

[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 200480042221.X

[51] Int. Cl.

A61K 38/06 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 2 月 28 日

[11] 公开号 CN 1921876A

[22] 申请日 2004.12.27

[21] 申请号 200480042221.X

[30] 优先权

[32] 2003.12.30 [33] US [31] 10/750,005

[86] 国际申请 PCT/US2004/043660 2004.12.27

[87] 国际公布 WO2005/074903 英 2005.8.18

[85] 进入国家阶段日期 2006.8.30

[71] 申请人 赫伯特·T·长泽

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 赫伯特·T·长泽 J·F·科亨

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
代理人 刘 健 梁 谋

权利要求书 9 页 说明书 15 页 附图 4 页

[54] 发明名称

使用巯基保护的谷胱甘肽前药降低细胞氧化  
应激的方法

[57] 摘要

本发明涉及通过使细胞与巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药接触而降低细胞氧化应激,增加细胞的谷胱甘肽水平,增加细胞的 L-半胱氨酸浓度以及减少肝毒性的组合物和方法。

1. 降低个体细胞氧化应激的方法，包括将细胞与巯基保护的谷胱甘肽前药接触以降低细胞内氧化应激。
2. 权利要求 1 的方法，其中氧化应激由毒性物质、病原体、紫外线、衰老、躯体损伤和/或遗传疾病引起。
3. 权利要求 2 的方法，其中毒性物质是药物、酒精、金属离子、紫外线或辐射。
4. 权利要求 3 的方法，其中药物是对乙酰氨基酚，氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。
5. 权利要求 2 的方法，其中病原体是 HIV 和炭疽孢子。
6. 权利要求 1 的方法，其中降低氧化应激减少了由感染、心血管疾病、遗传疾病、躯体损伤、眼科疾病、癌症、炎症、神经性疾病、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、暴露于毒性物质、暴露于紫外线、暴露于辐射和/或谷胱甘肽水平降低所引起的损伤。
7. 权利要求 1 的方法，其中巯基保护的谷胱甘肽前药是 L-CySSG、GSSMA、GSSME、S-Ac-GSH-OEt、其衍生物或其可药用盐。
8. 权利要求 1 的方法，其中个体选自人、猴、狗、猫、奶牛、羊、马、兔、小鼠或大鼠。
9. 通过权利要求 1 的方法降低药物毒性来延长药物治疗的方法。
10. 通过权利要求 1 的方法降低药物毒性来增加药物治疗剂量的方法。
11. 减少个体细胞氧化应激的方法，包括将细胞与巯基保护的半胱氨酸前药接触以降低细胞内氧化应激，其中前药是 CySSMA。
12. 权利要求 11 的方法，其中氧化应激由毒性物质、病原体、紫外线、衰老、躯体损伤和/或遗传疾病引起。
13. 权利要求 12 的方法，其中毒性物质是药物、酒精、金属离子、紫外线或辐射。
14. 权利要求 13 的方法，其中药物是对乙酰氨基酚、氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。
15. 权利要求 12 的方法，其中病原体是 HIV 和炭疽孢子。

16. 权利要求 11 的方法，其中降低氧化应激减少了由感染、心血管疾病、遗传疾病、躯体损伤、眼科疾病、癌症、炎症、神经性疾病、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、暴露于毒性物质、暴露于紫外线、暴露于辐射和/或谷胱甘肽水平降低所引起的损伤。

17. 权利要求 11 的方法，其中个体选自人、猴、狗、猫、奶牛、羊、马、兔、小鼠或大鼠。

18. 通过权利要求 11 的方法降低药物毒性来延长药物治疗的方法。

19. 通过权利要求 11 的方法降低药物毒性来增加药物治疗剂量的方法。

20. 增加细胞内谷胱甘肽水平的方法，包括给个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药以增加细胞内谷胱甘肽水平。

21. 权利要求 20 的方法，其中增加细胞内谷胱甘肽水平减少了由感染、心血管疾病、遗传疾病、躯体损伤、眼科疾病、癌症、炎症、神经性疾病、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、暴露于毒性物质、暴露于紫外线、暴露于辐射和/或谷胱甘肽水平降低所引起的损伤。

22. 权利要求 20 的方法，其中巯基保护的谷胱甘肽前药是 L-CySSG, GSSMA, GSSME, S-Ac-GSH-OEt, 其衍生物或其可药用盐。

23. 权利要求 20 的方法，其中施用选自气溶胶、局部、静脉内、肌内、皮下途径、植入泵、持续输注和/或口服施用。

24. 权利要求 20 的方法，其中个体选自人、猴、狗、猫、奶牛、羊、马、兔、小鼠或大鼠。

25. 通过权利要求 20 的方法降低药物毒性来延长药物治疗的方法。

26. 通过权利要求 20 的方法降低药物毒性来增加药物治疗剂量的方法。

27. 增加细胞内谷胱甘肽水平的方法，包括给个体施用巯基保护的半胱氨酸前药以增加细胞内谷胱甘肽水平，其中前药是 CySSMA。

28. 权利要求 27 的方法，其中增加细胞内谷胱甘肽水平减少了由感染、心血管疾病、遗传疾病、躯体损伤、眼科疾病、癌症、炎症、

神经性疾病、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、暴露于毒性物质、暴露于紫外线、暴露于辐射和/或谷胱甘肽水平降低所引起的损伤。

29. 权利要求 27 的方法, 其中施用选自气溶胶、局部、静脉内、肌肉、皮下途径、植入泵、持续输注和/或口服施用。

30. 权利要求 27 的方法, 其中个体选自人、猴、狗、猫、奶牛、羊、马、兔、小鼠或大鼠。

31. 通过权利要求 27 的方法降低药物毒性来延长药物治疗的方法。

32. 通过权利要求 27 的方法降低药物毒性来增加药物治疗剂量的方法。

33. 增加细胞内 L-半胱氨酸浓度的方法, 包括给个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药以增加细胞内 L-半胱氨酸浓度。

34. 权利要求 33 的方法, 其中增加细胞内半胱氨酸浓度减少了由感染、心血管疾病、遗传疾病、躯体损伤、眼科疾病、癌症、炎症、神经性疾病、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、暴露于毒性物质、暴露于紫外线、暴露于辐射和/或谷胱甘肽水平降低所引起的损伤。

35. 权利要求 33 的方法, 其中巯基保护的谷胱甘肽前药是 L-CySSG, GSSMA, GSSME, S-Ac-GSH-OEt, 其衍生物或其可药用盐。

36. 权利要求 33 的方法, 其中施用选自气溶胶、局部、静脉内、肌肉、皮下途径、植入泵、持续输注和/或口服施用。

37. 权利要求 33 的方法, 其中个体选自人、猴、狗、猫、奶牛、羊、马、兔、小鼠或大鼠。

38. 通过权利要求 33 的方法降低药物毒性来延长药物治疗的方法。

39. 通过权利要求 33 的方法降低药物毒性来增加药物治疗剂量的方法。

40. 增加细胞内 L-半胱氨酸浓度的方法, 包括给个体施用巯基保护的半胱氨酸前药以增加细胞内 L-半胱氨酸浓度, 其中前药是 CySSMA。

41. 权利要求 40 的方法, 其中增加细胞内谷胱甘肽水平减少了由感染、心血管疾病、遗传疾病、躯体损伤、眼科疾病、癌症、炎症、

神经性疾病、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、暴露于毒性物质、暴露于紫外线、暴露于辐射和/或谷胱甘肽水平降低所引起的损伤。

42. 权利要求 40 的方法, 其中施用选自气溶胶、局部、静脉内、肌内、皮下途径、植入泵、持续输注和/或口服施用。

43. 权利要求 40 的方法, 其中个体选自人、猴、狗、猫、奶牛、羊、马、兔、小鼠或大鼠。

44. 通过权利要求 40 的方法降低药物毒性来延长药物治疗的方法。

45. 通过权利要求 40 的方法降低药物毒性来增加药物治疗剂量的方法。

46. 减少肝毒性的方法, 包括给个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药以减少肝毒性。

47. 权利要求 46 的方法, 其中巯基保护的谷胱甘肽前药是 L-CySSG, GSSMA, GSSME, S-Ac-GSH-OEt, 其衍生物或其可药用盐。

48. 权利要求 46 的方法, 其中施用选自气溶胶、局部、静脉内、肌内、皮下途径、植入泵、持续输注和/或口服施用。

49. 权利要求 46 的方法, 其中个体选自人、猴、狗、猫、奶牛、羊、马、兔、小鼠或大鼠。

50. 通过权利要求 46 的方法降低药物毒性来延长药物治疗的方法。

51. 通过权利要求 46 的方法降低药物毒性来增加药物治疗剂量的方法。

52. 减少肝毒性的方法, 包括给个体施用巯基保护的半胱氨酸前药以减少肝毒性, 其中前药是 CySSMA。

53. 权利要求 52 的方法, 其中施用选自气溶胶、局部、静脉内、肌内、皮下途径、植入泵、持续输注和/或口服施用。

54. 权利要求 52 的方法, 其中个体选自人、猴、狗、猫、奶牛、羊、马、兔、小鼠或大鼠。

55. 通过权利要求 52 的方法降低药物毒性来延长药物治疗的方法。

56. 通过权利要求 52 的方法降低药物毒性来增加药物治疗剂量

的方法。

57. 减少由对乙酰氨基酚引起的肝毒性的方法，包括给个体施用有效量的 L-CySSG。

58. 降低细胞内氧化应激的药物组合物，包括巯基保护的谷胱甘肽前药和可药用载体。

59. 权利要求 58 的药物组合物，其中巯基保护的谷胱甘肽前药是 L-CySSG、GSSMA、GSSME、S-Ac-GSH-OEt、其衍生物或其可药用盐。

60. 权利要求 58 的药物组合物，其中进一步包括引起细胞氧化应激的药剂。

61. 权利要求 59 的药物组合物，其中药剂是对乙酰氨基酚，酒精，氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。

62. 权利要求 58 的药物组合物，其中药学可接受的载体选自离子交换剂、矾土、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、磷酸盐缓冲溶液、水、乳液、盐或电解质、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、无菌溶液、片剂、赋形剂、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、风味剂和着色添加剂、脂类组合物和聚合组合物。

63. 降低细胞内氧化应激的药物组合物，包括巯基保护的半胱氨酸前药，其中半胱氨酸前药是 CySSMA 和可药用载体。

64. 权利要求 63 的药物组合物，其中进一步包括引起细胞氧化应激的药剂。

65. 权利要求 63 的药物组合物，其中药剂是对乙酰氨基酚，酒精，氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。

66. 权利要求 58 的药物组合物，其中药学可接受的载体选自离子交换剂、矾土、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、磷酸盐缓冲溶液、水、乳液、盐或电解质、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、无菌溶液、片剂、赋形剂、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、风味剂和着色添加剂、脂类组合物和聚合组合物。

67. 增加细胞内谷胱甘肽水平的药物组合物, 包括巯基保护的谷胱甘肽前药和可药用载体。

68. 权利要求 67 的药物组合物, 其中巯基保护的谷胱甘肽前药是 L-CySSG、GSSMA、GSSME、S-Ac-GSH-OEt、其衍生物或其可药用盐。

69. 权利要求 67 的药物组合物, 其中进一步包括引起细胞氧化应激的药剂。

70. 权利要求 69 的药物组合物, 其中药剂是对乙酰氨基酚, 酒精, 氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。

71. 权利要求 67 的药物组合物, 其中药学可接受的载体选自离子交换剂、矾土、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、磷酸盐缓冲溶液、水、乳液、盐或电解质、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、无菌溶液、片剂、赋形剂、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、风味剂和着色添加剂、脂类组合物和聚合组合物。

72. 增加细胞内谷胱甘肽水平的药物组合物, 包括巯基保护的半胱氨酸前药, 其中半胱氨酸前药是 CySSMA, 和可药用载体。

73. 权利要求 72 的药物组合物, 其中进一步包括引起细胞氧化应激的药剂。

74. 权利要求 73 的药物组合物, 其中药剂是对乙酰氨基酚、酒精、氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。

75. 权利要求 72 的药物组合物, 其中药学可接受的载体选自离子交换剂、矾土、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、磷酸盐缓冲溶液、水、乳液、盐或电解质、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、无菌溶液、片剂、赋形剂、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、风味剂和着色添加剂、脂类组合物和聚合组合物。

76. 增加细胞内 L-半胱氨酸浓度的药物组合物, 包括巯基保护的谷胱甘肽前药和可药用载体。

77. 权利要求 76 的药物组合物, 其中巯基保护的谷胱甘肽前药

是 L-CySSG、GSSMA、GSSME、S-Ac-GSH-Oet、其衍生物或其可药用盐。

78. 权利要求 76 的药物组合物，其中进一步包括引起细胞氧化应激的药剂。

79. 权利要求 78 的药物组合物，其中药剂是对乙酰氨基酚，酒精，氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。

80. 权利要求 76 的药物组合物，其中药学可接受的载体选自离子交换剂、矾土、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、磷酸盐缓冲溶液、水、乳液、盐或电解质、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、无菌溶液、片剂、赋形剂、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、风味剂和着色添加剂、脂类组合物和聚合组合物。

81. 增加细胞内 L-半胱氨酸浓度的药物组合物，包括巯基保护的半胱氨酸前药，其中半胱氨酸前药是 CySSMA 和可药用载体。

82. 权利要求 81 的药物组合物，其中进一步包括引起细胞氧化应激的药剂。

83. 权利要求 82 的药物组合物，其中药剂是对乙酰氨基酚、酒精、氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。

84. 权利要求 81 的药物组合物，其中药学可接受的载体选自离子交换剂、矾土、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、磷酸盐缓冲溶液、水、乳液、盐或电解质、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、无菌溶液、片剂、赋形剂、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、风味剂和着色添加剂、脂类组合物和聚合组合物。

85. 减少肝毒性的药物组合物，包括巯基保护的谷胱甘肽前药和可药用载体。

86. 权利要求 85 的药物组合物，其中巯基保护的谷胱甘肽前药是 L-CySSG、GSSMA、GSSME、S-Ac-GSH-OEt、其衍生物或其可药用盐。

87. 权利要求 85 的药物组合物，其中进一步包括引起细胞氧化

应激的药剂。

88. 权利要求 87 的药物组合物，其中药剂是对乙酰氨基酚、酒精、氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。

89. 权利要求 85 的药物组合物，其中药学可接受的载体选自离子交换剂、矾土、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、磷酸盐缓冲溶液、水、乳液、盐或电解质、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、无菌溶液、片剂、赋形剂、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、风味剂和着色添加剂、脂类组合物和聚合组合物。

90. 减少肝毒性的药物组合物，包括巯基保护的半胱氨酸前药，其中半胱氨酸前药是 CySSMA，和可药用载体。

91. 权利要求 90 的药物组合物，其中进一步包括引起细胞氧化应激的药剂。

92. 权利要求 91 的药物组合物，其中药剂是对乙酰氨基酚，酒精，氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。

93. 权利要求 90 的药物组合物，其中药学可接受的载体选自离子交换剂、矾土、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白例如人血清白蛋白、缓冲物质、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、磷酸盐缓冲溶液、水、乳液、盐或电解质、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、无菌溶液、片剂、赋形剂、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、风味剂和着色添加剂、脂类组合物和聚合组合物。

94. 降低细胞氧化应激的体外方法，包括将细胞与巯基保护的谷胱甘肽前药接触以降低细胞内氧化应激。

95. 权利要求 94 的方法，其中巯基保护的谷胱甘肽前药是 L-CySSG、GSSMA、GSSME、S-Ac-GSH-OEt、其衍生物或其可药用盐。

96. 降低细胞氧化应激的体外方法，包括将细胞与巯基保护的半胱氨酸前药接触以降低细胞内氧化应激。

97. 权利要求 96 的方法，其中巯基保护的半胱氨酸前药是 L-、D-或 DL-CySSMA。

98. 权利要求 11 的方法，其中 CySSMA 是 L-CySSMA、D-CySSMA 或 DL-CySSMA。

99. 权利要求 27 的方法，其中 CySSMA 是 L-CySSMA、D-CySSMA 或 DL-CySSMA。

100. 权利要求 40 的方法，其中 CySSMA 是 L-CySSMA、D-CySSMA 或 DL-CySSMA。

101. 权利要求 52 的方法，其中 CySSMA 是 L-CySSMA、D-CySSMA 或 DL-CySSMA。

102. 权利要求 72 的方法，其中 CySSMA 是 L-CySSMA、D-CySSMA 或 DL-CySSMA。

103. 权利要求 81 的方法，其中 CySSMA 是 L-CySSMA、D-CySSMA 或 DL-CySSMA。

104. 权利要求 90 的方法，其中 CySSMA 是 L-CySSMA、D-CySSMA 或 DL-CySSMA。

## 使用巯基保护的谷胱甘肽前药降低细胞氧化应激的方法

本申请要求 2003 年 12 月 30 日提交的美国申请第 10/750,005 号的优先权，因此将其完整引入本申请作为参考。

本申请自始至终参考了不同的出版物。将这些出版物的公开内容完整引入本申请作为参考以便更充分地描述本发明涉及的技术的状态。本发明描述了各种具体的和优选的实施方案和技术。然而，应该理解在本发明的精神和范围内能够进行很多变化和修改。

此处描述的本发明以由退伍军人事务部授予 Herbert Tsukasa Nagasawa 博士的以 Merit Review 资助的名为“Application of Medical Chemistry to Alcoholic Liver disease”的研究计划得到美国政府的资助。本发明还部分得到由国立卫生研究院授予的合同号 DA 07234 的资助。美国政府拥有本发明的一定权利。

### 发明背景

药物诱导的肝毒性是新药从市场收回的一个主要原因。它还甚至在临床试验前就限制了有前景的治疗剂的进一步研究。非处方药物也容易发生肝毒性；例如，扑热息痛（ACP），一种广泛使用的（并且是滥用额）镇痛/解热药，当以大剂量短期服用，或以比推荐剂量更高的剂量长期服用时可能导致肝脏和肾脏损伤。虽然当与药物的化学结构和其可能的代谢活化通道相联系时，个体肝细胞色素 P-450 同工酶系的遗传药理学曲线有希望成为排除易受药物暴露影响的个体的手段，但是对于治疗性的介入或预防方法的概念还没有引起很多注意，尽管保护肝脏免受过量 ACP 损害的常规临床选择是在过量 8 小时之内静脉施用 N-乙酰基-L-半胱氨酸（NAC）（1）。NAC，在肝脏脱乙酰后（2）可提供 L-半胱氨酸，其是谷胱甘肽（GSH）生物合成的第一步限速反应中所需要的巯基氨基酸（3）。GSH 是肌体对抗内源性产生的反应性氧化组分以及反应性组分例如在 ACP 代谢中产生的 NAPQI 的天然防御物。

根据实验，对小鼠施用高剂量的 ACP 导致了爆发性肝坏死，这可通过血清转氨酶浓度数量的提高和最终导致死亡的小叶中心坏死的

组织学证据来证明。施用 L-半胱氨酸的前药 NAC 或其它经巯基修饰的半胱氨酸前药后可有效地保护小鼠对抗 ACP 诱导的肝毒性的损害 (5, 6, 7)。

使用  $^{14}\text{C}$ -甘氨酸/HPLC 测定法对大鼠晶状体中半胱氨酸前药的半胱氨酰基部分与 GSH 结合的程度进行测定 (8), 在 GSH 附近发现了似乎是由代谢产生的放射峰。将该物质试验性地定为 L-胱氨酸与 GSH 混合的二硫化物, 即 L-半胱氨酸-GSH 二硫化物 (CySSG)。经由 GSH 和 L-胱氨酸之间的硫醇-二硫化物交换反应 (9), 以及可通过 L-半胱氨酸与 GSSG (GSH 的氧化形式) 的反应内源性地产生 CySSG。在大鼠的肝脏和肾脏样品中检测到少量的 CySSG, 假定为 L-半胱氨酸的贮藏方式 (10), 但是在大鼠和人的血浆中, 其存在的量与 GSH、半胱氨酸和胱氨酸的量相当 (11, 12)。

除了 GSH 的单酯 (在甘氨酰部分) 和二乙酯外, 并没有对 GSH 前药 (13) 作为对抗异物诱导的肝毒性的防护剂进行过系统性的研究。

目前, 需要治疗细胞氧化应激以及增加细胞内谷胱甘肽和 L-胱氨酸浓度的药剂。此类药剂将还用于治疗与施用其它治疗剂有关的肝毒性。

### 发明概述

巯基保护的谷胱甘肽前药 (图 2) 例如 L-CySSG, GSSMA, GSSME 和乙酰谷胱甘肽乙酯 (S-Ac-GSH-OEt) 以及巯基 (sulfhydryl) 保护的半胱氨酸前药例如 CySSMA (图 2) 或 CySSME (参见下文) 是谷胱甘肽和/或半胱氨酸的前体。在细胞内, 上述前药分解释放出谷胱甘肽和/或半胱氨酸分子。

使用最近研究出的小鼠模型对巯基保护的谷胱甘肽前药和巯基保护的半胱氨酸前药对抗 ACP 诱导的肝毒性的保护效果进行了试验 (14, 15)。

在该模型中发现 L-CySSG 是高效的肝脏保护剂, 甚至超过了谷胱甘肽单乙酯 (GSH-OEt) (16) 和半胱氨酸前药, L-CySSME[S-(2-羟基甲基巯基)-L-半胱氨酸] 的活性 (14)。这些结果表明 L-CySSG 可普遍的应用于治疗细胞氧化应激。

另外, 在小鼠模型中将化合物例如 GSSMA, GSSME, CySSMA

和 S-乙酰谷胱甘肽乙酯 (S-Ac-GSH-OEt) 用于治疗氧化应激 (图 1, 3 和 4)。因此, 本发明提供了调节细胞氧化应激, 肝毒性, 细胞内谷胱甘肽和/或 L-半胱氨酸浓度的组合物和方法, 包括用有效量的巯基保护的谷胱甘肽前药例如 L-CySSG, GSSMA, GSSME 和 S-Ac-GSHOEt 及其衍生物或其可药用盐, 或巯基保护的半胱氨酸前药及其衍生物或其可药用盐的与细胞接触。

本发明还提供了用于调节氧化应激, 肝毒性, 细胞内谷胱甘肽和/或 L-半胱氨酸浓度的包括巯基保护的谷胱甘肽前药例如 L-CySSG、GSSMA、GSSME 和 S-Ac-GSH-OEt 及其衍生物或其可药用盐的药物组合物。另外, 本发明提供了用于调节氧化应激, 肝毒性, 细胞内谷胱甘肽和/或 L-半胱氨酸浓度的包括巯基保护的半胱氨酸前药例如 CySSMA (L-CySSMA、D-CySSMA 或 DL-CySSMA) 及其衍生物或其可药用盐的药物组合物。

#### 附图简述

图 1:表示使用试验方案 4'B CySSG 对在小鼠中 ACP 诱导的肝毒性的保护作用 (仅对于 CySSME, 试验方案 3'B)。

图 2:表示巯基保护的谷胱甘肽和半胱氨酸前药结构 (关于其制备) 以及 CySSG 和 GSSMA 衍生物的结构。

图 3:表示根据四种不同的试验方案 GSSMA 和 L-CySSMA 对在小鼠中 ACP 诱导的肝毒性的保护作用。将不同试验方案的 ACP 数据和载体对照的数据组合。

图 4:表示在小鼠中巯基保护的半胱氨酸和谷胱甘肽前药对 ACP 诱导肝的毒性的保护效果的比较。

#### 发明详述

本发明提供了通过将细胞与巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药接触调节 (如降低) 细胞内氧化应激的组合物和方法。在一个实施方案中, 氧化应激可由谷胱甘肽细胞内浓度的下降或减少所引起。巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药可以调节 (例如, 增加) 细胞内谷胱甘肽和/或半胱氨酸的浓度, 因此减少了细胞内的氧化应激。

巯基保护的谷胱甘肽前药实例包括但不限于 L-CySSG, GSSMA, GSSME, 乙酰谷胱甘肽乙酯 (S-Ac-GSH-OEt) 及其衍生物。

如此处所用, 术语巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药包括任何外消旋的, 光学活性的, 多晶型的, 或立体异构形式的前药, 或其混合物, 本领域已知如何制备其光学活性形式 (例如, 通过重结晶技术将外消旋体拆分, 通过由光学活性起始物料合成, 通过手性合成或通过使用手性固定相进行色谱分离)。提及 D-CySSMA 是指具有与 D-半胱氨酸相同绝对构型的对映异构体, 而提及 L-CySSMA 是指具有与 L-半胱氨酸相同绝对构型的对映异构体。与发现缺乏显著活性的 D-CySSG (本文所讨论的) 相反, D-CySSMA 可用于预防细胞氧化应激。

提及 L-CySSG 是指具有与分子中半胱氨酸部分的 L-半胱氨酸相同绝对构型的对映异构体。然而, 根据本发明将会意识到能够使用或施用包括 L-CySSG 的外消旋或 scalemic 混合物以提供 L-CySSG。在一个实施方案中, 以光学富集地具有与 L-半胱氨酸相同绝对构型的对映异构体的混合物的形式使用或施用 L-CySSG。优选地, 以具有超过至少约 90%, 95% 或 98% 的具有与 L-半胱氨酸相同绝对构型的对映异构体的混合物的形式施用 L-CySSG。更优选地, 以具有超过至少约 99% 的具有与 L-半胱氨酸相同绝对构型的对映异构体的混合物的形式施用 L-CySSG。

如果前药的碱性或酸性足够强至形成稳定无毒的酸或碱盐, 则施用盐形式的前药是适合的。可药用盐的实例是与形成生理学可接受的阴离子的酸形成的有机酸的加成盐, 例如, 甲苯磺酸盐, 甲磺酸盐, 醋酸盐, 柠檬酸盐, 丙二酸盐, 酒石酸盐, 琥珀酸盐, 苯甲酸盐, 抗坏血酸盐, 酮戊二酸盐, 和  $\alpha$ -甘油磷酸盐。还可以形成适宜的无机盐, 包括盐酸盐, 硫酸盐, 硝酸盐, 重碳酸盐, 和碳酸盐。

可药用盐可使用本领域众所周知的常规方法获得, 例如通过将碱性足够强的化合物如胺与适宜的提供生理学可接受的阴离子的酸反应。还可以制备碱金属 (例如, 钠, 钾或锂) 或碱土金属 (例如钙) 的羧酸盐。

本发明还提供了通过将细胞与巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保

护的半胱氨酸前药接触以增加细胞内谷胱甘肽和/或半胱氨酸浓度来调节（例如，增加）细胞内谷胱甘肽和/或半胱氨酸浓度的组合物和方法。例如，对个体施用巯基保护的谷胱甘肽或半胱氨酸前药后，前药分解并释放出能随后与个体细胞接触的谷胱甘肽和/或 L-半胱氨酸。

本发明提供了通过降低个体细胞内氧化应激来调节（例如降低）个体肝毒性的组合物和方法。在一个实施方案中，通过对个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药减少了肝毒性。巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药可以增加细胞内的谷胱甘肽和/或半胱氨酸浓度，因此减少了个体的肝毒性。

本发明还提供了通过降低药物毒性来延长药物治疗的组合物和方法，包括对个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药。另外，本发明提供了通过降低药物毒性来增加治疗剂量的方法，包括对个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药。

本发明还提供了通过将上述细胞与巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药接触来调节氧化应激，肝毒性，细胞内谷胱甘肽水平和 L-半胱氨酸浓度的组合物和方法。

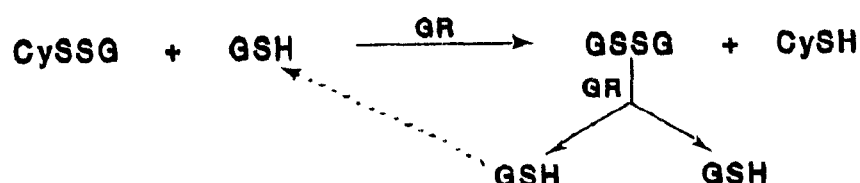
氧化应激可由很多因素引起包括但不限于，毒性物质，病原体，紫外线，衰老，躯体损伤和/或遗传疾病。在一个实施方案中，毒性物质是药物，酒精，金属离子，紫外线或辐射。在另一个实施方案中，药物是对乙酰氨基酚，氨基糖苷类抗生素或化学治疗药物。在另一个实施方案中，病原体是 HIV 或炭疽孢子。

在一个实施方案中，降低氧化应激减少了由衰老，阿尔茨海默氏病，帕金森疾病，感染（如病毒感染例如 HIV，疱疹病毒，狂犬病病毒，肝炎病毒引起的感染，或细菌感染如由炭疽杆菌引起的感染，引起炭疽的原因），心血管疾病（如充血性心力衰竭，一氧化氮利用不足引起的血管收缩，动脉粥样硬化），遗传疾病（如囊性纤维化），躯体损伤（如局部缺血的再灌注损伤），眼科疾病（如白内障，黄斑变性），癌症（如乳癌，黑素瘤），炎症（如节段性回肠炎，溃疡性结肠炎（克罗恩疾病）），神经性疾病（例如感觉神经性听力损失），急性呼吸窘迫综合征（ARDS），肺气肿，暴露于毒性物质（例如酒精，对乙酰氨基酚，茶，氨基糖苷类抗生素（如庆大霉素，卡那霉素），化

学治疗药物, 金属离子, 儿茶酚胺), 暴露于自由基, 暴露于紫外线 (例如白内障), 暴露于辐射和/或谷胱甘肽水平的降低所引起的损害。本发明巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药还可用于治疗其它与氧化应激相关病症, 包括在美国专利第 6,423,687, 6,204,248, 和 6,159,500 号中记载的那些, 以及感觉神经性听力损失 (SNHL) (U.S.专利号 6,177,434)。

如图 1 所示, 当巯基保护的谷胱甘肽前药例如 L-CySSG 作为肝脏保护剂应用时, ACP 处理的小鼠的血浆丙氨酸转氨酶 (ALT) 浓度与载体对照动物的血浆丙氨酸转氨酶浓度在 99%置信水平无差异。与此相反, 当巯基保护的谷胱甘肽前药例如由 D-半胱氨酸以与 L-CySSG 相同的方法制备的 D-CySSG (12) 不是肝脏保护剂时, ALT 浓度在统计学上在 95%置信水平下与单独使用 ACP (没有进行药物治疗) 时的水平相似。可以容易地通过对图 1 的数据直观观察来比较巯基保护的谷胱甘肽前药例如 L-CySSG, 巯基保护的半胱氨酸前药例如 CySSME 和没有巯基防护的谷胱甘肽前药例如 GSH-OEt (16) 的相对肝脏保护性能。

与缺乏肝脏保护作用的 D-CySSG 相比, L-CySSG 保护小鼠抵抗 ACP 毒性的显著效力间接表明由 L-CySSG 酶促释放 GSH。这可能是酶直接还原二硫键的结果, 或是通过肝谷胱甘肽还原酶 (GR) 催化的 GSH-依赖性硫醇-二硫化物 (thiol-disulfide) 与 CySSG 交换反应的结果 (17), 即,



在任一情况中, 结果均是二硫键全部还原导致网状细胞内 GSH 以及 L-半胱氨酸的释放。因此, 巯基保护的谷胱甘肽前药例如 CySSG 不仅其自身可提供 GSH, 而且还可为新生 GSH 的生物合成提供关键的氨基酸 L-半胱氨酸。

在一个实施方案中, 巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药的重要结构特征是这些前药的反应性巯基得到二硫键的保

护。例如在 CySSG 中，GSH 和半胱氨酸部分的反应性巯基被二硫键所掩蔽。与 GSH 或其具有易于氧化的游离-SH 基的羧基酯不同，巯基保护的谷胱甘肽前药例如 CySSG 是稳定的 (9, 17)，并且可用作预防剂以防止或抑制由联合施用具有潜在的肝毒性药物或由具有潜在的肝毒性药物的联合制剂引起的肝毒性。并且由于巯基保护的谷胱甘肽前药 CySSG 是普遍存在的细胞内源性产物现在被证明是 GSH 的前药，其单独作为饮食补充剂或作为饮食补充剂与其它已知的营养物混合使用有利于保持 GSH 的体内平衡和细胞的抗氧化剂浓度。在一个实施方案中，巯基保护的谷胱甘肽前药例如 L-CySSG，GSSMA，GSSME，S-Ac-GSH-OEt 及其衍生物，是谷胱甘肽和/或半胱氨酸的前体。在另一个实施方案中，巯基保护的半胱氨酸前药例如 CySSMA (图 2) 及其衍生物，是半胱氨酸和/或谷胱甘肽的前体。

根据本发明，巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药例如 CySSG，以及 GSSMA，GSSME，CySSMA 和 S-Ac-GSH-OEt 可用于治疗酒精性肝病，AIDS，白内障，囊性纤维化，局部缺血再灌注损伤和急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 以及其它适应症中明显已知由 GSH 缺失所引起的细胞氧化应激。

在本发明的一个实施方案中，可给经受诱导的毒性 (如对乙酰氨基酚，酒) 的药物或物质的个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药 L-CySSG。在本发明的另一个实施方案中，在诱导毒性的药物或物质诱导之前或诱导过程中给个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药 L-CySSG，通过施用 L-CySSG 减少或预防药物或物质诱导的毒性。

在本发明的另一个实施方案中，给个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药，因此减少或预防了肝毒性。

在本发明的另一个实施方案中，给个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药 L-CySSG，由此减少或预防由毒性剂如酒精，肝毒性药物诱导的肝脏硬化或坏死。

如此处所用，“氧化应激”指由细胞或系统的代谢过程或由对于细胞或系统的试剂诱导的对细胞或系统的有害作用。氧化应激的原因可以包括但不限于以下的因素或原因：谷胱甘肽缺失，毒性物质如药物，金属或酒精，病原体，紫外线，辐射，自由基，衰老，躯体损伤和/或遗传疾病。

如此处所用,“肝毒性”指试剂(如毒性物质,自由基,病原体),暴露(例如辐射)或其它原因(例如遗传疾病,躯体损伤)导致肝脏损伤的容量或能力。

如此处所用,“前药”指通过身体,器官或细胞的代谢过程转化,从而释放出药理学活性形式的化合物。

如此处所用,术语“治疗”或“治疗中”指在个体如人中对病理情况进行的任何治疗,包括:预防病理情况的发生,如在个体中进行的预防性治疗;抑制病理情况的进程;缓解或使病理情况消退;缓解由病理情况介导的病症。个体包括但不局限于人,猴,狗,猫,奶牛,羊,马,兔,小鼠或大鼠。

本发明的巯基保护的谷胱甘肽前药或巯基保护的半胱氨酸前药可以与可接受的载体一起配制成药物组合物,载体是离子交换剂,矾土,硬脂酸铝,卵磷脂,血清蛋白例如人血清白蛋白,缓冲物质,甘氨酸,山梨酸,山梨酸钾,饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物,磷酸盐缓冲溶液,水,乳液,盐或电解质,胶体二氧化硅,三硅酸镁,聚乙烯吡咯烷酮,基于纤维素的物质,聚乙二醇,无菌溶液,片剂,赋形剂,蔗糖,葡萄糖,麦芽糖,风味剂和着色添加剂,脂类组合物和/或聚合物组合物。

本发明的前药可以配制成药物组合物,并且可以以适合于所选择的施用途径的各种形式即气溶胶,口服或肠胃外,静脉内,肌内,局部或皮下途径的植入泵,持续输注和/或口服给个体,例如人个体施用。

可将本发明的前药配制成进一步包括引起细胞氧化应激的药剂的药物组合物,其中该药剂是对乙酰氨基酚,酒精,氨基糖苷类抗生素(例如庆大霉素,卡那霉素)或化学治疗药。

因此,本发明的前药可以以例如气溶胶全身施用或与可药用载体例如惰性稀释剂或可吸收的适合食用的载体组合口服施用。可将它们装入硬质或软胶囊中或为脂质体,可将其压制成片剂,或可直接与患者饮食中的食物混合。对于口服治疗施用,可将该活性化合物与一种或多种赋形剂组合,可以以可吞咽的片剂,口含片,糖锭,胶囊,酏剂,混悬剂,糖浆,干胶片等形式使用。此类组合物和制剂含有至少0.1%的活性化合物。当然,组合物和制剂的百分比是可以改变的,并且可以适当地在特定的单元剂量形式的重量的约2至约60%之间变

化。在此类治疗有益的组合物中的活性化合物的量是这样的以致于可获得有效的剂量水平。

片剂，糖锭，丸剂，胶囊等还可以包含以下物质：粘合剂例如西黄蓍胶，阿拉伯胶，玉米淀粉或明胶；赋形剂例如磷酸二钙；崩解剂例如玉米淀粉，马铃薯淀粉，海藻酸等；润滑剂例如硬脂酸镁；甜味剂例如蔗糖，果糖，乳糖或阿斯帕坦或风味剂例如冬绿树的薄荷油，或可加入樱桃香精。当单元剂量形式为胶囊时，除以上类型的材料外它还可以含有液体载体，例如植物油或聚乙二醇。不同的其它材料可以作为包衣或以其他方式改进固体单元剂量形式的外观。例如片剂，丸剂或胶囊可以用明胶，蜡，虫胶或糖等包衣。糖浆或酏剂可以含有活性化合物，作为甜味剂的蔗糖或果糖，作为防腐剂的尼泊金甲酯和尼泊金丙酯，色素和风味剂例如樱桃或桔子香精。当然，在制备任何单元剂量形式中使用的任何材料应该是可药用并且在所使用的量基本无毒。另外，可将该活性化合物混入缓释制剂和装置中。

该活性化合物还可以通过输注或注射经静脉内或腹腔内施用。可以在水中制备活性化合物或其盐的溶液，任选地与无毒的表面活性剂混合。还可以在甘油，液体聚乙二醇，三醋酸甘油酯，及其混合物和油中制备分散体。在常规的贮藏和使用条件下，这些制剂含有防止微生物增长的防腐剂。

适于注射或输注的药物剂型可以包括无菌水溶液或分散体或适于临时制备无菌注射液或适合输注的溶液或分散体的包括活性成分的无菌粉末，任选地包封于脂质体中。在任何情况下，最终的剂型应该是无菌的液体并在制备和贮藏条件下稳定。液体载体或赋形剂可以是溶剂或液体分散介质，例如包括水，乙醇，多元醇（例如甘油，丙二醇，液体聚乙二醇等），植物油，无毒的甘油酯及其适宜的混合物。适宜的流动性是可以保持的，例如，通过形成脂质体，在分散体的情况下通过维持所需粒子的大小或通过使用表面活性剂。预防微生物的作用可以通过不同的抗菌和抗真菌剂完成，例如，尼泊金类，三氯叔丁醇，苯酚，山梨酸，硫柳汞等等。在很多情况中，优先包括等渗剂，例如，糖，缓冲剂或氯化钠。延长可注射组合物的吸收可以通过在组合物中使用延迟吸收剂例如，单硬脂酸铝和明胶来完成。

无菌注射溶液通过将适宜溶剂中的所需数量的活性化合物与以

上列举的其他成分混合来制备，根据需要，随后过滤灭菌。在制备用于无菌注射溶液的无菌粉末时，优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术，其得到活性成分和在前述无菌滤过溶液中存在的任何附加成分的粉末。

本发明组合物可在暴露于引起细胞氧化应激的药剂（例如，对乙酰氨基酚）之前，之中或之后施用。本发明的组合物可以单独施用或与本发明的其它组合物组合施用。进一步地，本发明的组合物可以与其它药物组合物顺序或同时施用。

所使用的化合物剂量可以通过比较它们的体外活性，以及在动物模型中的体内活性来确定。由小鼠及其他动物的有效剂量外推到人的有效剂量的方法在本领域是公知的；例如，参见美国专利第 4,938,949 号。在治疗中需要使用的化合物，或其活性盐或其衍生物的量，不仅随所选择的特定的盐而变，而且也随施用途径，所治疗病症的性质以及患者的年龄而变，并且最终将由助理医师或临床医师决定。

在本发明的一个实施方案中，以包括例如个体体重的 0.2 至 2.5mmol/kg 的有效量给个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药 L-CySSG。在另一个实施方案中，以每天 50-500 毫克的有效量给个体施用巯基保护的谷胱甘肽前药。

巯基保护的谷胱甘肽或半胱氨酸化合物 CySSG，GSSMA，GSSME，CySSMA 和 S-Ac-GSH-OEt 可以使用合成化学领域已知的常规技术由容易获得的起始原料来制备，例如参见：W.A.Kleinman 和 J.R.Richie, *Biochem.Pharmacol.*, 2000, 60, 19-29; T.W.Hart, M.S.Vine 和 N.R.Walden, *Tetrahedron Lett.*, 1985, 26:3879-3882; S.Sato, R.Sakai 和 M.Kodama, *Bioorg.Med.Chem.Lett.* 2000, 10, 1787-1789; D.A.Keine 等, *J.Org.Chem.*, 1992, 57, 123-127; J.W.Purdue, *Con.J.Chem.*, 1971, 49, 725-730; 和 WO 92/00320。

以下所列实施例用于阐述本发明，帮助普通技术人员制备和使用同样的组合物。这些实例并不打算以任何方式限制本发明的范围。

### 实施例 1

#### 方法

巯基保护的谷胱甘肽前药，巯基保护的半胱氨酸前药及其衍生物

如图 2 所示。

给 24-34g 的雄性 Swiss-Webster 小鼠施用 ACP[360mg (或 2.45mmol)/kg, i.p.]。

在试验方案 4'B 中, 在施用 ACP 前 60min 先施用起始剂量 (1.25mmole/kg, i.p.) 的前药, 随后在施用 ACP 后 30min 施用后续剂量 (2.50mmol/kg) 的前药。

在试验方案 3'B 中, 施用 ACP 前和施用 ACP 后的剂量相反。

在试验方案 1 中, 在施用 ACP 后 30min 施用单一剂量的药物。

试验方案 1 和 3'B 相同, 除了没有调整注射溶液的 pH 外。在 B 系列中, 注射溶液的 pH 使用稀的 NaOH 或 HCl 水溶液调节至中性。

在施用 ACP 24 小时后将动物 (存活率如图 1, 3 和 4 所示) 处死用于血浆 ALT 水平的测量。当作 log 变换的治疗组的 ALT 浓度的 99% (阴影线部分) 或 95% (没有阴影线的部分) 的置信水平与载体对照动物组的相应置信水平重叠时, 认为小鼠得到充分地保护 (14)。

## 结果

如图 1 所示, 当巯基保护的谷胱甘肽前药例如 L-CySSG 作为肝脏保护剂应用时, ACP 处理的小鼠额血浆丙氨酸转氨酶 (ALT) 浓度与载体对照动物的血浆丙氨酸转氨酶水平在 99% 置信水平相似。与此相反, 由于巯基保护的谷胱甘肽前药例如由 D-半胱氨酸以与 L-CySSG 相同的方法制备的 D-CySSG (12) 不是肝脏保护剂, 显示 ALT 浓度与单独使用 ACP 而没有进行药物治疗的 ALT 的浓度相当图 1 还说明了 L-CySSG (巯基保护的谷胱甘肽前药), CySSME (巯基保护的半胱氨酸前药) 和 GSH-OEt (没有巯基保护的谷胱甘肽前药) (16) 的相对肝脏保护性能。

如图 3 所示, 在不同的试验方案中试验了巯基保护的谷胱甘肽前药 GSSMA 和巯基保护的半胱氨酸前药 L-CySSMA 的相对作用。当与载体对照相比时, 在试验方案 4'B 的小鼠中, 前药诱导了可比较的对抗 ACP 处理的保护作用。当在试验方案 3'B 中使用前药时, 前药也能在 ACP 处理的小鼠中诱导非常有效的保护作用

图 4 显示不同的巯基保护谷胱甘肽或半胱氨酸前药在 ACP 处理的小鼠中的相对肝脏保护性能。L-形式的前药比 D-形式的前药表现出更强的保护作用。

### 引用文献

1. Prescott LF, Illingworth RN, Critchley JAJH, Stewart MJ, Adam RD, Proudfoot AT. 静脉注射 N-乙酰半胱氨酸: 扑热息痛中毒的治疗选择. *Br.Med.J.* 1979; 2:1097-1100.
2. Chasseaud LF. 酶催化的 N-乙酰半胱氨酸脱乙酰后与亲电子试剂的反应. *Biochem. Pharmacol.* 1974; 23:1133-1134.
3. Vina J, Reginald H, Krebs HA. 分离的肝细胞中谷胱甘肽含量的维持. *Biochem.J.* 1978; 170:627-630.
4. Bessems JGM, Vermeulen NPE. 扑热息痛 (对乙酰氨基酚) - 诱导的毒性: 分子和生化机制, 类似物和保护途径. *Crit.Rev.Toxicol.* 2001; 31:55-138.
5. Williamson JM, Boettcher B, Meister A. 通过促进谷胱甘肽合成对抗毒性的细胞内半胱氨酸输送系统. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA* 1982; 79:6246-6249.
6. Nagasawa HT, Goon DJW, Muldoon WP, Zera RT. 作为 L-半胱氨酸前药的 2-取代四氢噻唑-4 (R) -羧酸. 小鼠对抗对乙酰氨基酚肝毒性的保护作用. *J.Med.Chem.* 1984; 27:591-596.
7. Roberts JC, Nagasawa HT, Zera RT, Fricke RF, Goon DJW. 作为对抗对乙酰氨基酚-诱导的肝毒性防护剂的 L-半胱氨酸前药. 2- (聚羟烷基) - 和 2- (聚乙酰氧烷基) 四氢噻唑-4 (R) -羧酸. *J.Med.Chem.* 1987; 30:1891-1896.
8. Holleschau AM, Rathbun WB, Nagasawa HT. 用于评价 L-半胱氨酸前药保持培养的大鼠晶状体内谷胱甘肽水平能力的 HPLC 放射示踪法. *Current Eye Research* 1996; 15:501-510.

9. Eriksson B, Eriksson, SA. L-半胱氨酸-谷胱甘肽混合的二硫化物的合成及性质. *Acta Chem. Scand.* 1967; 21: 1304-1312.
10. Butler JDB, Spielberg SP. 胱氨酸成纤维细胞中来自谷胱甘肽-半胱氨酸混合的二硫化物的胱氨酸的累积; 被谷氨酰转肽酶抑制剂阻断. *Life Sciences* 1982; 31: 2563-2570.
11. Stein AF, Dills RL, Klaassen CD. 谷胱甘肽和其硫醇以及二硫化物降解产物的高效液相色谱分析. *J. Chromatog.* 1986; 381: 259-270.
12. Kleinman WA, Richie Jr. JP. 人血浆中谷胱甘肽和其他硫醇以及二硫化物的状态. *Biochem. Pharmacol.* 2000; 60: 19-29.
13. Anderson ME. GSH 和 GSH 递送化合物. *Adv. Pharmacol.* 1997; 38: 65- 78.
14. Nagasawa HT, Shoeman DW, Cohen JF, Rathbun WB. 通过 L-CySSME 及其 N-乙酰基和乙基酯衍生物对抗对乙酰氨基酚-诱导的肝毒性的保护作用. *J. Biochem. Toxicol.* 1996; 11 : 289-295.
15. Crankshaw DL, Berkeley LI, Cohen JF, Shirota FN, Nagasawa HT. L-半胱氨酸双重前药: 对抗对乙酰氨基酚-诱导的肝毒性的差异保护作用. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2002; 16: 1-10.
16. Anderson ME, Meister A. 谷胱甘肽单酯. *Anal. Biochem.* 1989; 183: 16-20.
17. Eriksson SA, Mannervik B. 小鼠肝脏中 L-半胱氨酸-谷胱甘肽混合的二硫化物的还原. 涉及酶催化的硫醇-二硫化物交换反应. *FEBS Lett.* 1970; 7: 26-28.
18. Fernandez-Checa JC, Hirano T, Tsukamoto H, Kaplowitz N. 酒

精性肝病中线粒体 GSH 的缺失. *Alcohol* 1993; 10: 469-475.

19. Herzenberg LA, De Rosa SC, Dubs JG, Roederer M, Anderson MT, Ela SW, Deresinski SC. 在 HIV 疾病中与存活率减少有关的 GSH 缺乏. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1997; 94: 1967-1972.

20. Malorni W, Rivabene R, Lucia BM, Ferrara R, Mazzone AM, Cauda R, Paganelli R. 在 AIDS 进程中氧化失调的作用: 硫醇提供者 N-乙酰基半胱氨酸的影响. *AIDS Res. Human Retroviruses* 1998; 14: 1589-1596.

21. Martensson J, Steinherz R, Jain A, Meister A. GSH 酯预防丁硫堇 - 诱导的白内障和晶状体上皮细胞损伤. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1989; 86: 8727-8731.

22. Rathbun WB, Killen CE, Holleschau AM, Nagasawa HT. 在小鼠中通过 L-半胱氨酸前药维持肝谷胱甘肽的体内稳定和预防对乙酰氨基酚诱导的白内障. *Biochem. Pharmacol.* 1996; 51: 1111-1116.

23. Hudson VM. Rethinking cystic fibrosis pathology: 由 CFTR 突变导致谷胱甘肽 ( GSH ) 异常减少的重要作用. *Free Rad. Biol. Med.* 2001; 30: 1440-1461.

24. Kobayashi H, Kurokawa T, Kitahara S, Nonami T, Harada A, Nakao A, Sugiyama S, Ozawa T, Takagi H. L-谷氨酰基半胱氨酸乙基酯, GSH 前药对局部缺血再灌注诱导的大鼠肝损伤的影响. *Transplantation* 1992; 54: 414-418.

25. Leaf CD, Pace GW. 新的谷胱甘肽 repleting 剂, L-2-氧代四氢噻唑-4-羧酸 ( 丙环司坦 ) 的进展. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 1994; 3: 1293-1302.

- 
26. Fan J, Shek PN, Suntres ZE, Li YH, Oreopoulos GD, Rotstein OD. 脂质体抗氧化剂提供对抗急性呼吸窘迫综合征的延长的保护作用 .Surgery 2000; 128: 332-338.
27. Meister A. 通过抑制其合成以及其逆转所导致的谷胱甘肽缺乏; 在研究和治疗中的应用.Phannac. Ther. 1991; 51: 155-194.
28. White AC, Thannickal VJ, Fanburg BL. 人类疾病中的谷胱甘肽的缺乏. J. Nutr. Biochem. 1994; 5: 218-226.

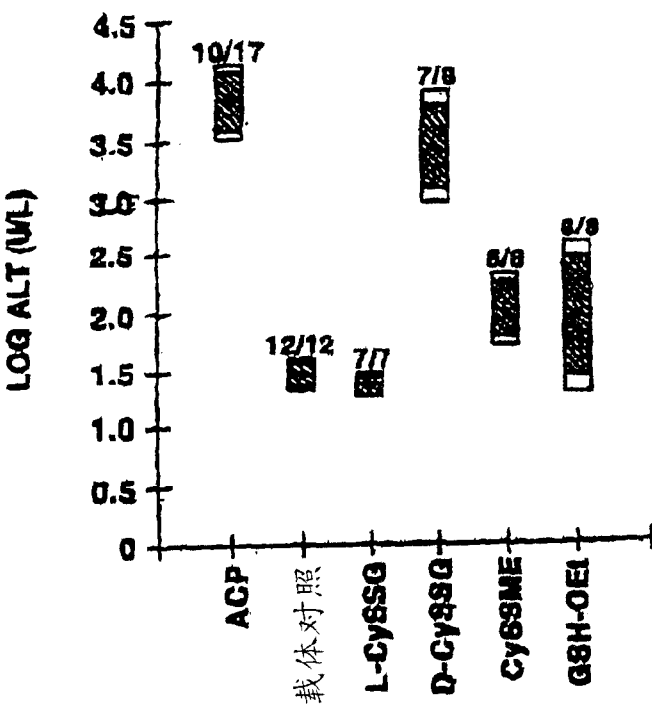
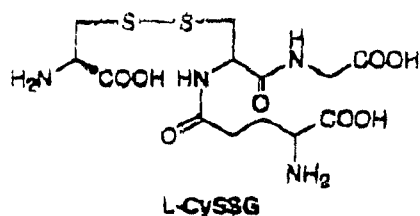
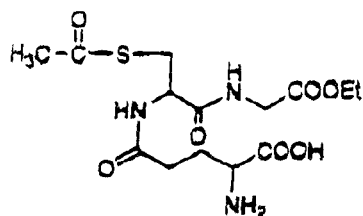


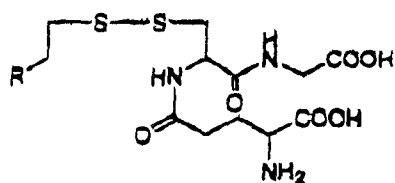
图 1



(W.A. Kleinman and J.R. Richle, *Biochem. Pharmacol.* **50**, 19-29, 2000)



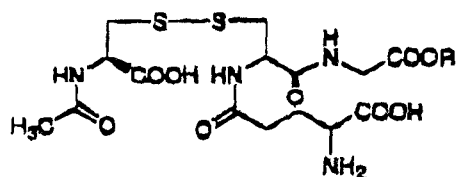
[Lauro Galzigna PCT/EP9/01154 (WO 92/00320)]



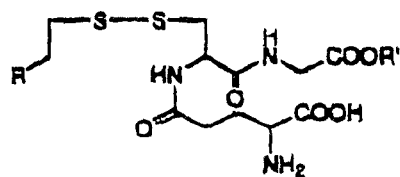
(D.A. Keina, E. Strauss, W. Guo, B. Noszai and D. L. Rabenstein, *J. Org. Chem.* **57**, 123-127, 1992)

**GSSME (R = OH)**

S. Sato, R. Sakai and M. Kodama, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **10**, 1787-1789, 2000



**GySSG衍生物**



**R' = C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基, 环烷基 (单, 二, 三), 芳烷基, 芳基**

**GSSMA衍生物**

图 2

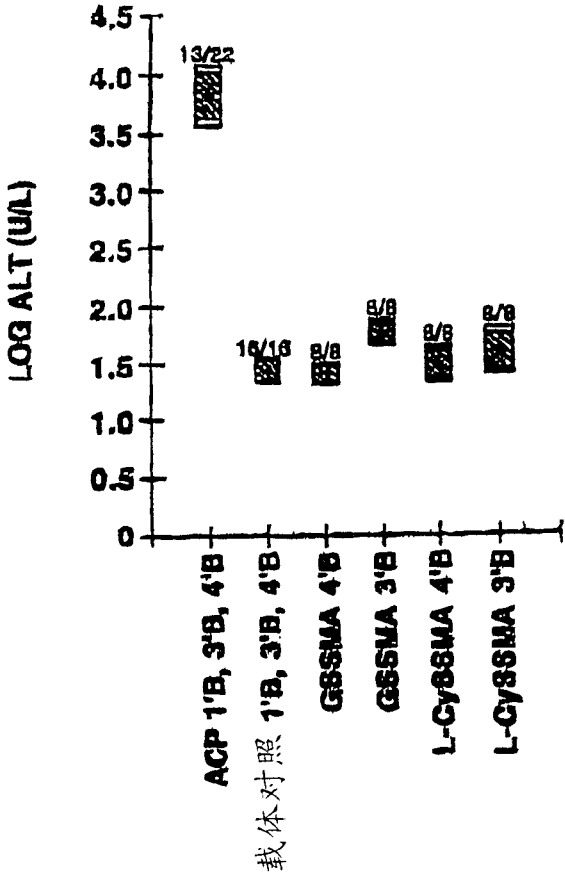


图 3

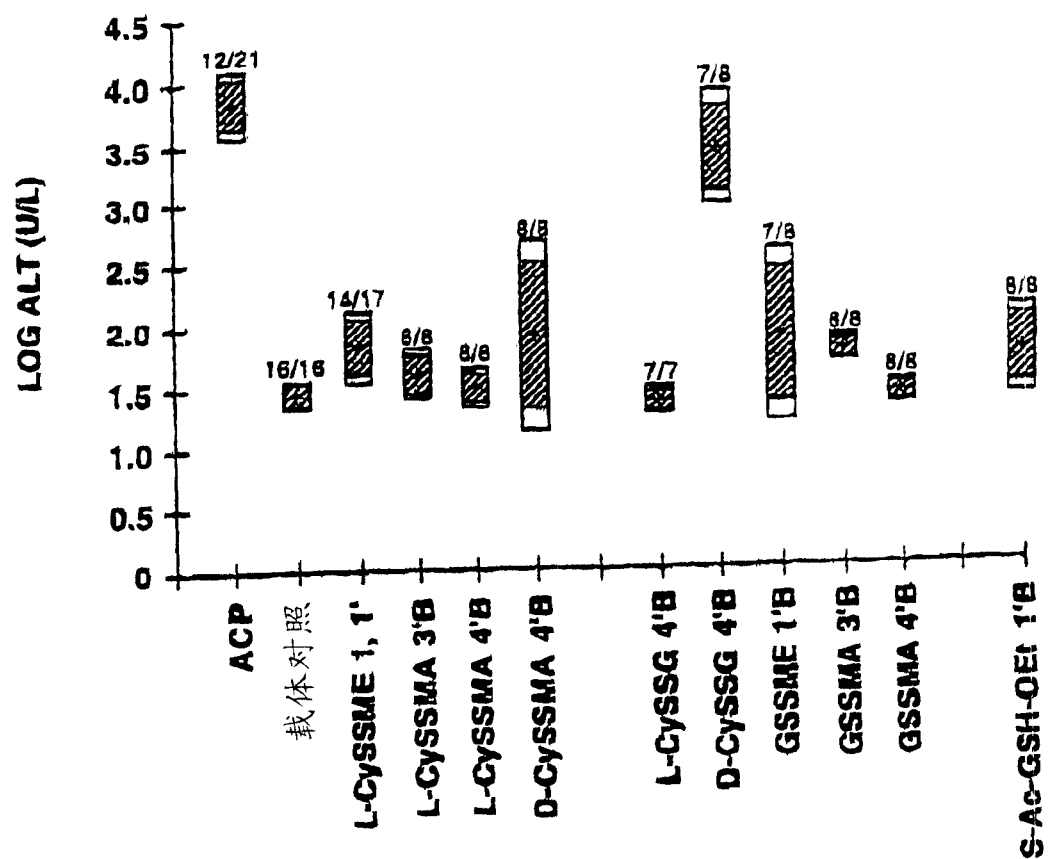


图 4