

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 31/55 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580002284.7

[43] 公开日 2007年11月21日

[11] 公开号 CN 101076339A

[22] 申请日 2005.1.10

[21] 申请号 200580002284.7

[30] 优先权

[32] 2004.1.12 [33] EP [31] 04100067.0

[86] 国际申请 PCT/EP2005/050075 2005.1.10

[87] 国际公布 WO2005/067937 英 2005.7.28

[85] 进入国家阶段日期 2006.7.12

[71] 申请人 索尔瓦药物有限公司

地址 荷兰韦斯普

[72] 发明人 M·韦斯克 L·A·图尔斯克

H·埃克诺米多 D·兹戈勒

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商  
标事务所

代理人 吴亦华

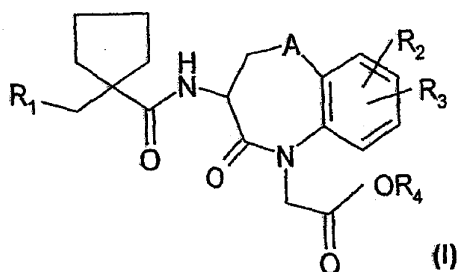
权利要求书4页 说明书8页

## [54] 发明名称

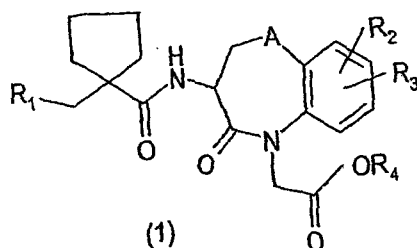
用于预防和治疗神经变性疾病的中性内肽酶  
(NEP) 和人可溶内肽酶(hSEP) 抑制剂

## [57] 摘要

本发明涉及具有中性内肽酶(NEP) 和/或人可溶内肽酶(hSEP) 抑制活性的已知苯并氮杂草、苯并噁氮杂草、苯并噻氮杂草 - N - 乙酸和磷酰基取代的苯并氮杂草酮衍生物的一种新用途。本发明的化合物用于制备预防和治疗神经变性疾病的药物组合物。本发明的化合物从欧洲专利 EP 0 733 642 和 EP 0 916 679 获知, 并可以由通式(1)描述, 其中的符号具有在说明书中给出的含义。

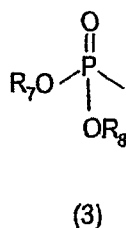
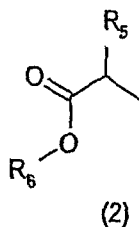


1. 通式(1)的化合物、其所有立体异构体以及药理学上可接受的盐和前药用于制备预防和治疗神经变性疾病的药物组合物的用途:



其中:

$R_1$  代表式(2)或(3)的基团:



A 代表  $CH_2$ 、O 或 S,

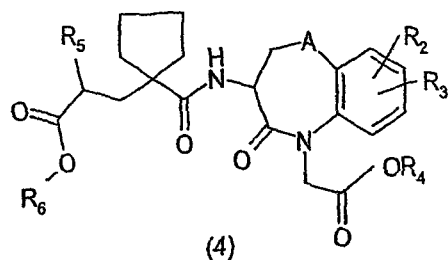
$R_2$  和  $R_3$  独立地代表氢或卤素,

$R_4$  和  $R_6$  独立地代表氢或形成生物不稳定羧酸酯的基团;

$R_5$  选自由  $(C_1-C_6)$  烷氧基  $(C_1-C_6)$  烷基, 它可以被  $(C_1-C_6)$  烷氧基取代; 苯基- $(C_1-C_6)$ -烷基和苯氧基- $(C_1-C_6)$ -烷基, 其中苯基可以被  $(C_1-C_6)$  烷基、 $(C_1-C_6)$ -烷氧基或卤素取代; 和萘基- $(C_1-C_6)$ -烷基组成的组,

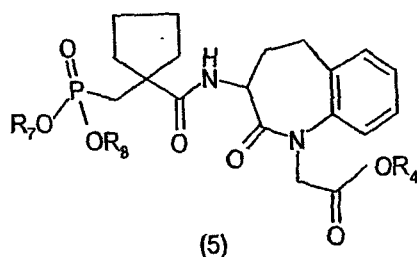
$R_7$  和  $R_8$  独立地代表氢或形成生物不稳定磷酸酯的基团。

2. 权利要求 1 所要求保护的用途, 其特征在于该药物组合物包含通式(4)的化合物、其所有立体异构体以及药理学上可接受的盐和前药中的至少一种化合物



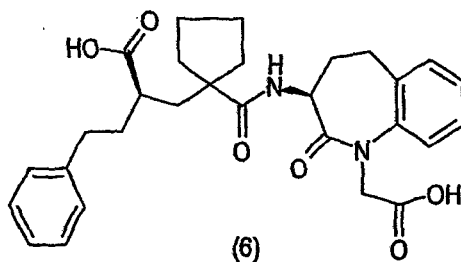
其中的符号具有权利要求 1 给出的含义。

3. 权利要求 1 所要求保护的用途，其特征在于该药物组合物包含通式 (5) 的化合物、其所有立体异构体以及药理学上可接受的盐和前药中的至少一种化合物



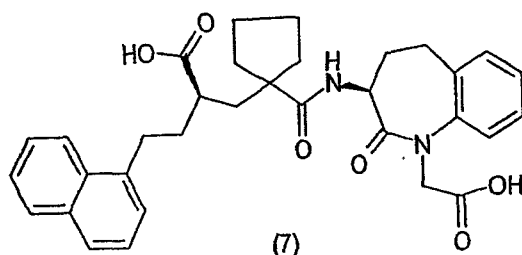
其中的符号具有权利要求 1 给出的含义。

4. 权利要求 1 所要求保护的用途，其特征在于该化合物为具有式 (6) 的 (2R)-2-[[1-([[(3S)-1-(羧甲基)-2-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-1-苯并氮杂革-3-基]氨基]羧基)环戊基]甲基]-4-苯基丁酸:



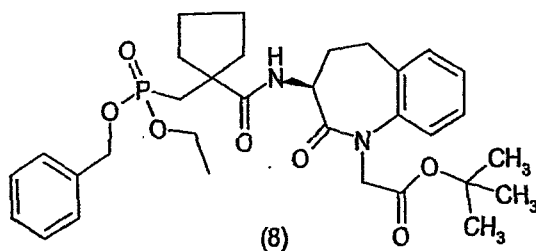
及其药理学上可接受的盐和前药。

5. 权利要求 1 所要求保护的用途，其特征在于该化合物为具有式 (7) 的 (2R)-2-[[1-([[(3S)-1-(羧甲基)-2-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-1-苯并氮杂革-3-基]氨基]羧基)环戊基]甲基]-4-(1-萘基)丁酸:



及其药理学上可接受的盐和前药。

6. 权利要求 1 所要求保护的用途, 其特征在于该化合物为具有式 (8) 的 ((3S)-3-[[1-[[[(苄氧基)(乙氧基)磷酰基]甲基]环戊基]羰基]氨基]-2-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-1-苯并氮杂革-1-基)乙酸叔丁酯:



及其药理学上可接受的盐和前药。

7. 权利要求 1-6 之中任一项所要求保护的用途, 其特征在于该药理学上可接受的盐选自锂盐、钙盐、镁盐和锌盐, 且药理学上可接受的盐优选为钙盐。

8. 权利要求 1-7 之中任一项所要求保护的用途, 其特征在于该神经变性疾病为缺血性中风、外伤性脑损伤、急性播散性脑脊髓炎、肌萎缩性侧索硬化(ALS)、色素性视网膜炎、轻度认知障碍、阿尔茨海默氏病、皮克病、老年性痴呆、进行性核上麻痹、皮层下痴呆、威尔逊病、多发梗塞病、动脉硬化性痴呆症、与 AIDS 有关的痴呆、小脑变性、脊髓小脑变性综合征、弗里德赖希共济失调、共济失调-毛细血管扩张症、与癫痫有关的脑损伤、脊髓损伤、腿多动综合征、亨廷顿舞蹈病和帕金森

森氏病、纹状体黑质变性、大脑脉管炎、线粒体脑肌病、神经元蜡样脂褐质沉积症、脊髓性肌萎缩、涉及中枢神经系统的溶酶体贮存疾病、脑白质营养不良、尿素循环缺陷症、肝性脑病、肾性脑病、代谢性脑病、卟啉症、细菌或病毒性脑膜炎和脑膜脑炎、朊病毒病、神经毒性化合物中毒、格-巴综合征、慢性炎性神经病、多肌炎、皮炎和放射诱导的脑损伤。

9. 权利要求 8 所要求保护的用途，其特征在于该神经变性疾病为缺血性中风。

10. 权利要求 8 所要求保护的用途，其特征在于该神经变性疾病为外伤性脑损伤。

11. 权利要求 8 所要求保护的用途，其特征在于该神经变性疾病为老年性痴呆。

12. 权利要求 8 所要求保护的用途，其特征在于该神经变性疾病为阿尔茨海默氏病。

13. 权利要求 8 所要求保护的用途，其特征在于该神经变性疾病为脊髓损伤。

14. 权利要求 8 所要求保护的用途，其特征在于该神经变性疾病为腿多动综合征。

15. 权利要求 8 所要求保护的用途，其特征在于该神经变性疾病为帕金森氏病。

用于预防和治疗神经变性疾病的中性内肽酶 (NEP)  
和人可溶内肽酶 (hSEP) 抑制剂

本发明涉及具有中性内肽酶 (NEP) 和/或人可溶内肽酶 (hSEP) 抑制活性的已知苯并氮杂革、苯并噁氮杂革 (benzoxazepine)、苯并噻氮杂革 (benzothiazepine) -N-乙酸和磷酰基取代的苯并氮杂革酮 (benzazepinone) 衍生物的一种新用途。本发明的化合物用于制备预防和治疗神经变性疾病的药物组合物。

本发明涉及本文公开的化合物用于制备提供有益效果的药物的用途。有益效果在本文中公开或者对于本领域技术人员来说根据说明书和本领域中的公知常识是显而易见的。本发明还涉及本发明的化合物用于制备治疗或预防疾病或病状的用途。更具体而言，本发明涉及一种用于治疗本文公开的或本领域技术人员根据说明书和本领域中的公知常识知晓的疾病或病状。在本发明的实施方案中，本文公开的特定化合物用于制备药物。

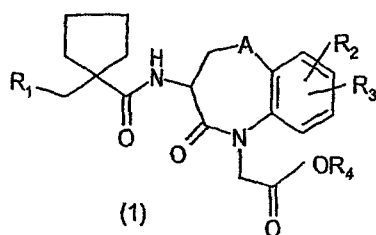
在专利申请 US 20030045449 中，描述了用于治疗神经变性疾病的基质-金属蛋白酶抑制剂。与该发明有关的问题首先是基质-金属蛋白酶抑制剂包含一组广泛的蛋白酶抑制剂，第二是根据该申请所述的金属蛋白酶必须用于还包含 N-NOS 抑制剂的药物组合物。

本发明的目标是确定特定的金属蛋白酶抑制剂，其在作为单一治疗而施用时具有治疗价值。

令人惊奇的是，已发现具有中性内肽酶 (NEP) 和/或人可溶内肽酶 (hSEP) 抑制活性的苯并氮杂革、苯并噁氮杂革、苯并噻氮杂革-N-乙酸和磷酰基取代的苯并氮杂革酮衍生物在动物外伤性脑损伤模型中具有保护作用。这种性质使它们可用于制备预防和治疗神经变性疾病的药物组合物。

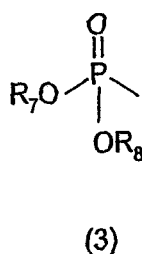
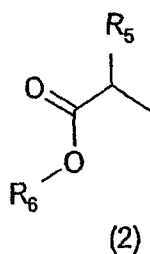
本发明的化合物根据欧洲专利 EP 0 733 642、EP 0 916 679 和 EP

1 468 010 是已知的，其中包括其详细的合成，并可以由通式(1)描述：



其中：

$R_1$  代表式(2)或(3)的基团：



A 代表  $\text{CH}_2$ 、O 或 S，

$R_2$  和  $R_3$  独立地代表氢或卤素，

$R_4$  和  $R_6$  独立地代表氢或形成生物不稳定羧酸酯的基团；

$R_5$  选自由  $(\text{C}_1\text{-C}_6)$  烷氧基  $(\text{C}_1\text{-C}_6)$  烷基，它可以被  $(\text{C}_1\text{-C}_6)$  烷氧基取代，苯基- $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -烷基和苯氧基- $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -烷基，其中苯基可以被  $(\text{C}_1\text{-C}_6)$  烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -烷氧基或卤素取代，和萘基- $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -烷基组成的组，

$R_7$  和  $R_8$  独立地代表氢或形成生物不稳定磷酸酯的基团。

所有具有式(1)的化合物、外消旋物、非对映异构体混合物和单独的立体异构体属于本发明；且还包括其药理学上可接受的盐。因此，潜在不对称碳原子上的取代基为 R-构型或 S-构型的化合物属于本发明。

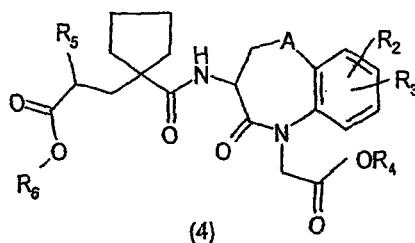
前药是本身无活性但转化成一种或多种活性代谢产物的治疗剂。前药是用于克服母体药物分子的某些使用障碍的药物分子的生物可逆衍生物。这些障碍包括但不限于溶解性、渗透性、稳定性、系统前代谢 (presystemic metabolism) 和靶向限制 (Medicinal Chemistry: Principles and Practice, 1994, ISBN 0-85186-494-5, Ed.: F. D.

King, p. 215; J. Stella, "Prodrugs as therapeutics", Expert Opin. Ther. Patents, 14(3), 277-280, 2004; P. Ettmayer 等人, "Lessons learned from marketed and investigational prodrugs", J. Med. Chem., 47, 2393-2404, 2004)。前药, 即在通过任何已知途径施用给人时代谢成具有式(1)的化合物的化合物属于本发明。具体而言, 这涉及具有羧基的化合物。这种化合物可以与有机酸反应得到具有式(1)的化合物, 其中存在在给药后容易除去的附加的基团, 例如包括但不限于脞、烯胺、曼尼希碱、羟基亚甲基衍生物、O-(酰氧基亚甲基氨基甲酸酯)衍生物、氨基甲酸酯、酯、酰胺或烯胺酮。

药学上可接受的盐可以用现有技术中熟知的标准方法获得, 例如通过将本发明的化合物与适宜的金属离子或有机碱如胺混合。

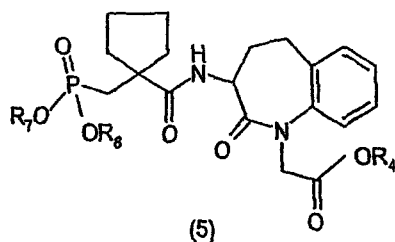
这个目标可以通过制备具有上述通式(1)的化合物的金属盐来实现, 其中的金属离子为锂离子或二价金属离子。优选的二价金属盐为钙、镁和锌盐。最优选钙盐。

本发明特别涉及具有通式(4)的化合物



其中的符号具有以上给出的含义。

更特别地, 本发明涉及具有通式(5)的化合物

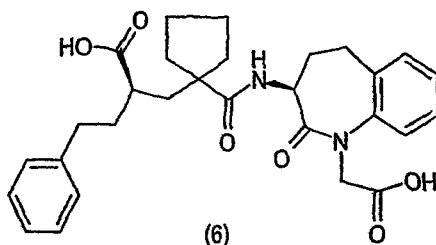


其中的符号具有以上给出的含义。

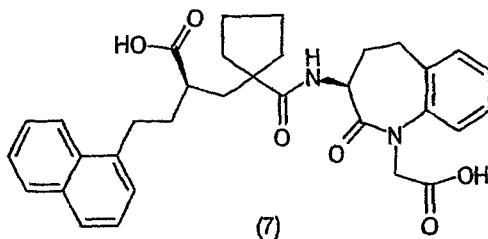


根据本发明的最优选的活性物质为：

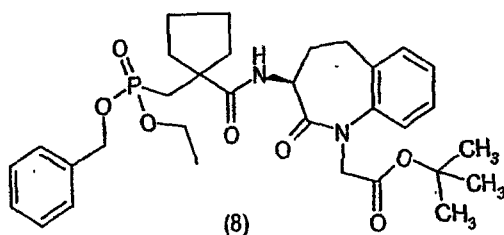
- (2R)-2-[[1-({[(3S)-1-(羧甲基)-2-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-1-苯并氮杂革-3-基]氨基]羧基)环戊基]甲基]-4-苯基丁酸(6)：



- (2R)-2-[[1-({[(3S)-1-(羧甲基)-2-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-1-苯并氮杂革-3-基]氨基]羧基)环戊基]甲基]-4-(1-萘基)丁酸(7)：



- ((3S)-3-[[1-({[(苄氧基)(乙氧基)磷酰基]甲基]环戊基)羧基]氨基]-2-氧代-2,3,4,5-四氢-1H-1-苯并氮杂革-1-基)乙酸叔丁酯(8)：



### 药物组合物

本发明的化合物可以通过常规方法，使用辅料如液体或固体载体材料制成适于施用的形式。本发明的药物组合物可以肠内、口、肠胃外(肌内或静脉内)、直肠或局部(locally或topically)施用。它们可以溶液、粉剂、片剂、胶囊(包括微胶囊)、软膏(乳膏或凝胶)或栓剂的形式施用。这种制剂的适宜赋形剂是药用常规液体或固体填充剂和增量剂、溶剂、

乳化剂、润滑剂、调味剂、着色剂和/或缓冲物质。可以提及的常用辅料是碳酸镁、二氧化钛、乳糖、甘露糖醇和其它糖、滑石、乳蛋白、明胶、淀粉、纤维素及其衍生物、动物和植物油如鱼肝油、向日葵油、花生油或芝麻油、聚乙二醇和溶剂如无菌水和单或多羟基醇如甘油。

本发明的化合物一般作为药物组合物施用。可以使用的药物组合物的类型包括但不限于片剂、咀嚼片、胶囊、溶液、肠胃外溶液、栓剂、悬浮剂和本文公开或者本领域技术人员根据说明书和本领域的公知常识知晓的其它类型。

在本发明的实施方案中，提供一种药用包装或药盒，其包含一个或多个填充了一种或多种本发明的药物组合物的成分的容器。与这些容器有关的是各种书写材料，如使用说明书，或者由管理药品的生产、使用或销售的政府机构指定形式的通告，所述通告反映生产、使用或销售机构对于人或兽施用的批准。

适于本发明的化合物的非常具体的制剂已公开在专利申请 WO 03/068266 和 WO 04/062692 中。

上述的具体化合物意在进一步更详细地举例说明本发明，因此不应被理解为以任何方式限制本发明。本发明的其它实施方案对于本领域技术人员来说经考虑本文公开的本发明的说明和实践后是显而易见的。因此，要认为该说明书和实施例仅作为例举，而本发明的真实范围和精神如权利要求所示。

### 外伤性脑损伤：延迟的神经元死亡

#### 方法

挫伤装置。挫伤装置由不锈钢管组成，其长度为 40cm，以 1cm 的间距穿孔以防止空气压缩在管中。用水合三氯乙醛以 400 mg/kg 腹膜内的方式麻醉 230-270g 的 Wistar 大鼠，在右半球进行颅骨切开术，将引导下坠重量至搁置在硬脑膜表面上的底板托 (footplate resting) 上的装置与头颅表面垂直放置，选择由 20g 重量产生的 380 g × cm 力量产生脑挫伤。允许最大 2.5 mm 的脑表面凹窝以避免硬脑膜的机械刺伤。

底板中心立体定向放置在前囟点后 1.5 mm 和侧面 2.5 mm 处。用含有在磷酸盐缓冲液中的 4%多聚甲醛的溶液在造成脑损伤 3 天后使大鼠经历灌注固定。

脑室内 (i. c. v.) 注射: 通过体积为 5-15 $\mu$ l 的 Hamilton 注射器进行化合物的脑室内施用。在造成外伤之后历经 5 分钟、15 分钟-8 小时用以下立体定向坐标进行注射: AP=-0.5 mm, L=-2mm 和 V=-5.5, 相对于前囟点 (Swanson, L. W. (1992) Brain Maps: Structure of the Rat Brain, Elsevier, Amsterdam)。

静脉内注射: 用与 26 标准规格针连接的 1ml 注射器进行化合物的静脉内施用。将针沿皮肤小切口插至左股静脉。在 30 秒内以 1ml/kg 体重的体积进行化合物施用。

海马的形态测定分析。在外伤性损伤 3 天后, 在从 10.21mm 延伸到 11.21 mm 的 5 个不同喙尾 (rostrocaudal) 水平上和通过它的中侧轴立体测定海马 CA3 子区域内的损害 (Swanson, L. W. (1992) Brain Maps: Structure of the Rat Brain, Elsevier, Amsterdam)。为了定量评价海马的神经元损失, 使用立体剥离器技术 (Cruz-Orive, L. M. & Weibel, E. R. (1990) Am. J. Physiol. 258, L148-L156) 来评价锥状神经元的数值密度 (Nv)。将无偏差的计数框 (0.05 mm  $\times$  0.05 mm; 剥离器高度 0.01 mm) 和高孔径物镜 ( $\times$ 40) 用于取样。通过存在被含有尼氏物质的细胞质所环绕并带有清楚的核质和清楚的核仁的典型核来鉴定正常神经元。认为 CA2 和 CA3 亚区域之间的边界是大锥状细胞的较宽松的排列通向亚区域 CA3 的稠密压积的锥状细胞的地点。认为连接锯齿状颗粒细胞层侧端的任意线条是亚区域 CA3 和 CA4 之间的连接。

本发明的化合物用于预防和治疗神经元变性疾病, 例如缺血性中风、外伤性脑损伤、急性播散性脑脊髓炎、肌萎缩性侧索硬化 (ALS)、色素性视网膜炎、轻度认知障碍、阿尔茨海默氏病、皮克病、老年性痴呆、进行性核上麻痹、皮层下痴呆、威尔逊病、多发梗塞病、动脉硬化性痴呆症、与 AIDS 有关的痴呆、小脑变性、脊髓小脑变性综合征、弗里德赖希共济失调、共济失调-毛细血管扩张症、与癫痫有关的脑损伤、

脊髓损伤、腿多动综合征、亨廷顿舞蹈病和帕金森病、纹状体黑质变性、大脑脉管炎、线粒体脑肌病、神经元蜡样脂褐质沉积症、脊髓性肌萎缩、涉及中枢神经系统的溶酶体贮存疾病、脑白质营养不良、尿素循环缺陷症、肝性脑病、肾性脑病、代谢性脑病、卟啉症、细菌或病毒性脑膜炎和脑膜脑炎、朊病毒病、神经毒性化合物中毒、格-巴综合征、慢性炎性神经病、多肌炎、皮炎和放射诱导的脑损伤。

给药的剂量宜为 0.001-1000 mg/kg, 优选 0.1-100 mg/kg 患者体重。

### 药理学试验结果

在上述的外伤性脑损伤模型中, 具有式 6 和 7 的化合物引起依赖于剂量的神经保护效果。在当外伤后长达 8 小时于脑室内施用具有式 6 和 7 的化合物时, 这些效果仍然明显。

### 试验化合物的神经保护作用的剂量反应

测量具有式 6 和 7 的化合物在成年 Wistar 大鼠外伤后 15 分钟进行脑室内施用时的神经保护效果的剂量反应。如该方法所述的那样在 CA3 海马亚区域中测定神经元密度。在赋形剂处理的大鼠的非受损左侧和赋形剂处理的大鼠的受损右侧以及在用具有式 6 和 7 的化合物处理的大鼠中, 测量 6 种立体定向水平的 CA3 神经元的密度 $\pm$ 标准偏差(=SED), 结果如下表 1 所示。在以下所有的表中, 数字("n")在使用时表示每组的大鼠数。

表 1: CA3 海马的神经元密度, 细胞 $\times 10^3/\text{mm}^3$

立体定向水平	赋形剂左侧 (n=8)	赋形剂右侧 (n=8)	化合物式(6) (N=8)	化合物式(7) (N=8)
10.21	148.57 $\pm$ 2.23	90.29 $\pm$ 5.54	112.5 $\pm$ 11.40	107.25 $\pm$ 15.19
10.41	154.29 $\pm$ 3.73	84.86 $\pm$ 7.29	103.75 $\pm$ 11.80	100.25 $\pm$ 14.71
10.61	158.86 $\pm$ 3.44	77.71 $\pm$ 5.82	101.75 $\pm$ 14.80	93.50 $\pm$ 16.96
10.81	155.71 $\pm$ 4.07	76.57 $\pm$ 13.45	98.50 $\pm$ 10.68	93.50 $\pm$ 12.36
11.01	150.86 $\pm$ 1.95	85.71 $\pm$ 10.98	96.75 $\pm$ 13.98	101.50 $\pm$ 18.81
11.21	148.29 $\pm$ 1.38	92.86 $\pm$ 8.71	101.75 $\pm$ 15.17	107.75 $\pm$ 16.51

将赋形剂注射至经受过头部外伤的大鼠的右脑室，导致 CA3 海马的神经元密度降至对照值的 48%，而注射 10 $\mu$ g 式 (6) 的化合物或式 (7) 的化合物部分地防止海马神经元损失。方差分析 ("ANOVA") 表明两种试验物质对 CA3 海马的神经元损失有显著的保护性治疗效果。

#### 静脉内 (i. v.) 施用后的活性

注射赋形剂导致 CA3 海马的神经元密度降低至对照值的 53%，而注射 30 或 300 mg/kg 式 (7) 的试验物质部分地防止海马神经元损失，其中 300 mg/kg 的剂量最为有效。方差分析 ("ANOVA") 表明两种受试剂量的试验物质对 CA3 海马的神经元损失都有显著的保护性治疗效果 ( $P < 0.001$ ;  $n = 8$ /组)。ANOVA 还表明 300 mg/kg 的剂量带来比 30 mg/kg 的剂量明显更好的神经保护作用。

表 2: CA3 海马的神经元密度 (细胞  $\times 10^3$ /mm<sup>3</sup>), 静脉内给药

立体定向水平	赋形剂左侧 (n=8)	赋形剂右侧 (n=8)	化合物式 (7) 300MG/KG (N=8)	化合物式 (7) 30MG/KG (N=8)
10.21	150.50 $\pm$ 1.41	97.50 $\pm$ 7.39	126.50 $\pm$ 5.53	107.50 $\pm$ 6.99
10.41	154.25 $\pm$ 1.67	90.25 $\pm$ 5.60	117.75 $\pm$ 4.95	102.25 $\pm$ 7.89
10.61	157.25 $\pm$ 2.38	84.75 $\pm$ 7.09	110.00 $\pm$ 7.01	100.75 $\pm$ 9.91
10.81	154.00 $\pm$ 1.85	88.00 $\pm$ 7.17	106.75 $\pm$ 7.48	101.75 $\pm$ 9.65
11.01	149.00 $\pm$ 1.07	94.00 $\pm$ 5.45	116.50 $\pm$ 9.06	111.25 $\pm$ 7.55
11.21	146.00 $\pm$ 1.51	99.75 $\pm$ 8.24	125.25 $\pm$ 5.01	117.75 $\pm$ 10.11