



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101883567 B

(45) 授权公告日 2012. 12. 26

(21) 申请号 200880119078. 8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008. 10. 01

A61K 31/542 (2006. 01)

A61P 25/28 (2006. 01)

(30) 优先权数据

60/960, 544 2007. 10. 03 US

(56) 对比文件

WO 02055720 A2, 2002. 07. 18, 权利要求

(85) PCT申请进入国家阶段日

46, 47.

2010. 06. 03

审查员 张伟

(86) PCT申请的申请数据

PCT/GB2008/003315 2008. 10. 01

(87) PCT申请的公布数据

W02009/044127 EN 2009. 04. 09

(73) 专利权人 维斯塔实验室有限公司

地址 新加坡新加坡

(72) 发明人 克劳德·M·维奇克

戴蒙·J·维奇克

约翰·M·D·斯托里

查尔斯·R·哈林顿

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 罗天乐

权利要求书 3 页 说明书 87 页 附图 27 页

(54) 发明名称

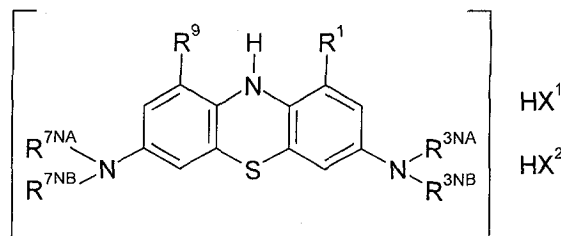
二氨基吩噻嗪的治疗用途

(57) 摘要

本发明总的涉及用于利用二氨基吩噻嗪类化合物治疗或预防疾病例如认知障碍的方法和物质。具体而言,本发明涉及具有优化的药代动力学性质的治疗,并意图提供旨在改善二氨基吩噻嗪类化合物对于认知或 CNS 方面的效益(相对于例如血液学作用)的剂型。

1. 一种用于治疗或预防患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法的 DAPTZ 类化合物,其中所述障碍是对 3,7-二氨基吩噻嗪 (DAPTZ) 类化合物治疗敏感的障碍,

该方法包括对所述患者口服施用包含呈稳定结晶还原形式的所述 DAPTZ 类化合物作为活性成分的剂量单位,其中所述 DAPTZ 类化合物呈稳定结晶还原形式,且选自下式的化合物或其药用的盐、水合物或溶剂化物:



其中:

R^1 和 R^9 各自独立地选自: -H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基;

R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地选自: -H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基;

R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地选自: -H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基;

HX^1 和 HX^2 各自独立地为质子酸。

2. 权利要求 1 的 DAPTZ 类化合物,其中 R^1 和 R^9 各自独立地为 -H。

3. 权利要求 1 或 2 的 DAPTZ 类化合物,其中 R^{3NA} 和 R^{3NB} 以及 R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 -甲基、-乙基、-正丙基、-正丁基、 $-CH_2-CH=CH_2$ 或 $-CF_3$ 。

4. 权利要求 1 ~ 3 中任一项的 DAPTZ 类化合物,其中基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 是相同的,且选自: -N 甲基₂ 和 -N 乙基₂。

5. 权利要求 1 ~ 3 中任一项的 DAPTZ 类化合物,其中基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 各自为 -N 甲基₂。

6. 权利要求 1 ~ 5 中任一项的 DAPTZ 类化合物,其中 HX^1 和 HX^2 各自独立地为单质子酸。

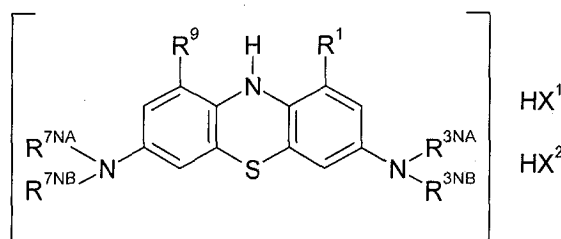
7. 权利要求 1 ~ 6 中任一项的 DAPTZ 类化合物,其中 HX^1 和 HX^2 各自独立地为氢卤酸。

8. 权利要求 1 ~ 7 中任一项的 DAPTZ 类化合物,其中 HX^1 和 HX^2 各自独立地选自 HCl、HBr 和 HI。

9. 权利要求 1 ~ 8 中任一项的 DAPTZ 类化合物,其中 HX^1 和 HX^2 各自为 HCl。

10. 权利要求 1 ~ 8 中任一项的 DAPTZ 类化合物,其中 HX^1 和 HX^2 各自为 HBr。

11. 如权利要求 1 ~ 10 中任一项的所述的 DAPTZ 类化合物,其中所述 DAPTZ 类化合物选自下式的化合物:



其中:

R^1 和 R^9 各自为 -H;

R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自为 - 甲基 ;

R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自为 - 甲基 ;

HX^1 和 HX^2 各自独立地为单质子酸。

12. 一种包含剂量单位的药品, 其中所述剂量单位含有至少一种药用的赋形剂和作为活性成分的分离的纯的如权利要求 1-11 中任一项定义的 DAPTZ 类化合物,

该剂量单位可提高在胃中的吸收, 从而使在小肠和肠道后段的碱性条件下易于发生的 DAPTZ 二聚体形成最小化, 由此提高所述 DAPTZ 类化合物相对于其血液学作用的认知效益或 CNS 效益。

13. 权利要求 12 的药品, 其中所述剂量单位是 100 ~ 1000mg 还原型 DAPTZ 类化合物的延迟释放制剂。

14. 权利要求 13 的药品, 其中所述延迟释放制剂在 1 小时、2 小时、3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、7 小时或 8 小时内释放小于 < 50%。

15. 权利要求 13 或权利要求 14 的药品, 其中所述延迟释放制剂包含不超过 5 重量%的氧化型 DAPTZ 类化合物。

16. 权利要求 12 所述的药品, 其包含至少 50mg 的稳定结晶还原形式的所述 DAPTZ 类化合物。

17. 如权利要求 12-14 中任一项所述的药品, 其以基本上纯的形式包含以重量计至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、98%、或 99% 的所述稳定结晶的 DAPTZ 类化合物。

18. 如权利要求 1-11 中任一项所述的 DAPTZ 类化合物在制备用于治疗或预防患者中认知障碍或 CNS 障碍的方法的药物剂量单位中的用途,

其中所述障碍是对 3,7- 二氨基吩噻嗪 (DAPTZ) 化合物治疗敏感的障碍,

所述方法包括对所述患者口服施用包含呈稳定结晶还原形式的所述 DAPTZ 类化合物作为活性成分的剂量单位, 其中该剂量单位可提高在胃中的吸收, 从而使在小肠和肠道后段的碱性条件下易于发生的 DAPTZ 二聚体形成最小化, 由此提高所述 DAPTZ 类化合物相对于其血液学作用的认知效益或 CNS 效益。

19. 权利要求 18 的用途, 其中所述认知障碍或 CNS 障碍是 τ 蛋白病。

20. 权利要求 19 的用途, 其中所述 τ 蛋白病的治疗是这样的: 所述 DAPTZ 类化合物导致与所述疾病状态相关的 τ 蛋白聚集的抑制, 并且导致患者或受试者的脑中的 τ 蛋白聚集体的溶解。

21. 权利要求 20 的用途, 其中所述认知障碍或 CNS 障碍选自阿尔茨海默病、匹克病、进行性核上性麻痹 (PSP)、额颞痴呆、连锁于 17 号染色体的帕金森综合征、去抑制 - 痴呆 - 帕金森综合征 - 肌萎缩复征、苍白球 - 脑桥 - 黑质变性、关岛型痴呆 - ALS 综合征、苍白球 - 黑质 - Lewy 小体变性和皮质 - 基底变性。

22. 权利要求 18 ~ 20 中任一项的用途, 其中所述认知障碍或 CNS 障碍是轻度认知缺损。

23. 权利要求 18 的用途, 其中所述认知障碍或 CNS 障碍是突触核蛋白病, 其任选为帕金森病、Lewy 小体痴呆、多系统萎缩症、药物诱发的帕金森综合征或纯自主神经功能衰竭 (PAF)。

24. 权利要求 18 ~ 23 中任一项的用途, 其中所述患者是被认为具有高于平均水平的血

液学障碍风险的患者,其中所述 DAPTZ 类化合物本可加重所述血液学障碍的效应。

25. 权利要求 24 的用途,其中所述患者是已知或被认为患有下述疾病的患者:血红蛋白病,其任选为镰刀形红细胞病、地中海贫血、高铁血红蛋白症;贫血,其任选为溶血性贫血;血液学恶性肿瘤,其任选为淋巴瘤、骨髓瘤、浆细胞瘤或白血病;凝血病,其任选为血友病。

26. 权利要求 18 ~ 25 中任一项的用途,其中所述剂量单位以含有所述 DAPTZ 类化合物和药用载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物的方式提供。

27. 权利要求 18 ~ 26 中任一项的用途,其中所述药物组合物用于联合治疗,并且除包括所述 DAPTZ 类化合物之外还包括选自下列的其它活性成分:胆碱酯酶抑制剂;NMDA 受体拮抗剂;毒蕈碱受体激动剂;或者淀粉样前体蛋白向 β -淀粉样蛋白的转化的抑制剂。

28. 如权利要求 1-11 中任一项所述的 DAPTZ 类化合物在制备用于在患者的脑内标记与神经变性障碍相关的聚集的疾病蛋白的方法的剂量单位中的用途,其中所述聚集的疾病蛋白是能被 DAPTZ 类化合物标记的蛋白质,

该方法包括对所述患者口服施用包含呈稳定结晶还原形式的所述 DAPTZ 类化合物作为活性标记成分的剂量单位。

29. 权利要求 28 的用途,其中所述 DAPTZ 类化合物包含、缀合、螯合、或以其它方式缔合一种或多种可检测标记,所述标记任选地选自同位素、放射性同位素、发射正电子的原子、磁共振标记、染料、荧光标志物、抗原性基团或治疗性部分。

30. 权利要求 29 的用途,其中所述 DAPTZ 类化合物包含发射正电子的原子。

二氨基吩噻嗪的治疗用途

技术领域

[0001] 本发明一般地涉及利用二氨基吩噻嗪治疗或预防疾病（例如认知障碍）的方法和物质。具体而言，本发明涉及具有优化的药代动力学性质的治疗。

背景技术

[0002] 现有技术中已证明 3,7-二氨基吩噻嗪 (DAPTZ) 化合物可抑制 τ 蛋白聚集，并破坏 PHF 结构，以及逆转 PHF 核心的蛋白水解稳定性（参见 W096/30766, F Hoffman-La Roche）。这些化合物被披露用于治疗 and 预防各种疾病包括阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 和 lewy 小体病 (Lewy Body Disease)，所述化合物包括甲基硫堇鎓氯化物 (methylthioninium chloride, "MTC")。

[0003] W096/30766 描述，在口服的场合，约 50 ~ 约 700mg、优选约 150 ~ 约 300mg 的日剂量，其被分割成优选 1-3 个单位剂量。

[0004] 在神经变性障碍领域中关于吩噻嗪的其它公开内容包括 W0 02/075318 和 W0 2005/030676。

[0005] 在本领域中已知，DAPTZ 化合物可呈有电荷形式（氧化型）和无电荷形式（还原或“白色 (leuko)”形式）。还已知它们的细胞吸收不同。此外，已知上述化合物在某些剂量下理论上会有不良的血液学作用和其它副作用。

[0006] W002/055720 (The University Court of the University of Aberdeen) 讨论了还原形式的二氨基吩噻嗪化合物在具体用于治疗各种蛋白质聚集性疾病中的用途，尽管其所披露的内容主要涉及的是 τ 蛋白病。W0 02/055720 讨论了基于 DiSanto 和 Wagner 的 J Pharm Sci 1972, 61:1086-1090 和 1972, 61:1090-1094 以及 Moody 等人的 Biol Psych 1989, 26:847-858 对人、狗和鼠的尿排泄数据组的研究的初步的药代动力学模型。W0 02/055720 进一步指出，亚甲蓝 (methylene blue) 在静脉注射给药 (iv administration) 之后穿过血脑屏障的唯一形式是还原形式。基于 W0 02/055720 中二氨基吩噻嗪的还原形式的体外活性，还给出了建议的日剂量是 3.2-3.5mg/kg, 20mg 剂量每天三次, 50mg 剂量每天三次或者 100mg 剂量每天三次，并联合给药 2 倍毫克比的抗坏血酸，由此实现在摄入前有超过 90% 的还原 (reduction)。

[0007] 然而，W0 02/055720 并未提供整合了血中浓度数据（例如 Peter 等人 (2000) Eur J Clin Pharmacol 56:247-250 所述的数据）的模型，也未提供得到了临床试验数据确认的模型。事实上，正如下文所述，就终端清除半衰期 (terminal elimination half-life) 而言，Peter 等人的数据与早先 DiSanto 和 Wagner 的数据是矛盾的。

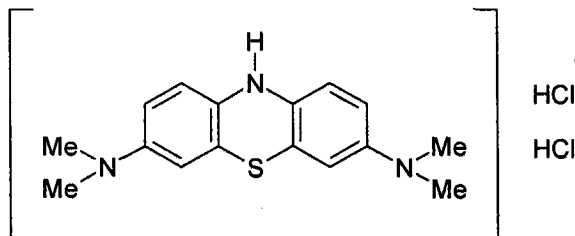
[0008] May 等人 (Am J Physiol Cell Physiol, 2004, Vol. 286, pp. C1390-C1398) 证明人类红细胞还原和吸收 MTC 是依次，也就是说 MTC 本身不被细胞所吸收，而是穿过细胞膜的 MTC 还原形式被细胞所吸收。May 等人还显示吸收速度是酶依赖性的，并且 MTC 和还原型 MTC 均在细胞中得以浓集（还原型 MTC 一旦进入细胞内即发生再平衡，从而形成 MTC）。

[0009] 然而，对 DAPTZ 化合物（例如 MTC）及其制剂的合适治疗剂量的优化，具体对所期

望的活性的优化或者使副作用最小化是棘手的问题。其主要障碍之一是缺少合适的药代动力学模型。由此可见,提供这样的模型从而教导解决一个或多个上述问题将对本领域作出贡献。

[0010] 先前提交的未公布的申请 PCT/GB2007/001103 公开了包括如下的化合物:

[0011]



[0012] 通过与例如 MTC 的比较,可认为这些化合物是稳定的还原形式。

[0013] PCT/GB2007/001103 给出了包含 20 ~ 300mg 的该专利中所述的 DAPTZ 化合物的剂量单位,例如 30 ~ 200mg,如 30mg、60mg、100mg、150mg、200mg。所述 DAPTZ 化合物的合适剂量建议为每天约 100ng 至约 25mg(更常见为约 1 μg 至约 10mg)/ 千克受试者体重,例如 100mg,3 次/天;150mg,2 次/天;200mg,2 次/天。

发明内容

[0014] 甲基硫堇鎓氯化物(“MTC”)是正在开发用于治疗 AD 及相关痴呆的专卖治疗制品(名为“rember™”)的活性成分。在已进行的一项临床试验中,其在轻度和中度 AD 的 50 周时间的治疗中已显示了疗效。

[0015] 利用该临床试验的结果,本发明的发明人开发了一种全新的整合药代动力学模型,其适用于 DAPTZ 化合物(包括但不限于 MTC)的人口服给药。该模型对于那些决定就安全性和功效而言最优的口服剂量的参数的定义具有重要的意义,而且隐含着开发新的认知障碍治疗模式的可能。该新模型已显示了其准确性,因为它可预示尿排泄,并可正确地预示脑组织区室(brain tissue compartment)的动力学,后者得到了对猪的研究结果的证实。

[0016] 简而言之,临床试验显示 MTC 具有两种全身性药理学作用:认知作用和血液学作用,但令人预料不到的是,这两种作用是可分离的。具体而言,认知作用不显示单调的剂量响应关系,而血液学作用则显示单调的剂量响应关系。本发明的发明人提出,这两种药理学活性由两种不同的物质引起:以无电荷的白色 -MT 形式被吸收的 MTC 引起有益的认知活性,而以氧化的二聚物形式被吸收的 MTC 引起血红蛋白的氧化。因为这些作用在机理上是迥异的,可以分别对它们加以操纵,从而使治疗活性的(对认知有效的)物质的生物利用度最大化。

[0017] 因此,这些发现对氧化型 DAPTZ 化合物和白色 -DAPTZ 化合物的给药有深刻的意义,例如通过优化与具体药物的相关给药方案和制剂而使治疗活性最大化并因此降低副作用。

[0018] 氧化型 DAPTZ 化合物 - 速溶形式

[0019] 从图 31A 可看出,随着 30 分钟时胶囊溶出百分数(percentage capsule dissolution)降至低于 20%,预测功效急剧丧失。该现象确认了速溶对于治疗活性是关键的;该现象可以这样来解释:在对甲基硫堇鎓(MT)部分以其治疗活性形式的吸收

中,胃所起的作用是关键。

[0020] 具体地,根据延迟溶出假说 (delayed dissolution hypothesis),血液学副作用是由 MT 的一种独特的形式造成的。该形式被假定是一种二聚物,小肠和肠道后段 (lower gut) 中的碱性条件易于其形成。因此,临床试验中观察到的血液学副作用是研究所用的明胶胶囊制剂 (尤其是其溶解速率——参见图 7) 的特定结果,而不是 MT 部分自身的固有特性 – 如果它是通过胃吸收的话。

[0021] 因此,在设计 MTC 或其它 DAPTZ 化合物的改进制剂中,达到预定功效的关键在于下面这个要求:在标准条件下,所考察的医药品 (即片剂或胶囊) 在 30 分钟内的溶出大于 50%。

[0022] 因此,在一方面本申请公开了一种治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法,其中所述障碍是用 DAPTZ 化合物可治疗的障碍。

[0023] 该方法包括使所述患者口服包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分的剂量单位,

[0024] 其中所述剂量单位在标准条件下于 30 分钟内释出至少 50% 的所述活性成分。

[0025] 认知障碍或 CNS 障碍的治疗将使认知效益或 CNS 效益相对于所述 DAPTZ 化合物的血液学作用最大化 (参见例如图 7)。

[0026] 胶囊溶出由在标准 US/EU 药典溶出条件下 DAPTZ 释出进入模拟胃液 (SGF) 的水相的量所决定。这描述于实施例 11 中。

[0027] 因此,该形式的剂量单位会使胃中的吸收最大化,更关键地是使二聚体的形成最小化 (肠和肠道后段的碱性条件下有利于二聚体形成)。

[0028] 优选在小于 30 分钟内大于 95%、90%、85%、80%、75%、70%、60% 或 50% 被胃吸收。

[0029] 适于该速溶的制剂和递药媒介物将在下文中更详细地讨论。

[0030] 剂型中氧化型 DAPTZ 的量将是治疗有效的量。然而,基于本文的公开内容可看出,若剂量非常高 (此时溶出被延迟),在还原酶机制的作用下导致标称剂量在胃中仅得到有限的吸收,从而导致在肠中较高的 pH 下形成二聚体而引起不期望的吸收延迟。

[0031] 因此,剂量单位优选包含小于 120mg、小于 100、小于 70,最优选 40 ~ 70mg (例如 40、45、50、55、60、65 或 70),给药 3 次 / 天或 4 次 / 天 (参见例如图 29&30&32&36)。

[0032] 氧化型 DAPTZ 化合物 – 胃滞留形式 (gastric retention form)

[0033] 因此,在一方面本申请公开了一种治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法,其中所述障碍是用 DAPTZ 化合物可治疗的障碍,

[0034] 该方法包括对所述患者口服施用包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分的剂量单位,

[0035] 其中所述剂量单位是胃滞留的 (gastroretained)。

[0036] 认知障碍或 CNS 障碍的治疗将使所述与 DAPTZ 化合物的血液学作用相比的相对认知效益或 CNS 效益最大化 (参见例如图 7)。

[0037] 胃滞留的形式将优选停留在胃中至少 30 分钟,更优选至少 1、2、3、4、5、6、8、12 小时或更长。

[0038] 适于胃滞留的制剂和递药媒介物将在下文中更具体地讨论。

[0039] 胃滞留的剂型中氧化型 DAPTZ 的量将是治疗有效的量。通过使向肠的运送最小化 (minimizing transit to intestine) (由此使无治疗活性的二聚体的形成最小化), 较高载量的氧化型 DAPTZ 是可行的。因此, 剂量单位优选包含至少 50、60、70、80、90 或 100mg, 或者更优选例如 200、300、400、500mg。

[0040] 还原型 DAPTZ 化合物

[0041] 本申请所描述的关系, 可能对人们实现更方便的给药方案 (即 2 次 / 天或 1 次 / 天) 的常规手段产生影响。这些给药方案理论上对罹患痴呆的患者 - 这样的患者健忘, 需要提示服药 - 是更理想的。实现更方便的给药方案的常规手段是制备缓释制剂。然而, 本申请的分析说明: 与此相反的是, 治疗产品的氧化型 DAPTZ 形式的标准缓释制剂会实质上丧失功效, 一个方便的例子是下面实施例中 TRx-014-001 的 100mg 胶囊的性质。

[0042] 因此, 由于上述原因, 制备基于氧化型 DAPTZ 的药物的延迟释放制剂是不可行的。然而, 对于 DAPTZ 化合物为还原形式的药物却不是这样。这是由于所述化合物的白色形式不能二聚, 因为它们不是 ‘扁平的’ 分子, 没有电荷, 而电荷允许通过电荷中和来稳定化二聚体形式。

[0043] 因此, 在另一方面本申请公开了一种治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法, 其中所述障碍是可用 DAPTZ 化合物治疗的障碍,

[0044] 该方法包括对所述患者口服施用包含呈稳定结晶还原形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分的剂量单位。

[0045] 如下所述, 优选的是化合物治疗认知障碍或 CNS 障碍, 并且使对比于所述 DAPTZ 化合物的血液学作用使相对的认知效益或 CNS 效益最大化。

[0046] 具体而言, 基于本文的教导, 将大大降低由于最初胃不吸收而引起的损失, 这是因为稳定的还原型结晶型形式比氧化型等价物具有更大的溶解度, 将不要求噻嗪染料还原酶的活性 (May 等人, 2004), 所述噻嗪染料还原酶被认为存在于胃中并且是吸收所必需的 (参见图 33 中预测的吸收)。

[0047] 因此我们推测, 利用甲基硫基鎗部分的 L-MTx 形式可实现显著更高的功效和优良的给药方案。剂型中还原型 DAPTZ 的量将是治疗有效的量。

[0048] 具体而言, 100 ~ 1000mg 还原型 DAPTZ 化合物的延迟释放制剂 (例如 1 次 / 天) 原则上不会导致延迟吸收的负面后果 (参见图 38)。因此, 鉴于本文的公开内容, 可考虑至多 1000mg 或更多 (例如 100、200、300、400、500、600、700、800、900 或 1000mg) 的剂量以 1 次 / 天或更多次给药。

[0049] 优选该制剂是缓释或延迟释放制剂, 即在 1 小时、2 小时、3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、7 小时、8 小时内释放小于 < 50%。

[0050] 从图 34 和 35 中可看出, 100mg 的还原型 DAPTZ (称为 “L-MTx 形式”) 给药 2 次 / 天的给药方案预计可实现 -8.1 ADAS-cog 单位的功效水平。这也可通过 60mg 给药 3 次 / 天实现。预期利用 100mg 或更高给药 3 次 / 天将实现更高的功效。

[0051] 本发明优选的还原型 DAPTZ 化合物可方便地描述为 “稳定的结晶型还原形式”, 参见先前提交的未公布的申请 PCT/GB2007/001103。然而应理解, 即使这些化合物也可能发生某种程度地自氧化得到相应的氧化型形式。因此, 包含本发明的稳定的结晶型还原形式 DAPTZ 化合物的组合物很可能会 (即使不是不可避免地) 包含至少一些相应的氧化型化合

物作为杂质。

[0052] 在本发明有关这些稳定的结晶型还原形式 DAPTZ 化合物的方面,这些氧化型 DAPTZ 化合物可不超过剂型的总 DAPTZ 量的 50 重量%、例如不超过 40 重量%、例如不超过 30 重量%、优选例如不超过 20 重量%、例如不超过 10 重量%、例如不超过 5 重量%、例如不超过 3 重量%、例如不超过 2 重量%、例如不超过 1 重量%。

[0053] 治疗

[0054] 本申请在治疗疾病状态的语境中使用的术语“治疗”总体上与对人的治疗和处置有关,其中获得某些所需的治疗效果,例如抑制病症发展,并包括减慢发展速度、使发展速度停止、使病症消退、使病症改善和使病症治愈。

[0055] 本发明还包括预防措施(即预防、防止)。

[0056] 本申请中使用的术语“治疗有效量”涉及活性化合物的量或含有活性化合物的物质、组合物或剂型的量,所述量当根据所想要的治疗方案给药时可有效地产生某些所需的治疗效果,并且与合理的效益/风险比例相称。

[0057] 相似地,本申请中使用的术语“预防有效量”涉及活性化合物的量或含有活性化合物的物质、组合物或剂型的量,所述量当根据所想要的治疗方案给药时可有效地产生某些所需的预防效果,并且与合理的效益/风险比例相称。

[0058] 术语“治疗”包括联合治疗(treatment)和联合处置(therapy),其中将两种或多种治疗或处置联合,例如先后联合或同时联合。联合治疗将在下文中更详细地进行讨论。

[0059] 认知障碍或 CNS 障碍

[0060] 优选的认知障碍或 CNS 障碍描述如下。其它神经变性障碍在下面实施例中描述。

[0061] 所述认知障碍可以是患者中 τ 蛋白病(参见例如 W096/30766)。阿尔茨海默病(AD)、神经变性障碍例如匹克病(Pick's disease)和进行性核上性麻痹(Progressive Supranuclear Palsy, PSP)的发病机理似乎分别与新皮层的齿状回和星形锥体细胞中的病理性截短 τ 蛋白聚集体的积聚相关。其它痴呆包括额颞痴呆(fronto-temporal dementia, FTD);连锁于 17 号染色体的帕金森综合征(parkinsonism linked to chromosome 17, FTDP-17);去抑制-痴呆-帕金森综合征-肌萎缩复征(disinhibition-dementia-parkinsonism-amyotrophy complex, DDPAC);苍白球-脑桥-黑质变性(pallido-ponto-nigral degeneration, PPND);关岛型痴呆-ALS 综合征(Guam-ALS syndrome);苍白球-黑质-lewy 小体变性(pallido-nigro-lusian degeneration, PNLD);皮质-基底变性(cortico-basal degeneration, CBD)等(具体的讨论参见上述引文中 Wischik 等人 2000,尤其是表 5.1)。所有这些疾病均以反常的 τ 蛋白聚集为主要或部分特征,在本文中通称为“ τ 蛋白病”。

[0062] 在本发明与 τ 蛋白病相关的这方面和所有其它方面,优选所述 τ 蛋白病选自自由上面的疾病所组成的组,即 AD、匹克病、PSP、FTD、FTDP-17、DDPAC、PPND、关岛型痴呆-ALS 综合征、PNLD 和 CBD。

[0063] 在一种优选的实施方式中,所述 τ 蛋白病是阿尔茨海默病(AD)。

[0064] 当所述疾病是任何 τ 蛋白病时,治疗所述 τ 蛋白病的方法可以是这样的:所述 DAPTZ 化合物引起与所述病状相关的 τ 蛋白聚集的抑制以及在患者或受试者脑中 τ 蛋白聚集体的溶解。如下面实施例中所述,本发明的发明人证明,上述聚集体的溶解是开启清除

通路的关键作用（参见例如图 6A 和 6B）。

[0065] 在一种实施方式中，所述认知障碍可以是轻度认知缺损（MCI）例如遗忘性 MCI。先前提交的美国临时申请 60/945,006（通过参考具体地并入本文）公开了 DAPTZ 化合物治疗 MCI 的用途。尽管在文献中仍然存在对 MCI 概念本质的讨论（参见 Gauthier 等人的 Lancet, 2006 ;367 :1262-1270 ;Petersen RC 等人的 Neuropathological features of amnesic mild cognitive impairment. Arch Neurol 2006 ;63 :665-672），但 FDA 已承认 MCI 为是有效的疾病标靶。MCI 如下定义：具有较小程度的认知缺损但尚未满足痴呆诊断的临床标准。

[0066] 在一种实施方式中，所述 CNS 障碍可以是突触核蛋白病例如帕金森病（Parkinson's Disease, PD）。

[0067] 先前提交的 PCT 申请 PCT/GB2007/001105（通过参考具体地并入本文）公开了 DAPTZ 化合物用于治疗 PD 和其它突触核蛋白病的用途。

[0068] 所述突触核蛋白病目前包括下面障碍：PD、Lewy 小体痴呆（dementia with Lewy bodies, DLB）、多系统萎缩症（multiple system atrophy, MSA）、药物诱发的帕金森综合征（drug-induced parkinsonism, 例如由 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 [MPTP] 或杀虫剂如鱼藤酮引起的帕金森综合征）和纯自主神经功能衰竭（pure autonomic failure, PAF）。

[0069] 患者组

[0070] 用于所述方法的合适受试者可以基于通常的因素进行选择。

[0071] 因此，例如对于 AD，最初对患者的选择可能包括如下方式中的一个或多个：通过有经验的临床医生的严格评价；通过追加实验室考察和其它考察来尽可能排除非-AD 诊断；利用神经病理学上有效的测试组来客观评价认知功能的水平。

[0072] 对于 MCI，综合征性 MCI (syndromal MCI) 的代表性标准包括下列特征：A. 患者既不正常也不痴呆；B. 存在认知衰退的有关证据，表现为：客观测得的随时间的衰退，和/或与客观认知测试（例如二级记忆测试）相关的自身和/或信息提供者主观报告的衰退；C. 保持日常生活活动并且复杂的工具性能力（complex instrumental function）未受损或受损程度极低（另参见 Winblad, B. 等人 (2004) Mild cognitive impairment-beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. J. Intern. Med. 256 :240-246）。所述患者一般会被诊断患有 MCI 但未被诊断患有 AD（即不会显示出痴呆）的患者。所述患者例如可以是 45 岁以上、50 岁以上、55 岁以上。所述患者可以是满足以下的标准中的一项或所有项的患者：(i) Braak 分期为 3 以下、2 以下、1 以下；(ii) MMSE 得分小于或等于 MMSE 24、25、26、27、28 或 29，更优选小于或等于 MMSE 24、25、26，最优选小于或等于 MMSE 24 或 25。

[0073] PD 的诊断是为本领域的技术人员所熟知的。

[0074] 如上所指出，本发明的方法旨在治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍，使得与所述 DAPTZ 化合物的血液学作用相对的认知效益或 CNS 效益最大化。

[0075] 在本发明的不同方面中，所述患者可以是被认为血液学障碍风险高于平均水平的患者，其中前述 DAPTZ 化合物原本会导致所述血液学障碍的效应恶化。因此（不作为限制），所述患者可以是已知或被认为患有血红蛋白病例如镰刀形红细胞病（Sickle-cell disease）、地中海贫血（thalassemia）、高铁血红蛋白症（Methemoglobinemia）；贫血（例

如溶血性贫血 (haemolytic anemia)); 血液学恶性肿瘤 (例如淋巴瘤、骨髓瘤、浆细胞瘤 (plasmacytoma) 或白血病); 凝血病 (coagulopathy) 例如血友病 (hemophilia); 等等的患者。所述高于平均的疾病风险可利用常规的标准进行评价, 所述标准例如症状、基因、年龄、生活方式、种族性标准 (例如镰刀形红细胞病更常发生于来自例如非洲撒哈拉沙漠以南地区的人或其后代中)。一个特定类群的血液学障碍风险患者是年过 70 岁的人, 他们易患与年龄相关的贫血症 (例如骨髓发育不良 (myeloid dysplasia))。

[0076] 剂量、制剂和递药媒介物

[0077] 在本申请的公开范围内, 所选择的确切的剂量水平会依赖于各种因素, 包括但不限于具体 DAPTZ 化合物的活性, 治疗的持续时间, 联合使用的其它药物、化合物和 / 或物质, 疾病的严重程度, 以及患者的物种、性别、年龄、体重、病状、一般健康状况和先前医疗史。

[0078] 本领域技术人员可根据本文的公开内容利用常规的工艺来提供具有合适的载量 (loading)、溶出或上述的胃滞留性质的药物或剂量单位 (例如, 药用片剂或胶囊), 而这些常规的工艺本身不构成本发明的一部分。

[0079] 例如, 就速溶药物单位 (对于氧化型或还原型 DAPTZ 化合物) 或者缓释或延释溶出单位 (对于还原型 DAPTZ 化合物) 而言, Encap Drug Delivery (Units 4, 5 & 6, Oakbank Park Way, Livingston, West Lothian, EH53 0TH, Scotland, UK); Eurand (Via Martin Luther King, 13 20060, Pessano con Bornago, Milan) 等供应商可以根据用户的需要供货和测试。

[0080] 胃滞留的药物单位在专利文献 (例如 US6207197, US5972389) 和一般文献中也已经为人熟知多年, 参见例如 Davis 等人 "Transit of pharmaceutical dosage forms through the small intestine", Gut, 27(8):886-892(1986); Fara, "Physiological limitations: gastric emptying and transit of dosage forms", Rate Control in Drug Therapy, L. F. Prescott 等人编辑, Churchill Livingstone, New York (1985); Davis, S. S. (2005) Formulation strategies for absorption windows Drug Discovery Today 10:249-257。后者指出, 人的胃肠通过 (GI transit) 过程及其对施药的影响在目前是大家所熟知的。给药于饱食的胃 (fed stomach) 的剂型排空将被延迟。复颗粒 (multiparticulate) 系统, 例如含有微球或粒料的系统, 可与食物混合, 后果是常常与食物一起经过很长的时间排空。如果给药的颗粒是大颗粒, 它们将不能与经消化的食物一起通过狭窄的幽门, 而不得不等到胃空并处于禁食状态时才能通过幽门。一般而言, 预期尺寸最大到 10mm 的颗粒可从饱食的胃中排空。颗粒排空的确切时间还将取决于在胃中所述颗粒的数量及其相对位置。因此, 大于 15-20mm 并与食物一起给药的剂型预期可实现胃滞留。这样的剂型因而将有机会于食物离开胃之后出现禁食状态时排空。

[0081] 单一单位系统 (或者复颗粒系统) 可快速从禁食的胃中排空。其排空的确切时间还将取决于与给药有关的清扫波 (housekeeper wave) 的时刻。敞开的人类幽门的直径为 15mm。大于该尺寸的物体将难以进入禁食 (或饱食) 状态的肠。基于该认识, 人们已经设计了多种胃滞留方法。这些方法分为两大类: (i) 具有生物粘附性 (还具有漂浮于胃内容物上的倾向) 的小颗粒; 以及 (ii) 大型膨胀性 (swelling) 的物体, 由于其尺寸会滞留于胃中。这些膨胀系统也可具有漂浮特性, 其通常通过产生二氧化碳来提供。

[0082] 药物投递 (drug delivery) 公司 Depomed 描述了这样的胃滞留片剂, "它们可在胃

中膨胀,胃把它们当作未消化食物来对待,不让它们进入肠。胃将这些片剂滞留几个小时,这些片剂在胃中可按需要快速或缓慢释放其载荷的药物。”

[0083] (http://www.depomedinc.com/products_pipeline.htm)。

[0084] 这些系统基于与羟丙基甲基纤维素 (HPMC) 组合的聚环氧乙烷 (PEO),以产生可膨胀的持续释放的基质片剂。该公司称,候选的分子包括二甲双胍 (metformin)、加巴喷丁 (gabapentin)、环丙沙星 (ciprofloxacin) 和呋塞米 (furosemide)。近期的新闻报道称 Depomed 已经完成 III 期临床试验:将 1 次/天的二甲双胍用于治疗 II 型糖尿病;以及将 1 次/天的环丙沙星用于治疗尿路感染,并且已经向 FDA 提交这两种药品的新药申报。该公司还用利尿剂呋塞米进行了 I 期临床试验。

[0085] 最近的文摘已经披露了在健康的志愿者中对控制释放的呋塞米胃滞留片剂进行双标记的闪烁法研究。双标记步骤允许对侵蚀和膨胀分别表征。在进食高脂肪的早餐之后给药片剂(和速释对照)。膨胀片剂的胃滞留是足够长时间的,足以将药物递送至上胃肠道。因此,药物的血浆浓度得以保持,而且不同于早先文献中报道的缓释制剂不存在生物利用度的降低。从患者顺应性的角度考虑,胃滞留片剂提供渐进的利尿和尿钠排泄,而不是服用常规的速释呋塞米片剂的患者所经历的、时间开始短、短暂且强烈的利尿。

[0086] 因此,已知胃滞留的剂型可应用于本发明,尤其是与氧化型 DAPTZ 形式一起使用。

[0087] 尽管可单独使用(例如给药)二氨基吩噻嗪鎓化合物,但通常优选的是将其作为组合物或制剂提供。

[0088] 优选地,所述药物或剂量单位以含有本申请所述 DAPTZ 化合物和药用载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物(例如制剂(formulation)、制品(preparation)、药物(medicament))的方式提供。

[0089] 在一种实施方案中,所述组合物为含有至少一种本发明所述二氨基吩噻嗪鎓化合物以及一种或多种其它本领域技术人员已知的药用成分的药物组合物,所述药用成分包括但不限于药用载体、稀释剂、赋形剂、助剂、填料、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、润滑剂、稳定剂、助溶剂、表面活性剂(例如润湿剂)、掩蔽剂、着色剂、调味剂和甜味剂。

[0090] 在一种实施方案中,所述组合物还含有其它活性剂如其它治疗剂或预防剂。

[0091] 合适的载体、稀释剂、赋形剂等可在标准药物教科书中找到。参见,例如 Handbook of Pharmaceutical Additives,第二版(M. Ash 和 I. Ash 编辑),2001(Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), Remington's Pharmaceutical Sciences,第 20 版, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; 以及 Handbook of Pharmaceutical Excipients,第二版,1994。

[0092] 本申请使用的术语“药用的”涉及这样的化合物、成分、物质、组合物、剂型,等等:其在合理的医学判断范围内适用于与存疑的受试者(例如人)的组织接触,而不会产生过度的毒性、刺激、过敏性应答或其它问题或并发症,与合理的效益/风险比例相称。每一种载体、稀释剂、赋形剂等在与制剂的其它成分相容方面必须也是“可接受的”。

[0093] 所述制剂可以通过制药领域已知的任何方法进行制备。这些包括如下步骤:将活性化合物与作为一种或多种附加成分的载体混合。通常,所述制剂是通过将活性化合物与载体(例如液体载体、细颗粒固体载体,等)均匀而又充分地混合在一起,然后根据需要将产物成型。

[0094] 如上文所指出的,所述制剂可经制备实现快速或缓慢释放;即释、延迟释放、定时释放或持续释放;或它们的组合。

[0095] 联合处置

[0096] 下文中将更具体地讨论联合治疗和联合处置,在所述联合治疗和联合处置中将两种或多种治疗或处置进行例如先后联合或同时联合。因此,应理解本申请所述的任何医学用途或医学方法(例如分别对于AD、MCI或PD的另一治疗)均可用于联合处置中。例如,对于AD的本发明治疗(例如,采用本发明的化合物)可与胆碱酯酶抑制剂(例如多奈哌齐(Donepezil,也称为Aricept™)、利凡斯的明(Rivastigmine,也称为Exelon™)或加兰他敏(Galantamine,也称为Reminyl™))进行联合。

[0097] 在一种实施方案中,本发明的治疗(例如采用本发明的化合物)与NMDA受体拮抗剂(例如美金刚(Memantine,也称为Ebixa™、Namenda™))进行联合。

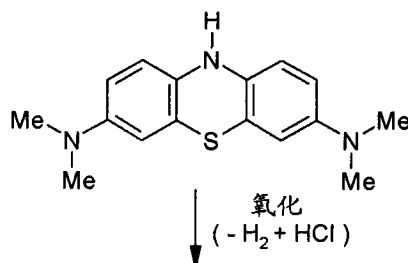
[0098] 在一种实施方案中,本发明的治疗(例如采用本发明的化合物)与毒蕈碱受体激动剂进行联合。

[0099] 在一种实施方案中,本发明的治疗(例如采用本发明的化合物)与β-淀粉样蛋白到淀粉样前体蛋白的抑制剂(例如,导致β-淀粉样蛋白产生增加的淀粉样蛋白前体蛋白加工的抑制剂)进行联合。

[0100] 示例性的DAPTZ化合物

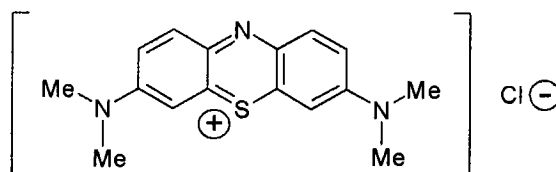
[0101] 氧化型DAPTZ化合物和还原型DAPTZ化合物之间的关系可方便地利用MTC,一种吩噻嗪-5-鎓盐,来示例说明。与相应的10H-吩噻嗪化合物即N,N',N'-四甲基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺相对而言,MTC可方便地看作“氧化形式(oxidized form)”,而上述10H-吩噻嗪化合物可方便地看作“还原形式”。

[0102] 还原形式



[0103] 氧化形式

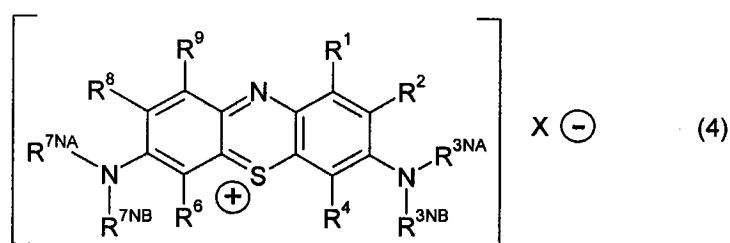
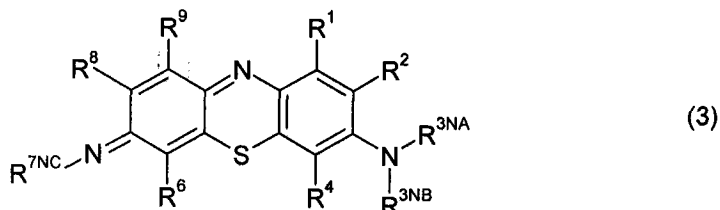
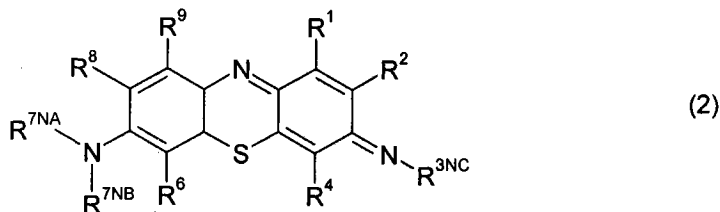
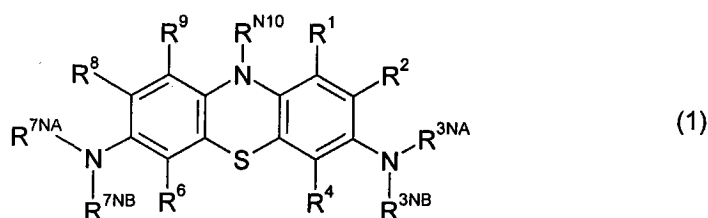
[0104]



[0105] (MTC)

[0106] 本发明的这方面涉及具有如下结构式之一的某些二氨基吩噻嗪化合物及其类似物和它们的可药用盐、溶剂化物和水合物(在本申请中统称为“二氨基吩噻嗪”或“二氨基吩噻嗪化合物”):

[0107]



[0108] 式 (1) 描述了还原形式的化合物,而式 (2)、(3) 和 (4) 各自描述了呈氧化形式的化合物。

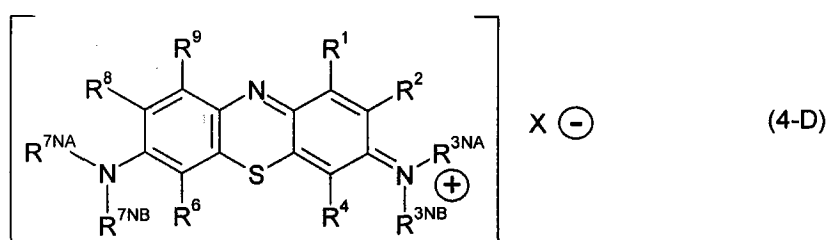
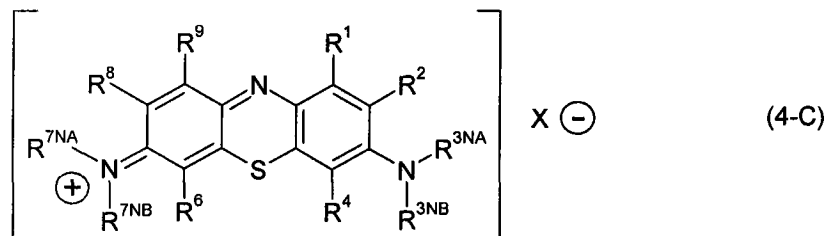
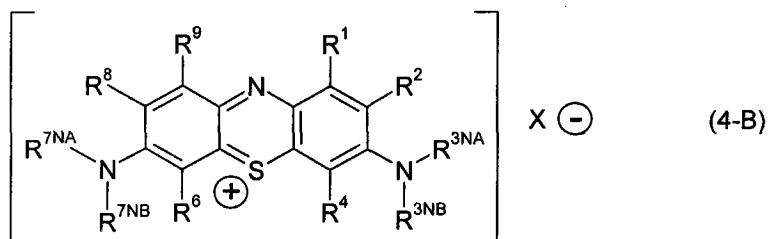
[0109] 在一种实施方案中,所述化合物选自式 (1) 化合物及其可药用盐、溶剂化物和水合物。

[0110] 在一种实施方案中,所述化合物选自式 (2) 或 (3) 化合物及其可药用盐、溶剂化物和水合物。

[0111] 在一种实施方案中,所述化合物选自式 (4) 化合物及其可药用盐、水合物或溶剂化物。

[0112] 上述结构中的任一种均仅为多种等同共振结构中的一种,所有这些等同共振结构都被上述代表性结构所涵盖。例如结构 (4) 仅为多种等同共振结构中的一种,这些等同共振结构的一些如下所示,并且所有这些等同共振结构都被结构 (4) 所涵盖:

[0113]



[0114] 碳环原子取代基

[0115] 在上述每种结构式中, R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^6 、 R^8 和 R^9 各自独立选自:

[0116] $-\text{H}$;

[0117] $-\text{F}$; $-\text{Cl}$; $-\text{Br}$; $-\text{I}$;

[0118] $-\text{OH}$; $-\text{OR}$;

[0119] $-\text{SH}$; $-\text{SR}$;

[0120] $-\text{NO}_2$;

[0121] $-\text{C}(=\text{O})\text{R}$;

[0122] $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$; $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}$;

[0123] $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$; $-\text{C}(=\text{O})\text{NHR}$; $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_2$; $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{N}1}\text{R}^{\text{N}2}$;

[0124] $-\text{NH}_2$; $-\text{NHR}$; $-\text{NR}_2$; $-\text{NR}^{\text{N}1}\text{R}^{\text{N}2}$;

[0125] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{H}$; $-\text{NRC}(=\text{O})\text{H}$; $-\text{NHC}(=\text{O})\text{R}$; $-\text{NRC}(=\text{O})\text{R}$;

[0126] $-\text{R}$;

[0127] 其中每个 R 独立选自:

[0128] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基; 经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0129] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基; 经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;

[0130] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基; 经取代的 C_{3-6} 环烷基;

[0131] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基(carboaryl); 经取代的 C_{6-10} 碳芳基;

[0132] 未经取代的 C_{5-10} 杂芳基; 经取代的 C_{5-10} 杂芳基; 和

[0133] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基; 经取代的 C_{6-10} 碳芳基 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基;

[0134] 其中在每个 $-\text{NR}^{\text{N}1}\text{R}^{\text{N}2}$ 基团中, 独立地, $\text{R}^{\text{N}1}$ 和 $\text{R}^{\text{N}2}$ 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。

[0135] $-\text{NR}^{\text{N1}}\text{R}^{\text{N2}}$ 基团 (其中 R^{N1} 和 R^{N2} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环) 的实例包括吡咯烷子基 (pyrrolidino)、哌啶子基 (piperidino)、哌嗪子基 (piperazino)、吗啉代 (morpholino)、吡咯基和它们的取代形式如 N-取代的形式如 N-甲基哌嗪子基。

[0136] 在一种实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^6 、 R^8 和 R^9 各自独立选自:

[0137] $-\text{H}$;

[0138] $-\text{F}$; $-\text{Cl}$; $-\text{Br}$; $-\text{I}$;

[0139] $-\text{OH}$; $-\text{OR}$;

[0140] $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$; $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}$;

[0141] $-\text{R}$ 。

[0142] 在一种实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^6 、 R^8 和 R^9 各自独立选自:

[0143] $-\text{H}$;

[0144] $-\text{R}$ 。

[0145] 在一种实施方案中, 每个 R 独立选自:

[0146] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基; 经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0147] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基; 经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;

[0148] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基; 经取代的 C_{3-6} 环烷基。

[0149] 在一种实施方案中, 每个 R 独立选自:

[0150] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基; 经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基。

[0151] 在一种实施方案中, 每个 R 独立选自 $-\text{Me}$ (甲基)、 $-\text{Et}$ (乙基)、 $-\text{nPr}$ (正丙基) 和 $-\text{iPr}$ (异丙基)。

[0152] 在一种实施方案中, 每个 R 独立选自 $-\text{Me}$ 和 $-\text{Et}$ 。

[0153] 在一种实施方案中, 所述 C_{1-6} 烷基为 C_{1-4} 烷基。

[0154] 在一种实施方案中, 所述 C_{2-6} 烯基为 C_{2-4} 烯基。

[0155] 在一种实施方案中, 所述 C_{3-6} 环烷基为 C_{3-4} 环烷基。

[0156] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基的实例包括: 甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、叔戊基、新戊基、己基、异己基等。

[0157] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基的实例包括丙烯-1-基、丙烯-2-基、丁烯-1-基、丁烯-2-基、丁烯-3-基等。

[0158] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基的实例包括环丙基、环丙基-甲基、环丁基、环戊基、环己基等。

[0159] 在一种实施方案中, 所述 C_{6-10} 碳芳基为 C_6 碳芳基。

[0160] 在一种实施方案中, 所述 C_{5-10} 杂芳基为 C_{5-6} 杂芳基。

[0161] 在一种实施方案中, 所述 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基为 C_6 碳芳基- C_{1-2} 烷基。

[0162] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基的实例包括苯基、萘基。

[0163] 未经取代的 C_{5-10} 杂芳基的实例包括吡咯基、噻吩基、呋喃基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基。

[0164] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基的实例包括苄基、苄乙基。

[0165] 在一种实施方案中, 任选的取代基 (如在脂肪族 C_{1-6} 烷基上、在脂肪族 C_{2-6} 烯基上、

在 C_{3-6} 环烷基上、在 C_{6-10} 碳芳基上、在 C_{5-10} 杂芳基上、在 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基上的任选的取代基) 独立选自:

[0166] $-F$; $-Cl$; $-Br$; $-I$;

[0167] $-OH$; $-OR'$;

[0168] $-SH$; $-SR'$;

[0169] $-NO_2$;

[0170] $-C(=O)R'$;

[0171] $-C(=O)OH$; $-C(=O)OR'$;

[0172] $-C(=O)NH_2$; $-C(=O)NHR'$; $-C(=O)NR'_2$; $-C(=O)NR'^{N1}R'^{N2}$;

[0173] $-NH_2$; $-NHR'$; $-NR'_2$; $-NR'^{N1}R'^{N2}$;

[0174] $-NHC(=O)H$; $-NR'C(=O)H$; $-NHC(=O)R'$; $-NR'C(=O)R'$;

[0175] $-R'$;

[0176] 其中每个 R' 独立选自:

[0177] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基; 经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0178] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基; 经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;

[0179] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基; 经取代的 C_{3-6} 环烷基;

[0180] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基; 经取代的 C_{6-10} 碳芳基;

[0181] 未经取代的 C_{5-10} 杂芳基; 经取代的 C_{5-10} 杂芳基; 和

[0182] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基; 经取代的 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基;

[0183] 其中在每个 $-NR'^{N1}R'^{N2}$ 基团中, 独立地, R'^{N1} 和 R'^{N2} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。

[0184] 在一种实施方案中, 任选的取代基 (如在脂肪族 C_{1-6} 烷基上、在脂肪族 C_{2-6} 烯基上、在 C_{3-6} 环烷基上、在 C_{6-10} 碳芳基上、在 C_{5-10} 杂芳基上、在 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基上的任选的取代基) 独立选自:

[0185] $-F$; $-Cl$; $-Br$; $-I$;

[0186] $-OH$; $-OR'$;

[0187] $-C(=O)OH$; $-C(=O)OR'$;

[0188] $-R'$ 。

[0189] 在一种实施方案中, 任选的取代基 (如在脂肪族 C_{1-6} 烷基上、在脂肪族 C_{2-6} 烯基上、在 C_{3-6} 环烷基上、在 C_{6-10} 碳芳基上、在 C_{5-10} 杂芳基上、在 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基上的任选的取代基) 如上所定义, 不同的是 每个 R' 独立选自:

[0190] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0191] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;

[0192] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基;

[0193] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基;

[0194] 未经取代的 C_{5-10} 杂芳基;

[0195] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基。

[0196] 在一种实施方案中, 任选的取代基 (如在脂肪族 C_{1-6} 烷基上、在脂肪族 C_{2-6} 烯基上、在 C_{3-6} 环烷基上、在 C_{6-10} 碳芳基上、在 C_{5-10} 杂芳基上、在 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基上的任选的取

代基)如上所定义,不同的是每个 R' 独立选自:

[0197] 未经取代的脂肪族 C₁₋₆ 烷基;

[0198] 未经取代的脂肪族 C₂₋₆ 烯基;

[0199] 未经取代的 C₃₋₆ 环烷基。

[0200] 在一种实施方案中,任选的取代基(如在脂肪族 C₁₋₆ 烷基上、在脂肪族 C₂₋₆ 烯基上、在 C₃₋₆ 环烷基上、在 C₆₋₁₀ 碳芳基上、在 C₅₋₁₀ 杂芳基上、在 C₆₋₁₀ 碳芳基 -C₁₋₄ 烷基上的任选的取代基)如上所定义,不同的是每个 R' 独立选自:

[0201] 未经取代的脂肪族 C₁₋₆ 烷基;经取代的脂肪族 C₁₋₆ 烷基。

[0202] 在一种实施方案中,任选的取代基(如在脂肪族 C₁₋₆ 烷基上、在脂肪族 C₂₋₆ 烯基上、在 C₃₋₆ 环烷基上、在 C₆₋₁₀ 碳芳基上、在 C₅₋₁₀ 杂芳基上、在 C₆₋₁₀ 碳芳基 -C₁₋₄ 烷基上的任选的取代基)如上所定义,不同的是每个 R' 独立选自 -Me、-Et、-nPr 和 -iPr。

[0203] 在一种实施方案中,任选的取代基(如在脂肪族 C₁₋₆ 烷基上、在脂肪族 C₂₋₆ 烯基上、在 C₃₋₆ 环烷基上、在 C₆₋₁₀ 碳芳基上、在 C₅₋₁₀ 杂芳基上、在 C₆₋₁₀ 碳芳基 -C₁₋₄ 烷基上的任选的取代基)如上所定义,不同的是每个 R' 独立选自 -Me 和 -Et。

[0204] 在一种实施方案中,R¹、R²、R⁴、R⁶、R⁸ 和 R⁹ 各自独立选自 -H、-Me、-Et、-nPr 和 -iPr。

[0205] 在一种实施方案中,R¹、R²、R⁴、R⁶、R⁸ 和 R⁹ 各自独立选自 -H、-Me 和 -Et。

[0206] 在一种实施方案中,R¹、R²、R⁴、R⁶、R⁸ 和 R⁹ 各自独立选自 -H 和 -Me。

[0207] 在一种实施方案中,R¹、R²、R⁴、R⁶、R⁸ 和 R⁹ 中除 4 个基团外其它都是 -H。

[0208] 在一种实施方案中,R¹、R²、R⁴、R⁶、R⁸ 和 R⁹ 中除 2 个基团外其它都是 -H。

[0209] 在一种实施方案中,R¹、R²、R⁴、R⁶、R⁸ 和 R⁹ 中除 1 个基团外其它都是 -H。

[0210] 在一种实施方案中,R¹、R²、R⁴、R⁶、R⁸ 和 R⁹ 各自为 -H。

[0211] 氨基

[0212] 在上述每种结构式中,如果存在 -NR^{3NA}R^{3NB} 基团,则在每个 -NR^{3NA}R^{3NB} 基团中,R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立为 -H 或如上文就 R 所定义;或者 R^{3NA} 和 R^{3NB} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。

[0213] 例如在一种实施方案中,如果存在 -NR^{3NA}R^{3NB} 基团,则在每个 -NR^{3NA}R^{3NB} 基团中,R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立如上文就 R 所定义;或者 R^{3NA} 和 R^{3NB} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。

[0214] 例如在一种实施方案中,如果存在 -NR^{3NA}R^{3NB} 基团,则在每个 -NR^{3NA}R^{3NB} 基团中,R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立选自:

[0215] -H;

[0216] 未经取代的脂肪族 C₁₋₆ 烷基;经取代的脂肪族 C₁₋₆ 烷基;

[0217] 未经取代的脂肪族 C₂₋₆ 烯基;经取代的脂肪族 C₂₋₆ 烯基;

[0218] 未经取代的 C₃₋₆ 环烷基;经取代的 C₃₋₆ 环烷基;

[0219] 未经取代的 C₆₋₁₀ 碳芳基;经取代的 C₆₋₁₀ 碳芳基;

[0220] 未经取代的 C₅₋₁₀ 杂芳基;经取代的 C₅₋₁₀ 杂芳基;和

[0221] 未经取代的 C₆₋₁₀ 碳芳基 -C₁₋₄ 烷基;经取代的 C₆₋₁₀ 碳芳基 -C₁₋₄ 烷基;

[0222] 或 R^{3NA} 和 R^{3NB} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。

[0223] 例如在一种实施方案中,如果存在 -NR^{3NA}R^{3NB} 基团,则在每个 -NR^{3NA}R^{3NB} 基团中,R^{3NA}

和 R^{3NB} 各自独立选自：

- [0224] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基；经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基；
[0225] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基；经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基；
[0226] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基；经取代的 C_{3-6} 环烷基；
[0227] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基；经取代的 C_{6-10} 碳芳基；
[0228] 未经取代的 C_{5-10} 杂芳基；经取代的 C_{5-10} 杂芳基；
[0229] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基；经取代的 C_{6-10} 碳芳基- C_{1-4} 烷基；
[0230] 或 R^{3NA} 和 R^{3NB} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。
[0231] 又例如，在一种实施方案中，如果存在 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团，则在每个 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团中， R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立选自：

- [0232] $-H$ ；
[0233] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基；经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基；
[0234] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基；经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基；
[0235] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基；经取代的 C_{3-6} 环烷基；
[0236] 或 R^{3NA} 和 R^{3NB} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。
[0237] 例如在一种实施方案中，如果存在 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团，则在每个 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团中， R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立选自：

- [0238] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基；经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基；
[0239] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基；经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基；
[0240] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基；经取代的 C_{3-6} 环烷基；
[0241] 或 R^{3NA} 和 R^{3NB} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。
[0242] 又例如，在一种实施方案中，如果存在 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团，则在每个 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团中， R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立选自：

- [0243] $-H$ ；
[0244] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基；
[0245] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基；
[0246] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基；
[0247] 或 R^{3NA} 和 R^{3NB} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。
[0248] 又例如，在一种实施方案中，如果存在 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团，则在每个 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团中， R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立选自：

- [0249] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基；
[0250] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基；
[0251] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基；
[0252] 或 R^{3NA} 和 R^{3NB} 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。
[0253] 又例如，在一种实施方案中，如果存在 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团，则在每个 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团中， R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立选自 $-H$ 、 $-Me$ 、 $-Et$ 、 $-nPr$ 和 $-iPr$ 。

- [0254] 又例如，在一种实施方案中，如果存在 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团，则在每个 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 基团中， R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立选自 $-H$ 、 $-Me$ 和 $-Et$ （例如 $-NR^{3NA}R^{3NB}$ 为 $-NH_2$ 、 $-NHMe$ 、 $-NMe_2$ 、 $-NHEt$ 、 $-NEt_2$ 或 $-NMeEt$ ）。

[0255] 又例如,在一种实施方案中,如果存在 $-\text{NR}^{3\text{NA}}\text{R}^{3\text{NB}}$ 基团,则在每个 $-\text{NR}^{3\text{NA}}\text{R}^{3\text{NB}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NA}}$ 和 $\text{R}^{3\text{NB}}$ 各自独立选自 $-\text{H}$ 和 $-\text{Me}$ (例如 $-\text{NR}^{3\text{NA}}\text{R}^{3\text{NB}}$ 为 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHMe}$ 或 $-\text{NMe}_2$)。

[0256] 完全同样地,在上述每种结构式中,如果存在 $-\text{NR}^{7\text{NA}}\text{R}^{7\text{NB}}$ 基团,则在每个 $-\text{NR}^{7\text{NA}}\text{R}^{7\text{NB}}$ 基团中, $\text{R}^{7\text{NA}}$ 和 $\text{R}^{7\text{NB}}$ 各自独立为 $-\text{H}$ 或如上文就 R 所定义;或者 $\text{R}^{7\text{NA}}$ 和 $\text{R}^{7\text{NB}}$ 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。

[0257] 例如在一种实施方案中,如果存在 $-\text{NR}^{7\text{NA}}\text{R}^{7\text{NB}}$ 基团,则在每个 $-\text{NR}^{7\text{NA}}\text{R}^{7\text{NB}}$ 基团中, $\text{R}^{7\text{NA}}$ 和 $\text{R}^{7\text{NB}}$ 各自独立如上文就 R 所定义;或者 $\text{R}^{7\text{NA}}$ 和 $\text{R}^{7\text{NB}}$ 与它们所连接的氮原子一起形成具有 3-7 个环原子的环。

[0258] 在一种实施方案中,如果 $-\text{NR}^{3\text{NA}}\text{R}^{3\text{NB}}$ 和 $-\text{NR}^{7\text{NA}}\text{R}^{7\text{NB}}$ 都存在,则 $-\text{NR}^{3\text{NA}}\text{R}^{3\text{NB}}$ 和 $-\text{NR}^{7\text{NA}}\text{R}^{7\text{NB}}$ 是相同的。

[0259] 在一种实施方案中,如果 $-\text{NR}^{3\text{NA}}\text{R}^{3\text{NB}}$ 和 $-\text{NR}^{7\text{NA}}\text{R}^{7\text{NB}}$ 都存在,则 $-\text{NR}^{3\text{NA}}\text{R}^{3\text{NB}}$ 和 $-\text{NR}^{7\text{NA}}\text{R}^{7\text{NB}}$ 是不同的。

[0260] 在上述每种结构式中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立为 $-\text{H}$ 或如上文就 R 所定义。

[0261] 例如在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立如上文就 R 所定义。

[0262] 例如在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立选自:

[0263] $-\text{H}$;

[0264] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0265] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;

[0266] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基;经取代的 C_{3-6} 环烷基;

[0267] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基;经取代的 C_{6-10} 碳芳基;

[0268] 未经取代的 C_{5-10} 杂芳基;经取代的 C_{5-10} 杂芳基;

[0269] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基;经取代的 C_{6-10} 碳芳基 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基。

[0270] 例如在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立选自:

[0271] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0272] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;

[0273] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基;经取代的 C_{3-6} 环烷基;

[0274] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基;经取代的 C_{6-10} 碳芳基;

[0275] 未经取代的 C_{5-10} 杂芳基;经取代的 C_{5-10} 杂芳基;

[0276] 未经取代的 C_{6-10} 碳芳基 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基;经取代的 C_{6-10} 碳芳基 $-\text{C}_{1-4}$ 烷基。

[0277] 例如在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立选自:

[0278] $-\text{H}$;

[0279] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0280] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;和

[0281] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基;经取代的 C_{3-6} 环烷基。

[0282] 又例如,在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立选自:

[0283] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0284] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;

[0285] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基;经取代的 C_{3-6} 环烷基。

[0286] 又例如,在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立选自:

[0287] $-\text{H}$;

[0288] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0289] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;

[0290] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基。

[0291] 又例如,在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立选自:

[0292] 未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基;

[0293] 未经取代的脂肪族 C_{2-6} 烯基;

[0294] 未经取代的 C_{3-6} 环烷基。

[0295] 又例如,在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立选自 $-\text{H}$ 、 $-\text{Me}$ 、 $-\text{Et}$ 、 $-\text{nPr}$ 和 $-\text{iPr}$ 。

[0296] 又例如,在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立选自 $-\text{H}$ 、 $-\text{Me}$ 和 $-\text{Et}$ (例如 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 为 $=\text{NH}$ 、 $=\text{NMe}$ 或 $=\text{NEt}$)。

[0297] 又例如,在一种实施方案中,如果存在 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{3\text{NC}}$ 独立选自 $-\text{H}$ 和 $-\text{Me}$ (例如 $=\text{NR}^{3\text{NC}}$ 为 $=\text{NH}$ 或 $=\text{NMe}$)。

[0298] 完全同样地,在上述每种结构式中,如果存在 $=\text{NR}^{7\text{NC}}$ 基团,则在每个 $=\text{NR}^{7\text{NC}}$ 基团中, $\text{R}^{7\text{NC}}$ 独立如上文就 $\text{R}^{3\text{NC}}$ 所定义。

[0299] 氮环原子取代基

[0300] 此外,完全同样地,在上述每种结构式中,如果存在 $\text{R}^{\text{N}10}$,则 $\text{R}^{\text{N}10}$ 独立如上文就 $\text{R}^{3\text{NC}}$ (或 $\text{R}^{7\text{NC}}$) 所定义。

[0301] 例如在一种实施方案中,如果存在 $\text{R}^{\text{N}10}$,则 $\text{R}^{\text{N}10}$ 独立选自 $-\text{H}$ 和未经取代的脂肪族 C_{1-6} 烷基。

[0302] 例如在一种实施方案中,如果存在 $\text{R}^{\text{N}10}$,则 $\text{R}^{\text{N}10}$ 独立选自 $-\text{H}$ 、 $-\text{Me}$ 和 $-\text{Et}$ 。

[0303] 例如在一种实施方案中,如果存在 $\text{R}^{\text{N}10}$,则 $\text{R}^{\text{N}10}$ 独立选自 $-\text{H}$ 和 $-\text{Me}$ 。

[0304] 例如在一种实施方案中,如果存在 $\text{R}^{\text{N}10}$,则 $\text{R}^{\text{N}10}$ 独立为 $-\text{H}$ 。

[0305] 反离子

[0306] 如果存在 X^- ,则 X^- 是一个或多个阴离子性反离子 (anionic counter ion) 以实现电中性。

[0307] 合适的阴离子性反离子的实例在以下标题为“盐”的部分中描述。

[0308] 在一种实施方案中, X^- 独立为卤素阴离子 (即卤化物)。

[0309] 在一种实施方案中, X^- 独立为 Cl^- 、 Br^- 或 I^- 。

[0310] 在一种实施方案中, X^- 独立为 Cl^- 。

[0311] 在一种实施方案中, X^- 独立为 NO_3^- 。

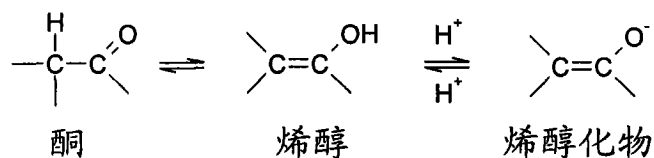
[0312] 异构体

[0313] 某些化合物可按一种或多种特定的几何异构、光学异构、对映异构、非对映异构、差向异构、阻转异构、立体异构、互变异构、构象异构或端基异构形式(anomeric 形式)存在, 这些形式包括但不限于顺式(cis)-和反式(trans)-形式; E-和 Z-形式; c-、t-和 r-形式; 内型(endo)-和外型(exo)-形式; R-、S-和内消旋-形式; D-和 L-形式; d-和 l-形式; (+)-和 (-)-形式; 酮-、烯醇-和烯醇化物(enolate)-形式; 顺式(syn)-和反式(anti)-形式; 顺错(synclinal)-和反错(anticlinal)-形式; α -和 β -形式; 直立(axial)和平伏(equatorial)形式; 船式-、椅式-、扭转式-、信封式-和半椅式-形式; 及它们的组合, 在下文中将它们统称为“异构体”(或“异构形式”)。

[0314] 应该注意的是, 除以下描述的互变异构形式外, 从本申请使用的术语“异构体”中明确排除的是结构异构体(structural isomer)(或组成(constitutional isomer))(即在原子间连接方面存在不同而不是仅在原子空间位置方面存在不同的异构体)。例如不能将指称甲氧基($-OCH_3$)解释为指称其结构异构体羟甲基($-CH_2OH$)。类似地, 不能将指称邻氯苯基解释为指称其结构异构体间氯苯基。然而当提到一类结构时, 该类结构包括落入该类结构范围内的结构异构形式(例如 C_{1-7} 烷基包括正丙基和异丙基; 丁基包括正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基; 甲氧基苯基包括邻甲氧基苯基、间甲氧基苯基和对甲氧基苯基)。

[0315] 上述排除不涉及互变异构体形式, 例如酮-、烯醇-和烯醇化物-形式, 如例如以下互变异构对那样: 酮/烯醇(如下所示)、亚胺/烯胺、酰胺/亚胺醇、脒(amidine)/脒(amidine)、亚硝基/肟、硫酮/烯硫醇、N-亚硝基/羟基偶氮基和硝基/酸式硝基。

[0316]



[0317] 应该注意的是, 术语“异构体”所特别包括的是具有一个或多个同位素取代的化合物。例如 H 可呈任何同位素形式, 包括 ^1H 、 ^2H (D) 和 ^3H (T); C 可呈任何同位素形式, 包括 ^{11}C 、 ^{12}C 、 ^{13}C 和 ^{14}C ; O 可呈任何同位素形式, 包括 ^{16}O 和 ^{18}O ; 诸如此类。

[0318] 除非另有说明, 当提到具体化合物时, 该具体化合物包括所有这些异构形式, 包括这些异构形式的(全部或部分)外消旋混合物和其它混合物。这些异构形式的制备方法(如不对称合成)和分离方法(如分级结晶和色谱法)是本领域已知的或可通过按照已知方式对本申请教导的方法或已知的方法进行调整来容易地得到。

[0319] 盐

[0320] 可能方便或需要的是制备、纯化和/或处理所述化合物的相应盐例如可药用盐。可药用盐的实例参见 Berge 等人的“Pharmaceutically Acceptable Salts” J. Pharm. Sci., 1977, Vol. 66, pp. 1-19。

[0321] 例如如果所述化合物是阴离子性或具有可以为阴离子性的官能团(例如 $-COOH$ 可以是 $-COO^-$), 则盐可用合适的阳离子来形成。合适的无机阳离子的实例包括但不限于碱金

属离子（如 Na^+ 和 K^+ ）、碱土金属阳离子（如 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ）和其它阳离子（如 Al^{3+} ）。合适的有机阳离子的实例包括但不限于铵根离子（即 NH_4^+ ）和经取代的铵根离子（如 NH_3R^+ 、 NH_2R_2^+ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+ ）。一些合适的经取代的铵根离子的实例为衍生自以下物质的那些铵根离子：乙胺、二乙胺、二环己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄基胺、胆碱、葡甲胺和氨基丁三醇以及氨基酸（如赖氨酸和精氨酸）。常见的季铵根离子的实例为 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ 。

[0322] 如果所述化合物为阳离子性或具有可以是阳离子性的官能团（例如 $-\text{NH}_2$ 可以是 $-\text{NH}_3^+$ ），则盐可用合适的阴离子来形成。合适的无机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下无机酸的那些无机阴离子：盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸和亚磷酸。

[0323] 合适的有机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下有机酸的那些有机阴离子：2-乙酰氧基苯甲酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯甲酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸、乙二磺酸、乙磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、羟乙酸、羟马来酸、羟萘甲酸、羟乙磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、粘酸、油酸、草酸、棕榈酸、扑酸（pamoic）、泛酸（pantothenic）、苯乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、对氨基苯磺酸、酒石酸、甲苯磺酸和戊酸。合适的高分子有机阴离子（polymeric organic anion）包括但不限于衍生自以下高分子酸（polymeric acid）的那些高分子有机阴离子：鞣酸、羧甲基纤维素。

[0324] 所述化合物也可呈混合盐（mixed salt）（即所述化合物与盐或另一种盐组合）的形式。例如甲基-硫堇鎓氯化物氯化锌混合盐（MTZ）是甲基-硫堇鎓氯化物（MTC）（氯化物盐）和另一种盐（即氯化锌）的混合盐。这些混合盐可被术语“及其可药用盐”所涵盖。

[0325] 除非另有说明，当提到具体化合物时，该具体化合物也包括其盐形式。

[0326] 水合物或溶剂化物

[0327] 可能方便或需要的是制备、纯化和/或处理所述活性化合物的相应溶剂化物。本申请使用的术语“溶剂化物”取其常规意义，其是指溶质（如化合物、化合物的盐）和溶剂的复合物（complex）。如果溶剂是水，则可方便地将溶剂化物称为水合物，例如一水合物、二水合物、三水合物等。

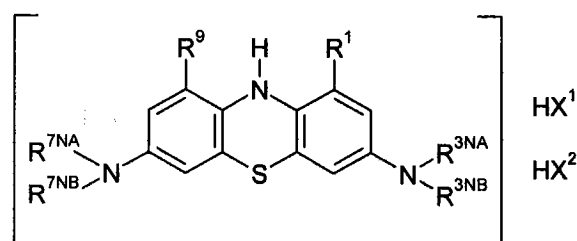
[0328] 除非另有说明，当提到具体化合物时，该具体化合物也包括其溶剂化物形式。

[0329] 在所有的实施方案中，优选的氧化的二氨基吩噻嗪是 MTC。

[0330] 优选的稳定的结晶性还原型 DAPTZ 化合物

[0331] 优选的化合物描述于先前提交的未公开的申请 PCT/GB2007/001103 中，其是具下式的 3,7-二氨基-10H-吩噻嗪化合物：

[0332]



[0333] 其中：

[0334] R^1 和 R^9 各自独立地选自： $-H$ 、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基；

[0335] R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地选自： $-H$ 、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基；

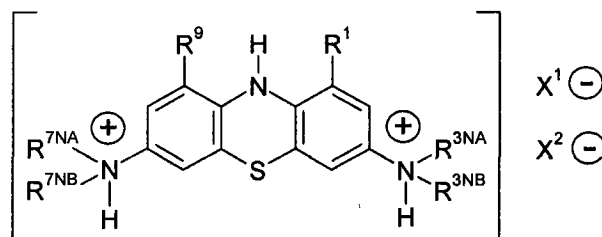
[0336] R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地选自： $-H$ 、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基；

[0337] HX^1 和 HX^2 各自独立地为质子酸；

[0338] 以及其可药用盐、溶剂化物和水合物。

[0339] 不意在受任何具体的理论限制，本发明的发明人相信所述化合物可能以下面的形式存在：

[0340]



[0341] 尽管所述 DAPTZ 化合物本身即是盐，但它们也可以以混盐的形式提供（即与另一种盐混合的 DAPTZ）。这些混盐被术语“及（或）其可药用盐”所涵盖。除非另有说明，否则当提到某特定化合物时，也包括其盐。

[0342] 所述 DAPTZ 化合物也可以溶剂化物或水合物的形式提供。本申请使用的术语“溶剂化物”具有常规含义，是指溶质（如化合物、化合物的盐）与溶剂的复合物。如果溶剂是水，则溶剂化物可便利地称为水合物，例如一水合物、二水合物、三水合物等。除非另有说明，否则当提到特定化合物时，也包括其溶剂化物。

[0343] 在一种实施方案中，所述 C_{1-4} 烷基选自：直链 C_{1-4} 烷基，例如 $-Me$ 、 $-Et$ 、 $-nPr$ 、 $-iPr$ 和 $-nBu$ （正丁基）；支链 C_{3-4} 烷基，例如 $-iPr$ 、 $-iBu$ （异丁基）、 $-sBu$ （仲丁基）和 $-tBu$ （叔丁基）；以及环状 C_{3-4} 烷基，例如 $-cPr$ （环丙基）和 $-cBu$ （环丁基）。

[0344] 在一种实施方案中，所述 C_{2-4} 烯基选自直链 C_{1-4} 烯基，例如 $-CH=CH_2$ （乙烯基）和 $-CH_2-CH=CH_2$ （烯丙基）。

[0345] 在一种实施方案中，所述卤代 C_{1-4} 烷基选自： $-CF_3$ 、 $-CH_2CF_3$ 和 $-CF_2CF_3$ 。

[0346] 基团 R^1 和 R^9

[0347] 在一种实施方案中， R^1 和 R^9 各自独立地为 $-H$ 、 $-Me$ 、 $-Et$ 或 $-CF_3$ 。

[0348] 在一种实施方案中， R^1 和 R^9 各自独立地为 $-H$ 、 $-Me$ 或 $-Et$ 。

[0349] 在一种实施方案中， R^1 和 R^9 相同。

[0350] 在一种实施方案中， R^1 和 R^9 不同。

[0351] 在一种实施方案中， R^1 和 R^9 各自独立地为 $-H$ 。

[0352] 在一种实施方案中， R^1 和 R^9 各自独立地为 $-Me$ 。

[0353] 在一种实施方案中， R^1 和 R^9 各自独立地为 $-Et$ 。

[0354] 基团 R^{3NA} 和 R^{3NB}

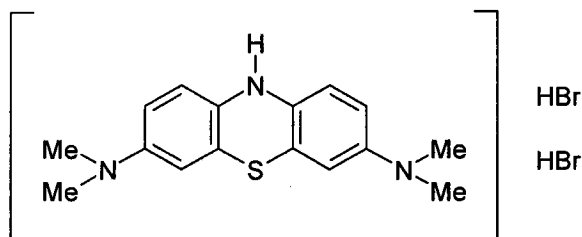
[0355] R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地选自： $-H$ 、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基。

[0356] 在一种实施方案中， R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地选自： C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基。

- [0357] 在一种实施方案中, R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地为 $-Me$ 、 $-Et$ 、 $-nPr$ 、 $-nBu$ 、 $-CH_2-CH=CH_2$ 或 $-CF_3$ 。
- [0358] 在一种实施方案中, R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地为 $-Me$ 、 $-nPr$ 、 $-nBu$ 、 $-CH_2-CH=CH_2$ 或 $-CF_3$ 。
- [0359] 在一种实施方案中, R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地为 $-Me$ 或 $-Et$ 。
- [0360] 在一种实施方案中, R^{3NA} 和 R^{3NB} 相同。
- [0361] 在一种实施方案中, R^{3NA} 和 R^{3NB} 不同。
- [0362] 在一种实施方案中, R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地为 $-Me$ 。
- [0363] 在一种实施方案中, R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地为 $-Et$ 。
- [0364] 基团 R^{7NA} 和 R^{7NB}
- [0365] R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地选自: $-H$ 、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基。
- [0366] 在一种实施方案中, R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地选自: C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基和卤代 C_{1-4} 烷基。
- [0367] 在一种实施方案中, R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 $-Me$ 、 $-Et$ 、 $-nPr$ 、 $-nBu$ 、 $-CH_2-CH=CH_2$ 或 $-CF_3$ 。
- [0368] 在一种实施方案中, R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 $-Me$ 、 $-nPr$ 、 $-nBu$ 、 $-CH_2-CH=CH_2$ 或 $-CF_3$ 。
- [0369] 在一种实施方案中, R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 $-Me$ 或 $-Et$ 。
- [0370] 在一种实施方案中, R^{7NA} 和 R^{7NB} 相同。
- [0371] 在一种实施方案中, R^{7NA} 和 R^{7NB} 不同。
- [0372] 在一种实施方案中, R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 $-Me$ 。
- [0373] 在一种实施方案中, R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 $-Et$ 。
- [0374] 在一种实施方案中, R^{3NA} 、 R^{3NB} 、 R^{7NA} 和 R^{7NB} 相同。
- [0375] 在一种实施方案中, R^{3NA} 、 R^{3NB} 、 R^{7NA} 和 R^{7NB} 如本文所定义, 条件是 R^{3NA} 、 R^{3NB} 、 R^{7NA} 和 R^{7NB} 中的至少一个不是 $-Et$ 。
- [0376] 任选的条件
- [0377] 在一种实施方案中, 所述化合物如本申请所述, 但需满足下列条件: R^{3NA} 、 R^{3NB} 、 R^{7NA} 和 R^{7NB} 不全是 $-Et$ (not each- $-Et$)。
- [0378] 在一种实施方案中, 所述化合物如本申请所述, 但需满足下列条件: 如果 R^1 和 R^9 各自为 $-H$; 则
- [0379] R^{3NA} 和 R^{3NB} 和 R^{7NA} 和 R^{7NB} 不全是 $-Et$ (not each- $-Et$)。
- [0380] 基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$
- [0381] 在一种实施方案中:
- [0382] R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地为 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基或卤代 C_{1-4} 烷基;
- [0383] R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基或卤代 C_{1-4} 烷基;
- [0384] 任选地, 条件是 R^{3NA} 、 R^{3NB} 、 R^{7NA} 和 R^{7NB} 中的至少一个不是 $-Et$ 。
- [0385] 在一种实施方案中:
- [0386] R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地为 $-Me$ 、 $-Et$ 、 $-nPr$ 、 $-nBu$ 、 $-CH_2-CH=CH_2$ 或 $-CF_3$;
- [0387] R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 $-Me$ 、 $-Et$ 、 $-nPr$ 、 $-nBu$ 、 $-CH_2-CH=CH_2$ 或 $-CF_3$;

- [0388] 任选地,条件是 R^{3NA} 、 R^{3NB} 、 R^{7NA} 和 R^{7NB} 中的至少一个不是 $-Et$ 。
- [0389] 在一种实施方案中:
- [0390] R^{3NA} 和 R^{3NB} 各自独立地为 $-Me$ 或 $-Et$;
- [0391] R^{7NA} 和 R^{7NB} 各自独立地为 $-Me$ 或 $-Et$;
- [0392] 任选地,条件是 R^{3NA} 、 R^{3NB} 、 R^{7NA} 和 R^{7NB} 中的至少一个不是 $-Et$ 。
- [0393] 在一种实施方案中,基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 相同。
- [0394] 在一种实施方案中,基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 不同。
- [0395] 在一种实施方案中,基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 各自独立地选自: $-NMe_2$ 、 $-NEt_2$ 、 $-N(nPr)_2$ 、 $-N(Bu)_2$ 、 $-NMeEt$ 、 $-NMe(nPr)$ 和 $-N(CH_2CH=CH_2)_2$ 。
- [0396] 在一种实施方案中,基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 相同,且独立地选自: $-NMe_2$ 、 $-NEt_2$ 、 $-N(nPr)_2$ 、 $-N(Bu)_2$ 、 $-NMeEt$ 、 $-NMe(nPr)$ 和 $-N(CH_2CH=CH_2)_2$ 。
- [0397] 在一种实施方案中,基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 相同,且独立地选自: $-NMe_2$ 和 $-NEt_2$ 。
- [0398] 在一种实施方案中,基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 各自为 $-NMe_2^+$ 。
- [0399] 在一种实施方案中,基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 中的至少一个不是 $-NEt_2$ 。
- [0400] 在一种实施方案中,基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 均不是 $-NEt_2$ 。
- [0401] 例如,在一种实施方案中,基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 相同,且选自: $-NMe_2$ 、 $-N(nPr)_2$ 、 $-N(Bu)_2$ 、 $-NMeEt$ 、 $-NMe(nPr)$ 和 $-N(CH_2CH=CH_2)_2$ 。
- [0402] 基团 HX^1 和 HX^2
- [0403] HX^1 和 HX^2 各自独立地为质子酸。
- [0404] 质子酸的实例包括,诸如无机酸,例如氢卤酸(例如, HCl 、 HBr 、 HI),硝酸(HNO_3),硫酸(H_2SO_4),以及有机酸,例如碳酸(H_2CO_3)和醋酸(CH_3COOH)。
- [0405] 在一种实施方案中, HX^1 和 HX^2 各自独立地为单质子酸。
- [0406] 在一种实施方案中, HX^1 和 HX^2 各自独立地为氢卤酸(即 hydrohalic acid)。
- [0407] 在一种实施方案中, HX^1 和 HX^2 各自独立地选自 HCl 、 HBr 和 HI 。
- [0408] 在一种实施方案中, HX^1 和 HX^2 相同。
- [0409] 在一种实施方案中, HX^1 和 HX^2 不同。
- [0410] 在一种实施方案中, HX^1 和 HX^2 相同,且独立地选自 HCl 、 HBr 和 HI 。在这种情况下,化合物(二氨基-吩噻嗪化合物)可便利地称作“二氨基-吩噻嗪双(氢卤酸)盐”。
- [0411] 在一种实施方案中, HX^1 和 HX^2 各自为 HCl 。在这种情况下,所述化合物可便利地称作“二氨基-吩噻嗪双(盐酸)盐”。
- [0412] 在一种实施方案中, HX^1 和 HX^2 各自为 HBr 。在这种情况下,所述化合物可便利地称作“二氨基-吩噻嗪双(氢溴酸)盐”。
- [0413] 在一种实施方案中, HX^1 和 HX^2 各自为 HI 。在这种情况下,所述化合物可便利地称作“二氨基-吩噻嗪双(氢碘酸)盐”。
- [0414] 一些优选的组合
- [0415] 在一种实施方案中:
- [0416] R^1 和 R^9 各自独立地为 $-H$ 、 $-Me$ 或 $-Et$;以及
- [0417] 基团 $-N(R^{3NA})(R^{3NB})$ 和 $-N(R^{7NA})(R^{7NB})$ 各自独立地为 $-NMe_2$ 或 $-NEt_2$ 。

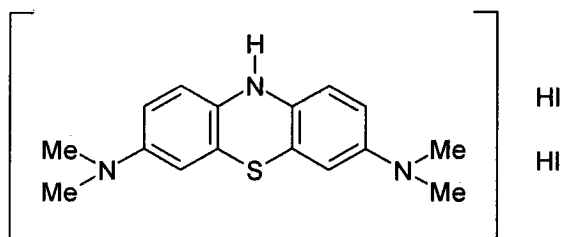
[0452]



[0453] 在一种实施方案中：

[0454] R¹ 和 R⁹ 各自独立地为 -H；以及[0455] 基团 -N(R^{3NA})(R^{3NB}) 和 -N(R^{7NA})(R^{7NB}) 各自独立地为 -NMe₂；以及[0456] HX¹ 和 HX² 各自为 HI。

[0457]

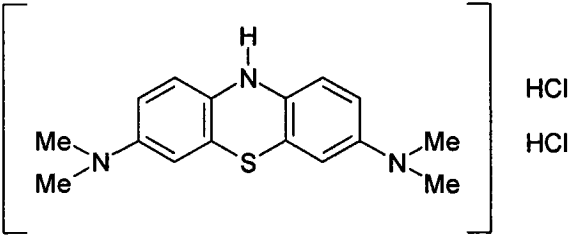
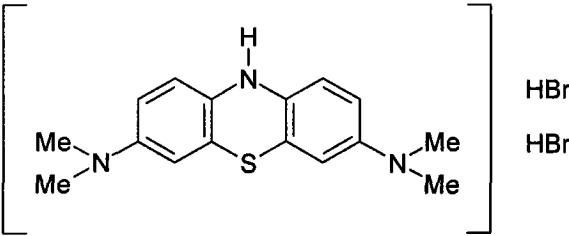


[0458] 同位素变体

[0459] 在一种实施方案中,所述化合物的一个或多个碳原子为 ¹¹C、¹³C 或 ¹⁴C。[0460] 在一种实施方案中,所述化合物的一个或多个碳原子为 ¹¹C。[0461] 在一种实施方案中,所述化合物的一个或多个碳原子为 ¹³C。[0462] 在一种实施方案中,所述化合物的一个或多个碳原子为 ¹⁴C。[0463] 在一种实施方案中,所述化合物的一个或多个氮原子为 ¹⁵N。[0464] 在一种实施方案中, R^{3NA}、R^{3NB}、R^{7NA}、R^{7NB}、R¹、R⁹ 和 R¹⁰ 中的一个或多个或所有基团的一个或多个或所有碳原子为 ¹¹C (或 ¹³C) (或 ¹⁴C)。[0465] 在一种实施方案中, R^{3NA}、R^{3NB}、R^{7NA} 和 R^{7NB} 中的一个或多个或所有基团的一个或多个或所有碳原子为 ¹¹C (或 ¹³C) (或 ¹⁴C)。[0466] 在一种实施方案中, -N(R^{3NA})(R^{3NB}) 基团和 -N(R^{7NA})(R^{7NB}) 基团相同, 并且为 : -N(¹¹CH₃)₂ (或 -N(¹³CH₃)₂) (或 -N(¹⁴CH₃)₂)。

[0467] 在一种实施方案中,所述化合物选自下述化合物及其可药用盐、溶剂化物和水合物。

[0468]

1	
2	

[0469] 本发明的其它方面

[0470] 每当本申请披露了任何治疗方法时,本申请也披露了:用于该治疗方法的 DAPTZ 化合物以及 DAPTZ 化合物在制备用于所述治疗的药物的用途。本文所描述的相应的实施方案、优先选择和区别处理,在作出必要的修正后,可适用于这些方面。

[0471] 因此,本发明典型地提供了:

[0472] 用于治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法的 DAPTZ 化合物,其中所述障碍是可用所述 DAPTZ 化合物治疗的障碍,该方法包括对所述患者口服施用包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分的剂量单位,其中所述剂量单位在标准条件下于 30 分钟内释出至少 50% 的所述活性成分。

[0473] 用于治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法的 DAPTZ 化合物,其中所述障碍是可用所述 DAPTZ 化合物治疗的影响的障碍,该方法包括对所述患者口服施用包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分的剂量单位,其中所述剂量单位是胃滞留的。

[0474] 用于治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法的 DAPTZ 化合物,其中所述障碍是可用所述 DAPTZ 化合物治疗的影响的障碍,该方法包括对所述患者口服施用包含呈稳定结晶还原形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分的剂量单位;

[0475] DAPTZ 化合物在制备用于治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法的药物剂量单位中的用途,其中所述障碍是可用所述 DAPTZ 化合物治疗的影响的障碍,该方法包括对所述患者口服施用包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分的剂量单位,其中所述剂量单位在标准条件下于 30 分钟内释出至少 50% 的所述活性成分;

[0476] DAPTZ 化合物在制备用于治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法的药物剂量单位中的用途,其中所述障碍是可用所述 DAPTZ 化合物治疗的影响的障碍,该方法包括对所述患者口服施用包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分的剂量单位,其中所述剂量单位是胃滞留的;

[0477] DAPTZ 化合物在制备用于治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的方法的药物剂量单位中的用途,其中所述障碍是可用所述 DAPTZ 化合物治疗的影响的障碍,该方法包括对所述患者口服施用包含呈稳定结晶还原形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分的剂量单位;

[0478] 在一方面本发明提供一种用于治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的药物单位,其中

所述障碍是用 DAPTZ 化合物可治疗的障碍,其剂量单位包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分,并且其中所述剂量单位在标准条件下于 30 分钟内释出至少 50% 的所述活性成分。所述剂量单位可包含例如 40、45、50、55、60、65、70、100 或 120mg 的所述 DAPTZ 化合物。

[0479] 在一方面本发明提供一种用于治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的药物单位,其中所述障碍是可用 DAPTZ 化合物治疗的障碍,其剂量单位包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分,并且其中所述剂量单位是胃滞留的。所述剂量单位可包含至少 50、60、70、80、90 或 100mg,或者更多例如 200、300、400、500mg 的所述 DAPTZ 化合物。

[0480] 在一方面本发明提供一种用于治疗患者的认知障碍或 CNS 障碍的药物单位,其中所述障碍是可用 DAPTZ 化合物治疗的障碍,其剂量单位包含呈稳定结晶还原形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性成分,其剂量如上所述(例如 100、200、300、400、500、600、700、800、900 或 1000mg),且溶出速率如上所述(例如在 1 小时、2 小时、3 小时、4 小时或 5 小时内 < 50%)。

[0481] 本发明还提供了一种包含所述单元的药品,其伴随有说明该药品用于治疗所述疾病的标签,内含一个或多个剂量单位的容器,所述剂量单位各自包含至少一种可药用赋形剂以及分离纯的所述二氨基吩噻嗪鎓化合物作为活性成分。

[0482] 配体

[0483] 本发明还预期了其它作为诊断或预后指示剂的用途,例如作为用于标记脑内蛋白质聚集体的配体。本申请中对认知作用(取决于脑内浓度)与负面的血液学作用(推定来源于二聚体形成)的发现也暗示了作为配体的用途。

[0484] 这些 DAPTZ 化合物(配体)可以包含(incorporate)、缀合(conjugated to)、螯合(chelated to)或缔合(associated with)其它化学基团,所述其它化学基团例如稳定的或不稳定的可检测同位素、放射性同位素、发射正电子的原子(positron-emitting atoms)、磁共振标记(magnetic resonance labels)、染料、荧光标志物、抗原性基团(antigenic groups)、治疗性部分(therapeutic moieties)或其它任何可有助于预后、诊断或治疗用途的部分。

[0485] 例如,在一种实施方案中,所述 DAPTZ 化合物如上所定义,但是附加的限定是将所述化合物包含、缀合、螯合或缔合有一个或多个(如 1、2、3、4 个等)可检测标记,所述可检测标记例如同位素、放射性同位素、发射正电子的原子、磁共振标记、染料、荧光标志物、抗原性基团或治疗性部分。

[0486] 在一种实施方案中,所述 DAPTZ 化合物既是配体,也是标记,如针对 τ 蛋白(或聚集的 τ 蛋白)的标记,并且包含、缀合、螯合或缔合有一个或多个(如 1、2、3、4 个等)可检测标记。

[0487] 例如,在一种实施方案中,所述 DAPTZ 化合物如上所定义,但是附加的限定是所述化合物包含、缀合、螯合或缔合有一个或多个(如 1、2、3、4 个等)可检测标记。

[0488] 经标记的 DAPTZ 化合物(例如,当配合于 τ 蛋白或聚集的 τ 蛋白时)可以通过任何合适的手段加以显现或检测,本领域技术人员能够理解的是可使用任何本领域已知的合适检测手段。

[0489] 例如,所述 DAPTZ 化合物(配体-标记)可通过如下方法合适地检测:包含发射正

电子的原子（例如 ^{11}C ）（例如作为一个或多个烷基取代基，如甲基取代基，中的碳原子），并用本领域已知的正电子发射断层扫描术（PET）对所述化合物进行检测。

[0490] 上述 ^{11}C 标记的 DAPTZ 化合物可通过按已知方式调整本文所述的方法来制备，例如类似于 WO 02/075318（参见图 11a、11b、12）和 WO 2005/030676 中所述的方法。

[0491] 因此，在一方面，本申请公开了一种在患者的脑内标记与神经变性障碍相关的聚集的疾病蛋白的方法，其中所述聚集的疾病蛋白是能被 DAPTZ 化合物标记的蛋白质，

[0492] 该方法包括对所述患者口服施用包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性标记成分的剂量单位，

[0493] 其中所述剂量单位在标准条件下于 30 分钟内释出至少 50% 的所述活性成分。

[0494] 在另一方面，本申请公开了一种在患者的脑内标记与神经变性障碍相关的聚集的疾病蛋白的方法，其中所述聚集的疾病蛋白是能被 DAPTZ 化合物标记的蛋白质，

[0495] 该方法包括对所述患者口服施用包含呈氧化形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性标记成分的剂量单位，

[0496] 其中所述剂量单位是胃滞留的。

[0497] 在另一方面，本申请公开了一种在患者的脑内标记与神经变性障碍相关的聚集的疾病蛋白的方法，其中所述聚集的疾病蛋白是能被 DAPTZ 化合物标记的蛋白质，

[0498] 该方法包括对所述患者口服施用包含呈稳定结晶还原形式的所述 DAPTZ 化合物作为活性标记成分的剂量单位。

[0499] 优选的聚集的疾病蛋白、DAPTZ 化合物和神经变性障碍在本文的其它部分进行了讨论。

[0500] 所述方法可进一步包括测定与所述聚集蛋白结合的所述化合物的存在与否和 / 或其量的步骤。本发明的另一方面涉及诊断或预后所述神经变性障碍的方法，该方法还包括对所述测定的结果与受试者的疾病状态进行关联的步骤。

[0501] 每当本申请披露了任意的标记、诊断或预后方法时，本申请也披露了：用于该方法的 DAPTZ 化合物以及 DAPTZ 化合物在制备用于所述方法的诊断或预后指示剂中的用途。对本文所述的相应的实施方案、参数选择和区别处理作出必要的修正后，可适用于这些方面。

[0502] 在整个说明书（包括随附权利要求书）中，除非另有说明，术语“包含”或“包括”应理解为意在包括所指出的整数或步骤或者整数组或步骤组，同时也不排除任何其它整数或步骤或者整数组或步骤组。

[0503] 必须指出的是，除非另有说明，说明书和随附权利要求书中出现的名词包括其单数和复数形式。因此，例如“药物载体”包括两种或多种所述载体的混合物，依此类推。

[0504] 本文中的范围通常表达为从“约”一具体数值和 / 或至“约”另一具体数值。当用这样的范围进行表达时，另一个实施方案包括从所述一具体值和 / 或至所述另一具体值。类似地，当数值通过使用前缀“约”来表达成近似值时，应该理解的是，所述具体数值形成另一个实施方案。

[0505] 本文清楚地公开了上述实施方案的所有可兼容的组合，犹如已对各组合具体和单独地阐述。

[0506] 本文中的任何副标题的使用仅仅出于方便，不应理解成对公开内容的任何限制。

[0507] 现通过参考以下非限制性附图和实施例来进一步描述本发明。本领域技术人员根

据这些内容可想到本发明的其它实施方案。

[0508] 因为本领域技术人员可能使用本申请引用的所有参考文献所披露的内容来实施本发明,所以通过交叉引用将这些内容具体地并入本申请。

附图说明

[0509] 图 1:TRx-014-001 和 TRx-014-009 临床试验研究设计。数值对应于在研究的各阶段的患者。323 个患者接受基础研究,随机选取 1 个受试者不给予药物治疗。用所指出的 MTC 或安慰剂治疗受试者。在 24 周和 50 周之后,受试者继续进入 2 个扩展试验 (E1 和 E2),然后继续进行试验 TRx-014-009。由于道德上的原因,首 24 周内服用安慰剂的患者在 E1 中给予 100mg bd。“tid”是指给药频率为 3 次/天,而“bd”是指给药频率为 2 次/天。

[0510] 图 2:CDR- 中度受试者在 24 周时的治疗响应。对于此图,“安慰剂”的标记约定是指安慰剂,“低”是指低剂量 (100mg) 给药 3 次/天 (参见脚注,表 1);“30mg”是指 30mg 给药 3 次/天;“60mg”是指 60mg 给药 3 次/天。

[0511] 图 3:利用 SPECT 进行功能性脑显像可观察 rember™ 的治疗效果的比较。降低的局部脑血流量 (rCBF) 显现为脑内各处的白色区域。

[0512] (1)SPM 分析显示在用安慰剂治疗的受试者中就诊 4 具有比就诊 1 显著更少的 rCBF 的区域。差别阈限 $p < 0.005$,多重比较矫正的 $p < 0.05$,容量成分 (voxel) 和聚类 (cluster) 显著性。R = 右, L = 左, A = 前, P = 后。各组上部的一对分别代表前 (左) 和后 (右) 视图。

[0513] (2)SPM 分析显示在用以 30mg 或 60mg tid 给药 rember™ 治疗的受试者中不存在就诊 4 具有比就诊 1 显著更少的 rCBF 的区域。差别阈限 $p < 0.005$,多重比较矫正的 $p < 0.05$,容量成分和聚类显著性。

[0514] (3) 在用安慰剂治疗的 CDR- 轻度受试者与用以 30mg 或 60mg tid 给药 rember™ 治疗的受试者中,在基线与就诊 4 之间的衰退呈依赖治疗性差异的位置。差别阈限 $p < 0.005$,多重比较矫正的 $p < 0.05$,容量成分和聚类显著性。

[0515] 图 4:相对于基线的 ITT/OC ADAS-cog 变化及拟合曲线。对于此图,“plac low”的标记约定是指起初随机被选取并给予安慰剂然后在 24 周之后转换为 100mg 给药 2 次/天的受试者,“low”是指低剂量 (100mg) 给药 3 次/天,“30mg”是指 30mg 给药 3 次/天,“60mg”是指 60mg 给药 3 次/天。

[0516] 图 5:在模拟的肠液 (intestinal fluid) 中初始溶解和在 24 个月储藏之后溶解的胶囊溶出。100mg 胶囊的溶出比 30mg 胶囊慢,该差异随制造后的时间的增长而增大。

[0517] 图 6A:rember™ 抑制了成核现象和自催化的 τ 蛋白聚集。

[0518] 图 6B:rember™ 开启了新的针对 τ 蛋白聚集体的清除通路。

[0519] 图 7:溶出时间与相对的认知作用和血液学作用之间的关系。溶出%为基于下面的计算进行调整的 α :

[0520] 首先求出各标称剂量相对于 50 周时观察到的最大的 ADAS-cog 作用大小在 50 周时的 ADAS-cog 作用大小的归一化的值,作为认知活性指数 (CI);其中利用线性最小二乘估计作用大小。相应的血液学活性指数 (HI) 表示为各标称剂量相对于观察到的最大的红细胞作用大小在 24 周时的红细胞数变化的归一化值。针对认知选择 50 周的时间点和针对血

液学作用选择 24 周的时间点,这是因为相应的作用在这些时间最大。相对认知活性表示为 $CI/(CI+HI)$ 的形式,相对血液学活性表示为 $HI/(CI+HI)$ 的形式,并且将这两相对活性相对于其相应的各剂量上的最大值 (corresponding maxima across doses) 归一化。采用类似的计算表示在胶囊强度之间的溶出差异最大时,在 30 分钟以前或以后溶液中可用的 MTC 相对于总的 MTC 的相对百分数 (基于 24 月龄的胶囊的溶出数据)。明确计算的关系式如下所示:

$$[0521] \quad \frac{\alpha CI}{\alpha CI + (1-\alpha)HI} \cong \frac{D_{30}}{D_{total}} \dots\dots\dots (1)$$

$$[0522] \quad \frac{(1-\alpha)HI}{\alpha CI + (1-\alpha)HI} \cong \frac{(1-D_{30})}{D_{total}} \dots\dots\dots (2)$$

[0523] 其中 α 是关联 CI 单位与 HI 单位的比例参数 (通过最小二乘估计定为 0.645), D_{30} 是在 30 分钟时从 24 月龄胶囊提供的总的可用 MTC 的百分数, D_{total} 是最终溶解的总的标称剂量。

[0524] 图 8:50 周时隐含的剂量响应关系。利用线性最小二乘估计计算的在 50 周时的作用大小。可从 100mg 胶囊得到的有效治疗剂量等价于大约 25mg 的剂量,这说明该胶囊不容许标称剂量的成比例地递送与以治疗活性形式的吸收。

[0525] 图 9:在按指定的日剂量口服 14 天 MTC 和 L-MTx 的大鼠中主要的红细胞参数的差异。差异显示为 L-MTx 相对于 MTC 观察到的变化。例如在 150mg/kg L-MTx 的剂量,红细胞数增加了 $> 1 \times 10^6/\mu L$ 且细胞平均血红蛋白浓度增加了 3pg/dL。数据的统计分析示于表 4 中。简称和单位:RBC:红细胞数, $10^6/\mu L$;HB:血红蛋白, g/dL;MCV:平均细胞体积, fL;MCHC:细胞平均血红蛋白浓度, g/dL;RETI:网状细胞数, 占红细胞的%。

[0526] 图 10:7 位成人受试者在 10mg 口服剂量之后的氧化型 MTC (Ox-MT) 的平均尿排泄速率 (均值,标准误差) (来自 DiSanto and Wagner,1972b)。

[0527] 图 11:7 位成人受试者在 10mg 口服剂量之后的白色 -MT (L-MT) 的平均尿排泄速率 (均值,标准误差) (来自 DiSanto and Wagner,1972b)。

[0528] 图 12:10mg 口服剂量的 Ox-MTC 之后的尿排泄速率。

[0529] 图 13:10mg 口服剂量的 L-MT 之后的尿排泄速率。

[0530] 图 14:静脉给药 100mg MTC 之后全血中的 Ox-MT 浓度 (来自 Peter 等人,2000)。

[0531] 图 15:在口服 100mg MTC (实心圆圈) 或者口服 100mg MTC 以及 800mg 的 Mesna (空心圆圈) 之后全血中的 Ox-MT 浓度 (均值,标准误差) (来自 Peter 等人,2000)。

[0532] 图 16:基于口服之后 T- 无穷时总 MT (即 Ox-MT+L-MT) 的排泄表观生物利用度的估算,在图中曲线通过下面的经验方程拟合:

$$[0533] \quad \text{尿中的回收率} = 88.9 - (88.9 \times \text{剂量}) / (69.7 + \text{剂量})$$

[0534] 注意:相对于 Peter 等人报道的 100mg 剂量结果 (为预测 48 小时的排泄进行校正) 低于预测的值 (标为“P”)。

[0535] 图 17:在静脉注射 (黑柱) 和口服 (灰柱) MTC 之后的指定时间间隔的总 MTC ($\mu mol/h$) 的尿排泄速率。均值,标准误差, $n = 7$ (来自 Peter 等人,2000)。

[0536] 图 18:模型的第一阶段:拟合单次静脉给药 100mg MTC 之后的血浓度数据以及在 10mg MTC 的单次口服剂量之后的经缩放的尿排泄数据。

[0537] 图 19 :对静脉给药之后观察到的血浓度数据 (来自 Peter 等人 (表 7)) 与图 18 中所示的模型的预测结果的拟合。

[0538] 图 20 :对单次口服剂量 10mg MTC 之后观测到的经缩放的 Ox-MT 的尿排泄 (来自 DiSanto and Wagner (表 5)) 与模型的单次静脉给药 MTC(100mg) 之后 (图 18 所示) 的预测结果的拟合。

[0539] 图 21 :对单次口服剂量 10mg MTC 之后观测到的经缩放的 L-MT 的尿排泄 (来自 DiSanto and Wagner (表 5)) 与模型的单次静脉给药 MTC(100mg) 之后 (图 18 所示) 的预测结果的拟合。

[0540] 图 22 :模型的第二阶段 :对单次口服剂量 100mg MTC 之后的血浓度数据与单次口服剂量 10mg MTC 之后的经缩放的尿排泄数据拟合。

[0541] 图 23 :对口服之后观察到的血浓度数据 (来自 Peter 等人 (表 7)) 与图 22 中所示的模型的预测结果的拟合。

[0542] 图 24 :对单次口服剂量 10mg MTC 之后观测到的经缩放的 Ox-MT 的尿排泄 (来自 DiSanto and Wagner (表 5)) 与模型的单次口服剂量 MTC(100mg) 之后 (图 22 中所示) 的预测结果的拟合。

[0543] 图 25 :对单次口服剂量 10mg MTC 之后缩放的观测到的 L-MT 的尿排泄 (来自 DiSanto and Wagner (表 5)) 与模型的单次口服剂量 MTC(100mg) 之后 (图 22 中所示) 的预测结果的拟合。

[0544] 图 26 :对于相同的时间间隔, Peter 等人报道的总 MT 的平均尿排泄速率与图 22 中所示的口服模型的预测结果的比较。图示了 24 小时内的总排泄的比较。

[0545] 图 27 :该图再现了图 16, 但是包括 MTC 排泄的模型预测 (“M”)。与 Peter 等人报道的估计值相比 (“P”), 模型值更接近于来自其它研究的预测值。

[0546] 图 28 :该图显示了 C2 (血液)、C4 和 C3 的口服模型的输出相对于它们相应的最大值的重新缩放。这些与一个应用于在单次口服剂量之后猪脑中的 MT 的测量水平的三指数模型 (trixponential model) 进行了比较。

[0547] 图 29 :显示了观察到的 rember™ 临床功效与在 C3 中 3 次 / 天给药方案的 MT 的预测平均稳态水平之间的关系。还显示了在 C3 中 2 次 / 天和 1 次 / 天的给药方案的 MT 的预测的稳态水平。

[0548] 图 30 :显示了观察到的 rember™ 临床功效与在 C2 中 3 次 / 天给药方案的 MT 的预测平均稳态水平之间的关系。还显示了在 C2 中 2 次 / 天和 1 次 / 天的给药方案的 MT 的预测的稳态水平。

[0549] 图 31A :观察到的作用大小与预测的作用大小之间的差异作为在 30 分钟时胶囊溶出百分数的函数。胶囊溶出通过在标准 US/EU 药典溶出条件下释出进入含水相的 MTC 的量确定。

[0550] 图 31B :在中央区室 (central compartment) (C2, 即血液) 中 MT 的预测稳态水平与在 24 周时观察到的红细胞损失 (表示为相对于正常范围的变化分数) 之间的关系。

[0551] 图 32 :基于尿排泄数据的实际剂量 (“dose”) 和有效剂量 (“eff dose”) 之间的关系。

[0552] 图 33 :预测的 MTC 和 L-MTx 吸收分数的比较, 假定 L-MTx 形式的给药消除了来自

胃（即，图 22 中的 C1）的非吸收。

[0553] 图 34：针对从 1 次 / 天至 3 次 / 天不等的给药方案，甲基硫堇鎘部分的基于 L-MTx 形式的预测临床功效与在 C3 中 MT 的预测平均稳态水平之间的关系。

[0554] 图 35：针对从 1 次 / 天至 3 次 / 天不等的给药方案，甲基硫堇鎘部分的基于 L-MTx 形式的预测临床功效与在 C2（血液）中 MT 的预测平均稳态水平之间的关系。

[0555] 图 36：TRx-014-001 试验中所用的胶囊制剂中的 MTC 对红细胞损失的影响的剂量响应关系的观察结果和对基于 MTC 以及甲基硫堇鎘药品的基于 L-MTx 形式的预期剂量响应关系，以 3 次 / 天频率按指出的剂量给药。

[0556] 图 37：如实施例 12 中所述的用于阿尔茨海默病进展和治疗的多种定量模型。

[0557] 图 38：1 次 / 天的缓释制剂的基于 L-MTx 的制备物的预期临床功效与剂量的关系。

[0558] 图 39： τ 蛋白聚集途径的不同位点的抑制剂的不同作用。左边的示意图示出了 τ 蛋白进入 τ 蛋白聚集途径的抑制位点（输入）以及该途径中 τ 蛋白聚集体的清除提高的位点。在右区显示了这两位点处的变化对神经元中的 PHF 水平的影响。输入的抑制起初降低了 PHF 水平，随后 PHF 形成速率恢复到以前水平。然而， τ 蛋白聚集体的清除的提高引起聚集的 τ 蛋白的水平稳步下降。

[0559] 图 40：阿尔茨海默病中 τ 蛋白聚集及其清除。 τ 蛋白低聚物可组装成丝状 PHF 和 / 或进入核内质 - 溶酶体清除通路。

实施例

[0560] 实施例 1-2 期临床试验 TRx-014-001

[0561] 概述

[0562] 利用其中 MTC 作为有效药物成分 (API) 的试验药 (IMP)，进行了 50 周 2 期探索性寻找剂量范围的研究用于治疗轻度和中度的阿尔茨海默类型痴呆。该研究是随机、双盲的、安慰剂对照的研究，其主要目的是调查三种剂量 (30、60 和 100mg，各自 3 次 / 天) 的 MTC 与安慰剂相比对认知能力的作用（通过 ADAS-cog 量表测量：阿尔茨海默病评定量表 - 认知子量表 (subscale)）。有 322 个随机化的受试者，其中 245 个 (74%) 完成了首 24 周的治疗。这 245 个当中，227 个 (93%) 选择继续治疗另外 6 个月，该 227 个当中 177 个 (78%) 于 2007 年 7 月 2 日完成了 50 周的治疗。最后的分析包括完成了 24 周治疗的 245 个受试者与于 2007 年 7 月 2 日完成了 50 周治疗的 177 个受试者的 ITT/OC（治疗意向 / 观察到的案例）群体的分析。研究设计总结于图 1 中。由于道德上的原因，在首 6 个月阶段最初随机化服用安慰剂的受试者转换为在该研究的第二个 6 个月扩展阶段（“E1”）中 100mg 剂量。

[0563] 24 周分析

[0564] 初步预定的结果是在 24 周时采用协方差方法分析对相对于基线的 ADAS-cog 变化的 ITT/OC 分析，其包括对 rember™ 治疗效果与用 CDR（临床痴呆评定量表）定义的基线严重程度之间的相互作用的评价。该分析表明以 60mg tid 给药 rember™ 的积极效果，其在 ITT/OC 和 ITT/LOCF（治疗意向 / 最近一次观察结转 (Last Observation Carried Forward)）群体中均达到了统计显著。发现基线的 CDR 严重程度是非常重要的辅助因子，并且当其包含在模型中时显示 24 周时 rember™ 的效果仅在基线为 CDR 中度的受试者中是显著的。在服用安慰剂的 CDR 轻度受试者中没有衰退，这阻止了该组中首个 24 周内的功效分析。然而，

rember™在该组中的功效在通过 24 周时功能性脑扫描分析以及通过 50 周时的 ADAS-cog 得到了确认。

[0565] 表 1. 在 CDR- 中度受试者中 24 周时 ADAS-cog 作用大小（以 ADAS-cog 单位计）

[0566]

剂量 ⁽¹⁾	估计值	95% CI	p- 值 ⁽²⁾
低剂量 (100mg)	-0.42	-4.24, 3.40	0.826
30mg	-4.02	-7.30, -0.74	0.0172
60mg	-5.41	-9.31, -1.52	0.0073

[0567] 1. 100mg 剂量称为“低剂量 (100mg)”以说明在其目前的制剂中 100mg 胶囊的治疗功效与标称剂量不对应。

[0568] 2. p- 值来自一项考察值是否显著不同于安慰剂的试验。

[0569] 在针对 ITT/OC 群体的基线处为 CDR 中度的亚组的分析中（图 2），60mg tid 剂量的 rember™的作用大小为 -5.4 ADAS-cog 单位和 3.4 MMSE（微精神状态检查，Mini-Mental State Examination）单位（MMSE 数据未示出）。用安慰剂治疗的受试者下降了 5.1 个 ADAS-cog 单位，而在用在以 30mg 或 60mg tid 剂量 rember™治疗 24 周的受试者中没有下降的迹象。非认知结果变量（它们测量精神病学障碍和日常生活技能活动）也确认了 rember™在中度组中稳定疾病的性质和功效大小。接受 60mg tid 剂量的 rember™的受试者在 24 周时相对于安慰剂显示 1.4-1.9 单位的作用大小（基于 CGIC 量表（Clinical Global Impression of Change Scale），由不知晓其它结果量度的临床评定者记录）。对于服用 60mg 剂量 rember™的受试者，其 CGIC 无衰退的优势比较之安慰剂好 9 倍。CDR- 箱子总数参数（另一整体临床量度）显示了 -1.7 个单位的效益。最后，在日常生活活动的 ADFACS（阿尔茨海默病功能性评定量表）量度上，60mg 剂量 rember™显示了显著的效益，在 24 周时间内的作用大小为 3.1 ~ 6.1 单位。在 24 周时所有的心理测量学分析中，100mg 胶囊显示最小的功效，这与下面将进一步讨论的该剂量强度的胶囊的制剂缺陷相符。

[0570] 所述 100mg 剂量称为“低剂量 (100mg)”以说明在其目前的制剂中 100mg 胶囊的治疗功效与标称剂量不对应。这将在下面的实施例中进一步地讨论。

[0571] 功能性脑扫描分析

[0572] 通过分析 135 个受试者（他们已经历了平均间隔 6 个月的两两 SPECT 扫描）中的功能性脑扫描变化（图 3），独立地确认了 24 周内的衰退阻止（prevention of decline over 24 weeks）。接受安慰剂的受试者显示脑的额区和颞顶区的预期退化模式，而接受 30mg 或 60mg 剂量 rember™的受试者在任何脑区中均未显示出出现退化的迹象。当单独检查在基线处为 CDR- 轻度的亚组时，在接受安慰剂的受试者中 6 个月内也存在显著衰退的迹象，总计损失 8% 的功能性神经元体积（functioning neuronal volume）。在整个群体中观察到的治疗效果也可在 CDR- 轻度亚组中观察到，这表明 rember™在 CDR- 轻度 AD 中的功效。6 个月期间内在轻度亚组中存在进行性功能衰退的客观证据而没有任何的心理测量学量表上的衰退的相应证据的事实，确认了在轻度 AD 中认知储备（cognitive reserve）具有强的致混淆影响。总的来说，尽管存在该效应，SPECT 扫描显示的基线功能性缺陷与

基线 ADAS-cog 得分高度相关,而 ADAS-cog 量表显示的 rember™ 治疗的效益同样与 SPECT 扫描显示的功能上的效益相关。功能性脑扫描所观察到的 rember™ 的作用强烈暗示了, rember™ 逆转 τ 蛋白聚集病理学(已知 τ 蛋白聚集病理学发生在与那些显示功能性脑扫描缺损的脑区相同的区)的能力,是其阻止在相同区内皮质脑功能衰退的能力的原因。考虑到 SPECT 在检测衰退和治疗效果方面具有较高的敏感性并具有预测治疗响应的能力(参见下面的 50 周分析),我们的结论是 SPECT 可以在将来旨在揭示疾病缓解手段(disease modification)的临床试验中充当替代或代理标志。

[0573] 50 周分析

[0574] 50 周研究扩展和确认了 24 周研究的发现,并显示了在总的 ITT/OC 和 ITT/LOCF 群体中在 CDR-轻度和 CDR-中度受试者中显著的效益(图 4;表 2 和 3)。最初被随机化到安慰剂组的受试者在 24 周后转换为低剂量(100mg)给药 2 次/天。这称为“安慰剂-低剂量”治疗臂(arm)。由于在首个 24 周治疗期间所述“低剂量”(100mg)就任何心理测量学量表而言功效均为最小,方便地将安慰剂-低治疗臂作为 50 周研究的最小暴露剂量比较器臂。

[0575] 在用安慰剂治疗的受试者中在 50 周研究期间观察到的平均衰退为 7.8ADAS-cog 单位(图 4)。对于用 60mg tid 剂量的 rember™ 治疗的受试者,50 周期间观察到的衰退在受试者的 ADAS-cog 量表或 MMSE 量表上与 0 差别不显著。在 ADAS-cog 量表上,约 60%的受试者在 50 周时得到了改善或保持。在 MMSE 量表上,62%的受试者在 50 周时得到了改善或保持。服用 60mg 剂量的患者在上述两种量表中的任一量表上不衰退的几率好于安慰剂-低剂量约 3.4 倍。在 50 周试验期间相应的作用大小是 -6.8ADAS-cog 单位和 3.2MMSE 单位。除了上述对疾病进展的作用,在 60mg 剂量还存在初期症状改善:在 15 周时有 1.6ADAS-cog 单位和 0.8MMSE 单位的改善,与使用 AChE 抑制剂所观察到的效果可以比拟。

[0576] 表 2. 在 50 周时由混合作用分析推断出的作用大小(以 ADAS-cog 为单位)

剂量	估计值	95% CI	p-值 ⁽¹⁾
“低剂量(100mg)”	-4.04	-7.21, -0.87	0.0124
30mg	-3.87	-6.90, -0.84	0.0126
60mg	-6.78	-9.74, -3.82	<0.0001
1. p-值来自用于确定值是否显著不同于安慰剂的试验。			

[0578] 表 3:在 50 周时由最小二乘法分析推断出的作用大小(以 ADAS-cog 为单位)

剂量	估计值	95% CI	p-值 ⁽¹⁾
“低剂量(100mg)”	-3.59	-5.81, -1.37	0.0015
30mg	-4.37	-6.83, -1.92	0.0005
60mg	-6.50	-8.89, -4.14	<0.0001
1. p-值来自用于确定值是否显著不同于安慰剂的试验。			

[0580] CDR-轻度受试者 50 周内安慰剂-低臂中在非认知量表上没有衰退。CDR-中度受试者在 50 周时的非认知结果确认了 24 周分析的发现。NPI(神经精神调查表, Neuropsychiatric Inventory)表明 rember™ 治疗 50 周的效益。尽管安慰剂-低剂量臂的受试者在患者-障碍量表上衰退了 9.6 单位和在护理者痛苦(carer-distress)量表上

衰退了 4.9 单位,但是在用 rember™ 持续治疗 50 周的受试者中未观察到这样的衰退,相应的最好作用大小为 -9.2 单位和 -4.6 单位。

[0581] 相对于低剂量 (100mg) 臂,安慰剂 - 低剂量臂提供了与延迟开始设计 (delayed start design) 的近似模拟,从而确认了 rember™ 在形式调节 (formal regulatory) 的意义上是疾病缓解性的。晚些开始接受具有最小表观治疗功效 (通过 ADAS-cog 在最初的 24 周判断) 的剂量的受试者在 50 周时相对于一直接受低剂量 (100mg) 的受试者保持显著的不同。此外,持续接受低剂量 (100mg) 的受试者显示了疾病进展速度的减缓。尽管在两种臂之间胶囊给药方案不同 (tid 与 bd),但血液学副作用,其显示清楚的剂量响应曲线,对于这两给药方案是不可区分的,这支持了生物暴露 (biological exposure) 的近似等价性,因而支持了 rember™ 具有缓解疾病性的推断。这一点也通过 rember™ 在 60mg 剂量在 50 周时能阻止疾病进展,以及在 30mg 和低剂量 (100mg) 在 50 周时降低了疾病进展速率得到确认。

[0582] rember™ 临床安全性的总结

[0583] rember™ 试验中的总体不良事件概况显著好于在 the Cochrane Review (Birks, 2006) 中报道的最佳治疗剂量的 AChE (乙酰胆碱酯酶) 抑制剂。与 AChE 抑制剂相比,服用 30mg 或 60mg tid 剂量的 rember™ 的受试者经历任何负面反应而退出或者由于不良事件而退出的机率不存在显著的差异。腹泻是用 rember™ 尤其是低剂量 (100mg) 治疗的受试者报道的最常见的不良事件,其最可能由于未吸收的 rember™ 转移至远端肠,由于 MTC 的轻度抗生活性而引起消化道菌丛的再增殖所引起,所述的 MTC 轻度抗生活性在文献 (Kristiansen and Amaral, 1997 ;Gunics 等人, 2000) 中已有清楚的记载。尽管接受 rember™ 的受试者发展腹泻的几率高于接受 AChE 抑制剂的受试者,但是据报道接受 rember™ 的受试者具有显著更少的恶心、呕吐、厌食和腹痛、头痛、疲劳和焦虑。来自一些试验中心的经验指出腹泻可用合适的益生制剂 (例如,干燥的乳杆菌制剂) 进行控制。

[0584] 在所有的常规临床化学参数中未观察到有临床意义的变化。在用 rember™ 治疗的受试者中观察到红细胞数、血红蛋白、高铁血红蛋白和白细胞数的小的下降,所述变化是剂量相关的。这些变化对于 30mg tid 剂量是可忽略的,但是 60mg 和低剂量 (100mg) tid,这些变化是统计显著的。对于红细胞参数,24 周出现变化,但 50 周变化消退 (resolve),只是有证据表明 60mg tid 剂量在 24 周时提高了高铁血红蛋白水平并随后保持稳定。在该剂量下,高铁血红蛋白的平均水平从正常的平均值血红蛋白的 0.4% 增至血红蛋白的 0.8%,但是仍然低于正常值的上限 (1%)。对于白细胞,同样 30mg tid 剂量而言变化是可忽略的,但是就 60mg 剂量而言,在 50 周内,白细胞数的值先降低而后保持稳定在与 30mg 剂量没有显著差别的水平。我们的结论是:血红蛋白被甲基硫基鎗部分的氧化形式所氧化是引起红细胞参数变化的最可能的机理。

[0585] 在研究期间,这些变化都不是临床上显著的,均很好地保持在正常范围内。因此,可作出结论:这些变化不足以引起风险 / 效益比上的担忧,从而不会影响人们对 30mg 和 60mg 剂量强度的进一步临床开发。目前的低剂量 (100mg) 的制剂不适合进一步的临床开发,这是因为下面将要讨论的其功效 / 副作用曲线较差。

[0586] 实施例 2- 试验药 (IMP) 的制剂和强度

[0587] 在 TRx-014-001 中使用的 rember™ 的制剂由包含半固体的填充物的 Size 1 蓝 / 蓝明胶胶囊组成,所述填充物包含 MTC、Gelucire 44/14 和 Aerosil200。胶囊的三种强度

仅仅区别在填充物重量上,制备的胶囊的目标强度分别是 30、60 和 100mg 的 MTC。提供了仅包含 Gelucire 44/14 的匹配安慰剂。硬的明胶胶囊和用于胶囊绑扎的明胶符合当前的关于传染性海绵状脑病 (Transmissible Spongiform Encephalopathies) 的指导方针。

[0588] 利用欧洲药典和美国药典的旋转桨方法,通过外观、填充物重量均一性、测定(改编自 USP 27)、色谱纯度(TLC,如 USP 27 中所规定)以及溶出测试胶囊的均一性。制备了 6 个生产批次的胶囊,测试它们的均一性和稳定性。

[0589] 通过这些溶出研究,发现 100mg 胶囊在所有的体外条件下的溶出慢于 30mg 胶囊,并且该差异随着制造后的时间的增长而增大(图 5)。相对于图 5 中所示的 30mg 和 100mg 数据,60mg 胶囊具有居中的溶出曲线。进一步研究已经显示:尽管随后从破裂的胶囊中溶出是快速的,在高填充物重量的 MTC(即,尤其是 100mg 胶囊)存在下明胶胶囊的加速交联降低了最初的胶囊破裂的可能性。在体外 τ 蛋白聚集测定中发现从胶囊中释放出的 MTC 保持了生物活性的预期水平(W096/030766)。

[0590] 100mg 胶囊的溶出的这种延迟可能使吸收的主要场所从胃转变至肠,导致吸收降低(引起腹泻)和主要被吸收的生物可利用的剂量为无治疗活性的二聚体。下面将进一步讨论的暗含的剂量响应关系说明:在当前制剂中,在与 30mg 和 60mg 剂量的认知活性相比时从 100mg 胶囊可得的相当的认知上活性的剂量是约 25mg。

[0591] 当前的制剂限制了较高剂量的 rember™ 能在未来的临床研究中临床上探究的程度。如下所进一步讨论的,60mg 剂量的功效平台不存在理论基础。可作出结论:60mg tid 的表现平台反映了较高剂量的 rember™ 在溶解度、溶出和吸收的方面一系列限制。

[0592] 实施例 3- 数学功效模型

[0593] 已经发展了动力学数学模型,用于更好理解 τ 蛋白聚集过程及其与认知退化定量关系。该模型的结构示于图 6 中,显示了相关的速率常数。

[0594] 范围广泛的经验数据输入被用来得出在上面模型中的主要速率常数的估计值。这些包括:关联人的 τ 蛋白聚集和 MMSE 得分的定量临床-病理研究、Braak 期随时间的进展速率的估计(Braak 和 Braak, 1991)、在细胞模型中和在 τ 蛋白结合体外测定中的药物剂量响应关系、在转基因动物的 τ 蛋白病理学的减少(reduction)中的药物剂量响应关系、以及在下面将进一步讨论的关联在动物和在人中 rember™ 的剂量与估计可得的脑水平的药代动力学模型,等等。

[0595] 使用临床试验数据来确认所述功效模型,该功效模型进而可以解释在 τ 蛋白聚集、临床痴呆和 rember™ 的临床功效曲线之间的关系。具体而言,形式上不再需要作进一步暗示 β -淀粉样蛋白或其它未知的神经递质因子的堆积的假设。鉴于本领域中通常假定的 AD 病理生理学的复杂性,出乎意料的是,极其节省的假定和速率常数可为关联临床痴呆进展速率、上述的 τ 蛋白聚集级联的动力学与 τ 蛋白聚集抑制剂治疗介入的功效的一组形式上可定义的关系提供完整的基础。

[0596] 在解释 rember™ 的作用机理中,可从上述模型得出重要的推断。通过降低 k_3 的速率来抑制 τ 蛋白聚集速率(即在输入方进行抑制)对于解释功效将会是重要的,尽管这看起来是先验的并且是通常在本领域中所假定的,但是其未经数学模型证明。该模型可用于说明:仅作用于聚集级联(例如降低进入聚集 τ 蛋白的阶段的产品的上游供应的策略)的流入方的理论药物的影响只会以分步的方式短暂地降低 τ 蛋白的聚集,该降低会随时间

被持续的聚集所抵消。换句话说,这样的药物的理论影响也只是对症的,不会改变疾病的进展速率,即使此类药物的机理似乎有缓解疾病的潜力(因为其靶向的是原发病理)。该模型仍然存在 τ 蛋白聚集随时间渐进的堆积,并且其速度与没有药物时一样。这主要是因为 τ 蛋白聚集的清除通路在AD受试者中仍然不起作用并随时间恶化,其速度可用 Braak 期随时间的进展速度来衡量。对于潜在的抑制 τ 蛋白的策略而言,这尤其适用于可能基于抑制 τ 蛋白磷酸化的方法,即使 τ 蛋白磷酸化被假定为对于 τ 蛋白聚集是速率上关键的(本发明的发明人对此有异议(例如 Wischik 等人,1997))也是如此。这还适用于基于 β -淀粉样蛋白可能以某种至今未知的方式引起 τ 蛋白聚集的速率的观点,如AD发病机理的A β 理论的最近流行看法(例如 Selkoe,2004)所断言。

[0597] rember™ 的最重要的治疗作用在于其能通过溶解聚集体和将先前聚集的 τ 蛋白以单体形式释放出而提高 τ 蛋白聚集的清除,该清除可通过有效得多的清除通路(即蛋白酶体通路)进行。就该模型而言,rember™ 的主要作用是提高或者展开图 6B 中的速率常数 k4b。本质上,这开启了 τ 蛋白聚集的一种新的原来没有的清除通路。该新的清除通路(蛋白酶体清除通路)通过图 6B 中的 k4b 速率常数得到说明。

[0598] 动力学模型中清除的提高了的有力效果是由于聚集体的自催化作用,因为聚集速率直接与聚集体浓度成比例。这是引起长期预测的疾病进展速率的变化的基本机理,它已经被 TRx-014-001 临床试验所证实。该模型给出了下面的可能:rember™ 如果在疾病进展(即,在临床 MCI 时或者甚至之前)的更早些给药,也可缓解在神经元的清除通路中的结构损坏,并提供 rember™ 用作初期的预防治疗的又一原理。

[0599] 所述动力学模型的另一特征是它可预测由于现存的 τ 蛋白聚集负荷的初始溶出而出现的早期对症效果。该模型预测,这种现存的聚集体的清除的初始爆发有助于早期的症状改善。这也得到了 rember™ 2 期临床试验的证实。

[0600] rember™ 的后期疾病调节作用取决于 τ 蛋白低聚物的产生进行速率以及 ELM/蛋白酶体清除通路随时间的延续降解(其是在整个 Braak 期随时间的内在进展速率的最终决定性因素)可在多大程度上被 τ 蛋白低聚物的溶剂化/增溶所致的提高的清除所中和。由于这些因素与聚集体浓度成正比,药物的药代动力学曲线的小的变化可对疾病的进展速率产生大的影响。该模型的这些特征再次得到了 2 期临床试验的证实,并且强调了需要最大化被吸收的治疗活性物的生物利用度。具体而言,在以其当前形式的模型内不存在可预测剂量响应平台的内在机理。

[0601] 实施例 4- 认知活性与血液学活性之间的关系

[0602] 在 100mg 胶囊的制剂中存在如上所总结的缺陷,其导致溶出延迟随制造以后的时间而增长。其它体外研究表明这极可能是因为在高填充物重量(即,100mg 胶囊)的 MTC 存在下明胶胶囊的更快交联。

[0603] 已经发表的体外研究说明 MTC 的吸收是个复杂的过程,其部分取决于内在的细胞-表面噻嗪染料还原酶活性(Merker 等人,1998;Merker 等人,2002;May 等人,2004)。基于已经发表的对人的研究发展了一种药代动力学(“PK”)模型(下面将进行讨论,参见 DiSanto 和 Wagner,1972a,b,c;Peter 等人,2000),其说明 MTC 从主要吸收室中消失的半衰期为 30 分钟,这与胃是口服 MTC 的主要吸收场所相一致。

[0604] 当在非还原性环境下 MTC 在 pH 7 时呈氧化型,其是高度离子化的。因此, MTC 的

脂溶性差。然而,通过接受两个电子还原成还原 (“L-MT”) 形式得到了易于吸收的无电荷物质。体外研究表明该还原步骤只能发生在低 pH 的生理条件下。该性质可以解释为什么胃是最可能的主要吸收场所。对啮齿类动物、猪和灵长类动物的 PK 研究说明在组织中发现的甲基硫堇鎓部分的主要形式是无色的 L-MT 形式,以及在口服后只有小部分对氧化型有贡献,这可在血中容易地测量。因此,可能的是只有 L-MT 形式可穿过血-脑屏障,在此处的神经元内建立氧化型与还原型之间的新的稳态。在静脉给药之后,可在血中检测出比在口服相同剂量之后显著更高水平的氧化型 (Peter 等人,2000)。对猪的进一步 PK 研究表明这是因为在口服后循环中的 L-MT 形式的水平的差异,而不是因为 Peter 等人所提议的口服的生物利用度差。这表明 MTC 在口吸收和随后的组织分布过程中发生了还原。

[0605] 在溶出延迟的情形中,就 rember™ 试验中使用的 100mg 胶囊而言,通过还原酶作用机理 (前述的) 可能只发生了标称剂量的有限吸收。这会引起在较高 pH 时自肠的延迟吸收。基于体外研究可推断出这些情形会有利于形成氧化型 MTC 单体的二聚体 (文献中已有很好的说明,参见 Rabinowitch 和 Epstein,1941;Lewis 等人,1943;Spencer 和 Sutter,1979)。该二聚体因其反向平行堆叠而不带静电荷。因此我们预期,延迟溶出可引起氧化态的 MTC 在肠的较高 pH 下的延迟吸收。根据体外研究,我们预期二聚体不会具有治疗活性,但是因其能氧化血红蛋白而会具有血液学作用。

[0606] 上述的延迟溶出假说与源于 rember™ 试验的数据一致。事实上,试验已经表明 MTC 具有两种全身性药理学作用即认知作用和血液学作用。认知作用不显示单调的剂量响关系,而血液学作用则显示单调的剂量响关系 (图 8)。这说明这两种药理学活性由两种不同的种类所引起:有益的认知活性是由以无电荷的 L-MT 形式吸收的 MTC 所致,而血红蛋白的氧化是由以氧化型二聚体形式吸收的 MTC 所致。如果是这样的话,那么可预期能导出关联不同胶囊强度的溶出时间与这两种不同药理学活性的关系。如图 8 中所示,事实上确实如此。

[0607] 在归一化的溶出 (表示为在 30 分钟之前或之后的溶出百分数) 与归一化的相对认知活性或血液学活性指数之间,发现了非常高的相关性 ($r = 0.996$)。对于相对溶出,计算了在 30 分钟之前或之后体外发生的总溶出百分数。如图 7 中所示,得出总的药理学活性的相应分配。

[0608] 应注意,在各标称剂量时的相对认知活性表示为在各标称剂量时总的药理学活性 (即,认知活性和血液学活性) 的比例。因此,尽管 30mg 剂量的绝对认知作用比 60mg 剂量小,但是因为 30mg 剂量的血液学活性比 60mg 剂量更少的,所以 30mg 剂量相对于总的药理学活性的相对认知活性指数较高。

[0609] 相反地,在 50 周时的 ADAS-cog 的功效分析中观察不到单调的剂量响应关系,这暗示:从 100mg 胶囊中可得的有效治疗剂量如图 8 中所指出,即大约 25mg,或者说是标称剂量的四分之一,类似于 30mg 剂量在 50 周时的活性。正是基于上述分析中的原因,将该 100mg 剂量称为“低剂量 (100mg)”以表示这些胶囊的制剂使得预期的标称剂量以其治疗活性形式的递药和吸收不成比例。脑中治疗活性的主要决定因素似乎取决于 L-MT 形式的吸收,该吸收可以通过该形式穿过血-脑屏障的能力得到调节。

[0610] 这些分析强烈地表明,通过对制剂进行优化,可能将 MTC 的甲基硫堇鎓部分的有益认知作用与其不期望的血液学作用分离开。如在先前提交的未公开的专利申请 (PCT/

GB2007/001103,其内容通过参考具体地并入本文)中所讨论的,一种新的稳定化的还原型盐的形式(记为“L-MTx”)会具有绕开还原酶活性的效益,所述还原酶活性是MTC的甲基硫堇鎓部分的吸收所必需的。已经发现稳定的L-MTx具有比MTC更高的溶解度,并且在溶出时基本上保持无色的还原状态超过1小时,从而允许可直接以还原的甲基硫堇鎓形式被吸收。稳定的L-MTx的另一效益可以是能获得高得多的功效,这是因为较高剂量的治疗活性形式可被吸收而不受到下面的限制:一方面胃的噻嗪染料还原酶活性的容量,以及另一方面血液学副作用和腹泻。这些将在下面进行讨论。

[0611] 由目前的分析预测,已经发现L-MT盐形式具有比MTC显著更少的血液学毒性。图9显示在每天给药14天的大鼠中在整个口服剂量范围内MTC和L-MTx在主要的红细胞参数上的差异。可看出,L-MTx给药的动物具有较高的红细胞数(“RBC”),较高的血红蛋白水平(“HB”)和较高的红细胞血红蛋白浓度(“MCHC”)。平均红细胞体积更小(“MCV”),这说明更多的成熟红细胞从骨髓中释放出,并且降低了MTC的溶血作用引起的网织血球过多(“RETI”)。

[0612] 表4:在MTC给药和L-MTx给药的大鼠中主要的红细胞参数的差异的统计分析
[0613]

剂量(mg / kg)	相对于 MTC 的差异	p-值
血红蛋白(g/dL)		
0 ⁽¹⁾	-0.39	0.427
15 ⁽²⁾	0.80	0.106
45 ⁽²⁾	1.43	0.00465
150 ⁽²⁾	3.03	<0.0001
细胞平均血红蛋白浓度(g/dL)		
0 ⁽¹⁾	0.26	0.780
15 ⁽²⁾	0.80	0.392
45 ⁽²⁾	1.93	0.0414
150 ⁽²⁾	6.05	<0.0001
平均细胞体积(fL)		
0 ⁽¹⁾	0.08	0.961
15 ⁽²⁾	-1.18	0.475
45 ⁽²⁾	-7.07	<0.0001
150 ⁽²⁾	-9.14	<0.0001
红细胞数(10^6/mL)		
0 ⁽¹⁾	-0.27	0.171
15 ⁽²⁾	0.41	0.041
45 ⁽²⁾	1.17	<0.0001
150 ⁽²⁾	1.06	<0.0001
网状细胞数(%红细胞)		
0 ⁽¹⁾	-0.08	0.973
15 ⁽²⁾	-0.54	0.816
45 ⁽²⁾	-6.53	0.0063
150 ⁽²⁾	-7.59	0.0022
1. p-值来自考察仅仅媒介物的剂量的值是否与0有显著差异的试验。		
2. p-值来自考察该值是否与仅仅媒介物的剂量有显著差异的试验。		

[0614] 实施例 5- 可用的研究

[0615] 从前述的讨论中可看出,合适治疗剂量的 MTC 及其制剂的优化是复杂的。对此的主要障碍是缺乏合适的药代动力学模型。尽管已有产生 PK 模型的努力,这些努力是相互矛盾且没有考虑到所有的可用数据。因此,需要一种全新的发展 PK 模型的方法。在提出该方法之前,对可用的数据和模型进行了总结。

[0616] 已有 3 项已出版的对 MTC 在人中的研究。对这些研究首先进行总结再一起进行讨论。还有另外一项已出版的对人的研究 (Rengelshausen 等人, (2004) Pharmacokinetic interaction of chloroquin and methylene blue combination against malaria. Eur. J. Clin. Pharmacol. 60 :709-715), 它在本文中并没有进一步采用, 因为其方法学和发现与下面将讨论的 Peter 等人 (2000) 的方法学和发现类似。

[0617] 1) 现有技术研究 1

[0618] 首个系统的参考研究是由 DiSanto 和 Wagner 作出的 (1972) 并报道于 3 篇系列文章中, 其中两篇总结于下:

[0619] 1a) DiSanto AR 和 Wagner JG (1972a) Pharmacokinetics of highly ionized drugs I: whole blood, urine and tissue assays. J Pharmaceut Sc 61 :598-601

[0620] 该文章报道了 MTC 在全血、尿和组织中的分析方法。本质上, 该方法包括制备具有高盐浓度 ($> 2M$) 的含水基质, 将 MTC 萃取至二氯乙烷中, 以及测量总的二氯乙烷萃取液在 660nm 的吸光度。在尿中发现 MTC 的稳定化的白色形式 (“白色-MTC”), 但是化学上未鉴定出。这可通过下面方法进行分析: 在萃取至二氯乙烷之前, 先通过添加 5N HCl 和在沸水浴中加热 2 分钟将其转化为“游离的 MTC”。在酸处理之后从尿中回收的 MTC 与未经酸处理从尿中回收的 MTC 之间的区别 (“游离的 MTC”) 报道为“白色-MTC”。

[0621] 1b) DiSanto AR 和 Wagner JG (1972b) Pharmacokinetics of highly ionized drugs II: absorption, metabolism and excretion in man and dog after oral administration. J Pharmaceut Sc 61 :1086-1090。

[0622] 在该研究中, 7 位成年男性志愿者 (年龄 21 ~ 40 岁, 重 54.5 ~ 95.3 公斤) 摄入 10mg 的 MTC USP。在下表列出的时间间隔里收集尿液。氧化型 MT (“Ox-MT”, 也称为“游离的 MB”) 和白色-MT (“L-MT”) 的平均尿排泄速率及其相应的标准误差示于表 5 以及图 10 和 11 中。

[0623] 表 5: 来自 DiSanto 和 Wagner (1972) 的氧化型 MTC (“Ox-MT”) 和还原型 MTC (“L-MT”) 的排泄速率和标准误差 (“se”)。

[0624]

时间 (小时)	中间时间 (小时)	Ox-MT (μ g/hr)	se-Ox	L-MT (μ g/hr)	se-L
0.5	0.25	2.31	1.06	14.01	6.98
1	0.75	20.59	5.05	385.06	97.98
2	1.5	38.66	7.50	659.14	104.79
3	2.5	50.56	14.50	474.29	96.93

[0625]

4	3.5	40.66	8.76	384.43	49.37
6	5	53.01	12.37	290.50	49.26
9	7.5	42.86	17.55	120.29	29.91
24	16.5	37.99	6.43	78.72	13.77
33	28.5	24.34	7.53	41.87	9.91
48	40.5	11.02	2.43	26.77	5.18
57	52.5	5.00	1.16	14.11	5.49
72	64.5	4.98	1.31	7.88	2.29
81	76.5	2.53	0.69	6.39	2.05
96	88.5	1.74	0.48	3.09	1.53
105	100.5	1.23	0.43	3.02	1.60
120	112.5	0.88	0.28	1.91	0.83

[0626] 表 6 :Ox-MTC 和 L-MT 的尿排泄数据

[0627]

参数	游离	白色
Kel	0.2263	0.2430
K12	0.7506	0.2962
K21	0.2381	0.1040
Ka	0.1626	0.9654
T _{滞后} (hr)	0.2078	0.2381
VcF (L)	29.7918	8.2607
相关性(平均, 观测值与预计值)	0.9878	0.9920
未分区室的(non-compartmental)次级参数		
F	0.1483	0.4982
Vc (L)	4.4188	4.1152
Cl (L/hr)	6.7420	2.0074
AUC (μg.hr)	1483.24	4981.55
占总的尿排泄的百分数	22.94%	77.06%
MRT (hr)	24.5000	16.8774
T _{1/2} (分配, hr)	0.5930	1.1530
T _{1/2} (排除, hr)	15.0364	16.4953

[0628] 在表中采用了下列标准缩写: Kel (终端排除速率常数), K12 (从假定的区室 1 转移至区室 2 的速率常数), K21 (从假定的区室 2 转移至区室 1 的速率常数), Ka (吸收速率常数 T_{滞后} (在药物出现在中央区室 (即, 血) 中的吸收时间滞后)。VcF (Vc x F), F (计算生物利用度), Vc (药物在中央区室中分配的理论体积), AUC (曲线下的面积, 血中的总体药物的量度), MRT (平均停留时间, 给药剂量的 632% 被排除所花的时间), T_{1/2} (半衰期)。

[0629] 根据尿排泄数据, Ox-MT 和 L-MT 在分配期和表观生物利用度上不同。然而, 终端排除半衰期 (约 16hr) 和校正的表观中央体积 (4L) 是相当的 (表 6)。尿中总的回收率是 6.465mg (即剂量的 65%), 其中 23% 以 Ox-MT 排出而 77% 以 L-MT 排出。

[0630] 2) 现有技术研究 2

[0631] 这项研究参见 Peter C, Hongwan D, Kupfer A, Lauterberg BH (2000) Pharmacokinetics and organ distribution of intravenous and oral methylene blue. Eur J Clin Pharmacol 56:247-250。

[0632] 在该研究中,7 位志愿者(4 男 3 女,年龄 19 ~ 53)在间隔至少 1 周的 3 个时刻给药 MTC 100mg (313 μ M),以单一静脉注射(20mg/ml 在 0.9% NaCl 中的溶液,历时 30 秒)、或者两颗 50mg 明胶胶囊、或者两颗 50mg 明胶胶囊及 800mg 的 Mesna(巯基乙磺酸钠)的形式。此处包括 Mesna 的联合给药的药代动力学效果,这是因为在 MTC 临床上用于基于异环磷酰胺(ifosfamide)的癌症化疗方案中联合给药 Mesna 以避免尿毒性。

[0633] 对血的分析方法学在以下方面不同于 DiSanto 和 Wagner 所采用的分析方法学:

[0634] ● 包含内标

[0635] ● 将己磺酸钠用作提高至二氯乙烷的萃取的离子对

[0636] ● 色谱分离采用 Nucleosil 100-5CN 柱和恒溶剂组成的流动相,流出液在 660nm 进行监控。

[0637] Peter 等人还测量了直至 24 小时的 Ox-MT 和 L-MTC 的尿排泄,但仅报道了在给药后 2、4、6、10、14、24 小时时结束的间隔期间的总排泄的平均。尿的分析方法据说与 DiSanto 和 Wagner 的分析方法基本上相同。

[0638] Peter 等人未在表中列出结果,但是在图中给予示出,如图 14 和 15 再现的。

[0639] 从这些图中读取数据,列于下表中。

[0640] 表 7. 在静脉给药 100mg 的 MTC 之后在全血中 Ox-MT 的浓度

[0641]

时间 (hr)	血中 Ox-MT (μ mol/L)
0.09	6.06
0.15	3.32
0.24	1.73
0.33	1.65
0.5	0.78
0.65	0.61
0.83	0.39
1.01	0.41
1.99	0.26
4	0.18

[0642] 表 8. 在口服 100mg 的 MTC 之后在全血中 Ox-MT 的浓度(给药 Mesna 和不给药 Mesna 的平均)。

[0643]

时间 (hr)	血中 Ox-MT ($\mu\text{mol/L}$)
0	0
0.09	0.00064
0.15	0.0011
0.24	0.0064
0.33	0.017
0.5	0.041
0.83	0.055
1.01	0.064
1.99	0.069
4	0.038

[0644] Peter 等人报道了下面的药代动力学参数 (表 9)。

[0645] 表 9. Peter 等人 (2000) 报道的 MTC 静脉给药和口服的药代动力学参数

[0646]

参数	静脉给药	口服
AUC ($\mu\text{mol/min/ml}$)	0.134	0.011
Cl (L/hr) ¹	3	
在 24hr 时尿中排出的剂 量的百分数	28.6	18.6
估计的排除 T _{1/2} :		
血 (1-4hr, hr)	5.25	
尿 (4-24hr, hr)		6.6

[0647] 1. Cl :清除,单位时间内清除了药物的血的体积。

[0648] Peter 等人还指出,在尿中以 L-MB 形式排出的总 MT 的分数约为总数的 1/3,并且

这在口服和静脉给药之间没有区别。

[0649] 3) 现有技术研究 3

[0650] 该项研究参见 Moody JP, Allan SM, Smith AHW, Naylor GJ (1989) Methylene blue excretion in depression. Biol Psychiat 26 :847-858。

[0651] 这是对服用 15mg/ 天 (5mg t. i. d.) 或者 300mg/ 天 (100mg t. i. d.) 的抑郁受试者在 3 周试验期内 24 小时尿排泄的有限研究。在 7、14 或 21 天治疗结束时取得 7 位受试者的 24 小时尿的收集。分析方法据说与 DiSanto 和 Wagner 的相同。结果总结于下表 10 中。

[0652] 表 10 : 来自 Moody 等人 (1989) 的研究的人的 MTC 尿排泄数据总结

[0653]

重复剂量研究 (15 mg/24hr)		Ox-MT (mg)	L-MT (mg)	
	天			
	7	6.1	7.2	
	14	5.3	8	
	21	6.1	6.4	
24 小时尿排泄(mg)		5.8	7.2	
占总的尿排泄百分数		44.8%	55.3%	
F (表观生物利用度)		0.39	0.48	
重复剂量研究 (300 mg/24hr)				
	天			

[0654]

	7	43.9	75.6	
	14	41.1	71.6	
	21	45.2	60.4	
24 小时尿排泄(mg)		43.4	69.2	
占总的尿排泄百分数		38.6%	61.5%	
F (表观生物利用度)		0.14	0.23	
单剂量研究		Ox-MT	L-MT	总 MT
		(mg)	(mg)	(mg)
	剂 量 (mg)			
	25	14.9	2.8	17.7
	50	28.1	2.7	30.8
	100	33.5	6	39.5
占总的尿排泄百分数	25	84.2%	15.8%	
	50	91.2%	8.8%	
	100	84.8%	15.2%	
F (表观生物利用度)	25	0.60	0.11	0.71
	50	0.56	0.054	0.62
	100	0.34	0.060	0.40

[0655] 已经将该研究的单剂量数据与 DiSanto & Wagner 以及 Peter 等人的研究数据进行合并, 以提供对基于总 MT 在 48 小时时的尿排泄的表观的口服生物利用度的估计。

[0656] 主要结果的讨论

[0657] 在基于上表中的数据发展的模型中存在几个不一致的方面。最重要的是, Peter 等人从血药浓度数据的分析得到的终端排除半衰期 (5.5 ~ 6.3hr) 与 DiSanto 和 Wagner 从尿排泄数据得到的终端排除半衰期 (15 ~ 16.5hr) 不一致。这还与在针对手术在手术中 IV 给药 MTC 用以定位甲状旁腺之后观察到的尿的长期变色不一致 (Kuriloff 和 Sanborn, 2004)。出现这问题是因为在遵循相同的药代动力学方法的 Rengelshausen 等人 (2004) 的

情况下 Peter 等人 (2000) 基于 4hr 或 12hr 获得的血液数据作出估计。这些分析未能虑及终端排除期,这是因为遇到了在血中浓度降至低于检测限之后估计血中 O_x-MT 水平的技术难题,这即使使用 LC-MS(液相色谱-质谱)仍然存在。采用尿排泄数据可更好地对终端排除期进行分析。尽管众所周知尿排泄速率可提供一种在简单系统中估计排除速率常数的有效方法(例如, Gibaldi 和 Perrier(1982) Pharmacokinetics),但是与可得的 MTC 数据相关的问题是复杂的,并且不存在关联血液数据和尿排泄数据到一个简单紧凑整合的模型中显然的方法,所述模型能同时解决静脉给药和口服的案例。提供该问题的解决方法对于发展可用于优化治疗 AD 以及在其它治疗环境中 MTC 或其它 MT 形式的剂量的合适预测模型是关键的。下面将讨论该问题的解决方法。

[0658] 实施例 6- 整合药代动力学模型的发展

[0659] i) 口服生物利用度

[0660] Peter 等人数据提供了口服或静脉给药之后血中浓度的有用指示。比较 4hr 时间段内的 AUC 值说明口服之后的血中浓度是静脉给药之后的血中浓度的 8.2%。然而,该估计值不能用于确定口服生物利用度。这与 Peter 等人的在 24 小时时尿回收数据不一致,其中发现在口服之后尿中的回收率是静脉给药之后得到的 65% (参见表 5)。该图与自 DiSanto 和 Wagner 以及 Moody 等人的研究得到的尿排泄数据相当。

[0661] 在图 16 中合并这些研究的数据以提供对口服生物利用度的总体估计。这说明口服生物利用度是 40%~80%之间的数,该数取决于在 10~100mg 范围的剂量。根据图 16 还显然可见,如口服之后尿中的回收率所测定的,存在与剂量相关的生物利用度下降。

[0662] 因此,由在血中直接测量确定的口服生物利用度估计值与由尿排泄确定的口服生物利用度估计值之间存在偏差。这意味着在口服之后在血中观察到的低的血中浓度不能仅仅通过 Peter 等人 (2000) 所提议的吸收限制得到解释。在口服之后在血中观察到的低的血中浓度更可能是反映了 MTC 口服和静脉给药的表观分配体积 (apparent volume of distribution) 的差异。DiSanto 和 Wagner 确认了快速早期组织摄取,他们报道了在大鼠给药后 2 分钟时 29.8% 的 MTC 静脉给药能在心、肺、肝和肾中回收。这种先是早期快速分配期,10 小时之后继以缓慢的排除期的图景也与图 12 和图 13 中所示的尿排泄数据一致。因此, Peter 等人提供的 4hr 时间段收集的血液数据不足以得到对 MT 在吸收、中央区室和周边区室之间的再分配的有效估计。

[0663] ii) 通过合并 Peter 等人的血液数据 (表 7 和 8) 和来自 DiSanto 和 Wagner 的尿排泄数据 (表 5) 构建模型

[0664] 从可得的研究中得出药代动力学模型的一种方法是使用线性微分方程来直接确定可适用于可用数据组的区室的系统。采用的数据是表 5 中所列的 DiSanto 和 Wagner 的 7 位受试者的尿排泄数据组,考虑了 O_x-MT 和 L-MT 的排泄差异。该数据与表 7 和 8 中列出的 Peter 等人的也基于 7 位受试者的血中浓度数据合并。基于 Peter 等人测定的尿排泄曲线对于这两种给药途径而言是类似的,假定 DiSanto 和 Wagner 的数据在合适的缩放之后可与 IV 和口服的血药浓度数据组关联 (图 17)。

[0665] 然而,将 DiSanto 和 Wagner 的尿排泄数据组优选于 Peter 等人数据用于拟合,这是因为 Peter 等人数据没有明确考虑到 O_x-MT 和 L-MT 的排泄差异,并且其取样间隔相对于从 DiSanto 和 Wagner 数据组得到的是粗糙的。

[0666] 分两个阶段进行建模：

[0667] 在第一的阶段,将 Peter 等人的直至单次静脉给药 100mg 的 MTC 之后 4 小时的血药浓度数据与 DiSanto 和 Wagner 的针对单次口服 10mg 的 MTC 剂量直至 120 小时的尿排泄数据组合并。第二阶段是看相同或类似的区室的系统是否可适用于 Peter 等人的单次口服剂量 100mg 的 MTC 之后血药浓度数据与 DiSanto 和 Wagner 的针对单次口服 10mg 的 MTC 剂量直至 120 小时的尿排泄数据组的组合。在这两种情形下,均通过相应的模型来估计允许剂量相差 10 倍的缩放参数。

[0668] 图 18 显示了各区室的最佳分配以及相应的速率常数,它们可适用于 3 组数据组 (Peter 等人的静脉给药血药浓度数据 [表 7], DiSanto 和 Wagner 的尿中 Ox-MT 数据 [表 5] 和尿中 L-MT 数据 [表 5])。中央区室是 C2。对于尿中 Ox-MT (S-Ox) 和尿中 L-MT (S-L), 通过该模型明确地估算缩放参数,并示于表 11 中,所述缩放参数用来解决血液数据组和尿数据组中所用的剂量存在 10 倍的差别的事实。该模型的解析需要两个周边区室 (在图 18 中示为 C3 和 C4) 以及另外的排泄区室 (C5)。存在两个源于 C5 的输出,一个输出代表缩放的观测到的 L-MT 尿排泄 (在表 11 记为 K50),而另一个输出代表未经测量的损失 (在表 11 记为 K500),其假定代表通过胆汁以未经测量的代谢物而排泄的 MT 次级肝代谢。源于 C3 的输出 (在表 11 记为 K30) 代表作为尿中 Ox-MT 的被测量。所示出的百分数表示预测的总排泄在 120 小时时的配分,其通过相应的 AUC 值估计。

[0669] 通过所述模型估计的各参数列于下表 11 中。

[0670] 表 11 :针对单次静脉给药 100mg MTC 估计的模型参数。速率常数如图 18 中所指出。K50 是源于 C5 的尿排泄速率常数,K500 是源于 C5 的假定肝排泄速率常数。V2 是通过模型算得的 MT 在 C2 中的表观分配体积。S-Ox 和 S-L 是通过模型算得的缩放参数,用来解决这样的事实,即尿数据来自其中 MTC 以 10mg 口服剂量给药的实验,而血液数据来自其中 MTC 以单次的 100mg 静脉剂量给药的实验。

[0671]

参数	估计值
K23	1.60
K24	3.94
K30	0.0093
K32	0.088
K42	0.87
K45	0.28
K50	0.78
K500	0.081
S-Ox	10.6
S-L	6.3
V2	66.03
相关性(观测值与预计值):	
血	0.98
尿中 Ox-MT	0.96
尿中 L-MT	0.98

[0672] 在第二阶段,将相同的基础模型适用于 Peter 等人的单次口服剂量 100mg 的 MTC 之后血药浓度数据(表 8)以及来自 DiSanto 和 Wagner 的单次口服剂量 10mg 的 MTC 之后尿排泄的经缩放的数据(表 5)。

[0673] 图 22 显示了各区室的最佳分配以及相应的速率常数,它们可适用于 3 组数据组(Peter 等人的口服血药浓度数据[表 7],DiSanto 和 Wagner 的尿中 Ox-MT 数据[表 5]和尿中 L-MT 数据[表 5])。口服模型假定在中央区室(C2)之前存在两个另外的区室。它们是 C1(主要吸收区室,假定对应于胃)和另一个中央前区室(C6,假定代表首过代谢肝区室(first-pass metabolism hepatic compartment))。存在来自 C1 的损失(在表 12 记为 K100),其假定代表非吸收的 MTC;还存在来自 C6 的损失(在表 12 记为 K600),其假定代表因首次通过代谢而引起的损失。对于尿中 Ox-MT(S-Ox)和尿中 L-MT(S-L),通过该模型明确地估算用于解决血液数据组和尿数据组中所用的剂量存在 10 倍的差别的事实的缩放参数,并示于表 12 中。对于 IV 模型,模型的解析需要两个周边区室(在图 22 中示为 C3 和 C4)以及另外的排泄区室(C5)。存在两个源于 C5 的输出,一个输出代表缩放的观测到的 L-MT 尿排泄(在表 12 中记为 K50),而另一个输出代表未经测量的损失(在表 12 中记为 K500),其假定代表通过胆汁以未经测量的代谢物而排泄的 MT 的次级肝代谢。源于 C3 的输出(在表 12 中记为 K30)代表作为尿中 Ox-MT 的被测量。所示出的百分数表示来自系统排泄的预测总输出在 120 小时时的百分比,其通过相应的 AUC 值估计。

[0674] 通过所述模型估计的各参数列于下表 12 中。

[0675] 表 12 :针对 100mg MTC 的单次口服剂量估计的模型参数

[0676]

参数	估计值
K100	0.44
K16	1.68
K23	1.39
K24	0.67
K30	0.016
K32	0.091

K42	0.00095
K45	2.059
K50	1.45
K500	0.61
K600	0.20
K62	0.35
S-Ox	12.3
S-L	19.6
Vc2 (L)	319.9
相关性(观测值与预计值)	
血 Ox-MT	0.99
尿中 Ox-MT	0.98
尿中 L-MT	0.99

[0677] 对于模型的口服形式,明确地将用于使来自 DiSanto 和 Wagner 的尿中 Ox-MT 和 L-MT(10mg 口服剂量)适合 Peter 等人的数据(100mg 口服剂量)的缩放因子分别估计为 S-Ox 和 S-L。实现对口服数据的适用而需要进行的另一处变化是针对来自 DiSanto 和 Wagner 的尿排泄数据引入时间延迟。该延迟被估计为非线性函数:针对 1 小时之前的排泄时间,时间延迟的范围为 0.2 ~ 1 小时;而后为 1 小时的恒定时间延迟。

[0678] 从表 11 和 12 中可看出,在模型的输出和输入数据组之间存在非常高的相关性(均大于 0.96),这也可从图 19-21 和 23-25 中容易地看出。因此,该模型非常接近地适合这些实验数据。

[0679] iii) 模型输出与其它数据源的比较

[0680] 作为对口服模型的核查,将模型的输出与其它可得的数据组进行比较。

[0681] 首先将口服模型的输出(图 22)与 Peter 等人(2000)报道的并示于图 18 中尿排泄速率进行比较。该比较示于图 26 中。除了 2~4 小时收集间隔(此时 Peter 等人报道的水平是通过模型预测的水平的一半)之外,总体一致性良好。排除去该值后,二者之间的相关性为 0.86。通过模型预测的总的 24 小时排泄与 Peter 等人报道的在图 26 中也进行了比较。该模型预测总的尿排泄为剂量的 23%,而 Peter 等人的估计值为 18.6%。

[0682] 作为对该模型进行进一步核查,将总的预测的 48 小时尿排泄与图 16 中所示的数据(其汇集来自 DiSanto 和 Wagner 以及 Moody 等人的尿排泄数据)进行比较。这也显示于图 27 中,其中模型输出标记为“M”,而 Peter 等人数据标记为“P”。

[0683] 最后,对区室的预测与来自口服研究的结果进行比较,在该研究中猪给药单次 20mg/kg 剂量并测定 MT 的脑水平。对猪以 20mg/kg 体重的目标剂量水平单次口服 MTC。在直至 48 小时止的定期的时间点收集血液(0.5、1、2、4、8、12、24 和 48 小时)和尿(1、2、3、4、5、6、7、8、12 和 24 小时)。在给药后 1、8、24 和 48 小时分别处死两只动物并保留脑样品。MTC 的游离碱的药代动力学评价在全血和脑组织样品上进行。对各只动物提取两批脑组织样品然后基本上如 Peter 等人(2000)所述进行分析。

[0684] 对脑组织(500mg)进行涡旋然后用二氯乙烷(5ml)抽提,在氮气使有机相干燥至干燥。用甲醇接纳提取物,然后用配备紫外检测的反相 HPLC 进行分离。采用内标,在 10~2000ng MTC/克组织的范围内验证了方法的有效性。在 20、100 和 1600ng/g 时 MTC 的平均各次之间的准确度(mean inter-occasion accuracy)分别是 107%、95%和 105%,在各水平时的变异系数不超过 20%。

[0685] 发现对于血液和脑在猪中终端排除半衰期均为 23.5 小时,这与 DiSanto 和 Wagner 的尿排泄发现结果一致,DiSanto 和 Wagner 的尿排泄发现结果说明终端排除期远长于 Peter 等人(2000)或 Rengelshausen 等人(2004)所估计的。

[0686] 为了使用猪的数据来确定哪个人模型的区室预示脑水平,对猪的数据的时间基准加以重新缩放以对应于人的半衰期(15.7hr)。

[0687] 结果示于图 28 中。已将所有的区室重新缩放至它们的相应最大值。可从图 28 中看出,中央区室(C2,血液)和 C4 的走向相互非常地接近,这说明 MT 可在 C2 与 C4 之间自由地交换。

[0688] 另一方面,可看出 MT 从猪脑中的排除与预测的从 C3 的排除是平行的,而不是从 C4 的排除。因此可看出,在模型的两个内区室(C4 和 C3)中,C3 提供了对预期脑水平的预测。

[0689] iii)MTC 的整合药代动力学模型的解释

[0690] 现在对静脉和口服模型的主要动力学特征进行比较。

[0691] a) 人的 IV 模型

[0692] 人的静脉模型的主要动力学特征总结于下表 13 中。数据已归一化至单次 100mg 剂量(313 μM)的情形。

[0693] 表 13:人的静脉内 PK 模型的主要动力学特征的总结

[0694]

静脉内模型									
		A-T½ ¹	D-T½ ¹	E-T½ ¹	AUC ²	AUC-out ³	%AUC-out ³	Tmax ⁴	MRT ⁵
中央区室									
	C2	0.1	1.4	17.9	286				16.3
	C4	0.1	1.4	17.9	984			0.5	17.1
深区室									
	C3	1.3	1.4	17.9	4645			4.0	26.6
排泄区室									
	C5	0.6	1.6	17.9	320			2.0	18.2
后中央输出									
	C500					2377	8.2%		
	Ur-Ox-MT					3707	12.8%		
	Ur-L-MT					22836	79.0%		
	总输出					28920			

[0695] 1. 对于各区室,吸收期的半衰期 (A-T_{1/2}),分配期的半衰期 (D-T_{1/2}) 和排除期的半衰期 (E-T_{1/2}) 按小时计算,采用模型输出数据的三 - 指数的近似。

[0696] 2. 对于各“内”区室中的 MT 计算了 AUC_∞ (μmol-hr/l)。

[0697] 3. 对于各后中央区室中的 MT 计算了 AUC_∞ (μmol-hr/l),并且将它们用百分数示出。

[0698] 4. Tmax 是在各内区室中 MT 水平达到最大时所处的给药后计算时间 (hr)

[0699] 5. MRT 是在各区室中的平均停留时间,计算为 63.2% 的给药剂量被排除所需的时间。

[0700] 中央区室. 从表 13 中可看出,也可从图 28 中看出,C2 和 C4 区室中的 MT 的动力学性质基本上相同,这支持了这样的观念:MT 在 C4 中的形式与在 C2 内作为血中 Ox-MT 的血液浓度测量的形式处于易于交换的平衡。由于 C4 区室是尿中测得的 L-MT 形式的尿排泄的主要决定因素,因此可作出结论:MT 的 C4 形式代表着体内存在的 L-MT-Ox-MT 平衡的 L-MT 一侧。在静脉给药之后,MT 在 C4 中的量在 30 分钟内达到其最大水平,而后以通常的终端排除速率排除。

[0701] 深区室. 与之相比,可看出在 IV 情形中的 C3 具有不同的动力学性质。在给药后它花费 4 小时达到最高 C3 水平,而且在 C3 中的平均停留时间比 C2 或 C4 的长得多。考虑该猪脑数据,推断 C3 区室代表动力学上禁锢于细胞内的 MT 的池,如 May 等人 (2004) 所述。

[0702] 根据 May 等人 (2004),为了穿过细胞膜 MT 必须是为 L-MT 形式。在细胞内存在新的 L-MT-Ox-MT 平衡,其取决于胞内环境中占主导的还原氛围和细胞内常见的 pH(pH 约 7)

的组合。体外实验（未示出）表明，利用生理可接受的浓度的生理上可接受的还原剂很难使 MT 在 pH 7 保持为还原状态。也就是说，如果不是细胞内保持的占主导的还原条件的话，那么在 pH 7 时 MT 往往会主要以 Ox-MT 状态存在。然而，Ox-MT 形式的 MT 不能从细胞中扩散出去。这创造了新平衡的条件，由此 MT 禁锢于细胞内，导致胞内对抗浓度梯度的 MT 的堆积，这可在组织培养中得到证实（未示出）。这解释了看似矛盾的药代动力学观察结果，即 MT 在 IV 给药之后快速地分配到组织中（如 DiSanto 和 Wagner 报道）但是排除非常缓慢。因此 DiSanto 和 Wagner 发现，大鼠在静脉给药 2 分钟内大约 25% 可从主要的器官中回收。

[0703] 根据人的 IV 模型，在尿中以 Ox-MT 形式测得的 MT 的水平与禁锢于胞内环境中（包括脑，如猪脑数据所说明）的种类在动力学上紧密相关。

[0704] b) 人的口服模型

[0705] 人的口服模型的主要动力学特征总结于下表 14 中。数据已归一化至单次 100mg 剂量 (313 μ M) 的情形。

[0706] 表 14：人的口服 PK 模型的主要动力学特征的总结（具体参见表 13 的脚注）。

[0707]

口服模型								
	A-T½	D-T½	E-T½	AUC	AUC-输出	%AUC-输出	T 最大	MRT
输入区室								
C1				154				0.5

[0708]

	C6				467			0.9	2.4
中央区室									
	C2	0.5	1.3	15.7	184			2.0	15.7
	C4	0.5	1.3	15.7	60			2.0	16.0
深区室									
	C3	1.4	1.3	15.7	2345			5.0	25.0
排泄区室									
	C5	0.7	1.4	15.7	61			2.0	16.5
前中央输出									
	C100					7329	23.0%		
	C600					9869	31.0%		
前中央输出									
	C500					3422	10.7%		
	Ur-Ox-MT					3202	10.0%		
	Ur-L-MT					8060	25.3%		
总输出						31882			

[0709] 主要吸收区室。在口服模型中,在 MT 出现在中央区室 (C2 和 C4) 中之前存在 2 个输入区室 (C1 和 C6)。如在上面认知活性与血液学活性之间的小节中所讨论, C1 的性质在确定生物利用度和 MT 被吸收的形式中是至关重要的。如表 14 中所示, C1 内的平均停留时间是 30 分钟。可计算出, 30 分钟之前 50% 的 MT 已经被吸收, 而 1 小时之前 90% 的 MT 已经被吸收。这说明 C1 是胃, 此处低的 pH (pH 约 2) 有利于从 MT 向易于被吸收的 L-MT 形式的酶介导转化 (May 等人, 2004)。重要的是, 应注意到给药的 MTC 的 23% 逃避了吸收而后发生损失 (在表 14 中以 C100 示出)。因此, 源于 C1 的吸收在确定有多少 MTC 通过胃肠道到达远端肠中也是至关重要的, 在远端肠中 MTC 的轻度抗菌活性通过远端肠菌丛的再增殖引起腹泻。因此, C1 的性质在优化 MTC 的吸收和功效以及最小化副作用上是至关重要的, 所述副作用源于如临床试验中所示的未吸收的 MTC (腹泻) 和迟缓吸收的 MTC (血液学副作用)。

[0710] 中央区室。对于 IV 模型, C2 和 C4 区室的动力学性质基本上与口服模型相同。在 IV 与口服情形之间的显著差异是在 IV 情形中速率常数 K_{24} (3.94) 比口服情形 (K_{24} : 0.67) 高 4 倍多。这说明在 IV 给药之后存在给药的 Ox-MT 转变成 L-MT 形式的大量流动。相反, 在口服情形中 MT 的大部分在进入中央区室之前已经还原成 L-MT 形式。

[0711] 可发现 IV 模型与口服模型之间的另一显著区别是 MT 的表观分配体积的估计值在口服情形 (320L, 表 12) 中远高于 IV 情形 (66L, 表 11)。这几乎 4 倍的差异很大程度地解释了在血中观察到口服之后比在 IV 给药之后更低浓度的 O_x -MT。Peter 等人 (2000) 错误地将其解释为是由于低的生物利用度。尽管事实上大约一半的口服剂量通过非吸收 (在表 14 和图 22 中, C100 损失) 和首过代谢 (在表 14 和图 22 中, C600 损失) 而损失, 但是在口服情形中的 C2AUC 是在 IV 情形中的 C2AUC 的 64%。因此, 通过血液 AUC 比确定的表观生物利用度非常接近于根据 DiSanto 和 Wagner 尿排泄数据计算的表观生物利用度, 这说明对于 10mg 剂量的情形 65% 的给药剂量可在尿中回收。

[0712] 深区室。给药后 2hr 在中央区室中观察到 MT 的最高水平。作为对比, 在给药 5 小时后才在深区室 (C3) 中达到峰值水平。同样, C3 中 MT 的平均停留时间比中央区室长得多 (25hr 与 16hr)。因此, C3 的特征在 IV 和口服模型中基本上相同。

[0713] 比较在口服和静脉给药情形中 MT 在 C3 中的表观生物利用度 (其代表脑水平) 是重要的。口服 C3 的 AUC 是 IV C3 的 AUC 的 50%。因此, 与 IV 情形相比, 基本上一半的口服剂量在细胞内可用。

[0714] 实施例 7- 整合药代动力学模型对给药的影响

[0715] 在以下方面, 整合药代动力学模型是种重要的工具:

[0716] ● 给药方案的优化

[0717] ● 制剂的优化

[0718] ● 建立血液水平与功效之间的关系

[0719] 可从药代动力学模型得到的主要的计划参数是对重复给药所实现的稳态水平的预测。显然的是, 假定终端排除半衰期为 5 ~ 6 小时 (Peter 等人, 2000 ; Rengelshausen 等人, 2004) 的模型将产生对最佳给药方案与假定排除半衰期为 16 小时的模型完全不同的估计。可从已经发展的整合模型估计出, 在假定排除半衰期为 6hr 和 16hr 时, 3 次 / 天的给药方案会在预测的稳态水平的方面具有非常不同的影响。因此, 如果等人的估计是正确的话, 则 8 小时给药将观察到的堆积因子 (R, 即稳态水平与单次剂量水平之比) 应为 1.4。作为比较, 如果 16hr 的估计值是正确的话, 则对于 8 小时给药 (8-hourly dosing) 相应的 R 值为 4.8。这说明根据这两模型预测的 MT 稳态水平 (在血中和在脑内) 会存在 3.4 倍的差异。因此, 在没有有效的药代动力学模型的情况下难以确定剂量和功效或副作用之间的正确关系。

[0720] 将剂量与功效关联起来的主要介入变量是对在不同的常规给药频率时在关键的区室中 MT 稳态水平的估计。该模型允许这些作为在 C2 和 C3 中的预测的平均稳态水平 (如在表 15 中所示) 被确定。

[0721] 表 15. 作为给药频率的函数的在区室 C2 和 C3 中预测的平均 MT 稳态水平 (值以 μmol 为单位)。

[0722]		C2	C3
[0723]	3 次 / 天	4.8	295.5
[0724]	2 次 / 天	3.2	197.0
[0725]	1 次 / 天	1.6	98.5

[0726] 基于人的口服药代动力学模型预测的临床功效与观察值之间的相关性

[0727] 我们首先考查观察到的临床功效（在 50 周时的作用大小，按 ADAS-cog 单位）与在深区室（C3，如上所讨论，其与在猪中测得的脑水平相关）中的预测的 MT 稳态水平之间的关系。也就是说，MT 在 C3 中的量与 MT 在脑中的浓度通过一常数关联，所述常数取决于达到脑中的 MT 的分数以及脑内总 MT 的检测准确度。由于该缩放因子在人的情形中目前仍是未知的，因而为了进一步讨论将 MT 在 C3 中的量作为预测的脑水平的替代（proxy）。该关系示于图 29 中。

[0728] 从图 29 中可看出，在预测的平均 MT 脑内稳态水平与在 TRx-014-001 中 30mg 3 次 / 天和 60mg 3 次 / 天剂量的 rember™ 的临床作用大小之间存在非常密切的关系。由于在认知活性与血液学活性之间的小节中所讨论的原因，该关系对于 100mg 胶囊不成立。在本质上，TRx-014-001 中使用的 100mg 胶囊制剂的溶出延迟不允许 MTC 以其治疗活性形式的成比例吸收。

[0729] 如图 30 中所示，可定义在 MT 的稳态血中浓度（即由 C2 确定）与作用大小之间的相同关系。

[0730] 基于整合的人口服药代动力学模型预测的临床功效与观察值之间的相关性对给药和制剂的影响

[0731] 根据前面的分析，可预期在可临床测量的 MT 的血中浓度与作用大小之间清楚单调的剂量响应关系。由此，可计算出考虑了测量方法学的合适的列线图。也就是说，功效可与血中浓度关联，并且利用合适的分析方法学可以指定出起治疗作用的血中浓度。

[0732] 图 30 所示的关系的另一影响是计算在观察到的胶囊溶出与功效不足之间的关系（即观察到的作用大小与预测的作用大小之间的作用大小差异）。这显示在图 31 中。

[0733] 从图 31 中可看出，随着在 30 分钟时观察到的胶囊溶出百分数降至低于 20%，预测功效发生急剧降低。这确认了上面在认知活性与血液学活性之间的小节中所下的结论，并确认了速溶对于治疗活性是至关重要的。如在 MTC 的整合药代动力学模型的解释的小节中进一步讨论，这可通过在 MT 部分以其治疗活性形式的吸收中胃有至关重要的作用得到解释。

[0734] 因此，在设计 MTC 的改进制剂中，实现预测的功效关键取决于试验药（即片剂或胶囊）在标准条件下的溶出在 30 分钟内大于 50% 的要求。

[0735] 本文所述的这些关系会影响实现较方便的给药方案（即 2 次 / 天或 1 次 / 天）的常规方法。这些给药方案对于痴呆患者（他们健忘，因而需要提示服用药物）中将是理想的。常规实现较方便的给药方案的手段是制备缓释制剂。然而，相反的是，本文的分析表明：如 TRx-014-001 中的 100mg 胶囊的性质所方便地例示的那样，治疗产品的基于 MTC 的形式的非常高载量的缓释制剂将会基本上丧失功效。

[0736] 从图 29 和 30 可得到另一推论是：为了达到相当与 60mg 的单位剂量给药 3 次 / 天的 TRx-014-001 临床试验中所观察到的功效水平，治疗产品的基于 MTC 的形式的剂量需要以 120mg 或更高的单位剂量给药。

[0737] 从图 29 和 30 可得到又一推论是：达到高于 TRx-014-001 临床试验中所观察到的功效水平要求 100mg 以上的单位剂量给药 3 次 / 天。然而，如在 2 期临床试验 TRx-014-001 的总结的小节中所讨论，由于当剂量大于或等于 100mg 3 次 / 天时负面的血液学作用和腹泻越来越严重，因而在本发明的制剂中对可给药的 MTC 的量存在限制。

[0738] 对改进制剂和给药方案的影响

[0739] 从图 31 中可看出,随着在 30 分钟时观察到的胶囊溶出百分数降至低于 20%,预测功效发生急剧下降。

[0740] 因此,在设计 MTC 的改进制剂中,实现预测的功效关键取决于试验药(即片剂或胶囊)在标准条件下的溶出在 30 分钟内大于 50%的要求。

[0741] 本文所述的这些关系会影响实现较方便的给药方案(即 2 次/天或 1 次/天)的常规方法。这些给药方案在痴呆患者(他们健忘因而需要提示服用药物)中将是极其令人期望的。实现较方便的给药方案的常规方法是制备缓释制剂。然而,相反的是,本文的分析表明:如 TRx-014-001 中的 100mg 胶囊的性质所方便地例示的那样,治疗产品的基于 MTC 的形式的缓释制剂将会基本上丧失功效。

[0742] 从图 29 和 30 可得到另一推论是:为了达到相当与 60mg 的单位剂量给药 3 次/天的 TRx-014-001 临床试验中所观察到的功效水平,治疗产品的基于 MTC 的形式的剂量需要以 120mg 以上的单位剂量给药。

[0743] 从图 29 和 30 可得到又一推论是:达到高于 TRx-014-001 临床试验中所观察到的功效水平要求 100mg 以上的单位剂量给药 3 次/天。然而,如在 2 期临床试验 TRx-014-001 的总结的小节中所讨论,由于当剂量大于或等于 100mg 3 次/天时负面的血液学作用和腹泻越来越严重,因而在本发明的制剂中对可给药的 MTC 的量存在限制。

[0744] 基于整合的人口服药代动力学模型预测的与观察到的血液学副作用之间的相关性

[0745] 现在我们考虑在 TRx-014-001 研究中的 C2(血液)中 MT 的预测稳态水平与观察到的血液学副作用之间的关系。在 24 周时红细胞的损失被认为是最有信息含量的指示参数。该关系显示于图 31B 中。

[0746] 从图 31B 中可看出,红细胞的损失水平比血液中 MT 的预测稳态水平高得多。这有力地确证了认知活性与血液学活性之间的小节中概述的延迟溶出假说。具体而言,根据延迟溶出假说,血液学副作用由一种截然不同形式的 MT 所引起。这被假定为二聚体,所述二聚体的形成在肠和肠道后段的碱性条件下是有利的。因此,如果如所述的那样在胃中被吸收,则在 TRx-014-001 中观察到的血液学副作用是在该研究中所用的明胶胶囊制剂的特定结果,而不可能是 MT 部分自身的内在特性。

[0747] 实施例 8- 对改善的组合物和给药方案的影响

[0748] 吸收和功效

[0749] 从前述分析可看出,使用基于 MTC 的药品所能达到的治疗功效水平的限制性因素是对吸收的限制与副作用限制的组合。本小节讨论的内容是,结合本文所作的分析(所述整合的药代动力学模型使这些分析成为了可能),如何来克服这些限制。

[0750] 我们首先比较图 32 中的实际剂量和有效剂量,所述有效剂量是利用图 16 中所讨论的相同关系计算得到的。

[0751] 可看出,限制功效的因素是吸收限制和上述首过代谢的组合。这些因素联合起来严重地限制了增大剂量理论上可实现的效益。事实上,上面在图 7 中所暗示的表观功效平台几乎完全是由使用基于现有 MTC 的形式的药品所能传递的有效剂量的限制所决定的。

[0752] 先前提交的未公开申请 PCT/GB2007/001103 描述了甲基硫堇鎘部分的某些稳定

的还原型盐形式（在下文中称为“L-MTx”）。在此我们使用整合的药代动力学模型以及由其定义的与在 TRx-014-001 中观察到的治疗功效的关系，以确定这种新型组合物如何可用于优化基于甲基硫堇鎓部分的 AD 治疗。

[0753] 首先我们考虑口服 L-MTx 中预期会被吸收的预测分数。这基于源于首过代谢的损失（即，源于 C6 的损失，在表 14 中记为 C600 并在图 22 中示出）可通过以 L-MTx 形式给药得到消除进行计算。然而，预期由于来自 C1 的最初的非吸收（即，来自 C1 的损失，在表 14 中记为 C100 并在图 22 中示出）会通过以 L-MTx 形式给药而得以消除。这是因为 L-MTx 形式（特别是二氢溴酸盐，参见 PCT/GB2007/001103）的溶解度是 MTC 的两倍多，并且预期可绕开噻嗪染料还原酶（May 等人，2004），所述噻嗪染料还原酶被推定存在于胃中并被推定是吸收所必需的。基于这些假定，根据该模型提供的数据计算出被吸收剂量的预测分数，示于图 33 中。具体而言，在 100mg 剂量情形中总的前中央区室损失达给药剂量的 54%。在该总的损失中，43%是由于 C1 的不吸收。将这应用于各个剂量以估计给药的 L-MTx 的预测生物利用度，同时考虑到源于随后的首过代谢的损失。

[0754] 一旦发生了至中央区室中的吸收，可根据上述的关联在 C3 或 C2 中的稳态水平与观察到的作用大小的关系确定预测功效。对于 C3 而言，这些示于图 34 中。

[0755] 对于从 1 次 / 天至 3 次 / 天不等的给药方案范围，在图 35 中示出了甲基硫堇鎓部分的基于 L-MTx 形式的预测临床功效与预测的 MT 在 C2（血）中的平均稳态水平之间的相应关系。

[0756] 可从图 34 和 35 看出，100mg 的 L-MTx 形式给药 2 次 / 天的给药方案预期可 -8.1ADAS-cog 单位的功效水平，这也可通过 60mg 给药 3 次 / 天来实现。预期采用 100mg 以上给药 3 次 / 天会实现更高的功效水平。

[0757] 因此，推断利用甲基硫堇鎓部分的 L-MTx 形式可获得显著更高的功效和更好的给药方案。

[0758] 甲基硫堇鎓部分的 L-MTx 形式的安全性和可耐受性

[0759] 如上面在认知活性与血液学活性之间的小节中所讨论的，对于能在多大程度上给予更高剂量的 MTC 以实现更好的功效，一个重要的限制因素是血液学副作用的增加和由于腹泻所致的耐受性差的联合结果。尽管 L-MTx 形式可能会相当程度地减少腹泻，但是不清楚预期的血液学作用将会怎样。

[0760] 如在图 9 以及在认知活性与血液学活性之间的小节中的表 4 中所示，基于上面对大鼠研究的讨论可预期 L-MTx 形式会具有较小的血液学副作用。此外，如在基于整合的人口服药代动力学模型预测的血液学副作用与观察值之间的相关性小节中所讨论，在抗痴呆活性所要求的剂量范围内，血液学作用不可能是 MT 部分本身固有的。在较高的口服剂量例如在上面的大鼠研究中所示的剂量时，清楚的是会观察到血液学副作用，但是在药品的基于 MTC 的形式的临床使用中不太可能会达到这些剂量。

[0761] 鉴于如上面在认知活性与血液学活性之间的小节中所讨论的在大鼠研究中观察到的剂量响应关系，可计算在总的红细胞数上的预期效果，如图 36 所示。可看出，红细胞数下降所指示的预期血液学副作用预期是可忽略的。

[0762] 甲基硫堇鎓部分的 L-MTx 形式的延迟释放制剂的可行性

[0763] 尽管由于上述原因制造基于 MTC 的药物的延迟释放制剂是不可行的，但是对于甲

基硫堇鎓部分的基于 L-MTx 的形式却并非如此。这是因为甲基硫堇鎓的白色形式不能形成二聚物。这是因为甲基硫堇鎓的白色形式不是‘扁平’的分子（这与 Ox-MT 不同），并且其不具有允许通过电荷中和稳定二聚体形式的电荷。

[0764] 因此，甲基硫堇鎓部分的基于 L-MTx 形式的延迟释放制剂可能会是可行的，而不会遇到延迟吸收的负面结果。这可以制成 1 日 1 次剂量形式。

[0765] 实施例 1-8 的参考文献

[0766] Birks, J. (2006) Cholinesterase inhibitors for Alzheimer ' s disease. CochraneDatabase Syst. Rev. (1) :CD005593.

[0767] DiSanto, A. R. , Wagner, J. G. (1972a) Pharmacokinetics of highly ionized drugs. I: Methylene blue-whole blood, urine and tissue assays. Journal of Pharmaceutical Sciences, 61 :598-602.

[0768] DiSanto, A. R. , Wagner, J. G. (1972b) Pharmacokinetics of highly ionized drugs. II. Methylene blue-absorption, metabolism, and excretion in man and dog after oral administration. Journal of Pharmaceutical Sciences, 61 :1086-1090.

[0769] DiSanto, A. R. , Wagner, J. G. (1972c) Pharmacokinetics of highly ionized drugs. III. Methylene blue-blood levels in the dog and tissue levels in the rat following intravenous administration. Journal of Pharmaceutical Sciences, 61 :1090-1094.

[0770] Gunics, G. , Motohashi, N. , Amaral, L. , Farkas, S. & Molnar, J. (2000) Interaction between antibiotics and non-conventional antibiotics on bacteria. International Journal of Antimicrobial Agents 14 :239-42.

[0771] Kristiansen, J. E. , Amaral, L. (1997) The potential management of resistant infection with non-antibiotics. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 40 :319-327.

[0772] Lewis, G. N. , Bigeleisen, J. (1943) Methylene blue and other indicators in general acids. The acidity function : J. Amer. Chem. Soc. , 65 :1144-1150.

[0773] May, J. M. , Qu, Z. C. , Cobb, C. E. (2004) Reduction and uptake of methylene blue by human erythrocytes. Am. J. Physiol. Cell Physiol. , 286 :C1390-C1398.

[0774] Merker, M. P. , Bongard, R. D. , Kettenhofen, N. J. , Okamoto, Y. , Dawson, C. A. (2002) Intracellular redox status affects transplasma membrane electron transport in pulmonary arterial endothelial cells. Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. , 282 :L36-L43.

[0775] Merker, M. P. , Olson, L. E. , Bongard, R. D. , Patel, M. K. , Linehan, J. H. , Dawson, C. A. (1998) Ascorbate-mediated transplasma membrane electron transport in pulmonary arterial endothelial cells. Am. J. Physiol. , 274 :L685-L693.

[0776] Peter, C. , Hongwan, D. , Kupfer, A. , Lauterburg, B. H. (2000) Pharmacokinetics and organ distribution of intravenous and oral methylene blue. Eur. J. Clin. Pharmacol. , 56 :247-250.

[0777] Rabinowitch, E. , Epstein, L. (1941) Polymerization of dyestuffs in

solution. Thionine and methylene blue. J. Am. Chem. Soc. 63 :69-78.

[0778] Spencer, W., Sutter, J. R. (1979) Kinetic study of the monomer-dimer equilibrium of methylene blue in aqueous suspension. J. Phys. Chem., 83 :1573-1576.

[0779] Selkoe, D. J. (2004) Cell biology of protein misfolding: the examples of Alzheimer's and Parkinson's diseases. Nat. Cell. Biol., 6 :1054-1061.

[0780] Moody, J. P., Allan, S. M., Smith, A. H., Naylor, G. J. (1989). Methylene blue excretion in depression. Biol. Psychiatry ;26 :850-852.

[0781] Rengelshausen, J., Burhenne, J., Frohlich, M., Tayrouz, Y., Singh, S. K., Riedel, K.-D., Muller, O., Hoppe-Tichy, T., Haefeli, W. E., Mikus, G. & Walter-Sack, I. (2004) Pharmacokinetic interaction of chloroquine and methylene blue combination against malaria. European Journal of Clinical Pharmacology 60 : 709-715.

[0782] Wischik, C. M., Lai, R. Y. K., Harrington, C. R. (1997) Modelling prion-like processing of tau protein in Alzheimer's disease for pharmaceutical development. In Microtubule-Associated Proteins: Modifications in Disease. (eds. J. Avila, R. Brandt, & K. S. Kosik) Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 185-241.

[0783] Gibaldi, M. and Perrier, D. (1982) Pharmacokinetics. 2nd edn. Marcel Dekker Inc., New York.

[0784] Braak, H., Braak, E. (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. Acta Neuropathologica 82 :239-259.

[0785] Kuriloff, D. B., Sanborn, K. V. (2004) Rapid intraoperative localization of parathyroid glands utilizing methylene blue infusion. Otolaryngology-Head & Neck Surgery 131 :616-622.

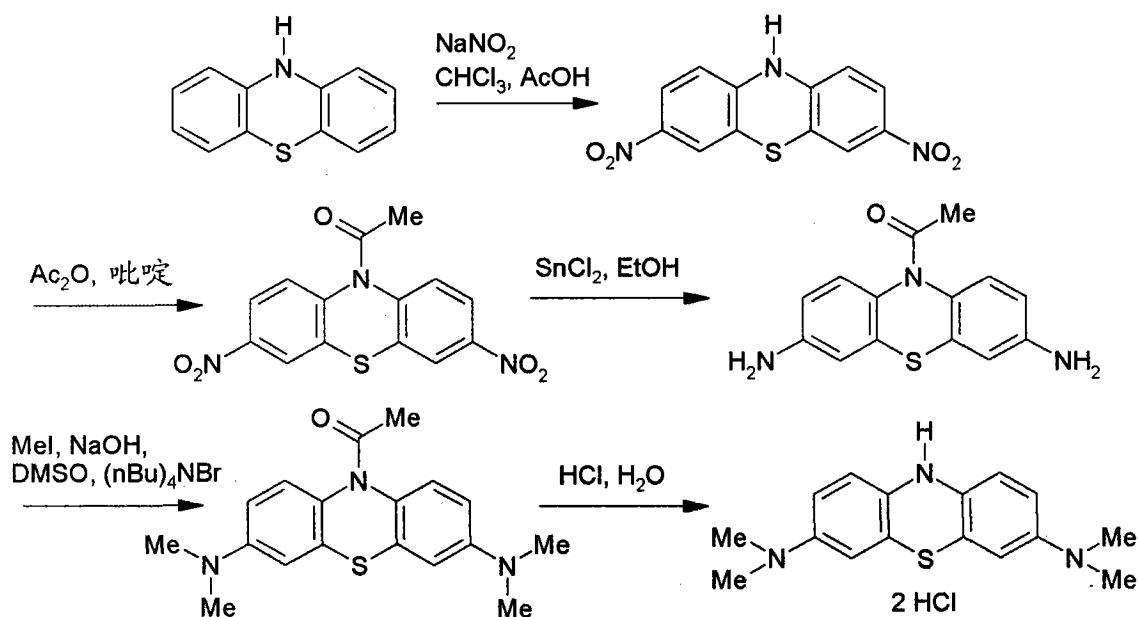
[0786] 实施例 9- 稳定的结晶型还原形式 DAPTZ 化合物的化学合成

[0787] 下面的公开内容主要对应于先前提交的未公开的申请 PCT/GB2007/001103 (通过参考具体地并入本文), 但是其包含在此处是仅仅出于完整性考虑。

[0788] 例如, 可利用例如亚硝酸钠和醋酸及氯仿, 将合适的吩噻嗪转化为相应的 3,7-二硝基-吩噻嗪。然后采用例如醋酸酐和吡啶对环上的氨基进行保护, 例如通过形成醋酸酯的形式进行保护。然后可利用例如二氯化锡 (II) 和乙醇, 将所述硝基还原成氨基。所述氨基可接着被取代, 例如被二取代 (例如被甲基二取代), 例如利用碘甲烷、氢氧化钠、DMSO 和四正丁基溴化铵进行。然后可以对氨基进行脱保护, 例如, 可以用浓盐酸水溶液将 N-乙酰基除去。接着制备成相应的盐, 例如用浓盐酸水溶液, 例如在脱保护的同时进行。该方法的实例如下方案所示:

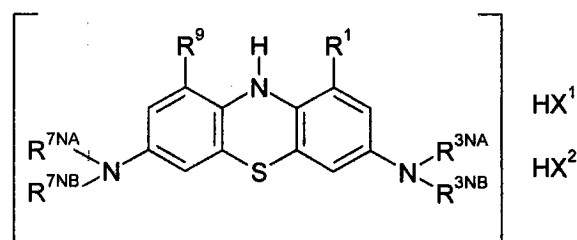
[0789] 方案 1

[0790]



[0791] 因此,本发明另一方面涉及制备用于上述治疗方法的具有如下结构式的 3,7-二氨基-10H-吩噻嗪化合物的方法:

[0792]



[0793] 其中, R^1 、 R^9 、 $\text{R}^{3\text{NA}}$ 、 $\text{R}^{3\text{NB}}$ 、 $\text{R}^{7\text{NA}}$ 、 $\text{R}^{7\text{NB}}$ 、 HX^1 和 HX^2 如本申请所定义(例如,其中 HX^1 和 HX^2 各自为 HCl),所述方法包括如下步骤:

[0794] (vi) 成盐(SF)。

[0795] 在一种实施方案中,所述方法包括如下步骤:

[0796] (v) 环上的氨基脱保护(DP);和

[0797] (vi) 成盐(SF)。

[0798] 在一种实施方案中,所述方法包括如下步骤:

[0799] (iv) 胺取代(AS),

[0800] 任选的(v)环上的氨基脱保护(DP),和

[0801] (vi) 成盐(SF)。

[0802] 在一种实施方案中,所述方法包括如下步骤:

[0803] (iii) 硝基还原(NR),

[0804] (iv) 胺取代(AS),

[0805] (v) 环上的氨基脱保护(DP),和

[0806] (vi) 成盐(SF)。

[0807] 在一种实施方案中,所述方法包括如下步骤:

[0808] 任选的(ii)环上的氨基保护(AP),

[0809] (iii) 硝基还原(NR),

[0810] (iv) 胺取代 (AS),

[0811] (v) 环上的氨基脱保护 (DP), 和

[0812] (vi) 成盐 (SF)。

[0813] 在一种实施方案中, 所述方法包括如下步骤:

[0814] (i) 硝化 (NO),

[0815] (ii) 环上的氨基保护 (AP),

[0816] (iii) 硝基还原 (NR),

[0817] (iv) 胺取代 (AS),

[0818] (v) 环上的氨基脱保护 (DP), 和

[0819] (vi) 成盐 (SF)。

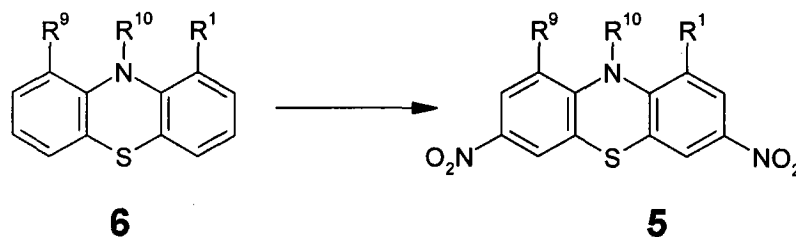
[0820] 在一种实施方案中, 所述步骤是以所列的顺序进行的 (即列表中任一步骤在列表中的前一步骤的同时或之后进行)。

[0821] 在一种实施方案中, 步骤 (v) 环上的氨基脱保护 (DP) 和步骤 (vi) 成盐 (SF) 同时 (即作为一个步骤) 进行。

[0822] 在一种实施方案中, 所述硝化 (NO) 步骤为:

[0823] (i) 硝化 (NO), 其中将 10H- 吩噻嗪转化成 3,7- 二硝基 -10H- 吩噻嗪, 例如:

[0824]

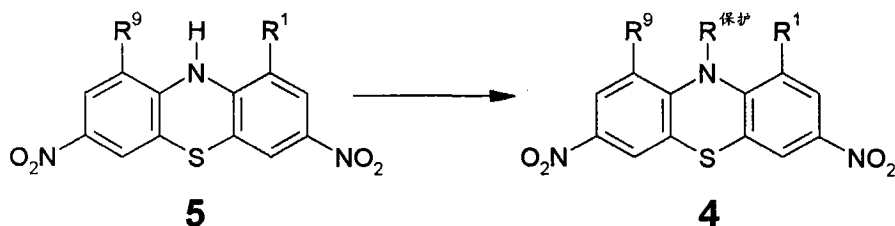


[0825] 在一种实施方案中, 硝化是利用亚硝酸盐进行的, 例如用亚硝酸钠, 例如亚硝酸钠及醋酸和氯仿进行。在一种实施方案中, R^{10} 为 -H。

[0826] 在一种实施方案中, 环上的氨基保护 (AP) 步骤为:

[0827] (ii) 环上的氨基保护 (AP), 其中将 3,7- 二硝基 -10H- 吩噻嗪的环上的氨基 (-NH-) 转化为经保护的环上的氨基 (-NR^{保护}), 例如:

[0828]

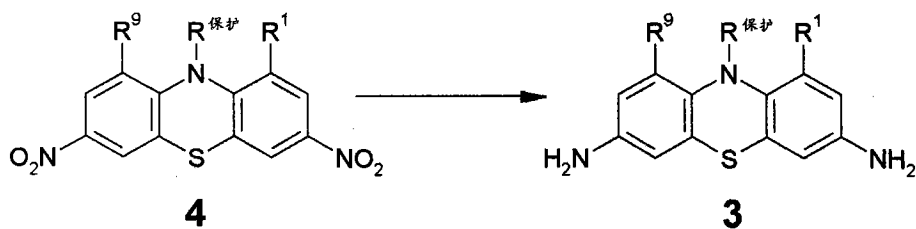


[0829] 在一种实施方案中, 环上的氨基保护采用醋酸酯形式, 例如利用醋酸酐形成醋酸酯形式, 例如采用醋酸酐及吡啶进行保护。

[0830] 在一种实施方案中, 所述硝基还原 (NR) 步骤为:

[0831] (iii) 硝基还原 (NR), 其中将经保护的 3,7- 二硝基 -10H- 吩噻嗪的每一个硝基 (-NO₂) 转化为氨基 (-NH₂), 例如:

[0832]

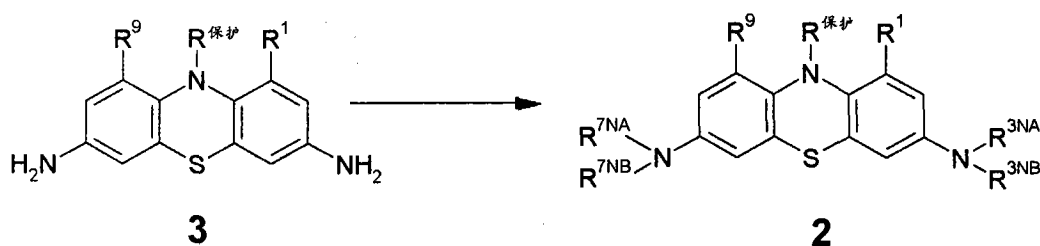


[0833] 在一种实施方案中,硝基还原可利用如二氯化锡(II),例如利用二氯化锡(II)及乙醇进行还原。

[0834] 在一种实施方案中,胺取代(AS)步骤为:

[0835] (iv) 胺取代(AS),其中,将经保护的3,7-二氨基-10H-吩噻嗪中的氨基($-\text{NH}_2$)转化为二取代的氨基,例如:

[0836]

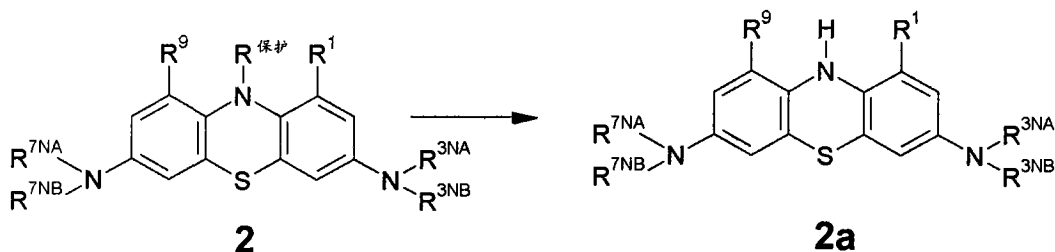


[0837] 在一种实施方案中,胺取代是利用烷基卤化物进行的,例如利用烷基碘化物如碘甲烷进行的,如利用碘甲烷及氢氧化钠、DMSO和四正丁基溴化铵进行胺取代。

[0838] 在一种实施方案中,所述环上的氨基脱保护(DP)步骤是:

[0839] (v) 环上的氨基脱保护(DP),其中将保护基团 $\text{R}^{\text{保护}}$ 除去,例如:

[0840]

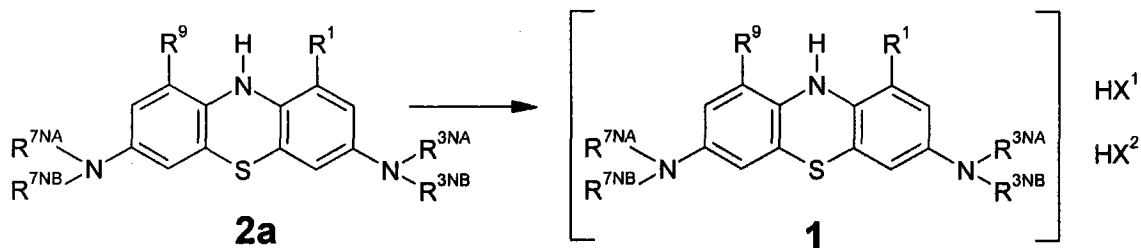


[0841] 在一种实施方案中,环上的氨基脱保护可利用酸如盐酸进行,用利用浓盐酸水溶液进行。

[0842] 在一种实施方案中,所述步骤为:

[0843] (vi) 成盐(SF),其中形成相应的盐,例如:

[0844]



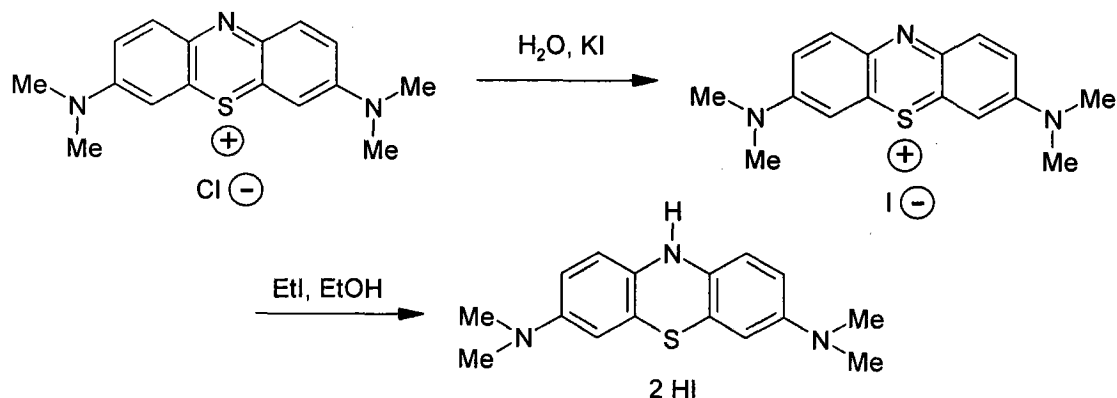
[0845] 在一种实施方案中,成盐可利用酸如盐酸来进行,如利用浓盐酸水溶液进行。

[0846] 在一种实施方案中,环胺脱保护步骤和成盐步骤同时进行(即作为一步),例如在一步反应中,由化合物(2)得到化合物(1)。

[0847] 在另一方法中,将合适的铈氯化物(例如甲基硫基鎓氯化物, MTC) 转化为相应的卤化物,例如通过与碘化钾(如碘化钾水溶液)反应进行转化。然后将所得的铈碘化物进行还原,例如用碘乙烷和乙醇还原,形成相应的盐。类似的方法公开在 Drew, H. D. K 和 Head, F. S. H., "Derivatives of Methylene-blue," Journal of the Chemical Society, 1933, 248-253 页中。这种方法的实例如下方案所示:

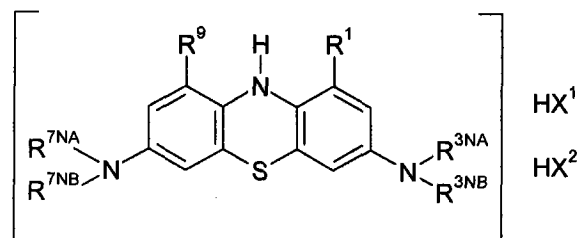
[0848] 方案 2

[0849]



[0850] 因此,本发明另一方面涉及制备用于上述治疗方法的具有如下结构式的 3,7-二氨基-10H-吩噻嗪 (DAPTZ) 化合物的方法:

[0851]



[0852] 其中, R^1 、 R^9 、 R^{3NA} 、 R^{3NB} 、 R^{7NA} 、 R^{7NB} 、 HX^1 和 HX^2 如本申请所定义(例如,其中 HX^1 和 HX^2 各自为 HI),所述方法包括如下步骤:

[0853] (ii) 还原并形成碘化物盐 (RISF)。

[0854] 在一种实施方案中,所述方法包括如下步骤:

[0855] (i) 碘交换 (iodide exchange, IE); 和

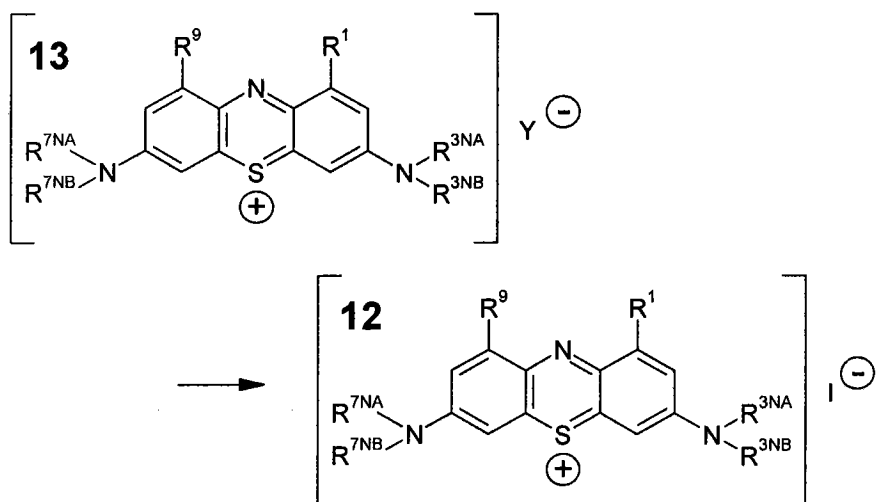
[0856] (ii) 还原并形成碘化物盐 (RISF)。

[0857] 在一种实施方案中,所述步骤是以所列顺序进行的(即列表中任一步骤与列表中的前一步骤同时进行或相继进行)。

[0858] 在一种实施方案中,所述碘交换 (IE) 步骤为:

[0859] (i) 碘交换 (IE), 其中将 3,7-二(二取代的氨基)-铈盐转化为相应的 3,7-二(二取代的氨基)-铈碘化物,例如(其中 Y^- 为阴离子反离子,例如为卤素离子,例如为氯离子或为溴离子):

[0860]

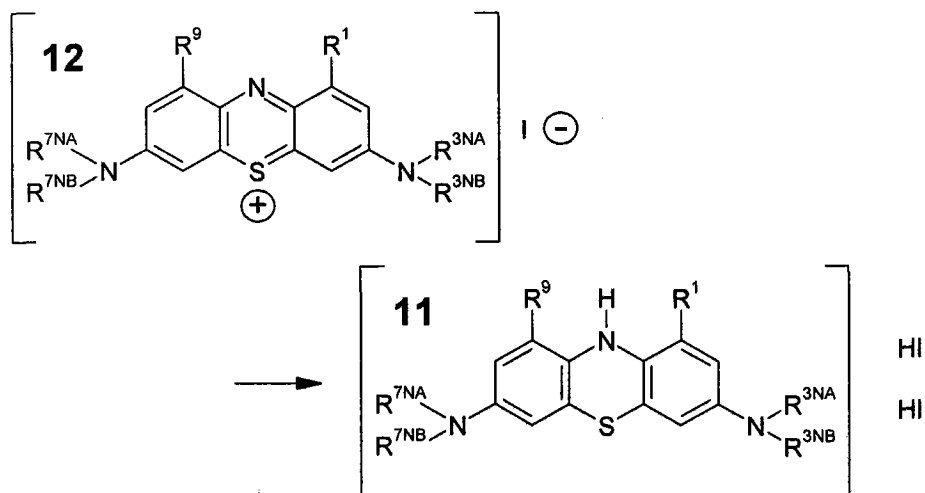


[0861] 在一种实施方案中,碘交换(IE)是通过与碘化钾反应进行的,例如利用碘化钾水溶液进行碘交换。

[0862] 在一种实施方案中,还原并形成碘化物盐(RISF)步骤为:

[0863] (ii) 还原并形成碘化物盐(RISF),其中3,7-二(二取代的氨基)-硫碘化物被还原并转化为相应的3,7-二氨基-10H-吩噻嗪碘化物,例如:

[0864]

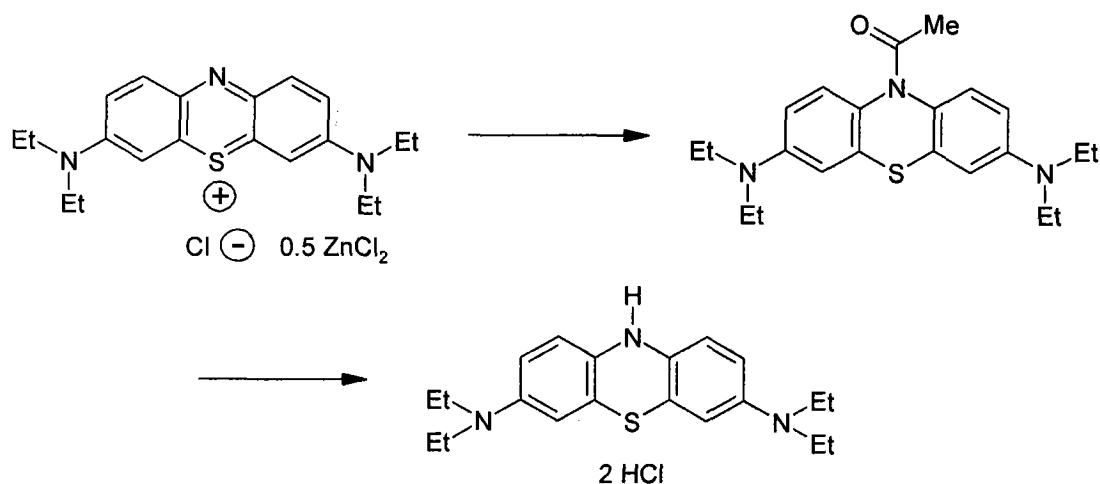


[0865] 在一种实施方案中,还原和形成碘化物盐(RISF)是通过与碘乙烷反应进行的,例如采用碘乙烷及乙醇进行反应。

[0866] 在另一方法中,同时还原合适的铊盐,例如乙基铊-半(二氯化锌),并保护环上的氨基,例如通过与苯肼、乙醇、醋酸酐和吡啶进行反应。然后可制备成相应的盐,例如利用浓盐酸水溶液制备成相应的盐,例如在脱保护的同时进行。这种方法的实例如下方案所示:

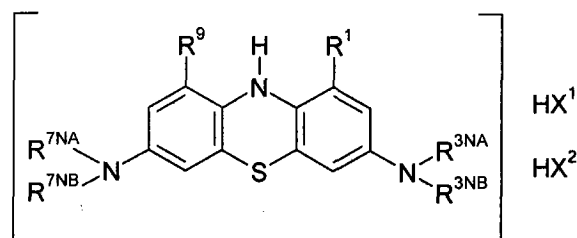
[0867] 方案3

[0868]



[0869] 因此,本发明另一方面涉及制备如下结构式的 3,7-二氨基-10H-吩噻嗪 (DAPTZ) 化合物的方法:

[0870]



[0871] 其中, R^1 、 R^9 、 R^{3NA} 、 R^{3NB} 、 R^{7NA} 、 R^{7NB} 、 HX^1 和 HX^2 如本申请所定义 (例如, 其中 HX^1 和 HX^2 各自为 HI), 所述方法包括如下步骤:

[0872] (iv) 成盐 (SF)。

[0873] 在一种实施方案中,所述方法包括如下步骤:

[0874] (iii) 环上的氨基脱保护 (DP), 和

[0875] (iv) 成盐 (SF)。

[0876] 在一种实施方案中,所述方法包括如下步骤:

[0877] (ii) 环上的氨基保护 (AP),

[0878] (iii) 环上的氨基脱保护 (DP), 和

[0879] (iv) 成盐 (SF)。

[0880] 在一种实施方案中,所述方法包括如下步骤:

[0881] (i) 还原 (RED)

[0882] (ii) 环上的氨基保护 (AP),

[0883] (iii) 环上的氨基脱保护 (DP), 和

[0884] (iv) 成盐 (SF)。

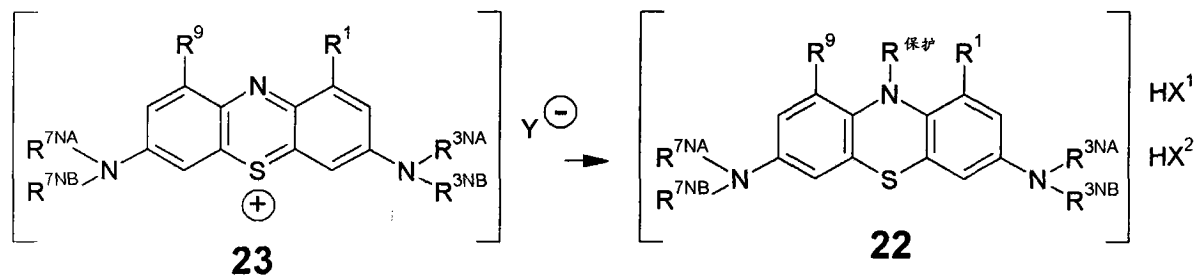
[0885] 在一种实施方案中,所述步骤是以所列顺序进行的 (即列表中任一步骤与列表中的前一步骤同时进行或相继进行)

[0886] 在一种实施方案中, (i) 还原 (RED) 步骤和 (ii) 环上的氨基保护 (AP) 步骤同时进行 (即作为一步)。

[0887] 例如,在一种实施方案中,还原 (RED) 步骤和环上的氨基保护 (AP) 步骤的结合如下:

[0888] (i) 还原 (RED) 和环上的氨基保护 (AP), 其中将 3,7-二(二取代的氨基)-𪛶盐还原得到相应的 3,7-二(二取代的氨基)-10H-吩噻嗪, 将 3,7-二(二取代的氨基)-10H-吩噻嗪的环上的氨基(-NH-) 转化为经保护的氨基(-R 保护), 得到相应经保护的 3,7-二(二取代的氨基)-10H-吩噻嗪, 例如

[0889]



[0890] 在一种实施方案中, Y 代表 Cl^- 。

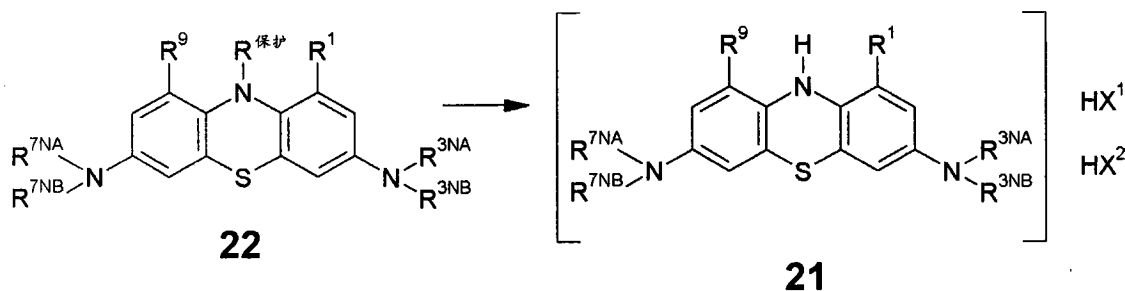
[0891] 在一种实施方案中, 还原 (RED) 步骤和环上的氨基保护 (AP) 步骤的结合是利用苯肼和醋酸酐进行的, 例如利用苯肼、乙醇、醋酸酐和吡啶进行还原步骤和环上的氨基保护步骤。

[0892] 在一种实施方案中, (iii) 环上的氨基脱保护 (DP) 步骤和 (iv) 成盐 (SF) 步骤是同时进行的 (即作为一个步骤)。

[0893] 例如, 在一种实施方案中, 环上的氨基脱保护 (DP) 步骤和成盐 (SF) 步骤的结合如下:

[0894] (ii) 环上的氨基脱保护 (DP) 和成盐 (SF), 其中将经保护的 3,7-二(二取代的氨基)-10H-吩噻嗪的保护基团脱除, 得到 3,7-二(二取代的氨基)-10H-吩噻嗪, 形成相应的盐, 例如:

[0895]



[0896] 在一种实施方案中, 环上的氨基脱保护 (DP) 步骤和成盐 (SF) 步骤的结合可利用酸如盐酸进行, 例如利用浓盐酸水溶液进行环上的氨基脱保护步骤和成盐步骤。

[0897] 在一个相似的方法中, 首先将合适的𪛶氯化物 (例如甲基𪛶氯化物, 乙基𪛶氯化物) 还原和乙酰化, 得到相应的 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮, 例如通过与肼 (NH_2NH_2)、甲肼 (MeNHNH_2) 或硼氢化钠 (NaBH_4) 反应, 并与醋酸酐 ($(\text{H}_3\text{CCO})_2\text{O}$) 反应; 例如在合适碱如吡啶 ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) 或许尼希碱 (二异丙基乙胺, $\text{C}_8\text{H}_{19}\text{N}$) 的存在下, 例如在合适的溶剂如乙醇和乙腈中进行反应。然后对该被还原和乙酰化的化合物进行脱保护 (通过脱除乙酰基), 例如在任选地添加有合适的醚例如乙醚的情况下, 例如通过与合适的氢卤酸如盐酸或氢溴酸, 例如在合适的溶剂如乙醇中反应来进行脱保护。

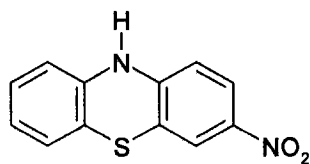
[0898] 具体的实施例如下:

[0899] 化学合成

[0900] 合成 1

[0901] 3-硝基-10H-吩噻嗪

[0902]

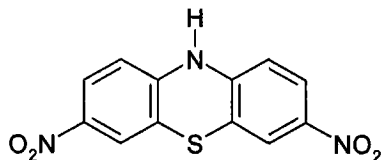


[0903] 将亚硝酸钠 (20.00g, 210mmol) 加到 10H-吩噻嗪 (20.00g, 50mmol)、氯仿 (100cm³) 和醋酸 (20cm³) 的混合物中, 将所得混合物在室温搅拌 1 小时。然后向混合物中加入醋酸 (20cm³), 再搅拌 18 小时。过滤所得悬浮液, 用醋酸、乙醇、水和最后用乙醇分别洗涤得到紫/棕色固体。将残余物溶解在热 DMF 中, 冷却后过滤, 得到二硝基化合物, 为紫色固体。浓缩所述 DMF 溶液, 用水和甲醇洗涤沉淀物, 得到标题所示的单-硝基化合物 (15g, ~50%), 为棕色固体; $\nu_{\max}(\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$: 3328(NH), 3278(NH), 3229(NH), 3119(CH), 3049(CH), 1557(NO₂), 1531(NO₂); $\delta_{\text{H}}(250\text{MHz}; \text{DMSO})$: 6.64(5H, m, ArH), 7.68(1H, d, J 2.5, ArH), 7.79-7.84(1H, dd, J 2.75, 6.5, ArH); $\delta_{\text{C}}(62.9\text{MHz}; \text{DMSO})$: 113.3(ArC), 115.3(ArC), 116.9(ArC), 121.8(ArC), 123.6(ArC), 123.7(ArC), 124.6(ArC), 126.4(ArC), 128.1(ArC), 138.8(ArC), 141.0(ArC), 147.8(ArC)。

[0904] 合成 2

[0905] 3,11-二硝基-10H-吩噻嗪

[0906]

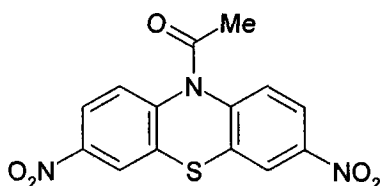


[0907] 遵循合成 3-硝基-10H-吩噻嗪的步骤, 利用 3-硝基-10H-吩噻嗪 (10.00g, 41mmol)、氯仿 (40cm³)、醋酸 (2x10cm³) 和亚硝酸钠 (11.86g, 173mmol) 进行反应。所得残余物从 DMF 重结晶, 得到标题所示的二-硝基化合物 (6.60g, 56%), 为紫色针状物; $\nu_{\max}(\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$: 3331(NH), 3294(NH), 3229(NH), 3101(CH), 3067(CH), 1602(NO₂), 1558(NO₂); $\delta_{\text{H}}(250\text{MHz}; \text{DMSO})$: 6.73-6.76(2H, d, J 9, ArH), 7.78(2H, s, ArH), 7.89-7.85(2H, d, J 9, ArH)。

[0908] 合成 3

[0909] 1-(3,7-二硝基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0910]



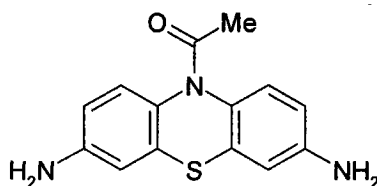
[0911] 将 3,11-二硝基-10H-吩噻嗪 (3.00g, 10.37mmol)、醋酸酐 (15.88g, 155.50mmol) 和吡啶 (30cm³) 形成的溶液搅拌回流 18 小时。然后将所得热溶液小心倒入冰水中。过

滤,得到形成的沉淀,并将其溶解在二氯甲烷中,用硫酸镁干燥,过滤、浓缩,得到棕/橙色固体,该固体经柱色谱纯化(SiO_2 , 乙酸乙酯:石油醚=2:3,以二氯甲烷溶液形式加载)得到浅黄色固体状的标题化合物(2.46g,71%),其可从丙酮重结晶,得到浅黄色针状物; $\nu_{\max}(\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$:3091(CH),3063(CH),1680($\text{C}=\text{O}$),1575(NO_2),1510(NO_2); $\delta_{\text{H}}(250\text{MHz};\text{CDCl}_3)$:2.28(3H, s, CH_3),7.65–7.69(2H, d, J 9, ArH),8.22–8.26(2H, dd, J 2.75,8.75, ArH),8.33–8.32(2H, d, J 2.5, ArH); $\delta_{\text{C}}(62.9\text{MHz};\text{CDCl}_3)$:168.2($\text{C}=\text{O}$),146.3(ArC),143.3(ArC),133.6(ArC),127.8(ArC),123.4(ArC),122.9(ArC),23.1(CH_3); $m/z(\text{ES})$ 331.0(80%, $[\text{M}]^+$)。

[0912] 合成 4

[0913] 1-(3,7-二氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0914]

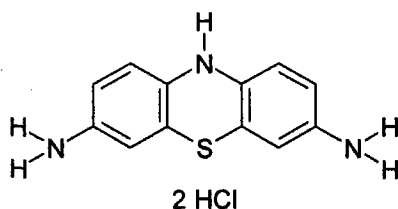


[0915] 将1-(3,7-二硝基-吩噻嗪-10-基)-乙酮(2g,6.04mmol)、二氯化锡(II)二水合物(14.17g,62.8mmol)和乙醇(50cm^3)形成的混合物加热回流并在该温度搅拌5小时。然后将所得混合物冷却到室温并倒在冰水上(poured over icewater)。用5%碳酸氢钠将pH调节到pH7,然后用乙酸乙酯($3\times 50\text{cm}^3$)萃取产物。萃取物用盐水洗涤并经硫酸镁干燥,过滤浓缩,得到标题化合物(1.64g,100%),其为蓝紫色固体; $\nu_{\max}(\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$:3445(NH),3424(NH),3368(NH),3322(NH),3203(NH),3054(CH),2995(CH),1706($\text{C}=\text{O}$),1650(NO_2),1590(NO_2); $\delta_{\text{H}}(250\text{MHz};\text{CDCl}_3)$:2.01(3H, s, CH_3),5.09–5.43(4H, brd s, NH),6.47–6.51(2H, dd, J 1.5,8.25, ArH),6.61(2H, s, ArH),7.11–7.15(2H, d, J 8, ArH); $\delta_{\text{C}}(62.9\text{MHz};\text{CDCl}_3)$:169.1($\text{C}=\text{O}$),147.2(ArC),128.1(ArC),127.6(ArC),127.3(ArC),112.3(ArC),111.5(ArC),22.6(CH_3); $m/z(\text{ES})$ 293.9(95%, $[\text{M}+\text{H}, \text{Na}]^+$),272.0(20%, $[\text{M}+\text{H}]^+$),227.9(100%, $[\text{M}+\text{H}, -\text{Ac}]^+$)。

[0916] 合成 5

[0917] 3,7-二氨基-吩噻嗪双(盐酸)(B4)

[0918]

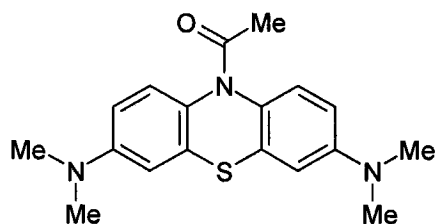


[0919] 将1-(3,7-二氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮(0.25g,0.921mmol)溶解在盐酸(5N, 10cm^3)中,将所得溶液加热回流并搅拌30分钟。浓缩该反应混合物,得到标题化合物,为淡蓝色固体。 $\delta_{\text{H}}(250\text{MHz};\text{D}_2\text{O})$:6.60(2H, brd d, ArH),7.07(4H, brd s, ArH)。

[0920] 合成 6

[0921] 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0922]

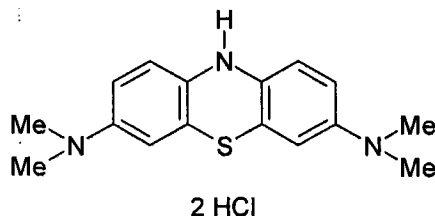


[0923] 将 1-(3,7-二氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮 (0.25g, 0.92mmol) 溶解在 DMSO (3cm³) 中。加入甲苯 (10cm³)、碘甲烷 (1.96g, 13.8mmol)、四丁基溴化铵 (50mg), 最后加入氢氧化钠水溶液 (50%, 1.25cm³)。将所得混合物在室温搅拌 2 小时。然后再加入氢氧化钠水溶液 (50%, 1.25cm³) 和碘甲烷 (1.96g, 13.8mmol)。在室温将所得混合物再搅拌 3 小时, 然后加入第三份氢氧化钠水溶液 (50%, 1.25cm³) 和碘甲烷 (1.96g, 13.8mmol), 将所得混合物再搅拌 18 小时。所得粘稠的悬浮液用水 (3x75cm³) 洗, 收集甲苯萃取物。将所述水洗物用二氯甲烷 (3x50cm³) 萃取, 所得萃取物与甲苯合并, 经硫酸镁干燥, 过滤浓缩, 得到深紫色固体。残余物用柱色谱纯化 (SiO₂, 乙酸乙酯: 石油醚 = 2 : 3, 以二氯甲烷溶液形式加载), 得到标题化合物产物 (0.12g, 40%), 其为淡紫色固体; $\nu_{\max}$ (KBr)/cm⁻¹: 2910 (CH), 2876 (CH), 2856 (CH), 2799 (CH), 1659 (C=O), 1596 (NO₂), 1502 (NO₂); δ_{H} (250MHz; CDCl₃): 2.16 (3H, s, CH₃), 2.93 (12H, s, NCH₃), 6.59-6.62 (2H, d, J 8.5, ArH), 6.69-6.71 (2H, d, J 2.75, ArH), 7.08-7.47 (2H, brd s, ArH); δ_{C} (62.9MHz; CDCl₃): 170.3 (C=O), 148.9 (ArC), 127.2 (ArC), 127.1 (ArC), 127.0 (ArC), 110.9 (ArC), 110.7 (ArC), 40.7 (NCH₃), 22.9 (CH₃)。

[0924] 合成 7

[0925] N,N,N',N' - 四甲基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺双(盐酸)(B3)

[0926]

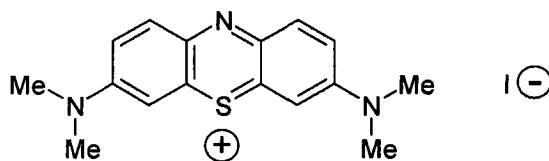


[0927] 将 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮 (0.5g, 1.84mmol) 溶解在盐酸水溶液 (5N, 15cm³) 中, 将所得溶液加热至回流温度并搅拌 30 分钟。浓缩反应混合物, 得到标题化合物, 为绿/蓝色固体; δ_{H} (250MHz; D₂O): 3.18 (12H, s, NCH₃), 6.67 (2H, d, J 8.5, ArH), 7.16 (4H, brd s, ArH); δ_{C} (62.9MHz; D₂O): 144.3 (ArC), 138.9 (ArC), 122.4 (ArC), 120.8 (ArC), 120.7 (ArC), 117.6 (ArC), 48.9 (NCH₃)。

[0928] 合成 8

[0929] 甲基硫堇鎓碘化物

[0930]



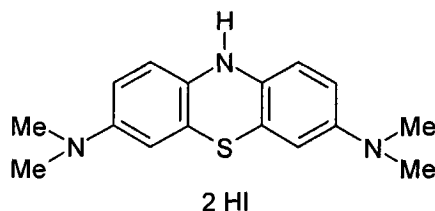
[0931] 向圆底烧瓶中加入甲基硫堇鎓氯化物 (MTC, 次甲蓝) (2g, 6.25mmol) 和水 (50cm³), 将所得混合物搅拌 10 分钟, 或搅拌直到固体溶解。然后向所述混合物中加入碘化

钾 (1.56g, 9.4mmol), 形成黑绿色悬浮液。将反应加热到沸腾, 然后自然冷却得到标题化合物 (2.03g, 79%), 为亮绿色针状物。分析: $C_{16}H_{18}N_3SI$ 的计算值: C, 46.72; H, 4.41; N, 10.22; S, 7.80; I, 30.85。实测值: C, 46.30; H, 4.21; N, 10.14; S, 7.86; I, 29.34。

[0932] 合成 9

[0933] N, N, N', N' - 四甲基 -10H- 吩噻嗪 -3, 7- 二胺双 (氢碘酸) (B6)

[0934]

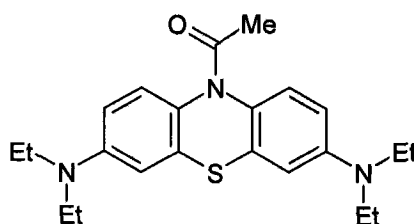


[0935] 向圆底烧瓶中加入甲基硫堇鎓碘化物 (2g, 4.86mmol)、乙醇 (100cm³) 和碘乙烷 (75.8g, 486mmol), 将所得混合物加热回流 18 小时, 其间颜色发生变化, 从绿 / 蓝色变为棕色, 并伴有黄色沉淀物出现。一经冷却到室温就将混合物过滤, 用乙醚 (20cm³) 洗涤, 得到标题化合物 (1.99g, 76%), 为淡绿色固体。δ_H (250MHz; D₂O): 3.20 (12H, s, NCH₃), 6.76 (2H, d, J 8.5, ArH), 7.22 (2H, brds, ArH); δ_C (62.9MHz; D₂O): 145.0 (ArC), 139.3 (ArC), 122.6 (ArC), 121.1 (ArC), 120.9 (ArC), 117.9 (ArC), 48.9 (NCH₃)。

[0936] 合成 10

[0937] 1-(3, 7- 双 - 二乙基氨基 - 吩噻嗪 -10- 基) - 乙酮

[0938]

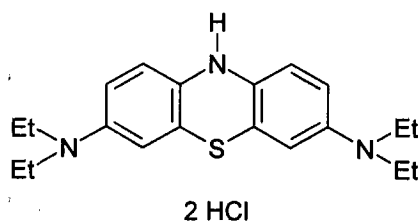


[0939] 向干燥的 25cm³ 圆底烧瓶中加入乙基硫氯化锌 (0.5g, 1.13mmol) 和乙醇 (10cm³)。然后在氮气气氛下滴加苯肼 (0.134g, 1.24mmol)。将所得混合物在 25℃ 搅拌 1 小时, 高真空浓缩。然后加入吡啶 (50cm³) 和醋酸酐, 将所得混合物在 60℃ 搅拌 18 小时。将所得溶液倒入冰 / 水 (250cm³) 中, 将有机物萃取到乙酸乙酯 (3x50cm³) 中。所述萃取物用饱和硫酸铜溶液洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤浓缩, 得到棕色油状的粗品。将粗品用快速柱色谱纯化 (用 40% 乙酸乙酯: 60% 石油精 (40-60℃) 洗脱, 硅胶为 40-63 μ 60Å), 得到标题化合物 (0.18g, 41%), 其为绿色玻璃状固体。δ_H (250MHz; CDCl₃): 7.0-7.5 (2H, brds, ArH), 6.64 (2H, s, ArH), 6.52 (2H, d, ArH), 3.35 (8H, q, 7, NCH₂), 2.18 (3H, s, CH₃), 1.16 (12H, t, 7, CH₃); δ_C (62.9MHz; CDCl₃): 12.5 (CH₃), 22.9 (CH₃), 44.6 (NCH₂), 110.1 (ArC), 127.4 (ArC), 146.5 (ArC), 170.2 (C=O)。

[0940] 合成 11

[0941] N, N, N', N' - 四乙基 -10H- 吩噻嗪 -3, 7- 二胺双 (盐酸)

[0942]

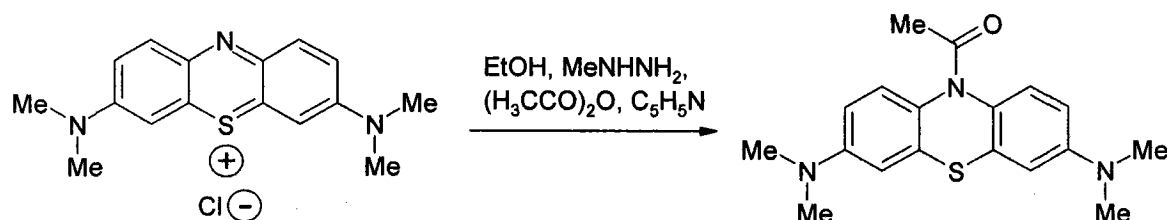


[0943] 向 25cm³ 圆底烧瓶中加入 3,7-二乙基氨基-10-乙酰基-吩噻嗪 (0.125g, 0.33mmol) 和盐酸水溶液 (5M, 5cm³)。将所述混合物在 100℃ 加热 2 小时, 然后冷却到室温, 浓缩, 得到标题化合物 (0.11g, 81%), 为黄绿色玻璃状固体。δ_H (250MHz; CD₃OD): 7.07 (4H, brd, ArH), 6.65 (2H, brd, ArH), 3.35 (8H, brd, NCH₂), 0.97 (12H, brd, CH₃); δ_C (62.9MHz; CD₃OD): 10.8 (CH₃), 55.1 (NCH₂), 116.6 (ArC), 120.4 (ArC), 121.5 (ArC), 123.6 (ArC), 132.6 (ArC), 144.5 (ArC)。

[0944] 合成 12

[0945] 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0946]

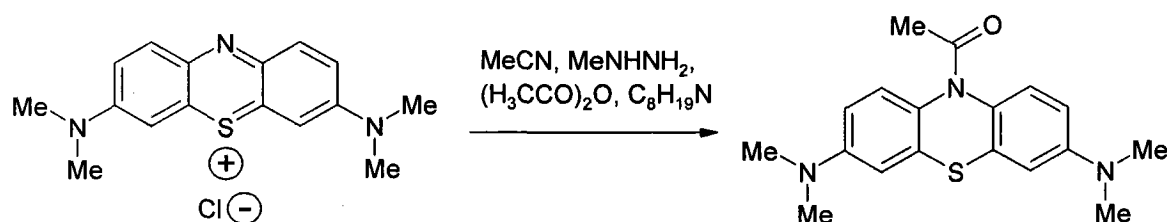


[0947] 利用甲胂 / 吡啶分两锅进行合成。向置于氩气气氛中的 250cm³ 圆底烧瓶中加入甲基硫胂氯化物三水合物 (26.74mmol, 10g)、乙醇 (100cm³) 和甲胂 (58.83mmol, 2.71g)。将所得混合物加热到 40℃, 搅拌 2 小时。将所得黄 / 绿色悬浮液冷却到 5℃, 氩气气氛下过滤, 用乙醇 (20cm³) 洗涤, 干燥得到淡绿色固体状的白色次甲蓝 (leuco-methylene blue)。向该白色产物中加入醋酸酐 (40cm³) 和吡啶 (10cm³), 将所得溶液在 100℃ 加热 18 小时。然后将其冷却并小心倒在冰水上, 同时搅拌, 得到沉淀物, 滤出该沉淀物, 用水洗, 60℃ 干燥 2 小时得到标题化合物 (5.82g, 66%), 为亮棕色固体。Mp 137℃; ν_{max} (KBr) / cm⁻¹ 2910 (CH), 2876 (CH), 2856 (CH), 2799 (CH), 1659 (C = O), 1596 (NO₂), 1502 (NO₂); δ_H (250MHz; CDCl₃) 2.16 (3H, s, CH₃), 2.93 (12H, s, NCH₃), 6.59-6.62 (2H, d, J 8.5, ArH), 6.69-6.71 (2H, d, J 2.75, ArH), 7.08-7.47 (2H, brd s, ArH); δ_C (62.9MHz; CDCl₃) 170.3 (C = O), 148.9 (ArC), 127.2 (ArC), 127.1 (ArC), 127.0 (ArC), 110.9 (ArC), 110.7 (ArC), 40.7 (NCH₃), 22.9 (CH₃); m/z (ES) 284.2 (100%, [M-OAc]⁺), 328.1 (15%, [M+H]⁺), 350.1 (41%, [M+Na]⁺)。

[0948] 合成 13

[0949] 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0950]



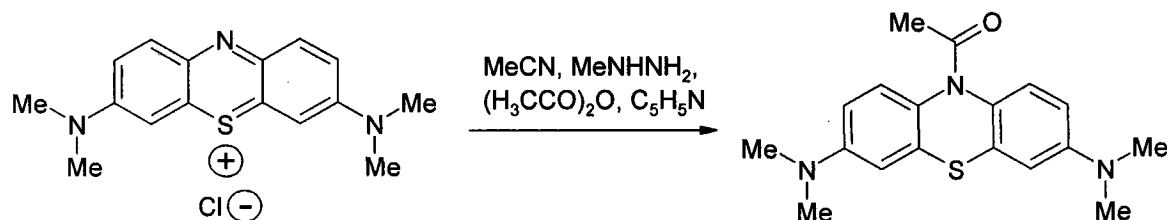
[0951] 利用甲胂 / 许尼希碱通过一锅法合成。氮气气氛下向 5000cm³ 反应容器中加入

甲基硫堇鎘氯化物三水合物 (0.54mol, 200g) 和乙腈 (1000cm³)。向其中逐滴加入甲胍 (1.07mol, 49.36g), 滴加速度为每分钟 1.5mL。混合物的温度升高到 32℃, 搅拌 20 分钟。向所得的黄 / 绿色悬浮液中加入醋酸酐 (5.35mol, 541g), 然后加入许尼希碱 (二异丙基乙胺) (1.55mol, 200g)。将混合物在 90℃ 加热 2 小时。然后将冷却的混合物小心倒入分成 10 份、每份 200cm³ 的冰水 (2000cm³) 中, 同时搅拌, 得到沉淀物。将所得沉淀物搅拌 45 分钟, 过滤, 用水洗 (3x250cm³)。空气干燥 30 分钟。将所得粗品物质用热乙醇 (2750cm³) 重结晶, 得到标题化合物 (112.1g, 64%), 为浅灰色固体。Mp 137℃; $\nu_{\max}$ (KBr) / cm⁻¹ 2910 (CH), 2876 (CH), 2856 (CH), 2799 (CH), 1659 (C = O), 1596 (NO₂), 1502 (NO₂); δ_{H} (250MHz; CDCl₃) 2.16 (3H, s, CH₃), 2.93 (12H, s, NCH₃), 6.59–6.62 (2H, d, J 8.5, ArH), 6.69–6.71 (2H, d, J 2.75, ArH), 7.08–7.47 (2H, brd s, ArH); δ_{C} (62.9MHz; CDCl₃) 170.3 (C = O), 148.9 (ArC), 127.2 (ArC), 127.1 (ArC), 127.0 (ArC), 110.9 (ArC), 110.7 (ArC), 40.7 (NCH₃), 22.9 (CH₃); m/z (ES) 284.2 (100%, [M-OAc]⁺), 328.1 (15%, [M+H]⁺), 350.1 (41%, [M+Na]⁺)。

[0952] 合成 14

[0953] 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0954]

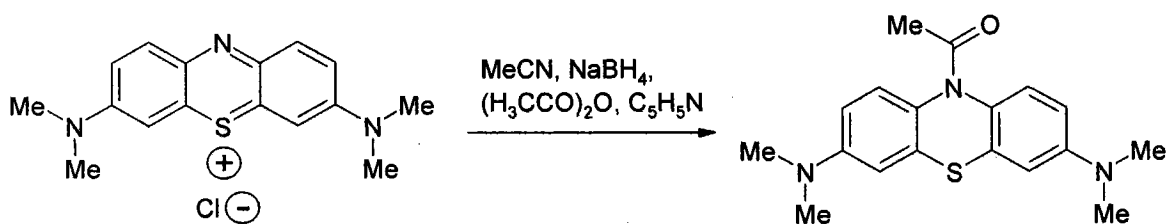


[0955] 利用甲胍 / 吡啶通过一锅法合成。在氮气气氛下向 250cm³ 圆底烧瓶中加入甲基硫堇鎘氯化物三水合物 (26.74mmol, 10g) 和乙腈 (50cm³)。将甲胍 (53.5mmol, 2.46g) 分成四等份历时 30 分钟加入。混合物的温度用冷水浴保持在 35℃, 搅拌 30 分钟。向所得黄 / 绿色悬浮液中加入醋酸酐 (267mmol, 27.3g) 和吡啶 (80.2mmol, 6.35g)。将所得混合物在 90℃ 加热 2 小时。然后将冷却的混合物分成 10 等份小心倒入冰水 (200cm³) 中, 同时搅拌, 得到沉淀物。将所述沉淀物搅拌 30 分钟, 然后滤出, 用水洗 (3x50cm³) 并空气干燥 30 分钟。所得粗品物质用热乙醇 (120cm³) 重结晶, 得到标题化合物 (5.97g, 68%), 为浅灰色固体。Mp 137℃; $\nu_{\max}$ (KBr) / cm⁻¹ 2910 (CH), 2876 (CH), 2856 (CH), 2799 (CH), 1659 (C = O), 1596 (NO₂), 1502 (NO₂); δ_{H} (250MHz; CDCl₃) 2.16 (3H, s, CH₃), 2.93 (12H, s, NCH₃), 6.59–6.62 (2H, d, J 8.5, ArH), 6.69–6.71 (2H, d, J 2.75, ArH), 7.08–7.47 (2H, brd s, ArH); δ_{C} (62.9MHz; CDCl₃) 170.3 (C = O), 148.9 (ArC), 127.2 (ArC), 127.1 (ArC), 127.0 (ArC), 110.9 (ArC), 110.7 (ArC), 40.7 (NCH₃), 22.9 (CH₃); m/z (ES) 284.2 (100%, [M-OAc]⁺), 328.1 (15%, [M+H]⁺), 350.1 (41%, [M+Na]⁺)。

[0956] 合成 15

[0957] 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0958]

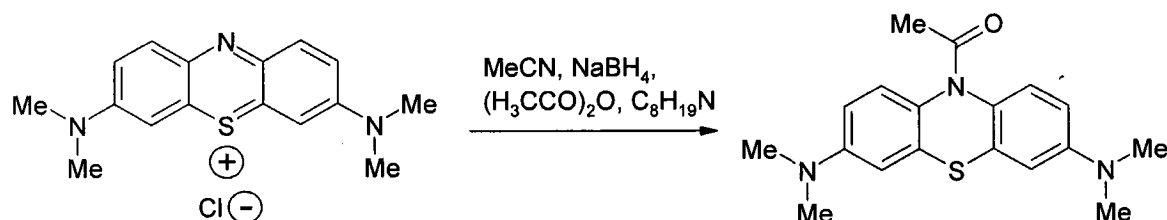


[0959] 利用硼氢化钠 / 吡啶通过一锅法合成。氮气气氛下向 500cm³ 圆底烧瓶中加入甲基硫堇鎓氯化物三水合物 (0.134mol, 50g) 和乙腈 (250cm³)。将硼氢化钠 (0.174mol, 6.6g) 分成 4 等份历时 30 分钟加入。混合物的温度用冷水浴保持在 35℃, 搅拌 30 分钟。向所得黄 / 绿色悬浮液中加入醋酸酐 (0.535mol, 55g) 和吡啶 (0.174mol, 13.76g)。将所得混合物在 90℃ 搅拌 2 小时。然后搅拌下将冷却的混合物分成 10 份小心倒入冰水 (250cm³) 中, 得到沉淀物。将所述沉淀物搅拌 30 分钟, 滤出, 用水洗 (3x50cm³), 空气干燥 30 分钟。所得粗品物质用热乙醇 (500cm³) 结晶, 得到标题化合物 (26.7g, 61%), 为浅灰色固体。Mp 137 °C ; $\nu_{\max}$ (KBr) / cm⁻¹ 2910 (CH), 2876 (CH), 2856 (CH), 2799 (CH), 1659 (C = O), 1596 (NO₂), 1502 (NO₂) ; δ_{H} (250MHz ; CDCl₃) 2.16 (3H, s, CH₃), 2.93 (12H, s, NCH₃), 6.59–6.62 (2H, d, J 8.5, ArH), 6.69–6.71 (2H, d, J 2.75, ArH), 7.08–7.47 (2H, brd s, ArH) ; δ_{C} (62.9MHz ; CDCl₃) 170.3 (C = O), 148.9 (ArC), 127.2 (ArC), 127.1 (ArC), 127.0 (ArC), 110.9 (ArC), 110.7 (ArC), 40.7 (NCH₃), 22.9 (CH₃) ; m/z (ES) 284.2 (100%, [M-OAc]⁺), 328.1 (15%, [M+H]⁺), 350.1 (41%, [M+Na]⁺)。

[0960] 合成 16

[0961] 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0962]

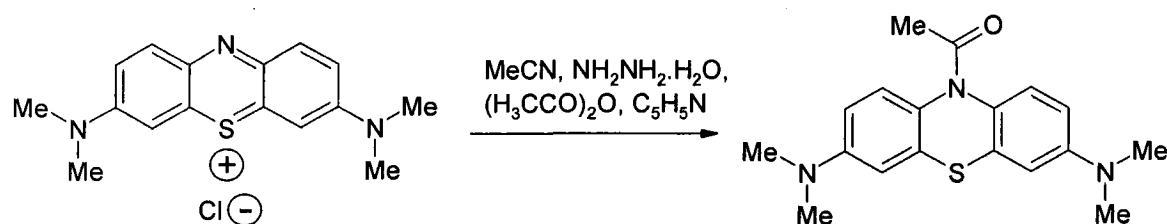


[0963] 利用硼氢化钠 / 许尼希碱通过一锅法合成。氮气气氛下向 500cm³ 圆底烧瓶中加入甲基硫堇鎓氯化物三水合物 (80.2mmol, 30g) 和乙腈 (150cm³)。将硼氢化钠 (104mmol, 3.94g) 分成 4 等份历时 30 分钟内加入。所得混合物的温度用冷水浴保持在 35℃, 搅拌 30 分钟。向所得黄 / 绿色悬浮液中加入醋酸酐 (321mmol, 32.75g) 和许尼希碱 (二异丙基乙胺) (120mmol, 15.55g)。将所得混合物在 90℃ 加热 2 小时。然后搅拌下将冷却的混合物分成 10 等份小心倒入冰水 (200cm³) 中, 得到沉淀物。将所述沉淀物搅拌 30 分钟, 过滤并用水洗 (3x50cm³), 空气干燥 30 分钟。所得粗品物质用热乙醇结晶 (300cm³) 得到标题化合物 (13.55g, 52%), 为浅灰色固体。Mp 137°C ; $\nu_{\max}$ (KBr) / cm⁻¹ 2910 (CH), 2876 (CH), 2856 (CH), 2799 (CH), 1659 (C = O), 1596 (NO₂), 1502 (NO₂) ; δ_{H} (250MHz ; CDCl₃) 2.16 (3H, s, CH₃), 2.93 (12H, s, NCH₃), 6.59–6.62 (2H, d, J 8.5, ArH), 6.69–6.71 (2H, d, J 2.75, ArH), 7.08–7.47 (2H, brd s, ArH) ; δ_{C} (62.9MHz ; CDCl₃) 170.3 (C = O), 148.9 (ArC), 127.2 (ArC), 127.1 (ArC), 127.0 (ArC), 110.9 (ArC), 110.7 (ArC), 40.7 (NCH₃), 22.9 (CH₃) ; m/z (ES) 284.2 (100%, [M-OAc]⁺), 328.1 (15%, [M+H]⁺), 350.1 (41%, [M+Na]⁺)。

[0964] 合成 17

[0965] 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0966]

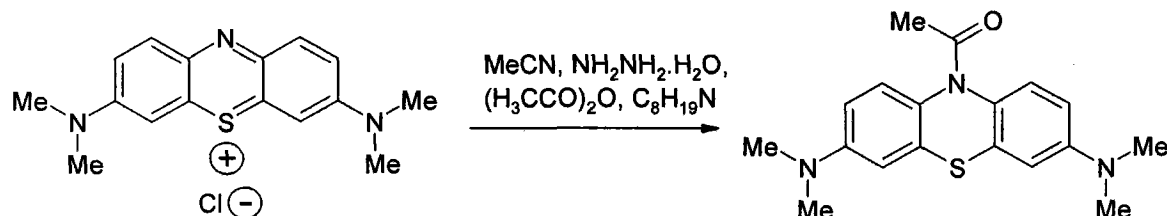


[0967] 利用一水合肼 / 吡啶通过一锅法合成。氮气气氛下向 250cm³ 圆底烧瓶中加入甲基硫堇鎓氯化物三水合物 (26.74mmol, 10g) 和乙腈 (50cm³)。向其中加入一水合肼 (58.8mmol, 2.95g), 将所得混合物加热回流并搅拌 10 分钟, 然后冷却到 25℃。向所得黄 / 绿色悬浮液中加入醋酸酐 (424mmol, 43.3g) 和吡啶 (124mmol, 9.78g)。将所得混合物在 90℃ 加热 2 小时。然后搅拌下将冷却的混合物分成 10 等份小心倒入冰水 (100cm³) 中, 得到沉淀物。将所述沉淀物搅拌 30 分钟, 过滤, 用水洗 (3x50cm³), 空气干燥 30 分钟。将所得粗品物质用热乙醇 (100cm³) 结晶, 得到标题化合物 (4.87g, 56%), 为浅灰色固体。Mp 137℃; $\nu_{\max}$ (KBr)/cm⁻¹ 2910 (CH), 2876 (CH), 2856 (CH), 2799 (CH), 1659 (C=O), 1596 (NO₂), 1502 (NO₂); δ_{H} (250MHz; CDCl₃) 2.16 (3H, s, CH₃), 2.93 (12H, s, NCH₃), 6.59–6.62 (2H, d, J 8.5, ArH), 6.69–6.71 (2H, d, J 2.75, ArH), 7.08–7.47 (2H, brd s, ArH); δ_{C} (62.9MHz; CDCl₃) 170.3 (C=O), 148.9 (ArC), 127.2 (ArC), 127.1 (ArC), 127.0 (ArC), 110.9 (ArC), 110.7 (ArC), 40.7 (NCH₃), 22.9 (CH₃); m/z (ES) 284.2 (100%, [M-OAc]⁺), 328.1 (15%, [M+H]⁺), 350.1 (41%, [M+Na]⁺)。

[0968] 合成 18

[0969] 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0970]



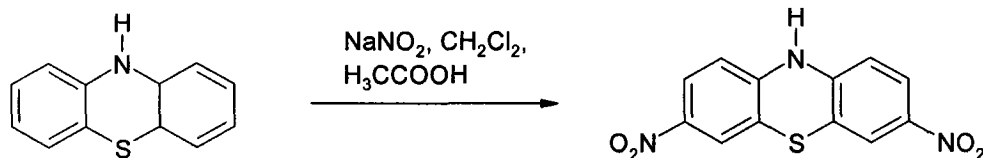
[0971] 利用一水合肼 / 许尼希碱通过一锅法合成。氮气气氛下向 250cm³ 圆底烧瓶中加入甲基硫堇鎓氯化物三水合物 (80.2mmol, 30g) 和乙腈 (150cm³)。向其中加入一水合肼 (176.5mmol, 8.84g), 将所得混合物加热回流并搅拌 10 分钟, 然后冷却到 25℃。向所得黄 / 绿色悬浮液中加入醋酸酐 (794mmol, 81.2g) 和许尼希碱 (二异丙基乙胺) (232mmol, 29.97g)。将所得混合物在 90℃ 加热 2 小时。然后搅拌下将冷却的混合分 10 等份小心倒入冰水 (400cm³) 中, 得到沉淀物。将所述沉淀物搅拌 30 分钟, 过滤, 用水洗 (3x100cm³), 空气干燥 30 分钟。将所得粗品物质用热乙醇 (400cm³) 结晶, 得到标题化合物 (17.15g, 65%), 为浅灰色固体。Mp 137℃; $\nu_{\max}$ (KBr)/cm⁻¹ 2910 (CH), 2876 (CH), 2856 (CH), 2799 (CH), 1659 (C=O), 1596 (NO₂), 1502 (NO₂); δ_{H} (250MHz; CDCl₃) 2.16 (3H, s, CH₃), 2.93 (12H, s, NCH₃), 6.59–6.62 (2H, d, J 8.5, ArH), 6.69–6.71 (2H, d, J 2.75, ArH), 7.08–7.47 (2H, brd s, ArH); δ_{C} (62.9MHz; CDCl₃) 170.3 (C=O), 148.9 (ArC), 127.2 (ArC), 127.1 (ArC), 127.0 (ArC),

110.9 (ArC), 110.7 (ArC), 40.7 (NCH₃), 22.9 (CH₃); m/z (ES) 284.2 (100%, [M-OAc]⁺), 328.1 (15%, [M+H]⁺), 350.1 (41%, [M+Na]⁺).

[0972] 合成 19

[0973] 3,7-二硝基-10H-吩噻嗪

[0974]

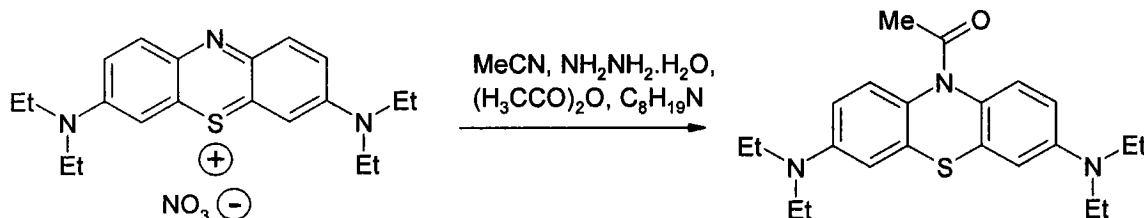


[0975] 向 10H-吩噻嗪 (20.00g, 100mmol)、二氯甲烷 (100cm³) 和醋酸 (40cm³) 的混合物中加入亚硝酸钠 (20.07g, 300mmol), 将所得混合物在室温搅拌 10 分钟。接着加入另外的醋酸 (40cm³)、二氯甲烷 (100cm³) 和亚硝酸钠 (20.07g, 300mmol)。还加入 120cm³ 醋酸以试图使粘稠的反应混合物散开。将所得混合物搅拌 3 小时。过滤所得悬浮液, 用乙醇、水、最后再用乙醇 (各 100cm³) 洗涤得到紫/棕色固体。将残余物在热 DMF 中搅拌, 冷却后过滤所述二硝基产物, 将所述产物用乙醇 (150cm³) 洗涤、干燥, 得到标题化合物 (24.88g, 86%), 为棕色固体; $\nu_{\max}$ (KBr)/cm⁻¹ 3331 (NH), 3294 (NH), 3229 (NH), 3101 (CH), 3067 (CH), 1602 (NO₂), 1558 (NO₂); δ_{H} (250MHz; DMSO) 6.73-6.76 (2H, d, J 9, ArH), 7.78 (2H, s, ArH), 7.89-7.85 (2H, d, J 9, ArH)。

[0976] 合成 20

[0977] 1-(3,7-双-二乙基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮

[0978]

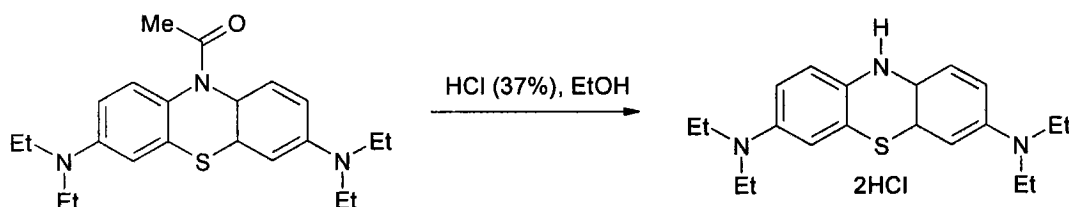


[0979] 氮气气氛下向 250cm³ 圆底烧瓶中加入乙基铈硝酸盐一水合物 (7.13mmol, 3g) 和乙腈 (20cm³)。向其中加入一水合肼 (16.4mmol, 0.82g), 将所得混合物加热回流并搅拌 10 分钟, 然后冷却到 25℃。向所得棕色溶液中加入醋酸酐 (114mmol, 11.65g) 和许尼希碱 (二异丙基乙胺) (21.4mmol, 2.77g)。将所得混合物在 90℃ 加热 2 小时。然后在搅拌下将冷却的混合物分成 10 份小心倒入冰水 (40cm³) 中, 得到沉淀物。将所述沉淀物搅拌 30 分钟, 然后过滤, 用水洗 (3x25cm³)、空气干燥 30 分钟。将所得粗品物质用热乙醇 (50cm³) 结晶, 得到标题化合物 (1.73g, 63%), 为浅灰色固体。 δ_{H} (250MHz; CDCl₃) 7.0-7.5 (2H, brds, ArH), 6.64 (2H, s, ArH), 6.52 (2H, d, ArH), 3.35 (8H, q, 7, NCH₂), 2.18 (3H, s, CH₃), 1.16 (12H, t, 7, CH₃); δ_{C} (62.9MHz; CDCl₃) 12.5 (CH₃), 22.9 (CH₃), 44.6 (NCH₂), 110.1 (ArC), 127.4 (ArC), 146.5 (ArC), 170.2 (C=O)。

[0980] 合成 21

[0981] N,N,N',N' - 四乙基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺双 (盐酸)

[0982]

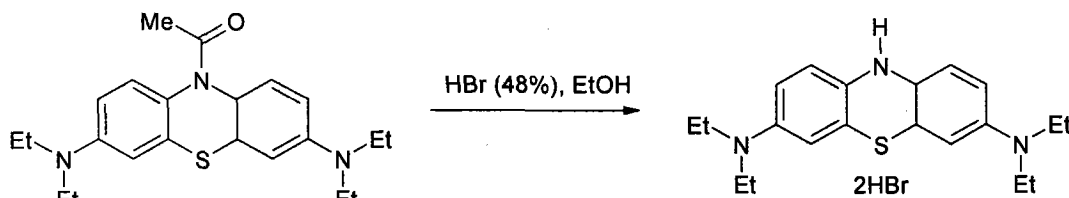


[0983] 向圆底烧瓶中加入 1-(3,7-双-二乙基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮 (0.5g, 1.30mmol)、乙醇 (5cm³) 和盐酸 (37%, 1.3cm³), 将所得溶液在 80℃ 搅拌 1 小时。一经冷却到室温就将混合物浓缩, 得到标题化合物 (0.54g, 100%), 为淡绿色玻璃状物。δ_H (250MHz; CD₃OD) 7.07 (4H, brd, ArH), 6.65 (2H, brd, ArH), 3.35 (8H, brd, NCH₂), 0.97 (12H, brd, CH₃); δ_C (62.9MHz; CD₃OD) 10.8 (CH₃), 55.1 (NCH₂), 116.6 (ArC), 120.4 (ArC), 121.5 (ArC), 123.6 (ArC), 132.6 (ArC), 144.5 (ArC)。

[0984] 合成 22

[0985] N, N, N', N' - 四乙基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺双(氢溴酸)

[0986]

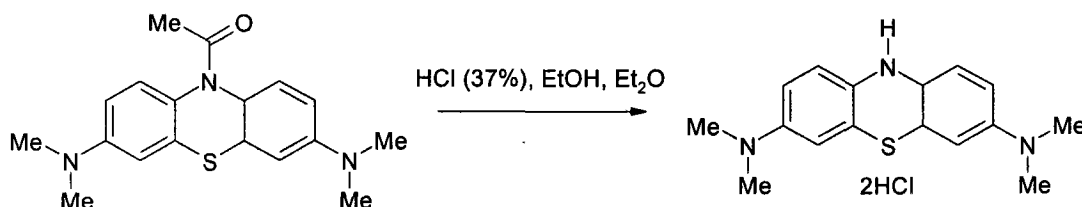


[0987] 向圆底烧瓶中加入 1-(3,7-双-二乙基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮 (0.5g, 1.30mmol)、乙醇 (5cm³) 和氢溴酸 (48%, 0.75cm³), 将所得溶液在 80℃ 加热 1 小时。一经冷却到室温就将混合物浓缩, 得到标题化合物 (0.65g, 100%), 为亮黄色玻璃状物。δ_H (250MHz; D₂O) 7.05 (4H, brd, ArH), 6.79 (2H, brd, ArH), 3.43 (8H, brd, NCH₂), 1.05 (12H, brd, CH₃); δ_C (62.9MHz; D₂O) 12.3 (CH₃), 56.2 (NCH₂), 117.9 (ArC), 121.4 (ArC), 122.4 (ArC), 124.5 (ArC), 133.5 (ArC), 145.1 (ArC)。

[0988] 合成 23

[0989] N, N, N', N' - 四甲基-10H-吩噻嗪-3,7-二胺双(盐酸)

[0990]



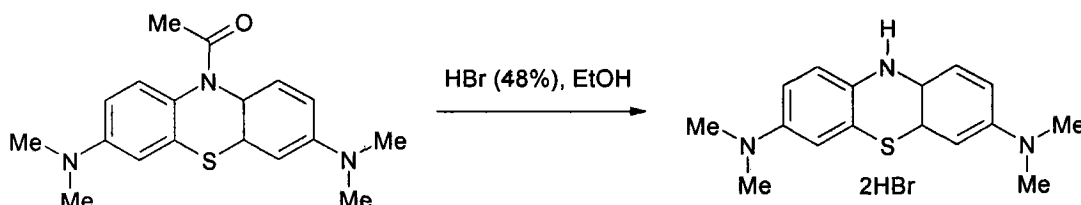
[0991] 向圆底烧瓶中加入 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮 (1g, 3.05mmol)、乙醇 (10cm³) 和盐酸 (37%, 3cm³), 将所得溶液在 80℃ 加热 1 小时。一经冷却到室温就在搅拌下向其中加入乙醚直到得到恒定浊度的溶液。经一定时间后有沉淀物生成, 过滤, 得到所述沉淀物, 用乙醚 (10cm³) 洗涤得到标题化合物 (0.98g, 90%), 为淡绿色固体。Mp (分解) 230℃; ν_{max} (KBr)/cm⁻¹ 3500-3229 (NH), 3061 (CH), 3021 (CH), 2948 (CH), 2879 (CH), 2679 (CH), 2601 (CH), 1604 (CH), 1483 (CH), 1318 (CH); δ_H (250MHz;

D_2O) 3.18 (12H, s, NCH_3), 6.67 (2H, d, J 8.5, ArH), 7.16 (4H, brd s, ArH); δ_c (62.9MHz; D_2O) 144.3 (ArC), 138.9 (ArC), 122.4 (ArC), 120.8 (ArC), 120.7 (ArC), 117.6 (ArC), 48.9 (NCH_3); m/z (ES) 286.1 (100%, $[M-H, 2Cl]^+$), 285.1 (40%), 284.1 (41%, $[M-3H, 2Cl]^+$).

[0992] 合成 24

[0993] N, N, N', N' - 四甲基 -10H- 吩噻嗪 -3,7- 二胺双 (氢溴酸)

[0994]

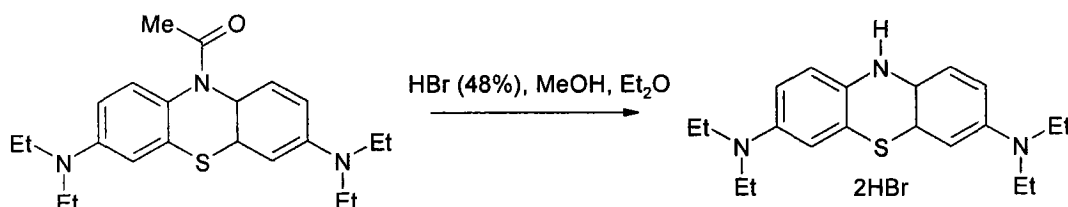


[0995] 向圆底烧瓶中加入 1-(3,7-双-二甲基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮 (1g, 3.05mmol)、乙醇 ($10cm^3$) 和氢溴酸 (48%, $4cm^3$), 将所得溶液在 $80^\circ C$ 加热 1 小时。一经冷却到室温就有沉淀物产生, 过滤得到所述沉淀物, 用乙醚 ($10cm^3$) 洗涤得到亮芥色产物 (1.22g, 89%)。Mp (分解) $230^\circ C$; ν_{max} (KBr)/ cm^{-1} 3500-3229 (NH), 3061 (CH), 3021 (CH), 2948 (CH), 2879 (CH), 2679 (CH), 2601 (CH), 1604 (CH), 1483 (CH), 1318 (CH); δ_H (250MHz; D_2O) 3.18 (12H, s, NCH_3), 6.66 (2H, d, J 8.75, ArH), 7.15 (4H, s, ArH); δ_c (62.9MHz; D_2O) 144.3 (ArC), 138.9 (ArC), 122.4 (ArC), 120.8 (ArC), 120.7 (ArC), 117.6 (ArC), 48.9 (NCH_3).

[0996] 合成 25

[0997] N, N, N', N' - 四乙基 -10H- 吩噻嗪 -3,7- 二胺双 (氢溴酸)

[0998]



[0999] 向圆底烧瓶中加入 1-(3,7-双-二乙基氨基-吩噻嗪-10-基)-乙酮 (1.0g, 2.60mmol)、甲醇 ($10cm^3$) 和氢溴酸 (48%, $2.94cm^3$), 将所得溶液在 $80^\circ C$ 加热 1 小时。一经冷却到 $5^\circ C$ 就向混合物中加入乙醚, 得到混浊溶液。将所述浑浊溶液搅拌 30 分钟得到标题化合物 (0.83g, 63%), 为浅黄色固体。 δ_H (250MHz; D_2O) 7.05 (4H, brd, ArH), 6.79 (2H, brd d, ArH), 3.43 (8H, brd, NCH_2), 1.05 (12H, brd t, CH_3); δ_c (62.9MHz; D_2O) 12.3 (CH_3), 56.2 (NCH_2), 117.9 (ArC), 121.4 (ArC), 122.4 (ArC), 124.5 (ArC), 133.5 (ArC), 145.1 (ArC).

[1000] 实施例 10- 其它认知障碍或 CNS 障碍

[1001] 本发明利用氧化或还原形式的 DAPTZ 化合物的治疗、预防、诊断或预后方法可以在任一方面适用于下列疾病中的任一种或多种。

[1002]

蛋白聚集疾病

[1003]

蛋白质	疾病	聚集结构域和/或突变	原纤维亚单元尺寸(kDa)	参考文献
神经变性障碍				
朊病毒蛋白质	朊病毒病	遗传的和偶发形式	27	Prusiner (1998)
	(CJD、nvCJD、致命性家族性失眠症、格-施-沙综合征 (Gerstmann -Straussler-Scheinker syndrome)、库鲁病 (Kuru))	PrP-27-30; 多种突变		
		微纤维生成结构域: 113-120, 178-191, 202-218.		Gasset 等 (1992)
τ 蛋白	阿尔茨海默氏病、唐氏综合征 (Down's syndrome)、FTDP-17、CBD、脑炎后帕金森综合征 (post-encephalitic parkinsonism)、匹克病 (Pick's disease)、伴关岛型痴呆综合征的帕金森综合征 (parkinsonism with dementia complex of Guam)	遗传的和偶发的形式	10-12	Wischik 等 (1988)
		截短的 τ (微管蛋白-结合域) 297-391.		
		FTDP-17中 τ 变异.		Hutton 等 (1998)
		早老素蛋白中的多种变异		Czech 等 (2000)
淀粉样 β -蛋白	阿尔茨海默氏病、唐氏综合征	遗传的和偶发的形式	4	Glenner & Wong, (1984)
		淀粉样 β -蛋白; 1-42(3).		
		稀少家族APP中的11种变异		Goate 等 (1991)
舞蹈症蛋白 (Huntingtin)	亨廷顿氏舞蹈病 (Huntington's disease)	具有延伸的谷氨酰胺重复片段的蛋白质的N-端	40	DiFiglia 等 (1997)
失调症蛋白质 (Ataxins) (1, 2, 3, 7)	脊髓小脑性共济失调 (Spinocerebellar ataxias) (SCA1, 2, 3, 7)	具有延伸的谷氨酰胺重复的蛋白质 (Proteins with expanded glutamine repeats)		Paulson 等 (1999)
萎缩蛋白 (Atrophin)	齿状核红核苍白球丘脑下部核萎缩 (Dentatorubropallidoluysian atrophy, DRPLA)	具有延伸的谷氨酰胺重复的蛋白质		Paulson 等 (1999)
雄激素受体	脊柱和延髓性的肌萎缩 (Spinal and bulbar muscular atrophy)	具有延伸的谷氨酰胺重复的蛋白质		Paulson 等 (1999)
Neuroserpin	具有神经元包涵体的家族性脑病 (Familial encephalopathy with neuronal inclusion bodies) (FENIB)	Neuroserpin; S49P, S52R.	57	Davis 等 (1999)

[1004]

α -突触核蛋白	帕金森氏病(Parkinson's disease)、Lewy小体痴呆(dementia with Lewy bodies)、多系统萎缩(multiple system atrophy)	遗传的和偶发的形式	19	Spillantini 等(1998)
		在稀少的常染色体显性遗传PD家族中的A53T, A30P		Polymeropoulos 等(1997)
半胱氨酸蛋白酶抑制剂C	遗传性脑血管病(Hereditary cerebral angiopathy)(Icelandic)	小于10个残基的半胱氨酸蛋白酶抑制剂C; L68Q	12-13	Abrahamson 等(1992)
超氧化物歧化酶1	肌萎缩侧索硬化(Amyotrophic lateral sclerosis)	SOD1变异		Shibata 等(1996)

[1005] 实施例 10 的参考文献

[1006] Abrahamson, M., Jonsdottir, S., Olafsson, I. & Grubb, A. (1992) Hereditary cystatin C amyloid angiopathy identification of the disease-causing mutation and specific diagnosis by polymerase chain reaction based analysis. Human Genetics 89, 377-380.

[1007] Czech, C., Tremp, G. & Pradier, L. (2000) Presenilins and Alzheimer's disease: biological functions and pathogenic mechanisms. Progress in Neurobiology 60, 363-384.

[1008] Davis, R. L., Shrimpton, A. E., Holohan, P. D., Bradshaw, C., Feiglin, D., Collins, G. H., Sonderegger, P., Kinter, J., Becker, L. M., Lachawan, F., Krasnewich, D., Muenke, M., Lawrence, D. A., Yerby, M. S., Shaw, C. -M., Gooptu, B., Elliott, P. R., Finch, J. T., Carrell, R. W. & Lomas, D. A. (1999) Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin. Nature 401, 376-379.

[1009] DiFiglia, M., Sapp, E., Chase, K. O., Davies, S. W., Bates, G. P., Vonsattel, J. P. & Aronin, N. (1997) Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. Science 277, 1990-1993.

[1010] Gasset, M., Bladwin, M. A., Lloyd, D. H., Abriél, J. -M., Holtzman, D. M., Cohen, F. E., Fletterick, R. & Prusiner, S. B. (1992) Predicted α -helical region of the prion protein when synthesized as peptides form amyloid. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 89, 10940-10944.

[1011] Glenner, G. G. & Wong, C. W. (1984) Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterisation of a novel cerebrovascular amyloid protein. Biochemical and Biophysical Research Communications 120, 885-890.

[1012] Goate, A., Chartier-Harlin, M. -C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., James, L., Mant, R., Newton, P., Rooke, K., Roques, P., Talbot, C., Pericak-Vance, M., Roses, A., Williamson, R., Rossor, M., Owen, M. & Hardy, J. (1991) Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. Nature 349, 704-706.

[1013] Hutton, M. , Lendon, C. , Rizzu, P. , Baker, M. , Froelich, S. , Houlden, H. , Pickering-Brown, S. , Chakraverty, S. , Isaacs, A. , Grover, A. , Hackett, J. , Adamson, J. , Lincoln, S. , Dickson, D. , Davies, P. , Petersen, R. C. , Stevens, M. , deGraaf, E. , Wauters, E. , van Baren, J. , Hillebrand, M. , Joosse, M. , Kwon, J. M. , Nowotny, P. , Che, L. K. , Norton, J. , Morris, J. C. , Reed, L. A. , Trojanowski, J. Q. , Basun, H. , Lannfelt, L. , Neystat, M. , Fahn, S. , Dark, F. , Tannenberg, T. , Dodd, P. R. , Hayward, N. , Kwok, J. B. J. , Schofield, P. R. , Andreadis, A. , Snowden, J. , Craufurd, D. , Neary, D. , Owen, F. , Oostra, B. A. , Hardy, J. , Goate, A. , vanSwieten, J. , Mann, D. , Lynch, T. & Heutink, P. (1998) Association of missense and 5' -splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. Nature 393, 702-705.

[1014] Paulson, H. L. (1999) Human genetics of trinucleotide repeats. American Journal of Human Genetics 64, 339-345.

[1015] Polymeropoulos, M. H. , Lavedan, C. , Leroy, E. , Ide, S. E. , Dehejia, A. , Dutra, A. , Pike, B. , Root, H. , Rubenstein, J. , Boyer, R. , Stenroos, E. S. , Chandrasekharappa, S. , Athanassiadou, A. , Papaetropoulos, T. , Johnson, W. G. , Lazzarini, A. M. , Duvoisin, R. C. , Di Iorio, G. , Golbe, L. I. & Nussbaum, R. L. (1997) Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. Science 276, 2045-2047.

[1016] Prusiner, S. B. , Scott, M. R. , DeArmond, S. J. & Cohen, F. E. (1998) Prion protein biology. Cell 93, 337-348.

[1017] Shibata, N. , Hirano, A. , Kobayashi, M. , Siddique, T. , Deng, H. X. , Hung, W. Y. , Kato, T. & Asayama, K. (1996) Intense superoxide dismutase-immunoreactivity in intracytoplasmic hyaline inclusions of familial amyotrophic lateral sclerosis with posterior column involvement. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology 55, 481-490.

[1018] Spillantini, M. G. , Crowther, R. A. , Jakes, R. , Hasegawa, M. & Goedert, M. (1998) α -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 95, 6469-6473.

[1019] Wischik, C. M. , Novak, M. , **Thøgersen**, H. C. , Edwards, P. C. , Runswick, M. J. , Jakes, R. , Walker, J. E. , Milstein, C. , M. , R. & Klug, A. (1988) Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer's disease. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 85, 4506-4510.

[1020] 实施例 11- 标准溶出试验

[1021] 题目 : 对于包含 DAPTZ 的胶囊模拟肠液溶出。

[1022] 实施者 : Encap Drug Delivery, Units 4, 5 & 6, Oakbank Park Way, Livingston, West Lothian, EH53 0TH, Scotland, UK.

[1023] 1. 目的

[1024] 该方法适于用作溶出试验方法, 以提供数据用于确定包含 DAPTZ 的剂量单位在溶出媒介物模拟肠液 (simulated intestinal fluid, SIF) 中随时间的溶出百分数, 所述模拟

肠液在 USP (<http://www.usp.org>) 中有说明。

[1025] 以 Gelucire 44/14 配制成的 30mg、60mg 和 100mg MTC 胶囊为例说明该方法,采用标准 USP<711>“溶出,装置 2”(搅拌桨 (paddle) 和溶出杯 (sinker))。在下面的有关部分,可用备选的 DAPTZ 化合物以合适的载量代替 MTC。

[1026] 2. 方法条件

[1027] 2.1. 试剂

[1028] 水 - 实验室等级或相当等级

[1029] 正磷酸二氢钾 - 实验室等级或相当等级

[1030] 氢氧化钠 - 实验室等级或相当等级

[1031] 胰酶 - USP 等级

[1032] 盐酸 - 实验室等级或相当等级

[1033] 2.2. 安全性

[1034] 试剂是可能刺激性的和可能有害的。

[1035] 2.3. 溶出条件

[1036] 溶出装置

[1037] 装置 - USP<711> 溶出,装置 2(搅拌桨和溶出杯)

[1038] 样品 - 1 个置于溶出杯中的胶囊

[1039] 转速 - 75rpm

[1040] 温度 - $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$

[1041] 溶出媒介物 - 1000ml 模拟肠液

[1042] 取样时间 - 15、30、45、60 分钟

[1043] 试验持续时间 - 60 分钟

[1044] 样品大小 - 5ml (未更换) (不要过滤)

[1045] UV 分光光度计条件

[1046] 测定波长 - 665nm

[1047] 参照 - 稀 SIF

[1048] 路径长度 - 10mm

[1049] 带宽 - 2.0nm

[1050] 2.4. 制备模拟肠液 (SIF)

[1051] 对于所需的每升 SIF,将 6.8g 正磷酸二氢钾溶于 250ml 水中,混合并添加 77ml 的 0.2N 氢氧化钠和 500ml 水。添加 10.0g 胰酶预混剂 (USP),用 0.2N 氢氧化钠或 0.2N 盐酸将所得溶液的 pH 调至 6.8 ± 0.1 。用水稀释至 1000ml。

[1052] 该溶液必须每天新鲜配制。

[1053] 2.5. 标准溶液 (一式两份制备)

[1054] 精确称量约 100mg 的 MTC,加至 100ml 容量瓶中。借助 15 分钟超声将其溶于 80ml 的 50/50 乙醇水溶液中,然后用 50/50 乙醇水溶液定容并混合均匀 ($1000 \mu\text{g/ml}$)。将 5.0ml 的该溶液转移至 100ml 容量瓶中,用 SIF 定容并混合均匀 ($50 \mu\text{g/ml}$)。从所得溶液中移取 4.0ml 加至 100ml 容量瓶中,用水定容并混合均匀 ($2.0 \mu\text{g/ml}$)。得到的溶液即为标准溶液。

[1055] 2.6. 溶出步骤

[1056] 在 6 个溶出容器中各添加 1000ml 模拟肠液。插入以正确转速旋转的搅拌桨,使液体平衡至 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。在 6 个不锈钢溶出杯中分别放置 1 个胶囊,在每个溶出容器中加入 1 个溶出杯,同时记录时间。

[1057] 在各规定的时间点取样 5ml。

[1058] 2.7 制备本底对照

[1059] 将 4.0ml 的 SIF 转移至 100ml 容量瓶中,用水定容并混合均匀。该溶液用作 UV 分光光度计中的本底对照。

[1060] 2.8 样品制备

[1061] 对于 30mg 胶囊,将 3.0ml 的该溶液转移至 50ml 容量瓶中,用水定容并混合均匀 ($1.8 \mu\text{g/ml}$)。

[1062] 对于 60mg 胶囊,将 3.0ml 的该溶液转移至 100ml 容量瓶中,用水定容并混合均匀 ($1.8 \mu\text{g/ml}$)。

[1063] 对于 100mg 胶囊,将 1ml 的该溶液转移至 50ml 容量瓶中,用水定容并混合均匀 ($2.0 \mu\text{g/ml}$)。

[1064] 这些是样品溶液。

[1065] 2.9. 步骤

[1066] 开启 UV 分光光度计并使其温热至工作温度,测定标准溶液和样品溶液。

[1067] 2.10 标准检定

[1068] 检定两个标准溶液的平均响应因子。标准 2 必须检定为标准 1 的 98 ~ 102%。

[1069] 2.11 计算

[1070] 所有的计算进行至小数点后两位。

[1071] 利用合适的公式,求出各样品相对于参照标准的 MTC 释出百分数:

[1072] $100\text{mg 胶囊的}\% = A_{\text{样品}}/A_{\text{标准}} \times W_{\text{标准}}/(100\text{mg}) \times P \times 100$

[1073] $60\text{mg 胶囊的}\% = A_{\text{样品}}/A_{\text{标准}} \times W_{\text{标准}}/(60\text{mg}) \times 2/3 \times P \times 100$

[1074] $30\text{mg 胶囊的}\% = A_{\text{样品}}/A_{\text{标准}} \times W_{\text{标准}}/(30\text{mg}) \times 1/3 \times P \times 100$

[1075] $A_{\text{样品}}$ 是单个样品在 665nm 的 MTC 吸光度。

[1076] $A_{\text{标准}}$ 是两个标准在 665nm 的平均 MTC 吸光度。

[1077] $W_{\text{标准}}$ 是所用的 MTC 标准的平均重量 (mg)。

[1078] P 是所用的参考标准的纯度,记为小数 (例如 0.999)。

[1079] (当输入物质用作标准时,应用校正因子 1 作为 P)

[1080] 在一张图上用 MTC 释出百分数对溶出时间作图,各容器单独作图。

[1081] 在一张图上将所有 6 个容器的平均 MTC 释出百分数与溶出时间作图。

[1082] 因此,通常可使用下面的公式。

[1083] $x \text{ mg 胶囊的释出百分数} = A_{\text{样品}}/A_{\text{标准}} \times W_{\text{标准}}/(x) \times d \times P \times 100$

[1084] 本领域的技术人员会理解,‘d’ 是对于样品制备 (如上述步骤 2.8) 中的稀释的校正 (如果需要的话)。

[1085] 2.12 模拟胃液 (SGF) 的标准试验

[1086] 该标准试验如上所述进行,但是用 SGF 代替 SIF。SGF 根据 USP29 制备如下:

[1087] 模拟胃液,TS- 将 2.0g 氯化钠和 3.2g 经纯化的胃蛋白酶 (其源自猪的胃黏膜,活

性 800 ~ 2500 单位 / 毫克蛋白质) 溶于 7.0mL 盐酸和充足的水中以形成 1000mL 溶液。[胃蛋白酶活性描述于 Food Chemicals Codex 规定的 General Tests and Assays 下]。该试验溶液的 pH 为约 1.2。

[1088] 实施例 12- 阿尔茨海默病的进展和治疗的定量模型

[1089] 阿尔茨海默病背后的化学过程是 τ 蛋白的聚集和截短。在本实施例中, 我们使用 τ 蛋白反应路径的动力学模型, 以描述该疾病的进展和治疗效果, 以及比较靶向所述路径的不同部分的治疗的有效性。

[1090] 1. 平衡模型的公式表述

[1091] 图 37A 显示 τ 蛋白与截短的 τ 蛋白的聚集体结合, 然后 τ 蛋白被截短而形成更大的聚集体。在细胞内该反应被嵌入一个更大的路径中, 所述更大的路径包括产生新的 τ 蛋白的通道和清除聚集体的通道。

[1092] 图 37B 显示了一个自然模型。此处, S 表示可溶 τ 蛋白的量, 而 A 表示聚集的截短的 τ 蛋白的量。为了产生动力学模型, 我们需要确定速率。已知的是 τ 蛋白的聚集速率随 S 的可用性和 A 的可用性而增大 [Wischik, C. M., Edwards, P. C., Lai, R. Y. K., Roth, M. & Harrington, C. R. (1996) Selective inhibition of Alzheimer disease-like tau aggregation by phenothiazines. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 93, 11213-11218]。人们自然会假定在 S 的形成中涉及某种反馈机制, 因此 S 的产生速率取决于 S 的量 [Lai, R. Y. K., Gertz, H.-J., Wischik, D. J., Xuereb, J. H., Mukaetova-Ladinska, E. B., Harrington, C. R., Edwards, P. C., Mena, R., Paykel, E. S., Brayne, C., Huppert, F. A., Roth, M. & Wischik, C. M. (1995) Examination of phosphorylated tau protein as a PHF-precursor at early stage Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 16, 433-445]。对于所示的其它路径, 我们将进行标准动力学假定, 即反应速率与反应物的量成比例。

[1093] 这给了我们如图 37C 中所示的动力学模型。我们通过该图表达这样的意思: 例如, 若 S(t) 是在时间 t 时可溶的 τ 蛋白的量, 则

$$[1094] \quad d/dt S(t) = \lambda (S(t)) - k_{s0} S(t) - k_A(t) S(t) \quad [\text{方程 1}]$$

[1095] 疾病进展的时间量程和动力学的时间量程

[1096] 该模型的一个重要方面是阿尔茨海默病进展的时间量程, 及其与方程 1 等方程起作用的时间量程 (time scale over which equations like equation 1 operate) 的关系。我们认为动力学等式的动力学的发生历时以小时或天计, 而疾病的进展是由于 k_{A0} 等参数以年为时间量程的缓慢变化导致的。然而 Wischik 等人 (1995) 采用了相反的观点, 即动力学的时间量程按年计, 而疾病的进展反映的是动力学模拟的 A(t) 的逐渐增长。

[1097] 存在两条支持疾病进展的时间量程与动力学的时间量程分离的主要证据。第一条证据是, 将可溶 τ 蛋白与固相截短的 τ 蛋白温育的体外实验 [W096/30766] 表明多数可溶 τ 蛋白在几小时内发生了结合。第二条证据来自表达了人截短 τ 蛋白的转基因小鼠的体内实验 [W002/059150]。这些小鼠经过几个月缓慢表现出阿尔茨海默病 τ 蛋白病理学, 如认知试验和神经病理学检查所测量的 [Zabke, C., Dietze, S., Stamer, K., Rickard, J. E., Harrington, C. R., Theuring, F., Seng, K. M. & Wischik, C. W. (2008) Early and advanced stages of tau aggregation In transgenic mouse models. *International*

Conference on Alzheimer's Disease, Chicago, 26-31 July 2008, P1-054]。当在 17 天时间内每日口服 MTC 进行治疗时,阿尔茨海默病病理学减少 [Harrington, C., Rickard, J. E., Horsley, D., Harrington, K. A., Hindley, K. P., Riedel, G., Theuring, F., Seng, K. M. & Wischik, C. M. (2008) Methylthioninium chloride (MTC) acts as a tau aggregation inhibitor (TAI) in a cellular model and reverses tau pathology in transgenic mice models of Alzheimer's disease. International Conference on Alzheimer's Disease, Chicago, 26-31 July 2008, 01-06-04]。因此,动力学的时间量程是以天为量级,而所述疾病进展的时间量程要长得多,在这些小鼠中是数以月计。

[1098] 因此,我们的数学方法必须是这样:我们假设任何患者都具有取决于其患病时间有多长的速率常数,如 $k_{A0}(a)$ 等,其中 a 是发作以来的年数;并且我们假设所得的 S 和 A 的水平是该动力学系统的平衡值。具体而言,我们需要解如下列方程 1 的改进形式的方程:

$$[1099] \quad \lambda(S) - k_{S0}S - kAS = 0. \quad [\text{方程 2}]$$

[1100] 我们省去了 t , 因为我们对系统的动力学不感兴趣,而只对平衡行为感兴趣。我们有时会记下 $S(a)$ 等,以强调对速率常数值的依赖性。

[1101] 新聚集体的生成的解释

[1102] 聚集反应 (图 37A) 始于一个聚集体分子而终于一个聚集体分子,因此它描述了已有聚集体的生长而不是新的聚集体的生成。类似地,在动力学系统 (图 37C) 中,如果我们不对聚集体的生成进行模拟,则 A 的集合将稳步下降,这意味着平衡解为 $A = 0$ 。

[1103] 解释新聚集体的生成的最简单方法是通过改变聚集反应的化学计量。具体而言,我们将假定图 37D 中所示的方案 (尽管 n_1 和 n_2 的实际值未知)。

[1104] 例如,若 $n_1 = 2.3$ 且 $n_2 = 1.87$, 则自 230 个 τ 蛋白分子和 100 个聚集体分子,产生了 87 个新的聚集体分子。

[1105] 模型的总结

[1106] 我们已经提出了图 37E 中所示的动力学系统模型。

[1107] 该系统的平衡态的等式是:

$$[1108] \quad \lambda(S) = k_{S0}S + n_1kAS \quad [\text{方程 3}]$$

$$[1109] \quad n_2kAS = kAS + k_{A0}(a)A \quad [\text{方程 4}]$$

[1110] 在该实施例的其余部分,我们描述了几个实验,这些实验使我们能量化速率常数,从而能预测治疗效果。

[1111] 2. 疾病进展的定量法

[1112] Lai 等人 (1995) 进行了多例阿尔茨海默病患者的死后研究,发现了 A 与 S 之间的关系:

$$[1113] \quad S = f(A) = \alpha / A^\beta - 1 \quad [\text{方程 5}]$$

[1114] 其中 $\alpha = 2450$, $\beta = 0.3459$ 。

[1115] Mukaetova-Ladinska 等人 (Mukaetova-Ladinska, E. B., Garcia-Siera, F., Hurt, J., Gertz, H. J., Xuereb, J. H., Hills, R., Brayne, C., Huppert, F. A., Paykel, E. S., McGee, M., Jakes, R., Honer, W. G., Harrington, C. R. & Wischik, C. M. (2000) Staging of cytoskeletal and β -amyloid changes in human isocortex reveals biphasic synaptic protein response during progression of Alzheimer's disease. American Journal of

Pathology 157,623-636) 进行了多例阿尔茨海默病患者的死前和死后研究,发现 PHF 水平与患者的 Braak 期 B 之间关系:

$$[1116] \quad \text{PHF} = g(B) = \text{Exp}(\gamma B / (\delta - B)) - 1 \quad [\text{方程 1}]$$

[1117] 其中, $\gamma = 4.8383$, $\delta = 9.8156$ 。

[1118] 可合理假定 PHF 水平与 τ 蛋白聚集水平成比例:

$$[1119] \quad A = \varepsilon \text{PHF} \quad [\text{方程 2}]$$

[1120] 尽管 ε 是未知的。

[1121] Ohm 等人 [Ohm, T.G., Müller, H., Braak, H. & Bohl, J. (1995) Close-meshed prevalence rates of different stages as a tool to uncover the rate of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. Neuroscience 64, 209-217] 研究了 Braak 期在人群中的分布,在附录中我们描述了根据他的数据我们如何能够得到平均 Braak 期 B 与痴呆发作以来的时间 a (按年计) 之间的关系:

$$[1122] \quad B = h(a) = *** \quad [\text{方程 8}]$$

[1123] 利用这 3 个关系,我们可以改写平衡方程 3-4 得到:

$$[1124] \quad \lambda(S) = k_{s0}S + n_1 k_f^{-1}(S)S \quad [\text{方程 9}]$$

$$[1125] \quad k_{A0}(a) = (n_2 - 1) k_f(\varepsilon g(h(a))) \quad [\text{方程 10}]$$

[1126] 3. 对药效的量化

[1127] WO 02/055720 描述了阿尔茨海默病的一种细胞模型,以及说明 MTC 对 A 的水平的影响的量子度。所述细胞经过了基因修饰从而以恒定的速率产生可溶的 τ 蛋白 S。这自身不会自发形成聚集体,因此已对这些细胞进一步修饰使其以恒定的速率产生截短的 τ 蛋白 T。我们假定这些细胞具有消灭 T 的正常机制,并假定药物的作用是开启一种使 A 溶解并转化为 T 的路径。简单起见,我们假定此处 S 仅被用在阿尔茨海默病的途径中。因此,我们得到图 37F 中所示的动力学模型。

[1128] 我们记下 $k_{AT}(d)$ 以强调该速率常数依赖于剂量水平 d,并且我们假定 $k_{AT}(0) = 0$ 。我们应该严格地记下 $k_{A0}(a_{\text{细胞}})$,其中 $a_{\text{细胞}}$ 是对于这些细胞而言自疾病发作以来的时间 (按年计),尽管我们将会在我们的方程中消除 (suppress) 该项。

[1129] 该系统的平衡方程为:

$$[1130] \quad \lambda = kASn_1 \quad [\text{方程 11}]$$

$$[1131] \quad \mu + k_{AT}(d)A = T(k_{T0} + k_{TA}) \quad [\text{方程 12}]$$

$$[1132] \quad k_{TA}T + n_2 kAS = kAS + A(k_{AT}(d) + k_{A0}) \quad [\text{方程 13}]$$

[1133] 利用方程 11 和 12,我们可从方程 12 中消去 S 和 T 得到:

$$[1134] \quad A = [(n_2 - 1)/n_1 \lambda + k_{TA}/(k_{T0} + k_{TA}) \mu] / [k_{A0} + k_{AT}(d) k_{T0}/(k_{T0} + k_{TA})]$$

[1135] 若将不存在任何药物的情况下 τ 蛋白聚集体的基线水平记为 $A(0)$,则:

$$[1136] \quad A(0) = [(n_2 - 1)/n_1 \lambda + k_{TA}/(k_{T0} + k_{TA}) \mu] / k_{A0}$$

[1137] 方便地使这两方程相消告诉我们:

$$[1138] \quad k_{AT}(d)/k_{A0} = (1 + k_{TA}/k_{T0}) (A(0)/A(d) - 1)$$

[1139] (我们在此记下 $A(d)$,以强调观察的聚集体水平 A 是剂量 d 的函数)。

[1140] WO 02/055720 报道了:

$$[1141] \quad A(d)/A(0) = g(d) = \zeta d^{\theta} / (\eta^{\theta} + d^{\theta}) + 1 \quad [\text{方程 14}]$$

[1142] 其中 $\zeta = -1.0665$, $\eta = 51.735$ 和 $\theta = 1.3328$ 。

[1143] 4. 对总的效果的量化

[1144] 现在我们要问:我们如何预期药物改变疾病的进展? 我们的动力学模型现在是在图 37G 中所示的模型,其具有平衡方程:

[1145] $\lambda(S) = k_{S0}S + n_1kAS$ [方程 15]

[1146] $k_{AT}(d)A = T(k_{T0} + k_{TA})$ [方程 16]

[1147] $k_{TA}T + n_2kAS = kAS + A(k_{AT}(d) + k_{A0}(a))$ [方程 17]

[1148] 我们希望针对 $A = A(a, d)$ 解这些方程。为此,最方便的是利用方程 16 将 T 以 A 表示:

[1149] $T = Ak_{AT}(d)/(k_{T0} + k_{TA})$

[1150] 然后代入 17 以得到 $S = S(a, d)$ 的表达式

[1151] $(n_2 - 1)kS(a, d) = k_{A0}(a) + k_{AT}(d)k_{T0}/(k_{T0} + k_{TA})$

[1152] 最后利用方程 15 和 9 将该式转化为 $A(a, d)$ 的表达式

[1153] $A(a, d) = f^{-1}(S(a, d))$ [方程 18]

[1154] $S(a, d)$ 的表达式可更有用地写成含 $S(a_0, 0)$ 的比,其中 a_0 是开始接受治疗时距疾病发作的时间。我们还将针对 $k_{A0}(a)$ 和 $k_{AT}(d)$ 得到的表达式代入,得到:

[1155] $S(a, d)/S(a_0, 0) = k_{A0}(a)/k_{A0}(a_0) + k_{A0}(a_{\text{细胞}})/k_{A0}(a_0)(1/g(d) - 1)$ [方程 19]

[1156] $g(d)$ 的公式在上面的方程 14 中给出, f 的公式在上面的方程 8 中给出, $k_{A0}(a)$ 的公式在上面的方程 9 中给出。

[1157] 对结果的解释

[1158] 如果我们使 $d = 0$, 则方程 19 给出:

[1159] $S(a, 0)/S(a_0, 0) = k_{A0}(a)/k_{A0}(a_0)$

[1160] 随着 a 增大,聚集体被清除的路径退化,且 $k_{A0}(a)$ 下降趋向 0;从而 $S(a, 0)$ 下降趋向 0,并且根据方程 18, A 增至无穷大。通过以某种固定剂量给药治疗,我们阻止 S 降至低于某一阈值:

[1161] $S_{\text{阈值}} = k_{A0}(a_{\text{细胞}})/k_{A0}(a_0)(1/g(d) - 1)$

[1162] 这是指我们阻止 A 增至某一阈值 $f^{-1}(S_{\text{阈值}})$ 之上。简而言之,该治疗不仅仅延缓所述疾病的进展,而且还使所述疾病的进展停止。

[1163] 5. 可供选择的治疗模型

[1164] 已经有人提出,可通过抑制 τ 蛋白之间的结合反应等方法来治疗阿尔茨海默病等疾病 (Wischik, C. M., Edwards, P. C., Lai, R. Y. K., Roth, M. & Harrington, C. R. (1996) Selective inhibition of Alzheimer disease-like tau aggregation by phenothiazines. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 93, 11213-11218)。该治疗对疾病的进展的效果如何呢? 考虑图 37H 中所示的动力学模型,其中 $k(d)$ 是在反应通过剂量 d 的该假定药物得到抑制之后速率常数的值。平衡方程有:

[1165] $\lambda(S) = k_{S0}S + n_1k(d)AS$

[1166] $n_2k(d)AS = k(d)AS + Ak_{A0}(a)$

[1167] 解这些方程,并代入方程 8 中,我们得到:

[1168] $S(a, d)/S(a_0, 0) = [k_{A0}(a)/k_{A0}(a_0)]/[k(d)/k(0)]$

[1169] $A(a, d) = f^{-1}(S(a, d)) / [k(d) / k(0)]$

[1170] 可看出：对于任何固定的剂量 d , $S(a, d)$ 的水平随时间 a 的增大降至 0。因此, A 的水平增至无穷大。简而言之, 纯粹基于对 τ 蛋白之间的结合反应的抑制的治疗会延缓该疾病的进展, 但是不能阻止疾病。

[1171] 6. 数值结果

[1172] 图 37I 以数值方式示出了这些结果。左边曲线说明药物的作用, 所述药物如小节 3 中所述产生了新的路径 $A \rightarrow T$; 左边曲线说明药物的作用, 其如小节错误! 未找到引用源。中所述抑制了路径 $S+A \rightarrow A$ 。我们不对 τ 蛋白聚集体水平 A 作图, 而是利用根据 Ohm 等人 (1995) 的数据得到的 MMSE 与 Braak 期 B 之间的关系对 MMSE 作图。

[1173] $MMSE = \sigma(\tau - B) / (\rho - B)$

[1174] 其中 $\sigma = 56.2204$, $\tau = 6.5969$, $\rho = 11.599$, 以及方程 6 和 7 中的关系, 并设定 $\varepsilon = 1$ 。对于在 $MMSE = 15$ 时开始接受治疗的患者, 我们将其作为治疗开始以来的年数 (number of years since the beginning of treatment) 的函数来作图。图 37 中的虚线表示没有治疗的情况下 MMSE 变差; 其它线表示在不同剂量水平下的治疗效果。此处我们图示的剂量水平是 (对于左边曲线) $d = 25, 50$ 和 90 ; 以及 (对于右边曲线) $k(d) / k(0) = 45\%, 20\%, 7\%$ 。

[1175] 7. τ 蛋白聚集体的清除对疾病进展的影响

[1176] 这些图 (图 37I) 说明了我们已经在代数上解释的内容, 也就是, 抑制 $\tau - \tau$ 聚集只能延缓疾病的进展, 而通过开启溶解聚集体的新途径可阻止疾病的进展。这可示意于图 39 中。 τ 蛋白聚集可通过影响两处得到阻止: 第一通过抑制 τ 蛋白向聚集循环的输入, 以及第二通过提高聚集体从聚集循环中的清除 (图 39)。聚集的 τ 蛋白或双股螺旋形细丝的水平随着年龄的增长而稳步地发展。如果 τ 蛋白的输入得到阻止, 那么 PHF 的水平将会降至某一水平, 其通过 Braak 分期来预测, 此后进展速率又恢复到以前水平。只有当提高了对聚集的 τ 蛋白的清除, 它们的 τ 蛋白水平才会开始随时间下降 (图 39)。在这种情况下, 可以认为具有这样作用的药物是疾病缓解性的。Wisichik 等人已经讨论了 (Wisichik, C. M., Lai, R. Y. K. & Harrington, C. R. (1997) Modelling prion-like processing of tau protein in Alzheimer's disease for pharmaceutical development. In Microtubule-Associated Proteins: Modifications in Disease. (Eds. J. Avila, R. Brandt, & K. S. Kosik) Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 185-241) 与年老相关的线粒体更新所产生的蛋白质 (例如复合体 III 的核心蛋白 2, 孔蛋白和 ATP 合成酶亚基 9) 可能充当 τ 蛋白聚集的种子。这些 τ 蛋白聚集体可组装成 PHF 和 / 或进入核内质 - 溶酶体清除通路, 增添该通路随年龄增长的拥堵 (图 40)。 τ 蛋白聚集体从该通路中清除的提高将减轻神经元内部的代谢负担。该实施例说明了这能阻止所述疾病的进展, 而不仅仅是延缓其进展。

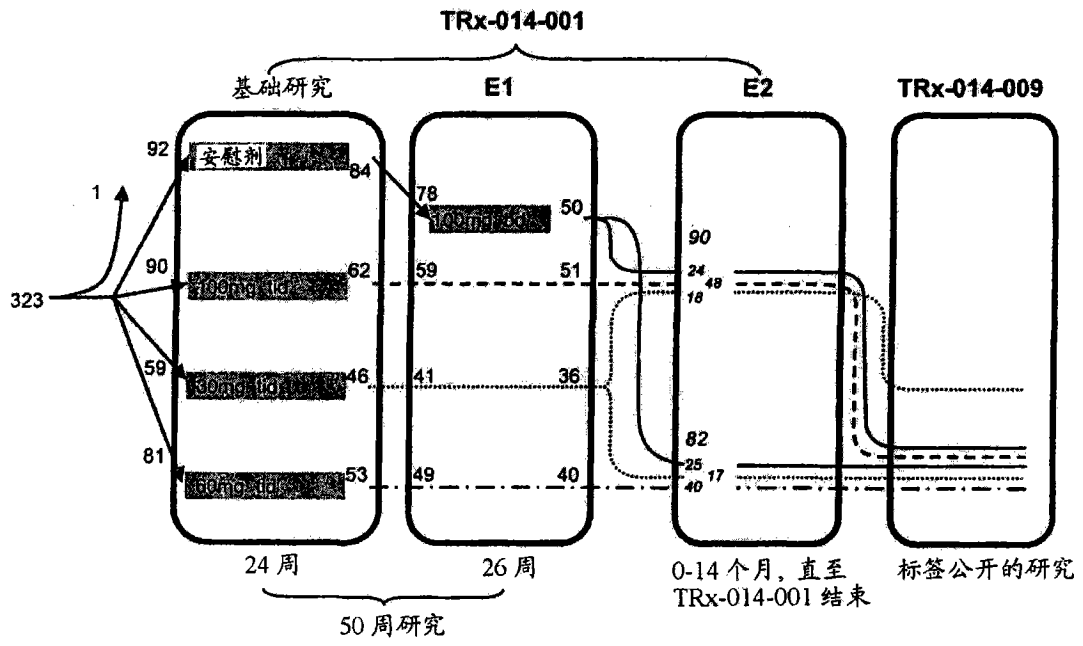


图 1

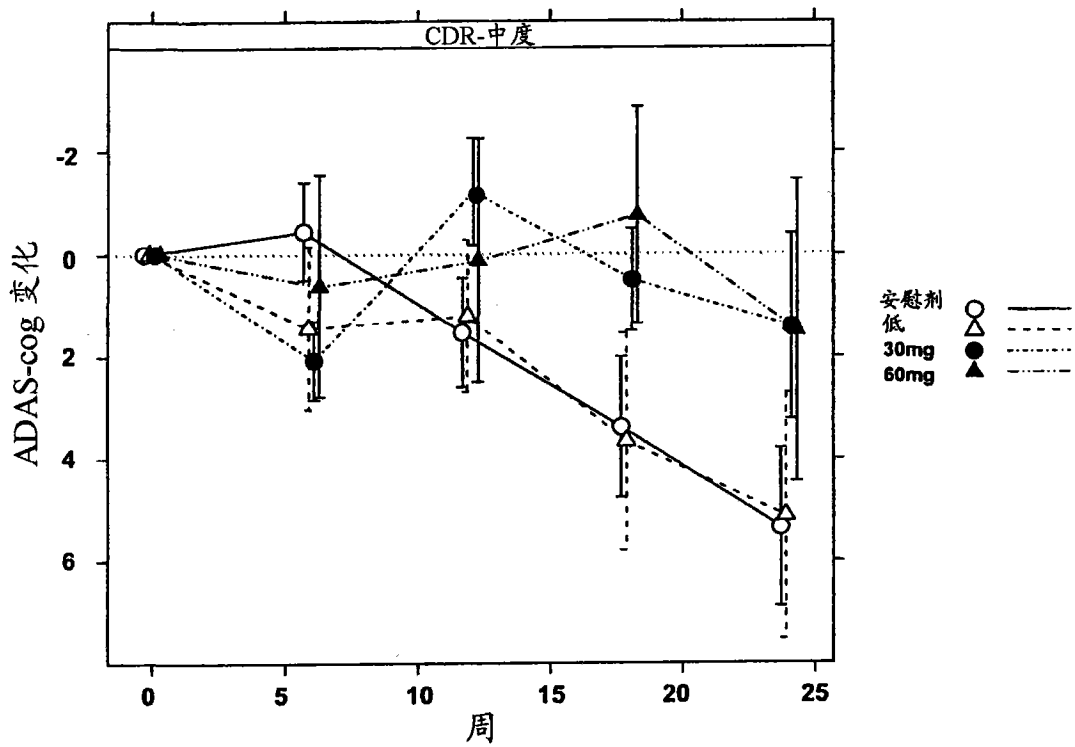


图 2

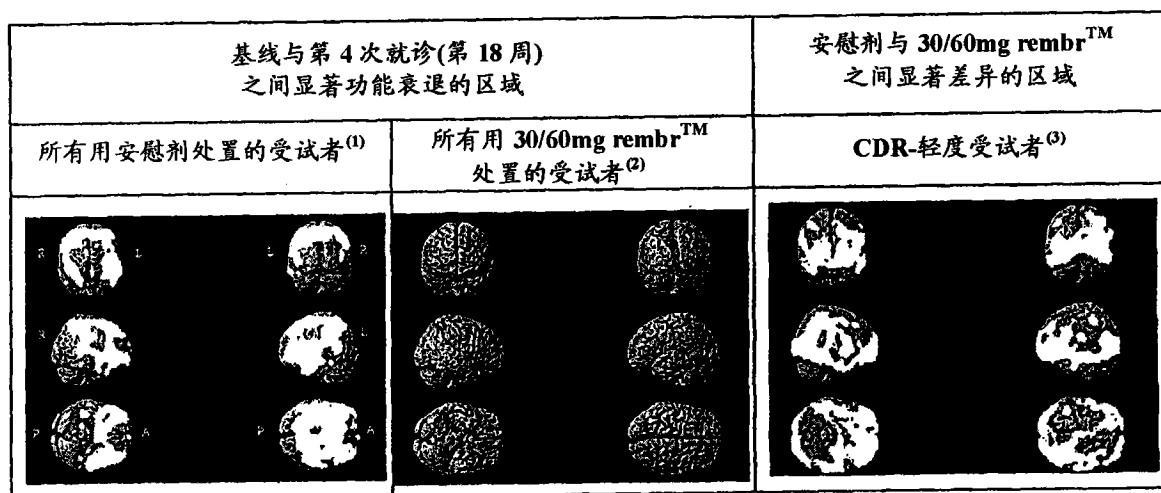


图 3

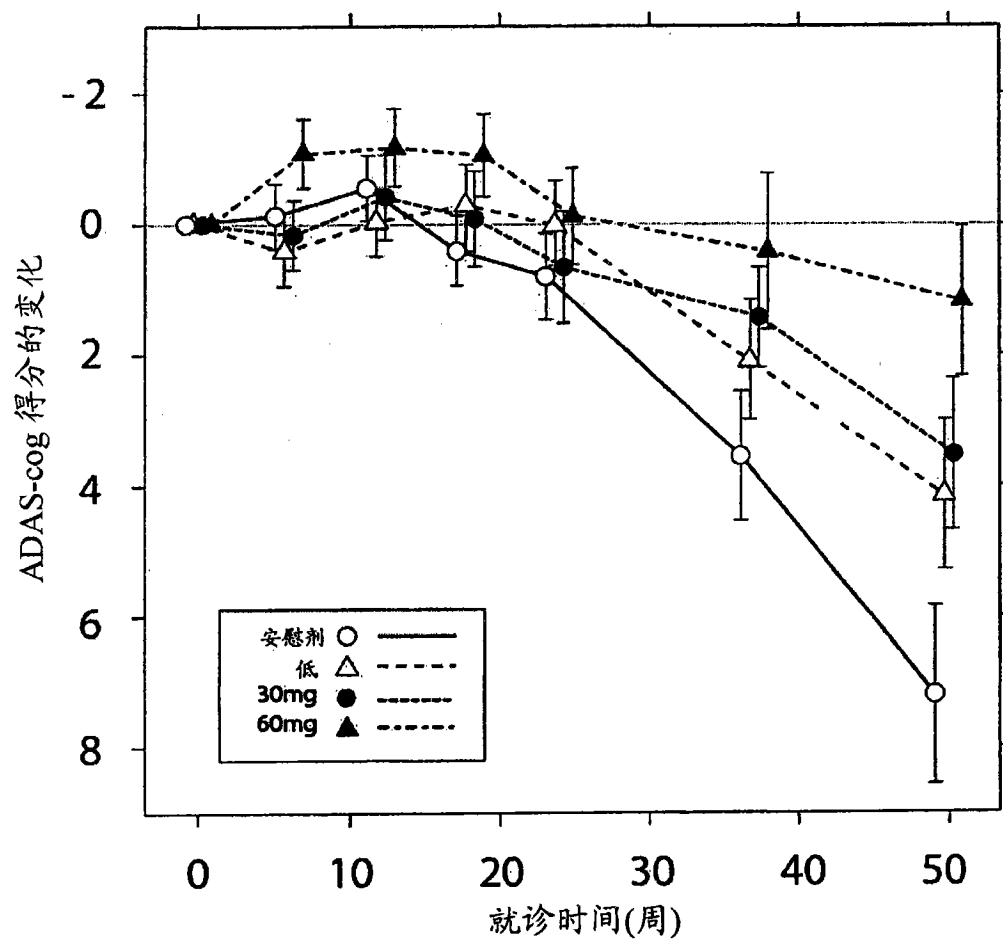


图 4

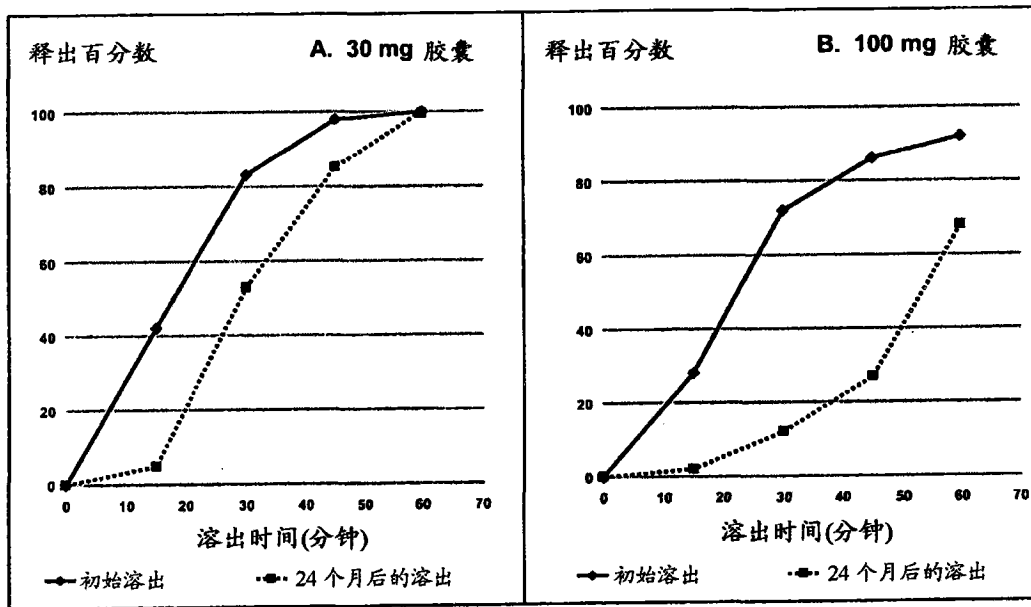


图 5

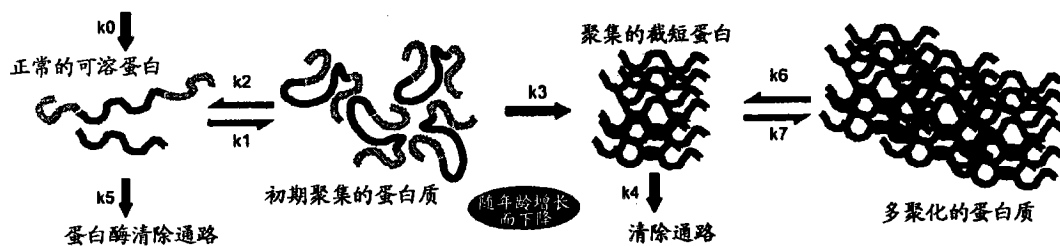


图 6A

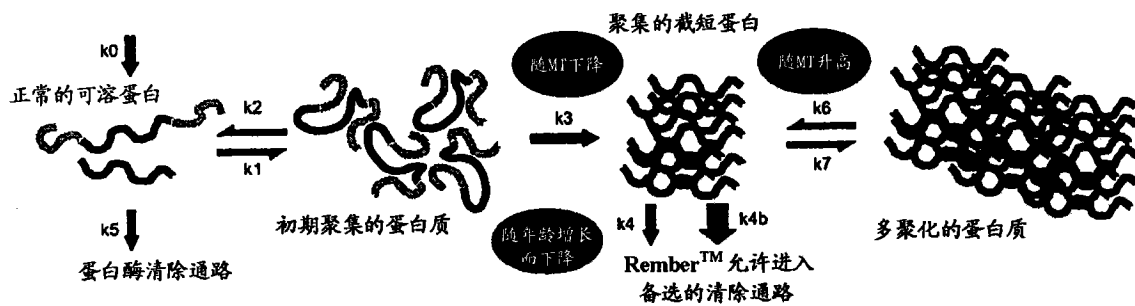


图 6B

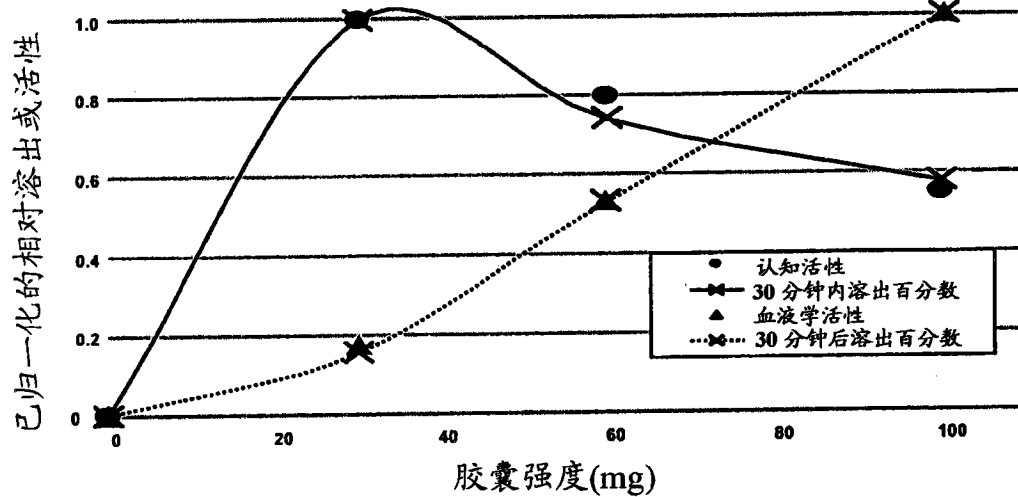


图 7

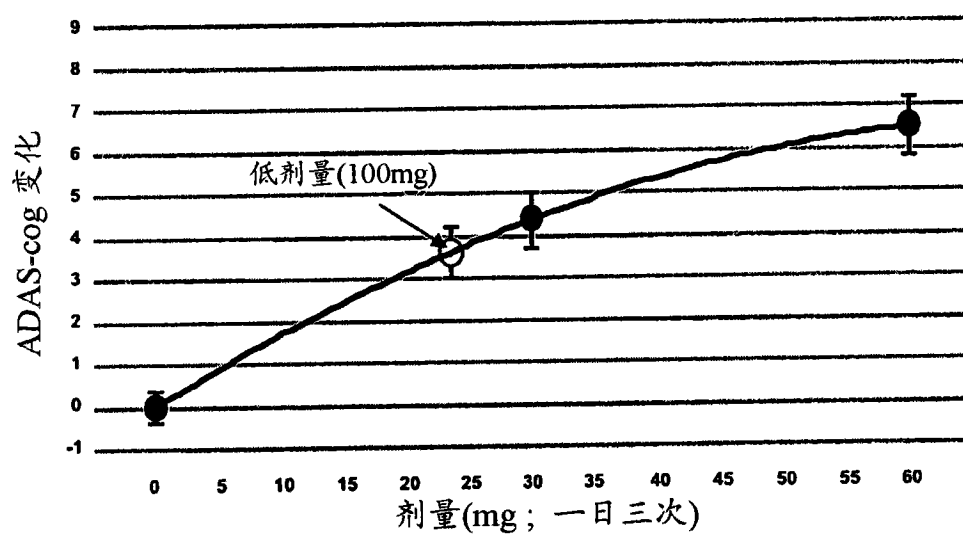


图 8

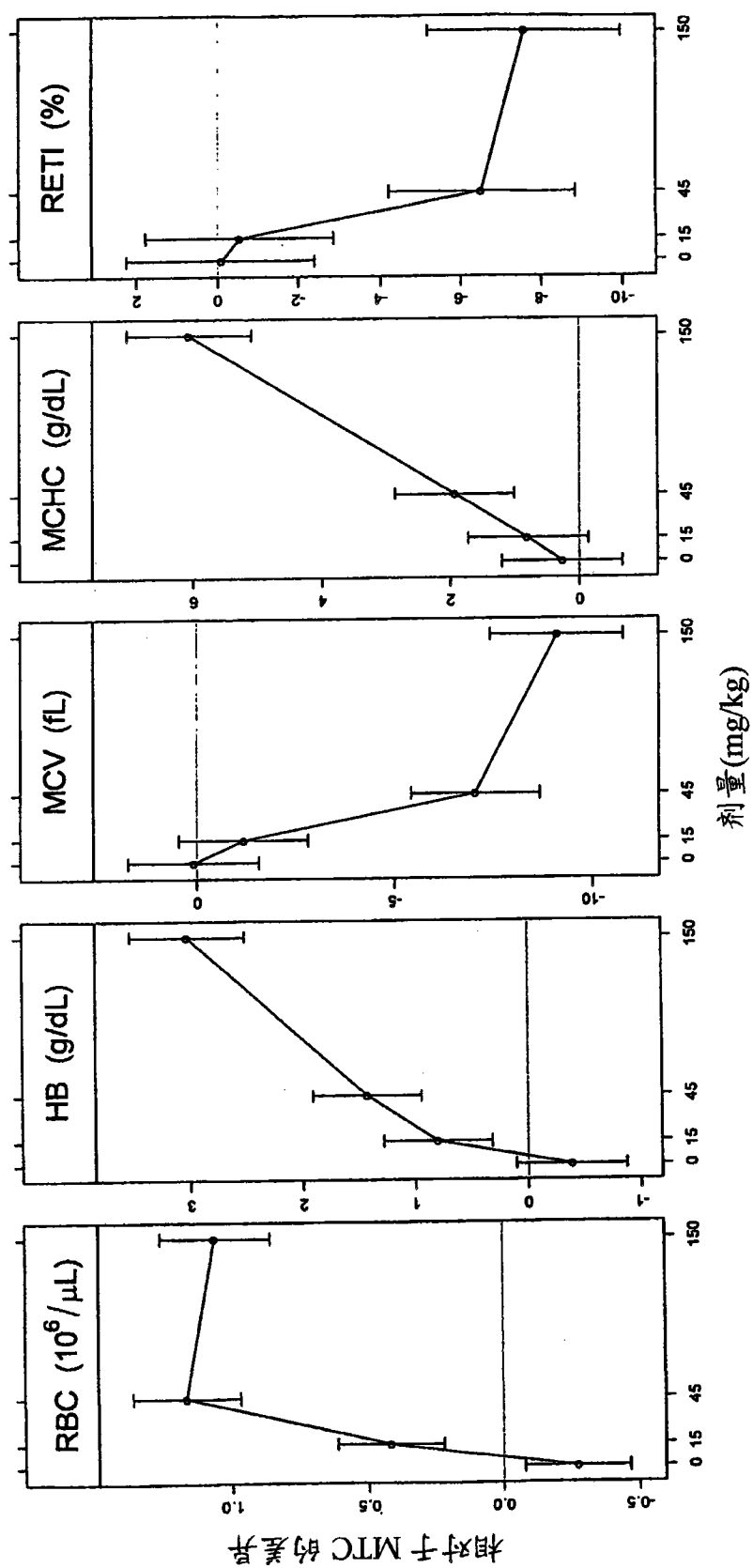


图 9

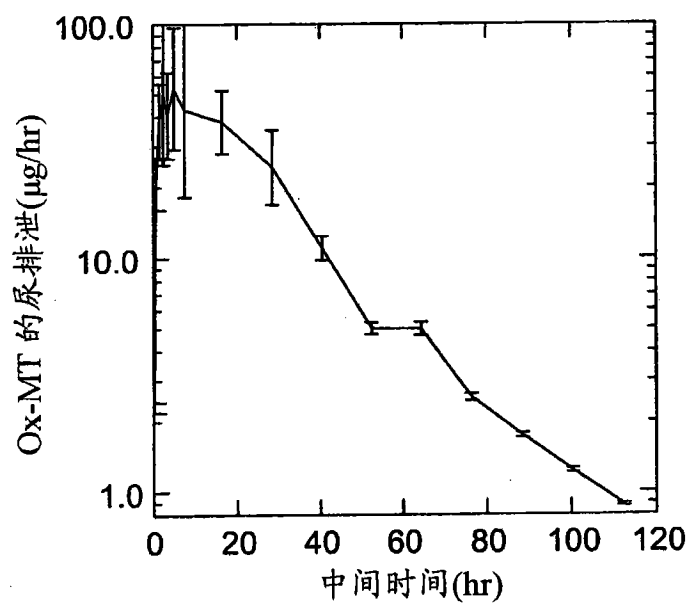


图 10

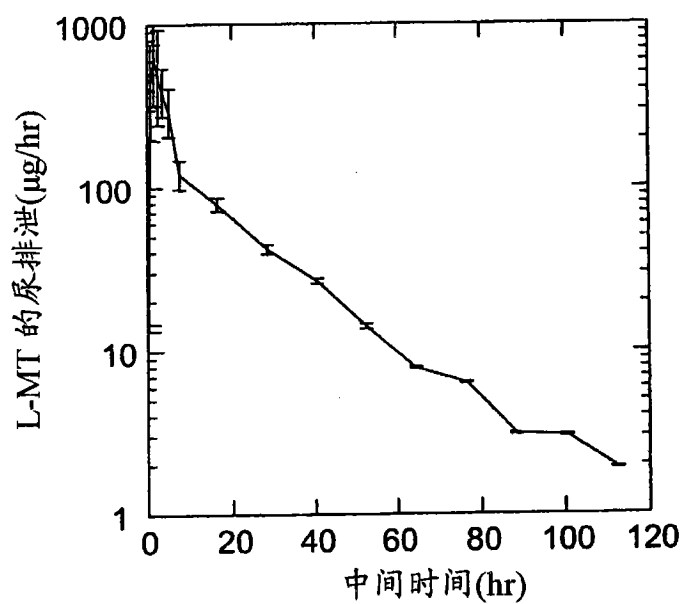


图 11

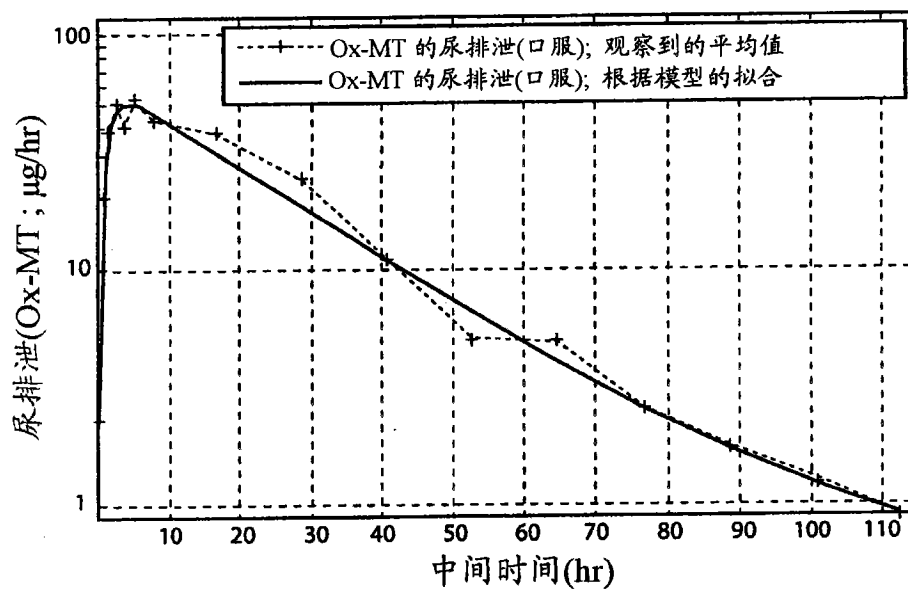


图 12

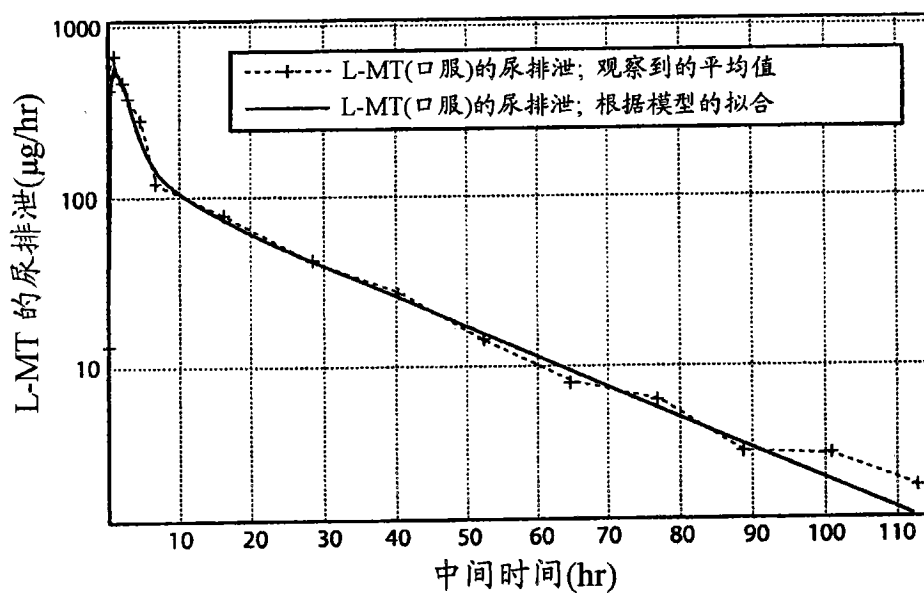


图 13

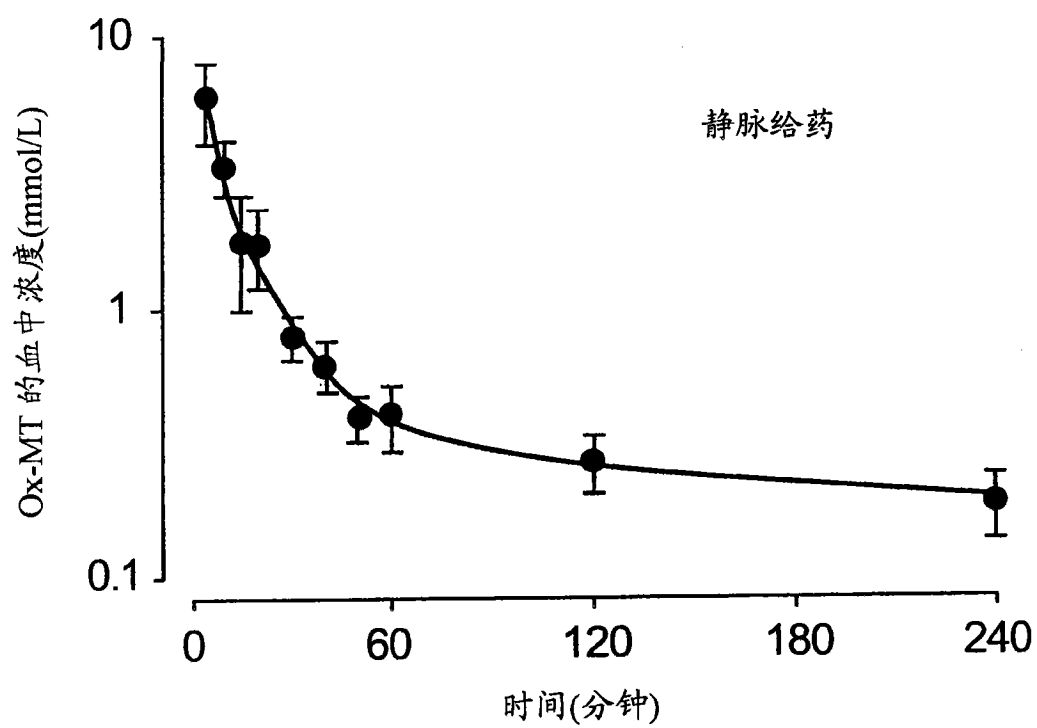


图 14

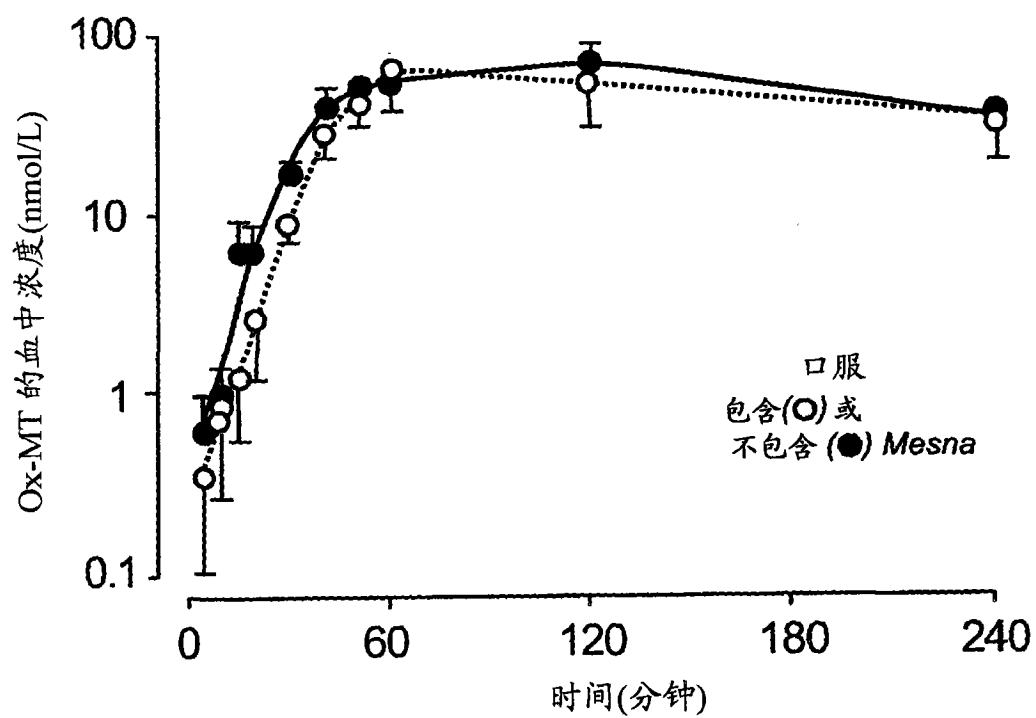


图 15

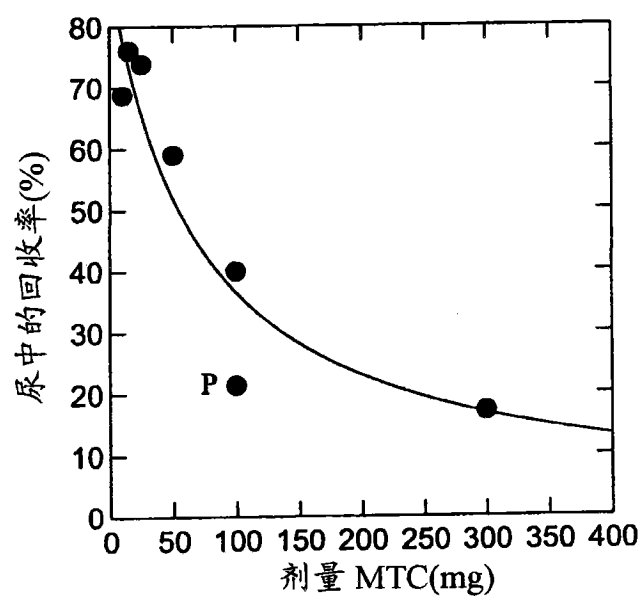


图 16

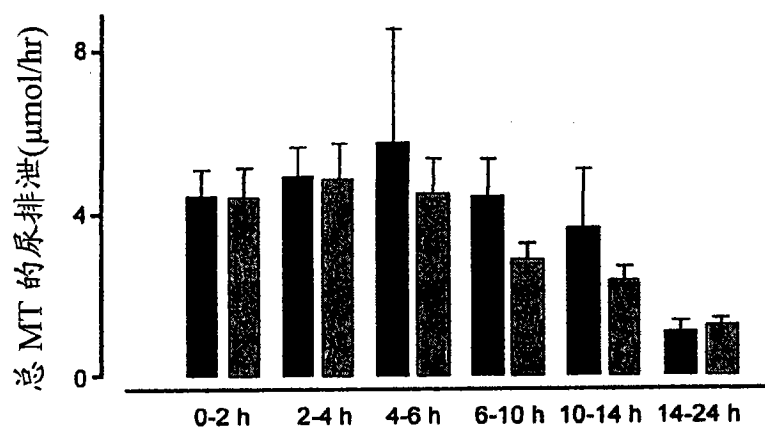


图 17

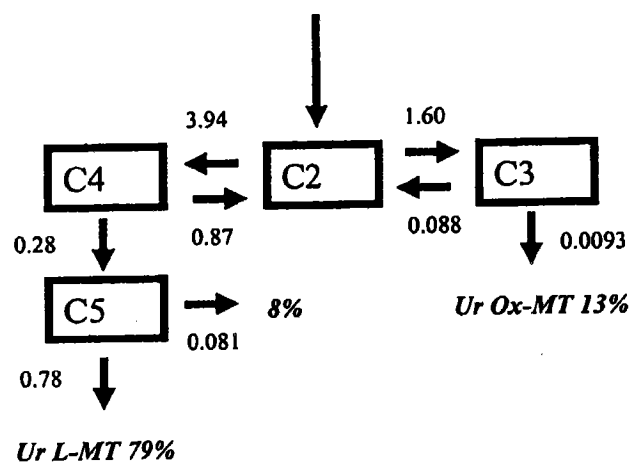


图 18

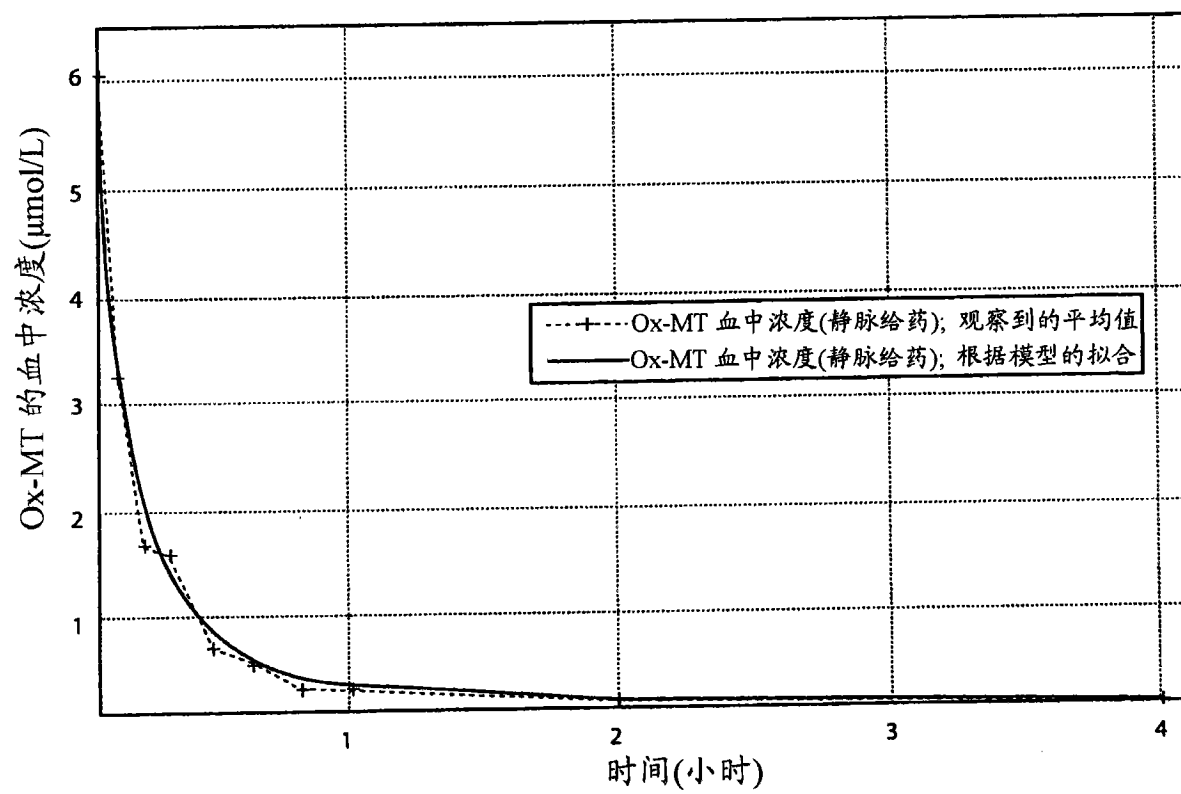


图 19

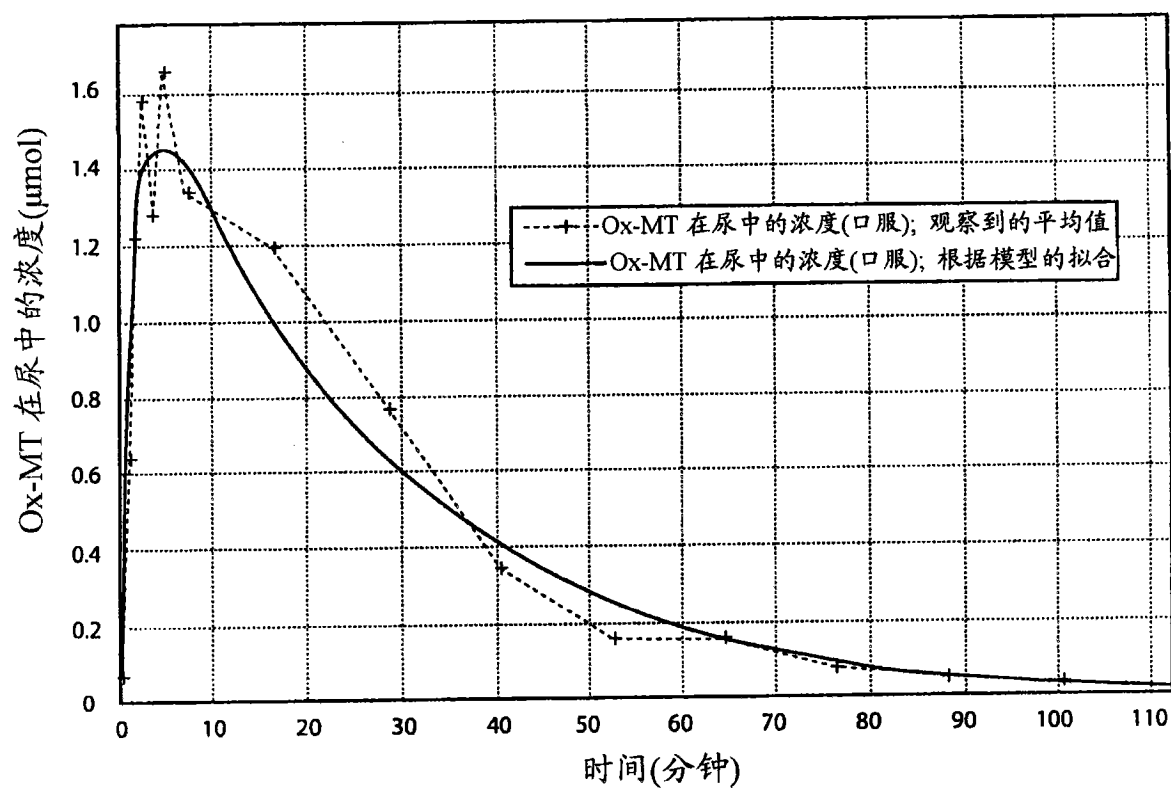


图 20

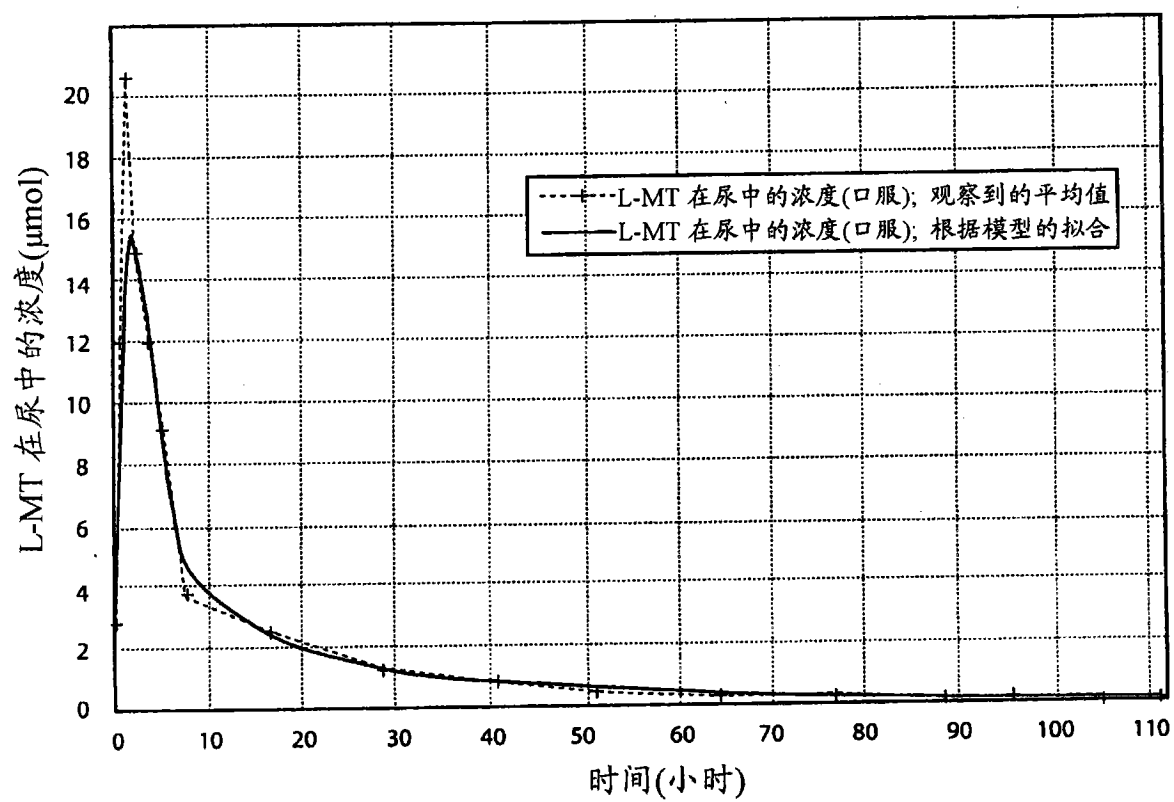


图 21

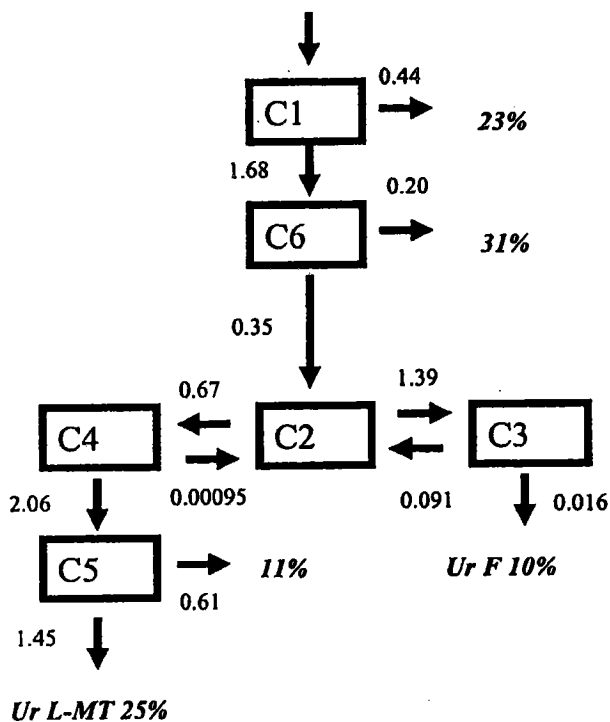


图 22

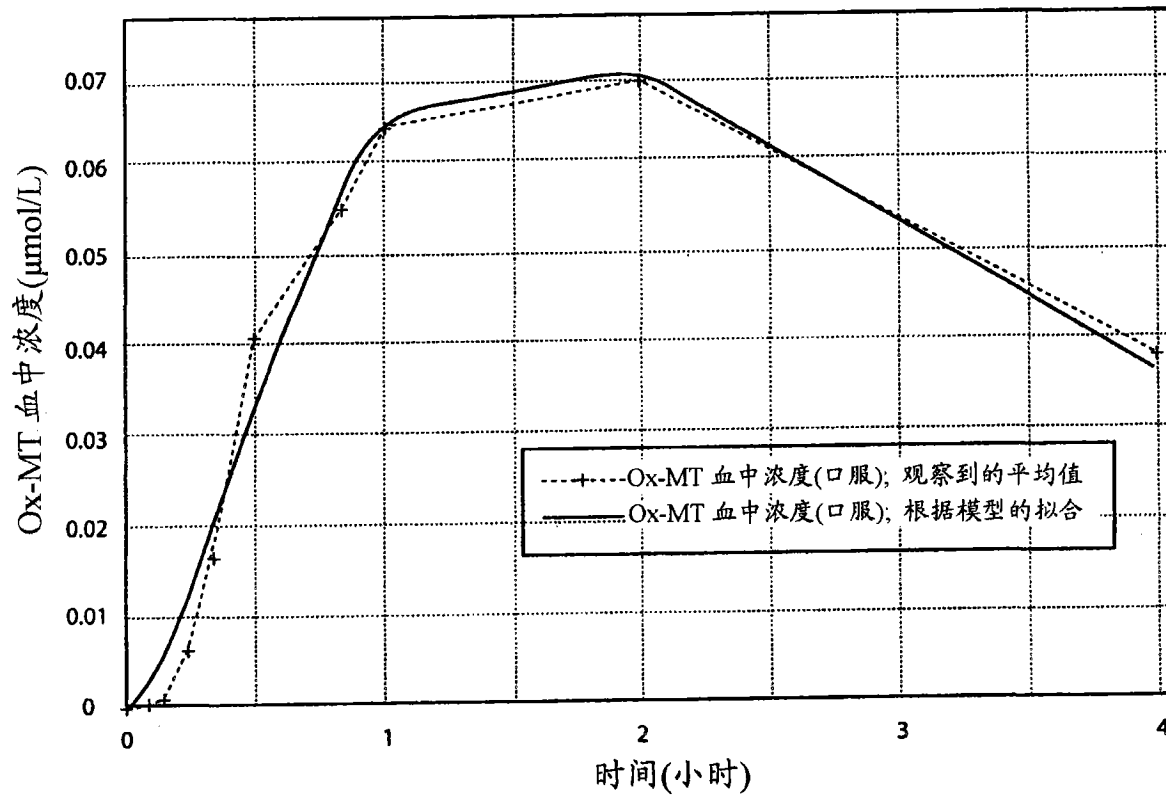


图 23

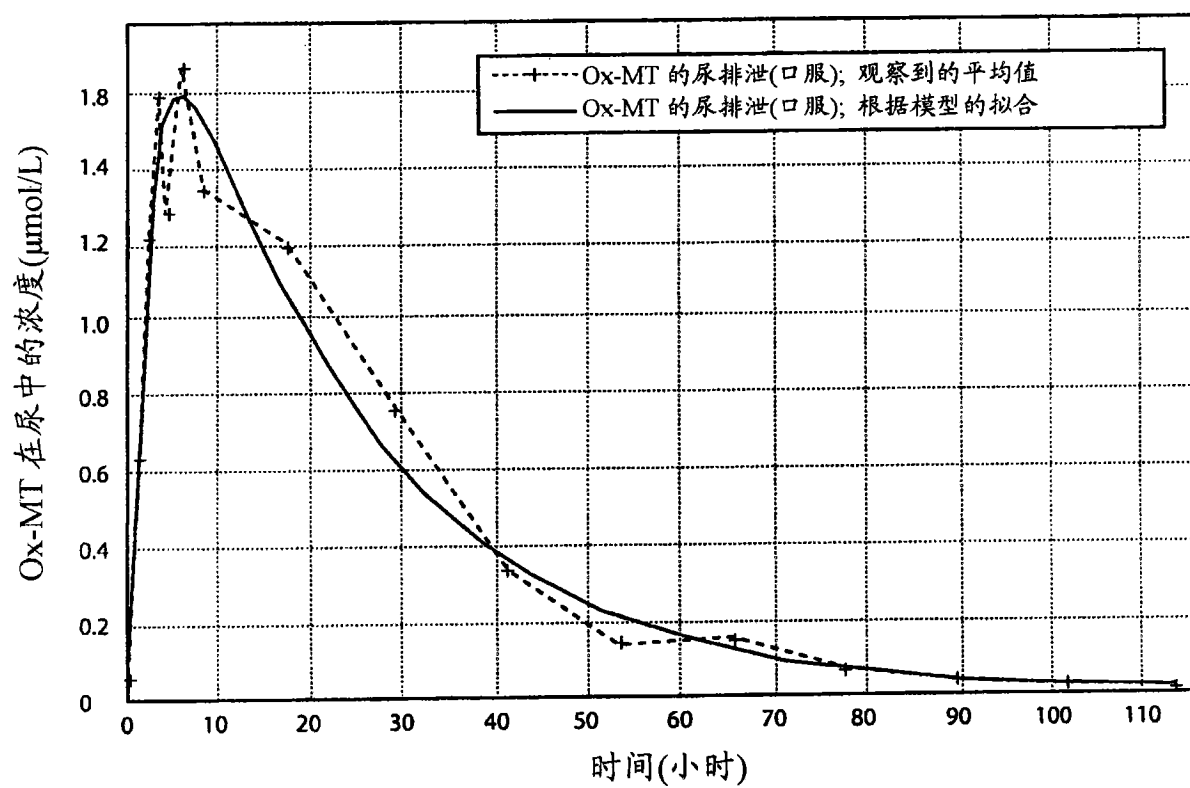


图 24

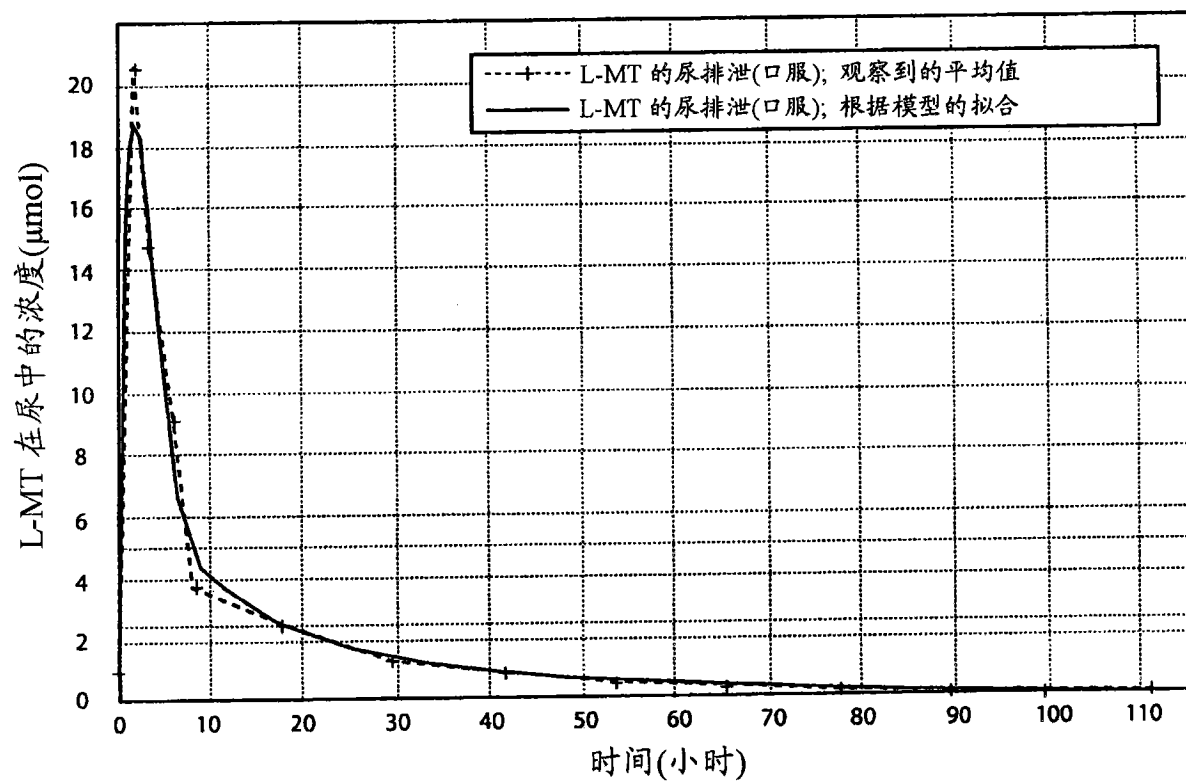
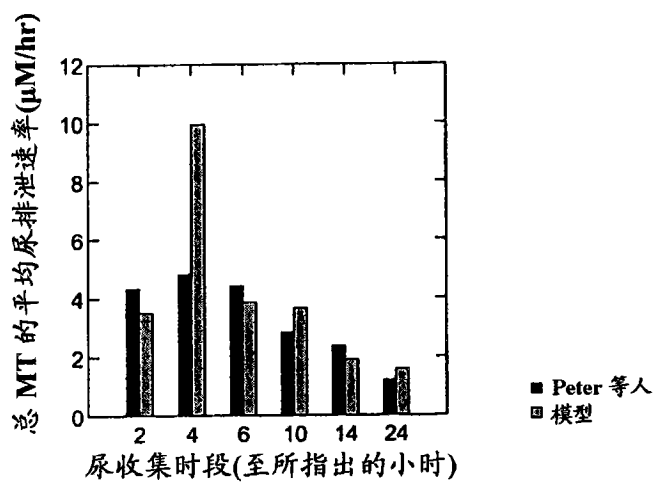


图 25



	Peter 等人	模型
24 小时时在尿中排泄的剂量的百分数	18.6	23.3

图 26

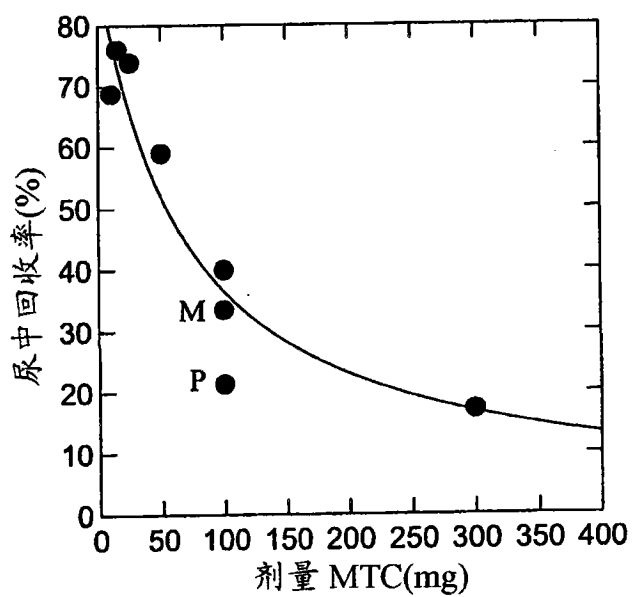


图 27

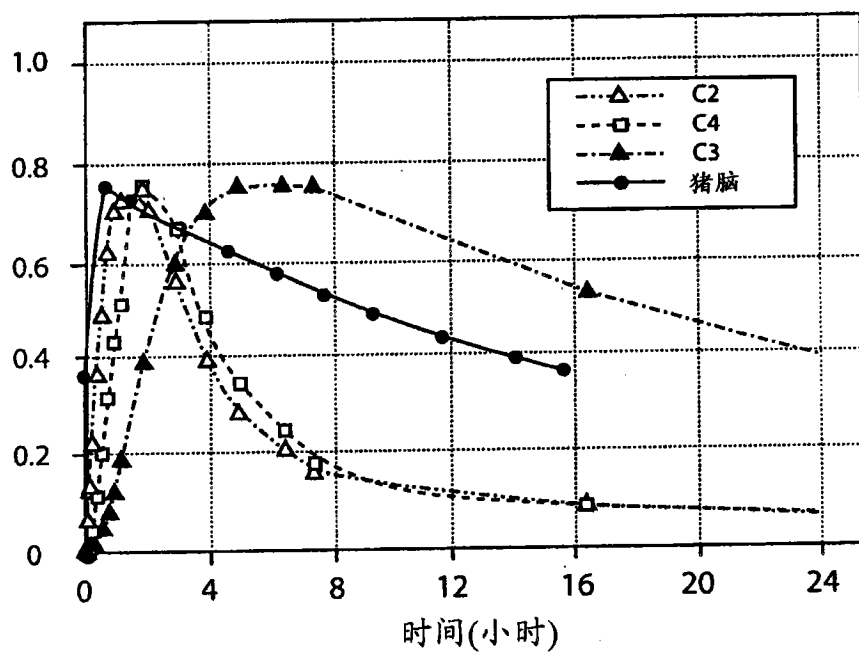


图 28

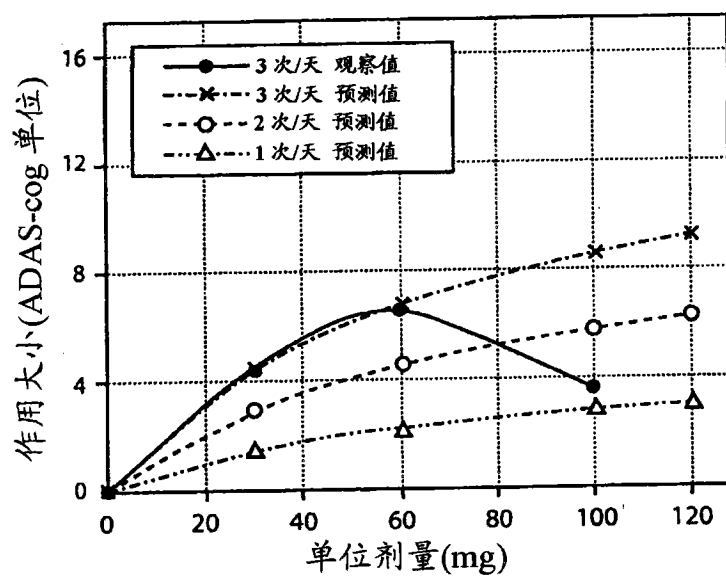


图 29

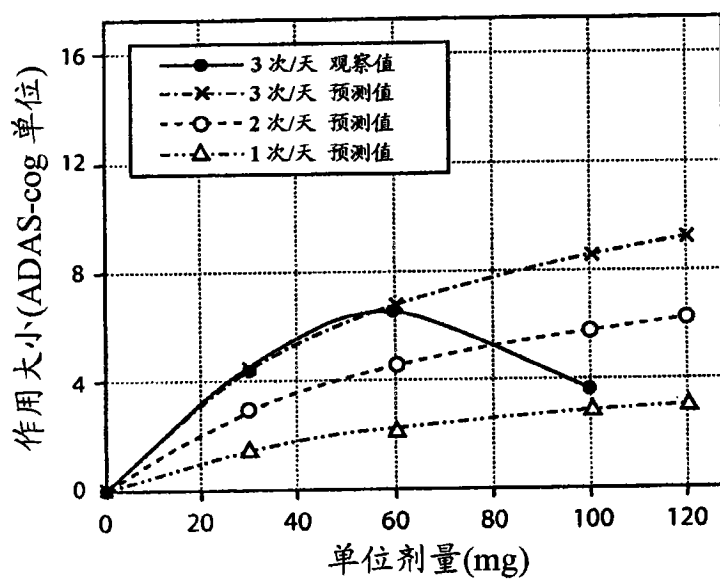


图 30

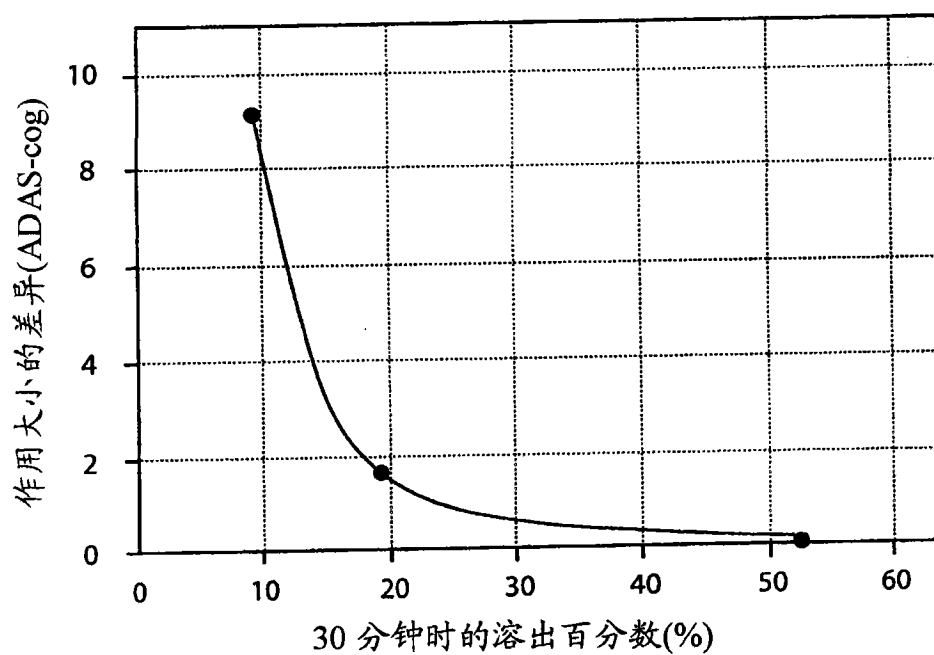


图 31A

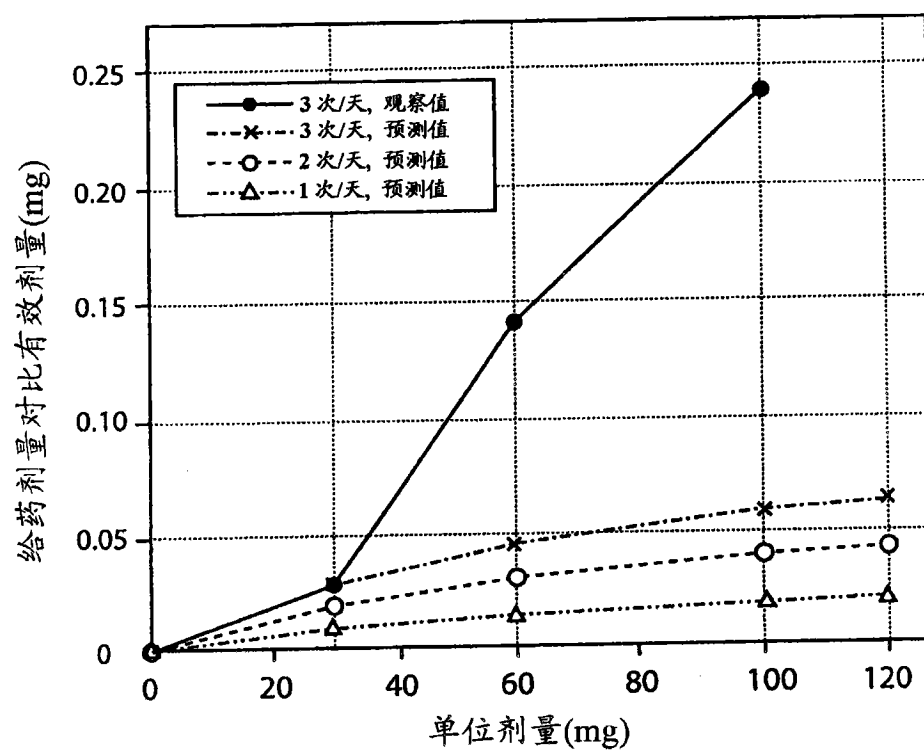


图 31B

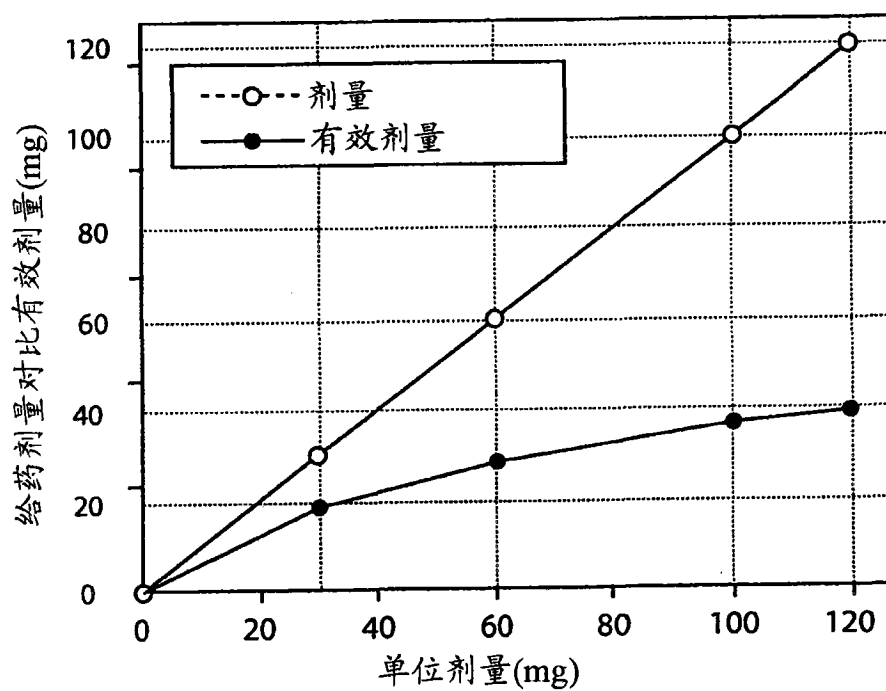


图 32

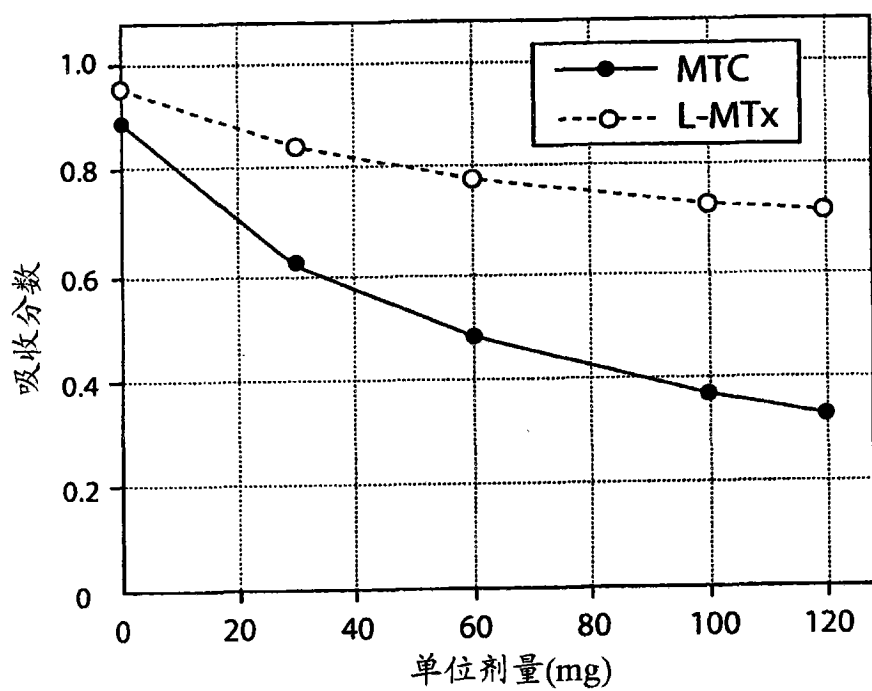


图 33

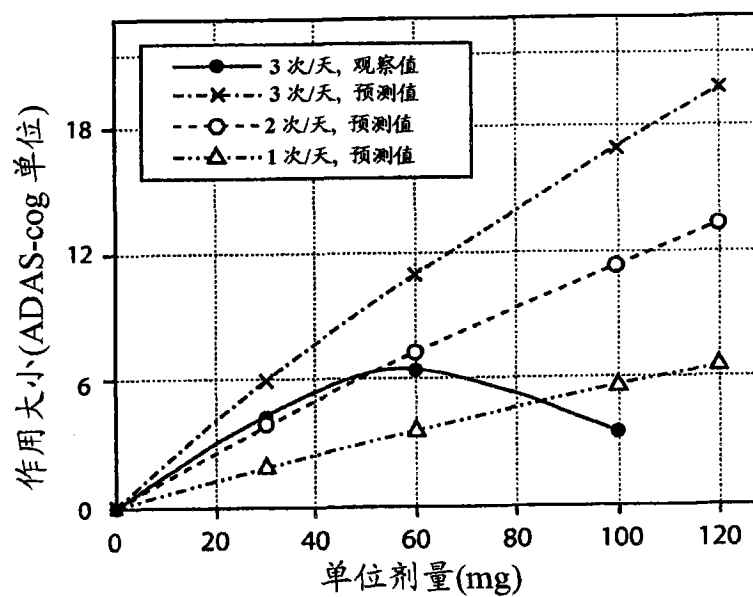


图 34

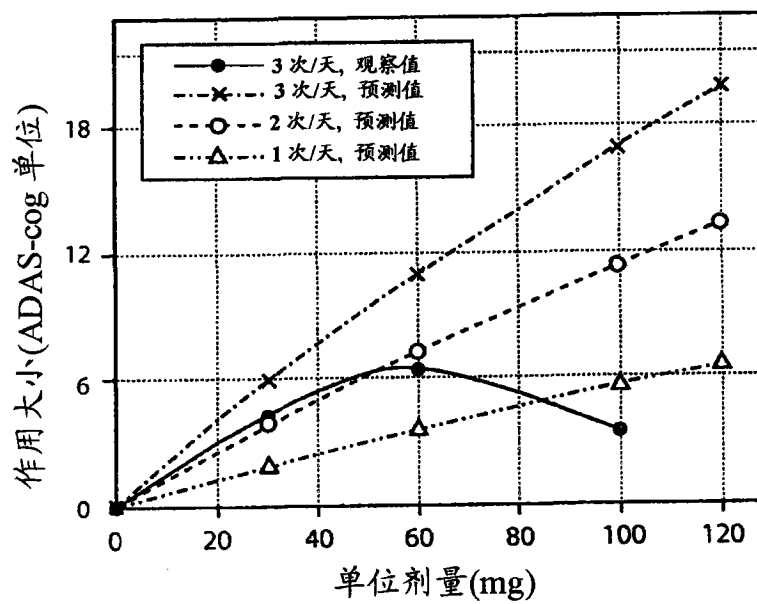


图 35

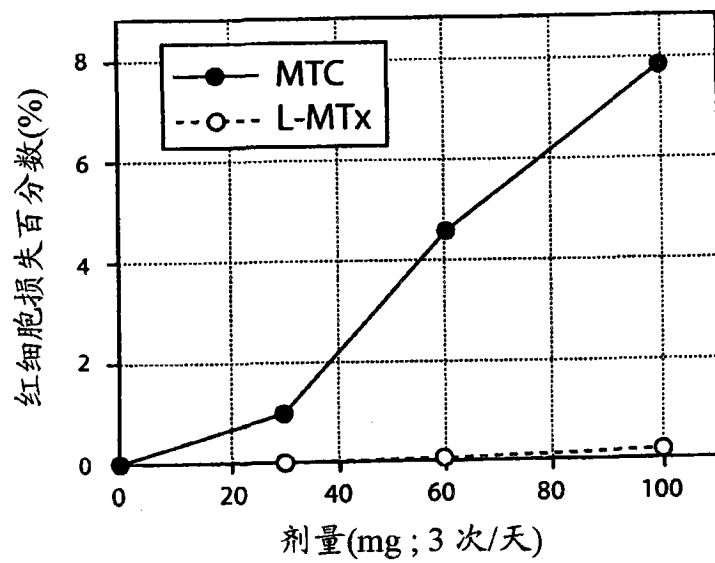
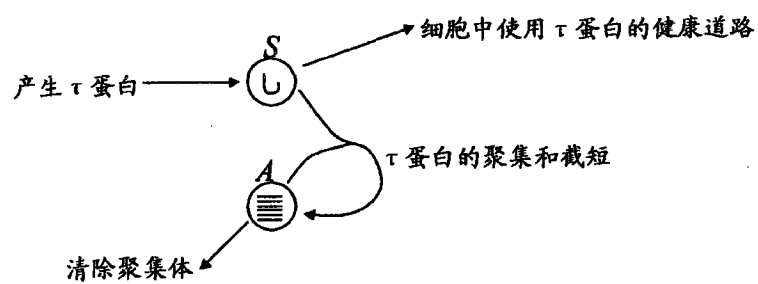


图 36

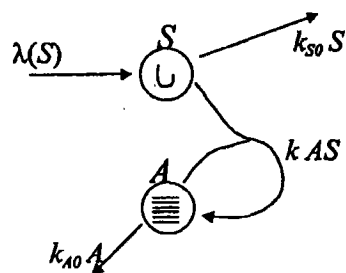
37A



37B



37C



37D

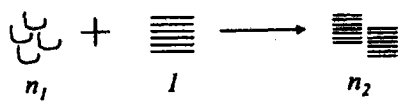
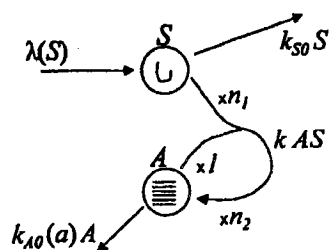
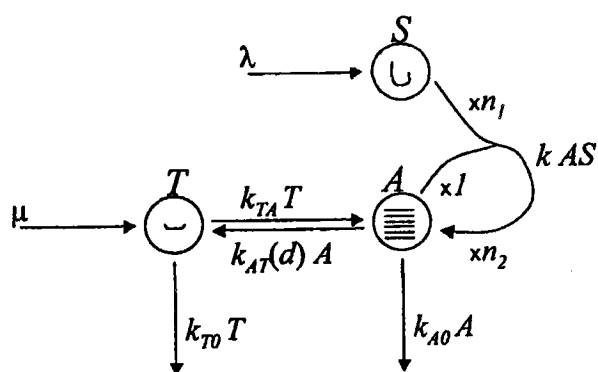


图 37

37E



37F



37G

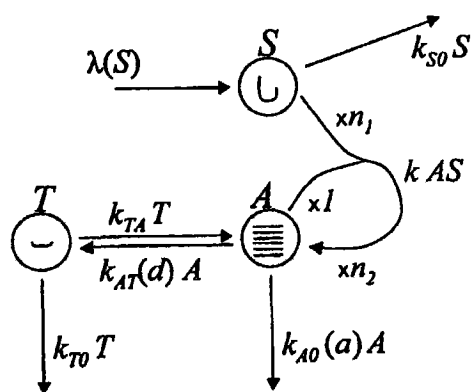
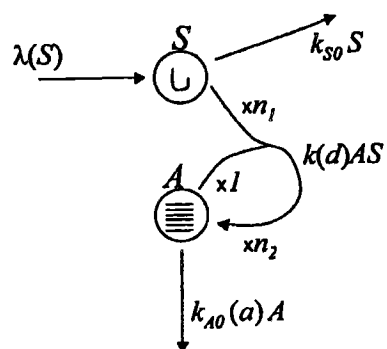


图 37(续)

37H



37I

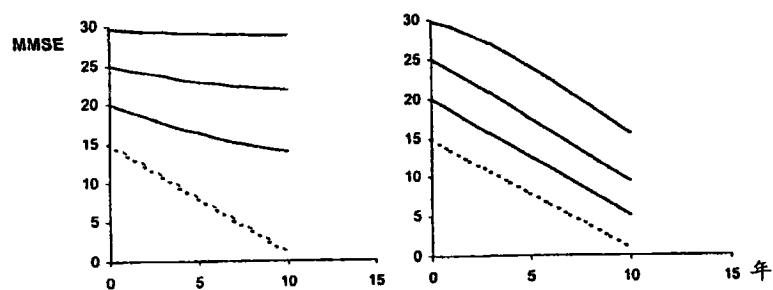


图 37(续)

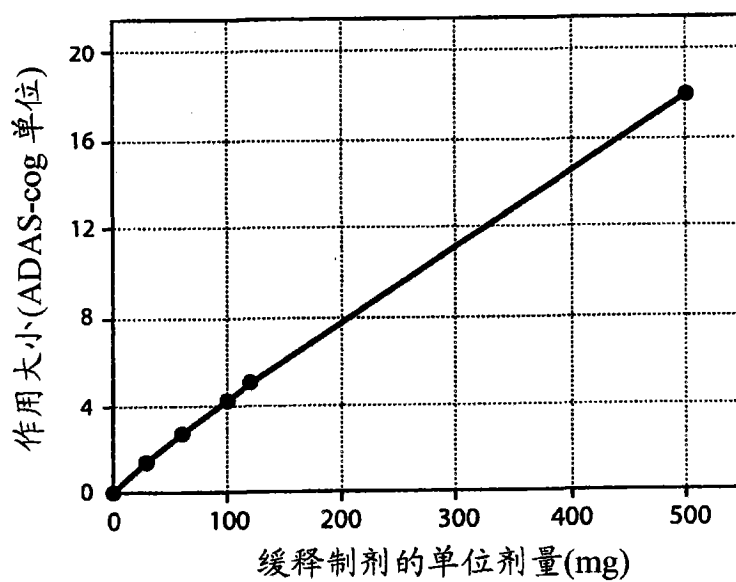


图 38

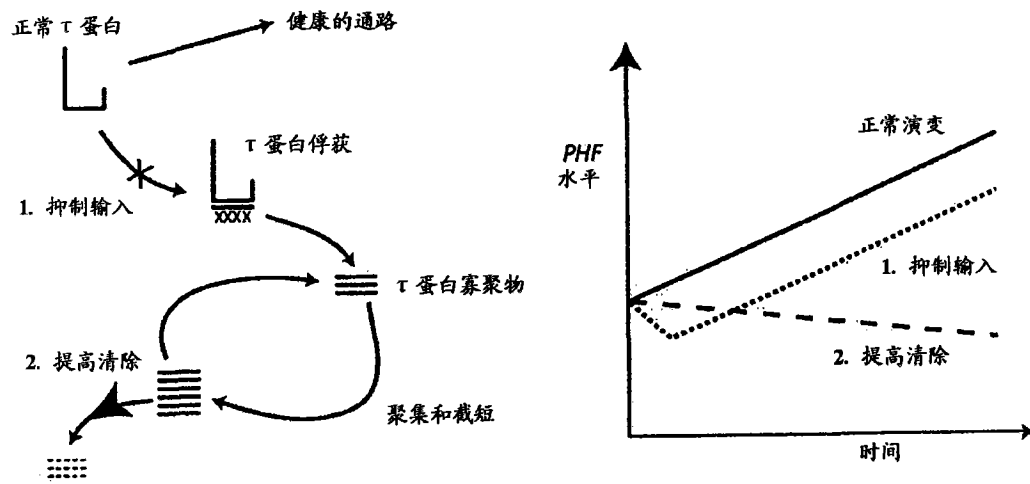


图 39

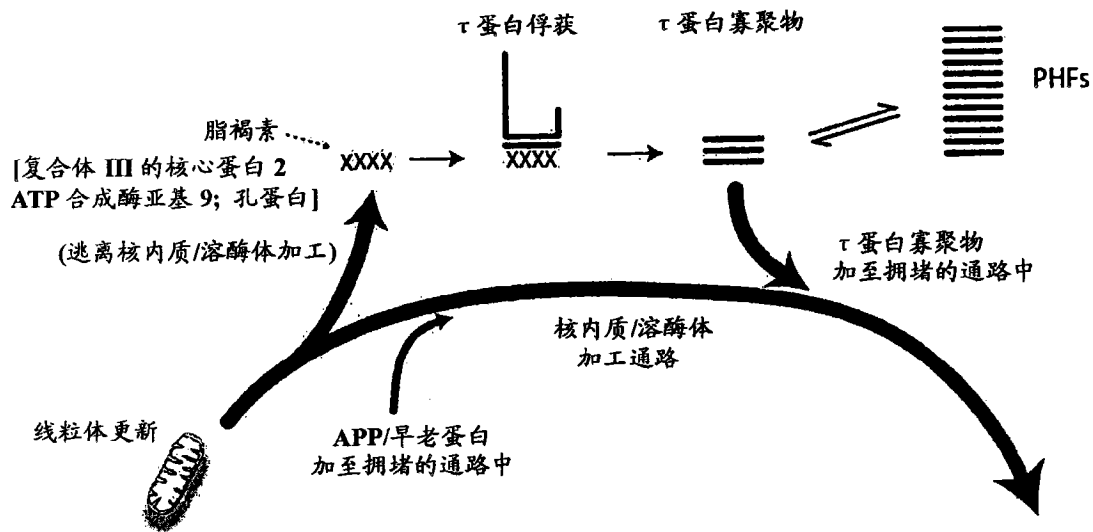


图 40