吸入器或MDI的特定型号确定颗粒大小。

[0132] 使用本领域公知的设备测定气溶胶的粒径分布。例如多级Anderson级联冲击器或

其他合适的方法比如美国药典第601章特别列举的那些作为计量的剂量及干粉吸入器发散的气溶胶的特征设备。

[0133] 通过吸入局部递送至肺部的干粉组合物可在没有赋形剂或载体的情况下制成,且相反地干粉中只包括具有适于吸入的粒径的活性成分。干粉组合物还可以含有活性成分及合适的粉末基质(载体/稀释剂/赋形剂物质)的混合物,所述基质比如单糖、二糖或多糖(例如,乳糖或淀粉)。乳糖通常是干粉制剂优选的赋形剂。当使用固体赋形剂(比如乳糖)时,通常赋形剂的粒径远大于活性成分的粒径,以有助于制剂在吸入器中分散。

[0134] 干粉吸入器的非限定性实施例包括储存式多剂量吸入器、预计量多剂量吸入器、基于胶囊的吸入器和单剂量一次性吸入器。储存式吸入器在一个容器内含有许多剂量(例如60)。在吸入之前,患者启动吸入器,其使吸入器从储存器中计量一剂量的药物并准备吸入。储存式DPI的实施例包括但不限于阿斯利康(AstraZeneca)的Turbohaler®及Vectura的ClickHaler®。

[0135] 在预计量多剂量吸入器中,每个单独的计量在分开的容器中制造,在吸入之前启动吸入器导致药物的新剂量从其容器中释放并准备吸入。多剂量DPI吸入器的实施例包括但不限于GSK的Diskus®、Vectura的Gyrohaler®及Valois的Prohaler®。在吸入过程中,患者的吸入气流使粉末加速流出装置并进入口腔。对于胶囊吸入器,制剂在胶囊中并储存在吸入器外面。患者在吸入器中放入胶囊,启动吸入器(穿孔胶囊),然后吸入。实施例包括Rotohaler™(GlaxoSmithKline)、pinhaler™(Novartis)、HandiHaler™(IB)、TurboSpin™(PH&T)。对于单剂量一次性吸入器,患者启动吸入器以准备吸入,吸气,然后处理吸入器并封装。实施例包括Twincer™(U Groningen)、OneDose™(GFE)和Manta Inhaler™(Manta Devices)。

[0136] 通常,干粉吸入器利用粉末路径的紊流特性以使赋形剂-药物聚集体分散,且活性成分的颗粒沉积在肺部。然而,某些干粉吸入器利用旋风分散室以产生所需的可吸入尺寸的颗粒。在旋风分散室中,药物以切线方式进入硬币形状的分散室以使空气路径和药物沿外圆壁移动。当药物制剂沿该圆形壁移动时,由于冲击力其在周围反弹且聚集体被打碎。具有足够小的空气动力学粒径的颗粒可继续跟随空气路径并超出腔室。实际上,分散室的作用类似于小型喷射粉碎机。根据制剂的特性,将大的乳糖颗粒加入制剂以有助于通过与API颗粒的撞击而分散。

[0137] 可使用称为“空气分类器”的硬币形成旋流分散室操作Twincer™单剂量一次性吸入器,参考U.S.公开专利申请号2006/0237010,Rijksuniversiteit Groningen。格罗宁根大学发表的论文已指出,使用该技术可有效地将60mg剂量的纯微粉化粘菌素甲磺酸作为可吸入干粉递送。

[0138] 在一优选实施方案中,使用干粉吸入器可将气溶胶制剂作为干粉递送,从吸入器释放的颗粒的MMAD范围为约1μm至约5μm,且GSD约少于2。

[0139] 用于递送根据本发明的化合物和组合物的合适的干粉吸入器及干粉分散设备的实施例包括但不限于US7520278、US7322354、US7246617、US7231920、US7219665、US7207330、US6880555、US5,522,385、US6845772、US6637431、US6329034、US5,458,135、US4,805,811及US公开专利申请号2006/0237010中所公开的那些。

[0140] 在一个实施方案中,根据本发明的药物制剂是用于吸入的干粉,其被制成为

Diskus<sup>®</sup>-型设备的递送。所述Diskus<sup>®</sup>设备包括由基片和盖片形成的长形带，所述基片具有许多沿其长度设置的凹槽，而所述底片是密封的但为可剥离密封，以限定多个容器，每个容器具有可吸入制剂，所述制剂含有单独的预定数量的活性成分或与一种或多种载体或赋形剂(例如，乳糖)和/或其他治疗活性剂混合。优选地，所述带足够弹性以能够缠绕成卷。盖片和底片优选地具有彼此不密封的引导端部分且至少构成一个引导端部分以与缠绕装置连接。此外，优选地底片和盖片的密封延伸至其整个宽度。为了制备用于吸入的剂量，盖片优选地沿纵向在基片的第一端从基片上剥离。

[0141] 在一个实施方案中，根据本发明的药物制剂室用于吸入的干粉，其被制成用于单剂量一次性吸入器特别是Twincer<sup>TM</sup>吸入器递送。所述Twincer<sup>TM</sup>吸入器包含箔层压泡罩与一个或几个凹槽及密封但为可剥离密封的盖片以限定多个容器。每个容器具有可吸入制剂，所述制剂含有单独的预定数量的活性成分或与一种或多种载体或赋形剂(例如，乳糖)混合。优选地盖片具有引导端部分，其被构造以从吸入器的主体伸出。患者将操作该设备且因此通过以下步骤施用气溶胶制剂：1) 去除在外部包装的外包装，2) 拉起箔片以露出泡罩中的药物及3) 从泡罩中吸入药物。

[0142] 在另一个实施方案中，根据本发明的药物制剂室用于吸入的干粉，其中干粉如PCT公开号W02009/015286或W02007/114881所述被制成微粒。这种微粒通常通过将抗衡离子加入溶剂中含有本发明化合物的溶液中形成，将抗溶剂加入所述溶液；逐渐地冷却溶液至温度低于25°C，以形成含有包含所述化合物的微粒的组合物。然后通过任何合适的方法，比如沉降、过滤或冻干将包含所述化合物的微粒从溶液中分离。制备本发明的化合物的微粒的合适的抗衡离子、溶剂及抗溶剂如W02009/015286中所述。

[0143] 在另一个实施方案中，根据本发明的药物组合物使用计量剂量吸入器作为干粉递送。计量剂量吸入器及设备的非限制性实施例包括US5,261,538、US5,544,647、US5,622,163、US4,955,371、US3,565,070、US3,361306和US6,116,234及US7,108,159中所公开的那些。在一优选实施方案中，本发明的化合物使用计量剂量吸入器作为干粉递送，其中释放的颗粒的MMAD范围为约1μm至约5μm，且GSD少于约2。

[0144] 通过吸入递送至支气管内空间或肺部的液体气溶胶制剂，使用合适的液化推进剂、微雾吸入器或雾化器可以制成例如气溶胶溶液或悬浮液或由加压包装(比如计量剂量吸入器)递送的气溶胶。这种适于吸入的气溶胶组合物可以是悬浮液或溶液，且通常含有活性成分及药学上可接受的载体或稀释剂(例如，水(蒸馏水或无菌水)、盐水、高渗盐水或乙醇)及可选地一种或多种其他治疗活性剂。

[0145] 通过加压计量剂量吸入器递送的气溶胶组合物一般还包含药学上可接受的推进剂。这种推进剂的实施例包括碳氟化合物或含氢的氯氟烃或其混合物，特别是氢氟烷类，例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷，尤其是1,1,1,2-四氟乙烷、1,1,1,2,3,3,3,-七氟-正-丙烷或其混合物。所述气溶胶组合物可以不含赋形剂或可选地含有本领域公知的其他制剂赋形剂，比如表面活性剂(例如，油酸或卵磷脂)及助溶剂(例如，乙醇)。加压制剂通常将保留在阀(例如，计量阀)关闭的罐(例如，铝罐)内并装入具有接口管的驱动器中。

[0146] 在另一个实施方案中，根据本发明的药物组合物使用计量剂量吸入器作为液体递送。计量剂量吸入器及设备的非限制性实施例包括美国专利号6,253,762、6,413,497、7,601,336、7,481,995、6,743,413及7,105,152中公开的。在一优选实施方案中，本发明的化

合物使用计量剂量吸入器作为干粉递送,其中释放的颗粒的MMAD范围为约1μm至约5μm,且GSD少于约2。

[0147] 在一实施方案中,气溶胶制剂适于通过喷雾雾化器或超声波雾化器(包括静态和振动多孔板雾化器)雾化。用于雾化的液体气溶胶制剂可通过溶解或重建固体颗粒制剂产生,或由含水介质伴随加入试剂(比如酸或碱、缓冲盐)及等渗调节剂制成。其可能通过生产过程中的技术(比如过滤、灭菌)或终端过程(比如在高压釜中加热或γ辐射)。其还可以未灭菌的形式存在。

[0148] 患者可能对雾化溶液的pH、渗透压及离子含量敏感。因此,这些参数应调节至与活性成分相容且患者可耐受的。最优选的活性成分溶液或悬浮液在pH为4.5至7.4(优选地5.0至5.5)的条件下含有的氯化物浓度大于30mM,渗透压为约800至1600mOsm/kg。通过用普通酸(例如,盐酸或硫酸)或碱(例如,氢氧化钠)滴度或通过使用缓冲剂可控制所述溶液的pH。常用的缓冲剂包括柠檬酸盐缓冲剂(比如柠檬酸/柠檬酸钠缓冲剂)、乙酸盐缓冲剂(比如乙酸/乙酸钠缓冲剂)及磷酸盐缓冲剂。缓冲剂强度范围为2mM至50mM。

[0149] 有用的乙酸盐、磷酸盐及柠檬酸盐缓冲剂包括乙酸钠、三水合乙酸钠、乙酸铵、乙酸钾、磷酸钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、磷酸二氢钾、磷酸氢钾、磷酸钾、柠檬酸钠和柠檬酸钾。可利用的其他缓冲剂包括氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氨基甲基丙醇、氨基丁三醇、四羟基丙基乙二胺、柠檬酸、乙酸、羟基三羧酸或其盐(比如柠檬酸或柠檬酸盐)、乳酸及乳酸盐(包括乳酸钠、乳酸钾、乳酸锂、乳酸钙、乳酸镁、钡乳酸盐、乳酸铝、乳酸锌、乳酸银、乳酸铜、乳酸铁、乳酸锰、乳酸铵)、单乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、二异丙醇胺,以及其组合等。

[0150] 这种制剂可使用市售的雾化器或其他喷雾器施用,所述雾化器或喷雾器可将制剂打碎成适于沉积在呼吸道的颗粒或液滴。用于气溶胶递送本发明组合物的雾化器的非限制性实施例包括增强的喷射雾化器,通风的或者呼吸增强的喷射雾化器或超声波雾化器(包括静态或振动多孔板雾化器)。市售雾化器包括Aeroneb® Go雾化器(Aerogen)及eFlow雾化器(Pari Pharma)。

[0151] 喷射雾化器利用空气的高速气流喷射通过水柱以产生液滴。不适于吸入的颗粒影响壁或空气动力学挡板。通气的或呼吸增强的雾化器与喷射雾化器以基本相同的方式工作,除了吸入的空气通过最初液体产生区域以在患者吸入同时增加雾化器的输出速率。

[0152] 在超声波雾化器中,压电晶体的振动产生药物储存器中的表面不稳定性,其导致液滴形成。在声能迫使液体通过网孔产生的多孔板雾化器压力场,其中由Rayleigh破碎器将液体破碎成液体。由压电晶体驱动的振动焊头或板或网自身振动提供声能。喷雾器的非限制性实施例包括任何单个或双流体喷雾器或喷嘴,其能产生合适尺寸的液体。单个流体喷雾器通过迫使液体通过一个或多个孔,喷射的液体破碎成液滴而工作。双流体喷雾器通过迫使气体和液体通过一个或多个孔,或通过液体喷射对准另一液体或气体喷射而工作。

[0153] 选择雾化气溶胶制剂的雾化器对于活性成分的施用是重要的。不同的雾化器基于其设计和操作原理具有不同的效率且对制剂的物理及化学特性是敏感的。例如,具有不同表面张力的两种制剂可能具有不同的粒径分布。此外,制剂特性比如pH、渗透压及渗透离子含量可影响药物的耐受性,所以优选实施方案符合这些特性的特定范围。

[0154] 在一优选实施方案中,使用合适的雾化器将雾化的制剂作为气溶胶递送至支气管

内空间,所述气溶胶的MMAD为约 $1\mu\text{m}$ 至约 $5\mu\text{m}$ ,且GSD少于2。为了达到最佳效果且避免上呼吸道及全身性副作用,所述气溶胶的MMAD不应大于约 $5\mu\text{m}$ 且具有的GSD不应大于约2。如果气溶胶的MMAD大于约 $5\mu\text{m}$ 或GSD大于约2,大百分比的剂量可能沉积在上呼吸道,减少递送至下呼吸道所需位点的药物量。如果气溶胶的MMAD小于约 $1\mu\text{m}$ ,然后大百分比的颗粒可能保持悬浮在吸入的空气中且然后可能在呼气过程中被排出。

[0155] 还可通过支气管镜灌洗施用本发明的化合物。

[0156] 适于口服给药的制剂可以离散单位(比如胶囊、扁囊剂、片剂)存在,每种单位包含预定量的活性成分;粉末或颗粒;水性液体或非水性液体中的溶液或悬浮液;或水包油液体乳剂或油包水液体乳剂存在。所述活性成分还可以囊剂、丸剂、药糖剂或糊剂存在。

[0157] 可通过压缩或模压制造片剂,可选地含有一种或多种辅助成分。可通过在合适机器中将活性成分压缩成自由流动形式(比如粉末或颗粒)制备压缩片剂,可选地与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、表面活性剂或分散剂混合。可通过在合适机器中将润湿的粉末化合物与惰性液体稀释剂的混合物压模制造模压片剂。可选地所述片剂还可被包衣或刻痕并被制成以提供缓慢或有控制地释放其中的活性成分。

[0158] 用于口中局部施用(例如颊下或舌下)的制剂包括锭剂(其包含调味基质中的活性成分,所述基质比如蔗糖及阿拉伯胶或黄芪胶),及软锭剂(其包含基质中的活性成分,所述基质比如明胶及甘油或蔗糖及阿拉伯胶)。

[0159] 用于肠胃外施用的制剂包括水性和非水性无菌注射液,其可能含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂及溶质,所述溶质使制剂与预期接受者的血液等渗;及水性和非水性无菌悬浮液,其可能包括悬浮剂和增稠剂。所述制剂可存在于单位剂量或多剂量容器中(例如密封的安瓿和小瓶),且可保存在冷冻干燥(冻干)条件下,只需要在使用之前立即加入无菌液体载体(例如盐水或注射用水)。可用前述类型的无菌粉末、颗粒及片剂制备临时注射溶液和悬浮液。

[0160] 口服液(比如溶液、糖浆及酏剂)可制备成剂量单位形式以使给定数量含有预定量的活性成分。可通过将活性成分溶解于合适的调味水溶液制备糖浆,同时通过使用药学上可接受的醇类载体制备酏剂。通过将活性成分分散于药学上可接受的载体制成混悬剂。还可将增溶剂和乳化剂(比如乙氧基化的异硬脂醇和聚氧乙烯山梨醇醚)、防腐剂、调味添加剂(比如薄荷油或天然甜味剂或糖精或其它人工甜味剂)等掺入口服液组合物。

[0161] 还可使用脂质体递送系统(比如小单层囊泡、大单层囊泡及多层囊泡)作为本发明的化合物的递送方式。脂质体可由多种磷脂(比如胆固醇、硬脂酰胺和磷脂酰胆碱)制成。

[0162] 局部施用的药物组合物可制成软膏剂、乳膏剂、混悬剂、洗剂、粉剂、溶液剂、糊剂、凝胶剂、喷雾剂、气溶胶或油。旨在治疗眼睛或其它外部组织(例如口腔和皮肤)作为局部软膏或乳膏用途。当制成软膏剂时,活性成分可与石蜡或与水混溶的软膏基质一起使用。可选择地,活性成分可制成具有水包油乳膏基质或油包水基质的乳膏剂。

[0163] 旨在局部施用于眼睛或耳朵的其它组合物包括眼药水和滴耳剂,其中活性成分溶解于或悬浮于合适的载体,比如例如水性溶剂(包括盐水)。

[0164] 旨在鼻腔施用的组合物包括气溶胶、溶液剂、混悬剂、喷雾剂、气雾剂及滴剂。鼻腔施用的气溶胶制剂可以与吸入的气溶胶制剂大致相同的方式制成,这些具有不可吸入尺寸的颗粒在鼻腔施用的制剂中是优选的。通常,可使用 $5\mu\text{m}$ 大小的颗粒,直至可是液滴的大小。

因此,对于鼻腔施用,可使用粒径范围为10至500 $\mu\text{m}$ 的颗粒以保证鼻腔内的潴留时间。

[0165] 还可使用经皮贴片,其旨在与患者的表皮保持长时间周期的接触且促进通过其的活性成分的吸收。

[0166] 阴道或直肠施用的组合物包括软膏剂、乳膏剂、栓剂及灌肠剂,其全部可使用常规技术配制。

[0167] 在另一方面,本发明提供了一种对有此需要的人促进其粘膜表面水化或恢复粘膜防御的方法,其包含向人施用包含本发明的化合物的药物组合物,其中施用有效量的所述化合物。在一个优选的实施方案中,所述方法包含施用作为可吸入组合物的药物组合物,所述组合物包含一定量的本发明的化合物,其足以实现气道表面的化合物溶解浓度为约10<sup>-9</sup>、10<sup>-8</sup>或10<sup>-7</sup>至约10<sup>-4</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-2</sup>或10<sup>-1</sup>mol/L,更优选地为约10<sup>-9</sup>至约10<sup>-4</sup>mol/L。

[0168] 在另一方面,本发明提供了一种治疗任何一种下述疾病的方法,所述疾病为有此需要的人的与可逆性或不可逆性气道阻塞相关的疾病、慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘、支气管扩张(包括由于囊性纤维化以外的疾病产生的支气管扩张)、急性支气管炎、慢性支气管炎、病毒感染后的咳嗽、囊性纤维化、气肿、肺炎、慢性细支气管炎、移植相关的细支气管炎及呼吸机相关的支气管炎或预防呼吸机相关的肺炎,所述方法包含向人施用包含本发明的化合物的药物组合物,其中施用有效量的所述化合物。在一个优选的实施方案中,所述方法包含施用作为可吸入组合物的药物组合物,所述可吸入组合物包含一定量的本发明的化合物,其足以实现气道表面的化合物溶解浓度为约10<sup>-9</sup>、10<sup>-8</sup>或10<sup>-7</sup>至约10<sup>-4</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-2</sup>或10<sup>-1</sup>mol/L,更优选地为约10<sup>-9</sup>至约10<sup>-4</sup>mol/L。

[0169] 在另一方面,本发明提供了一种治疗有此需要的人的口干(口干症)、干燥皮肤、阴道干燥、窦炎、鼻窦炎、鼻腔脱水(包括施用干燥氧气引起的鼻腔脱水)、干眼症或舍格伦病的任何一种,促进眼睛或角膜的水化作用,治疗远端肠梗阻综合征、治疗中耳炎、原发性纤毛运动障碍、远端肠梗阻综合征、食管炎、便秘或慢性憩室炎的方法,所述方法包含向人施用包含本发明的化合物的药物组合物,其中施用有效量的所述化合物。

[0170] 本发明的化合物的优选单位剂量制剂是含有有效量活性成分或其合适馏分的那些制剂。

[0171] 应当理解的是,除了以上具体提到的成分,涉及剂型问题本发明的制剂可包括本领域常用的其他试剂,例如适于口服施用的制剂可包括调味剂。

[0172] 根据治疗的特定疾病及所需施用途径的需要,本发明的组合物可配制成立即释放、控制释放或持续释放。例如,口服施用的控制释放制剂可期望用于治疗便秘以将活性剂最大化地递送至结肠。这种制剂和其合适的赋形剂是药学领域公知的。因为所述化合物的游离碱通常比其盐难溶于水,包含式I的化合物的游离碱的组合物可用于提供更持续地释放活性剂,所述活性剂通过吸入进入肺。以颗粒形式存在于肺中的活性剂(未溶解到溶液中)不能引起生理反应,但可作为逐渐溶于溶液中的可生物利用的药物的储库。作为另一个实施例,制剂可同时采用本发明的化合物的游离碱或其盐形式以同时提供立即释放和持续释放溶解于(例如,鼻部)粘液分泌物的活性剂。

[0173] 组合

[0174] 本发明的化合物可与其他治疗活性剂结合配制和/或使用。可与本发明的化合物结合配制或使用的其他治疗活性剂的实例包括但不限于渗透质、抗炎剂、抗胆碱能剂、 $\beta$ -激

动剂(包括选择性 $\beta_2$ -激动剂)、P2Y2受体激动剂、过氧化酶体增殖子激活受体(PPAR) $\delta$ 激动剂、其他上皮钠通道阻断剂(ENaC受体阻断剂)、囊性纤维化跨膜传导调节蛋白(CFTR)调节剂、激酶抑制剂、抗感染剂、抗组胺剂、非抗生素抗炎大环内脂类、弹性蛋白酶和蛋白酶抑制剂、及粘液或粘蛋白修饰剂,比如表面活性剂。此外,用于指征心血管病,本发明的化合物可与 $\beta$ 阻断剂、ACE抑制剂、HMGCoA还原酶抑制剂、钙通道阻断剂及其他心血管药剂结合使用。

[0175] 另一方面,因此本发明提供了包含有效量的本发明的化合物及一种或多种其他治疗活性剂的组合物,所述治疗活性剂选自渗透质、抗炎剂、抗胆碱能剂、 $\beta$ -激动剂(包括选择性 $\beta_2$ -激动剂)、P2Y2受体激动剂、过氧化酶体增殖子激活受体(PPAR) $\delta$ 激动剂、其他上皮钠通道阻断剂(ENaC受体阻断剂)、囊性纤维化跨膜传导调节蛋白(CFTR)调节剂、激酶抑制剂、抗感染剂、抗组胺剂、非抗生素抗炎大环内脂类、弹性蛋白酶和蛋白酶抑制剂、及粘液或粘蛋白修饰剂,比如表面活性剂。另一方面,因此本发明提供了包含有效量的本发明的化合物及一种或多种其他治疗活性剂的组合物,所述治疗活性剂选自 $\beta$ 阻断剂、ACE抑制剂、HMGCoA还原酶抑制剂、钙通道阻断剂。使用本发明的化合物与一种或多种其他治疗活性剂(特别是渗透质)结合可以减少足以水化粘膜表面所需的本发明的化合物的剂量,因此降低了潜在的不希望的归因于钠通道的全身阻断(例如肾脏中)的副作用。

[0176] 根据本发明“渗透质”是具有渗透活性的分子或化合物。本发明的“渗透活性”分子和化合物是在气道或肺上皮表面上不可透过膜的(即基本上不可吸收的)。本文使用的术语“气道表面”和“肺表面”包括肺的气道表面,比如支气管和细支气管、肺泡表面和鼻腔及鼻窦表面。合适的渗透质包括离子型渗透质(即盐),和非离子型渗透质(即糖、糖醇和有机渗透质)。通常,与本发明的化合物联合使用的渗透质(离子型渗透质和非离子型渗透质)不会促进,或者事实上阻止或延迟细菌生长。适用于本发明的渗透质可以是消旋体的形式,或者是对映异构体、非对映异构体、互变异构体、多晶型物和假多晶型物的形式。

[0177] 可用于本发明的离子型渗透质包括药学上可接受的阴离子和药学上可接受的阳离子的任何盐。优选地,所述阴离子和阳离子中任一种(或全部)对于它们所施用到的气道表面具有渗透活性并且不进行快速主动转运。这样的化合物包括但不限于FDA批准的市售盐中所包含的阴离子和阳离子(参见例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy, Vol.II, pg.1457 (19<sup>th</sup> Ed. 1995),并可以以本领域任何已知的组合使用。

[0178] 药学上可接受的渗透活性的阴离子具体的例子包括但不限于,乙酸根、苯磺酸根、苯甲酸根、碳酸氢根、酒石酸氢根、溴离子、依地酸钙离子(calcium edetate)、樟脑磺酸根(camphorsulfonate)、碳酸根、氯离子、柠檬酸根、二盐酸根(dihydrochloride)、依地酸根、乙二磺酸根(1,2-乙烷二磺酸根)、丙酸酯十二烷硫酸根(月桂基硫酸根)、乙磺酸根(1,2-乙烷二磺酸根)、延胡索酸根、葡萄糖酸根、葡糖酸根、谷氨酸根、乙醇酸基阿散酸盐根(p-glycollamidophenylarsonate)、己基间苯二酚盐根(hexylresorcinate)、海巴明(hydramine) (N,N'-二(脱氢松香基)乙二胺)、氢溴酸根、盐酸根、羟基萘甲酸根、碘离子、羟乙基磺酸根、乳酸根、乳糖酸根(lactobionate)、苹果酸根、马来酸根、扁桃酸根、甲磺酸根、溴甲基根(methylbromide)、硝酸甲酯根、硫酸二甲酯根、粘酸根、萘磺酸根、硝酸根、亚硝酸根、扑酸根(pamoate)(双羟萘酸根)、泛酸根、磷酸根或磷酸氢根、聚半乳糖醛酸根、水杨酸根、硬脂酸根、碱式乙酸根、琥珀酸根、硫酸根、丹宁酸根、酒石酸根、茶氯酸根(8-氯茶碱酸根)、三乙基碘根(triethiodide)、碳酸氢根等。优选的阴离子包括氯离子、硫酸根、硝

酸根、葡糖酸根、碘离子、碳酸氢根、溴离子和磷酸根。

[0179] 药学上可接受的渗透活性的阳离子具体的例子包括但不限于，有机阳离子，比如苄星青霉素( $N,N'$ -二苄基乙二胺)、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺( $N$ -甲基D-葡糖胺)、普鲁卡因、D-赖氨酸、L-赖氨酸、D-精氨酸、L-精氨酸、三乙胺、N-甲基D-甘油等；金属阳离子，比如铝离子、钙离子、锂离子、镁离子、钾离子、钠离子、锌离子、铁离子、铵离子等。优选的有机阳离子包括3-碳、4-碳、5-碳和6-碳有机阳离子。优选的阳离子包括钠离子、钾离子、胆碱离子、锂离子、葡甲胺离子、D-赖氨酸离子、铵离子、镁离子和钙离子。

[0180] 可以与本发明的化合物联合使用的无机渗透质具体的例子包括但不限于，氯化钠(特别是高渗盐水)、氯化钾、氯化胆碱、碘化胆碱、氯化碘、氯化锂、氯化葡甲胺、氯化L-赖氨酸、氯化D-赖氨酸、氯化铵、硫酸钾、硝酸钾、葡萄糖酸钾、碘化钾、氯化铁、氯化亚铁、溴化钾，以及上述物质任何两种或多种的组合。在一个实施方案中，本发明提供了本发明的化合物和两种不同的渗透活性盐的组合。当使用不同的盐时，在不同的盐中，阳离子或阴离子之一可以是相同的。高渗盐水是优选的用于与本发明的化合物联合使用的有机渗透调节物质。

[0181] 非离子渗透质包括糖、糖醇和有机渗透质。在本发明中使用的作为渗透质的糖和糖醇包括但不限于3-碳糖(例如，甘油、二羟基丙酮)；4-碳糖(例如，D和L型的赤藓糖、苏阿糖和赤藓酮糖)；5-碳糖(例如，D和L型的核糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖、阿洛酮糖、果糖、山梨糖和塔格糖)；6-碳糖(例如，D和L型的阿卓糖、阿洛糖、葡萄糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖和塔罗糖，以及D和L型的阿洛糖-庚酮糖、阿洛糖-庚酮糖、葡萄糖-庚酮糖、甘露糖-庚酮糖、古洛糖-庚酮糖、艾杜糖-庚酮糖、半乳糖-庚酮糖、塔罗糖-庚酮糖)。可用于实施本发明的其它糖包括棉子糖、棉子糖系列寡糖和水苏糖。可用于本发明的D和L形式的还原型的每种糖/糖醇也是本发明范围内的渗透质。因此，例如当葡萄糖还原成山梨醇时，在本发明的范围内，山梨醇及其它还原型的糖/糖醇(例如甘露醇、卫矛醇、阿拉伯糖醇)是本发明使用的合适的渗透质。甘露糖醇是用于与本发明的化合物联合使用的优选的非离子渗透质。

[0182] “有机渗透质”通常用于指控制肾脏中细胞内渗透压的分子。参见，例如J.S.Handler等, Comp.Biochem.Physiol, 117, 301-306 (1997); M.Burg, Am.J.Physiol. 268, F983-F996 (1995)。有机渗透质包括但不限于三种主要类型的化合物：多元醇(多羟基醇)、甲胺和氨基酸。合适的多元醇有机渗透质包括但不限于肌醇(inositol)、肌醇(myo-inositol)和山梨醇。合适的甲胺有机渗透质包括但不限于胆碱、甜菜碱、肉碱(L-、D-和DL型)、磷酸胆碱、溶血性磷脂酰胆碱(lyso-phosphorylcholine)、甘油磷酸胆碱、肌酸和磷酸肌酸。合适的氨基酸有机渗透质包括但不限于D-和L-型的甘氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸、脯氨酸和牛磺酸。可用于实施本发明的其它有机渗透质包括tihulose和肌氨酸。哺乳动物有机渗透质是优选的，人有机渗透质是最优选的。然而，某些有机渗透质来源于细菌、酵母菌和海洋动物，这些化合物同样可用于本发明。

[0183] 本发明的渗透活性化合物还包括被称为“有机渗透质”(“organicosmolyte”)的非离子型渗透质家族。术语“有机渗透质”通常用于指控制肾脏中细胞内渗透压的分子。参见，例如J.S.Handler等, Comp.Biochem.Physiol, 117, 301-306 (1997); M.Burg, Am.J.Physiol. 268, F983-F996 (1995)，每一篇均通过引用并入本文。尽管本发明人不希望

本发明受任何特定理论的约束,但似乎这些有机渗透质可用于控制气道/肺表面上的细胞外容积。可用作本发明中活性化合物的有机渗透质包括但不限于三种主要类型的化合物:多元醇(多羟基醇)、甲胺和氨基酸。认为可用于实施本发明的多元醇有机渗透质包括但不限于肌醇(inositol)、肌肌醇(myo-inositol)和山梨醇。可用于实施本发明的甲胺有机渗透质包括但不限于胆碱、甜菜碱、肉碱(L-、D-和DL形式)、磷酸胆碱、溶血性磷脂酰胆碱(lysophosphorylcholine)、甘油磷酸胆碱、肌酸和磷酸肌酸。本发明的氨基酸有机渗透质包括但不限于D-和L-形式的甘氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸、脯氨酸和牛磺酸。可用于实施本发明的其它渗透质包括thihulose和肌氨酸。哺乳动物有机渗透质是优选的,人有机渗透质是最优选的。然而,某些有机渗透质来源于细菌、酵母菌和海洋动物,这些化合物也是本发明范围内可用的活性化合物。

[0184] 渗透质前体可以与本发明的化合物联合使用,本文中使用术语的“渗透质前体”指通过代谢步骤(分解代谢或合成代谢)转变成渗透质的化合物。渗透质前体的例子包括但不限于葡萄糖、葡萄糖聚合物、甘油、胆碱、磷脂酰胆碱、溶血性磷脂酰胆碱和无机磷酸盐,其为多元醇和甲胺的前体。氨基酸渗透质的前体包括蛋白质、肽和聚氨基酸(其水解产生渗透质氨基酸)和代谢性前体(其可通过代谢步骤比如转氨基作用转变成渗透质氨基酸)。例如,氨基酸谷氨酰胺的前体为聚-L-谷氨酰胺,谷氨酸的前体为聚-L-谷氨酸。

[0185] 还可以使用化学修饰的渗透质或渗透质前体。这样的化学修饰包括使渗透质(或前体)连接至另外的化学基团,该化学基团改变或增强所述渗透质或渗透质前体的作用(例如,抑制所述渗透质分子的降解)。这样的化学修饰已经与药物或前药一起使用,并且是本领域已知的(参见例如,美国专利号4,479,932和4,540,564;Shek,E.等,J.Med.Chem.19:113-117(1976);Bodor,N.等,J.Pharm.Sci.67:1045-1050(1978);Bodor,N.等,J.Med.Chem.26:313-318(1983);Bodor,N.等,J.Pharm.Sci.75:29-35(1986))。

[0186] 与本发明的化合物联合使用的优选的渗透质包括氯化钠(特别是高渗盐水)和甘露糖醇。

[0187] 为了配制大于或等于7%的高渗盐水制剂,含有碳酸氢根阴离子的制剂可以是特别有用的,特别用于具有囊性纤维化跨膜传导调节蛋白失调的呼吸系统紊乱,例如CF或COPD。最近的研究结果表明,尽管 $\text{HCO}_3^-$ 导电率/ $\text{Cl}^-$ 导电率的相对比值在0.1至1之间,用于cAMP和ATP激活单独的CFTR通道,但是取决于刺激的条件,汗腺管之内的比例可在几乎0至差不多1.0之间变化。也就是,cAMP+cGMP+α-酮戊二酸的组合可以产生CFTR  $\text{HCO}_3^-$ 的导电率几乎等于 $\text{Cl}^-$ 导电率(Quinton等Physiology,Vol.22,No.3,212-225,June 2007)。此外,含有碳酸氢根阴离子的大于或等于7%的高渗盐水制剂是特别有用的,因为其在气道表面液体中更好的控制pH值。首先,据表明气道酸化出现在CF中(Tate等2002)并且缺乏CFTR依赖的碳酸根分泌能够导致响应气道条件能力受损,该气道条件与气道表面液体层酸化相关(Coakley等2003)。其次,向肺表面加入不含碳酸氢盐的HS溶液可进一步稀释碳酸氢盐的浓度,且可能降低pH值或降低响应气道表面液体层内的气道酸化的能力。因此,向HS中加入碳酸氢根阴离子可以帮助维持或提高CF患者内气道表面液体层的pH值。

[0188] 由于该证据,通过本发明的方法施用在大于等于7%高渗盐水中的碳酸氢根阴离子的内含物将会是特别有用的。含有高达30~200mM浓度碳酸氢根阴离子的制剂对于大于或等于7%的HS溶液来说是特别有益的。

[0189] 高渗盐水是指其盐浓度高于生理盐水(NS),即,高于9g/L或0.9%w/v,并且低渗盐水具有盐浓度低于生理盐水,比如,约1g/L或0.1%w/v至约8g/L或0.8%w/v。本文中使用的用于制剂和治疗方法中的高渗盐水可以具有约1%至约23.4%(w/v)的盐浓度。在一个实施方案中,高渗盐水溶液具有的盐浓度为约60g/L(6%w/v)至约100g/L(10%w/v)。在另一个实施方案中,盐溶液具有的盐浓度为约70g/L(7%w/v)至约100g/L(10%w/v)。在其他实施方案中,盐溶液具有的盐浓度为:a) 约0.5g/L(0.05%w/v)至约70g/L(7%w/v);b) 约1g/L(0.1%w/v)至约60g/L(6%w/v);c) 约1g/L(0.1%w/v)至约50g/L(5%w/v);d) 约1g/L(0.1%w/v)至约40g/L(4%w/v);e) 约1g/L(0.1%w/v)至约30g/L(3%w/v);及f) 约1g/L(0.1%w/v)至约20g/L(2%w/v)。

[0190] 本发明的制剂及治疗方法使用的盐溶液的具体浓度独立地包括,以下盐浓度:1g/L(0.1%w/v)、2g/L(0.2%w/v)、3g/L(0.3%w/v)、4g/L(0.4%w/v)、5g/L(0.5%w/v)、6g/L(0.6%w/v)、7g/L(0.7%w/v)、8g/L(0.8%w/v)、9g/L(0.9%w/v)、10g/L(1%w/v)、20g/L(2%w/v)、30g/L(3%w/v)、40g/L(4%w/v)、50g/L(5%w/v)、60g/L(6%w/v)、70g/L(7%w/v)、80g/L(8%w/v)、90g/L(9%w/v)、100g/L(10%w/v)、110g/L(11%w/v)、120g/L(12%w/v)、130g/L(13%w/v)、140g/L(14%w/v)、150g/L(15%w/v)、160g/L(16%w/v)、170g/L(17%w/v)、180g/L(18%w/v)、190g/L(19%w/v)、200g/L(20%w/v)、210g/L(21%w/v)、220g/L(22%w/v)和230g/L(23%w/v)。盐浓度也可以使用这些列出的浓度/比例之一,比如1.7g/L(0.17%w/v)、1.25g/L(1.25%w/v)、1.5g/L(1.5%w/v)、25g/L(2.5%w/v)、28g/L(2.8%w/v)、35g/L(3.5%w/v)、45g/L(4.5%w/v)和75g/L(7.5%w/v)的盐。

[0191] 低渗盐溶液具体使用的浓度包括约0.12g/L(0.012%w/v)至约8.5g/L(0.85%w/v)。在该范围内的任何浓度都可以使用,比如,基于w/v,0.05%、0.1%、0.15%、0.2%、0.225%(1/4NS)、0.25%、0.3%(1/3NS)、0.35%、0.4%、0.45%(1/2NS)、0.5%、0.55%、0.6%(2/3NS)、0.65%、0.675%(3/4NS)、0.7%、0.75%和0.8%。

[0192] 此处描述的盐溶液的每个范围和具体的浓度可以用于本发明描述的制剂、治疗方法、方案和试剂盒。

[0193] 化学修饰的渗透质或渗透质前体也旨在本发明范围内。这样的化学修饰包括使渗透质(或前体)连接至另外的化学基团,该化学基团改变或增强所述渗透质或渗透质前体的作用(例如,抑制所述渗透质分子的降解)。这样的化学修饰已经与药物或前药一起使用,并且是本领域已知的(参见例如,美国专利号4,479,932和4,540,564;Shek,E.等,J.Med.Chem.19:113-117(1976);Bodor,N.等,J.Pharm.Sci.67:1045-1050(1978);Bodor,N.等,J.Med.Chem.26:313-318(1983);Bodor,N.等,J.Pharm.Sci.75:29-35(1986),每篇文献通过引入并入本文。

[0194] 用于与本发明的化合物联合使用的合适的抗炎剂包括皮质类固醇药物和非甾体抗炎药物(NSAID),特别是磷酸二酯酶(PDE)抑制剂。用于本发明的皮质类固醇药物的例子包括口服和吸入型皮质类固醇及其前药。具体的实施例包括但不限于环索奈德、异丁酰基环索奈德、布地缩松、氟尼缩松、莫美他松及它们的酯(例如,莫美他松糠酸酯)、丙酸氟替卡松、糠酸氟替卡松、倍氯米松、甲基强的松龙、强的松龙、地塞米松、 $6\alpha,9\alpha$ -二氟- $17\alpha$ -[(2-呋喃基羰基)氨基]- $11\beta$ -羟基- $16\alpha$ -甲基-3-氧代-雄甾-1,4-二烯- $17\beta$ -硫代羧酸S-氟代甲酯、 $6\alpha,9\alpha$ -二氟- $11\beta$ -羟基- $16\alpha$ -甲基-3-氧代- $17\alpha$ -丙酸基-雄甾-1,4-二烯- $17\beta$ -硫代羧酸S-

(2-氧代-四氢-呋喃-3S-基)酯、倍氯米松酯(例如,17-丙酸酯或17,21-二丙酸酯)、氟代甲酯、曲安奈德、罗氟奈德、或其任何组合或子集。优选的用于与本发明的化合物联合配制或使用的皮质类固醇选自环索奈德、异丁酰基环索奈德、布地缩松、莫美他松、丙酸氟替卡松和糠酸氟替卡松,或其任何组合或子集。

[0195] 用于本发明的NSAID包括但不限于色甘酸钠、奈多罗米钠、磷酸二酯酶(PDE)抑制剂(例如,茶碱、氨茶碱、PDE4抑制剂、混合的PDE3/PDE4抑制剂或混合的PDE4/PDE7抑制剂)、白细胞三烯拮抗剂、白细胞三烯合成的抑制剂(例如,5LO和FLAP抑制剂)、一氧化氮合酶(iNOS)抑制剂、蛋白酶抑制剂(例如,类胰蛋白酶抑制剂、中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂和金属蛋白酶抑制剂)、 $\beta$ 2-整联蛋白拮抗剂和腺嘌呤核苷受体激动剂或拮抗剂(例如,腺嘌呤核苷2a激动剂)、细胞因子拮抗剂(例如,趋化因子拮抗剂)或细胞因子合成的抑制剂(例如,前列腺素D2(CRTh2)受体拮抗剂)。适于通过本发明的方法施用的白细胞三烯修饰剂的例子包括孟鲁司特、齐留通和扎鲁司特。

[0196] PDE4抑制剂、混合的PDE3/PDE4抑制剂或混合的PDE4/PDE7抑制剂可以是本领域已知的任何化合物,其能够抑制PDE4酶或其被发现作为PDE4酶抑制剂,并且其是选择性的PDE4抑制剂(即,化合物不会显著抑制PDE家族的其他成员)。用于与本发明的化合物联合配制和使用的具体的PDE4抑制剂的例子包括但不限于,罗氟司特、普马芬群、阿罗茶碱(arofylline)、西洛司特、妥非司特、奥格司特、托拉芬群、吡拉米司特、异丁司特、阿普斯特、2-[4-[6,7-二乙氧基-2,3-双(羟基甲基)-1-萘基]-2-吡啶基]-4-(3-吡啶基)-1(2H)-酞嗪酮(T2585)、N-(3,5-二氯-4-吡啶基)-1-[(4-氟苯基)甲基]-5-羟基- $\alpha$ -氧化-1H-吲哚-3-乙酰胺(AWD-12-281)、4-[(2R)-2-[3-(环戊氧基)-4-甲氧基苯基]-2-苯基乙基]-吡啶(CDP-840)、2-[4-[[[[2-(1,3-苯并二氧代-5-基氧基)-3-吡啶基]羧基]氨基]甲基]-3-氟苯氧基]-(2R)-丙酸(CP-671305)、N-(4,6-二甲基-2-嘧啶碱基)-4-[4,5,6,7-四氢-2-(4-甲氧基-3-甲基苯基)-5-(4-甲基-1-哌嗪基)-1H-吲哚-1-基]-苯磺酰胺、(2E)-2-丁烯二酸盐(YM-393059)、9-[(2-氟苯基)甲基]-N-甲基-2-(三氟甲基)-9H-嘌呤-6-胺(NCS-613)、N-(2,5-二氯-3-吡啶基)-8-甲氧基-5-喹啉甲酰胺(D-4418)、N-[(3R)-9-氨基-3,4,6,7-四氢-4-氧化-1-苯基吡咯并[3,2,1-][1,4]苯并二氮杂-3-基]-3H-嘌呤-6-胺(PD-168787)、3-[[3-(环戊氧基)-4-甲氧基苯基]甲基]-N-乙基-8-(1-甲基乙基)-3H-嘌呤-6-胺盐酸盐(V-11294A)、N-(3,5-二氯-1-氧化-4-吡啶基)-8-甲氧基-2-(三氟甲基)-5-喹啉甲酰胺(Sch351591)、5-[3-(环戊氧基)-4-甲氧基苯基]-3-[(3-甲基苯基)甲基]-(3S,5S)-2-哌啶酮(HT-0712)、5-(2-((1R,4R)-4-氨基-1-(3-(环戊氧基)-4-甲氧基苯基)环己基)乙炔基)-嘧啶-2-胺、顺-[4-氰基-4-(3-环丙基甲氧基-4-二氟甲氧基苯基)环己-1-醇]和4-[6,7-二乙氧基-2,3-双(羟基甲基)-1-萘基]-1-(2-甲氧基乙基)-2(1H)-吡啶酮(T-440),或其任何组合或子集。

[0197] 白细胞三烯拮抗剂和白细胞三烯合成的抑制剂包括扎鲁司特、孟鲁司特钠、齐留通和普鲁司特。

[0198] 用于与本发明的化合物联合配制或使用的抗胆碱能剂包括但不限于,毒蕈碱受体拮抗剂,特别地包括泛拮抗剂和M<sub>3</sub>受体拮抗剂。典型的化合物包括颠茄植物的生物碱,比如阿托品、东莨菪碱、后马托品、莨菪碱,以及各种形式包括其盐(例如,无水阿托品、硫酸阿托品、氧化阿托品或盐酸阿托品、硝酸甲基阿托品、氢溴酸后马托品、溴甲基后马托品、氢溴酸

莨菪碱、莨菪碱硫酸盐、氢溴酸东莨菪碱、溴甲基东莨菪碱),或其任何组合或子集。

[0199] 其他的用于与本发明的化合物联合配制和使用的抗胆碱能剂包括溴苯辛(methantheline)、溴丙胺太林、甲溴辛托品或Valpin 50、阿地溴铵、葡萄糖吡咯(Robinul)、碘异丙米特、溴美喷酯、曲地氯铵、环苯甲哌甲硫酸盐、盐酸环喷托酯、托品酰胺、苯海索CC1、哌仑西平、替仑西平和美索曲明,或其任何组合或子集。

[0200] 优选的用于与本发明的化合物联合配制和使用的抗胆碱能剂包括异丙托(溴)铵、氧托(溴)铵和噻托(溴)铵,或其任何组合或子集。

[0201] 用于与本发明的化合物联合配制和使用的 $\beta$ -激动剂的例子包括但不限于沙美特罗、R-沙美特罗、昔萘酸酯和它们的盐,沙丁胺醇或R-沙丁胺醇(游离碱或硫酸盐)、左沙丁胺醇、柳丁氨醇、福莫特罗(富马酸盐)、非诺特罗、丙卡特罗、毗布特罗、metaprterenol、特布他林及它们的盐,以及其任何组合或子集。

[0202] 用于与本发明的化合物联合配制和使用的P2Y2受体激动剂可以有效刺激气道表面(特别是鼻腔气道表面)分泌氯化物和水的量使用。合适的P2Y2受体激动剂是本领域已知的,并在例如,美国专利号6,264,975的第9-10栏,以及美国专利号5,656,256和5,292,498之中进行了描述。

[0203] 能够通过本发明的方法施用的P2Y<sub>2</sub>激动剂包括P2Y<sub>2</sub>受体激动剂,比如ATP、UTP、UTP-. $\gamma$ -S和二核苷酸P2Y<sub>2</sub>受体激动剂(例如地纽福索(denufosal)或地夸磷索(diquafosol))或其药学上可接受的盐。P2Y<sub>2</sub>受体激动剂典型地以有效刺激气道表面(特别是鼻腔气道表面)分泌氯化物和水的量使用。合适的P2Y<sub>2</sub>受体激动剂在美国专利号6,264,975、美国专利号5,656,256、美国专利号5,292,498、美国专利号6,348,589、美国专利号6,818,629、美国专利号6,977,246、美国专利号7,223,744、美国专利号7,531,525和美国专利申请号2009/0306009中进行了描述,它们的每一篇通过引用纳入本文,但不限于上述文献。

[0204] 本文中,联合治疗和制剂可以包括腺嘌呤核昔2b(A2b)激动剂,还包括BAY 60-6583、NECA(N-乙基甲酰胺腺昔)、(S)-PHPNECA、LUF-5835和LUF-5845。可以使用的A2b激动剂描述在Volpini等,Journal of Medicinal Chemistry 45(15):3271-9(2002);Volpini等,Current Pharmaceutical Design 8(26):2285-98(2002);Baraldi等,Journal of Medicinal Chemistry 47(6):Cacciari等,1434-47(2004);Mini Reviews in Medicinal Chemistry 5(12):1053-60(Dec.2005);Baraldi等,Current Medicinal Chemistry 13(28):3467-82(2006);Beukers等,Medicinal Research Reviews 26(5):667-98(Sept.2006);Elzein等,Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters 16(2):302-6(Jan.2006);Carotti,等,Journal of Medicinal Chemistry 49(1):282-99(Jan.2006);Tabrizi等,Bioorganic&Medicinal Chemistry 16(5):2419-30(March 2008);和Stefanachi,等,Bioorganic&Medicinal Chemistry 16(6):2852-69(March 2008)。

[0205] 用于与本发明的化合物联合配制和使用的其他的ENaC受体阻断剂的例子包括但不限于阿米洛利及其衍生物,比如那些在以下文献中描述的化合物:美国专利号6858615和PCT公开号W02003/070182、W02004/073629、W02005/018644、W02006/022935、W02007/018640和W02007/146869,全部都归Parion Science公司所有。

[0206] 小分子ENaC阻断剂能够通过ENaC通道孔直接阻止钠转运。可以与本发明的化合物联合施用的ENaC阻断剂包括,但不限于,阿米洛利、苯扎明、phenamil和阿米洛利类似物,如

美国专利号6,858,614、美国专利号6,858,615、美国专利号6,903,105、美国专利号6,995,160、美国专利号7,026,325、美国专利号7,030,117、美国专利号7,064,129、美国专利号7,186,833、美国专利号7,189,719、美国专利号7,192,958、美国专利号7,192,959、美国专利号7,241,766、美国专利号7,247,636、美国专利号7,247,637、美国专利号7,317,013、美国专利号7,332,496、美国专利号7,345,044、美国专利号7,368,447、美国专利号7,368,450、美国专利号7,368,451、美国专利号7,375,107、美国专利号7,399,766、美国专利号7,410,968、美国专利号7,820,678、美国专利号7,842,697、美国专利号7,868,010、美国专利号7,875,619中所例证。

[0207] ENaC蛋白酶解被很好地描述通过ENaC增加钠转运。蛋白酶抑制剂阻断内源性气道蛋白酶的活性,从而阻止ENaC断裂和活化。切割ENaC的蛋白酶包括弗林蛋白酶、甲基多巴、蛋白裂解酶、胰蛋白酶、通道相关蛋白酶(CAPS)和中性粒细胞弹性蛋白酶。可以与本发明的化合物联合施用的能够抑制这些蛋白酶水解活性的蛋白酶抑制剂包括,但不限于,卡莫司他、前列腺蛋白、弗林蛋白酶、抑肽酶、亮抑蛋白酶肽和胰蛋白酶抑制剂。

[0208] 此处的组合可以包括一种或多种适合的核苷酸(多聚核苷酸),包括但不限于,反义寡核苷酸、siRNA、miRNA、miRNA模拟物、小RNA的反义寡核苷酸(antagomir)、核酶、适体和假寡核苷酸。参见,例如美国专利申请公开号20100316628。大体上,这类核苷酸长度可以为17或19个核苷酸,最多23、25或27个核苷酸或更多。例子包括,但不限于那些在美国专利号7,517,865和美国专利申请号20100215588;20100316628;20110008366和20110104255所描述的。大体上,siRNA的长度为17或19个核苷酸,最多23、25或27个核苷酸或更多。

[0209] 能够与本发明联合施用的CFTR活性调节化合物包括,但不限于在US 2009/0246137 A1、US 2009/0253736 A1、US 2010/0227888 A1、专利号7,645,789、US 2009/0246820 A1、US 2009/0221597 A1、US 2010/0184739 A1、US 2010/0130547 A1、US 2010/0168094 A1和已公告的专利US7,553,855;US 7,772,259 B2、US 7,405,233 B2、US 2009/0203752、US 7,499,570中所描述的化合物。

[0210] 此处,在组合和方法中使用的粘液或粘蛋白改性剂包括还原剂、表面活性剂和去污剂、祛痰剂和脱氧核糖核酸酶剂。

[0211] 粘蛋白通过形成共价键(二硫键)和非共价键构成高分子量聚合物。使用还原剂使共价键断裂是降低体外粘液的弹粘性质行之有效的方法,并且该方法被预测为使粘液粘着度最低并提高体内清除率。还原剂是众所周知降低体外粘液粘度,并普遍用作一种辅助以处理痰样本<sup>8</sup>。还原剂的例子包括含硫化物分子或膦的能够还原蛋白质二硫醚键,其包括,但不限于,N-乙酰半胱氨酸、N-acystelyn、羧甲半胱氨酸、谷胱甘肽、二硫苏糖醇、含有蛋白质的硫氧还蛋白以及三(2-羧乙基)膦。

[0212] N-乙酰半胱氨酸(NAC)是批准的用于连同胸部物理治疗以稀释(loosen)粘液或使气道粘液增稠<sup>[12]</sup>。在CF和COPD中口服或吸入NAC效果的临床研究评价已经报道了改善粘液的流变性能并趋向改善肺功能,并且缓解肺部症状加重<sup>9</sup>。然而,临床数据的优势表明,当口服施用或吸收时,NAC充其量是勉强有效的用于治疗气道粘液阻塞的治疗剂。目前临床文献最近的关于NAC应用的Cochrane综述没有发现任何证据支持NAC对CF的功效<sup>10</sup>。NAC的边际临床疗效反映如下:

[0213] NAC是相对抵消的还原剂,其仅在气道表面具有部分活性。体外,需要非常高浓度

的NAC(200mM或3.26%)来完全还原Muc5B(主要的凝胶形成气道粘液)。而且,在气道表面的pH环境(在CF和COPD气道中测量得到的pH值范围为6.0至7.2)<sup>11</sup>,NAC仅部分地以活性状态作为负电地硫醇基存在。因此,临幊上,NCA以非常高的浓度施用。然而,据预测目前的气溶胶装置将不能实现通常使用治疗浓度为均匀的20%乙酰半胱氨酸(Mucomyst)溶液,在相对较短的时间范围内(7.5至15分钟)喷到远端气道表面。

[0214] 在非临幊研究中,<sup>14</sup>C标记的NAC通过吸入施用,其在肺部快速消除,半衰期为6至36分钟<sup>12</sup>。

[0215] NAC以高度浓缩、高渗吸入溶液施用,并且据报道其引发支气管收缩及咳嗽。在许多情况下,推荐用支气管扩张器施用NAC从而提高其耐受性。

[0216] 因此,比如NAC的还原剂不是非常适合用于丸剂的气溶胶施用。然而,据预料通过肺部气溶胶输注的还原剂的传递将会增加疗效,同时允许在吸入溶液中还原剂的浓度降低(预计将提高耐受性)。

[0217] 表面活性剂和去污剂是能够降低粘液粘弹性,增加粘液清除率的铺展剂。表面活性剂的例子包括二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、PF、棕榈酸、棕榈酰-油酰磷脂酰甘油、表面活性物质相关的蛋白质(例如SP-A、B或C),或者可以是动物来源的(例如来自母牛或小牛的肺灌洗液或者提取自切碎的猪肺)或其组合。参见,例如美国专利号7,897,577;5,876,970;5,614,216;5,100,806和4,312,860。表面活性剂商品的例子包括Exosurf<sup>®</sup>Neonatal(棕榈胆磷)、Pumactant<sup>®</sup>(DPPC和蛋磷脂酰甘油)、KL-4表面活性剂、Venticute<sup>®</sup>(lusulptide,rSP-C表面活性剂)、Alveofact<sup>®</sup>(勃法克坦)、Curosurf<sup>®</sup>(猪肺磷脂阿尔法)、Infasurf<sup>®</sup>(小牛表面活性蛋白)、Newfacten<sup>®</sup>(修饰的牛表面活性剂)、Surface<sup>®</sup>、Natsurf<sup>TM</sup>(非离子型醇乙氧基化物表面活性剂)和Survanta<sup>®</sup>(贝拉康坦)。去污剂的例子包括,但不限于,Tween-80和Triton-X 100。

[0218] 可以使用任何合适的祛痰剂,包括但不限于愈创木酚甘油醚(参见,例如,美国专利号7,345,051)。可以使用任何合适的脱氧核糖核酸酶包括但不限于Dornase Alpha.(参见,例如,美国专利号7,482,024。激酶抑制剂的例子包括NFkB、PI3K(磷脂酰肌醇-3激酶)、p38-MAP激酶和Rho激酶的抑制剂。

[0219] 用于与本发明的化合物联合制剂和使用的抗感染剂包括抗病毒剂和抗生素。合适的抗病毒剂包括Tamiflu<sup>®</sup>(奥司他韦)和Relenza<sup>®</sup>(扎那米韦)。合适的抗生素的例子包括但不限于,氨曲南(精氨酸或赖氨酸)、磷霉素和氨基糖苷类(比如妥布拉霉素),或其任何组合或子集。本发明中可以使用的其他的抗感染剂包括氨基糖苷类、达托霉素类、氟喹诺酮类、酮内酯类、碳青霉烯类、先锋霉素族抗菌素、红霉素、利奈唑胺、青霉素、阿奇霉素、克林霉素、唑烷酮类、四环素和万古霉素。

[0220] 有用的碳青霉烯抗生素的例子的亚胺培南(impenam)、培尼培南(panipenam)、美洛培南(meropenam)、比阿培南(biapenam)、MK-826(L-749,345)、DA-1131、ER-35786、lenapenam,S-4661,CS-834(R-95867的前药)、KR-21056(KR-21012的前药)、L-084(LJC 11036的前药)和Ceftolozane(CXA-101)。

[0221] 用于与本发明的化合物联合制剂和使用的抗组胺剂(即,H1-受体拮抗剂)包括但不限于:乙醇胺类,比如盐酸苯海拉明、马来酸氯苯吡醇胺、多西拉敏、延胡索酸氯马斯

汀、盐酸二苯基羟基胺和茶苯海明；乙二胺类，比如马来酸吡拉明 (metpyramine)、盐酸曲吡那敏、柠檬酸曲吡那敏和安他唑啉；烷基胺类，比如苯吡胺、氯苯那敏、溴苯那敏、右氯苯那敏、曲普利啶和阿伐斯汀；吡啶类，比如美沙吡林；哌嗪类，比如盐酸羟嗪、双羟萘酸羟嗪、盐酸环嗪、乳酸环嗪、盐酸美克洛嗪和盐酸西替利嗪；哌啶类，比如克敏能 (astemizole)、盐酸左卡巴斯汀、氯雷他定、脱碳乙氧基氯雷他定、特非那定、和盐酸非索非那定；三环类或四环类，比如普鲁米近、氯普鲁米近异丁嗪和阿扎他定；以及盐酸氮卓斯汀，或其任何组合或子集。

[0222] 适于在本发明的组合和方法中使用的其他类治疗剂的列子包括抗病毒剂，比如病毒唑，抗真菌剂，比如两性霉素、伊曲康唑和伏立康唑，抗排斥药物，比如环胞多肽、他克莫司和西罗莫司，支气管扩张剂，包括但不限于抗胆碱能剂，比如爱喘乐、siRNA、基因治疗载体、适体、内皮素-受体拮抗剂、 $\alpha$ -1-抗胰蛋白酶和前列环素类。

[0223] 在上述治疗方法和用途中，本发明的化合物可以单独施用或与一种或多种其他治疗活性物质联合施用。典型地，任何对于用本发明的化合物治疗的疾病或病症具有治疗活性的治疗活性剂可以与本发明的化合物联合使用，只要该特定的治疗活性剂与治疗采用的本发明的化合物是相容的。适用于与本发明的化合物联合使用的典型的治疗活性剂包括上述药剂。

[0224] 在一个优选的实施方案中，本发明的化合物与一种或多种渗透质联合使用，特别是高渗盐水或甘露糖醇。

[0225] 另一方面，本发明提供了如上所述的治疗方法和用途，其包括施用有效量的本发明的化合物和至少一种治疗活性剂。本发明的化合物和至少一种另外的治疗活性剂可以以治疗地合适组合，共同施用或依次施用。本发明的化合物与一种或多种其他治疗活性剂的使用可以通过共同地在1)一单位药物组合物，比如，如上所述的组合物中或在2)单独的药物组合物中，每个包括一种或多种活性成分。组合的组分可以依顺序分别施用，其中首先施用本发明的组合物，再施用另外的治疗活性剂，或反之。

[0226] 在一些实施方案中，其中本发明的化合物与一种或多种渗透质联合施用，每种成分的施用是优选共同施用的，并且可以以单位的组合物形式或单独的组合物形式施用。在一个实施方案中，本发明的化合物和一种或多种渗透质通过支气管镜肺泡灌洗共同施用。在另一个实施方案中，本发明的化合物和一种或多种渗透质通过吸入共同施用。

[0227] 当本发明的化合物与其他治疗剂联合施用时，每种化合物的剂量可以不同于当单独施用本发明的化合物时的剂量。本领域技术人员将很容易确定出合适的剂量。选择本发明的化合物，及另外的治疗活性剂的适合的剂量以及施用的相对时间，从而实现所需的联合治疗效果，并且这些都在主治医师、临床医师或受益的专业知识和判断之下进行。

#### [0228] 实验方法

[0229] 本发明还提供了本发明化合物的制备过程以及用在该过程中的合成中间体，下文中将详细进行描述。

[0230] 在描述合成过程和实验数据中使用了某些缩写词和首字母缩写。虽然本领域技术人员将会理解它们大多数的含义，下表仍然示出了一些缩写词和首字母缩写的列表。

[0231] 缩写词 含义

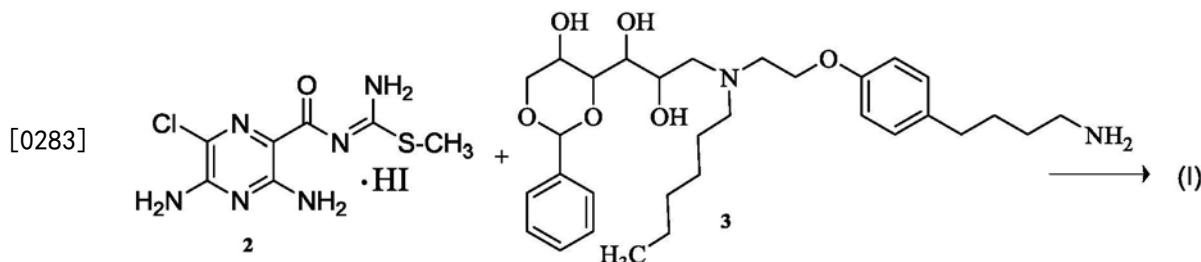
[0232] AcOH 乙酸

[0233]	AIBN	偶氮二异丁腈
[0234]	DIAD	二异丙基偶氮二羧酸
[0235]	DIPEA	
[0236]	缩写词	含义
[0237]	AcOH	乙酸
[0238]		N,N-二异丙基乙胺
[0239]	DCE	二氯乙烷
[0240]	DCM	二氯甲烷
[0241]	DMF	二甲基甲酰胺
[0242]	Et	乙基
[0243]	EtOAc或EA	乙基醋酸盐
[0244]	EtOH	乙醇
[0245]	ESI	电喷射离子化
[0246]	HATU	2- (1H-7-氮杂苯并三唑-1-基) -1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐
[0247]	HPLC	高效液相色谱法
[0248]	iPrOH	异丙醇
[0249]	i.t.或IT	气管内的
[0250]	Me	甲基
[0251]	MeOH	甲醇
[0252]	m/z或m/e	质荷比
[0253]	MH <sup>+</sup>	质量加1
[0254]	MH <sup>-</sup>	质量减1
[0255]	MIC	最低抑制剂浓度
[0256]	MS或ms	质谱
[0257]	rt或r.t.	室温
[0258]	R <sub>f</sub>	阻滞因子
[0259]	t-Bu	叔丁基
[0260]	THF	四氢呋喃
[0261]	TLC或tlc	薄层色谱法
[0262]	δ	根据四甲基硅烷的低磁场的每百万份数
[0263]	Cbz	苄氧羰基,即,-(CO)O-苄基
[0264]	AUC	曲线或峰下面积
[0265]	缩写词	含义
[0266]	AcOH	乙酸
[0267]	MTBE	甲基叔丁基醚
[0268]	t <sub>R</sub>	保留时间
[0269]	GC-MS	气相色谱-质谱法
[0270]	wt%	重量百分数
[0271]	h	小时

- [0272] min 分钟  
 [0273] MHz 兆赫兹  
 [0274] TFA 三氟乙酸  
 [0275] UV 紫外线  
 [0276] Boc 叔丁氧基羰基  
 [0277] DIAD 二异丙基偶氮二甲酸酯  
 [0278] AcOH 乙酸  
 [0279] DIPEA N,N-二异丙基乙胺或Hünig氏碱  
 [0280] Ph<sub>3</sub>P 三苯基膦(Triphenylphosphine)

[0281] 式I的化合物可以使用本领域已知的技术合成,在以下图示1中示意性地描述了一种代表性的合成过程。

- [0282] 图示1



[0284] 这些过程描述在,例如E.J.Cragoe,“阿米洛利及其类似物种(The Synthesis of Amiloride and Its Analogs)”(第3章),第25-36页。其他用于制备阿米洛利的方法描述在,例如美国专利号3,318,813,Cragoe中,特别是‘813专利里的方法A、B、C和D中。还有一些适于制备本发明的化合物的方法描述在PCT公开号W02003/07182、W02005/108644、W02005/022935、US 7,064,129、US 6,858,615、US 6,903,105、WO 2004/073629、WO 2007/146869和WO 2007/018640中,所有这些专利都归Parion Sciences公司所有。

[0285] 甲基N' - 3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羧基甲咪基硫代酸酯(2)的制备可以参见WO 2009/074575。

[0286] 通常,本发明的化合物可以通过用式3的胺处理式2的化合物来便利地制备。更具体地说,在合适的溶剂(比如甲醇、乙醇或四氢呋喃)和碱(三乙胺(TEA)或二异丙基乙胺(DIPEA))中,用式3的氨处理式2的化合物,加热至高温,例如70°C。进一步纯化,使用常规技术进行立体异构体拆分、结晶和/或盐形式的制备。

[0287] 如对本领域技术人员显而易见的,在某些例子中,合成中的起始化合物或中间化合物可以具有其他官能团,它们提供供选择的反应位点。可通过利用适合的保护基避免这种功能团的干扰,比如,胺保护基、醇保护基,如果需要,适当的优化合成步骤。合适的保护基对于本领域技术人员是显而易见的。用于添加和去除这些保护基的方法时本领域公知的,并且这些常规方法同样可以应用于本发明的方法中。

[0288] 下文中所提供的以下具体实施例仅用于说明目的,而不限制由权利要求所限定的保护范围。

[0289] 材料和方法。所有的试剂盒溶剂购自Aldrich化学公司、Chem-Impex国际公司和TCI化学工业有限公司。NMR光谱在Bruker AC 400 (1H NMR在400MHz和<sup>13</sup>C NMR在100MHz) 或

Bruker AC 300 ( $^1\text{H}$  NMR在300MHz和 $^{13}\text{C}$  NMR在75MHz) 中获得。质谱参考四甲基硅烷作为内标，并且碳谱参照CDCl<sub>3</sub>、CD<sub>3</sub>OD或DMSO-d<sub>6</sub> (购自Aldrich或剑桥同位素实验室，除非另有说明)。快速层析在装在硅胶柱(Redi Sep.Rf, Teledyne Isco)或反向柱(高性能C18 Gold柱)的CombiFlash系统(CombiFlash Rf, Teledyne Isco)中进行。Shimadzu LCMS-2010EV质谱仪获得ESI质谱。使用Waters Xterra MS C18 5μm 4.6x150mm分析柱在220nm (除非另外指出)下检测，在Shimadzu Prominence HPLC系统中获得HPLC分析。下面的时间表使用的流速为1.0mL/分钟：

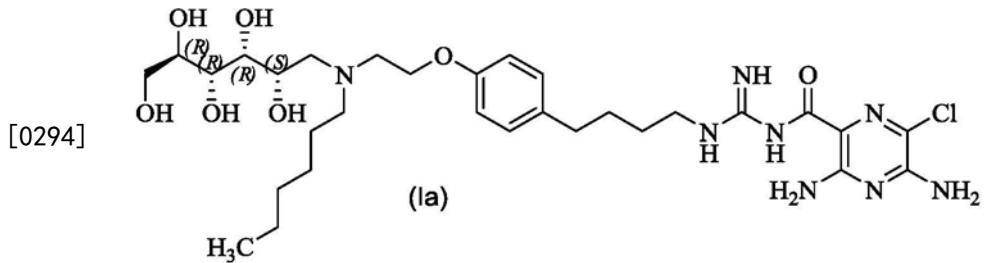
[0290]	时间 (分钟)	百分比 A (含 0.05% TFA 的 H <sub>2</sub> O)	百分比 B (含 0.05% TFA 的 CH <sub>3</sub> CN)
	2.50	90	10
	20.00	10	90
	30.00	10	90
	32.50	90	10

[0291] 在Shimadzu Prominence UFLC系统上，使用Waters ACQUITY UPLC HSS T3 1.8μm 2.1x100mm分析柱，在220nm (除非另外指出) 下检测获得UPLC分析。下面的时间表使用的流速为0.3mL/分钟：

[0292]	时间 (分钟)	百分比 A (含 0.05% NH <sub>4</sub> COOH 和 0.1% HCOOH 的 H <sub>2</sub> O)	百分比 B (含 0.05% NH <sub>4</sub> COOH 和 0.1% HCOOH 的 CH <sub>3</sub> CN/水 80:20%)
	1.00	90	10
	4.00	30	70
	5.00	30	70
	5.50	90	10
	6.50	90	10

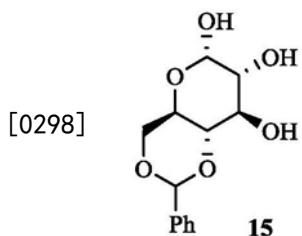
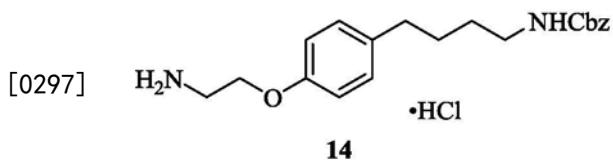
[0293] 本发明 (图示2) 还提供了一种化合物(Ia)的制备方法，该化合物(Ia)为3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯

基)丁基)脒基)吡嗪-2-甲酰胺,如上文所述,

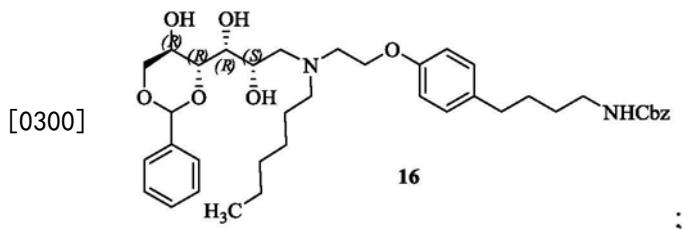


[0295] 其包括以下步骤:

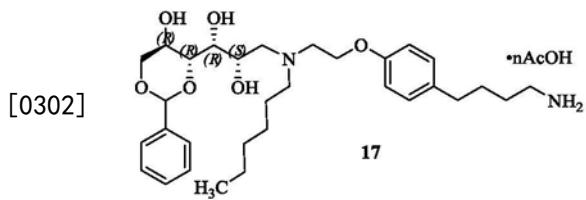
[0296] (i) 用式15的保护性糖,(4aR,6S,7R,8R,8aS)-2-苯基六氢吡喃(hexahydropyran) [3,2-d][1,3]二氧己环-6,7,8-三醇处理式14的化合物:



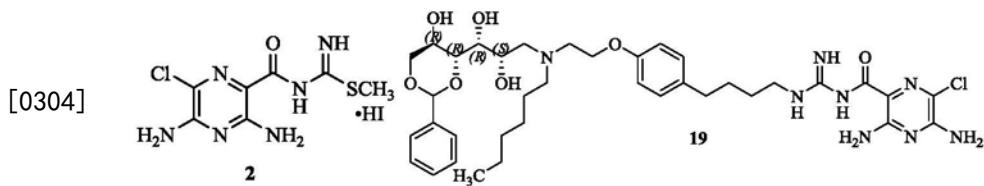
[0299] 在还原剂的存在下,接着用己醛处理以形成化合物16,苄基4-((2-(((2S,3R)-2,3-二羟基-3-((4R,5R)-5-羟基-2-苯基-1,3-二氧己环-4-基)丙基)(己基)氨基)乙氧基)苯基)氨基甲酸丁酯;



[0301] (ii) 使化合物16经历催化加氢以形成化合物17,(1R,2S)-3-((2-(4-(4-氨基丁基)苯氧基)乙基)(己基)氨基)-1-((4R,5R)-5-羟基-2-苯基-1,3-二氧己环-4-基)丙烷-1,2-二醇;以及



[0303] (iii) 在碱的存在下,用化合物2,甲基3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羧基甲咪基硫代酸酯缩合化合物17以形成19,3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-二羟基-3-((4R,5R)-5-羟基-2-苯基-1,3-二氧己环-4-基)丙基)(己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺;以及

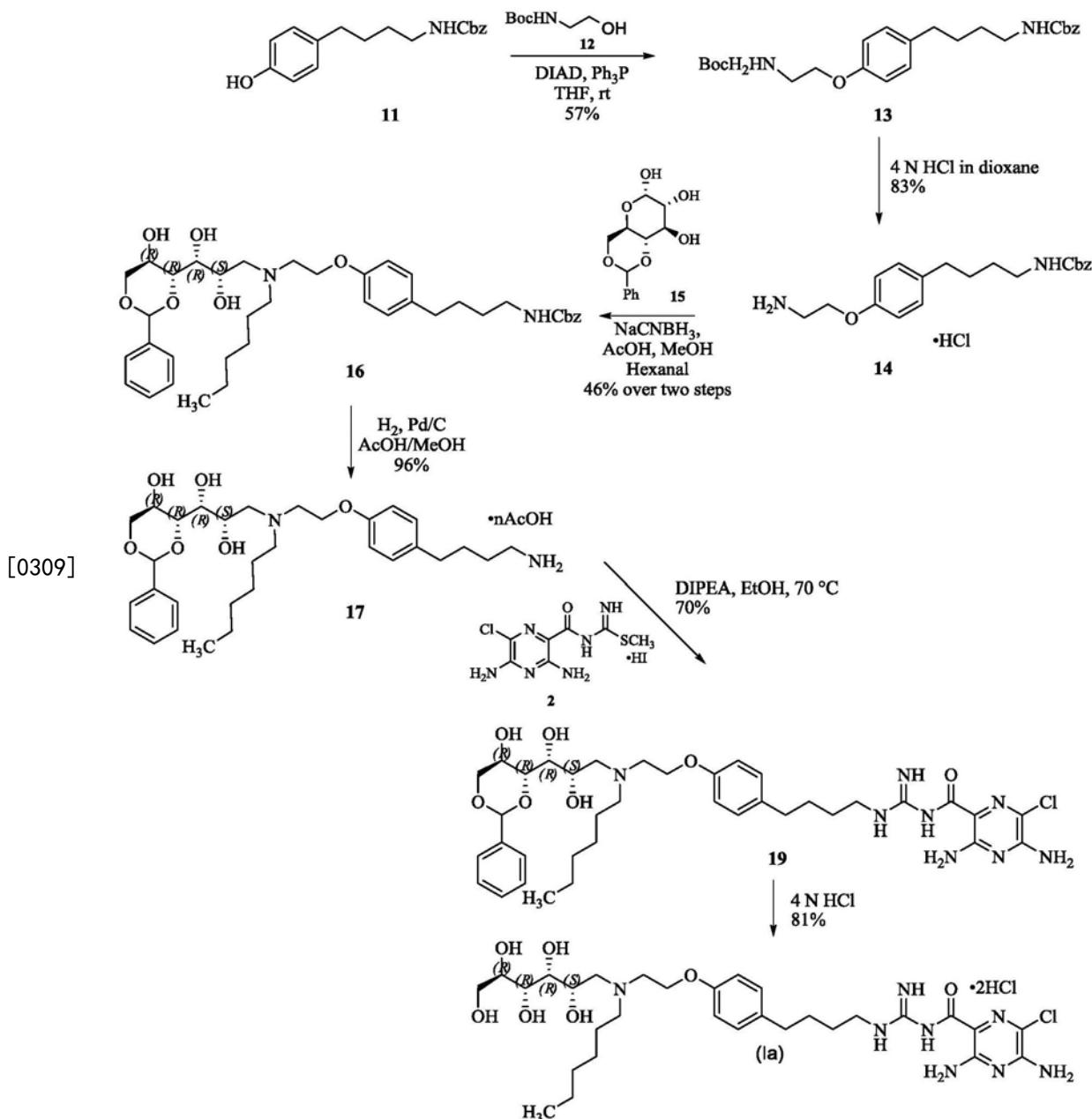


[0305] (iv) 在酸的存在下,水解化合物19以形成(Ia)。

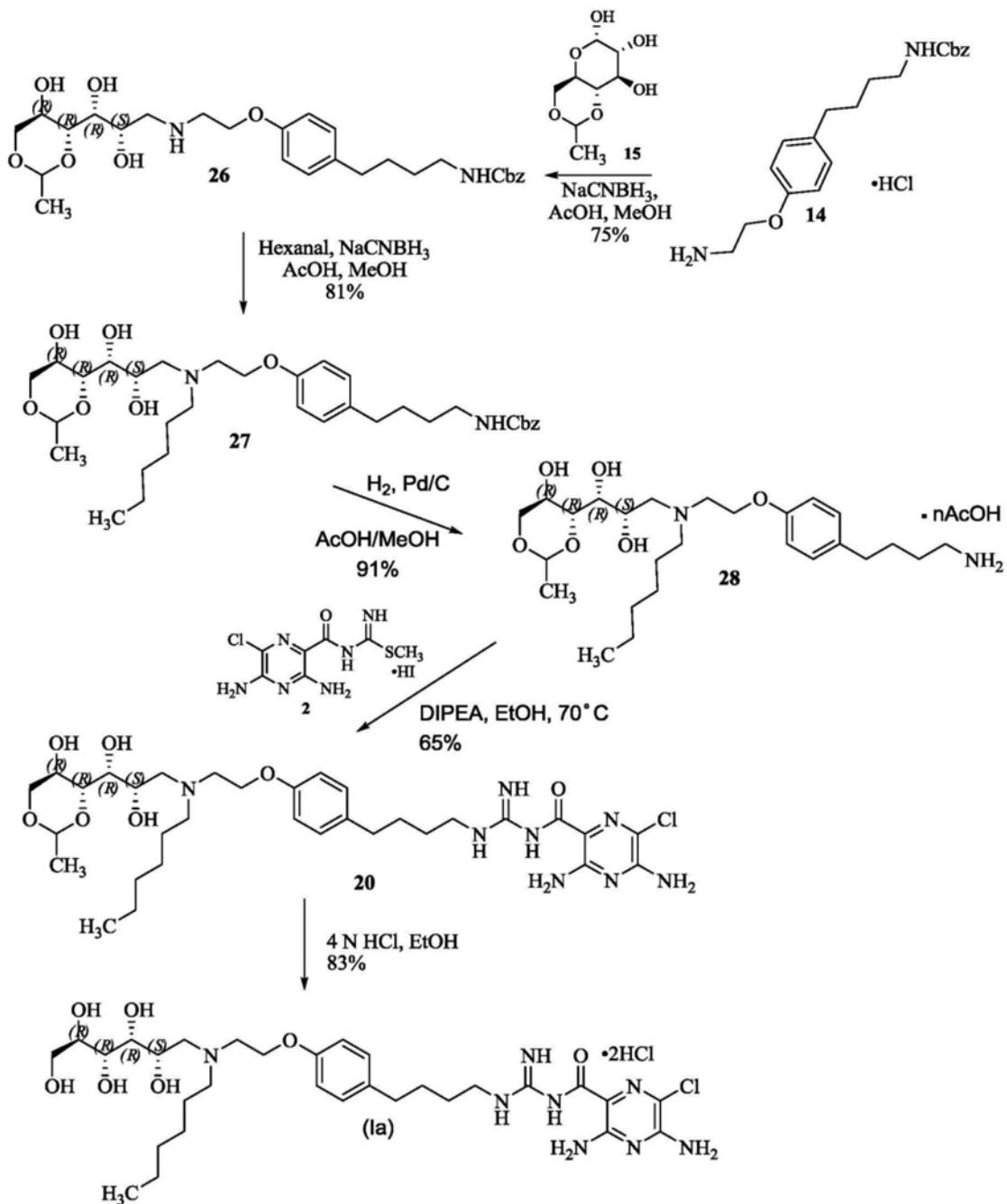
[0306] 一种可替代的方法包括用化合物27替换上述的式16的化合物,接着进行刚刚描述的氢化、缩合、水解步骤以形成(Ia)。

[0307] 本发明(图示3)还提供了一种化合物(Ia)的制备方法,该化合物(Ia)为3,5-二氨基-6-氯-N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺,如上所述。

[0308] 图示2. 制备3,5-二氨基-6-氯-N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺



[0310] 图示3. 可替代的制备3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺



[0311]

[0312] 实施例

[0313] 本发明还包括通过本发明的方法制备化合物、或其药学上可接受的盐。

[0314] 合成Ia, 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺

[0315] 步骤1

[0316] 苄基4-(4-(3-(叔丁基氧基羰基氨基)丙氧基)苯基)氨基甲酸丁酯(化合物13)的制备:

[0317] 0℃下,向苄基4-(4-羟基苯基)氨基甲酸丁酯(11, 60.0g, 300mmol)的无水THF

(600mL) 溶液中加入N-Boc乙醇胺(12, 38.7g, 300mmol)、 $\text{Ph}_3\text{P}$ (62.9g, 300mmol) 和DIAD(48.6g, 300mmol), 然后反应混合物加热到室温, 并搅拌过夜。真空浓缩反应混合物, 并且通过柱色谱(硅胶, 15:85EA/己烷) 纯化残留物以得到所需的呈黄色固体的化合物13(50.0g, 57%):  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.35(m, 5H), 7.10(d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 6.80(d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 5.10(s,  $J=4.0\text{Hz}$ , 2H), 4.0(m, 2H), 3.5(q, 2H), 3.2(q, 2H), 2.55(t,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 1.60(m, 2H), 1.55(m, 2H), 1.45(s, 9H)。

### [0318] 步骤2

[0319] 苄基4-(4-(2-氨基乙氧基)苯基)氨基甲酸丁酯盐酸盐(14)的制备: 室温下, 化合物13(50.0g, 112mmol)溶解在4N HCl的二氯己环(250mL)中, 并搅拌溶液1小时。浓缩后, 将残留物悬浮在MTBE(500mL)中, 并搅拌0.5小时。过滤出固体从而获得白色固体盐酸盐14(40.0g, 83%):  $^1\text{H}$  NMR(300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.33(m, 5H), 7.10(d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 2H), 6.88(d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 2H), 5.05(s, 2H), 4.18(t, 2H), 3.39(m, 2H), 3.14(t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 2.56(t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 1.57(m, 4H)。

### [0320] 步骤3

[0321] 苄基4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-二羟基-3-((4R,5R)-5-羟基-2-苯基-1,3-二氧己环-4-基)丙基)(己基)氨基)乙氧基)苯基)氨基甲酸丁酯(16)的制备: 在室温下, 搅拌盐酸盐14(13.5g, 39.35mmol)和三醇15(10.5g, 39.35mmol)在MeOH(150mL)以及AcOH(18.8g, 314.8mmol)中的溶液2小时, 加入氰基硼氢化钠(6.1g, 98.37mmol), 并在室温下搅拌反应混合物过夜。加入另外的三醇15(5.2g, 19.67mmol), 并在室温下搅拌反应混合物4小时。起始材料14完全消耗后, 加入己醛(5.9g, 59.03mmol), 并在室温下搅拌反应混合物2小时。真空下去除溶剂。用饱和 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (5.0mL)与MeOH共沸洗涤残留物, 通过柱色谱纯化(硅胶, 10:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH)以得到呈米色固体的化合物16(12.2g, 46%经2个步骤):  $^1\text{H}$  NMR(300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.45-7.44(m, 3H), 7.31-7.29(m, 9H), 7.05(d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 6.79(d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 5.50(s, 1H), 5.05(s, 2H), 4.25-4.18(m, 2H), 4.03-3.87(m, 6H), 3.78-3.55(m, 3H), 3.13-2.96(m, 6H), 2.85-2.69(m, 3H), 2.53(t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 1.58-1.48(m, 6H), 1.23(br s, 6H), 0.86(t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 3H)。

### [0322] 步骤4

[0323] (1R,2S)-3-((2-(4-(4-氨基丁基)苯氧基)乙基)(己基)氨基)-1-((4R,5R)-5-羟基-2-苯基-1,3-二氧己环-4-基)丙-1,2-二醇乙酸盐(17)的制备: 在室温下, 氨基甲酸酯16(12.2g, 17.99mmol)和10%Pd/C(3.66g)在EtOH/AcOH(5:1, 120mL)的悬浮液处于氢化条件(1atm)下过夜。通过硅藻土填料过滤反应混合物, 并用EtOH洗涤。然后, 将滤液真空浓缩, 得到无色油状的醋酸盐17(9.40g, 96%):  $^1\text{H}$  NMR(300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.48-7.44(m, 2H), 7.32-7.30(m, 3H), 7.11(d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 6.84(d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 5.51(s, 1H), 4.26-4.10(m, 3H), 3.95-3.91(m, 2H), 3.78(dd,  $J=1.8, 9.3\text{Hz}$ , 1H), 3.60(t,  $J=10.4, 1\text{H}$ ), 3.23-3.03(m, 2H), 2.96-2.87(m, 3H), 2.61-2.59(m, 2H), 1.67-1.57(m, 6H), 1.31-1.25(br s, 6H), 0.89(t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H)。

[0324] 步骤53, 5-二氨基-6-氯-N-(4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-二羟基-3-((4R,5R)-5-羟基-2-苯基-1,3-二氧己环-4-基)丙基)(己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺(19)的制备在室温下, 向EtOH(75mL)中的乙酸盐7(9.40g, 17.27mmol)和甲基3,5-二

氨基-6-氯吡嗪-2-羧基甲亚氨酸甲酯氢碘酸盐(18, 7.20g, 27.64mmol)溶液加入DIPEA(17.8g, 138.16mmol)。反应混合物在70℃下在密封管中加热2小时,然后冷却至室温,并真空浓缩。通过柱色谱纯化残留物(硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH)以得到呈黄色固体的甲酰胺19(9.20g, 70%): <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.46-7.43 (m, 2H), 7.30-7.28 (m, 3H), 7.07 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.79 (d, J=8.6Hz, 2H), 5.48 (s, 1H), 4.22 (dd, J=3.9, 7.8Hz, 1H), 4.06-3.88 (m, 5H), 3.75 (dd, J=1.5, 6.9Hz, 1H), 3.57 (t, J=10.5Hz, 1H), 3.25 (t, J=6.6Hz, 2H), 2.93-2.83 (m, 3H), 2.68-2.56 (m, 5H), 1.70-1.64 (m, 4H), 1.44-1.43 (m, 2H), 1.22 (m, 6H), 0.85 (t, J=8.1Hz, 3H)。

[0325] 步骤63, 5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺盐酸盐(Ia)的制备:室温下,向EtOH(30mL)中的甲酰胺19(9.20g, 12.16mmol)溶液加入4N HCl(95mL)水溶液,并在室温下搅拌反应混合物4小时。真空下浓缩反应混合物,残留物通过反相柱色谱纯化,冻干以得到呈黄色吸湿性固体的盐酸盐Ia(6.60g, 81%): <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.17 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.94 (d, J=8.4Hz, 2H), 4.36 (br s, 2H), 4.21-4.19 (m, 1H), 3.84-3.61 (m, 7H), 3.46-3.30 (m, 5H), 2.64 (t, J=6.5Hz, 2H), 1.80-1.69 (m, 6H), 1.36 (br s, 6H), 0.91 (t, J=6.6Hz, 3H); ESI-MS m/z 669 [C<sub>30</sub>H<sub>49</sub>C1N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>+H]<sup>+</sup>; Anal. (C<sub>30</sub>H<sub>49</sub>C1N<sub>8</sub>O<sub>7</sub> • 2HCl • H<sub>2</sub>O). Calcd. C47.40, H 7.03, N 14.74; Found, C 47.11, H 7.06, N 14.54。

[0326] I, 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺的可选的合成

[0327] 步骤1

[0328] 苄基4-(4-(3-((2S,3R)-2,3-二羟基-3-((4R,5R)-5-羟基-2-甲基-1,3-二氧己环-4-基)丙基氨基)丙氧基)苯基)氨基甲酸丁酯(26)的制备:

[0329] 在室温下,搅拌盐酸盐14(155mg, 0.41mmol)和三醇15(84mg, 0.41mmol)在MeOH(5.0mL)中的溶液0.5小时,然后加入AcOH(0.036mL, 0.6mmol)和氰基硼氢化钠(43mg, 0.6mmol),室温下,搅拌反应混合物16小时。真空下移除溶剂。用饱和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.0mL),与MeOH共沸洗涤残留物,并通过柱色谱(硅胶, 10:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 10:1:0.1CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH)纯化,以得到呈白色胶状固体氨基甲酸酯26(163mg, 75%): <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.34-7.30 (m, 5H), 7.08-7.05 (m, 2H), 6.85-6.82 (m, 2H), 5.06 (s, 2H), 4.70-4.67 (m, 1H), 4.08-3.96 (m, 4H), 3.82-3.76 (m, 2H), 3.49-3.46 (m, 1H), 3.14-3.10 (m, 2H), 3.01-2.79 (m, 4H), 2.65-2.45 (m, 2H), 2.05-2.01 (m, 2H), 1.59-1.49 (m, 4H), 1.27 (d, J=4.8Hz, 3H)。

[0330] 步骤2

[0331] 苄基4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-二羟基-3-((4R,5R)-5-羟基-2-甲基-1,3-二氧己环-4-基)丙基)(己基)氨基)乙氧基)苯基)氨基甲酸丁酯(27)的制备:在室温下,搅拌氨基甲酸酯26(1.02g, 1.90mmol),己醛(380mg, 3.80mmol),AcOH(0.33mL, 5.70mmol)和氰基硼氢化钠(410mg, 5.70mmol)在MeOH(30mL)中的溶液16小时,真空下移除溶剂。用饱和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(30mL),与MeOH共沸洗涤残留物,并通过柱色谱(硅胶, 10:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH)纯化,以得到呈白色胶状固体的氨基甲酸酯27(990mg, 84%): <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.35-7.31 (m, 5H), 7.06 (d, J=8.4Hz, 2H), 6.81 (d, J=8.4Hz, 2H), 5.08 (s, 2H), 4.80 (br s, 1H), 4.69-4.66 (m, 1H), 4.12 (dd, J=9.3, 2.4Hz, 1H), 4.05-3.98 (m, 3H), 3.84-3.76 (m, 2H), 3.54-3.48 (m, 1H), 3.38

(t, J=10.5Hz, 1H), 3.20-2.96 (m, 4H), 2.83 (d, J=6.0Hz, 2H), 2.73-2.64 (m, 2H), 2.56 (t, J=7.2Hz, 2H), 1.63-1.50 (m, 6H), 1.32 (d, J=5.1Hz, 3H), 1.27-1.24 (m, 6H), 0.87 (d, J=6.6Hz, 3H)。

#### [0332] 步骤3

[0333] (1R, 2S)-3-((2-(4-(4-氨基丁基)苯氧基)乙基)(己基)氨基)-1-((4R, 5R)-5-羟基-2-甲基-1,3-二氧己环-4-基)丙烷-1,2-二醇乙酸盐(28)的制备:在室温下,使氨基甲酸酯27(890mg, 1.44mmol)和10%Pd/C(400mg)在MeOH/AcOH(5:1, 60mL)中的悬浮液在处于氢化条件(1atm)下6小时。通过硅藻土过滤反应混合物,并用MeOH洗涤。然后,将滤液真空浓缩,得到呈白色胶状固体的醋酸盐28(782mg, 90%):<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.09 (d, J=8.7Hz, 2H), 6.86 (d, J=8.7Hz, 2H), 4.69-4.67 (m, 1H), 4.00-3.85 (m, 1H), 3.84-3.76 (m, 2H), 3.53-3.51 (m, 1H), 3.38 (t, J=10.5Hz, 1H), 2.98-2.59 (m, 10H), 1.96 (s, 13H), 1.67-1.47 (m, 6H), 1.40-1.27 (m, 6H), 1.26 (d, J=5.1Hz, 3H), 0.88 (d, J=6.3Hz, 3H)。

#### [0334] 步骤4

[0335] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(2-((2S,3R)-2,3-二羟基-3-((4R,5R)-5-羟基-2-甲基-1,3-二氧己环-4-基)丙基)(己基)氨基)乙氧基)苯基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺(20)的制备:在室温下,向EtOH(8mL)中的乙酸盐28(189mg, 0.313mmol)和甲基3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羧基甲亚氨酸甲酯氢碘酸盐(18, 192mg, 0.502mmol)溶液加入DIPEA(0.42mL, 2.50mmol)。反应混合物在70℃下在密封管中加热2小时,然后冷却至室温,并真空浓缩。通过柱色谱纯化残留物(硅胶, 9:1CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 80:18:2CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH)以得到呈黄色固体的甲酰胺20(142mg, 65%):<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.10 (d, J=8.1Hz, 2H), 6.84 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.66 (q, J=5.1Hz, 1H), 4.06-4.01 (m, 3H), 3.94-3.89 (m, 1H), 3.82-3.74 (m, 2H), 3.49 (dd, J=9.3, 2.4Hz, 1H), 2.96-2.78 (m, 3H), 2.67-2.61 (m, 5H), 1.68-1.67 (m, 4H), 1.50-1.48 (m, 2H), 1.29 (br s, 6H), 1.25 (d, J=5.1Hz, 3H), 0.87 (t, J=6.9Hz, 3H)。

#### [0336] 步骤5

[0337] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺盐酸盐(Ia)的制备

[0338] 室温下,向EtOH(5mL)中的甲酰胺20(400mg, 0.57mmol)溶液加入4N HCl(15mL)水溶液,并在将反应混合物在55℃下加热24小时。浓缩后,残留物溶解在4N HCl(15mL)水溶液中,并65℃下加热16小时。浓缩反应混合物,并EtOH/Et<sub>2</sub>O中洗脱,通过准备的TLC再纯化,冻干以得到呈黄色吸湿性固体的盐酸盐(Ia)(, 354mg, 83%):<sup>1</sup>HNMR(300MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.18 (d, J=8.1Hz, 2H), 6.87 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.30 (br s, 2H), 4.19-4.16 (m, 1H), 3.76-3.55 (m, 7H), 3.39-3.24 (m, 6H), 3.57 (t, J=5.4Hz, 2H), 1.65-1.64 (m, 6H), 1.30-1.19 (m, 6H), 0.78-0.75 (m, 3H); ESI-MS m/z 669 [C<sub>30</sub>H<sub>49</sub>C1N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>+H]<sup>+</sup>。

[0339] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺(Ia)的游离碱的制备

[0340] 将3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺盐酸盐(12.51g)溶解于150mL的H<sub>2</sub>O中,并用NaOH(0.1M水溶液, 435mL)处理、搅拌以获得胶状沉淀物。液体(pH~11)通过过滤漏斗倾析(大部分物质附着在烧瓶的侧壁)。以类似的方式,用H<sub>2</sub>O(2x 300mL)处理残留物、搅

拌、倾倒/过滤。剩余的残留物悬浮于CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/MeOH中，并浓缩以提供琥珀色的9.55g固体。ESI-MS m/z 669[C<sub>30</sub>H<sub>49</sub>C1N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>+H]<sup>+</sup>，在224nm，纯度89%，在272nm，纯度90%，在304nm，纯度82%，通过MS追踪，纯度63%。70℃下，出产物与异丙醇(100-150mL)一起加热15分钟，然后过滤。固体相同地用异丙醇处理两次，每次加热30分钟，在过滤前使混合物冷却(2小时-0/N)。干燥得到的固体以获得7.365g，呈琥珀色的非晶形固体，熔点133.1-135.6℃(产生11.0mmol游离碱)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, dmso) 89.31-7.34(m, 4H), 7.10(d, J=8.6Hz, 2H), 6.83(d, J=8.5Hz, 2H), 6.61(br.s, 3H), 4.76-4.09(m, 5H), 3.98(t, J=6.1Hz, 2H), 3.71-3.62(m, 2H), 3.59(dd, J=10.8, 3.4Hz, 1H), 3.54-3.46(m, 1H), 3.43(dd, J=7.9, 1.3Hz, 1H), 3.38(dd, J=10.8, 5.9Hz, 1H), 3.15(br.s, 2H), 2.92-2.76(m, 2H), 2.66(dd, J=13.1, 5.2Hz, 1H), 2.58-2.51(m, 4H), 2.46(dd, J=13.1, 6.5Hz, 1H), 1.66-1.45(m, 4H), 1.45-1.31(m, 2H), 1.31-1.09(m, 6H), 0.90-0.76(m, 3H). <sup>13</sup>C NMR(101MHz, dmso) δ173.27, 160.96, 156.48, 154.68, 151.14, 133.70, 129.05, 119.12, 117.53, 114.14, 72.23, 71.37, 70.60, 70.04, 65.74, 63.34, 57.39, 54.72, 52.86, 40.10, 33.72, 31.15, 28.37, 28.09, 26.38, 26.36, 22.02, 13.84. ESI-MS m/z 669[C<sub>30</sub>H<sub>49</sub>C1N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>+H]<sup>+</sup>。

[0341] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺的1-羟基-2-萘甲酸盐的制备

[0342] 32.8mg(0.049mmol)的3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺、164μL的0.3M 1-羟基-2-萘酸在甲醇(0.049mmol的1-羟基-2-萘酸)中的溶液以及约0.33mL的甲醇混合物在设置为85℃的加热板上暖化，直到固体溶解。使溶液冷却至室温，将溶液置于(约5℃的)冰箱中，并静置过夜，在此期间出现结晶。倾倒液体，在干燥气流中使固体干燥，以获得29.5mg(产率：62%)的3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺的1-羟基-2-萘甲酸盐。<sup>1</sup>H NMR(500MHz, DMSO) 8.2(m, 1H), 7.7(m, 2H), 7.4(d, 1H), 7.3(d, 1H), 7.1(m, 2H), 6.95(m, 1H), 6.85(m, 2H), 4.6-4.2(m, 2H), 4.0(m, 2H), 3.8-3.6(m, 2H), 3.6-3.2(m, 6H), 2.9-2.5(m, 6H), 1.6(m, 4H), 1.4(m, 2H), 1.2(m, 6H), 0.83(m, 3H) ppm。

[0343] 3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺的1-羟基-2-萘甲酸盐的制备

[0344] 105.3mg(0.157mmol)的3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺,525μL的0.3M 1-羟基-2-萘酸在甲醇(0.158mmol的1-羟基-2-萘酸)中的溶液和约1mL的甲醇混合物在设置为85℃的加热板上暖化，直到固体溶解。使溶液冷却至室温，将溶液置于(约5℃的)冰箱中。大约20分钟后，溶液变混浊，并结晶。大约2小时后，出现固体。向混合物中加入搅拌棒并在冰箱中搅拌过夜，在此期间，溶液变得十分粘稠。加入额外的1.5mL的甲醇，在冰箱中搅拌浆体过夜。离心混合物，倾倒出液体，在干燥气流中使固体干燥，以获得74mg(产率：55%)的3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺的1-羟基-2-萘甲酸盐。

[0345] 化合物(Ia)3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺的药理学

[0346] 试验1. 钠离子通道阻断活性和可逆性的体外测定

[0347] 一种用于评估本发明化合物的作用机制和/或效力的试验包括使用安装在Ussing室中的气道上皮单层,在短路电流( $I_{SC}$ )的情况下测定气道上皮钠电流的鲁米那药物抑制。细胞自新鲜的人、狗、羊或啮齿动物切除的气道。该试验在Hirsh,A.J.,Zhang,J.,Zamurs,A.,等.N-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基)-N'-4-[4-(2,3-二羟基丙氧基)苯基]丁基-胍-甲磺酸盐的药理学性质(Pharmacological properties of N-(3,5-diamino-6-chloropyrazine-2-carbonyl)-N'-4-[4-(2,3-dihydroxypropoxy)phenyl]butyl-guanidine-methanesulfonate)(552-02),用于CF肺疾病的新的具有潜在的临床功效的上皮钠通道阻断剂(a novel epithelial sodium channel blocker with potential clinical efficacy for CF lung disease).J.Pharmacol.Exp.Ther.2008;325(1):77-88中进行了详细描述。

[0348] 使用安装在改良的Ussing室中的极化的支气管上皮细胞单层测定通过EnaC的跨细胞钠转移的抑制。使用气-液交界培养狗或人的支气管上皮细胞的初级培养物,并在电压钳条件下测试。测定作为跨细胞钠转运的指数的短路电流( $I_{SC}$ ),以评估效力。

[0349] 化合物(Ia)3,5-二氨基-6-氯-N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺是跨细胞钠转运的强效抑制剂,并且在狗支气管上皮细胞(CBE)中,其活性大约为阿米洛利的60倍,在人支气管上皮细胞(HBE)中,其活性大约为阿米洛利的160倍(图1)。在CBE化合物(Ia)中, $IC_{50}$ 为13.2±8.0nM,在HBE化合物(Ia)的 $IC_{50}$ 为2.4±1.8nM(表1)。

[0350] 表1.在狗支气管上皮细胞和人支气管上皮细胞中化合物(Ia)短路电流的抑制( $IC_{50}$  nM)

	物种	阿米洛利	化合物 I (母体)
[0351]	狗	781.5±331 (40)	13.2±8.0 (7)*
	人	389±188 (22)	2.4 ±1.2 (4)*

[0352] 上述值代表平均值±SD(n)

[0353] \*表示相对于阿米洛利的显著性( $p<0.05$ )

[0354] 最大阻碍的短路电流( $I_{SC}$ )的恢复被用作为药物解离速率的间接测量。完全阻碍后的 $I_{SC}$ 的恢复百分比,在洗涤三次顶部表面后测定,并通过下式计算:恢复的( $I_{SC}$ )/预处理的( $I_{SC}$ )×100,在CBE中,其与阿米洛利相比是显著(22倍)不可逆的,并在HBE中比阿米洛利低9.5倍(表2),表明化合物(Ia)具有更长的、更持久的对ENaC的阻断能力。

[0355] 表2.在狗支气管上皮细胞和人支气管上皮细胞中,化合物(Ia)对短路电流的可逆性(恢复%)

	物种	阿米洛利	化合物(Ia)
	狗	90.1±27.6 (39)	4.1±11.6 (7)*

人	$89.5 \pm 10.7 (4)$	$9.4 \pm 17 (3) *$
---	---------------------	--------------------

[0357] 上述值代表平均值±SD (n)

[0358] \*表示相对于阿米洛利的显著性 ( $p < 0.05$ )

[0359] 试验2. 羊中的粘膜纤毛清除 (MCC) 研究

[0360] 最常用于测量MCC变化的动物模型是羊模型。使用Sabater等, Journal of Applied Physiology, 1999, pp. 2191-2196描述的体内模型测量用于增强粘膜纤毛清除 (MCC) 的化合物的效果, 这篇文献通过引用纳入本文。在这些研究中, 成年羊被限制并经鼻插入气管内导管。对羊雾化测试进行超过10-15分钟。然后, 测试结束后, 以规定的4小时或8小时施用反射性标记<sup>99m</sup>Tc-硫胶体TSC, 3.1mg/mL; 含有约20mCi)。通过气管内导管施用放射性标记的气溶胶大约5分钟。然后从羊身上拔出管子, 在1小时的观察时期内, 每隔5分钟测量肺部的总放射数。动物中, 肺部放射标记的清除率代表MCC率。该系统的优点在于其接近模拟人肺环境。该模型还允许通过血浆和尿液样本, 在测试期间, 收集同时出现的PK/PD信息。还有一些技术用于在MCC测量期间测定气道表面的药物浓度。这些包括收集呼出气冷凝液或经由支气管镜检查获得ASL的滤纸法。

[0361] 使用上述羊的模型来评价以气溶胶递送的化合物 (Ia) 对MCC的体内效果 (效力/耐久性)。测试由4mL的化合物 (Ia)、比较实施例1、比较实施例4、赋形剂 (无菌蒸馏水) 或者与HS结合的测试剂组成的处理。为了确定HS是否与化合物 (Ia) MCC结合, 在施用以下化合物 (Ia) 后, 立即使用HS。使用Raindrop雾化器, 以8升/分钟的流速将测试溶液雾化, 并连接到剂量测定系统, 该系统由电磁阀和压缩空气源 (20psi) 组成。在使用Raindrop雾化器施用气溶胶后, 据估计羊肺部的药物沉积剂量为8-15%的剂量。使用Raindrop雾化器, 施用药物治疗4小时或8小时之后, 施用放射性标记的TSC大约3分钟, 以评估效力/耐久性。在一小时内, 每隔5分钟的间隔用 $\gamma$ 照相机测量在右肺的中心区域中放射性数量。利用了以下三种分析方法: 1) 使用线性回归拟合的第一个30分钟的初始清除率 (斜率), 2) 清除率 (%) 随时间的曲线在1小时的面积, 及3) 一小时内获得的最大清除率。

[0362] 给药4小时后 (图2), 测试16 $\mu$ g/kg、0.16 $\mu$ g/kg和0.016 $\mu$ g/kg的化合物 (Ia) 对羊MCC的效果, 并与赋形剂 (4mL sterile H<sub>2</sub>O) 相比较。在表3中示出了效果的分析。在所有的测试剂量中, 与赋形剂对照相比, 化合物 (Ia) 增强了MCC。16 $\mu$ g/kg的剂量被认为具有最强的MCC效果。

[0363] 表3. 化合物 (Ia) 或赋形剂给药4小时后羊中的MCC

化合物 I 剂量	初始斜率 (4.0-4.5h)	AUC (% Cl - h)	最大清除率
16 $\mu$ g/kg	$39.0 \pm 3.9^* (4)$	$18.6 \pm 2.2^{*\dagger} (4)$	$33.8 \pm 3.7^{*\dagger} (4)$
0.16 $\mu$ g/kg	39.1 (2)	19 (2)	33.1 (2)
0.016 $\mu$ g/kg	$33.3 \pm 4.4^* (4)$	$14.4 \pm 1.3^* (4)$	$25.5 \pm 1.3^* (4)$
赋形剂 (H <sub>2</sub> O) 4 mL	$17.2 \pm 6.8 (8)$	$7.3 \pm 1.5 (8)$	$12.2 \pm 2.9 (8)$

[0365] 数据表示为平均值±SD (n), 研究使用的n=2, 不包括在统计分析内。

[0366] \*代表相对于赋形剂的显著性 ( $p < 0.05$ ), †表示相对于0.016 $\mu$ g/kg剂量的显著性 ( $p$

<0.05)。

[0367] 为了确定HS是否增强化合物(Ia)的MCC效果,在给药0.016 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 化合物(Ia)后,立即施用HS(6.25mL的10%HS;62.5mg沉积,假设10%沉积),并在该联合给药后4小时评估MCC(图2)。HS使0.016 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量化合物(Ia)的效果达到最大效果,如单独施用0.16和16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量的化合物(Ia)中可以观察到的一样(图2)。因此,当HS添加到0.016 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量的化合物(Ia)中时,达到了最大MCC效果,而当不施用HS时,0.016 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量的化合物(Ia)产生次佳响应。

[0368] 表4.赋形剂、化合物(Ia)和HS给药4小时后羊中的MCC

剂量	初始斜率 (4.0-4.5h)	AUC (% Cl h)	最大清除率
化合物(Ia)	44.9 (2)	20.7 (2)	37.0 (2)
(0.016 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 4 mL + HS)			
化合物(Ia)	33.3±4.4 (4)	14.4±1.3 (4)	25.5±1.3 (4)
(0.016 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 4 mL)			
赋形剂 H <sub>2</sub> O (4 mL)	17.2±6.8 (8)	7.3±1.5 (8)	12.2±3 (8)

[0371] 数据表示为平均值±SD(n),研究使用的n=2,不包括在统计分析内。

[0372] 为了评估化合物(Ia)的耐久性以及向化合物(Ia)中加入HS的效果,施用赋形剂(H<sub>2</sub>O)、单独的HS 7%、0.16、1.6和16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 单独的化合物(Ia)或0.16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 化合物(Ia)和7%HS的组合(每次处理总共4mL体积)8小时后测定MCC(图4)。施用赋形剂后,4小时和8小时的MCC是相同的,表明在羊中MCC4-8小时维持在稳定状态(图2和3)。施用4mL的7%HS 8小时之后,与赋形剂相比,没有观察到MCC的变化,表明HS效果已经消失。与赋形剂和HS相比,三个剂量组(0.16、1.6和16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )的化合物(Ia)全部以剂量依赖的方式增加MCC,表明化合物(Ia)具有比单独的HS更持久的作用持续时间(图4)。HS和化合物(Ia)的组合剂量增加0.16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量的化合物(Ia)的效果,其增加的效果大于在16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量中观察到的效果,表明当HS加入到化合物(Ia)时,出现了100倍的活性增益(图4)。通过HS化合物(Ia)活性的增强,在HS本身没有活性的情况下,清楚的表明HS与化合物(Ia)的协同作用。

[0373] 表5赋形剂、HS、化合物(Ia)或HS和化合物(Ia)的组合.给药8小时后,羊中的MCC

剂量	初始斜率 (8.0-8.5h)	AUC (% Cl h)	最大清除率
<b>赋形剂 - H<sub>2</sub>O (4 mL)</b>	17.8±5.7 (4)	7.8±1 (4)	14.2±0.7 (4)
<b>7 % HS (4 mL)</b>	17.8 (2)	7.6 (2)	14.6 (2)
<b>化合物(Ia) (0.16 µg/kg; 4 mL)</b>	24.0 (2)	10.7 (2)	19.7 (2)
<b>化合物(Ia) (1.6 µg/kg; 4 mL)</b>	24.4 (2)	11.1 (2)	21.2 (2)
<b>化合物(Ia) (16 µg/kg; 4 mL)</b>	28.0 (2)	13.9 (2)	26.7 (2)
<b>化合物(Ia) (0.16 µg/kg +7 % HS; 4 mL)</b>	30.9±2.5 (4)	15.3±2.2 (4)	27.5±1.6 (4)

[0374] [0375] 数据表示为平均值±SD (n), 研究使用的n=2, 不包括在统计分析内。

[0376] 试验3.d.由人呼吸道上皮细胞的气道表面液体药物 (ASL) 清除和代谢

[0377] 在HBE中评估顶端表面的化合物 (Ia) 的消失 (disappearance) 以及气道上皮代谢 (表6)。在这些实验中, 25µL的25µM的ENaC阻断剂溶液加入到HBE细胞的顶部表面, 所述HBE细胞在气/液界面生在, 通过UPLC测定在顶室和底室的2小时的药物浓度。2小时后, 化合物 (Ia) 在顶部表面培养 (37°C), 在顶测或底测都没有检测到代谢作用, 在基底测没有检测到化合物 (Ia)。

[0378] 表9. 通过HBS的化合物 (Ia) 的顶端消失和代谢

化合物	顶侧的初始药物质量% (亲代和代谢产物, 2h)	作为代谢产物的顶端质量% (2h)	基底侧的初始顶端质量% (2h)	作为代谢产物的基底侧质量% (2h)
<b>化合物 (Ia)</b>	80.7*±6.2%	没有	没有	没有

[0380] 试验4.e. 气道水化和钠离子通道阻断 (体外模型)

[0381] Parion Sciences已经研发了用于评估细胞培养物中气道水化的实验模型 (Hirsh,A.J., Sabater,J.R., Zamurs,A., 等. 用于CF肺疾病治疗的次代阿米洛利类似物的评估 (Evaluation of second generation amiloride analogs as therapy for CF lung disease) . J.Pharmacol.Exp.Ther. 2004;311 (3) :929-38. Hirsh,A.J., Zhang,J., Zamurs, A., 等, N-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羰基)-N'-4-[4-(2,3-二羟基丙氧基)苯基]丁基-胍-甲磺酸盐的药理学性质 (Pharmacological properties of N-(3,5-diamino-6-chloropyrazine-2-carbonyl)-N'-4-[4-(2,3-dihydroxypropoxy)phenyl]butyl-guanidine-methanesulfonate) (552-02), 用于CF肺疾病的新的具有潜在的临床功效的上皮钠通道阻断剂 (a novel epithelial sodium channel blocker with potential clinical efficacy for CF lung disease) . J.Pharmacol.Exp.Ther. 2008;325 (1) :77-88)。

[0382] 初级CBE细胞被涂覆在保持在气液界面的覆盖胶原蛋白的、多孔膜上, 从而评估随

着时间的推移,表面液体体积的保持性,在实验开始时,每个12毫米膜嵌套插入物从含空气-液体界面的培养基平板取出,吸干,称重并且将50 $\mu$ L的赋形剂(0.1%DMSO),或ENaC阻断剂(10 $\mu$ M in 0.1%DMSO)施加到顶部表面并记录质量。插入物立即转到transwell板(500 $\mu$ L,Krebs Ringer Bicarbonate (KRB),在低室内pH 7.4)并置于37°C,5%CO<sub>2</sub>培养箱中。为了减少由于基于水失衡的顶端的碳水化合物渗透梯度的假象,在顶端缓冲液中没有包含葡萄糖。测试化合物(Ia)并与赋形剂比较,在0-8小时或者24小时连续监测ASL的质量。表面液体的质量转换成以 $\mu$ L为单位的体积。数据记录为初始体积%(100% = 50 $\mu$ L)。

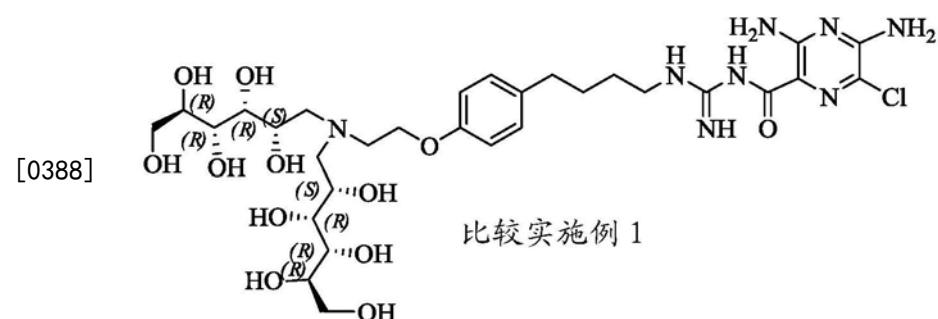
[0383] 通过测量在加入50 $\mu$ l体积的实验缓冲液到CBE细胞的顶端表面后留存的缓冲液,间接确定钠转运抑制的持续时间。8小时后,仅12.5±12.1%的赋形剂(缓冲液)保留在表面上,赋形剂(25+19.2% 8小时后)中具有10 $\mu$ M阿米洛利,观察到表面液体潴留具有很小的增加。相比之下,化合物(Ia)显著增加了顶端表面液体潴留,维持88.3±13%的表面液体超过8小时(图5)。

[0384] 为了进一步测试化合物(Ia),培养持续时间从8小时延长到24小时。24小时后没有测试阿米洛利,因为主要效果在8小时后就消失了。24小时后,仅11%的赋形剂缓冲液保留,然而,化合物(Ia)保持了72.3±7.3%的表面液体超过24小时,相比于8小时的测量值,仅损失了16%,表明化合物(Ia)示出了对于液体潴留的持久性效果(图6)。

#### [0385] 比较实施例

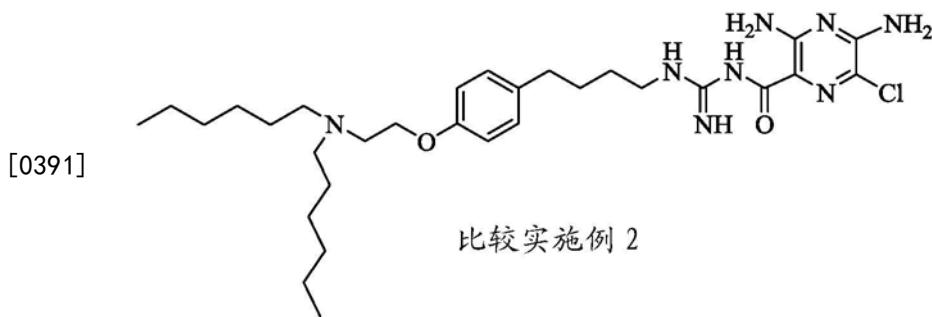
[0386] 与已知的钠离子通道阻断剂(以下描述的比较实施例1-5)相比,本发明的式(I)的化合物更有效和/或从粘膜表面,特别是气道表面吸收较慢。因此,式(I)的化合物与比较实施例中的化合物相比,在粘膜表面具有更长的半衰期。

[0387] 作为钠离子通道阻断剂的具有有用的药物特性,并且可以通过这里所述的方法和其他本领域已知方法的制备的比较实施例1至4在以下公开文本中要求保护、描述或公开: WO 2003/070182(美国专利号6,858,615;7,186,833;7,189,719;7,192,960和7,332,496), WO 2005/044180(美国专利申请号2005/0080093和美国专利号7,745,442), WO 2004/073629(美国专利号6,903,105;6,995,160;7,026,325;7,030,117;7,345,044;7,820,678和7,875,619), WO 2005/016879(美国专利号7,064,129;7,247,637;7,317,013;7,368,447;7,368,451;7,375,107;7,388,013;7,410,968和7,868,010),或WO 2008/031028(美国专利申请公开号2008/0090841和2009/0082287)。

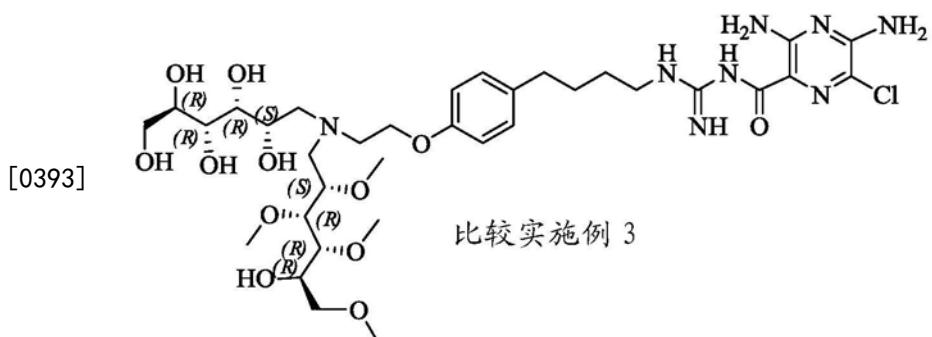


[0389] 比较实施例1的化合物包括在WO 2008/031028的钠离子通道阻断化合物之中,其结构可参见第14页。

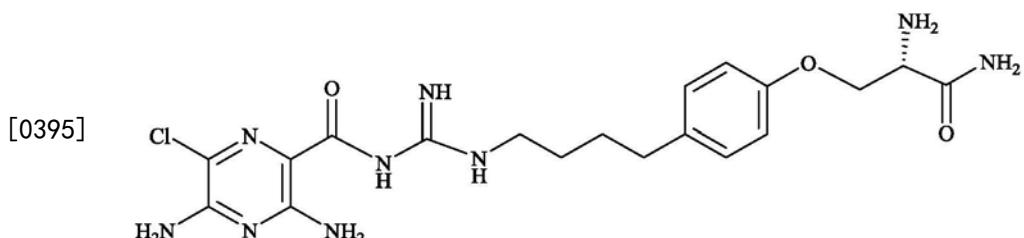
[0390] 比较实施例2是3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(二己基氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺,其在WO 2004/073629总的公开内容之中。



[0392] 比较实施例3是3,5-二氨基-6-氯-N- (N- (4- (4- (2- (((2S,3R,4R,5R)-5-羟基-2,3,4,6-四甲氧基己基) ((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基) 氨基) 乙氧基) 苯基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-甲酰胺,其在WO 2008/031028的公开内容之中。



[0394] 比较实施例4



[0396] (S)-3,5-二氨基-6-氯-N- (N- (4- (4- (2,3-二氨基-3-氧代丙氧基) 苯基) 丁基) 甲脒基) 吡嗪-2-

[0397] 甲脒胺

[0398] 在US 2005/0080093的第15页中可以看到比较实施例4的化合物,并且在WO 2008/031048的第90页看到化合物2,在WO 2008/031028.的第42-43页看到化合物2。为了具有用于治疗囊性纤维化和C.O.P.D的活性,化合物必须具有在多次给药后,以不升高血钾的剂量增强粘膜纤毛清除 (MCC) 的性质,血钾升高将最终导致高血钾症,一种严重而又危险的疾病。因此,必须避免这类化合物,如果它们明显地从肾脏排出体外,了解它们将升高血钾。为了评价这种潜力,有利的是以有用的剂量施用时,其具有体内MCC活性,而不引起血钾的升高。一种评价这种的模型是如下所述的羊MCC模型。如从下表7中可以看到,在羊MCC模型中的比较实施例1的ED<sub>50</sub> (AUC=47%) 大约为3000μM。

[0399] 表7. 使用3种不同的方法,在羊中,8小时时间点赋形剂MCC效果的变化

	表 7.	斜率	AUC	最大清除率 (%)	大约 ED <sub>50</sub>
		(8-8.5h)	(%Cl*h)		
[0400]	300 μM (Ia)	10.2 (100%)	6.2 (100%)	12.8 (100%)	
	30 μM (Ia)	6.6(65%)	3.3(53%)	7.0(55%)	2.4nmol/kg
	3000μM (比较 实施例 1)	6.1 (60%)	2.9 (47%)	4 (31%)	240nmol/kg
	最大效果	10.2 (100%)	6.2 (100%)	12.8 (100%)	

[0401] 可以从表7和图7中看出,使用三种不同的方法(斜率、AUC和最大清除率)在羊MCC模型中的比较实施例1的ED<sub>50</sub>大约为240nmol/kg (3mM)。在该剂量(这将是一种临床活性剂量)下,比较实施例1引起了血钾升高,重复剂量会导致高钾血症(图8)。因此,比较实施例I不能供人使用的,而化合物(Ia)产生了安全有效的MCC,其优点在于在该模型中风险率高于1000。

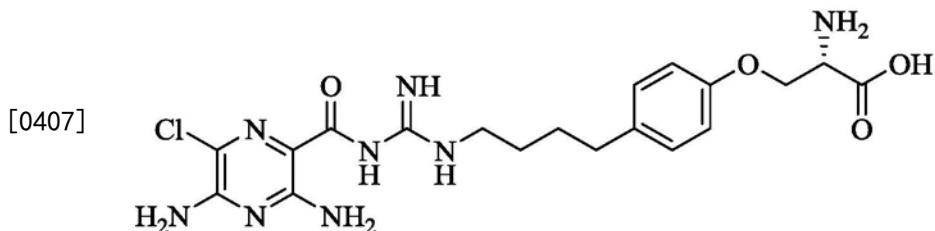
[0402] 为了降低该分子的潜在肾功能影响,测试了更多的亲脂化合物。比较实施例2,其用两个长度相等的亲脂性链替代了比较实施例1中的两个亲水基团,获得了化合物比较实施例2,其在体外效力与比较实施例1相比呈数量级降低(表8),因此适合在体内产生持续的MCC。比较实施例3,其中比较实施例1的所有氨基保留了,并且5羟基的甲基基团的加入到5的羟基上,其具有相似的体外递减活性。因此,它似乎是不可能从这种结构框架中产生有活性而经肾安全的分子。因此,发现化合物(Ia)维持与比较实施例1相等的体外活性,这是预料之外的。更令人吃惊和无法预料的是化合物(Ia)在体内的效力比比较实施例1的100倍更有效,并以有效的MCC剂量施用时不引起血钾升高。

[0403] 表8. 钠离子通道阻断活性的体外测定

化合物	IC <sub>50</sub> (nM)
Ia	13.2
比较实施例1	11.8
比较实施例2	124.5
比较实施例3	144.1
比较实施例4	6.6

[0405] 被广泛研究的另一种化合物是比较实施例4的化合物,(S)-3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2,3-二氨基-3-氧代丙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺。

[0406] 在HBE中评估化合物(Ia)从顶端表面消失以及气道上皮代谢,并与比较实施例4相比较(表9)。在这些实验中,25μL的25μM的ENaC阻断剂溶液加入到HBE细胞的顶端表面,所述HBE细胞在气/液界面生长,通过UPLC测定在顶室和底室的2小时的药物浓度。2小时后,化合物(Ia)在顶端表面培养(37°C),在顶侧或底侧都没有检测到代谢作用,在基底侧没有检测到化合物(Ia)。与之相比,大多数的比较实施例4从顶侧淘汰,并且83%代谢成不太活跃的羧酸,(S)-2-氨基-3-(4-(4-(3-(3,5-二氨基-6-氯吡嗪-2-羧基)胍基)丁基)苯氧基)丙酸,其结构如下所示。



[0408] 表9. 通过HBE的化合物 (1a) 的顶端消失和代谢

化合物	顶侧的初始药物质量% (母体和代谢产物, 2h)	作为代谢产物的顶端质量% (2h)	基底侧的初始顶端质量% (2h)	作为代谢产物的基底侧质量% (2h)
化合物(Ia)	80.7 $\pm$ 6.2%	没有	没有	没有
比较实施例4	41.6 $\pm$ 7.6%	83.0 $\pm$ 3.5%	8.3 $\pm$ 0.2	94.7 $\pm$ 1.0%

[0410] 上述值代表平均值 $\pm$ SD。

[0411] \*表示来自比较实施例4的显著差异 ( $p < 0.05$ )。

[0412] 在羊的MCC中, 化合物 (Ia) 的效力比比较实施例4高10000倍, 而它并不升高血钾, 然而比较实施例4在大约ED50的3mM剂量就升高血钾(图9和10)。这再一次证明了化合物 Ia 的独特的意想不到的效力和安全性优势。

[0413] 表10赋形剂、比较实施例4或化合物 (1a) 给药4小时后羊中的MCC

剂量	初始斜率 (4.0-4.5h)	AUC (% Cl x h)	最大清除率
比较实施例 4(112 μg/kg; 4 mL)	32.2 $\pm$ 7.3* (6)	14.1 $\pm$ 2.2* (6)	22.9 $\pm$ 2.1* (6)
比较实施例 4(11.2 μg/kg; 4 mL)	14.5 $\pm$ 1.3 (3)	6.9 $\pm$ 1.0 (3)	14.6 $\pm$ 0.9 (3)
μg/kg; 4 mL)			
化合物 (Ia) (0.016 μg/kg; 4 mL)	33.3 $\pm$ 4.4* (4)	14.4 $\pm$ 1.3* (4)	25.5 $\pm$ 1.3* (4)
赋形剂水 (4 mL)	17.2 $\pm$ 6.8 (8)	7.3 $\pm$ 1.5 (8)	12.2 $\pm$ 2.9 (8)

[0416] 现在已经证明了化合物 (Ia) 提高的肾脏安全性可以通过肾脏显著降低药物的清除来解释。如果化合物能够远离肾脏中的钠离子通道, 那么应该能够显著减低高血钾症。以下给羊静脉注射, 43%的比较实施例1从尿液排出物中回收, 而从尿液排出物仅回收5%的化合物I。更为显著的是, 当以气溶胶施用时, 直接进入肺的药物的尿回收显著的降低。当给羊施用吸入气溶胶形式的比较实施例4时, 在尿液排出物中回收7%剂量, 而在尿液排出物

中仅回收0.07%的气溶胶剂型的化合物(Ia)。化合物在尿液中降低的清除率(10-100倍),与上述显著的降低剂量的要求的相结合,导致出乎预料的100,000至1,000,000倍的风险益处差异。

[0417] 表11. 羊中的化合物(Ia)和比较实施例4的尿液排泄物

试验	比较实施例4	化合物(Ia)
Log D	0.64	2.2
IC50	6.6 <sub>±</sub> 3.7 nM	13 <sub>±</sub> 8 nM
人血浆代谢	t <sub>1/2</sub> = 37 分钟	没有
人血浆蛋白结合	76 <sub>±</sub> 2%	97 <sub>±</sub> 2%
施用剂量的尿排泄物 (羊)	7 %	0.07 %

[0418] [0419] 图9图示了化合物(Ia),3,5-二氨基-6-氯-N-(N-(4-(4-(2-(己基((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)氨基)乙氧基)苯基)丁基)甲脒基)吡嗪-2-甲酰胺盐酸盐,和比较实施例4,如上述MCC模型所描述的,随着时间推移的粘液清除率百分比图示。化合物(Ia)以低于比较实施例4所示的7,000倍的剂量提供了与其相似的粘液清除率百分比。化合物(IA)在临床相关剂量范围内提供了最大的效果。

[0420] 图10示出了随着时间推移,以有效的在接受在MCC研究中的比较实施例4的羊血浆中所示,血浆钾离子水平的显著升高。在接受化合物(Ia)的羊中,没有观察到任何剂量的测试影响血浆钾离子水平。

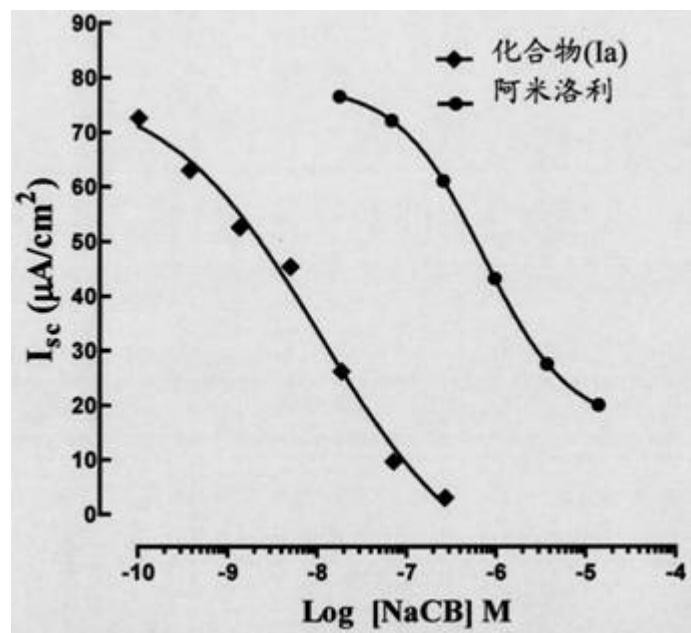


图1

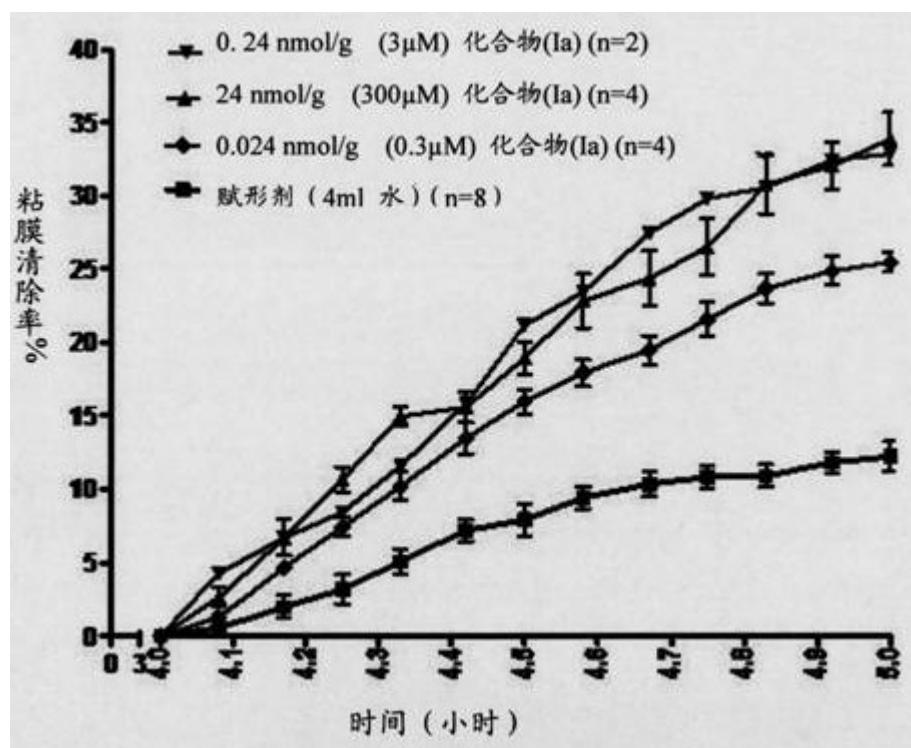


图2

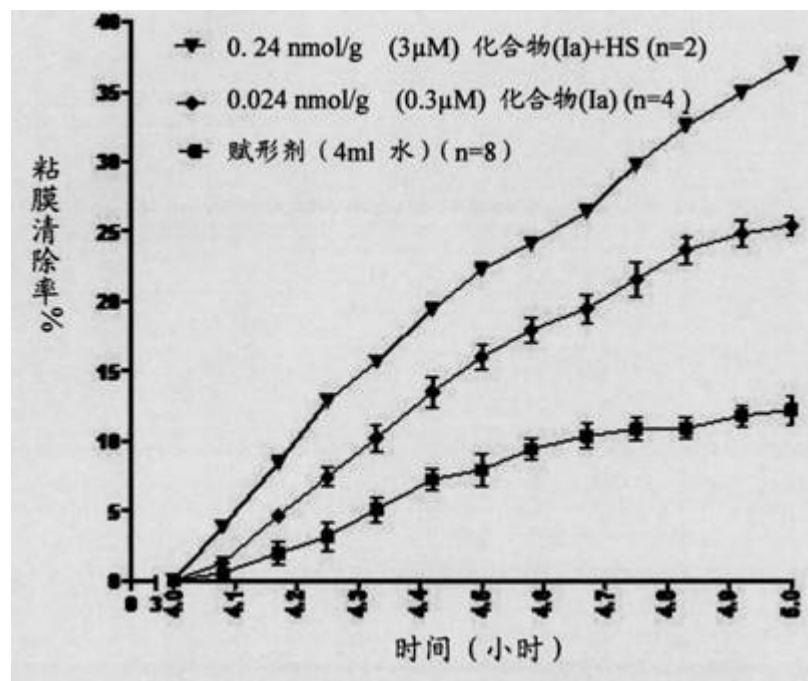


图3

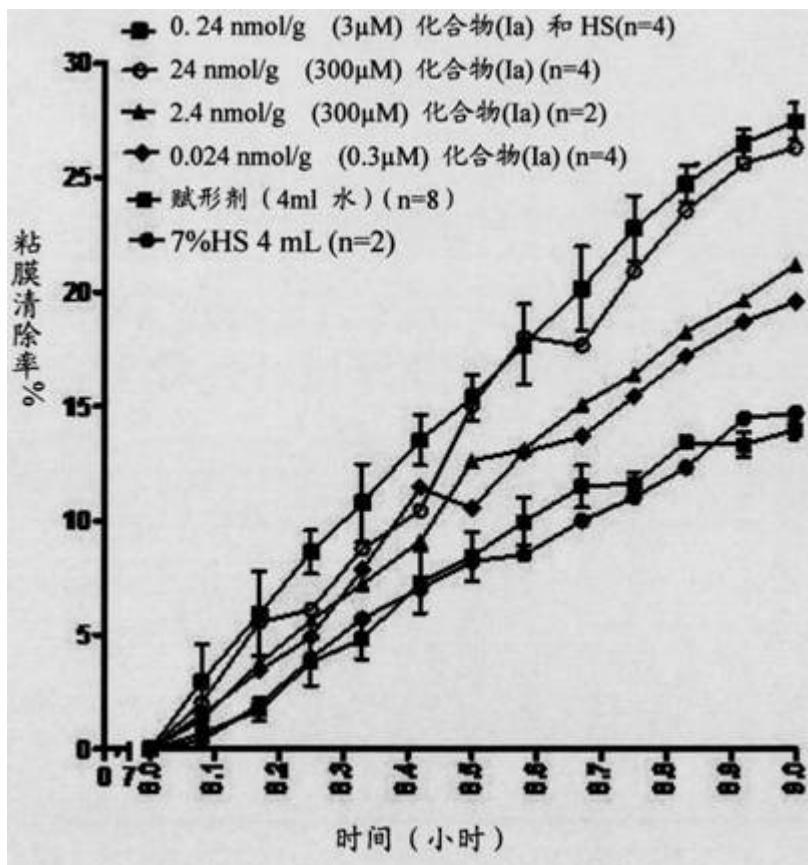


图4

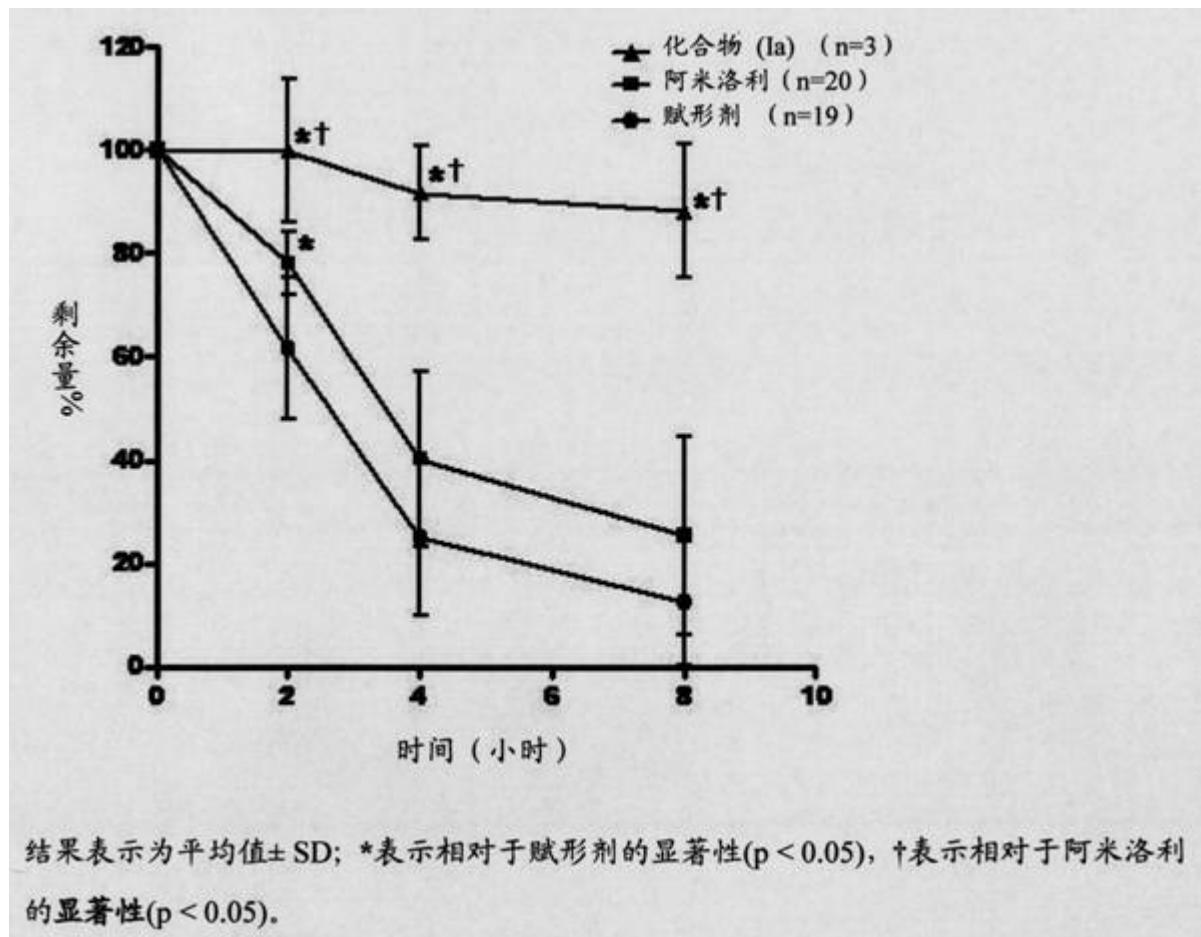


图5

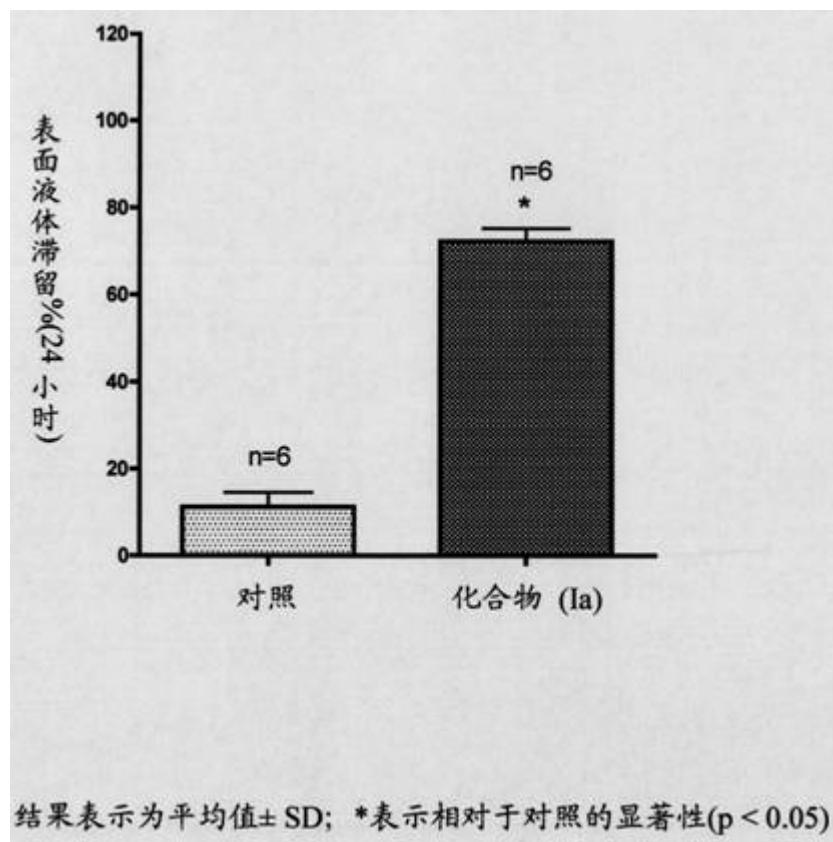


图6

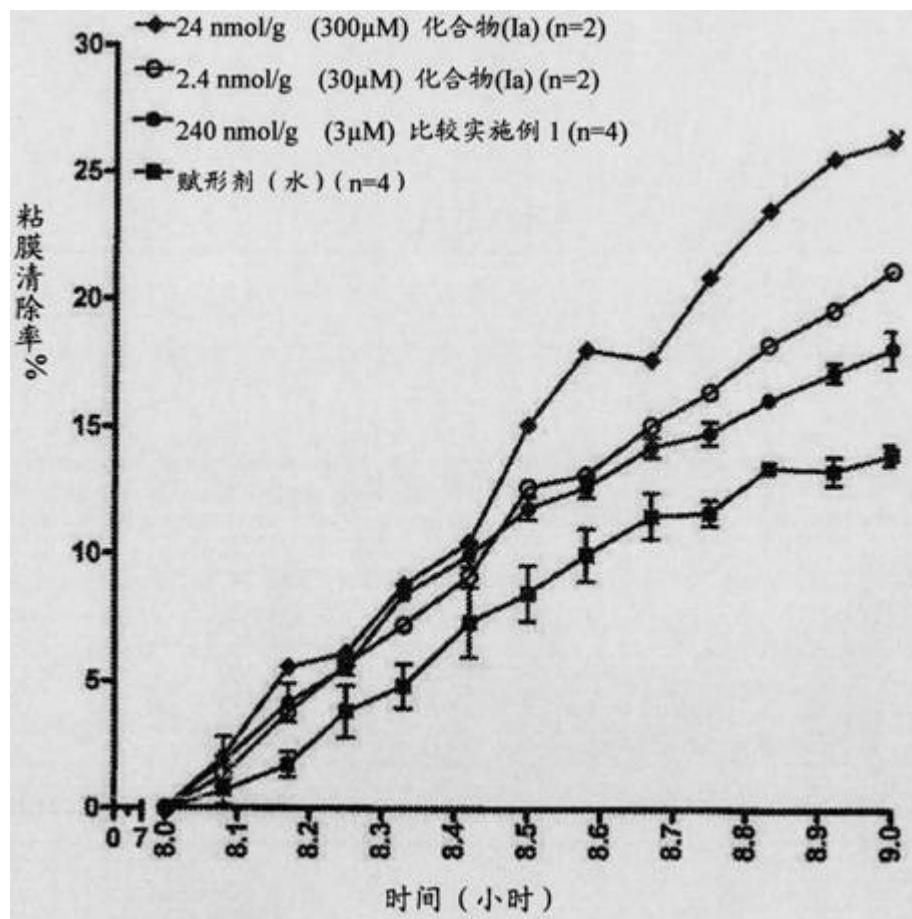


图7

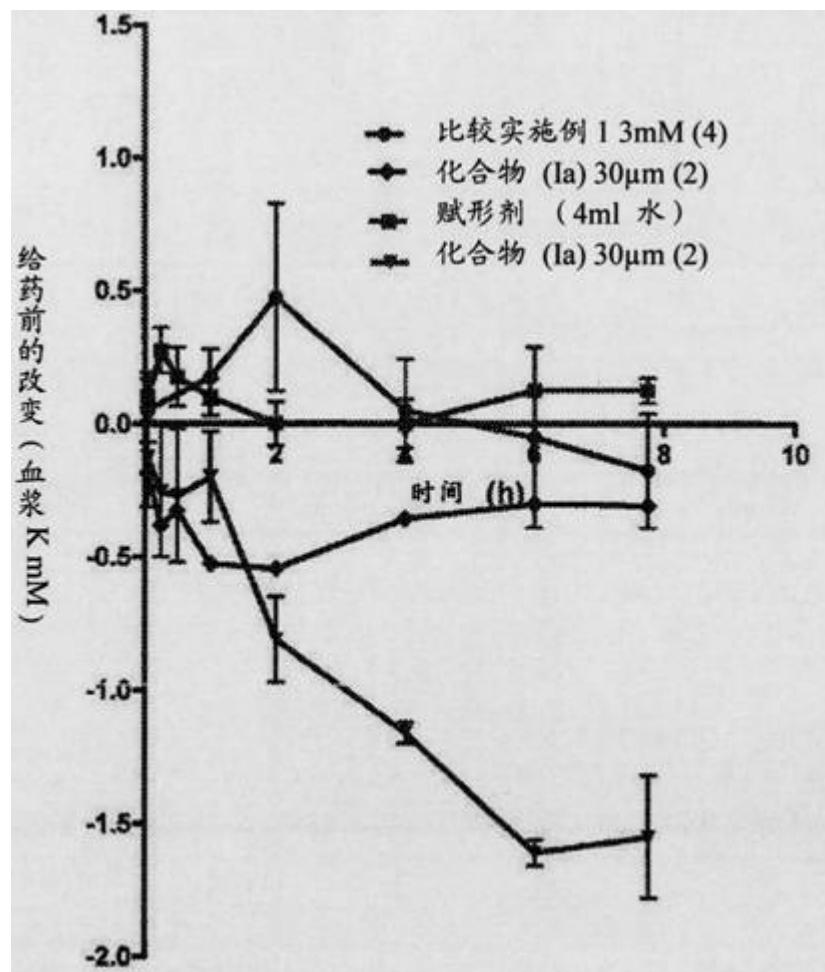


图8

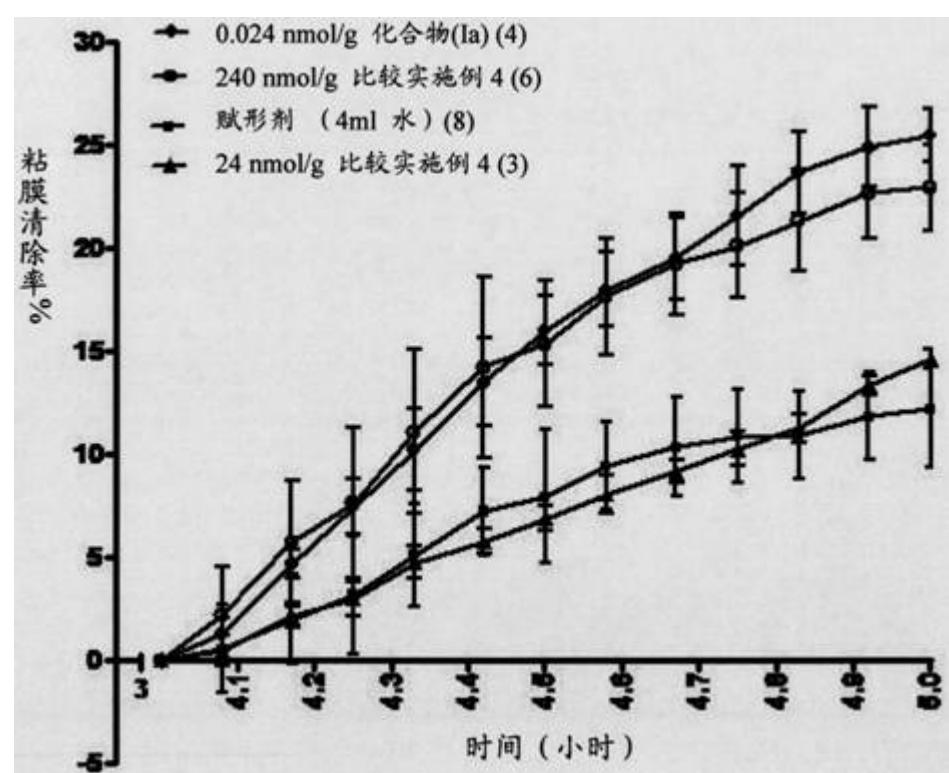


图9

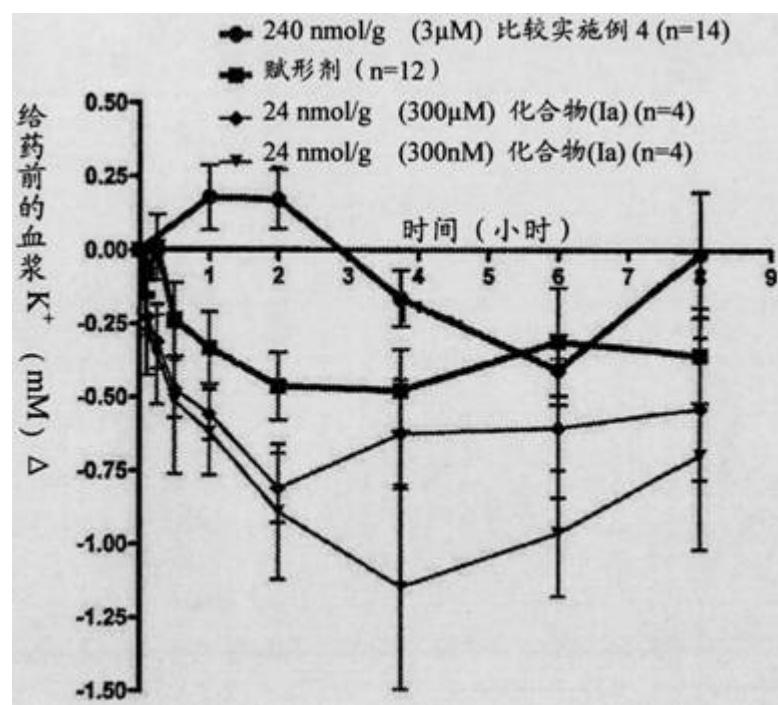


图10