



## (12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 108289901 B

(45) 授权公告日 2021.05.04

(21) 申请号 201680070092.8

(22) 申请日 2016.11.30

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 108289901 A

(43) 申请公布日 2018.07.17

(30) 优先权数据  
1561598 2015.11.30 FR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2018.05.30

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2016/079285 2016.11.30

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02017/093322 FR 2017.06.08

(73) 专利权人 领先药物公司  
地址 法国巴黎

(72) 发明人 H.波雷斯 M.沃姆

S.梅利克帕萨达尼安兹  
A.雷奥克斯-勒戈亚齐戈

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所  
11105

代理人 张文辉

(51) Int.Cl.  
A61K 31/662 (2006.01)  
A61P 27/02 (2006.01)  
A61K 9/00 (2006.01)

(56) 对比文件  
Bernard P. Roques et al.. ("Inhibiting  
the breakdown of endogenous opioids and  
cannabinoids to alleviate pain".《Nature  
Review Drug Discovery》.2012,第11卷

审查员 蔡放

权利要求书2页 说明书12页 附图4页

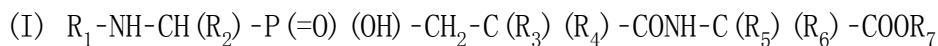
### (54) 发明名称

用于预防和治疗眼痛的氨基次磷酸衍生物

### (57) 摘要

本发明涉及式(I)化合物 $R_1-NH-CH(R_2)-P(=O)(OH)-CH_2-C(R_3)(R_4)-CONH-C(R_5)(R_6)-COOR_7$ ,其用于治疗 and/或预防眼痛。

1. 具有式 (I) 的化合物或所述化合物的药学可接受盐在制备用于治疗角膜疼痛的药物中的用途:



其中:

$R_1$  是

-氢或

-式  $-C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R'$  的基团, 其中  $R$  和  $R'$  各自独立是氢、具有 1-4 个碳原子的烷基基团, 并且  $R'$  是具有 1-4 个碳原子的烷基基团;

$R_2$  是具有 1 至 4 个碳原子的线性饱和烃链;

$R_3$  是氢原子并且  $R_4$  是在苯基环上在对位上被苯基取代的苄基基团,

$R_5$  是氢原子并且  $R_6$  是具有 1 至 4 个碳原子的线性饱和烃链;

$R_7$  是氢。

2. 根据权利要求 1 的式 (I) 的化合物的用途, 用于治疗角膜神经性疼痛。

3. 根据权利要求 2 的式 (I) 的化合物的用途, 用于治疗由角膜神经性疼痛诱导的神经病性痛觉过敏。

4. 根据权利要求 2 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述角膜神经性疼痛是由于眼综合征诱导的。

5. 根据权利要求 1 或 2 的式 (I) 的化合物的用途, 其中  $R_1$  是式  $-C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R'$  的基团。

6. 根据权利要求 1 或 2 的式 (I) 的化合物的用途, 其中  $R_1$  是  $-C(=O)-O-CHMe-OC(=O)-CHMe_2$  基团。

7. 根据权利要求 1 或 2 的式 (I) 的化合物的用途, 其中  $R_6$  是甲基。

8. 根据权利要求 1 或 2 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述式 (I) 的化合物选自以下化合物:

2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(1-异丁酰基氧基-乙氧基羰基氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸,

2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸。

9. 根据权利要求 1 或 2 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述药物配制为眼用组合物。

10. 根据权利要求 9 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述眼用组合物是眼用软膏、眼用凝胶、或眼用插入物。

11. 根据权利要求 9 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述眼用组合物是滴眼剂。

12. 根据权利要求 9 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述眼用组合物包含 0.01% 至 3% 重量/体积的所述式 (I) 的化合物。

13. 根据权利要求 12 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述眼用组合物包含 0.1% 至 1% 重量/体积的所述式 (I) 的化合物。

14. 根据权利要求 9 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述眼用组合物是水性溶液。

15. 根据权利要求 14 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述眼用组合物是具有范围为 5.5-8 的 pH 的水性溶液。

16. 根据权利要求 9 的式 (I) 的化合物的用途, 其中所述眼用组合物还包含环糊精, 或聚

苯乙烯磺酸钠。

17. 根据权利要求16的式(I)的化合物的用途, 其中所述环糊精是羟基丙基 $\beta$ -环糊精或磺基丁基醚 $\beta$ -环糊精。

## 用于预防和治疗眼痛的氨基次膦酸衍生物

[0001] 本发明涉及预防和治疗眼痛。

[0002] 疼痛是一种对身体局部刺激的伤害性应答。中枢神经系统中的疼痛感觉需要周围神经纤维传递疼痛刺激。当组织受到刺激(无论热、机械或化学方式)时,电化学信号从感觉神经末梢向脊柱传递,并从那里向感觉到疼痛的脑传递。

[0003] 存在有高度多样起源的各种疼痛,其治疗根据疼痛的类型和其病因学而根本不同。

[0004] 眼痛是在许多情况下出现的疼痛的特殊形式,例如意外创伤、外科程序、葡萄膜炎、干眼综合征和糖尿病性神经病。

[0005] 常用于治疗眼痛的医药产品是表面或系统性非类固醇抗炎药、系统性镇痛药、局部麻醉药和在极端情况下系统性阿片类。这些治疗具有有限的效力和系统性局部副作用。局部麻醉药通过直接抑制神经传导而起作用。它们的使用限于在医学监督下的短暂施用,因为它们的作用机制在细胞水平成纤维细胞或周围神经元细胞上诱导抑制效应。这就是为何即使局部麻醉可以缓解疼痛感,组织愈合和生理学仍可以受损。因此,重要的是发现没有麻醉活性的其它镇痛剂,其当表面应用于疼痛的眼时是有效且耐受性良好的。

[0006] 系统性使用阿片类诸如硫酸吗啡来治疗严重眼痛,但是它们具有诸如镇静、恶心、便秘和呼吸抑制等副作用,这大大限制了它们的使用,特别是对于慢性眼痛。

[0007] 已经显示了吗啡的表面施用缓解狗(Stiles et al. (2003) Am. J. Vet. Res., 64, 813-818)和大鼠(Wenk et al. (2003) Pain, 105, 455-465)和大鼠(Wenk et al. (2003) Pain, 105, 455-465)中与角膜损伤相关的疼痛,而不延迟角膜创伤的治愈(Stiles et al. (2003) Am. J. Vet. Res., 64, 813-818)。

[0008] 感伤害性输入的感知、传递和调节从属于几种神经递质,特别是脑啡肽(Met-脑啡肽和Leu-脑啡肽)。后者是首先在哺乳动物脑中发现的五肽,内源性阿片样物质(Hugues et al. (1975) Nature, 258, 577-580)。它们主要结合两种受体类型, $\mu$ -和 $\delta$ -阿片样物质受体(Lord et al. (1977) Nature, 267, 495-499),它们具有不同的功能和分布(Waksman et al. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci., 83, 1523-1527)。

[0009] 已经在脑室内施用外源性脑啡肽后显示脑啡肽的镇痛性质(Belluzi et al. (1976) Nature, 260, 625-626)。然而,此应答非常短暂,因为这些肽通过酶非常快地代谢。合成脑啡肽类似物已经显示与吗啡类似的镇痛性质,但是也表现出与吗啡相同的不利副作用,所述合成脑啡肽类似物经修饰而使它们对酶促降解有抗性。

[0010] 此外,已知脑啡肽(Tyr-Gly-Gly-Phe-Met和Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu)被两种锌金属肽酶,即肾胰岛素残基溶酶(neprilysin) (EC 3.4.24.11, NEP) 和氨肽酶N (EC 3.4.11.2, APN) 在生理上灭活,所述肾胰岛素残基溶酶切割直接这些肽的Gly<sup>3</sup>-Phe<sup>4</sup>键(Malfroy et al. (1978) Nature, 276, 523-526),所述氨肽酶N切割Tyr<sup>1</sup>-Gly<sup>2</sup>键。(Waksman et al. (1985) Eur. J. Pharmacol., 117, 233-243; 综述于Roques et al. (1993) Pharmacol. Rev., 45, 87-146)

[0011] 通过完全保护脑啡肽来抑制这两种酶活性(Bourgoin et al. (1986)

J.Pharm.Exp.Ther.,238,360-366) 揭示了这些内源性阿片样物质,即脑啡肽的药理学活性,特别是镇痛和抗抑郁活性 (Roques (2000) Trends Pharmacol.Sci.,21,475-483; Jutkiewicz et al.(2007) CNS Drugs Reviews,13,192-205)。

[0012] 氨基次膦酸衍生物 (aminophosphinic derivative),“真”混合抑制剂(即抑制APN和NEP)已经记载于先前的专利和出版物(W09818803;W02010010106;Chen et al.(2000) J.Med.Chem.,43,1398-1408;Chen et al.(2001) J.Med.Chem.,44,3523-3530;Le Guen et al.(2003) Pain,104,139-148;Bonnard et al.(2015) Pharmacol.Res.Persp.,3(2), e00116,doi:10.1002/prp2.116)中。

[0013] 已经在口服和/或静脉内施用之后在许多动物伤害感受模型中显示了良好镇痛活性及长作用持续时间 (Chen et al.(2000) J.Med.Chem.,43,1398-1408;Chen et al.(2001) J.Med.Chem.,44,3523-3530;Le Guen et al.(2003) Pain,104,139-148;Bonnard et al.(2015) Pharmacol.Res.Persp.,3(2), e00116,doi:10.1002/prp2.116)。

[0014] 从未公开或提示所述化合物作为表面(topical)眼用镇痛药的用途。

[0015] 也从未显示NEP和APN的混合抑制剂的前药可以水解以产生能够到达其靶物,因此允许长效镇痛应答的化合物。

[0016] 因此,本发明的目的之一是提供能够抑制负责脑啡肽降解的两种酶活性(肾胰岛素残基溶酶和氨肽酶N)的新的氨基次膦酸型化合物,后者可以在眼痛的情况下具有作用。

[0017] 更具体地,本发明涉及具有式(I)的化合物:

[0018] (I)  $R_1-NH-CH(R_2)-P(=O)(OH)-CH_2-C(R_3)(R_4)-CONH-C(R_5)(R_6)-COOR_7$

[0019] 其中:

[0020]  $R_1$ 是

[0021] -氢

[0022] - (酰基氧基)氨基甲酸烷基酯基团  $-C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R''$  其中R和R'各自独立是氢、烷基基团,并且R''是烷基基团;

[0023]  $R_2$ 是:

[0024] -具有1至6个碳原子的线性或分支、饱和或不饱和的烃链;

[0025]  $R_3$ 和 $R_4$ 各自独立是:

[0026] -氢

[0027] -苯基或苄基基团,任选地在苯基环上被以下取代:

[0028] \*1至5个卤素原子,特别是氟或溴;

[0029] \*OH、SH、OR''或SR''基、具有与上文相同的定义的R'';

[0030] \*氨基基团,任选地被具有1至6个碳原子的环状或线性脂肪族基团单取代或双取代;

[0031] \*三氟甲基基团

[0032] \*具有5或6个原子的芳香族或杂芳香族基团;

[0033] -具有5或6个原子的杂芳香族基团,其含有1或2个选自下组的杂原子:氧、氮或硫,其中所述硫和氮原子可以以S-氧化物或N-氧化物形式被氧化;

[0034] -被具有5或6个原子的芳香族或饱和杂环取代的亚甲基,所述杂原子是氧、氮或硫,其中所述氮和硫原子可以以N-氧化物或S-氧化物形式氧化;

- [0035]  $R_3$ 和 $R_4$ 不同时是氢原子；
- [0036]  $R_5$ 和 $R_6$ 各自独立是：
- [0037] -氢原子
- [0038] -具有1至6个碳原子的线性或分支、饱和或不饱和的烃链；
- [0039]  $R_7$ 是
- [0040] -氢
- [0041]  $-\text{CH}_2\text{COOR}''$  或  $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COOR}''$  基， $R''$  是
- [0042] \*具有1至6个碳原子的饱和烃链，任选地被 $\text{C}_1$ - $\text{C}_3$ 烷氧基基团取代，
- [0043] \* $\text{C}_5$ 至 $\text{C}_8$ 环烷基基团
- [0044] \*杂芳香族苯基、苄基或烷基基团；
- [0045]  $-\text{CH}(\text{R})\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$  或  $\text{CH}(\text{R})\text{OC}(\text{O})\text{R}'$  基团，其中 $\text{R}$ 和 $\text{R}'$  具有与上文相同的定义；
- [0046] 或所述化合物的药学可接受盐，用于治疗和/或预防眼痛。
- [0047] 有利地，可以使用本发明的化合物预防或缓解眼痛，特别是干眼综合征。
- [0048] 有利地，可以使用本发明的化合物预防或治疗角膜神经性疼痛，特别是神经病性痛觉过敏。
- [0049] 眼痛
- [0050] 神经性疼痛具有外周和中枢原因，并且可以特别影响眼的角膜。有神经病的许多原因，但都起源于源自手术切口、创伤、病毒(带状疱疹)、代谢病症(糖尿病)、神经毒性药物或慢性炎症的受损或恶化的神经纤维。目前的药品具有较小的效力，这使得新化合物的发现和开发变得必不可少。
- [0051] 角膜神经病性痛觉过敏涉及功能障碍性角膜疼痛感知和控制系统。它与缺乏明显创伤或有害刺激的情况下相当大的不适和持续性增高角膜敏感性(外周致敏) 关联(综述见 Belmonte et al. (2004) Exp. Eye Res., 78 (3), 513-525; Rosenthal&Borsook (2012) Ocul. Surf., 10 (1), 2-14; Rosenthal et al. (2009) Ocul. Surf., 7 (1), 28-40)。
- [0052] 源自角膜损伤或刺激的角膜神经的连续激发释放神经肽和炎症介质，其增加炎症反应(神经源性炎症)，从而导致痛觉过敏。在眼手术或化学或毒性暴露，包括重复使用苯扎氯铵(滴眼剂中常用的防腐剂)后，在患者报道了角膜超敏感性、神经炎症、疼痛和畏光。角膜神经性疼痛也是通常称为干眼综合征的眼状况的结果。这包括非感染性免疫原因，诸如 Goujerot-Sjögren 综合征或系统性红斑狼疮以及由于带状疱疹病毒引起的眼带状疱疹(综述于 Rosenthal&Borsook (2012) Ocul. Surf., 10 (1), 2-14; Yawn et al. (2013) Mayo Clin. Proc., 88 (6), 562-570)。多达20%的45岁以上的成年人受到干眼综合征的影响，这是一个重大的健康问题，具有重大的经济和社会后果(综述于 Friedman (2010) Curr. Opin. Ophthalmol., 21 (4), 310-316; Pfugfelder (2008) J. Manag. Care, 14 (3 Suppl), S102-S106)。
- [0053] 在很多情况下，干眼综合征对于治疗而言是难治的，并且症状和相关体征之间没有真正的相关性。例如，虽然由于眼表干燥(干眼蒸发)引起的炎性角膜痛觉过敏是角膜神经病性痛觉过敏最常见的形式，许多表现为干眼症状的患者没有干眼(减少的泪液量)或表面角膜侵蚀的客观体征。此外，神经病有时可以先于泪膜的恶化(Rosenthal&Borsook (2012) Ocul. Surf., 10 (1), 2-14; Rosenthal et al. (2009), Ocul. Surf., 7 (1), 28-40)。

[0054] 规定用于角膜神经性疼痛的化合物包括极其多种不同化合物,诸如阿片类、非类固醇抗炎药、钠通道阻滞剂(局部麻醉剂)、抗癫痫药、三环抗抑郁药和GABA类似物。然而,此种武库仍然不足,并且通过以下实情显示了神经病性角膜疼痛的复杂性质,即没有针对各种症状有效的已知单一治疗。此外,许多目前规定的试剂的副作用限制了治疗窗。角膜炎性神经病性疼痛因此代表未满足的治疗需求(Rosenthal&Borsook (2012) Ocul.Surf., 10 (1), 2-14; Rosenthal et al. (2009) Ocul.Surf., 7 (1), 28-40)。

[0055] 本发明的化合物:

[0056] 在本发明中,术语“药学可接受的”指可用于制备药物组合物的物质,其通常是安全的、无毒的,既不是生物学上也不是其它方面不想要的,并且对于兽医和人药物用途均可接受。

[0057] 如本发明中使用,化合物的术语“药学可接受盐”指如本文中定义的药学可接受的并且具有母体化合物的期望药理学活性的盐。在本发明的背景内,它们是用无机碱或有机碱获得的加成盐。因此,形成的盐对应于:

[0058] -用金属离子例如碱金属离子(例如 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 或 $\text{Li}^+$ )、碱土金属离子(如 $\text{Ca}^{2+}$ 或 $\text{Mg}^{2+}$ )或铝离子替换酸性质子,

[0059] -或者用有机或无机碱配位所述酸性质子。

[0060] 可接受的有机碱包括胺,如氨、二乙醇胺、乙醇胺、N-甲基葡糖胺、三乙醇胺、三乙胺、氨丁三醇等。可接受的无机碱包括氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化锂(氧化锂(lithine))、氢氧化钾(钾碱)、碳酸钠和氢氧化钠(苏打)。

[0061] 有利地,本发明化合物的药学可接受盐将是与药学可接受无机或有机碱如氧化锂、苏打、钾碱、氨、式 $\text{NR}_a\text{R}_b\text{R}_c$ 的叔胺获得的加成盐,其中 $\text{R}_a$ 、 $\text{R}_b$ 和 $\text{R}_c$ 各自独立是如下定义的烷基基团,如三乙胺,或碱性氨基酸,如赖氨酸或精氨酸及其衍生物。

[0062] 如在本发明中使用,术语“不饱和”指烃链包含一个或多个不饱和度。如在本发明中使用,术语“不饱和度”指双键或三键。

[0063] 如在本发明中使用,术语“卤素原子”指氟、氯、溴或碘原子。有利地,它是氟、氯或溴原子。更有利地,它是氟或溴原子,优选氟。

[0064] 如在本发明中使用,术语“氨基”基团指具有式 $\text{-NR}^*\text{R}^{**}$ 的基团,其中 $\text{R}^*$ 和 $\text{R}^{**}$ 各自独立是氢原子或具有1-6,优选1-4个碳原子的线性、分支或环状、饱和或不饱和烃基团,或 $\text{R}^*$ 和 $\text{R}^{**}$ 与它们附接的氮原子一起形成5或6元杂环,其任选是饱和的并且不含除两个基团 $\text{R}^*$ 和 $\text{R}^{**}$ 连接的氮以外的杂原子。特别地,氨基基团可以是 $\text{-NH}_2$ 、 $\text{-NHMe}$ 、 $\text{-NHEt}$ 、 $\text{-NHPr}$ 、 $\text{-NHiPr}$ 、 $\text{-NHBu}$ 、 $\text{-NHiBu}$ 、 $\text{-NHtBu}$ 、哌啶基或吡咯烷基基团。

[0065] 如在本发明中使用,术语“芳香族”基团指具有优选5-10个碳原子,除非另有规定,并且具有一个或多个稠环,诸如例如苯基或萘基基团的芳香族基团。有利地,它是苯基。

[0066] 如在本发明中使用,术语“杂芳香族”基团指其中的一个或多个碳原子已经被一个或多个杂原子,有利地1至4,甚至更有利地1至2个,诸如例如硫、氮或氧原子替换的如上文定义的任何芳香族基团,其中氮和硫原子可以任选地以S-氧化物或N-氧化物形式氧化。示例性杂芳香族基团包括呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡啶基、嘧啶基(pyrimidyl)、吡唑基、咪唑基、四唑基和吡唑基基团。

[0067] 如在本发明中使用,术语“具有5或6个原子的杂芳香族环”指仅具有一个5或6原子

环的如上文定义的杂芳香族基团。特别地,它是噻吩基、吡咯基、吡啶基、嘧啶基、吡唑基、咪唑基或四唑基基团。

[0068] 如在本发明中使用,术语“杂环”指其中的一个或多个碳原子已经被一个或多个杂原子,有利地1至4,甚至更有利地1至2个,诸如例如硫、氮或氧原子替换的烃环,有利地具有5或6个原子,其中硫和氮原子可以以N-氧化物或S-氧化物形式氧化。除非另有规定,此环可以是饱和的或芳香族的。

[0069] 若杂原子选自氮和硫,则杂环可以是特别是以下基团之一:哌啶基、吡咯烷基、吡咯基、噻吩基、吡唑基、咪唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、哌嗪基、噻二唑基(thiadiazolyl)、四氢噻吩基或噻唑基。

[0070] 如在本发明中使用,术语“烷基”指具有1至4个碳原子的饱和、线性或分支烃链,除非另有规定。特别地,它是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基基团。

[0071] 如在本发明中使用,术语“环烷基”至具有5至8个碳原子的饱和烃环,特别是环己基、环戊基或环庚基基团。

[0072] 如在本发明中使用,术语“烷基杂芳香族”指经由如上文定义的烷基基团附接到分子的如上文定义的杂芳香族基团。特别地,它是噻吩甲基甲基或呋喃基甲基基团。

[0073] 在第一种变型中, $R_1$ 是(酰基氧基)氨基甲酸烷基酯基团 $-C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R$ ”。特别地, $R_1$ 是 $-C(=O)-O-CHMe-OC(=O)-CHMe_2$ 基团。

[0074] 在第二种变型中, $R_1$ 是氢原子。

[0075] 还有利地, $R_2$ 基是具有1至4个碳原子的饱和的、线性或分支烃链。优选地, $R_2$ 基是甲基。

[0076] 根据本发明的有利的变型, $R_3$ 是氢原子并且 $R_4$ 如先前定义。有利地, $R_3$ 是氢原子并且 $R_4$ 是任选地被1-5卤素原子诸如氟或溴取代的苄基基团、苯基或5或6元杂芳香族基团。特别地, $R_3$ 是氢原子,并且 $R_4$ 是被卤素原子,诸如溴原子,或者被苯基在对位取代的苄基基团。

[0077] 还有利地, $R_5$ 基是氢原子。

[0078] 还有利地, $R_6$ 基是烷基基团诸如甲基。

[0079] 还有利地, $R_7$ 基是氢原子或苄基。

[0080] 根据本发明的有利变型,基团如下文定义:

[0081]  $-R_1$ 是 $-C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R$ ”基团,其中R是氢原子并且 $R'$ 和R”是烷基基团;

[0082]  $-R_2$ 是烷基基团,

[0083]  $-R_3$ 是氢原子;

[0084]  $-R_4$ 是被卤素原子(溴)或苯基在对位取代的苄基基团;

[0085]  $-R_5$ 是氢原子;

[0086]  $-R_6$ 是烷基基团;

[0087]  $-R_7$ 是氢原子。

[0088] 根据具体的实施方案,本发明的化合物选自以下化合物:

[0089] 2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(1-异丁酰基氧基-乙氧基羰基氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸苄酯



[0090] 2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(1-异丁酰基氧基-乙氧基羰基氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸

[0091] 2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(1-异丁酰基氧基-乙氧基羰基氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸乙酯

[0092] 2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(1-异丁酰基氧基-乙氧基羰基氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸乙氧基羰基氧基酯(ethoxycarbonyloxy ester)

[0093] 2-(2-(4-溴代-苄基)-3-{羟基-[1-(1-异丁酰基氧基-乙氧基羰基氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸苄酯

[0094] 2-(2-(4-溴代-苄基)-3-{羟基-[1-(1-异丁酰基氧基-乙氧基羰基氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸

[0095] 2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸苄酯

[0096] 2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸

[0097] 2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(1-氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸乙酯

[0098] 2-(2-联苯基-4-基甲基-3-{羟基-[1-(氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸乙氧基羰基氧基酯

[0099] 2-(2-(4-溴代-苄基)-3-{羟基-[1-(氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸苄酯

[0100] 2-(2-(4-溴代-苄基)-3-{羟基-[1-(氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸

[0101] 2-(2-(4-溴代-苄基)-3-{羟基-[1-(氨基)-乙基]-膦酰基}-丙酰基氨基)-丙酸乙酯

[0102] 已经将式(I)的化合物描述为APN和NEP的双重抑制剂,并且在静脉内或口服施用后的许多中枢或外周疼痛模型中表现出镇痛活性(Chen et al. (2000) J. Med. Chem., 43, 1398-1408; Bonnard et al. (2015) Pharmacol. Res. Persp., 3 (2), e00116, doi:10.1002/prp2.116)。

[0103] 可以例如通过在FR 2 755 135和FR 2 934 267中描述的方法合成式(I)的化合物。例如,可以如Chen et al. (2000) J. Med. Chem., 43, 1398-1408所述合成化合物1,并且例如可以如Bonnard et al. (2015) Pharmacol. Res. Persp., 3 (2), e00116, doi:10.1002/prp2.116所述合成化合物2。

[0104] 式(I)化合物根据本领域技术人员描述的方法配制,特别是用于期望的施用途径。

[0105] 特别地,化合物配制为眼用组合物,特别是作为滴眼剂、眼用软膏、眼用凝胶或眼用插入物。

[0106] 优选地,本发明的施用组合物将配制为用于表面施用的溶液、悬浮剂或其它剂量形式,特别是眼施用。因此,此类组合物配置为使得是耐受良好的(特别是可接受的pH)并具有生理渗量(osmolality)。还优选的是,组合物是无菌的并且配制成在使用期间避免细菌污染。有利地,眼用溶液是透明的,其特征在于不存在颗粒。有利地,悬浮液的特征在于小于25 $\mu$ m的粒度。举例来说,用于眼施用的药物配制包括:

[0107] -滴眼剂:为含有一种或多种有效成分的无菌溶液、悬浮液或乳剂形式。水性或水

溶性溶剂或溶剂混合物是优选的。滴眼剂可以包装在单剂量或多剂量包装中。

[0108] -眼用软膏,即用于应用于结膜的无菌、半固体制剂,其含有一种或多种活性成分和合适的赋形剂(凡士林,液体石蜡)。

[0109] -眼用凝胶,即用于应用于结膜的无菌、半固体制剂,其含有一种或多种活性成分和合适的赋形剂。有利地,赋形剂是亲水性聚合物,其在存在的情况下形成凝胶(卡波姆、Carbopol®、聚丙烯酸)。

[0110] -眼用插入物,即用于插入结膜囊的无菌、固体或半固体制剂。它们通常由嵌入基质中的活性成分储库组成,该基质被膜包围以控制释放。逐渐释放活性成分。

[0111] 优选使用水性溶液,因为它们更容易配制,并且患者通过在受影响的眼中滴注1或2滴溶液来施用此类组合物也更容易。同样,组合物也可以是悬浮液、粘性或半粘性凝胶,或其它类型的固体或半固体组合物。

[0112] 优选用于本发明眼用配制剂的载体是Milli-Q水,优选生理盐水溶液。为了避免在储存期间pH漂移,优选使用适合的缓冲液如乙酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐或硼酸盐缓冲液将此类溶液的pH值保持在5.5至8之间,优选6.5至7.2之间。配制剂还可以含有常规的药学可接受的防腐剂、稳定剂和/或渗透增强剂。

[0113] 因此,眼用组合物有利地为水溶液,有利地具有5.5至8范围内的pH。

[0114] 根据本发明描述的方法施用的组合物含有对于眼使用活性量的式(I)化合物。这意味着足以预防或缓解眼痛的量。通常,本发明所述的组合物将含有0.01%至3%(重量/体积)的式(I)化合物。优选地,本发明的组合物将含有0.1%至1%(重量/体积)的式(I)化合物。因此,眼用组合物有利地包含0.01%至3%(重量/体积)的所述式(I)化合物,更有利地包含0.1%至1%(重量/体积)。

[0115] 施用的组合物还可以含有其它各种成分,其包括但不限于表面活性剂、渗量剂、缓冲剂、防腐剂、共溶剂或增粘剂(viscosity enhancer)。

[0116] 各种渗量调节剂可以用来调节溶液的渗量,以使组合物更像自然泪液。例如,可以使用氯化钠、氯化钾、氯化镁、氯化钙、右旋糖和/或甘露醇,以便接近生理渗量(通常约150-450mOsm,优选250-350mOsm)。

[0117] 可以用于本发明的眼用配制剂的防腐剂包括但不限于苯扎氯铵、氯丁醇、苯扎溴铵(benzododecinium bromide)、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、硫柳汞、苯基乙酸汞(phenylmercuric acetate)和苯基硝酸汞(phenylmercuric nitrate)。此类防腐剂通常以0.001%至1.0%重量/体积的量使用。

[0118] 可以用于本发明的眼用配制剂的粘度剂包括但不限于单体多元醇、聚维酮、羟基丙基甲基纤维素、泊洛沙姆、羧甲基纤维素、卡波姆或羟基乙基纤维素、葡聚糖如葡聚糖70、水溶性蛋白质如明胶等。

[0119] 可以使用的渗透剂包括有机溶剂,诸如二甲基亚砷或其它亚砷、二甲基乙酰胺和吡咯烷酮;杂环胺化合物的某些酰胺、二醇(例如丙二醇);碳酸丙烯酯;油酸;烷基化胺和其它铵盐衍生物;各种阴离子、阳离子、非离子型表面活性剂等。

[0120] 在优选的实施方案中,本发明的配制剂包含环糊精,诸如羟基丙基β-环糊精或磺基丁基醚β-环糊精(sulphobutyl ether beta-cyclodextrin)或聚苯乙烯磺酸钠。

[0121] 因此,眼用组合物有利地还包含环糊精,诸如羟基丙基β-环糊精或磺基丁基醚β-

环糊精或聚苯乙烯磺酸钠。

[0122] 药理学活性的实例

[0123] a) 辣椒碱测试

[0124] 为了在眼痛的情况下研究本发明的药理学活性,使用辣椒碱(capsaicin)诱导的眼痛模型来测试式(I)的化合物。

[0125] 在文献(Gonzalez et al. (1993) Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.,34(12),3329-3335)中的以前使用的模型中,在成年兔中,在施用药物后的不同时间测量眼睑挤压运动(lid-squeezing movement)的数目、眼睑开放程度、由双侧滴入30 $\mu$ L辣椒碱(33mM)诱发的瞳孔应答和结膜血管舒张。为此,将用各种钙拮抗剂(地尔硫卓、维拉帕米或硝苯地平)预处理的眼中对此测试的应答与仅仅接受载体的那些比较。例如,在应用辣椒碱前15分钟施用的1至28mM剂量的地尔硫卓显著降低辣椒碱诱发的搔抓运动(scratching movement)、结膜充血、眼闭合和升高的水性蛋白浓度。这些结果提示了对于辣椒碱诱导的疼痛活性,地尔硫卓降低疼痛和神经源性炎症,并且可以用作眼中的镇痛剂和抗炎剂两种。

[0126] 还显示对辣椒碱的收缩应答部分受到吗啡(5 $\times$ 100 $\mu$ M)抑制(Zhang et al. (1984) Exp.Eye Res.,38,153-163)。

[0127] 以与大鼠相同的方式,表面应用一滴吗啡硫酸盐(5 $\mu$ M)以浓度依赖性方式减弱辣椒碱诱导的眨眼(blinking)。然而,当应用于健康的,非发炎的大鼠角膜时,吗啡对眨眼没有影响。另外,已经通过首先施用阿片受体拮抗剂如纳洛酮、CTAP和纳曲啉(naltrindole)防止吗啡的镇痛和抗炎作用。吗啡作用于位于大鼠角膜中的mu-和delta-阿片受体以减轻炎症和痛觉过敏(Zhang et al. (2003) Pain,105,455-65)。

[0128] 1) “急性”处理

[0129] 使用与上述相当的测试(Gonzalez et al. (1993) Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.,34(12),3329-3335)在新西兰白兔中评价本发明式(I)的化合物,以5mM注入的TRPV1拮抗剂辣椒平(capsazepine)作为阳性对照(每组8只动物),与单独的载体,0.9%NaCl(3只动物)相比。

[0130] 程序和时机如下:

[0131]

天	时间	程序	眼检查
---	----	----	-----

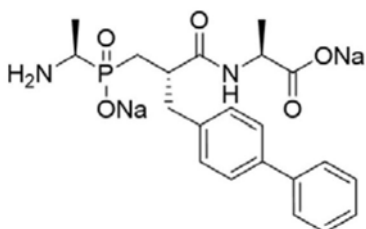
[0132]

—		一般临床检查, 重量	结膜充血的评估 眼睑开放的测量
D0	诱导前 15 min	一般临床检查 施用测试、对照和参照产品 (对于测试和对照产品在右眼中50 $\mu\text{L}$ 和对于参照产品在右眼中30 $\mu\text{L}$ )	结膜充血的评估
	刚好在 诱导前	—	结膜充血的评估 眼睑开放的测量
	0	用辣椒平(在右眼中30 $\mu\text{L}$ )诱导眼 痛	—
	1 min	—	结膜充血的评估 眼睑开放的测量
	5 min		
	10 min		
	15 min		
	20 min		
	25 min		
	30 min		
	40 min		
	50 min		
	60 min		
	—		—

[0133] 实施例1:

[0134] 在辣椒平诱导的眼痛(33mM)模型中化合物1(10mM)的镇痛效果

[0135]



[0136] 化合物1

[0137] 图1中显示了结果,表示在测试前的时间、刚好在疼痛诱导前、和然后在疼痛诱导后5、10、15、20、25和30分钟时以mm计的眼睑开放程度。

[0138] 灰色直方图:施用溶液含有0.9%NaCl

[0139] 黑色直方图:施用溶液含有10mM化合物1。



[0161] 黑色直方图:施用溶液含有5mM辣椒平(参考对照品)

[0162] 灰色直方图:施用溶液含有10mM化合物2。

[0163] 在我们的实验条件下,在辣椒碱引起的疼痛后单次注入10mM化合物1或化合物2对结膜充血和眼睑开放显示镇痛效果,优于参照产品辣椒平。

[0164] 2) “慢性”治疗

[0165] 还在8周龄的雄性C57BL/6小鼠(JANVIER LABS)中,在事先受损的角膜(用1.5mm直径的环钻)上用式(I)化合物每天两次治疗5天后使用辣椒碱试验(100 $\mu$ M)测试本发明式I的化合物。

[0166] 实施例5

[0167] 在辣椒碱诱导的眼痛(100 $\mu$ M)模型中化合物2的镇痛作用

[0168] 使用1.5mm直径的环钻在雄性C57BL/6小鼠(JANVIER LABS)的右角膜上产生角膜上皮损伤。一旦对动物进行操作,用1X PBS(每组5只动物)或10mM化合物2(每组5只动物)进行每日两次表面处理达4天。

[0169] 在第4天,最后一次注入后15分钟,注入100 $\mu$ M辣椒碱并进行行为分析。

[0170] 图5中显示了与辣椒碱前单独的环钻损伤对应的获得的结果(y轴:以秒计的眼睑闭合时间)。

[0171] 图6显示了辣椒碱应用后获得的结果。

[0172] 在这些实验条件下,在辣椒碱试验(100 $\mu$ M)中的疼痛诱导后,与接受PBS的对照组相比,用10mM化合物2的慢性治疗显示出非常显著的镇痛效果(更短的累积性眼睑闭合时间)。

[0173] a) 在鼠中使用环钻的角膜损伤

[0174] 在此测试期间,使用1.5mm直径环钻进行小鼠左眼角膜上皮的去上皮化(de-epithelialization)。在手术显微镜下进行此种手术。对每只动物持续此程序最多3分钟。将角膜去上皮化的深度和表面积标准化,并且然后通过裂隙灯检查评估。此种手术工具的优点是损伤的标准化。

[0175] 如此处理的8周龄雄性C57BL/6小鼠在施用辣椒碱之前接受式I的化合物或PBS的每天两次处理达5天。

[0176] 实施例6

[0177] 通过辣椒碱(100 $\mu$ M)诱发额外的疼痛。

[0178] 对用化合物1(10mM)、用化合物2(10mM)处理或对于对照组,用1X PBS(n=每组5只动物)处理的小鼠,在处理5天后使用Von Frey丝测量角膜机械敏感性(异常性疼痛)。

[0179] 在图6中呈现获得的结果(y轴:以克计的Von Frey丝重量)。左边的直方图(黑色)表示用PBS处理的小鼠的应答,中间的直方图表示用化合物1处理的小鼠的应答,而右边的直方图表示用化合物2处理的小鼠的应答。

[0180] 与用1X PBS(n=每组5只小鼠)处理的对照小鼠中获得的结果相比,当用Von Frey丝测量时,对事先受损的角膜(1.5mm直径的环钻)用化合物1或化合物2每日两次表面处理5天诱导机械敏感性的显著降低(表示为较高的可耐受的丝重量)。

[0181] b) 通过慢性注入0.2%苯扎氯铵(BAC)诱导的角膜炎

[0182] 慢性注入0.2%苯扎氯铵诱导角膜的慢性炎症,伴有眼痛的产生(Launay et al.

(2016) Neurobiol. Dis., 8816-28)。使用此模型作为化学角膜炎的模型。

[0183] 实施例7

[0184] 首先用0.2%BAC处理6天的小鼠在用化合物2每天两次处理持续5天角膜敏感性的研究。

[0185] 使用Von Frey丝在不同时间评估用0.2%BAC处理6天,然后每天用化合物2每天两次处理5天的雄性C57BL/6小鼠的角膜机械敏感度,与接受每日两次1X PBS的对照组(每组n=10只动物)相比。使用Von Frey丝(应用于清醒动物的角膜中心)对于测量小鼠角膜机械异常性疼痛是完全可行的。在干眼的情况下,该技术在患者中产生机械性异常性疼痛:闭合眼睑诱导疼痛感觉的简单事实。最后,此种行为测试与人临床实践(Cochet-Bonnet)中用于测量角膜机械敏感度的测试非常相似。

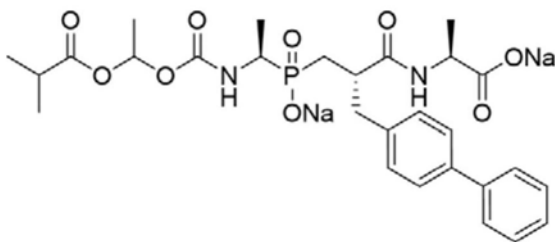
[0186] 图7中呈现了获得的结果(y轴:以克计的Von Frey丝的重量)。左边的直方图表示用PBS处理的小鼠的应答,而右边的直方图表示用化合物2处理的小鼠的应答。图7显示在化合物2(10mM)存在下由0.2%BAC诱导的机械异常性疼痛显著降低(更高的敏感性阈值)。

[0187] c) 在鼠中由脂多糖(LPS)诱导的炎症模型

[0188] 细菌性脂多糖(LPS,内毒素)是炎症应答的有力刺激物,并且促成微生物角膜炎和角膜溃疡(Khatri et al.2002Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.,432278-2284)。

[0189] 实施例8

[0190]



[0191] 化合物2

[0192] 在LPS诱导的炎症模型中化合物2的效果(50μg)。

[0193] 用环钻(1.5mm直径)在鼠中产生角膜上皮损伤(划痕),接着用LPS(50μg,在第1天和第4天两次施用)表面治疗,然后用1X PBS(对照组)或化合物2(10mM)(n=每组6只动物)每天两次慢性治疗5天,接着在第5天进行辣椒碱注入(100μM)。

[0194] 在图8中呈现了获得的结果(y轴:以秒计的眼睑闭合时间)。左边的直方图表示用PBS处理的小鼠的应答,而右边的直方图表示用化合物2处理的小鼠的应答。

[0195] 在LPS诱导的细菌性角膜炎的这些实验条件下,与接受PBS的对照组相比,用10mM化合物2进行的慢性治疗因此具有非常显著的镇痛效果(更短的累积性睑闭合时间)。

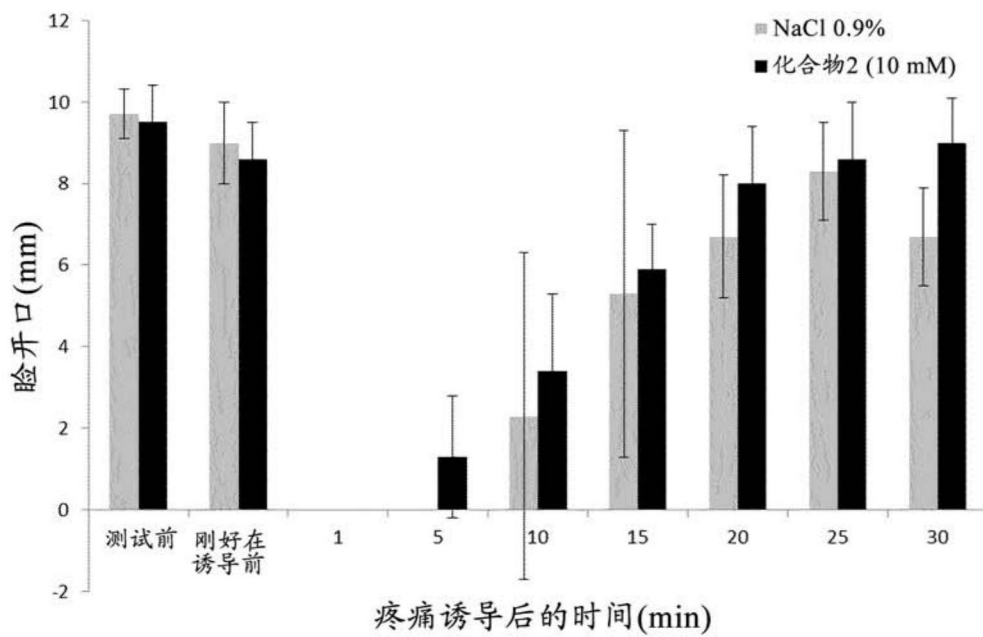


图1

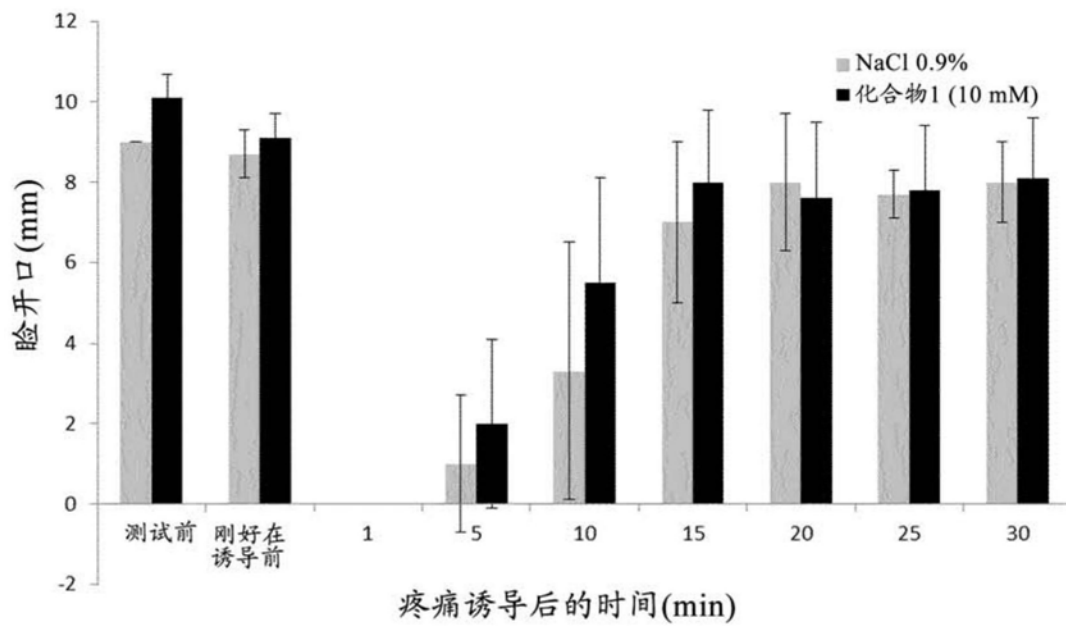


图2



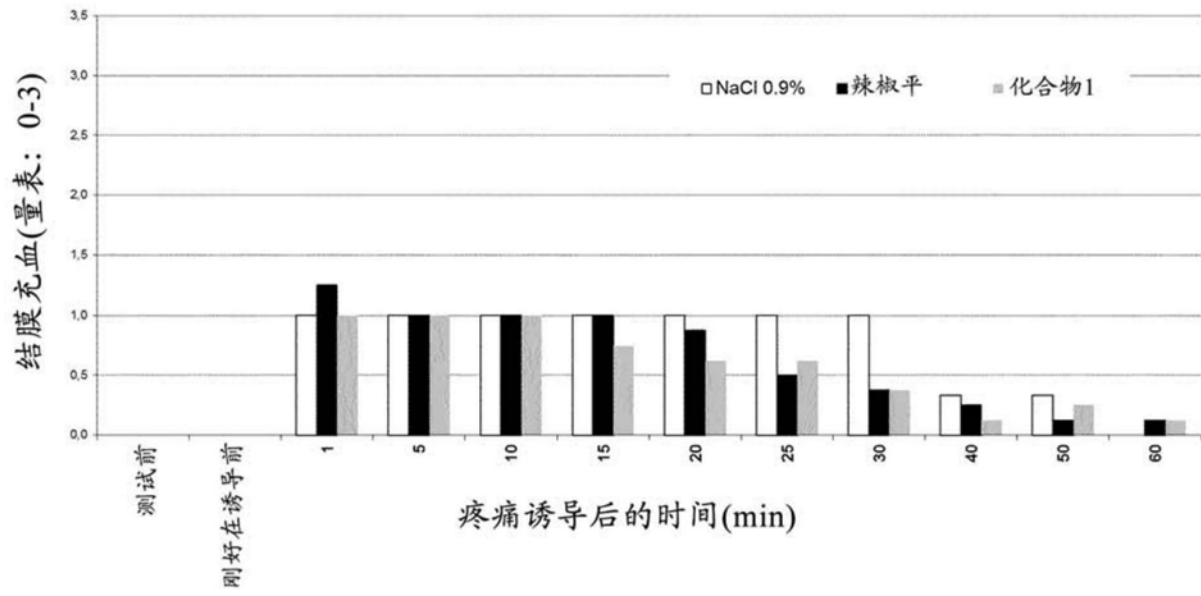


图3

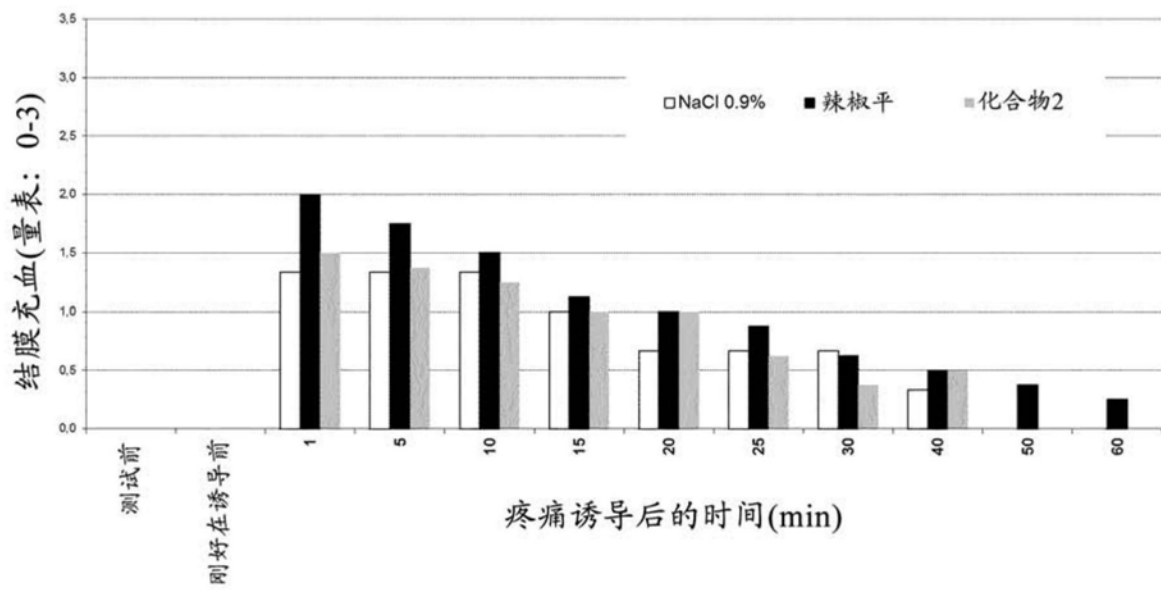


图4

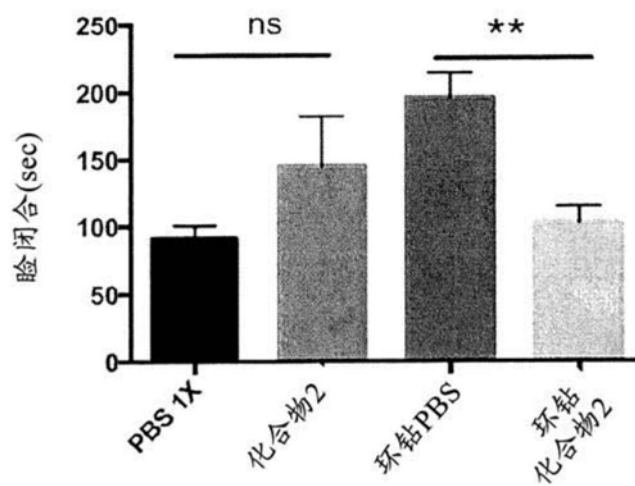


图5

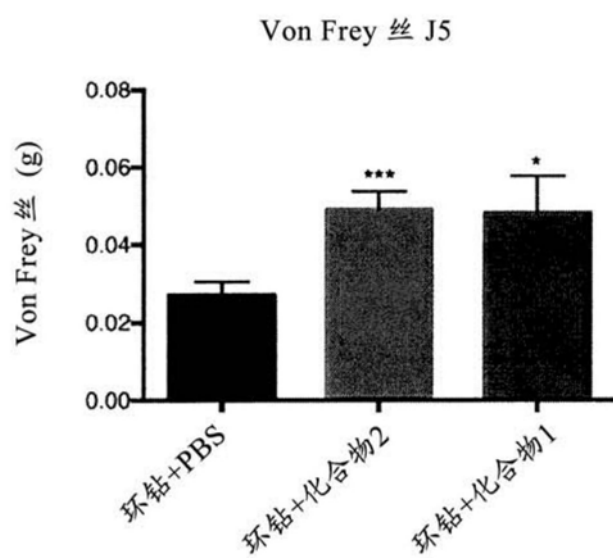


图6

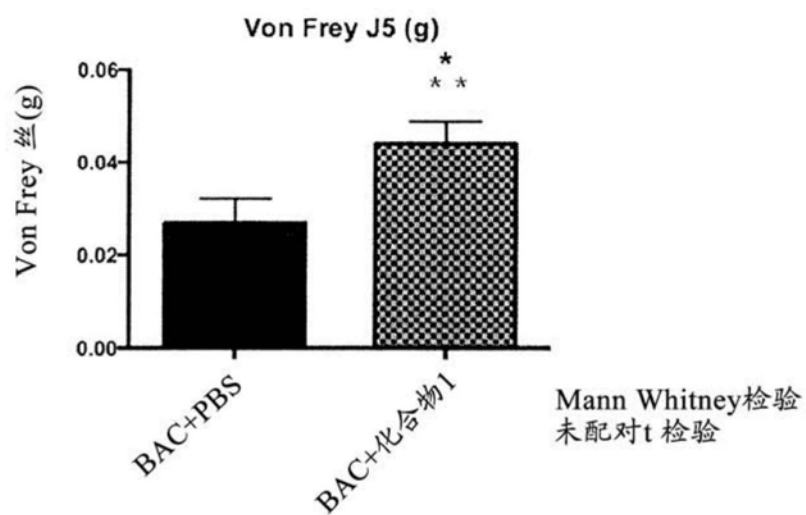


图7

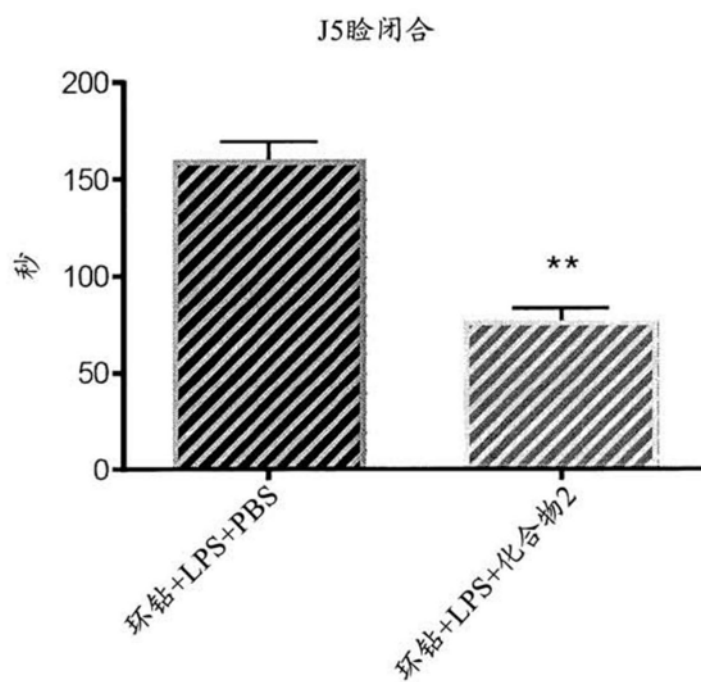


图8