



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109310672 B

(45) 授权公告日 2022.05.03

(21) 申请号 201780034885.9

霍尔迪·布鲁纳-埃斯库埃尔

(22) 申请日 2017.06.05

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109310672 A

代理人 郑斌 彭鲲鹏

(43) 申请公布日 2019.02.05

(51) Int.Cl.

(30) 优先权数据

16382258.8 2016.06.06 EP

A61K 31/415 (2006.01)

A61K 31/4155 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2018.12.05

A61K 31/337 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2017/063614 2017.06.05

(56) 对比文件

CN 102985089 A, 2013.03.20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02017/211763 EN 2017.12.14

WO 2010128309 A1, 2010.11.11

CN 102497864 A, 2012.06.13 (续)

(73) 专利权人 埃斯特韦制药有限公司

审查员 郑翠微

地址 西班牙巴塞罗纳

(72) 发明人 丹尼尔·扎马尼罗-卡斯塔涅多

乔斯-卡洛斯·普拉多斯-萨拉萨尔

塞瓦斯蒂亚·魏地拉-塞斯

乔斯-米格尔·韦拉埃尔南德斯

卡洛斯-拉蒙·普拉塔-萨拉曼

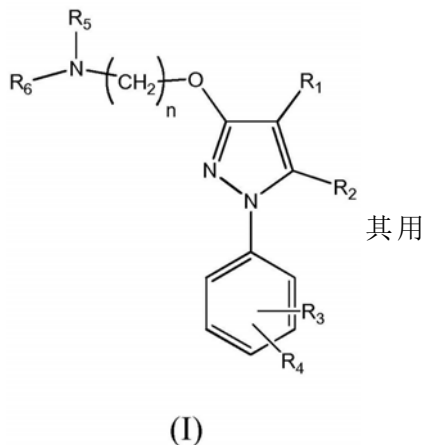
权利要求书1页 说明书21页 附图3页

(54) 发明名称

于降低癌细胞增殖和提高化学治疗药物效力。

 σ 受体配体在癌症中的用途

(57) 摘要

本发明涉及对 σ 受体具有药理活性的通式

[接上页]

(56) 对比文件

L Romero等.Pharmacological properties of SlRA, a new sigma-1 receptor antagonist that inhibits neuropathic pain and activity-induced spinal sensitization.《Br J Pharmacol》.2012,第166卷(第8期),2289-2306.

Arenvan Waarde等.Potential applications for sigma receptor ligands in cancer diagnosis and therapy.《Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes》.2015,第1848卷(第10期),2703-2714.

1. 化合物在制备用于提高紫杉醇降低癌细胞增殖的效力的药物中的用途, 其中所述化合物是4- {2- [5- 甲基- 1- (萘- 2- 基) - 1H- 吡唑- 3- 基氧基] 乙基} 吗啉或者其可药用盐, 其中所述癌细胞来自腺腺癌、肺癌或黑素瘤。

2. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述化合物是4- {2- [5- 甲基- 1- (萘- 2- 基) - 1H- 吡唑- 3- 基氧基] 乙基} 吗啉盐酸盐。

3. 根据权利要求1或2中任一项所述的用途, 其中所述化合物每天以100mg至600mg的日剂量施用。

4. 根据权利要求3所述的用途, 其中所述化合物每天以200mg至400mg的日剂量施用。

5. 根据权利要求1或2中任一项所述的用途, 其中所述紫杉醇形成与所述化合物的同一组合物的一部分。

6. 根据权利要求1或2中任一项所述的用途, 其中所述紫杉醇作为与所述化合物分开的组合物来提供, 以用于在相同时间或不同时间施用。

7. 根据权利要求1或2中任一项所述的用途, 其中:

- 在前5天期间每天以100mg至600mg的日剂量施用4- {2- [5- 甲基- 1- (萘- 2- 基) - 1H- 吡唑- 3- 基氧基] 乙基} 吗啉或者其可药用盐, 并且
- 在周期的第1天以至少 $\geq 60\text{mg}/\text{m}^2$ 的日剂量施用所述紫杉醇。

8. 根据权利要求1或2中任一项所述的用途, 其中:

- 在前5天期间每天以200mg至400mg的日剂量施用4- {2- [5- 甲基- 1- (萘- 2- 基) - 1H- 吡唑- 3- 基氧基] 乙基} 吗啉或者其可药用盐, 并且
- 在周期的第1天以至少 $\geq 80\text{mg}/\text{m}^2$ 的日剂量施用所述紫杉醇。

9. 根据权利要求1或2中任一项所述的用途, 其中:

- 在前5天期间每天以400mg的日剂量施用4- {2- [5- 甲基- 1- (萘- 2- 基) - 1H- 吡唑- 3- 基氧基] 乙基} 吗啉或者其可药用盐, 并且
- 在周期的第1天以 $85\text{mg}/\text{m}^2$ 的日剂量施用所述紫杉醇。

σ受体配体在癌症中的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及σ受体配体的用途,并且更特别地涉及一些吡唑衍生物,以及涉及包含它们的药物组合物用于在癌症治疗中提高化学治疗剂的效力和/或降低癌细胞增殖的用途。

背景技术

[0002] 癌症及其相关治疗是世界上最大的健康问题之一。

[0003] 虽然瘤形成涉及许多还提供癌症治疗靶标的其他过程,但在几乎所有情况下,失调的细胞增殖和受抑制的细胞死亡共同为肿瘤进展提供了基础平台。

[0004] 因为失调的增殖和细胞凋亡的抑制是所有肿瘤发展的核心,它们为所有癌症的治疗干预提供了两个选择的靶标。

[0005] 在大多数情况下,化学治疗与手术相结合或作为手术的替代方案是控制或帮助患有癌症的患者的选择方法。

[0006] 化学治疗一般定义为使用化学物质来治疗癌症、肿瘤或恶性瘤形成,并且在本发明的意义上,是指使用称为化学治疗药物的细胞毒性或细胞抑制药物。一般来说,它是全身治疗。癌症治疗中的化学治疗由有效的化学治疗药物的个性化组合组成,旨在减缓癌症肿瘤的快速生长、缩小肿瘤、杀死癌细胞和防止癌症扩散。化学治疗药物阻止细胞以其中癌细胞分裂的通常的、失控的方式复制。

[0007] 化学治疗诱导的周围神经病 (Chemotherapy-induced peripheral neuropathy, CIPN) 定义为由于化学治疗剂引起的对外周或自主神经系统的损害而出现的周围神经功能障碍的体征或症状,无论是躯体的 (somatic) 还是自主的 (autonomic) (Zhang; JBI Database Systematic Rev. Implement. Reports; 2014; 12; 484-500)。CIPN是癌症治疗中最普遍的神经并发症,影响大约三分之一的所有接受化学治疗的患者 (Argyriou等; 2012; Crit. Rev. Oncol. Hematol.; 28 (1); 51-77)。对于数种最有效的药物 (例如紫杉烷类、长春花生物碱、顺铂、硼替佐米 (bortezomib)、沙利度胺 (thalidomide) 和来那度胺 (lenolidamide), 神经毒性是剂量限制性的,并且有时会迫使原本成功的治疗终止 (Polomano和Bennett, Pain Med., 2001, 2 (1), 8-14; Park等, Curr. Med. Chem., 2008, 15 (29), 3081-94)。此外,随着用于改善与化学治疗相关的中性白细胞减少的有效治疗的出现,周围神经病目前是化学治疗剂的主要剂量限制性副作用之一 (Quasthoff和Hartung; 2002; J. Neurol.; 249 (1); 9-17)。它损害功能能力,危害生活质量,并可能导致剂量降低或停止化学治疗,随后效力降低。因此,对化学治疗的耐受性可能影响患者的生存。

[0008] 在一些国家,如美国,结直肠癌 (Colorectal cancer, CRC) 是第四大最常被诊断的癌症并且是赘生物相关死亡的第二大原因。大约25%的患者在诊断时已经患有转移性疾病,并且将近50%的患者将发展为转移。在过去的10年中,基于奥沙利铂 (作为第一优先)、长春新碱、紫杉醇 (作为第二优先)、多西他赛 (Doxitaxel) 和顺铂,研究了多种化学治疗组合用于治疗转移性结直肠癌 (metastatic colorectal cancer, m-CRC)。

[0009] 然后,已经对有关提高化学治疗效力(实现)的不同组合治疗进行了测试,得到不同甚至有争议的结果。

[0010] 除了公知的经典药剂外,已显示新的药物例如奥沙利铂(oxaliplatin,OXA)也具有显著的周围神经病风险(Argyriou等;2008;Cancer Treat.Rev.;34(4);368-377;Velasco和Bruna;2010;Neurologia;25(2);116-131;Argyriou等2012)。

[0011] 在化学治疗和/或放射治疗中同时引入奥沙利铂作为新辅助治疗表现出了改善,尤其是:

[0012] -用于以FU(5-氟尿嘧啶)和基于卡培他滨(Capecitabine)的术前CRT(化放疗(chemoradiotherapy))为代表的LARC(局部进展期直肠癌(Locally Advanced Rectal Cancer))的标准治疗。

[0013] -作为与用已建立的包含氟尿嘧啶方案的辅助化学治疗的比较,将5-氟尿嘧啶/甲酰四氢叶酸(5-FU/LV)和卡培他滨组合治疗完全手术切除原发肿瘤后的III期(Duke's C)结肠癌患者(Pandor,A.等,2006,Health Technol.Assess.,10(41);Hind,D.等,2008,Health Technol.Assess.,12(15))。

[0014] -将称为三重化学治疗的5-氟尿嘧啶(5-FU)/甲酰四氢叶酸(LV)、奥沙利铂和伊立替康(FOLFOXIRI:FOLFOX与伊立替康组合,或FOLFIRINOX:FOLFIRI与奥沙利铂组合)与血管内皮生长因子抑制剂贝伐单抗组合(Loupakis,F.等,2016,Targ.Oncol.,11,293-308)。

[0015] 但在所有上述研究中,还表明与非基于奥沙利铂的方案相比,基于奥沙利铂的方案(OX/FU、FOLFOX4、FLOX等)急性毒性和/或不良事件显著提高3至4级。

[0016] 如上所述,在过去十年中,已将奥沙利铂(第三代铂类似物)合并入作为一线药物的组合中用于治疗结直肠癌。除结直肠癌之外,奥沙利铂在一系列恶性肿瘤(卵巢癌、非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma)、乳腺癌、间皮瘤、非小细胞肺癌)中有效,并且已经历了针对胃癌的临床开发(Culy等,2000,Drugs,60(4),895-924)。副作用通常包括血液毒性(中性白细胞减少症、血小板减少症)和胃肠毒性(恶心、呕吐和腹泻)。然而,其临床应用通常受到发生剂量限制性周围神经病的阻碍。奥沙利铂诱导的神经病可导致剂量降低或停止化学治疗,随后效力降低。

[0017] 化学治疗技术具有一系列副作用,也称为不良反应,其取决于所用药物的类型。最常见的药物主要影响身体的快速分裂细胞,例如血细胞和内衬于口、胃和肠的细胞。化学治疗相关毒性可在施用后数小时或数天内急性地或数周至数年内慢性地发生。

[0018] 尤其已经描述了:免疫抑制和骨髓抑制、中性白细胞减少性小肠结肠炎、胃肠不适(gastrointestinal distress)、贫血、疲劳、恶心和呕吐、脱发、继发性肿瘤、不育、致畸性、周围神经病、认知损害、肿瘤溶解综合征和器官损伤。神经病的发生和严重程度取决于单剂量强度、治疗持续时间、累积剂量、先前或同时使用其他神经性药物治疗以及共存病症例如糖尿病和酒精滥用(Alberts等,Anticancer Drugs,1995,6(3),369-83;Postma等,Ann.Oncol.,1995,6(5),489-94;Forsyth等,J.Neurooncol.,1997,35(1),47-53;Quasthoff和Hartung,J.Neurol.,2002,249(1),9-17)。对由化学治疗药物的神经毒性引起的非常特殊的症状的治疗对于保持患病患者的生活质量至关重要(Mielke等,Eur.J.Cancer,2006,42(1),24-30;Park等,Curr.Med.Chem.,2008,15(29),3081-94;Argyriou等,Blood,2008,112(5),1593-9)。遗憾的是,尚未发现对于化学治疗诱导的周围

神经病的有效治疗 (Wolf等, Eur. J. Cancer, 2008, 44 (11), 1507-15)。

[0019] 因此, 仍然需要改进化学治疗用于治疗癌症的用途, 特别是需要有效的治疗来预防和/或治疗化学治疗诱导的周围神经病 (CIPN) 和/或需要针对癌症的新治疗, 其通过降低癌细胞增殖或通过减少相关不良反应或二者来提高化学治疗药物的效力。

[0020] Sigma (σ) 受体是在中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 和其他组织中表达的细胞表面和内质网受体。通过对 σ 受体的生物学和功能的研究, 已有证据表明, σ 受体配体可用于治疗精神病和运动障碍, 例如肌张力障碍和迟发性运动障碍, 以及与亨廷顿舞蹈病 (Huntington's chorea) 或妥瑞综合征 (Tourette's syndrome) 相关的运动障碍, 以及帕金森病 (Parkinson's disease) (Walker, J.M.等, Pharmacological Reviews, 1990, 42, 355)。已报道, 已知的 σ 受体配体林卡唑 (rimcazole) 在临床上显示出治疗精神病的作用 (Hanner, M.等, Proc. Natl. Acad. Sci., 1996, 93: 8072-8077; Snyder, S.H., Largent, B.L., J. Neuropsychiatry, 1989, 1, 7)。 σ 结合位点对某些阿片剂苯并吗啡类的右旋异构体例如 (+) SKF 10047、(+)-环唑辛和(+)-喷他佐辛, 以及还对一些安眠剂如氟哌啶醇具有优先亲和力。

[0021] σ 受体具有至少两种亚型, 其可以通过这些药理活性药物的立体选择性异构体来鉴别。SKF 10047对 σ_1 (σ -1) 位点具有纳摩尔亲和力, 并且对 σ_2 (σ -2) 位点具有微摩尔亲和力。氟哌啶醇对两种亚型具有相似的亲和力。内源性 σ 配体尚不清楚, 但黄体酮被认为是其中之一。可能的 σ -位点介导的药物作用包括调节谷氨酸受体功能、神经递质反应、神经保护、行为和认知 (Quirion, R.等, Trends Pharmacol. Sci., 1992, 13: 85-86)。CNS、免疫和内分泌系统中 σ 受体的存在表明了它可以作为三个系统之间的纽带这种可能性。

[0022] σ 受体在多种肿瘤中过表达。使用 σ 配体的体内研究可以提供关于 σ 受体生物学的重要信息, 并且可以引起将PET成像应用于肿瘤检测、肿瘤分期、治疗策略评价和抗肿瘤药物开发。 σ 配体潜在可用作作为单一药剂或辅助化学治疗的抗癌药物 (van Waarde等; Biochim. Biophys. Acta; 2015; 1848: 2703-2714)。

[0023] 本发明人发现了一个吡唑衍生物家族, 其特别是 σ -1受体的选择性抑制剂。该家族呈现吡唑基团, 其特征在于在3位被与氮直接结合的烷氧基取代。这些化合物描述于WO 2006/021462中。

[0024] WO 2006/021462中公开的 σ -1受体配体已显示在管理化学治疗诱导的疼痛 (EP 2, 292, 236) 和用于预防由化学治疗诱导的呕吐方面是有效的 (EP 2, 388, 005)。然而, 据本发明人所知, 先前没有关于如本发明中公开的这些化合物效用的公开内容。

[0025] 发明概述

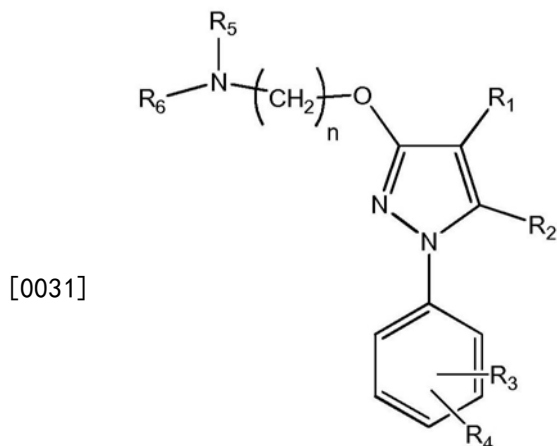
[0026] 本发明的发明人出人意料地发现并证明, 当作为辅助治疗施用, 根据通式 (I) 的特异性 σ -受体配体的施用对于降低癌细胞增殖和/或提高化学治疗剂的效力是高度有效的。

[0027] 本发明人还发现, 这些特异性 σ 受体配体的施用对预防和/或治疗化学治疗诱导的周围神经病 (CIPN) 是有效的, 特别是对慢性累积性CIPN表现出神经保护作用。

[0028] 甚至更出乎意料的是, 本发明证明, 作为辅助治疗, 这些 σ 受体配体与化学治疗药物的共同施用使得化学治疗允许更高的化学治疗剂量、使用化学治疗的更久久的治疗和更少的治疗停止, 这转而提高了患者的存活。

[0029] 因此,本发明证明化学治疗药物的安全性和耐受性有所提高。

[0030] 因此,在一方面,本发明涉及根据通式(I)的用于降低癌细胞增殖的与 σ 受体结合的化合物或者其可药用盐、异构体、前药或溶剂合物:



(I)

[0032] 其中,

[0033] R_1 选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳基烷基、经取代或未经取代的非芳族杂环基、经取代或未经取代的芳族杂环基、经取代或未经取代的杂环基烷基、 $-COR_8$ 、 $-C(O)OR_8$ 、 $-C(O)NR_8R_9$ 、 $-CH=NR_8$ 、 $-CN$ 、 $-OR_8$ 、 $-OC(O)R_8$ 、 $-S(O)_t-R_8$ 、 $-NR_8R_9$ 、 $-NR_8C(O)R_9$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_8R_9$ 和卤素;

[0034] R_2 选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳基烷基、经取代或未经取代的芳族或非芳族杂环基、经取代或未经取代的杂环基烷基、 $-COR_8$ 、 $-C(O)OR_8$ 、 $-C(O)NR_8R_9$ 、 $-CH=NR_8$ 、 $-CN$ 、 $-OR_8$ 、 $-OC(O)R_8$ 、 $-S(O)_t-R_8$ 、 $-NR_8R_9$ 、 $-NR_8C(O)R_9$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_8R_9$ 和卤素;

[0035] R_3 和 R_4 独立地选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳基烷基、经取代或未经取代的芳族或非芳族杂环基、经取代或未经取代的杂环基烷基、 $-COR_8$ 、 $-C(O)OR_8$ 、 $-C(O)NR_8R_9$ 、 $-CH=NR_8$ 、 $-CN$ 、 $-OR_8$ 、 $-OC(O)R_8$ 、 $-S(O)_t-R_8$ 、 $-NR_8R_9$ 、 $-NR_8C(O)R_9$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_8R_9$ 和卤素,或者 R_3 和 R_4 一起形成任选取代的稠环体系;

[0036] R_5 和 R_6 独立地选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳基烷基、经取代或未经取代的芳族或非芳族杂环基、经取代或未经取代的杂环基烷基、 $-COR_8$ 、 $-C(O)OR_8$ 、 $-C(O)NR_8R_9$ 、 $-CH=NR_8$ 、 $-CN$ 、 $-OR_8$ 、 $-OC(O)R_8$ 、 $-S(O)_t-R_8$ 、 $-NR_8R_9$ 、 $-NR_8C(O)R_9$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_8R_9$ 和卤素,或者连同与其连接的氮原子一起形成经取代或未经取代的芳族或非芳族杂环基;

[0037] n 选自1、2、3、4、5、6、7或8;

[0038] t 是1、2或3;

[0039] R_8 和 R_9 各自独立地选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳族或非芳

族杂环基、经取代或未经取代的烷氧基、经取代或未经取代的芳基氧基、和卤素。

[0040] 在另一方面,本发明涉及根据通式(I)的与 σ -受体结合的化合物,其用于提高化学治疗药物的效力。

[0041] 在另一方面,本发明涉及根据通式(I)的与 σ -受体结合的化合物,其用于允许更高的化学治疗剂量、使用化学治疗的更长久的治疗和更少的治疗停止的化学治疗实现。

[0042] 在另一方面,本发明涉及根据通式(I)的与 σ -受体结合的化合物,其用于预防和/或治疗化学治疗诱导的周围神经病(CIPN)。

[0043] 在另一方面,本发明涉及包含至少一种如上限定的通式(I)化合物的药物组合物在降低癌细胞增殖方面的用途,其中所述组合物还包含至少一种可药用载体、助剂和/或载剂。

[0044] 在另一方面,本发明涉及包含至少一种如上限定的通式(I)化合物的药物组合物在提高化学治疗药物的效力方面的用途,其中所述组合物还包含至少一种可药用载体、助剂和/或载剂。

[0045] 在另一方面,本发明涉及包含至少一种如上限定的通式(I)化合物的药物组合物在预防和/或治疗CIPN方面的用途,其中所述组合物还包含至少一种可药用载体、助剂和/或载剂。

[0046] 本发明的另一方面涉及用于同时、分开或依次施用的至少一种如上限定的通式(I)化合物和至少一种化学治疗药物的组合,其用于降低癌细胞增殖。

[0047] 本发明的另一方面涉及用于同时、分开或依次施用的至少一种如上限定的通式(I)化合物和至少一种化学治疗药物的组合,其用于提高化学治疗药物的效力。

[0048] 本发明的另一方面涉及用于同时、分开或依次施用的至少一种如上限定的通式(I)化合物和至少一种化学治疗药物的组合,其用于允许更高的化学治疗剂量和使用化学治疗的更长久的治疗以及更少的治疗停止的化学治疗实现。

[0049] 本发明的另一方面涉及用于同时、分开或依次施用的至少一种如上限定的通式(I)化合物和至少一种化学治疗药物的组合,其用于预防和/或治疗CIPN。

[0050] 本发明的另一方面是用于降低癌细胞增殖的治疗方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的式(I)的 σ 配体。

[0051] 本发明的另一方面是提高化学治疗药物效力的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的式(I)的 σ 配体。

[0052] 本发明的另一方面是使得化学治疗能够实现的方法,所述化学治疗允许更高的化学治疗剂量和使用化学治疗的更长久的治疗以及更少的治疗停止,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的式(I)的 σ 配体。

[0053] 本发明的另一方面是治疗患有CIPN的患者的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的式(I)的 σ 配体。

[0054] 本发明的另一方面是降低癌细胞增殖的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的组合。

[0055] 本发明的另一方面是提高化学治疗药物效力的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的组合。

[0056] 本发明的另一方面是使得化学治疗能够实现的方法,所述化学治疗允许更高的化

学治疗剂量和使用化学治疗的更长久的治疗以及更少的治疗停止,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的组合。

[0057] 本发明的另一方面是治疗患有CIPN的患者的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的组合。

[0058] 可以组合上述优选方案和具体化方案以给出另一些优选的化合物或用途。

[0059] 在下文的详细描述和权利要求书中还另外限定了这些方面及其优选实施方案。

[0060] 附图简述

[0061] 图1A:紫杉醇(Paclitaxel)(Taxol)对MCF7欧洲细胞系的增殖抑制(IC₅₀值)。

[0062] 图1B:紫杉醇(Taxol)对A-549细胞系的增殖抑制(IC₅₀值)。

[0063] 图1C:紫杉醇(Taxol)对B16细胞系的增殖抑制(IC₅₀值)。

[0064] 图2:实施例1在不同癌细胞系中的增殖抑制。

[0065] 图3:紫杉醇(Taxol)和 σ -1受体拮抗剂(氟哌啶醇、BD-1063和实施例1)的缔合对B16-F10细胞系的增殖抑制。

[0066] 图4:紫杉醇(Taxol)和 σ -1受体拮抗剂(氟哌啶醇、BD-1063和实施例1)的缔合对MCF7欧洲细胞系的增殖抑制。

[0067] 发明详述

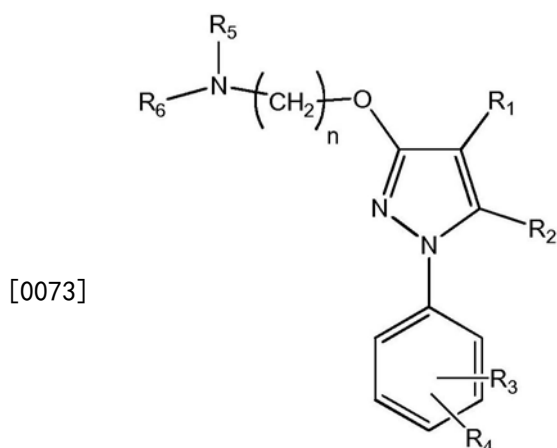
[0068] 在一个方面,本发明涉及根据通式(I)的与 σ -受体结合的化合物,其用于通过降低癌细胞增殖来治疗癌症。

[0069] 通式(I)化合物以高亲和力与 σ 受体结合,并且它们特别是 σ -1受体亚型的选择性抑制剂。

[0070] 本发明的化合物可以在竞争性结合测定中,优选在如W02006/021462中示例性描述的竞争性放射性配体结合测定中,例如在如前所述进行的 σ 1-受体的结合测定(DeHaven-Hudkins等,Eur J Pharmacol,1992,227,371)或如前所述的 σ 2-受体的结合测定(Radesca等,J Med Chem,1991,34,3058)中替代配体。优选地,例如在本领域中(例如在DeHaven-Hudkins等,1992中)所述的放射性配体测定中,本发明化合物在与 σ -1受体亚型结合方面的结合是通过与³[H]-(+)-喷他佐辛的结合竞争来测量的。优选地,在如上限定的³[H]-(+)-喷他佐辛放射性配体测定中,当以10⁻⁷M的浓度测定时,与 σ -1受体结合的本发明的化合物产率为至少25%,更优选至少45%,甚至更优选至少65%,甚至更优选至少75%,最优选至少85%。

[0071] 本发明的化合物选择性地与 σ 受体结合,并且通常对其靶标显示出纳摩尔亲和力,而当在一组其他非特异性靶标中以1微摩尔测试时或当亲和力或功能活性少一百倍时,对那些非特异性靶标显示出小于50%的抑制百分比。

[0072] 因此,本发明的第一方面涉及根据通式(I)的用于降低癌细胞增殖的化合物或者其可药用盐、异构体、前药或溶剂合物:



(I)

[0074] 其中，

[0075] R_1 选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳基烷基、经取代或未经取代的非芳族杂环基、经取代或未经取代的芳族杂环基、经取代或未经取代的杂环基烷基、 $-COR_8$ 、 $-C(O)OR_8$ 、 $-C(O)NR_8R_9$ 、 $-CH=NR_8$ 、 $-CN$ 、 $-OR_8$ 、 $-OC(O)R_8$ 、 $-S(O)_t-R_8$ 、 $-NR_8R_9$ 、 $-NR_8C(O)R_9$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_8R_9$ 和卤素；

[0076] R_2 选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳基烷基、经取代或未经取代的芳族或非芳族杂环基、经取代或未经取代的杂环基烷基、 $-COR_8$ 、 $-C(O)OR_8$ 、 $-C(O)NR_8R_9$ 、 $-CH=NR_8$ 、 $-CN$ 、 $-OR_8$ 、 $-OC(O)R_8$ 、 $-S(O)_t-R_8$ 、 $-NR_8R_9$ 、 $-NR_8C(O)R_9$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_8R_9$ 和卤素；

[0077] R_3 和 R_4 独立地选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳基烷基、经取代或未经取代的芳族或非芳族杂环基、经取代或未经取代的杂环基烷基、 $-COR_8$ 、 $-C(O)OR_8$ 、 $-C(O)NR_8R_9$ 、 $-CH=NR_8$ 、 $-CN$ 、 $-OR_8$ 、 $-OC(O)R_8$ 、 $-S(O)_t-R_8$ 、 $-NR_8R_9$ 、 $-NR_8C(O)R_9$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_8R_9$ 和卤素，或者 R_3 和 R_4 一起形成任选取代的稠环体系； R_5 和 R_6 独立地选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳基烷基、经取代或未经取代的芳族或非芳族杂环基、经取代或未经取代的杂环基烷基、 $-COR_8$ 、 $-C(O)OR_8$ 、 $-C(O)NR_8R_9$ 、 $-CH=NR_8$ 、 $-CN$ 、 $-OR_8$ 、 $-OC(O)R_8$ 、 $-S(O)_t-R_8$ 、 $-NR_8R_9$ 、 $-NR_8C(O)R_9$ 、 $-NO_2$ 、 $-N=CR_8R_9$ 和卤素，或者连同与其连接的氮原子一起形成经取代或未经取代的芳族或非芳族杂环基；

[0078] n 选自1、2、3、4、5、6、7或8；

[0079] t 是1、2或3；

[0080] R_8 和 R_9 各自独立地选自氢、经取代或未经取代的烷基、经取代或未经取代的环烷基、经取代或未经取代的烯基、经取代或未经取代的芳基、经取代或未经取代的芳族或非芳族杂环基、经取代或未经取代的烷氧基、经取代或未经取代的芳基氧基、和卤素。

[0081] 在如上限定用途的一个优选实施方案中，化合物的特征在于 R_1 选自H、 $-COR_8$ 、或经取代或未经取代的烷基，优选地其选自H、甲基或乙酰基。

[0082] 在如上限定用途的一个优选实施方案中,化合物的特征在于 R_1 是氢。

[0083] 在如上限定用途的一个优选实施方案中,化合物的特征在于 R_2 是H或烷基,优选甲基或H。

[0084] 在如上限定用途的一个特别优选的实施方案中,化合物的特征在于 R_3 和 R_4 二者与苯基一起形成任选地经取代的稠环体系。更优选地,所述稠环体系选自经取代或未经取代的稠合芳基和经取代或未经取代的芳族或部分芳族稠合的杂环基。所述稠环体系优选包含两个环和/或9至约18个环原子,更优选9或10个环原子。甚至更优选地,稠环体系是萘基,尤其是经取代或未经取代的2-萘基环体系。

[0085] 在如上限定用途的一个优选实施方案中,化合物的特征在于n选自2、3、4,更优选地n是2。

[0086] 在如上限定用途的一个优选实施方案中,化合物的特征在于 R_5 和 R_6 一起形成吗啉-4-基。

[0087] 在本发明的优选变体中,通式(I)的 σ 配体选自以下及其盐、不同的替代可药用盐、溶剂合物或前药:

[0088] [1]4-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉,

[0089] [2]2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]-N,N-二乙基乙胺盐酸盐,

[0090] [3]1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-3-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-1H-吡唑盐酸盐,

[0091] [4]1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-3-[3-(吡咯烷-1-基)丙氧基]-1H-吡唑盐酸盐,

[0092] [5]1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}哌啶,

[0093] [6]1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}-1H-咪唑,

[0094] [7]3-{1-[2-(1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基)乙基]哌啶-4-基}-3H-咪唑[4,5-b]吡啶,

[0095] [8]1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}-4-甲基哌嗪,

[0096] [9]4-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}哌嗪羧酸乙酯,

[0097] [10]1-(4-(2-(1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基)乙基)哌嗪-1-基)乙酮,

[0098] [11]4-{2-[1-(4-甲氧基苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉盐酸盐,

[0099] [12]1-(4-甲氧基苯基)-5-甲基-3-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-1H-吡唑,

[0100] [13]1-(4-甲氧基苯基)-5-甲基-3-[3-(吡咯烷-1-基)丙氧基]-1H-吡唑,

[0101] [14]1-[2-(1-(4-甲氧基苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基)乙基]哌啶,

[0102] [15]1-{2-[1-(4-甲氧基苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}-1H-咪唑,

[0103] [16]4-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-苯基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉盐酸盐,

[0104] [17]1-(3,4-二氯苯基)-5-苯基-3-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-1H-吡唑盐酸盐,

[0105] [18]1-(3,4-二氯苯基)-5-苯基-3-[3-(吡咯烷-1-基)丙氧基]-1H-吡唑,

[0106] [19]1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-苯基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}哌啶,

[0107] [20]1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-苯基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}-1H-咪唑盐酸盐,

[0108] [21]2-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-苯基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}-1,2,3,4-四氢异喹啉盐酸盐,

- [0109] [22] 4-{4-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]丁基}吗啉盐酸盐,
- [0110] [23] 1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-3-[4-(吡咯烷-1-基)丁氧基]-1H-吡唑,
- [0111] [24] 1-{4-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]丁基}哌啶盐酸盐,
- [0112] [25] 1-{4-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]丁基}-4-甲基哌嗪二盐酸盐,
- [0113] [26] 1-{4-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]丁基}-1H-咪唑,
- [0114] [27] 4-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]-N,N-二乙基丁-1-胺,
- [0115] [28] 1-{4-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]丁基}-4-苯基哌啶盐酸盐,
- [0116] [29] 1-{4-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]丁基}-6,7-二氢-1H-吡啶-4(5H)-酮,
- [0117] [30] 2-{4-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]丁基}-1,2,3,4-四氢异喹啉,
- [0118] [31] 4-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉盐酸盐,
- [0119] [32] 2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-3-基氧基]-N,N-二乙基乙胺,
- [0120] [33] 1-(3,4-二氯苯基)-5-异丙基-3-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-1H-吡唑盐酸盐,
- [0121] [34] 1-(3,4-二氯苯基)-5-异丙基-3-[3-(吡咯烷-1-基)丙氧基]-1H-吡唑盐酸盐,
- [0122] [35] 1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}哌啶,
- [0123] [36] 2-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-异丙基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}-1,2,3,4-四氢异喹啉盐酸盐,
- [0124] [37] 4-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉,
- [0125] [38] 2-[1-(3,4-二氯苯基)-1H-吡唑-3-基氧基]N,N-二乙基乙胺,
- [0126] [39] 1-(3,4-二氯苯基)-3-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-1H-吡唑,
- [0127] [40] 1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}哌啶,
- [0128] [41] 1-(3,4-二氯苯基)-3-[3-(吡咯烷-1-基)丙氧基]-1H-吡唑,
- [0129] [42] 1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}哌嗪二盐酸盐,
- [0130] [43] 1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吡咯烷-3-胺,
- [0131] [44] 4-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-4,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉,
- [0132] [45] 2-[1-(3,4-二氯苯基)-4,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氧基]-N,N-二乙基乙胺盐酸盐,
- [0133] [46] 1-(3,4-二氯苯基)-4,5-二甲基-3-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]-1H-吡唑盐酸盐,
- [0134] [47] 1-(3,4-二氯苯基)-4,5-二甲基-3-[3-(吡咯烷-1-基)丙氧基]-1H-吡唑盐酸盐,
- [0135] [48] 1-{2-[1-(3,4-二氯苯基)-4,5-二甲基-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}哌啶,
- [0136] [49] 4-{4-[1-(3,4-二氯苯基)-1H-吡唑-3-基氧基]丁基}吗啉盐酸盐,
- [0137] [50] (2S,6R)-4-{4-[1-(3,4-二氯苯基)-1H-吡唑-3-基氧基]丁基}-2,6-二甲基

吗啉盐酸盐,

[0138] [51] 1- {4- [1- (3,4-二氯苯基) -1H-吡唑-3-基氧基] 丁基} 哌啶盐酸盐,

[0139] [52] 1- (3,4-二氯苯基) -3- [4- (吡咯烷-1-基) 丁氧基] -1H-吡唑盐酸盐,

[0140] [53] 4- [1- (3,4-二氯苯基) -1H-吡唑-3-基氧基] -N,N-二乙基丁-1-胺草酸盐,

[0141] [54] N-苄基-4- [1- (3,4-二氯苯基) -1H-吡唑-3-基氧基] -N-甲基丁-1-胺草酸盐,

[0142] [55] 4- [1- (3,4-二氯苯基) -1H-吡唑-3-基氧基] -N- (2-甲氧基乙基) -N-甲基丁-1-胺草酸盐,

[0143] [56] 4- {4- [1- (3,4-二氯苯基) -1H-吡唑-3-基氧基] 丁基} 硫代吗啉草酸盐,

[0144] [57] 1- [1- (3,4-二氯苯基) -5-甲基-3- (2-吗啉代乙氧基) -1H-吡唑-4-基] 乙酮草酸盐,

[0145] [58] 1- {1- (3,4-二氯苯基) -5-甲基-3- [2- (吡咯烷-1-基) 乙氧基] -1H-吡唑-4-基} 乙酮草酸盐,

[0146] [59] 1- {1- (3,4-二氯苯基) -5-甲基-3- [2- (哌啶-1-基) 乙氧基] -1H-吡唑-4-基} 乙酮草酸盐,

[0147] [60] 1- {1- (3,4-二氯苯基) -3- [2- (二乙基氨基) 乙氧基] -5-甲基-1H-吡唑-4-基} 乙酮草酸盐,

[0148] [61] 4- {2- [5-甲基-1- (萘-2-基) -1H-吡唑-3-基氧基] 乙基} 吗啉,

[0149] [62] N,N-二乙基-2- [5-甲基-1- (萘-2-基) -1H-吡唑-3-基氧基] 乙胺,

[0150] [63] 1- {2- [5-甲基-1- (萘-2-基) -1H-吡唑-3-基氧基] 乙基} 哌啶盐酸盐,

[0151] [64] 5-甲基-1- (萘-2-基) -3- [2- (吡咯烷-1-基) 乙氧基] -1H-吡唑盐酸盐。

[0152] 在如上限定用途的一个更优选的实施方案中,化合物是4- {2- [5-甲基-1- (萘-2-基) -1H-吡唑-3-基氧基] 乙基} 吗啉或其可药用盐、溶剂合物或其前药。

[0153] 在如上限定用途的一个更优选的实施方案中,化合物是4- {2- [5-甲基-1- (萘-2-基) -1H-吡唑-3-基氧基] 乙基} 吗啉盐酸盐或溶剂合物或其前药。

[0154] “烷基”是指由碳和氢原子组成的含不饱和的具有一至八个碳原子的直链的或支链的烃链基团,并且通过单键与分子的其余部分连接,例如,甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、正戊基等。烷基基团可任选地被一个或更多个取代基例如芳基、卤素、羟基、烷氧基、羧基、氰基、羰基、酰基、烷氧羰基、氨基、硝基、巯基、烷硫基等取代。如果被芳基取代,则其对应于“芳基烷基或芳烷基”基团,例如苄基和苯乙基。

[0155] “烯基”是指具有至少两个碳原子并具有一个或更多个不饱和键的烷基基团。

[0156] “环烷基”是指稳定的3至10元单环或双环基团,其是饱和的或部分饱和的,并且仅由碳和氢原子组成,例如环己基或金刚烷基。环烷基基团可任选地被一个或更多个取代基例如烷基、卤素、羟基、氨基、氰基、硝基、烷氧基、羧基、烷氧羰基等取代。

[0157] “芳基”是指单环和多环基团,包括包含单独的和/或稠合的芳基的多个环基基团。典型的芳基包含1至3个单独的或稠合的环和6至约18个碳环原子,例如苯基、萘基、茚基、菲基或蒽基基团。芳基基团可任选地被一个或更多个取代基例如羟基、巯基、卤素、烷基、苯基、烷氧基、卤代烷基、硝基、氰基、二烷基氨基、氨基烷基、酰基、烷氧羰基等取代。

[0158] “杂环基”是指稳定的3至15元环基团,其由碳原子和1至5个选自氮、氧和硫的杂原子组成,优选具有一个或更多个杂原子的4至8元环,更优选具有一个或更多个杂原子的5或

6元环。它可以是芳族的或非芳族的。为了本发明的目的，杂环可以是单环、双环或三环环体系，其可以包括稠环体系；并且杂环基基团中的氮、碳或硫原子可任选地被氧化；氮原子可任选地被季铵化；并且杂环基基团可以是部分或完全饱和的或是芳族的。这样的杂环的实例包括但不限于氮杂~~草~~、苯并咪唑、苯并噻唑、呋喃、异噻唑、咪唑、吡啶、哌啶、嘧啶、嘌呤、喹啉、噻二唑、四氢呋喃、香豆素、吗啉；吡咯、吡唑、~~噁~~唑、异~~噁~~唑、三唑、咪唑等。

[0159] “烷氧基”是指式-ORa的基团，其中Ra是如上限定的烷基基团，例如，甲氧基、乙氧基、丙氧基等。

[0160] “氨基”是指式-NH₂、-NHRa或-NRaRb的基团，任选被季铵化，其中Ra和Rb是如上限定的烷基基团，例如甲氧基、乙氧基、丙氧基等。

[0161] “卤素”或“卤”是指溴、氯、碘或氟。

[0162] “稠环体系”是指包含稠环的多环体系。通常，稠环体系包含2或3个环和/或多至18个环原子。如上限定的，环烷基基团、芳基基团和杂环基基团可以形成稠环体系。因此，稠环体系可以是芳族的、部分芳族的或非芳族的并且可以包含杂原子。根据该定义，螺环体系不是稠合多环，但本发明的稠合多环体系本身可具有通过体系的单个环原子与其连接的螺环。稠环体系的实例是但不限于，金刚烷基、萘基（例如2-萘基）、茚基、菲基、蒽基、芘基、苯并咪唑、苯并噻唑等。

[0163] 除非在说明书中另有明确说明，否则如果适用的话，所有基团可任选地经取代。本文提及的本发明化合物中的经取代基团是指可以在一个或多个可用位置被一个或多个合适的基团取代的特定部分，所述一个或多个合适的基团例如：卤素例如氟、氯、溴和碘；氰基；羟基；硝基；叠氮基；烷酰基例如如酰基等C₁₋₆烷酰基；甲酰胺基；烷基，其包括具有1至约12个碳原子或1至约6个碳原子，并且更优选1至3个碳原子的那些基团；烯基和炔基，其包括具有一个或多个不饱和键和2至约12个碳原子或2至约6个碳原子的基团；烷氧基，其具有一个或多个氧键和1至约12个碳原子或1至约6个碳原子；芳基氧基例如苯氧基；烷硫基，其包括具有一个或多个硫醚键的那些部分和1至约12个碳原子或1至约6个碳原子；烷基亚磺酰基，其包括具有一个或多个亚磺酰基键的那些部分和1至约12个碳原子或1至约6个碳原子；烷基磺酰基包括具有一个或多个磺酰基键的那些部分和1至约12个碳原子或1至约6个碳原子；氨基烷基，例如具有一个或多个N原子和1至约12个碳原子或1至约6个碳原子的基团；碳环芳基，其具有6个或更多个碳，特别是苯基或萘基和芳烷基例如苄基。除非另有说明，否则任选地经取代的基团可在该基团的每个可取代位置具有取代基，并且每种取代都彼此独立。

[0164] 除非另有说明，否则本发明的化合物还意在包括只在存在一个或多个富含同位素原子的方面不同的化合物。例如，具有本结构的化合物，只是氢被氘或氚替代、或者碳被富含¹³C或¹⁴C的碳或者富含¹⁵N的氮替代，其都在本发明的范围内。

[0165] 术语“可药用盐、溶剂合物、前药”是指任何可药用盐、酯、溶剂合物或任何其他化合物，在向接受者施用后其能够（直接或间接）提供如本文所述的化合物。然而，应当理解，非可药用盐也属于本发明的范围，因为它们可用于制备可药用盐。盐、前药和衍生物的制备可以通过本领域已知的方法进行。

[0166] 例如，本文提供的化合物的可药用盐是通过常规化学方法由包含碱性或酸性部分

的母体化合物合成的。通常,这样的盐例如通过使这些化合物的游离酸或碱形式与化学计量的量的合适碱或酸在水中或在有机溶剂中或在两者的混合物中反应来制备。通常,非水介质如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈是优选的。酸加成盐的实例包括矿物酸加成盐,例如盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐;以及有机酸加成盐,例如乙酸盐、马来酸盐、富马酸盐、柠檬酸盐、草酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐和对甲苯磺酸盐。碱加成盐的实例包括无机盐,例如钠、钾、钙、铵、镁、铝和锂盐;以及有机碱盐,例如乙二胺、乙醇胺、N,N-二烷基乙醇胺、三乙醇胺、葡糖胺和碱性氨基酸盐。

[0167] 特别有利的衍生物或前药是当向患者施用这样的化合物时提高本发明化合物的生物利用度(例如,通过使经口施用的化合物更容易被吸收入血液中)的那些,或相对于亲本种类增强母体化合物向生物区室(例如,脑或淋巴系统)的递送的那些。

[0168] 作为式(I)化合物的前药的任何化合物都在本发明的范围内。术语“前药”以其最广泛的含义使用,并包括在体内转化为本发明化合物的那些衍生物。这样的衍生物容易被本领域技术人员想到,并且根据存在于分子中的官能团,其包括但不限于本发明化合物的以下衍生物:酯、氨基酸酯、磷酸酯、金属盐磺酸酯、氨基甲酸酯和酰胺。产生给定作用化合物的前药的公知方法的实例是本领域技术人员已知的,并且可以例如在Krogsgaard-Larsen等,“Textbook of Drug design and Discovery” Taylor&Francis (2002年4月)中找到。

[0169] 本发明的化合物可以是作为游离化合物或作为溶剂合物的结晶形式,并且两种形式都意在本发明的范围内。溶剂化方法是本领域公知的。合适的溶剂合物是可药用溶剂合物。在一个特定实施方案中,溶剂合物是水合物。

[0170] 通式(I)化合物或其盐或溶剂合物优选为可药用或基本上纯的形式。可药用形式尤其意指具有不计常规药物添加剂例如稀释剂和载体的可药用纯度水平,并且不包括在正常剂量水平下被认为有毒的物质。药物的纯度水平优选50%以上,更优选70%以上,最优选90%以上。在一个优选实施方案中,它是95%以上的式(I)化合物、或其盐、溶剂合物或前药。

[0171] 由上述通式(I)表示的本发明化合物可以包括取决于手性中心的存在的对映异构体或取决于多个键(例如Z,E)的存在的异构体。单一异构体、对映异构体或非对映异构体及其混合物均落入本发明的范围。

[0172] 通式(I)化合物及其盐或溶剂合物可以如在先申请W0 2006/021462中公开的进行制备。

[0173] 如果需要,可以通过常规方法,例如结晶和色谱法纯化获得的反应产物。在上述制备本发明化合物的方法产生立体异构体混合物的情况下,这些异构体可通过常规技术例如制备色谱法进行分离。如果存在手性中心,则可以以外消旋形式制备化合物,或者可以通过对映异构体合成或通过拆分制备单独的对映异构体。

[0174] 一种优选的可药用形式是结晶形式,包括药物组合物中这样的结晶形式。在盐和溶剂合物的情况下,额外的离子和溶剂部分也必须是无毒的。本发明的化合物可以呈现不同的多晶型形式,本发明意在涵盖所有这样的形式。

[0175] 一些通式(I)化合物的优选盐公开于在先申请W0 2011/064315中。

[0176] 一些通式(I)化合物的优选多晶型公开于在先申请W02011/095579中。

[0177] 如本文使用的术语“化学治疗”或“化学治疗药物”泛指化学药物用于治疗癌症、肿瘤或恶性肿瘤形成的用途。

[0178] “植物生物碱”(和萜类化合物)是来源于植物的生物碱,其通过阻止微管功能来阻止细胞分裂。由于微管对于细胞分裂至关重要,因此它们的抑制也会阻止细胞有丝分裂。植物生物碱的主要实例是长春花生物碱和紫杉烷类。

[0179] “长春花生物碱”与微管蛋白上的特异性位点结合,抑制微管蛋白组装成微管(细胞周期的M期)。它们来源于马达加斯加长春花(Madagascar periwinkle)、长春花(*Catharanthus roseus*) (以前称为长春花(*Vinca rosea*))。优选的长春花生物碱包括长春新碱、长春花碱、长春瑞滨和长春地辛。

[0180] “紫杉烷类”来源于太平洋紫杉树,短叶红豆杉(*Taxus brevifolia*)。紫杉烷类增强微管的稳定性,防止在后期染色体分离。本发明中优选的紫杉烷类包括紫杉醇和多西他赛(Docetaxel)。

[0181] 在本发明的一个优选实施方案中,化学治疗药物选自紫杉烷类、长春花生物碱、由铂衍生的药物、植物生物碱、硼替佐米、沙利度胺及其衍生物或萜烯(萜类化合物)。优选地,化学治疗药物选自紫杉醇、奥沙利铂、顺铂、卡铂、长春新碱、硼替佐米、沙利度胺或来那度胺。

[0182] 在本发明的一个更优选的实施方案中,化学治疗药物是紫杉烷类,特别是紫杉醇。紫杉醇(Taxol®)是治疗实体瘤最有效和常用的抗肿瘤药物之一。它有两个严重的副作用,即骨髓抑制和周围神经毒性。粒细胞集落刺激因子有效地抵消了大多数患者的中性白细胞减少。然而,没有可接受的治疗来阻止神经损伤或使其最小化,使神经毒性成为显著的剂量限制性副作用(Rowinsky等,*Semin.Oncol.*,1993a 29 4 Suppl.3,1-15;Rowinsky等,*J.Clin.Oncol.*,1993b,11(10),2010-20;Wasserheit等,*J.Clin.Oncol.*,1996,14(7),1993-9;Gordon等,*J.Clin.Oncol.*,1997,15(5),1965-73;Mielke等,*Eur.J.Cancer*,2006,42(1),24-30)。

[0183] 在本发明的另一个更优选的实施方案中,化学治疗药物是含铂药物,特别是奥沙利铂或顺铂。这些基于铂的化学治疗是治疗实体瘤,尤其是结直肠癌,还有卵巢癌、睾丸癌、膀胱癌和肺癌的主要药物,但其临床应用因剂量限制性神经毒性而严重受到限制。

[0184] 结直肠癌是西方世界中癌症相关死亡的主要原因之一。

[0185] 如先前公开的,基于奥沙利铂的方案已成为局部进展期结直肠癌的标准治疗。奥沙利铂(OXA)是第三代铂类似物,其对治疗结直肠癌非常有效(Andre等;2004,Andre等;2009)。然而,其临床应用通常受到发生剂量限制性周围神经病的阻碍(Cersosimo;2005)。

[0186] 通常用于结直肠癌的化学治疗方案包括在非转移性癌症中的5-氟尿嘧啶(5FU)、甲酰四氢叶酸(LV)和奥沙利铂(FOLFOLX),或者卡培他滨、甲酰四氢叶酸和奥沙利铂(XELOX)的组合。在转移性疾病中,用5FU/LV和奥沙利铂或伊立替康的化学治疗方案目前代表了一线和二线治疗二者的标准治疗化学治疗支柱。然而,这些细胞毒性组合的效力是有限的并且结果是混合的。最近经批准的用于患有RAS野生型肿瘤患者群体的生物治疗涉及针对表皮生长因子受体(Epidermal Growth Factor Receptor,EGFR)的抗体(西妥昔单抗和帕尼单抗),VEGF结合抗体或其他VEGF诱捕治疗(包括贝伐单抗和Aflibercept),以及多酪氨酸激酶抑制剂-瑞格非尼(Regorafenib)。

[0187] 但在所有上述研究中,还表明与非基于奥沙利铂的方案相比,基于奥沙利铂的方案(OX/FU、FOLF0X4、FLOX等)显著提高3至4级急性毒性和/或不良事件。

[0188] 特别地,奥沙利铂治疗导致两种形式的神经毒性:急性和慢性。急性形式发生在>90%的患者中并且可以在输注期间或在完成后数小时内开始,通常是自限性的(self-limited),并且通过暴露于寒冷可使其恶化。慢性神经病是累积性的,并且最常见于接受总剂量 $\geq 540\text{mg}/\text{m}^2$ 的患者中。虽然它是感觉神经病,但强度会提高到它损害身体机能例如持有物体和书写的程度(Cersosimo RJ.,Ann.Pharmacother.,2005,39(1),128-135)。

[0189] 辅助设置中的常规化学治疗方案是名为FOLF0X 4的方案,其由以下组成:在2小时内输注甲酰四氢叶酸($200\text{mg}/\text{m}^2$)、随后是5-氟尿嘧啶推注($400\text{mg}/\text{m}^2$)和每2周连续2天的22小时输注($600\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$),加之在第1天输注2小时奥沙利铂 $85\text{mg}/\text{m}^2$ (Andre等;2004)。在转移性癌症患者中,通常施用改进的FOLF0X 6方案,其由以下组成:在2小时内输注甲酰四氢叶酸($400\text{mg}/\text{m}^2$)、随后是5-氟尿嘧啶推注($400\text{mg}/\text{m}^2$)和每2周的46小时输注($2400\text{mg}/\text{m}^2$),加之在第1天输注2小时奥沙利铂 $85\text{mg}/\text{m}^2$ (Maindault-Goebel等;2000)。除地塞米松之外,常规的抗呕吐预防通常在两种方案中都采用。

[0190] 已经评价了数种降低或改善OXA诱导的神经病的药剂,得到了矛盾的结果。因此,既没有广泛接受的策略来改善急性OXA诱导的神经病的症状,也没有已制定的医学治疗来预防或治疗慢性OXA诱导的神经病。总之,目前数据不足以推荐用于治疗OXA诱导的神经病的任何神经保护剂(Velasco和Bruna;2010)。

[0191] 奥沙利铂的其他不良反应可包括疲劳;恶心,呕吐或腹泻;中性白细胞减少(一种白细胞的数目低);耳毒性(听力损失);外渗(如果奥沙利铂从输注静脉渗漏,则可能会对结缔组织造成严重损害);低钾血症(低血钾,女性比男性更常见),持续性呃逆和横纹肌溶解。虽然,奥沙利铂比顺铂和卡铂具有较少的耳毒性和肾毒性。

[0192] 化学治疗诱导的周围神经病(CIPN)是抗癌治疗最普遍的神经并发症,影响大约三分之一的所有接受化学治疗的患者(Argyriou等;2011)。

[0193] 如本文使用的术语“治疗”及其变化形式包括化学治疗诱导的CIPN和/或其他不利影响的根除、去除、逆转、减轻、修饰或控制。在某些实施方案中,术语“治疗”及其变化形式涉及降低癌细胞增殖。

[0194] 如本文使用的术语“预防/防止(prevent)”及其变化形式和“预防(prophylaxis)”是指治疗剂在疾病或病症(在这种情况下是化学治疗诱导的CIPN和/或其他不良反应)发生之前避免其发生或发展、使其最小化或难以发生或发展的能力。特别地,它包括使用治疗剂作为对抗CIPN的保护和用于减缓发生。在某些实施方案中,术语“预防/防止”及其变化形式和“预防”涉及降低癌细胞增殖。

[0195] 因此,本发明的一个目的是如上限定的 σ 配体作为改善与化学治疗相关的不良事件的药剂的用途。

[0196] 特别地,本发明的一个目的是如上限定的 σ 配体作为神经保护剂用于预防和/或治疗化学治疗诱导的周围神经病(CIPN)的用途。更优选地,本发明涉及4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉或其可药用盐用于预防和/或治疗化学治疗诱导的周围神经病(CIPN)的用途。甚至更优选地,本发明涉及4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉或其可药用盐用于预防和/或治疗由于使用奥沙利铂而导致的化学治

疗诱导的周围神经病(CIPN)的用途。

[0197] 本发明的另一个实施方案是用于同时、分开或依次施用的至少一种如上限定的通式(I)化合物和至少一种化学治疗药物的组合,其用于降低癌细胞增殖。

[0198] 本发明的另一个实施方案是用于同时、分开或依次施用的至少一种如上限定的通式(I)化合物和至少一种化学治疗药物的组合,其用于提高化学治疗药物的效力。

[0199] 本发明的另一个实施方案是用于同时、分开或依次施用的至少一种如上限定的通式(I)化合物和至少一种化学治疗药物的组合,其用于预防和/或治疗CIPN。

[0200] 如本文使用的术语“化学治疗实现”泛指允许更高的化学治疗剂量、使用化学治疗的更长久的治疗和更少的治疗停止,这转而提高了患者的存活。

[0201] 本发明的另一个实施方案是用于同时、分开或依次施用的至少一种如上限定的通式(I)化合物和至少一种化学治疗药物的组合,其通过允许更高的化学治疗剂量、使用化学治疗的更长久的治疗和更少的治疗停止而用于化学治疗实现,其转而提高患者的存活。

[0202] 用于如上限定用途的优选组合包含4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉或其可药用盐、溶剂合物或其前药与选自紫杉醇、奥沙利铂、顺铂和长春新碱的化学治疗药物的组合。

[0203] 用于如上限定用途的更优选组合包含4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉或其可药用盐、溶剂合物或其前药与紫杉醇的组合,4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉或其可药用盐、溶剂合物或其前药与奥沙利铂的组合,和4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉或其可药用盐、溶剂合物或其前药与顺铂的组合。

[0204] 用于如上限定用途的甚至更优选的组合包含4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉盐酸盐或其溶剂合物或其前药与选自紫杉醇、奥沙利铂、顺铂和长春新碱的化学治疗药物的组合。

[0205] 用于如上限定用途的甚至更优选的组合包含4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉盐酸盐或其溶剂合物或其前药与紫杉醇的组合,4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉盐酸盐或其溶剂合物或其前药与奥沙利铂的组合,和4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉盐酸盐或其溶剂合物或其前药与顺铂的组合。

[0206] 在另外一些优选实施方案中,将以上式(I)化合物中不同基团和取代基的上述优选方案以及化学治疗药物的上述优选方案组合。

[0207] 本发明的组合可以配制用于与至少一种可药用载体、添加剂、助剂或载剂同时、分开或依次施用。这意味着可以施用两种活性化合物的组合:

[0208] -作为相同药物制剂的部分的组合,然后总是同时施用两种活性化合物。

[0209] -作为两个单元的组合,每个单元具有一种活性物质,从而产生同时、依次或分开施用的可能性。

[0210] 在一个特定实施方案中,式(I)的 σ 配体与化学治疗药物独立(即以两个单元)但同时施用。

[0211] 在另一个特定实施方案中,首先施用式(I)的 σ 配体,然后分别或依次施用化学治疗药物。

[0212] 在另一个特定实施方案中,首先施用化学治疗药物,然后如所限定的分别或依次施用式(I)的 σ 配体。

[0213] 本发明的另一方面涉及降低癌细胞增殖的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的通式(I)化合物或其药物组合物。

[0214] 本发明的另一方面涉及降低癌细胞增殖的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的组合或其药物组合物。

[0215] 本发明的另一方面涉及用于预防和/或治疗CIPN的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的通式(I)化合物或其药物组合物。

[0216] 本发明的另一方面涉及用于预防和/或治疗CIPN的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的组合或其药物组合物。

[0217] 本发明的另一方面涉及提高化学治疗药物效力的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的通式(I)化合物或其药物组合物。

[0218] 本发明的另一方面涉及提高化学治疗药物效力的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的组合或其药物组合物。

[0219] 本发明的另一方面涉及使化学治疗能够实现的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的通式(I)化合物或其药物组合物。

[0220] 本发明的另一方面涉及使化学治疗能够实现的方法,该方法包括向需要这样的治疗的患者施用治疗有效量的如上限定的组合或其药物组合物。

[0221] 在另一方面,本发明涉及如上限定的通式(I)化合物在制备用于降低癌细胞增殖的药物中的用途。

[0222] 在另一方面,本发明涉及如上限定的通式(I)化合物在制备用于提高化学治疗药物效力的药物中的用途。

[0223] 在另一方面,本发明涉及如上限定的通式(I)化合物在制备用于预防和/或治疗CIPN的药物中的用途。

[0224] 在另一方面,本发明涉及如上限定的通式(I)化合物在制备用于通过允许更高的化学治疗剂量、使用化学治疗的更长久的治疗和更少的治疗停止来使化学治疗能够实现以转而提高患者存活的药物中的用途。

[0225] 在另一方面,本发明涉及如上限定的式(I)化合物和至少一种如上限定的化学治疗药物的组合在制备用于降低癌细胞增殖的药物中的用途。

[0226] 在另一方面,本发明涉及如上限定的式(I)化合物和至少一种如上限定的化学治疗药物的组合在制备用于提高化学治疗药物效力的药物中的用途。

[0227] 在另一方面,本发明涉及如上限定的式(I)化合物和至少一种如上限定的化学治疗药物的组合在制备用于使化学治疗能够实现的药物中的用途。

[0228] 在另一方面,本发明涉及如上限定的式(I)化合物和至少一种如上限定的化学治疗药物的组合在制备用于预防和/或治疗CIPN的药物中的用途。

[0229] 在本发明的一个特定实施方案中,施用式(I)化合物或包含式(I)化合物和至少一种化学治疗药物的组合用于预防和/或治疗结直肠癌。

[0230] 本发明还提供用于向患者施用的药物组合物,其包含如上限定的式(I)化合物或其可药用盐、衍生物、前药或立体异构体,以及可药用载体、助剂或载剂。

[0231] 在另一方面,本发明因此涉及包含如上限定的式(I)化合物的药物组合物的如上限定用途,其中所述组合物还包含可药用载体、助剂和/或载剂。

[0232] 药物组合物的实例包括用于经口、局部或肠胃外施用的任何固体(片剂、丸剂、胶囊剂、颗粒剂等)或液体(溶液剂、混悬剂或乳剂)组合物。

[0233] 在一个优选实施方案中,药物组合物是经口形式,固体或液体。用于经口施用的合适剂型可以是片剂、胶囊剂、糖浆(syrup)或溶液剂,并且可以包含本领域已知的常规赋形剂,例如黏合剂,例如糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨醇、黄蓍胶或聚乙烯吡咯烷酮;填充剂,例如乳糖、糖、玉米淀粉、磷酸钙、山梨醇或甘氨酸;压片润滑剂,例如硬脂酸镁;崩解剂,例如淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、淀粉乙醇酸钠或微晶纤维素;或可药用润湿剂,例如月桂基硫酸钠。

[0234] 固体经口组合物可通过常规的混合、填充或压片方法制备。可以使用重复混合操作将活性剂分配遍及使用大量填料的那些组合物中。这样的操作在本领域中是常规的。片剂可以例如通过湿法或干法制粒制备,并任选地根据标准药学实践中公知的方法,特别是用肠溶包衣包覆。

[0235] 药物组合物还可适合于肠胃外施用,例如以合适单位剂型的无菌溶液剂、混悬剂或冻干制品。可以使用足够的赋形剂,例如填充剂、缓冲剂或表面活性剂。

[0236] 所述制剂将使用标准方法,例如西班牙和美国药典(Spanish and US Pharmacopoeia)及类似参考文本中描述或提及的那些方法制备。

[0237] 本发明的化合物或组合物的施用可以通过任何合适的方法,例如静脉内输注、经口制剂、以及腹膜内和静脉内施用。由于方便患者以及待治疗疾病的慢性特征,所以经口施用是优选的。

[0238] 一般来说,本发明化合物的有效施用量将取决于所选化合物的相对效力、所治疗病症的严重程度和患者的体重。然而,活性化合物通常每天施用一次或更多次,例如每天1、2、3或4次,典型的总日剂量为0.1至1000mg/kg/天。

[0239] 在本发明通式(I)化合物的用途的一个优选实施方案中,任选地每天施用一次药物组合物形式的化合物。

[0240] 在本发明化合物的用途的一个优选实施方案中,每天以100mg至600mg的日剂量施用通式(I)的 σ 配体。甚至更优选地,每天以200mg至400mg的日剂量施用通式(I)的 σ 配体。

[0241] 本发明的化合物和组合物可用于与其他药物一起提供组合治疗。其他药物可以形成相同组合物的部分,或者作为单独的组合物提供,用于同时或在不同时施用。

[0242] 通过转而提高患者存活的允许更高的化学治疗剂量、使用化学治疗的更长久的治疗和更少的治疗停止来体现化学治疗实现。

[0243] 因此,在本发明的一个优选实施方案中,组合被制备成用于在每个化学治疗周期中施用,其中:

[0244] • 在前5天期间每天以100mg至600mg的日剂量施用通式(I)的 σ 配体,并且

[0245] • 在周期的第1天以 $\geq 60\text{mg}/\text{m}^2$ 的日剂量施用化学治疗剂。

[0246] 甚至在本发明的一个更优选的实施方案中,组合被制备用于在每个化学治疗周期中施用,其中:

[0247] • 在前5天期间每天以200mg至400mg的日剂量施用通式(I)的 σ 配体,并且

[0248] • 在周期的第1天以 $\geq 80\text{mg}/\text{m}^2$ 的日剂量施用化学治疗剂。

[0249] 甚至在本发明的一个更优选的实施方案中,组合被制备用于在每个化学治疗周期中施用,其中:

[0250] • 在前5天期间每天以400mg的日剂量施用通式(I)的 σ 配体,并且

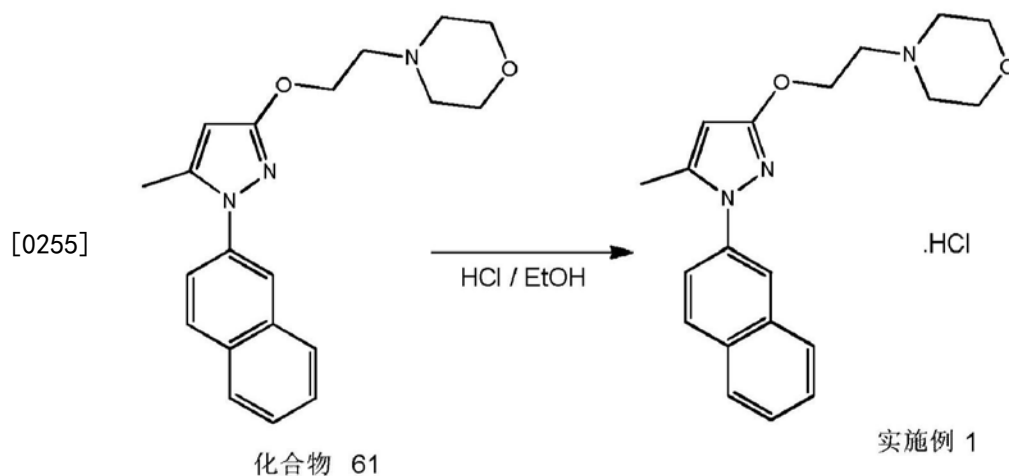
[0251] • 在周期的第1天以85mg/m²的日剂量施用化学治疗剂。

[0252] 以下实施例仅作为本发明的进一步举例说明给出;它们不应被视为对本发明的限制的限定。

实施例

[0253] 实施例1

[0254] 4-{2-[5-甲基-1-(萘-2-基)-1H-吡唑-3-基氧基]乙基}吗啉(化合物61)及其盐酸盐的合成



[0256] 化合物61可如在先申请W02006/021462中公开的制备。其盐酸盐可根据以下操作获得:

[0257] 将化合物63(6.39g)溶解在HCl饱和的乙醇中,然后将混合物搅拌若干分钟并蒸发至干燥。使残余物从异丙醇中结晶。使来自第一次结晶的母液通过浓缩进行第二次结晶。两次结晶合在一起产生5.24g(63%)相应的盐酸盐(m.p.=197°C至199°C)。

[0258] ¹H-NMR(DMSO-d₆) 6ppm:10.85(bs,1H),7.95(m,4H),7.7(dd,J=2,2,8,8Hz,1H),7.55(m,2H),5.9(s,1H),4.55(m,2H),3.95(m,2H),3.75(m,2H),3.55-3.4(m,4H),3.2(m,2H),2.35(s,3H)。

[0259] HPLC纯度:99.8%。

[0260] 药理数据

[0261] 材料和方法

[0262] 细胞系培养

[0263] 人乳腺腺癌MCF7欧洲细胞系、人肺癌A549细胞系和B16-F10鼠黑素瘤细胞系获自格拉纳达大学科学仪器中心(University of Granada Scientific Instrumentation Centre)(Spain)和美国模式培养物保藏所(American Type Culture Collection,ATCC)。将细胞在37°C温度下湿润的5%CO₂培养箱中,在补充有10%热灭活的胎牛血清(FBS)(Lonza,Walkersville,MD,USA)以及青霉素(10,000U/mL)和链霉素(10mg/mL)的1%抗生素混合物的经Dulbecco改良的Eagle培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium,DMEM)

(Sigma, St. Louis, MO, USA) 中进行培养。用胰蛋白酶-乙二胺四乙酸 (EDTA) 溶液 (0.25%) 分离经培养的细胞, 并以每孔 6×10^3 至 15×10^3 个细胞的密度 (取决于细胞系) 接种到 24 孔板中。

[0264] 增殖试验

[0265] 在培养条件下孵育 24 小时后, 用紫杉醇 (0.1 至 50 nM) 或实施例 1 (5 至 100 μ M) 处理细胞。当紫杉醇和 σ -1 受体拮抗剂缔合时, 产生 25% 至 35% 细胞毒性的紫杉醇浓度 (7.5 至 10 nM, 取决于细胞系) 与 10 μ M 的每种 σ -1 受体拮抗剂 (实施例-1、BD-1063 或 氟哌啶醇) 相关。通过利用未经任何处理的细胞作为对照来计算生存力百分比。

[0266] 在与药物孵育 96 小时后, 通过如前所述的 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四氮唑溴化物 (MTT) 增殖测定 (Clares 等; 2013) 或如前所述的磺酰罗丹明 B (SRB) 方案 (Melguizo 等; 2015), 一式三份地评价处理对细胞系的细胞毒性。在 MTT 方案中, 向每个孔添加 20 μ L 细胞培养基中的 MTT 溶液 (5 mg/mL)。在该温度下孵育 4 小时后, 去除培养基, 并将得到的甲臯晶体溶于 200 μ L 二甲基亚砷 (DMSO) 中。使用 Titertek 多重扫描比色计 (Titertek multiscan colorimeter) (Flow Laboratories, Irvine, USA) 在 570 nm 处测量经转化染料的光密度 (OD), 其与活细胞数目成比例。存活细胞的百分比计算为经处理细胞与对照 (未经处理) 细胞的 OD 比率 ($\times 100$)。在 SRB 方案中, 用 PBS 洗涤细胞三次, 并使用 300 μ L 的 10% 三氯乙酸固定细胞 (在 4 $^{\circ}$ C 下 20 分钟)。然后, 用蒸馏水洗涤细胞三次并使其干燥, 然后添加 300 μ L 的 SRB。在机械搅拌下继续孵育 20 分钟, 并通过添加 1% 乙酸溶液去除过量的 SRB。然后, 将细胞干燥。最后, 将 200 μ L Trizma[®] (10 mM, pH 10.5; Sigma-Aldrich) 用于染料重悬。在 492 nm 处测量 SRB 的光密度 (OD) (Titertek[®] Multiscan colorimeter; Flow Laboratories Ltd, Oldham, UK), 并用 Ascent 软件版本 2.6 (ThermoLab systems, Helsinki, Finland) 对其进行分析。在所有情况下, 存活细胞的百分比计算为: [OD 经处理细胞 / OD 对照 (未经处理) 细胞] $\times 100$ 。从抑制曲线估计 IC₅₀ 值 (抑制 50% 细胞增殖的药物浓度)。

[0267] 实施例 2: 紫杉醇 (Taxol) 和实施例-1 的细胞毒性

[0268] 紫杉醇在所有细胞系中产生浓度依赖性细胞毒性, 对于 MCF7 欧洲、A-549 和 B16-F10 细胞, IC₅₀ 值分别为 8.5、3 和 15 nM (图 1A、1B 和 1C)。实施例 1 也在所有细胞系中产生浓度依赖性细胞毒性, 对于 MCF7 欧洲、A-549 和 B16-F10 细胞, IC₅₀ 值分别为 83、100 和 27 μ M (图 2)。

[0269] 实施例 3: 紫杉醇 (Taxol) 和 σ -1 受体拮抗剂的缔合

[0270] 当产生约 35% 细胞毒性的低浓度 (10 nM) 紫杉醇与 B16-F10 细胞培养物中低浓度 (10 μ M) 的实施例-1、BD-1063 或 氟哌啶醇缔合时, 获得的细胞毒性作用大于所有情况的累加 (图 3)。

[0271] 当产生约 35% 细胞毒性的低浓度 (10 nM) 紫杉醇 (Taxol) 与 MCF7 欧洲细胞培养物中低浓度 (10 μ M) 的实施例-1、BD-1063 或 氟哌啶醇缔合时, 获得的细胞毒性作用大于所有情况的累加 (图 4)。

[0272] 总之, 实施例 2 和实施例 3 中获得的结果表明, 所研究的所有细胞系的增殖都被测试的 σ -1 受体拮抗剂抑制, 并且 σ -1 受体拮抗剂能够提高紫杉醇的抗增殖作用。

[0273] 还证明, 在这两种情况下, 实施例 1 均获得比 氟哌啶醇 和 BD-1063 更好的结果。

[0274] 临床数据

[0275] 实施例4:在进行结直肠癌治疗的患者中奥沙利铂和 α 受体拮抗剂(实施例1)的缔合

[0276] 通过用实施例1进行的相应临床研究中的相关参数测量证实了实施例3中获得的结果,如表1中可见。

[0277] 因此,进行了题为“概念证明阶段2,用于评价实施例1在进行结直肠癌治疗的患者中降低奥沙利铂诱导的周围神经病的发生率和严重程度的效力的在两个平行组中的随机化、安慰剂对照、双盲、多中心临床试验”的临床研究。

[0278] 研究期为24周化学治疗(每2周一次化学治疗周期=12个化学治疗周期)加6周(随访),并且具有相关的安全性目标,以探索按严重程度划分的不良事件、严重不良反应、导致实施例1中止的不良事件和与实施例1相关的不良事件的发生率。

[0279] 使患者接受:

[0280] • 在每个化学治疗周期的前5天期间,从周期前一天开始,每天经口接受400mg/天的实施例1,最多12个周期(第1组),

[0281] • 或者,在每个化学治疗周期的前5天期间,从周期前一天开始,每天经口接受安慰剂,最多12个周期(第2组)。

[0282] 关于所接受的化学治疗,所有患者接受奥沙利铂作为FOLFOX4或改良的FOLFOX6化学治疗方案的一部分用于治疗结直肠癌。患者被随机分配到上述两组中的一组。

[0283] FOLFOX的条件是:

[0284] • FOLFOX4:在第1天IV输注85mg/m²奥沙利铂,然后IV输注200mg/m²甲酰四氢叶酸(或等同物),然后IV推注400mg/m²5-FU并且在第1天和第2天连续22小时期间IV输注5-FU 600mg/m²/天;每2周重复,持续12个周期(6个月)

[0285] • mFOLFOX6:在第1天2小时内IV 85mg/m²奥沙利铂+在第1天2小时内IV 400mg/m²甲酰四氢叶酸+在第1天IV推注400mg/m²5-FU,然后在46小时期间2天连续IV输注5-FU 1200mg/m²/天;每2周重复,持续12个周期(6个月)

[0286] 预期,不存在疾病进展或不可接受的毒性的情况下,化学治疗周期每14天重复,持续最多6个月(12个周期)。在化学治疗结束之后约6周进行随访(最后一个周期包含奥沙利铂剂量 $\geq 60\text{mg/m}^2$)。

[0287] 获得表1的结果:

[0288] 表1

[0289] 所有随机对象	实施例1 (n=62) (%)	安慰剂 (n=62) (%)
完成者数目	35 (56.5%)	26 (41.9%)
中止次数	27 (43.5%)	36 (51.8%)
疾病进展	2 (7.4%)	9 (25.0%)
医生决定	3 (11.1%)	9 (25.0%)

[0290] 因此,获得以下结论:

[0291] • 用实施例1治疗的患者获得更高的奥沙利铂剂量。

[0292] • 因癌症进展或医生的决定而中止用实施例1治疗的患者较少。

[0293] • 当将实施例1添加到化学治疗中时,14.6%更多的患者完成了12个奥沙利铂治疗周期。

[0294] • 用实施例1治疗的患者对化学治疗耐受性更好。

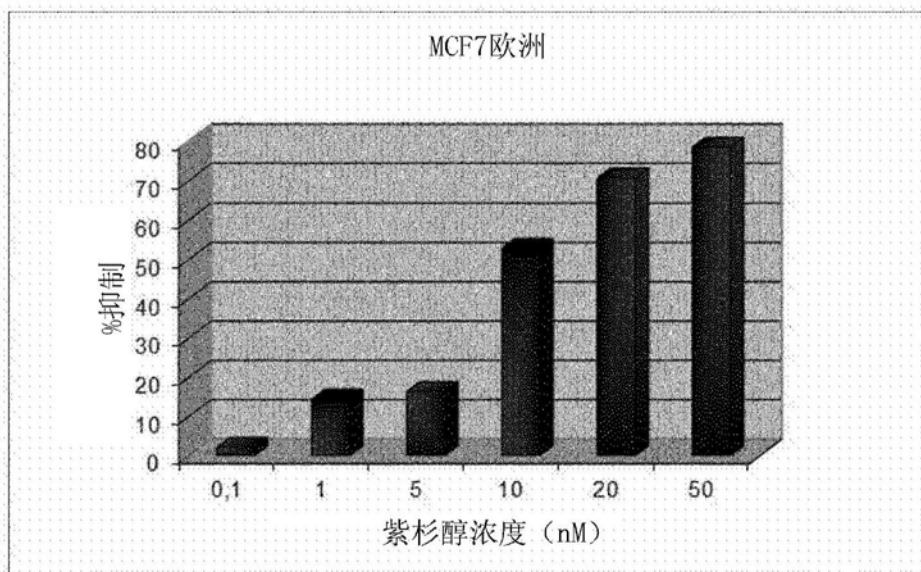


图1A

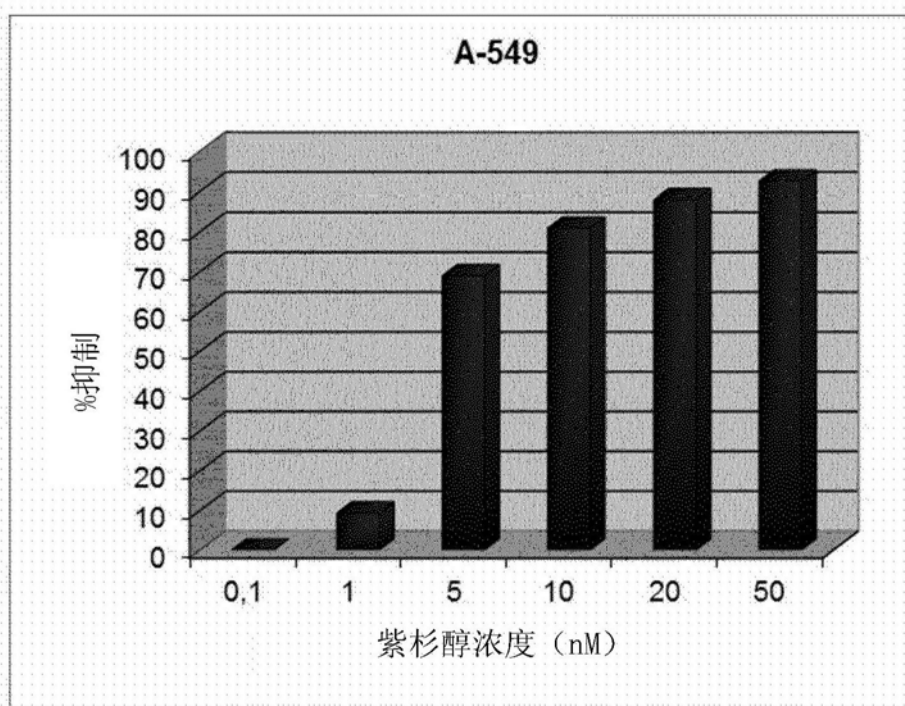


图1B

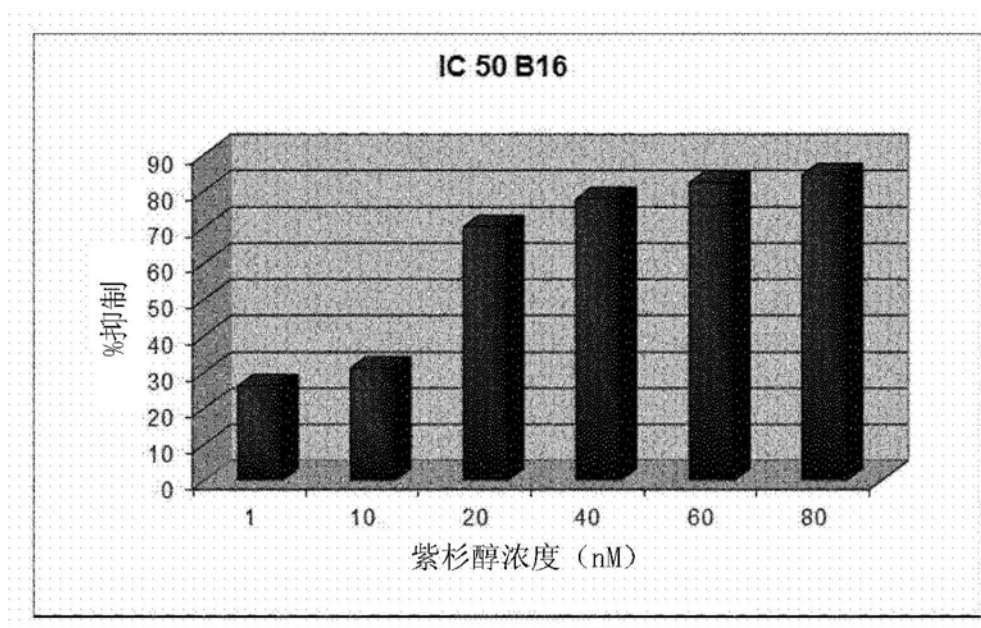


图1C

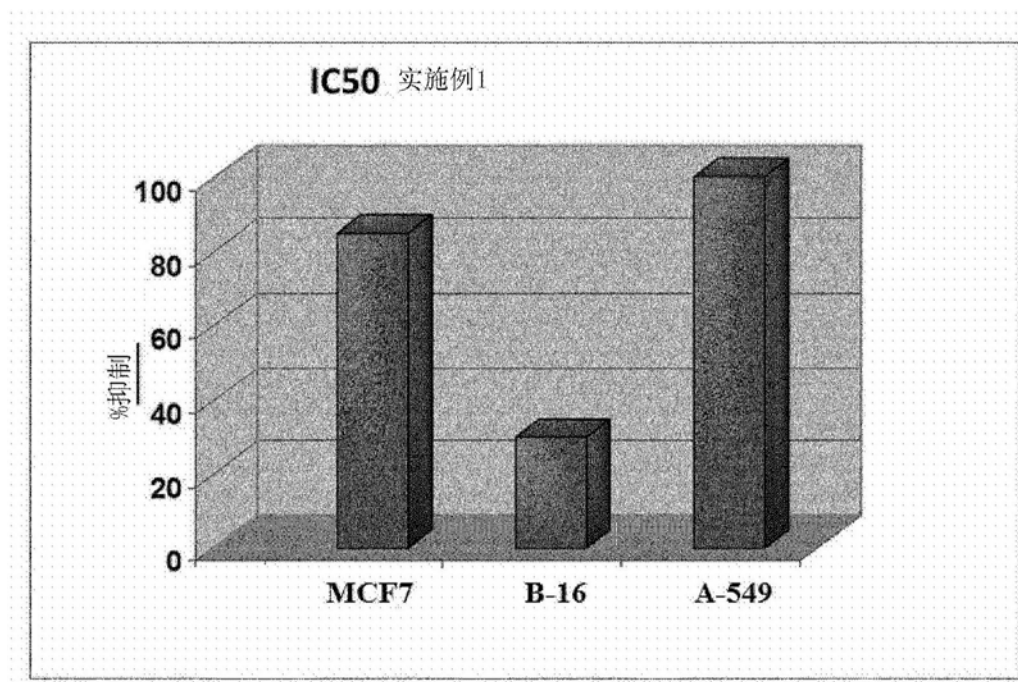


图2

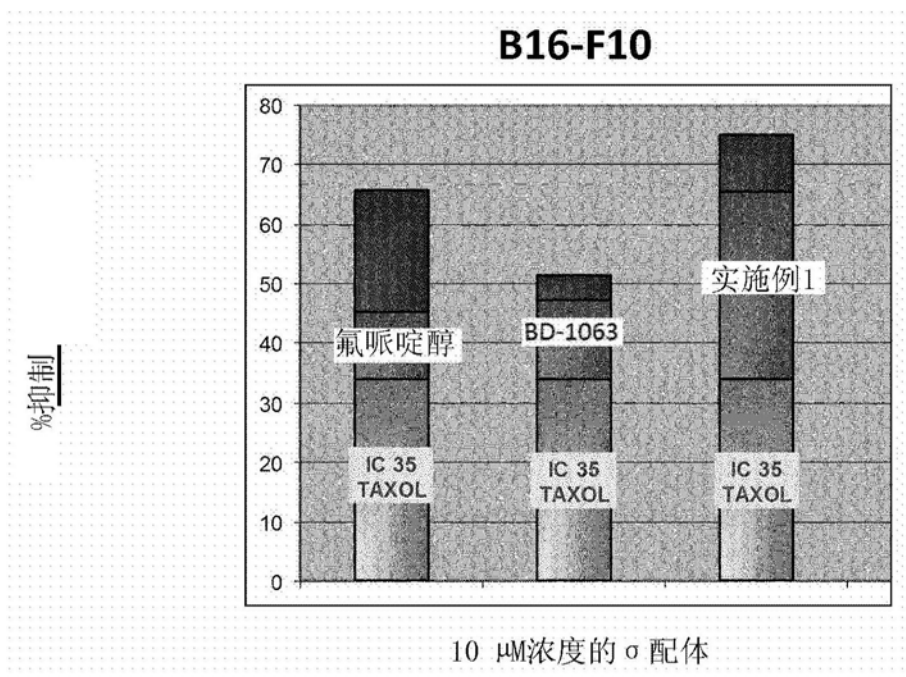


图3

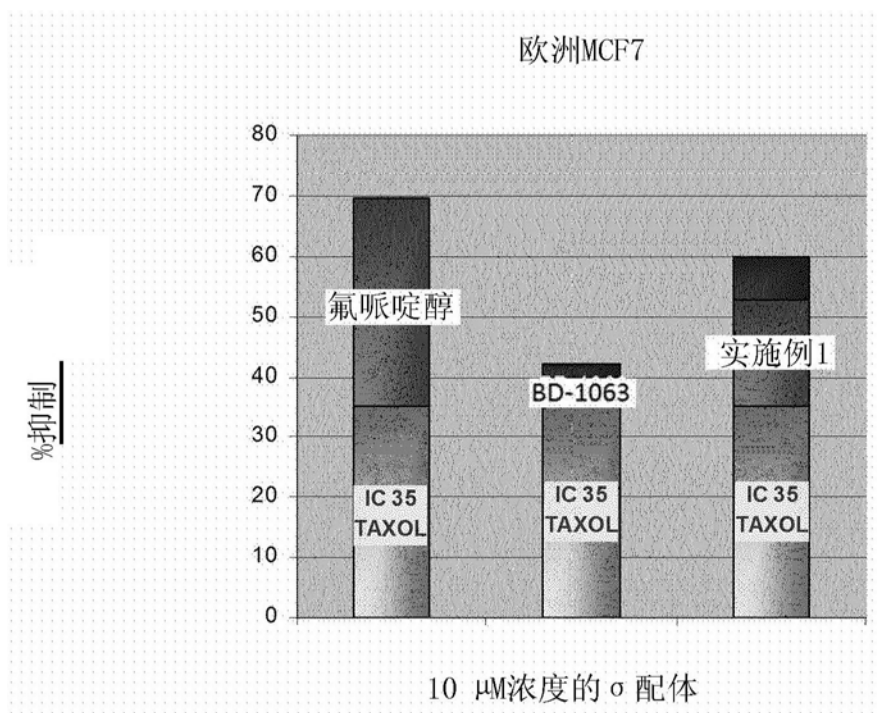


图4