



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101951905 A

(43) 申请公布日 2011. 01. 19

(21) 申请号 200980105339. 5 *A61K 31/4174* (2006. 01)
(22) 申请日 2009. 01. 21 *A61K 31/437* (2006. 01)
(30) 优先权数据 *A61K 31/455* (2006. 01)
0850389 2008. 01. 22 FR *A61K 31/513* (2006. 01)
A61K 31/517 (2006. 01)
(85) PCT申请进入国家阶段日 *A61P 35/00* (2006. 01)
2010. 08. 16 *A61P 35/04* (2006. 01)
(86) PCT申请的申请数据
PCT/FR2009/050081 2009. 01. 21
(87) PCT申请的公布数据
W02009/095583 FR 2009. 08. 06
(71) 申请人 国家研究中心
地址 法国巴黎
(72) 发明人 P·鲁 M·德托勒多
J·P·勒奥内蒂 C·安吉勒
(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 11038
代理人 罗菊华
(51) Int. Cl.
A61K 31/426 (2006. 01)
A61K 31/167 (2006. 01)
A61K 31/402 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图 2 页

(54) 发明名称

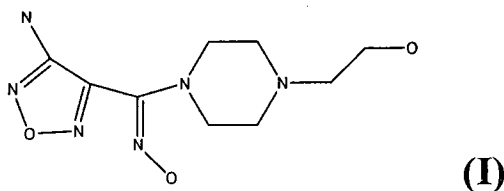
氨肽酶抑制剂或氮杂吡啶化合物用于预防或
治疗上皮来源的癌转移的用途

(57) 摘要

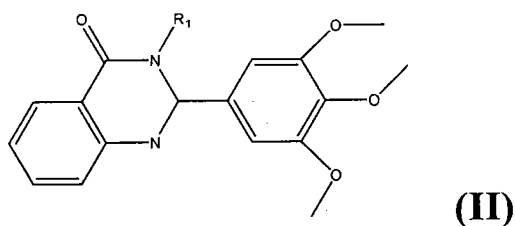
选自氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物的
化合物在制备用于预防或治疗人或动物中的癌
转移的药物中的用途。

1. 选自氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物的化合物在制备用于预防或治疗人或动物中的癌转移的药物中的用途。

2. 根据权利要求 1 的用途,其特征在於,所述氨肽酶抑制剂化合物为下述式 (I) 的化合物:

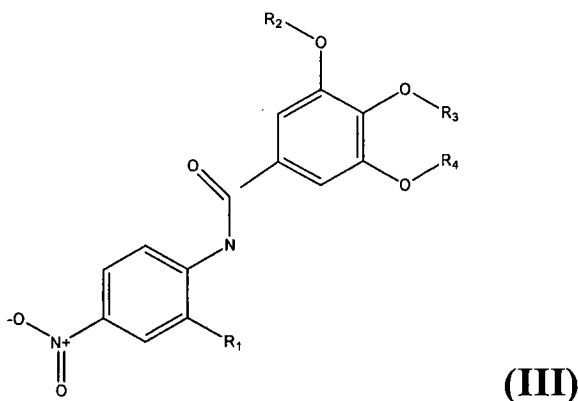


3. 根据权利要求 1 的用途,其特征在於,所述氮杂吡啶化合物为下述式 (II) 的化合物:



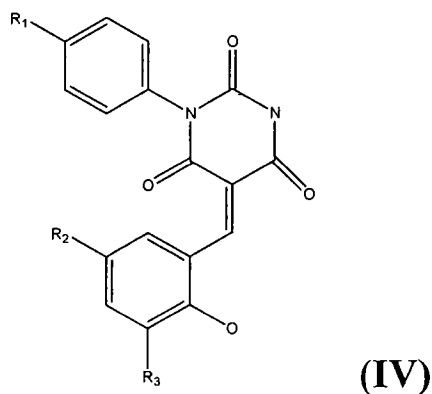
其中基团 R_1 为具有 1 至 6 个碳原子的直链或支化的烷基。

4. 根据权利要求 1 的用途,其特征在於,所述氮杂吡啶化合物为下述式 (III) 的化合物:



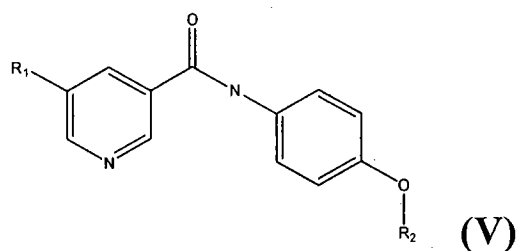
其中基团 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自相互独立地表示具有 1 至 6 个碳原子的烷基。

5. 根据权利要求 2 的用途,其特征在於,所述氮杂吡啶化合物为下述式 (IV) 的化合物:



其中基团 R_1 、 R_2 和 R_3 各自相互独立地表示选自 F、Cl、I 和 Br 的卤素。

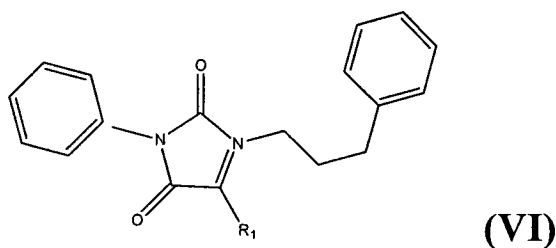
6. 根据权利要求 1 的用途,其特征在于,所述氮杂吡啶化合物为下述式 (V) 的化合物:



其中:

- 基团 R₁ 为选自 F、Cl、I 和 Br 的卤素,并且
- 基团 R₂ 为具有 1 至 6 个碳原子的直链或支化的烷基。

7. 根据权利要求 1 的用途,其特征在于,所述氮杂吡啶化合物为下述式 (VI) 的化合物:



其中基团 R₁ 为选自 F、Cl、I 和 Br 的卤素。

8. 根据权利要求 1 的用途,其特征在于,所述氮杂吡啶化合物选自下列化合物:

- 4-[[[3-(4-氟苯基)-4-氧代-2-硫代-1,3-噻唑烷-5-亚基]甲基]苯甲酸甲酯;
- 3,4,5-三乙氧基-N-(2-甲基-4-硝基苯基)苯甲酰胺;
- 5-(5-溴-3-氯-2-羟基亚苄基)-1-(4-氯苯基)-2,4,6(1H,3H,5H)-嘧啶三酮;
- 5-溴-N-(4-丁氧基苯基)烟酰胺;和
- 3-氯-1-苯基-4-[(2-苯基乙基)氨基]-1H-吡咯-2,5-二酮。

9. 根据权利要求 1 至 8 中任一项的用途,其特征在于,所述药物用于预防或治疗上皮癌。

10. 根据权利要求 9 的用途,其特征在于,所述上皮癌选自结肠直肠癌和乳腺癌。

氨肽酶抑制剂或氮杂吡啶化合物用于预防或治疗上皮来源的癌转移的用途

发明领域

[0001] 本发明涉及癌症的治疗性治疗的领域,更具体而言,涉及在人或动物中的癌症的情况下预防或治疗转移。

现有技术

[0002] 一般而言,大约 35% 的新诊断为患有癌症的患者没有转移。这些患者可以通过针对肿瘤的局部治疗,例如外科手术或暴露于某些辐射而得到治愈。

[0003] 其余的新诊断的患者包括 (I) 已经具有可检测的转移的患者 (30% 的患者),和 (II) 在诊断时没有可检测的转移的患者 (35% 的患者)。这其余患者的治疗通常是全身治疗,其包括例如,施用干扰癌细胞生长的化学治疗药物。

[0004] 肿瘤侵袭过程是在患有癌症的患者中死亡率的主要原因。

[0005] 已经知道,在某些癌症中,肿瘤细胞不仅具有强的增殖能力,而且还具有强的破坏组织并浸润到邻近组织中(其中包括浸润到血管和淋巴管中),然后通过血液循环或淋巴循环从局部的组织迁移至离原发性肿瘤非常远的身体部位处的能力。因此,在某些癌症中,肿瘤细胞具有这样的能力,即进行循环然后在远离原发性肿瘤的组织中形成继发性肿瘤(也称为转移)。

[0006] 转移的形成是多步骤的生理学现象,在该过程中,肿瘤细胞从原发性肿瘤上脱落,侵入细胞外基质,穿过血管,通过内渗而进入血管系统,然后在远距离位点处停止其在血液循环或淋巴循环中的迁移,通过外渗而离开循环,然后停留在远距离的组织中,并进行增殖从而形成继发性肿瘤。

[0007] 此外,上皮是人或动物有机体中最丰富的组织类型。这无疑是超过 90% 的在人类中的癌症源于上皮细胞的恶性转化的原因之一。特别地,结肠直肠类型的上皮癌是工业化国家中由癌症所造成的死亡率的第二大原因。

[0008] 在大多数的癌症情况下(包括对于上皮癌),死亡率不是由于原发性肿瘤,而是由于从原发性肿瘤开始在有机体中全身性扩散的转移。导致肿瘤侵袭(其在临床上表现为转移的产生)的该恶性发展,最初受到某些肿瘤细胞的细胞粘着的丧失以及受到细胞活动性的增加的制约,这招致,在人或动物有机体中这些侵袭性肿瘤细胞离开原发性肿瘤的组织,然后定居在一个或多个靶组织中,有时是在离原发性肿瘤位点非常远的靶组织中。在上皮癌中,该恶性进展伴有在原发肿瘤水平上通过 E-钙粘着蛋白实现的细胞间连接的丧失。

[0009] 在上皮癌中,结肠直肠癌是工业化国家中第二种最频发的癌症。结肠直肠癌的演变是以起始阶段(其归因于影响细胞的增殖特性的基因组失调)开始的一系列事件。第二个阶段是肿瘤进展阶段,其导致细胞形态学的变化和经转化的细胞克隆的出现。最后,最后一个阶段是由上皮-间充质转变(*transition épithélio-mésenchymateuse*)引起的侵袭阶段,所述上皮-间充质转变是被定义为上皮细胞与邻近细胞相分开并向着有机体的其他部位迁移的能力的转变。

[0010] 在实践中,已证明全身性的抗癌治疗性治疗对于转移的影响甚微,特别是对于大转移 (macro-métastases),其驻留在远离原发性肿瘤位点的器官(例如肺、肝脏、骨髓或脑)中。因此,癌症患者经常因为由癌细胞转移所引起的转移癌而死亡。

[0011] 此外,直至目前,抗侵袭分子的研究通常基于:(i) 候选化合物抑制肿瘤细胞生长的能力,或者(ii) 候选化合物抑制细胞迁移的能力。但是,根据第一种策略,所选择出的化合物对于侵袭性细胞的扩散没有作用,并因此对于转移过程本身没有作用。而在第二种情况下,所述化合物可以具有抑制细胞在有机体中迁移并形成转移的能力的活性,但是对于已经迁移的转移性细胞没有作用。

[0012] 因此,在现有技术中存在有这样的需要:鉴定出具有预防或治疗患有癌症的患者中的转移的能力的活性物质,以便显著提高治愈这些患者的机会。

[0013] 发明简述

[0014] 本发明的目标在于,选自氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物的化合物在制备用于预防或治疗人或动物中的癌转移的药物中的用途。

[0015] 特别地,本发明涉及选自式(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)和(VI)的化合物(其在本说明书下文中详细描述)的抗转移化合物在制备用于预防或治疗人或动物中的癌转移的药物中的用途。

[0016] 本发明涉及上面所定义的用途,所述用途为预防或治疗在上皮癌的情况下的转移,其中包括在结肠直肠癌、乳腺癌、肝癌、胰腺癌、前列腺癌和子宫癌的情况下。

[0017] 附图描述

[0018] 图1是图解说明了本发明的式(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)和(VI)的化合物中的每一种的抗转移效应的图。纵坐标:所测试的细胞的侵袭能力,表示为相对于已任意地规定为100%的SW620系细胞(ATCC No. CCL-227)的侵袭能力而言的百分比。横坐标,从左至右:(i)用单独的培养基进行温育的结肠直肠转移性SW620系细胞,(ii)用单独的培养基进行温育的非转移性Hct116系细胞,和(iii)用添加有式(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)和(VI)的化合物中的每一种的培养基进行温育的转移性SW620系细胞。图1中所显示的结果是三次实验的平均值。

[0019] 图2是图解说明了本发明的式(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)和(VI)的化合物中的每一种在其他细胞系中的抗转移效应的图。纵坐标:所测试的细胞的侵袭能力,表示为相对于已任意地规定为100%的CoLo205系细胞(ATCC No. CCL-222)的侵袭能力而言的百分比。横坐标,从左至右:(i)用单独的培养基,或者用添加有式(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)和(VI)的化合物中的每一种的培养基进行温育的结肠直肠转移性CoLo205系细胞(ATCC No. CCL-222)。图2中所显示的结果是三次实验的平均值。

[0020] 图3是图解说明了本发明的式(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)和(VI)的化合物中的每一种的抗转移效应的图。纵坐标:所测试的细胞的侵袭能力,表示为相对于已任意地规定为100%的结肠直肠转移性SK-Co1系细胞(ATCC No. HTB-77)的侵袭能力而言的百分比。横坐标,从左至右:(i)用单独的培养基,或者用添加有式(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)和(VI)的化合物中的每一种的培养基进行温育的结肠直肠转移性SK-Co1系细胞(ATCC No. HTB-77)。图3中所显示的结果是三次实验的平均值。

[0021] 图4是图解说明了本发明的式(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)和(VI)的化合物中的

每一种的抗转移效应的图。纵坐标：所测试的细胞的侵袭能力，表示为相对于已任意地规定为 100% 的乳腺腺癌转移性 MDA-MB-231 系细胞 (ATCC No. HTB-26) 的侵袭能力而言的百分比。横坐标，从左至右：(i) 用单独的培养基进行温育的转移性 SW620 系细胞，(ii) 用单独的培养基进行温育的非转移性 Hct116 系细胞，和 (iii) 用单独的培养基或者用添加有式 (I)、(II)、(III)、(IV)、(V) 和 (VI) 的化合物中的每一种的培养基进行温育的转移性的乳腺腺癌转移性 MDA-MB-231 系细胞 (ATCC No. HTB-26)。图 4 中所显示的结果是三次实验的平均值。

[0022] 发明详述

[0023] 本发明提供了用于在各种癌症中预防或治疗转移的新型手段，特别是在上皮癌中，其中包括结肠直肠癌、乳腺癌、肝癌、胰腺癌、前列腺癌和子宫癌。

[0024] 令人惊奇地，根据本发明已证明，抑制氨肽酶的化合物和氮杂吡啶类的化合物具有这样的能力，即抑制或阻断最初能够产生转移的癌细胞的侵袭特性。

[0025] 更准确地，根据本发明已证明，抑制氨肽酶的化合物和氮杂吡啶类的化合物具有这样的能力，即抑制或阻断来源于各种上皮癌（例如结肠直肠癌或乳腺癌）的转移性细胞的迁移特性。

[0026] 这些化合物的抗转移特性的鉴定使得申请人能够开发出用于预防或治疗人或动物中的癌转移的药物组合物，所述药物组合物包含作为活性成分的至少一种选自氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物的化合物。新的预防或治疗特性的这种鉴定使得可能使用这些化合物来制备具有抗转移活性的药物组合物。

[0027] 因此，本发明涉及选自氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物的化合物，其用于预防或治疗人或动物中的癌转移。

[0028] 本发明的目标还在于选自氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物的化合物在制备用于预防或治疗人或动物中的癌转移的药物中的用途。

[0029] 如在实施例中所举例说明的那样，根据本发明的氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物具有促使癌细胞（例如转移性结肠直肠癌细胞和转移性乳腺腺癌细胞）的侵袭表型逆转的能力。

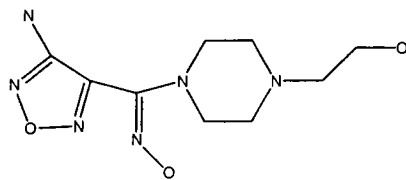
[0030] 此外，申请人已证明，根据本发明所鉴定的氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物不具有细胞毒性。

[0031] 并不希望束缚于任何理论，申请人认为，根据本发明所鉴定的氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物的抗转移特性是由于这些化合物全体所共有的能力，该能力为诱导与转移性癌细胞表面上 E-钙粘着蛋白的表达相关的细胞连接的重建。

[0032] 可以证实本发明的抗转移化合物诱导癌细胞表面上 E-钙粘着蛋白的表达并因此诱导与 E-钙粘着蛋白的该表达相关的细胞连接的重建的能力，尤其是通过施行以 WO 2006/134305 公开的 PCT 申请 (Centra National de la Recherche Scientifique-ROUX Pierre 和 DE TOLEDO Marion) 中所描述的测试。

[0033] 依照根据本发明使用的抗转移化合物的第一个实施方案，所述化合物为下述式 (I) 的氨肽酶抑制剂化合物：

[0034]



(I)

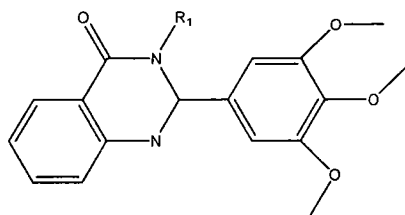
[0035] [请发明人明确指明化合物 (I) 的结构类似物]

[0036] 在本说明书中, 式 (I) 的化合物还被指定为 2-(4-[(4-氨基-1,2,5-二噁唑-3-基)(羟基亚氨基)甲基]-1-哌嗪基)乙醇这一化合物。

[0037] 式 (I) 的化合物可以根据本领域技术人员已知的任何合成方法来合成。为了合成式 (I) 的化合物, 本领域技术人员可以特别地参考在下述文献中所描述的方法: Synthesis of secondary and tertiary aminofurazans. Sheremetev, A. B. ; An drianov, V. G. ; Mantseva, E. V. ; Shatunova, E. V. ; Aleksandrova, N. S. ; Yudin, I. L. ; Dmitriev, D. E. ; Averkiev, B. B. ; Antipin, M. Yu. N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. Russian Chemical Bulletin (Izvestiya Akademii Nauk, Seriya Khimicheskaya 的翻译) (2004), 53 (3), 596-614. 出版者: Kluwer Academic/Consultants Bureau, CODEN: RCBUEY ISSN: 1066-5285. 用英语书写的杂志. CAN 142: 219211 AN 2004: 589877 CAPLUS.

[0038] 依照根据本发明使用的抗转移化合物的第二个实施方案, 所述化合物为下述式 (II) 的氮杂吡啶化合物:

[0039]



(II)

[0040] 其中基团 R_1 为具有 1 至 8 个碳原子的直链或支化的烷基。

[0041] “烷基”意指任选地被杂原子中断的、直链或支化的脂族烃基团, 所述烷基可以是未取代的或者在碳原子上被一个或多个相同或不同的取代基取代的, 所述取代基选自: 芳基、羟基、烷氧基 (alcoxy)、芳氧基、烷基氧基 (alkyloxy)、芳烷基氧基。“支化的”烷基意指与直链烷基链相连接的具有 1、2、3、4 或 5 个碳原子的低级烷基, 例如甲基、乙基或丙基。优选的烷基为具有 1、2、3、4、5、6、7 或 8 个碳原子的烷基。烷基的例子为甲基、乙基、异丙基、叔丁基、庚基、癸基或环己基甲基。

[0042] “烷氧基”意指烷基 -O- 基团, 其中烷基如前面所定义。烷氧基基团包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基和庚氧基。

[0043] “芳氧基”意指芳基 -O- 基团, 其中芳基如前面所定义。芳氧基包括苯氧基和萘氧基。

[0044] “芳烷基”意指被一个或多个芳基取代的烷基。

[0045] “芳烷基氧基”意指芳烷基 -O- 基团, 其中芳烷基如前面所定义。芳烷基氧基包括苄氧基。

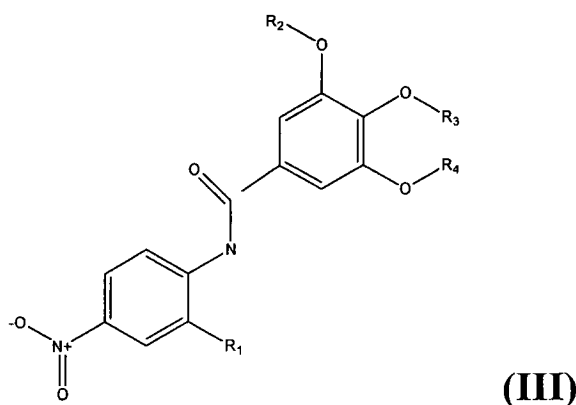
[0046] 根据本发明的优选的式 (II) 的化合物为其中基团 R_1 表示丙基的化合物, 其在本

说明书中还可以被指定为 4-[(3-(4-氟苯基)-4-氧代-2-硫代-1,3-噻唑烷-5-亚基)甲基]苯甲酸甲酯这一化合物。

[0047] 式 (II) 的化合物可以根据本领域技术人员已知的任何合成方法来合成。为了合成式 (II) 的化合物,本领域技术人员可以特别地参考在下述文献中所描述的方法:quinazolinone compounds. (Tanabe Seiyaku Co., Ltd., Japan). Jpn. Kokai Tokkyo Koho(1982), 第 5 页 CODEN:JKXXAF JP 57011970 A 19820121 Showa. 用日语书写的专利. 申请:JP 80-86044 19800624. 优先权:CAN 97:72383 AN 1982:472383 CAPLUS。

[0048] 依照根据本发明使用的抗转移化合物的第三个实施方案,所述化合物为下述式 (III) 的氮杂吡啶化合物:

[0049]



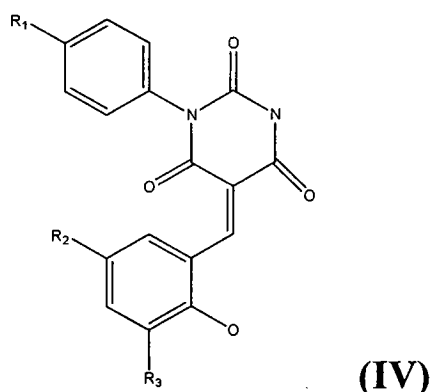
[0050] 其中基团 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各自相互独立地表示具有 1 至 8 个碳原子的烷基,其定义与式 (II) 的化合物的基团 R_1 的定义相同。

[0051] 优选的式 (III) 的化合物为其中基团 R_1 表示甲基并且基团 R_2 、 R_3 和 R_4 表示乙基的化合物,所述化合物还可以被指定为 3,4,5-三乙氧基-N-(2-甲基-4-硝基苯基)苯甲酰胺这一化合物。

[0052] 式 (III) 的化合物可以根据本领域技术人员已知的任何合成方法来合成。为了合成式 (III) 的化合物,本领域技术人员可以特别地参考在下述文献中所描述的方法: Microwave-assisted synthesis of salicylamide via BCl_3 mediated coupling. Zhang, Lei; Zhang, John Y. CytRx Laboratories, Inc., Worcester, MA, USA. Journal of Combinatorial Chemistry (2005), 7(4), 622-626. 出版者: American Chemical Society, CODEN:JCCHFF ISSN:1520-4766. 用英语书写的杂志. CAN 143:211699 AN 2005:538799 CAPLUS。

[0053] 依照根据本发明使用的抗转移化合物的第四个实施方案,所述化合物为下述式 (IV) 的氮杂吡啶化合物:

[0054]



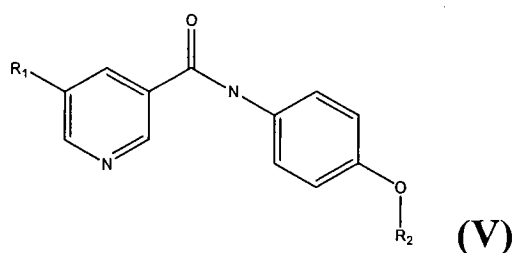
[0055] 其中基团 R_1 、 R_2 和 R_3 各自相互独立地表示选自氟原子 (F)、氯原子 (Cl)、碘原子 (I) 和溴原子 (Br) 的卤素。

[0056] 根据本发明的优选的式 (IV) 的化合物为其中基团 R_1 和 R_3 各自表示氯原子并且基团 R_2 表示溴原子的化合物,所述化合物还可以被指定为 5-(5-溴-3-氯-2-羟基亚苄基)-1-(4-氯苯基)-2,4,6(1H,3H,5H)-嘧啶三酮这一化合物。

[0057] 式 (IV) 的化合物可以根据本领域技术人员已知的任何合成方法来合成。为了合成式 (IV) 的化合物,本领域技术人员可以特别地参考在下述文献中所描述的方法: Synthesis of pyrimidine derivatives possessing an antioxidative property and their inhibitory effects on picryl chloride-induced contact hypersensitivity reaction. Isobe, Yoshiaki ;Hirota, Kosaku. Pharmaceuticals and Biotechnology Laboratory, Japan Energy Corporation, Saitama, Japan. Chemical & Pharmaceutical Bulletin(2003),51(12),1451-1454. 出版者:Pharmaceutical Society of Japan,CODEN: CPBTAL ISSN:0009-2363. 用英语书写的杂志.CAN 140:174446 AN 2003:989349 CAPLUS.

[0058] 依照根据本发明使用的抗转移化合物的第五个实施方案,所述化合物为下述式 (V) 的氮杂吡啶化合物:

[0059]



[0060] 其中:

[0061] - 基团 R_1 为选自氟原子 (F)、氯原子 (Cl)、碘原子 (I) 和溴原子 (Br) 的卤素,并且

[0062] - 基团 R_2 为具有 1 至 8 个碳原子的直链或支化的烷基,其定义与式 (II) 的化合物的基团 R_1 的定义相同。

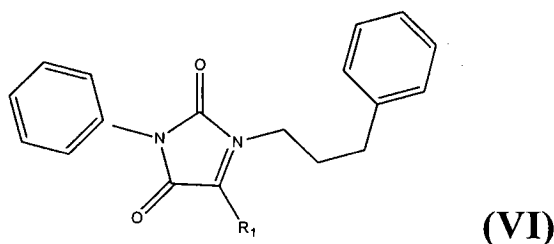
[0063] 优选的式 (V) 的化合物为其中基团 R_1 表示溴原子并且基团 R_2 表示乙基的化合物,所述化合物还可以被指定为 5-溴-N-(4-丁氧基苯基)烟酰胺这一化合物。

[0064] 式 (V) 的化合物可以根据本领域技术人员已知的任何合成方法来合成。为了合成式 (V) 的化合物,本领域技术人员可以特别地参考在下述文献中所描述的方法: Application of organolithium and related reagents in synthesis,30. Behavior of

N-pyridylbenzamides versus benzanilides in the ortho-directed lithiation of masked aromatic carboxylic acids. Jozwiak, Andrzej; Brzezinski, Jacek Z.; Plotka, Mieczyslaw W.; Szczesniak, Aleksandra K.; Malinowski, Zbigniew; Epsztajn, Jan. Department of Organic Chemistry, Institute of Chemistry, University of Lodz, Lodz, Pol. European Journal of Organic Chemistry (2004), (15), 3254-3261. 出版者: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, CODEN: EJOCHF ISSN: 1434-193X. 用英语书写的杂志. CAN 141:295825 AN 2004:636845 CAPLUS.

[0065] 依照根据本发明使用的抗转移化合物的第六个实施方案,所述化合物为下述式(VI)的氮杂吡啶化合物:

[0066]



[0067] 其中基团 R₁ 为选自氟原子 (F)、氯原子 (Cl)、碘原子 (I) 和溴原子 (Br) 的卤素。

[0068] 式 (VI) 的化合物还可以被指定为 3-氯-1-苯基-4-[(2-苯基乙基)氨基]-1H-吡咯-2,5-二酮这一化合物。

[0069] 式 (VI) 的化合物可以根据本领域技术人员已知的任何合成方法来合成。式 (VI) 的化合物是商业中容易得到的化合物。尤其可以提及为 3-氯-1-苯基-4-[(2-苯基乙基)氨基]-1H-吡咯-2,5-二酮的式 (VI) 的化合物,其尤其由 Chembridge 公司 (San Diego, Etats-Unis d'Amérique) 以参考 ID 6137235 进行销售。

[0070] 因此,根据本发明,在制备用于预防或治疗人或动物中的癌转移的药物中所使用的优选的活性成分选自:

[0071] -4-[(3-(4-氟苯基)-4-氧代-2-硫代-1,3-噻唑烷-5-亚基)甲基]苯甲酸甲酯;

[0072] -3,4,5-三乙氧基-N-(2-甲基-4-硝基苯基)苯甲酰胺;

[0073] -5-(5-溴-3-氯-2-羟基亚苄基)-1-(4-氯苯基)-2,4,6(1H,3H,5H)-嘧啶三酮;

[0074] -5-溴-N-(4-丁氧基苯基)烟酰胺;和

[0075] -3-氯-1-苯基-4-[(2-苯基乙基)氨基]-1H-吡咯-2,5-二酮。

[0076] 根据第一个优选的方面,根据本发明的目的氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物用于制备药物,所述药物用于预防或治疗上皮癌。

[0077] 根据第二个优选的方面,根据本发明的目的氨肽酶抑制剂化合物和氮杂吡啶化合物用于制备药物,所述药物用于预防或治疗选自结肠直肠癌和乳腺癌的上皮癌。

[0078] 在根据本发明的药物组合物之中,更特别地可以提及适合于口服、肠胃外、鼻、透皮、经皮、直肠、经舌或吸入施用的那些,并且尤其是简单片剂或糖衣片剂、舌下片剂、明胶胶囊 (gélule)、糯米纸囊剂 (tablette)、栓剂、霜剂、软膏剂、皮肤凝胶剂以及可饮用或可注射的安瓿剂。

[0079] 使用剂量根据患者的性别、年龄和体重,根据施用途径,以及根据癌症的类型、癌

症的进展状态,特别是根据在患者中是否检测到转移而变化。使用剂量还可以根据相关的抗癌治疗的类型而变化。

[0080] 通常,以对于平均体重为 80 公斤的成年男性或女性而言 0.01mg 至 1g/24 小时的量(以一次或多次摄取)来使用在本说明书中所定义的抗转移化合物。

[0081] 根据本发明的药物组合物包含与至少一种赋形剂相联合的抗转移化合物,所述赋形剂选自药学上可接受的赋形剂。

[0082] 通常,根据本发明的药物组合物包含相对于所述组合物的总重量而言 0.01 重量%至 99 重量%,有利地 1 重量%至 90 重量%的抗转移化合物。

[0083] 通常,根据本发明的药物组合物包含 1 重量%至 99.99 重量%,有利地 10 重量%至 99 重量%的药学上可接受的赋形剂或此类赋形剂的组合。

[0084] 本发明的药物组合物可以用于肠胃外、表面或局部施用,并且以预防性和/或治疗性方式。因此,根据本发明的抗转移化合物以适于所选择的施用类型的形式来进行制备,例如以液体的形式或者以冻干的形式。包含根据本发明的抗转移化合物的药物组合物可以包含赋形剂和/或药学上可接受的载体,优选地水性载体。可以使用许多赋形剂和/或药学上可接受的载体,例如水,经缓冲的水,盐水溶液,甘氨酸及其衍生物的溶液,以及再现生理条件所必需的试剂,例如缓冲剂和 pH 调节剂,表面活性剂例如乙酸钠、乳酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙,该列表不是限制性的。此外,所述药物组合物可以通过本领域技术人员公知的灭菌技术来进行灭菌。

[0085] 关于非毒性的、药学上可接受的惰性赋形剂或载体,以说明性而非限制性的方式还可以提及稀释剂、溶剂、防腐剂、润湿剂、乳化剂、分散剂、粘结剂、膨胀剂、崩解剂、延缓剂、润滑剂、吸收剂、悬浮试剂、着色剂、调味香料等。

[0086] 当制备以片剂形式的固体组合物时,将主要活性成分与药学载体例如明胶、淀粉、乳糖、硬脂酸镁、滑石、阿拉伯胶或类似物相混合。

[0087] 可以用蔗糖或其他合适的原料包裹片剂,或者还可以处理片剂从而使得他们具有延长或延迟的活性,并且它们连续地释放预定量的活性成分。

[0088] 通过将活性成分与稀释剂相混合并且将所获得的混合物灌入软或硬明胶胶囊中来获得明胶胶囊形式的制剂。

[0089] 糖浆剂或酏剂形式的药物组合物可以包含活性物质,以及与之相联合的甜味剂(优选地不产生热量的),作为防腐剂的 4-羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯,以及提供味道的试剂和合适的着色剂。

[0090] 在水中可分散的粉剂或颗粒剂可以包含活性成分,以及与之相混合的分散剂或润湿剂或悬浮试剂,例如聚乙烯吡咯烷酮,还有甜味剂或味道矫正剂。

[0091] 还可以以微胶囊的形式来配制活性成分,任选地用一种或多种承载体或添加剂。

[0092] 通常,为了制备根据本发明的药物组合物,本领域技术人员可以有利地参考欧洲药典的最新版本,例如参考 2005 年 1 月出版的欧洲药典第 5 版,或者参考 2007 年 6 月公众可获得的欧洲药典第 6 版。

[0093] 本领域技术人员可以容易地找到用于制备根据本发明的药物组合物的技术,例如在著作 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mid. Publishing Co, Easton, PA, USA 中。

[0094] 生理学上可接受的辅助剂、载体和赋形剂在题目为“Handbook of Pharmaceutical Excipients”的著作,第二版, American Pharmaceutical Association, 1994 中也做了描述。

[0095] 为了配制根据本发明的药物组合物,本领域技术人员可以有利地参考欧洲药典或美国药典 (USP) 的最新版本。

[0096] 尤其有利地,本领域技术人员可以参考美国药典的 USP 30-NF 25 版本。

[0097] 有利地,如上面所定义的药物组合物适于口服、肠胃外或静脉内施用。

[0098] 当根据本发明的药物组合物包含至少一种药学上或生理学上可接受的赋形剂时,特别地涉及适合于通过口服途径施用该组合物的赋形剂,或者适合于通过肠胃外途径施用该组合物的赋形剂。

[0099] 本发明还涉及用于预防或治疗与骨代谢平衡失调相关的病症,特别是与骨量 (masse osseuse) 丧失相关的病症的方法,所述方法包括这样的步骤,在该步骤中向患者施用治疗有效量的在本说明书中所定义的抗转移化合物或者包含所述抗转移化合物的药物组合物。

[0100] 包含根据本发明的抗转移化合物的药物组合物无区别地呈现为固体形式或液体形式。

[0101] 为了口服施用,推荐以片剂、胶囊或明胶胶囊形式的固体药物组合物。

[0102] 以液体的形式,推荐以水性悬浮液或非水性悬浮液形式,或者以油包水或水包油乳状液形式的药物组合物。

[0103] 固体药物形式可以包含至少一种稀释剂、调味香料、增溶剂、润滑剂、悬浮试剂、粘剂、崩解剂和包囊用试剂作为载体、辅助剂或赋形剂。

[0104] 此类化合物例如碳酸镁、硬脂酸镁、滑石、乳糖、果胶、糊精、淀粉、明胶、纤维素物质、可可脂等。

[0105] 液体形式的组合物还可以包含水,在需要的情况下与丙二醇或聚乙二醇相混合,以及任选地还有着色剂、调味香料、稳定剂和增稠剂。

[0106] 通过下面的实施例来进一步举例说明本发明,而并非限制本发明。

[0107] 实施例 1: 本发明的抗转移化合物的抗侵袭特性

[0108] A. 材料与方法

[0109] 1. 在 96 孔平板中的 E- 钙粘着蛋白标记实验方案

[0110] 1- 对于结肠直肠系,每孔接种大约 10,000 个细胞 (在 Falcon 96 孔平板中, ref : 353072)。

[0111] 2- 进行必需的处理 (对照、化合物 (I)、(II) 等,48 小时),并用福尔马林 (3.7% 甲醛,在 PBS 中) 固定 10 分钟。

[0112] 3- 饱和,10 分钟 PBS-BSA。

[0113] 4- 用一抗 (在 PBS-BSA 中稀释至 1 : 500) 进行温育,在 37°C 下 2 小时 (小鼠抗 E- 钙粘着蛋白, ZYMED, ref : 13-1700)。

[0114] 5- 用 PBS-0.1% Tween 进行 2 次快速漂洗。

[0115] 6- 用生物素化的抗小鼠 Ab (在 PBS-BSA 中的 1 : 1000 稀释度) 进行温育,在 37°C 下 30 分钟 (抗小鼠 IgG (重链和轻链特异性) 生物素缀合物, CALBIOCHEM, ref : 401213)。

- [0116] 7- 用 PBS-0.1% Tween 进行 2 次快速漂洗。
- [0117] 8- 用链霉抗生物素蛋白-HRP(在 PBS-BSA 中稀释至 1 : 1000) 进行温育,在 37°C 下 30 分钟 (ECL 链霉抗生物素蛋白-辣根过氧化物酶缀合物,AMERSHAM BIOSCIENCES,ref : RPN1231)。
- [0118] 9- 用 PBS-0.1% Tween 进行 2 次快速漂洗。
- [0119] 10- 揭示 :
- [0120] 在 100ml 去离子水中溶解一粒胶囊的“包含过硼酸钠的磷酸盐-柠檬酸盐缓冲液”(SIGMA,ref :P4922)。该缓冲液应当在其重构后 30 分钟内使用。
- [0121] 在该缓冲液中溶解邻苯二胺 (OPD) 二盐酸盐的片剂 (SIGMA,ref :P6787),以获得 0.4mg/ml 的终浓度 (1 粒 10mg 的 OPD 锭剂在 40ml 过硼酸盐缓冲液中)。
- [0122] 每孔放置 100 μ l OPD/ 过硼酸盐,并在环境温度下温育 5 分钟。
- [0123] 用 50 μ l 3N HCl 来终止反应。
- [0124] 在 490nm 处读取 OD。
- [0125] 2. 侵袭测试
- [0126] 1- 在 J-2,在 4°C 下使基质胶 (matrigel) 解冻过夜……
- [0127] 2- 在 J-1,将基质胶倒入小室 (nacles) 中:
- [0128] 将全部所需材料置于冰上 (基质胶、培养基、锥形头 (**cône**)、ependorf 等)。
- [0129] 将 fluoroblocks 插片 (inserts) (FALCON,ref :351152) 置于 24 孔平板 (FALCON,ref :353504) 中。
- [0130] 在冷的无血清培养基中将基质胶稀释至 2mg/ml (如果细胞应当经历处理 X,那么在基质胶中包括该产品,例如 :Y27632)。
- [0131] 每个插片分配 100 μ l 的 2mg/ml 基质胶,同时避免产生气泡……
- [0132] 让其在潮湿的气氛中于 37°C 过夜。
- [0133] 3- 第 J 天,将细胞接种在基质胶上:
- [0134] 首先,将 700 μ l 含 10% 血清的培养基放入 24 孔平板中,并将插片转移至该板中。
- [0135] 用胰蛋白酶消化细胞 (预先经处理或未处理……),并重新置于含 2% 血清的培养基中。
- [0136] 将在 200 μ l 含 2% 血清的培养基中的 50,000 个细胞 / 插片接种在基质胶上 (任选地,将 Y27632 置于所接种的细胞中)。
- [0137] 4- 迁移时间是根据细胞类型而可变的,但通常让其迁移 8 小时 (其中每 2 小时固定一个点) 看来是合适的。
- [0138] 为了进行固定,将插片转移到含有 1ml 福尔马林 (3.7% 甲醛,在 PBS 中) 的 24 孔平板中,吸去小室内的培养基,并且还添加福尔马林 (这非常重要,避免了细胞在基质胶中继续迁移!!!)。温育 10 分钟。
- [0139] 用 PBS 进行 3 次快速漂洗。
- [0140] 然后,通过在避光下于 4°C 在 1ml 的于 PBS 中的 1 : 500 碘化丙锭 (SIGMA,ref : P-4864) 之中使插片温育过夜,来用碘化丙锭进行标记。
- [0141] B. 结果
- [0142] B. 1. 本发明的抗转移化合物诱导细胞间连接的重建的能力

[0143] 就其在 SW620 系细胞的体外培养物中诱导细胞间连接的重建的能力而测试了式 (I) 至 (VI) 的化合物,其中使用在“材料与方法”部分中所描述的 E-钙粘着蛋白标记测试。

[0144] 作为阴性对照,使用在抗转移化合物不存在下在单独的培养基中进行温育的 SW620 系细胞。获得了 0.147 的平均 O.D.。

[0145] 作为阳性对照,使用在抗转移化合物不存在下在单独的培养基中进行温育的 HCT116 系细胞。获得了 0.734 的平均 O.D.。

[0146] 所述检验通过将 SW620 系细胞与化合物 (I) 至 (VI) 中的每一种一起温育来进行。

[0147] 在这些检验中,用化合物 (I) 至 (VI) 中的每一种所获得的平均 O.D. 总是高于 0.300,这表明化合物 (I) 至 (VI) 能够诱导细胞的铺展、紧密细胞小岛的形成,和诱导 E-钙粘着蛋白类型的细胞间新连接的产生。

[0148] B. 2. 本发明的抗转移化合物的抗侵袭特性

[0149] 采用在“材料与方法”部分中所描述的侵袭测试,测量了式 (I) 至 (VI) 的化合物中的每一种抑制或阻断转移性癌细胞的侵袭特性的能力。

[0150] 将在抗转移化合物不存在下进行温育的转移性 SW620 系细胞用作阴性对照,其对照值被任意地规定为 100%。

[0151] 将 HCT116 非转移性癌系细胞用作阳性对照。

[0152] 结果显示在图 1 中。

[0153] 在图 1 中,显示出,所有式 (I) 至 (VI) 的化合物都能够阻断转移性结肠直肠癌细胞系的细胞的侵袭特性,因为经处理的细胞具有类似于或低于非转移性结肠直肠癌 HCT116 系的侵袭活性。

[0154] 此外,图 2、3 和 4 的结果显示出,在各种类型的转移性人癌细胞(其中包括来源于乳腺癌的细胞(图 4))上证明了式 (I) 至 (VI) 的化合物中的每一种的抗侵袭特性。

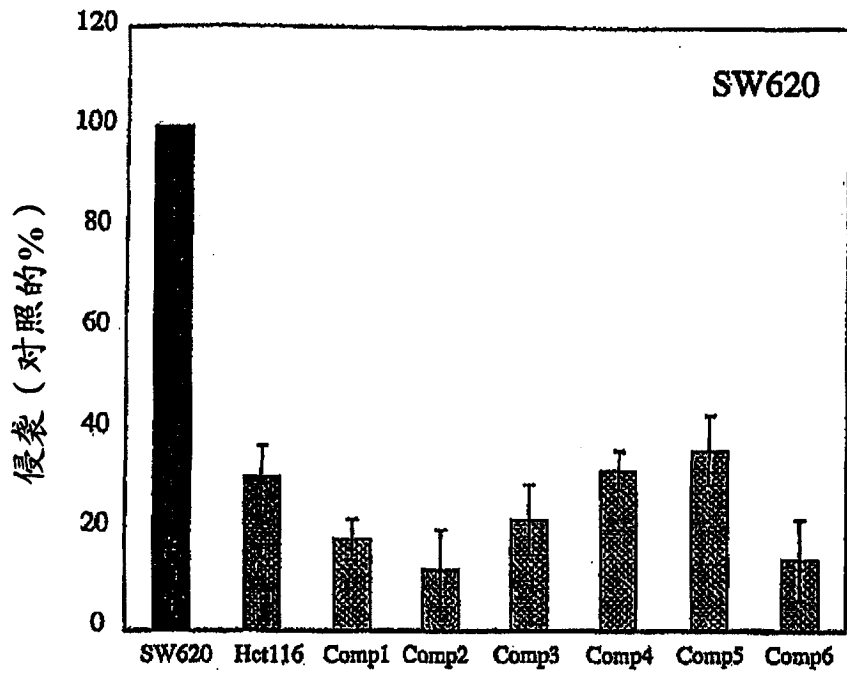


图 1

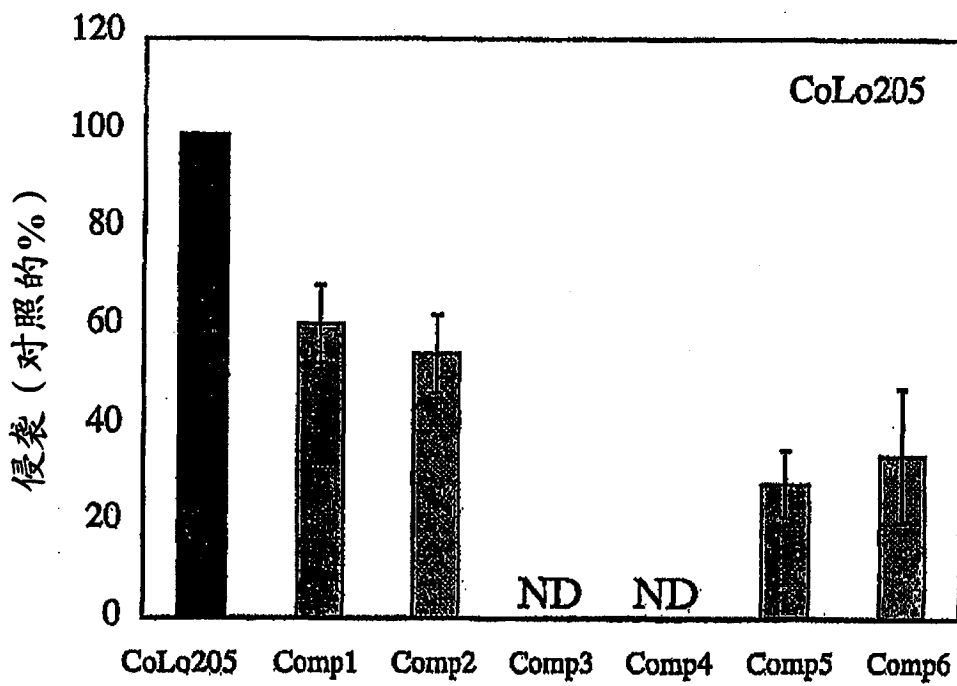


图 2

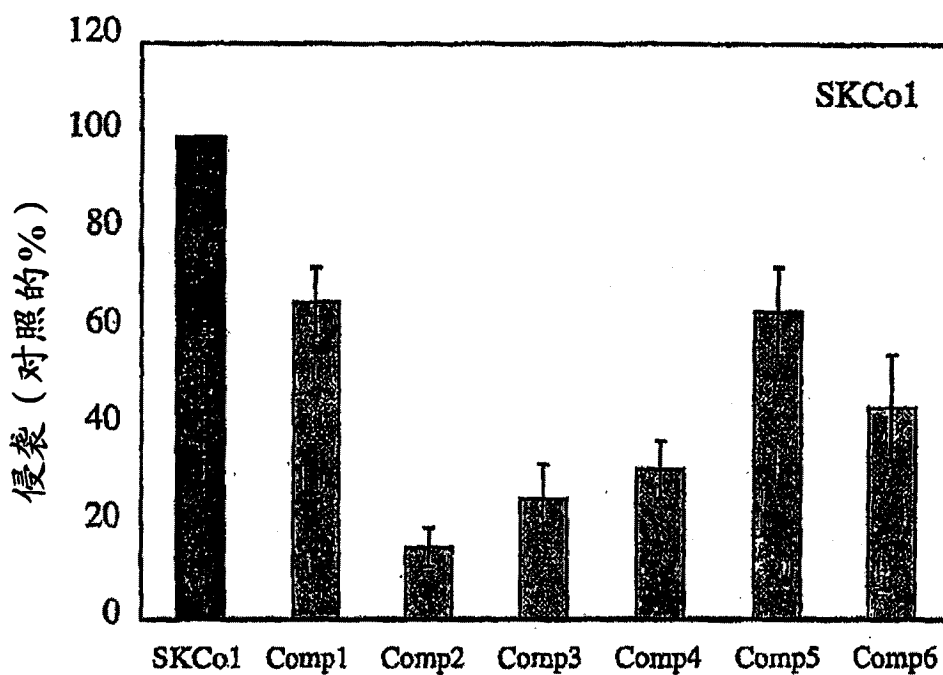


图 3

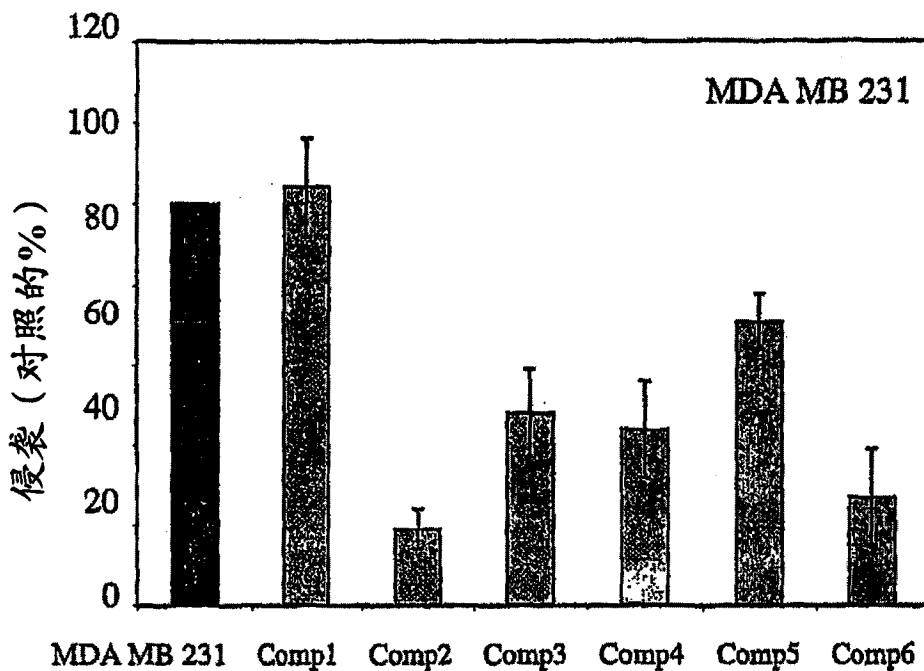


图 4