

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580008055.6

[51] Int. Cl.

A61K 31/65 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009年4月29日

[11] 公开号 CN 101420960A

[22] 申请日 2005.3.11

[21] 申请号 200580008055.6

[30] 优先权

[32] 2004.3.12 [33] US [31] 60/552,779

[86] 国际申请 PCT/US2005/008387 2005.3.11

[87] 国际公布 WO2005/089259 英 2005.9.29

[85] 进入国家阶段日期 2006.9.12

[71] 申请人 寇拉詹尼克斯制药公司

地址 美国宾夕法尼亚州

[72] 发明人 亚尼·奥伊瓦 图拉·A·萨洛
于莱尔米·索伊尼 卡里·于利塔洛
安蒂·尼西宁 福斯托·比安卡里
塔图·龙沃宁 亚里·萨塔

[74] 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限责
任公司
代理人 章社杲

权利要求书 1 页 说明书 16 页

[54] 发明名称

使用非抗菌四环素制剂治疗主动脉狭窄的方法

[57] 摘要

本发明涉及用于在哺乳动物需要时治疗其主动脉狭窄的方法。该方法包括给予哺乳动物有效量的非抗菌四环素制剂。

1. 一种用于在需要时治疗哺乳动物主动脉狭窄的方法,所述方法包括给予哺乳动物有效量的非抗菌四环素制剂。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述四环素制剂包括非抗菌量的抗菌四环素。
3. 根据权利要求2所述的方法,其中,所述抗菌四环素选自由土霉素、金霉素、强力霉素、米诺环素、四环素、氧四环素、氯四环素、地美环素、赖甲环素或其药用盐组成的组。
4. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述四环素制剂包括非抗菌四环素。
5. 根据权利要求4所述的方法,其中,所述非抗菌四环素选自由CMT-1、CMT-2、CMT-4、CMT-6、CMT-7、CMT-9或CMT-10,或其药用盐组成的组。
6. 根据权利要求4所述的方法,其中,所述四环素是CMT-3,或其类似物,或其药用盐。
7. 根据权利要求4所述的方法,其中,所述四环素是CMT-8,或其类似物,或其药用盐。

使用非抗菌四环素制剂治疗主动脉狭窄的方法

背景技术

主动脉瓣把心脏的左下室（心室）连接到身体的最大动脉即主动脉上。主动脉狭窄，也称为主动脉瓣狭窄，是指动脉瓣变得狭窄的情形。这种变窄妨碍主动脉瓣完全张开，这会阻碍血液从心脏流入主动脉并流到身体的其他部分。其结果为，心脏每次搏动时泵出较少的血液，且较少的血液到达身体各部分。

主动脉狭窄可以是轻度、中度或重度的。症状可包括疲劳、头晕、胸痛或胸闷、昏厥、呼吸短促、心悸、心杂音、或者踝或足肿胀。如果不治疗，主动脉狭窄会导致严重的心脏问题，包括心力衰竭以及猝死。

主动脉狭窄的可选治疗方法包括外科和/或药物治疗。在很少的情况下，使用末端带有气囊的柔软细管（导管）可以展宽动脉瓣的开口。在这种手术中（瓣膜成形术），导管被引导经肘或腹股沟内的血管进入主动脉瓣。一旦到达适当的位置，气囊被充气而展开主动脉瓣，随后气囊被放气并移出。

遗憾的是，瓣膜成形术只提供暂时的缓解，而变窄最终还会再发生。在这种手术过程中，并发症的危险很高，例如患中风。

外科瓣膜置换术是目前可用的另一种外科治疗的选择方案。在这种手术中，用人工瓣膜置换损坏的主动脉瓣。所使用的一种类型的瓣膜（机械的）是用金属以及合成材料制成的。所使用的另一种

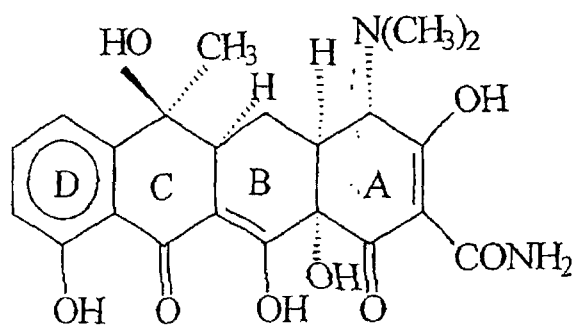
类型的人工瓣膜是用动物组织（异种移植）或人组织（同种移植）制成的。

外科瓣膜置换术也具有很高的风险，例如感染，而且要求病人在术后服用血液稀释剂（薄血药），而且有时病人在余生中要一直服用这种血液稀释剂。还有许多人由于太虚弱或其他原因而不希望经历这类危险的外科手术。

目前可获得的药物治疗只是用来减轻主动脉狭窄的症状。然而，目前可获得的药物治疗不能张开该狭窄部分或者阻止心脏肌肉问题的产生。

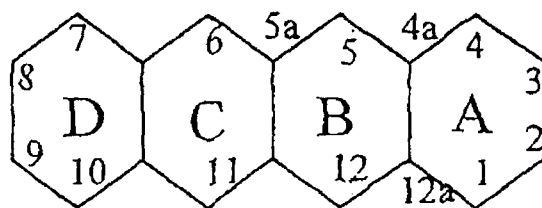
因此，针对主动脉狭窄的现有技术的治疗是有限的，并且不能做到无副作用。需要有新的、可替代的以及更完备的治疗主动脉狭窄的技术。

化合物四环素是抗生素类化合物中的成员，它们是指四环素类、四环素化合物、四环素衍生物等。化合物四环素具有下面的通式结构：



结构 A

四环素母体环的系统编号如下：



结构 B

四环素，以及土霉素和金霉素衍生物，是天然存在的，并且是熟知的抗生素。在不破坏其抗生性能下，可以对天然的四环素加以修饰，虽然必须保留某些元素。修饰可以是也可以不是针对基本的四环素结构而作出的，这些修饰已经由 Mitscher 在 *The chemistry of Tetracyclines*, Chapter 6, Marcel Dekker, Publishers, New York (1978) 一文中综述。根据 Mitscher 的观点，可以调整四环素环系统的 5-9 位的取代基，而不完全散失抗生性能。

然而，改变基本环系统或在 4 位与 10-12a 位的一个或多个位置的取代基的置换，通常导致抗微生物活性显著减小或实际上没有抗微生物活性的合成四环素。化学修饰的非抗菌四环素(下文称 CMT) 的一些实例为：4-去二甲氨基四环素、4-去二甲氨基山环素(6-去甲基-6-脱氧-4-去二甲氨基四环素)、4-去二甲氨基米诺环素(7-二甲氨基-6-去甲基-6-脱氧-4-去二甲氨基四环素)、以及 4-去二甲氨基强力霉素(5-羟基-6-脱氧-4-去二甲氨基四环素)。

除了它们的抗微生物性能外，四环素已经被披露具有许多其他用途。例如，还获知四环素能通过非抗生机制来抑制由哺乳动物(包括人)细胞和组织产生的胶原蛋白破坏酶的活性。这类酶包括基质金属蛋白酶(MMP)，其包括胶原酶(MMP-1、MMP-8 以及 MMP-13)、明胶酶(MMP-2 和 MMP-9)，以及其他酶(例如 MMP-12、MMP-14)。参见 Golub 等人, *J. Periodont. Res.* 20:12-23 (1985); Golub 等人, *Crit. Revs. Oral Biol. Med.* 2:297-322 (1991); 美国专利 4 666 897; 4 704 383; 4 935 411 及 4 935 412。同样，已知四环素能抑制哺

乳动物骨骼肌内的消耗以及蛋白质降解（美国专利 5 045 538）、抑制可诱导的 NO 合酶（美国专利 6 043 231 和 5 523 297）、以及磷脂酶 A₂（美国专利 5 789 395 和 5 919 775），并能增加哺乳动物细胞中 IL-10 的生成。这些性能使得四环素在治疗许多疾病中大有用处。

本发明的目的是提供一种治疗主动脉狭窄的新方法。

发明内容

已经发现，通过本发明可以实现这些以及其他目的。本发明是用于在需要时治疗哺乳动物主动脉狭窄的方法。该方法包括给予哺乳动物有效量的非抗菌四环素制剂。

在一个具体的实施方式中，该非抗菌四环素制剂是非抗菌量的抗菌四环素。在另一实施方式中，非抗菌四环素制剂是非抗菌四环素。

具体实施方式

本发明涉及通过给予非抗菌四环素制剂来治疗主动脉狭窄。在本发明的一个实施方式中，非抗菌四环素制剂是以非抗菌量给予的抗菌四环素化合物，将在下文进行讨论。对于这个实施方式，四环素可以是具有临床上明显抗菌活性的任何四环素。

抗菌四环素的一些例子包括四环素，以及天然存在的 5-OH（氧四环素，例如土霉素）以及 7-Cl（氯四环素，例如金霉素）的衍生物。半合成四环素，包括例如强力霉素、米诺环素以及山环素，也可以用于这种实施方式。实例也包括地美环素以及赖甲环素。

在本发明的另一实施方式中，非抗菌四环素制剂是非抗菌四环素化合物。非抗菌四环素化合物在结构上与抗菌四环素有关联，但

通过前述化学修饰其抗生活性被基本或完全消除。例如，在 4 和 10-12a 的一个或多个位置被修饰。

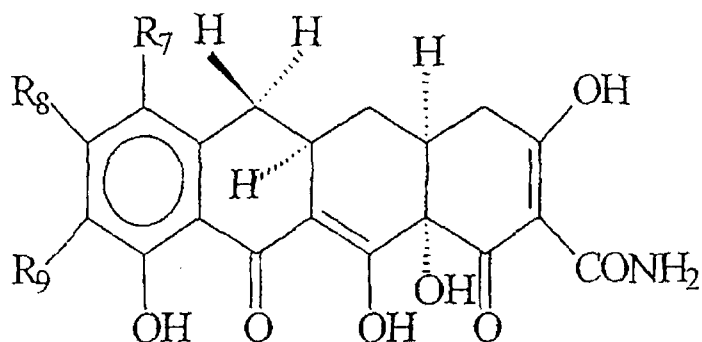
非抗生四环素化合物优选不具有相当于强力霉素那样的抗生活性，除非该非抗生四环素的浓度比强力霉素至少高约 10 倍，优选为至少约 25 倍。

一个这样的化学修饰的非抗菌四环素 (CMT) 的组包括任何的 4-去二甲氨基四环素衍生物，例如，4-去二甲氨基四环素(CMT-1)、6-去甲基-6-脱氧-4-去(二甲氨基)四环素(CMT-3)、4-去二甲氨基强力霉素(CMT-8)以及 4-去二甲氨基米诺环素(CMT-10)。

一些适合的 4-去二甲氨基四环素衍生物的例子包括下面的通式 (I) 至 (IV):

通式 (I)

结构 A 代表 4-去二甲氨基山环素 (CMT-3) 的衍生物



结构 A

其中各种情形中的 R7、R8 和 R9 具有如下含义:

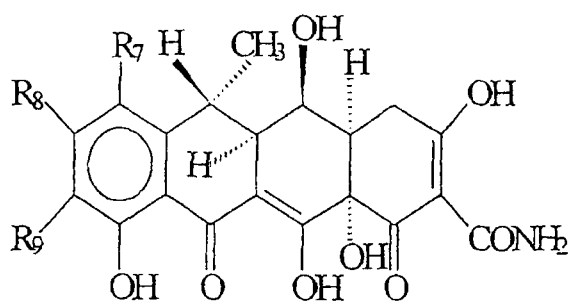
R7	R8	R9
叠氮基	氢	氢
二甲氨基	氢	叠氮基

	氢	氢	叠氮基
	二甲氨基	氢	氨基
	酰氨基	氢	氢
	氨基	氢	硝基
	氢	氢	(N,N 二甲基) 甘氨酸氨基
	氨基	氢	氨基
	氢	氢	乙氧基硫代羰基硫
	二甲氨基	氢	酰氨基
	二甲氨基	氢	重氮
	二甲氨基	氯	氨基
	氢	氯	氨基
	氨基	氯	氨基
	酰氨基	氯	酰氨基
	氨基	氯	氢
	酰氨基	氯	氢
	单烷基氨基	氯	氨基
	硝基	氯	氨基
	二甲氨基	氯	酰氨基
	二甲氨基	氯	二甲氨基
	酰氨基	氢	氢
	氢	氢	酰氨基
(CMT-301)	溴基	氢	氢
(CMT-302)	硝基	氢	氢
(CMT-303)	氢	氢	硝基
(CMT-304)	乙酰氨基	氢	氢
(CMT-305)	氢	氢	乙酰氨基
(CMT-306)	氢	氢	二甲氨基
(CMT-307)	氨基	氢	氢
(CMT-308)	氢	氢	氨基
(CMT-309)	氢	氢	二甲氨基乙酰氨基

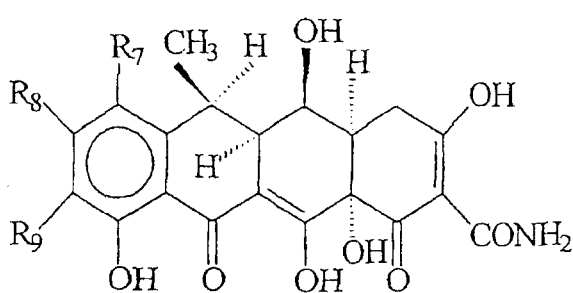
(CMT-310)	二甲氨基	氢	氢	
(CMT-311)	氢	氢	氢	棕榈酰胺
(CMT-312)	氢	氢	氢	CONHCH ₂ -吡咯烷-1-基
(CMT-313)	氢	氢	氢	CONHCH ₂ -哌啶-1-基
(CMT-314)	氢	氢	氢	CONHCH ₂ -吗啉-1-基
(CMT-315)	氢	氢	氢	CONHCH ₂ -哌嗪-1-基

通式(II)

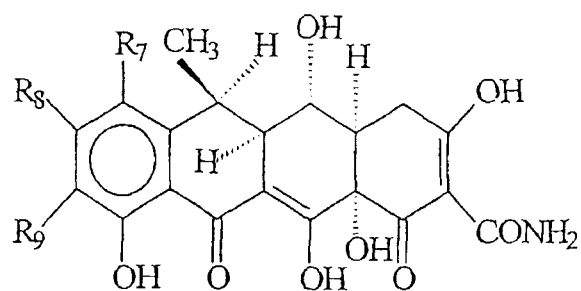
结构 B 至 E 代表 4-去二甲氨基强力霉素(CMT-8)衍生物



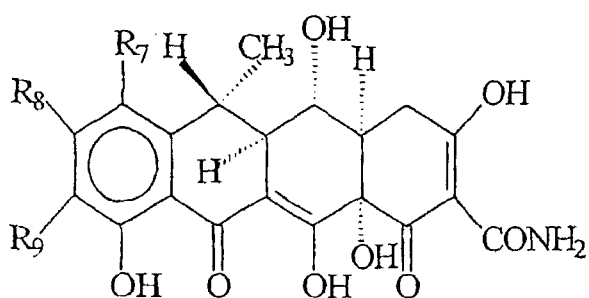
结构 B



结构 C



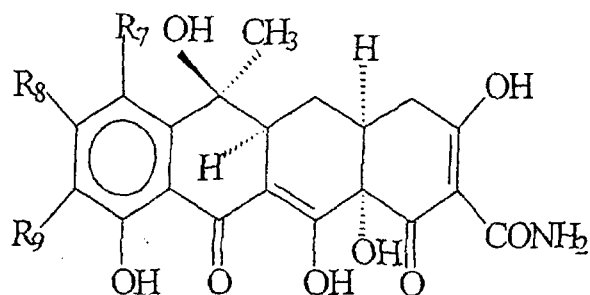
结构 D



结构 E

其中各种情形中的 R7、R8 和 R9 具有如下含义:

R7	R8	R9
叠氨基	氢	氢
二甲氨基	氢	叠氨基
氢	氢	叠氨基
二甲氨基	氢	氨基
酰氨基	氢	氢
氢	氢	酰氨基
氨基	氢	硝基
氢	氢	(N,N-二甲基)甘氨酸
氨基	氢	氨基
氢	氢	氨基
二甲氨基	氢	乙氧基硫代羰基硫
氢	氢	酰氨基
重叠	氢	重氮
乙氧基硫代羰基硫	氢	氢
二甲氨基	氯	氨基
氨基	氯	氨基
酰氨基	氯	酰氨基
氢	氯	氨基
氨基	氯	氢
酰氨基	氯	氢
单烷基氨基	氯	氨基
硝基	氯	氨基
(CMT-801) 氢	氢	乙酰氨基/乙酰氨基
(CMT-802) 氢	氢	二甲氨基乙酰氨基
(CMT-803) 氢	氢	棕榈酰胺
(CMT-804) 氢	氢	硝基
(CMT-805) 氢	氢	氨基
(CMT-806) 氢	氢	二甲氨基



结构 H

其中各种情形中的 R7、R8 和 R9 具有如下含义：

R7	R8	R9
氨基	氢	氢
硝基	氢	氢
叠氮基	氢	氢
二甲氨基	氢	叠氮基
氢	氢	氨基
氢	氢	叠氮基
氢	氢	硝基
溴基	氢	氢
二甲氨基	氢	氨基
酰氨基	氢	氢
氢	氢	酰氨基
氨基	氢	硝基
氢	氢	(N,N-二甲基)甘氨酰氨基
氨基	氢	氨基
二甲氨基	氢	氢
氢	氢	乙氧基硫代羰基硫
二甲氨基	氢	甲氨基
二甲氨基	氢	酰氨基
二甲氨基	氯	氨基
氨基	氯	氨基
酰氨基	氯	酰氨基
氢	氯	氨基
氨基	氯	氢
酰氨基	氯	氢
单烷基氨基	氯	氨基
硝基	氯	氨基

用于本发明目的的其他 CMT 包括 4-去二甲氨基四环素 (CMT-1)、四环素腈 (CMT-2)、4-去二甲氨基氯四环素 (CMT-4)、4-去二甲氨基-4-羟基四环素 (CMT-6)、2a-去羟基-4-去二甲氨基四

环素 (CMT-7) 以及 1-脱氧-12a-去羟基-4-去二甲氨基四环素 (CMT-9)。

适用于本发明方法的普通和特异的四环素化合物的一些其他例子可以从专利 PCT/US01/16272 中找到。将所有这些普通和特异的化合物以引用的方式包含在本文中。

利用本领域已知的方法可以制出这些化学修饰的四环素。例如, 参考 Mitscher, L.A., *The Chemistry of the Tetracycline Antibiotics*, Marcel Dekker, New York (1978), Ch.6, 以及美国专利 4 704 383 和 5 532 227。

本发明也包括上面披露的化合物的药用盐。本发明包括本文描述的 4-去二甲氨基四环素化合物的盐, 包括酸加成盐和金属盐。这些盐通过熟知的方法制成。“药用盐”是指基本上对化合物毒性无贡献的盐。

一些适合的盐的实例包括碱性四环素化合物与无机酸例如盐酸、氢碘酸、氢溴酸、磷酸、偏磷酸、硝酸和硫酸的盐, 以及与有机酸例如酒石酸、乙酸、柠檬酸、羟基丁二酸、苯甲酸、乙醇酸、葡萄糖酸、古洛糖酸、琥珀酸、芳基磺酸 (例如对甲苯磺酸) 的盐等。碱性四环素化合物的适用盐的一些实例包括诸如氢氧化钠、氢氧化钾以及氢氧化铵的碱。

制备好后, 可以通过本领域已知的标准方法方便地提纯本发明的新化合物。一些适用的例子包括从适合溶剂的结晶或者分配柱色谱法。

用于本发明方法中的优选药用成分包括在适合的药用载体或赋形剂中的四环素化合物的组合, 这些药用载体或赋形剂是本领域技术人员所了解的。载体和赋形剂的例子包括淀粉、乳品、糖、一

些种类的粘土、明胶、硬脂酸或其盐、硬脂酸镁或硬脂酸钙、滑石、植物油脂或油、树胶以及二醇。

本发明的四环素化合物可以通过本领域已知的方法，通常是全身给药。全身给药可以是肠内或肠外给药。肠内给药是递送四环素的优选途径，且含有四环素化合物与适当的稀释剂、载体等的组合容易制备。可以使用液体或固体（例如药片、明胶胶囊）剂型。

可以利用雾化器或液体喷雾完成给药。在呼吸系统局部感染的情况下，优选的四环素递送途径是雾化。通过使用雾化器，四环素经过吸气而被直接摄入个体的呼吸系统。

本发明四环素化合物的肠外给药（例如静脉内、肌肉内、皮下注射）也可以考虑。可以使用本领域已知的传统稀释剂、载体等的剂型来递送该化合物。

如本领域中已知的，可以通过缓释将四环素化合物给予哺乳动物。缓释给药是在特定时间段内获得特定药物水平的药物递送方法。该水平通常利用血清浓度来测定。例如，通过在 24 小时内缓释可以给予 40 毫克强力霉素。

用于借助缓释递送四环素制剂的方法的进一步描述可以在转让给 CollaGenex Pharmaceuticals, Inc. 的 PCT 申请 WO 02/083106 中找到。PCT 申请 WO 02/083106 中的这类方法在此被全部引用作为参考。

四环素化合物的给药量为有效治疗哺乳动物主动脉狭窄的任何剂量。在具体情况中四环素化合物的实际优选量将根据所制备的具体组分、施药方式、以及被治疗的具体对象而变化。本领域的技术人员可以很容易地确定四环素化合物的适合剂量。

给予人的四环素化合物的最小量是可以提供有效治疗主动脉狭窄的最低量。有效治疗指可以部分或彻底消除与主动脉狭窄相关的病理特征。

用于哺乳动物的四环素的最大量是不引起不希望或无法忍受的副作用的最高量。本领域的技术人员很容易确定该剂量。

抗菌四环素的量是基本上没有抗菌活性的量，即，不会显著阻止细菌生长的量。例如，可以给予的具有显著抗菌活性的四环素化合物的量是该四环素化合物最小抗菌量的 10-80%。更优选地，给予抗菌四环素化合物的量是抗菌量的 40-70%。

例如可以通过日剂量或血清水平来测量所给予的四环素的量。根据稳态药物动力学，抗生四环素的非抗生日剂量的一些实例如下：对于强力霉素，每日 20 毫克，分两次给药；米诺环素，38 毫克，每日给药一、二、三或四次；四环素，60 毫克，每日给药一、二、三或四次；土霉素，每日给予 1000 毫克；地美环素，每日 600 毫克；以及赖甲环素，每日 600 毫克。

在优选的实施方式中，给予强力霉素的日用量为约 10 至约 60 毫克，优选 30 至 60 毫克，但是将人体血浆中的浓度保持在明显抗生效果的阈值之下。

在一个特别优选的实施方式中，以 20 毫克剂量每日两次给予盐酸强力霉素。宾夕法尼亚州新城镇的 *CollaGenex* 医药公司 (*CollaGenex Pharmaceuticals, Inc. of Newtown, Pennsylvania*) 以商标 *Periostat*® 销售这种制剂用于治疗牙周病。

本领域中抗生血清水平也是已知的。例如，将两片 100 毫克盐酸米诺环素的药片作为一次剂量给予成年人，导致内米诺环素血清

水平在一小时内从 $0.74 \mu\text{g/ml}$ 变到 $4.45 \mu\text{g/ml}$ 。平均水平是 $2.24 \mu\text{g/ml}$ 。

在24小时内每6小时给予250毫克盐酸四环素,产生约 $3 \mu\text{g/ml}$ 的最高血浆浓度。在24小时内每6小时给予500毫克盐酸四环素,产生 $4-5 \mu\text{g/ml}$ 的血清浓度水平。

通常,给予四环素化合物的量能导致血清浓度在约 0.1 到 $10.0 \mu\text{g/ml}$ 之间,更优选地,在 0.3 到 $5.0 \mu\text{g/ml}$ 之间。例如,非抗菌剂型的强力霉素是以导致血清浓度在 0.1 到 $0.8 \mu\text{g/ml}$ 之间,优选在 0.4 到 $0.7 \mu\text{g/ml}$ 之间的量给予。

使用非抗菌四环素化合物的量可以高于抗菌四环素的量,同时减少或避免不加选择的杀死细菌以及抗药性细菌的出现。例如,6-去甲基-6-脱氧-4-去二甲氨基四环素(CMT-3)可以以每天约10到约200毫克的剂量给予,或者其用量能导致人体中血清水平为大约 $1.0 \mu\text{g/ml}$ 至约 $10 \mu\text{g/ml}$ 。例如,每天给予大约10到20毫克的剂量,则在人体中产生的血清水平约为 $1.0 \mu\text{g/ml}$ 。

例如,可以将CMT全身性给予哺乳动物的最小量为每公斤每天约0.05毫克至每公斤每天约0.3毫克,最大量为每公斤每天约18毫克至每公斤每天约60毫克。从业人员可以以本领域的技术和知识为指导。本发明包括但不限于能有效地达到期望抗菌活性的剂量。

本发明的四环素能有效治疗需要其的哺乳动物的主动脉狭窄。上面讨论的主动脉狭窄是导致主动脉瓣变窄的渐进性疾病。

需要治疗主动脉狭窄的哺乳动物是患有主动脉狭窄的任何哺乳动物。例如,患有主动脉狭窄的哺乳动物可能具有与诸如血管发

生（不适当的血管生长）或细胞凋亡（循序性细胞死亡）的主动脉狭窄有关的病理特征。

可以从本发明的方法中受益的哺乳动物可以是任何哺乳动物。哺乳动物的种类包括，例如，人、家畜、驯养动物、实验动物等。家畜的一些例子包括奶牛、猪、马、山羊等。驯养动物的一些例子包括狗、猫等。实验动物的一些例子包括大鼠、小鼠、兔、豚鼠等。

实施例

下面的示范数据用来提供对本发明的进一步理解，但并不意味着以任何方式来限制本发明的有效范围。

已经进行了一些研究，以考察强力霉素和两种非抗生化学修饰的四环素(CMT-3 和 CMT-8)对主动脉狭窄的某些病理特征的效能，该主动脉狭窄包括基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 合成、血管生成以及细胞凋亡。

使用收集自四个外科手术移出的狭窄三尖瓣的组织进行研究。使用不同浓度的四环素(TC)、CMT-3、CMT-8 或溶剂孵育瓣膜组织样品，孵育了 10 天。

化验来自瓣膜组织样品的明胶酶 (MMP-2 和 MMP-9)。分析的条带 (analyzed band) 与使用 Bio-Rad DC 蛋白质分析试剂盒 (Bio-Rad, Hercules, CA) 测量的总蛋白质有关。

所有培养的瓣膜表达出与 MMP-2 和 MMP-9 潜在形式相一致的条带 (band)。当使用 30 μ M 的 CMT-3 时，MMP-9 的表达从第 6 天到培养结束时显著减少。当使用 30 μ M 的 CMT-8 时，也可以发现类似的效果，但只在 8 天后出现。30 μ M 四环素(TC)对 MMP-9 的合成具有抑制作用，但仅在培养末期出现。

进行比较时，CMT 似乎比四环素具有更显著的对 MMP-9 合成的影响。MMP-9 合成的最有效的抑制剂是 CMT-3。

在 $1\ \mu\text{M}$ 浓度下，MMP-9 的抑制效果只是在 CMT-3 和 CMT-9 中在培养末期能观察到。在 $1\ \mu\text{M}$ 时，TC 对 MMP-9 合成没有显著的抑制作用。