



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116601159 A

(43) 申请公布日 2023. 08. 15

(21) 申请号 202180082884.8

A · 博哈

(22) 申请日 2021.12.13

(74) 专利代理机构 北京聿华联合知识产权代理有限公司 11611

(30) 优先权数据

专利代理师 刘华联

PP50074-2020 2020.12.14 SK

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int. Cl.

2023.06.08

C07D 519/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

C07D 487/04 (2006.01)

PCT/SK2021/050015 2021.12.13

A61K 31/53 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

A61P 35/00 (2006.01)

W02022/132058 EN 2022.06.23

(71) 申请人 斯洛伐克科学院实验医学中心

地址 斯洛伐克布拉迪斯拉发

申请人 布拉迪斯拉发考门斯基大学

(72) 发明人 M · 斯特夫克 L · 克瓦埃科瓦

M · 索尔特斯普尔诺 G · 阿多瓦

权利要求书1页 说明书11页 附图1页

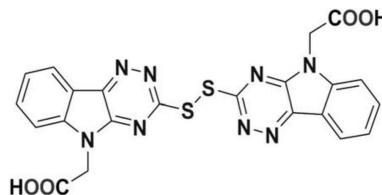
(54) 发明名称

醛酮还原酶抑制剂的前药赛米司他二硫化物、其制备、药物组合物和用途

(57) 摘要

本发明涉及一种醛酮还原酶抑制剂II的基于其式I的二硫化物(系统名称“二硫烷”)的新型前药,涉及一种制备式I的二硫化物的方法,涉及一种式I的二硫化物用于抑制醛酮还原酶AKR1B1和AKR1B10的用途,涉及一种式I的二硫化物在预防或治疗其中醛酮还原酶AKR1B1和AKR1B10的活性是疾病形成和发展的关键病因的所述疾病中的用途,一种式I的二硫化物用于预防或治疗源自慢性炎症的癌症,即结肠癌、肺癌、乳腺癌、肝癌、前列腺癌、胰腺癌、子宫内膜癌和宫颈癌的用途。本发明还涉及式I的二硫化物作为辅助治疗药物与临床上使用的化疗药物结合用于治疗癌症的用途,所述化疗药物也可以是醛酮还原酶的底物,如多柔比星和柔红霉素。式I的二硫化物本身作为醛酮还原酶AKR1B1和AKR1B10的抑制剂是无活性的,但在口服或肠胃外施用后,其在体内代谢,优选地在特征在于由于GSH含量与健康细

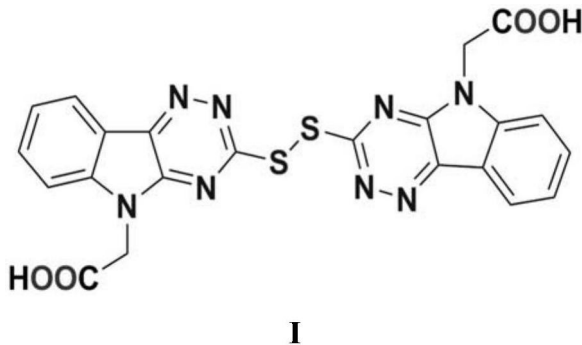
胞相比显著增加而还原潜力增加的癌细胞中代谢,从而产生式II的赛米司他的两个分子,即醛酮还原酶的活性抑制剂。根据本发明的式I的二硫化物还可以具有这样的优点,即其与单独的式II的赛米司他相比,在肿瘤的酸性环境中被更好地吸收。式I的二硫化物可以单独使用或以药学上可接受的形式:一元盐或二元盐、单酯或二酯、酰胺或其组合或其它药剂,任选地与其它抗炎性或抗癌治疗药物结合使用。(I)



I

(I)

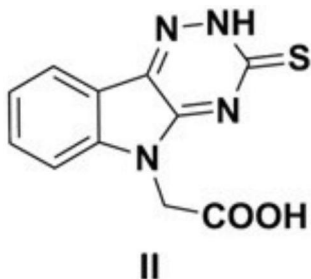
1. 一种化合物赛米司他(cemtirestat)二硫化物,其为式I的2,2'-(二硫烷二基双(5H-[1,2,4]三嗪并[5,6-b]吡啶-3,5-二基))二乙酸:



或选自组一元盐或二元盐、单酯或二酯、酰胺或其组合的其药学上可接受的形式。

2. 一种用于制备根据权利要求1所述的式I化合物的方法,所述方法的特征在于所述方法包括以下步骤:

-将式II的赛米司他化合物



在室温下在乙酸中用温和氧化剂 NaNO_2 处理;其中式I的产物已经在反应期间从反应混合物中沉淀出来;

-过滤出所述式I的产物,并用冰水和冷甲醇洗涤;

-将所述式I的产物在3000Pa至0.1Pa的逐渐降低的压力下干燥。

3. 根据权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的形式,其用作药物。

4. 根据权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的形式,其用于治疗其中期望抑制具有高浓度的还原型谷胱甘肽GSH的细胞/组织中的醛酮还原酶AKR1B1和/或AKR1B10的病状。

5. 根据权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的形式,其用于治疗源自慢性炎症的癌症,即结肠癌和直肠癌、肺癌、乳腺癌、肝癌、胰腺癌、前列腺癌、子宫内膜癌和宫颈癌等。

6. 根据权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的形式,其作为辅助治疗药物与如多柔比星(doxorubicin)和柔红霉素(daunorubicin)等临床上使用的作为醛酮还原酶底物的化疗药物结合用于治疗癌症。

7. 一种式II的赛米司他的前药,所述前药为根据权利要求1所述的式I的赛米司他二硫化物化合物或其药学上可接受的形式,所述前药用作药物。

8. 一种药物组合物,其包括作为活性成分的根据权利要求1所述的式I的化合物赛米司他二硫化物或其药学上可接受的形式与药学上可接受的药剂、稀释剂或载体以及任选地另一种赋形剂的混合物。

醛酮还原酶抑制剂的前药赛米司他二硫化物、其制备、药物组合物和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及作为醛酮还原酶,尤其是醛糖还原酶(AR,AKR1B1)的抑制剂的药理学活性化合物赛米司他(cemtirestat)的药学上可用的前药、其制备方法、含有其的药物组合物及其在治疗人类和兽医疾病中的用途。

背景技术

[0002] 醛酮还原酶是NAD(P)H依赖性氧化还原酶,其作为降糖剂被最佳表征。其涉及糖尿病并发症的病理生理学。这些酶还代谢脂质过氧化产物,因此在某些情况下引起炎性应答。

[0003] 醛糖还原酶(AR,AKR1B1)除了通过减少葡萄糖参与糖尿病并发症之外,还有效减少通过脂质过氧化形成的醛及其与谷胱甘肽的缀合物(Ramana,《生物分子概念(BioMolConcepts)》2:103-114,2011)。脂质过氧化产生的醛,如4-羟基-反式-2-壬烯醛(系统名称为反式4-羟基壬-2-烯-1-醛)(HNE)以及其谷胱甘肽缀合物(例如,GS-HNE),通过AR有效地还原为对应的醇DHN(1,4-二羟基壬烯,系统名称为反式壬-2-烯-1,4-二醇)和GS-DHN(谷胱甘肽-1,4-二羟基壬-2-烯),其介导体内的炎性信号。还原的GS-DHN缀合物被认为是由活性氧物种引发的细胞信号传递的信号传导中间体,其最终可能导致炎性应答(Srivastava等人;《化学生物相互作用(ChemBiolInteraction)》191:330-338,2011; Balestri等人;《抗氧化剂(Antioxidants)》(巴塞尔)8(10).pii:E502,2019;Srivastava等人;《自由基生物学与医学(Free Radic.Biol.Med.)》29:642-651,2000;Shoeb等人;《当前药物化学(Curr.Med.Chem.)》21:230-237,2014)。在细胞和动物模型中,AR抑制有效消除由细胞因子、生长因子、内毒素、高糖、过敏原和自身免疫应答诱导的炎性信号(Ramana和Srivastava,《国际生物化学与细胞生物学杂志(Int.J.Biochem.Cell Biol.)》42:17-20,2010)。

[0004] 有充分记录表明慢性炎症与癌症进展相关(Solinas等人《癌症转移综述(Cancer Metastasis Rev.)》29,243-248,2010;Khayami等人;《细胞和分子医学杂志(J.Cell.Mol.Med.)》2020;10.1111/jcmm.15581)。流行病学研究表明,所有癌症中>25%的癌症与慢性感染和慢性炎症密切相关(Vendramini-Costa和Carvalho,《当前药物设计(CurrPharm Des.)》18:3831-52,2012)。据报道,醛酮还原酶在肺、乳腺、前列腺、宫颈、睾丸和结肠肿瘤中的表达增加(Liu等人;《抗癌药物研发的最新专利(Recent Pat Anticancer DrugDiscov.)》4:246-53,2009;Laffin和Petrash,《药理学前沿(Front Pharmacol.)》3:104,2012;Terzig等人《胃肠病学(Gastroenterology)》138:2101-2114,2010;Reddy等人;《胸部(Breast)》31:137-143,2017)。此外,AKR1B1在各种癌症中的表达增加引起对多柔比星(doxorubicin)的耐药性,这可以解释为通过羰基还原的AKR1B1介导的多柔比星解毒作用的增加(Lee等人;《抗癌药物(Anticancer Drugs)》2:129-32,2001)。若干项研究表明,AKR1B1作为辅助疗法的抑制增加肿瘤对抗癌疗法的敏感性或减轻不良反应(Banala等人;《生物材料科学(BiomaterSci.)》7:2889,2019;Khayami等人;《细胞与分子医学杂志

(J.Cell Mol.Med.)》2020;10.1111.jcmm.15581)。

[0005] 除AKR1B1外,相关酶AKR1B10还涉及若干种类型的癌症(Penning,《临床癌症研究(ClinCancerRes.)》11:1687-90,2005; Fukumoto等人;《临床癌症研究》11:1776-1785,2005;Yan等人;《国际癌症杂志(Int.J.Cancer)》121:2301-6,2007;Zhao等人;《欧洲药物化学杂志(Eur.J.Med.Chem.)》45(9):4354-7,2010;Matsunaga等人;《药理学前沿》3:5.2012;Laffin和Petrash,《药理学前沿》3:104,2012;Liu等人;《生物化学杂志(Biochem J.)》442:273-82,2012)。AKR1B10是36-kDa细胞溶质还原酶,其氨基酸序列(71%同一性)和具有“(α/B)8桶”拓扑结构的三级结构与AKR1B1类似。与AKR1B1一样,AKR1B10酶使用NADPH作为辅酶,还原各种芳香族醛和脂肪族醛、二羰基化合物和一些含羰基药物。AKR1B10通常在胃肠道中产生。过表达发生在许多肿瘤,如肝癌、肺癌和乳腺癌中。AKR1B10可能通过多种机制参与肿瘤发展,并且可能是癌症诊断的有用生物标志物和潜在的治疗靶标(Huang等人;《抗癌药物研究的最新专利》11:184-196,2016)。AKR1B10表达的沉默引起结直肠癌细胞增殖的抑制(Yan等人《国际癌症杂志》121:2301-62007)。

[0006] 醛酮还原酶在结直肠癌的病因中的作用已得到证实(Tammali等人;《癌症研究(CancerRes.)》66,9705-9713,2006;Tammali等人;《癌症快报(CancerLett.)》252,299-306,2007)。对结直肠癌细胞系的分析表明,AKR1B1和AKR1B10的高表达水平与疾病进展显著相关(Taskoparan等人;《细胞肿瘤学(CellOncol.)》(多德雷赫特).40:563-578,2017)。因此,醛糖还原酶抑制似乎是在治疗结直肠癌方面的有前途的治疗靶标(Grewal等人;《药物化学短评(Mini Rev.Med.Chem.)》16,120-162,2016;Saxena等人《癌症快报》355,141-147,2014;Saxena等人,《欧洲癌症杂志(Eur.J.Cancer.)》49(15):3311-9,2013;Tammali等人;《癌症发生(Carcinogenesis)》,32:1259-1267,2011;Shoeb等人;《自由基生物学与医学》63:280-290,2013;Tammali等人;《癌症发生》8:1259-67,2011;Tammali等人;《当前癌症药物靶标(CurrCancerDrugTargets)》.11:560-71,2011;Ramana等人;《分子癌症治疗学(Mol CancerTher.)》,9:813-24,2010;Shukla等人,《癌症快报》28;411:57-63,2017)。

[0007] 在HeLa细胞培养研究中(Ji等人;《分子生物学报告(Mol.Biol.Rep.)》47:6091-6103,2020),醛糖还原酶抑制剂依帕司他(epalrestat)通过抑制AKR1B1抑制肿瘤进展,并且被认为是用于治疗宫颈癌的新药。在一项针对SCID小鼠的研究中(Wu x等人;《实验医学杂志(J.Exp.Med.)》214:1065-1079,2017),依帕司他显著抑制基底乳腺癌的进展。

[0008] 醛糖还原酶抑制剂非达司他(fidarestat)在体内和体外增强癌症细胞对氧化应激的敏感性并抑制其生长(Shukla等人;《癌症快报》411:57,2017),抑制血管生成和肿瘤增殖(Tammali等人;《血管生成(Angiogenesis)》14:209,2011)。

[0009] eU.S.专利第20110925666号涉及使用醛糖还原酶抑制剂治疗肺、乳腺和前列腺癌以及抑制结肠癌相关转移的方法。

[0010] Banala等人(《生物材料科学》7:2889,2019)的作者基于二硫化物(系统名称“二硫烷(disulfane)”)与生育酚-聚乙二醇-琥珀酸酯(TPGS)的缀合物,开发了醛糖还原酶抑制剂依帕司他(EPR)的胶束载体。在还原环境中,依帕司他通过EPR-S-S-TPGS缀合物的二硫化物(系统名称“二硫烷”)键切割而控制释放。

[0011] 专利P 285588描述了用于治疗 and 预防糖尿病、胰岛素抵抗或糖尿病并发症的生物可接受的硫辛酸、四去甲硫辛酸、双去甲硫辛酸和8-羟基-双去甲硫辛酸的二硫化物与必需

脂肪酸的混合物。

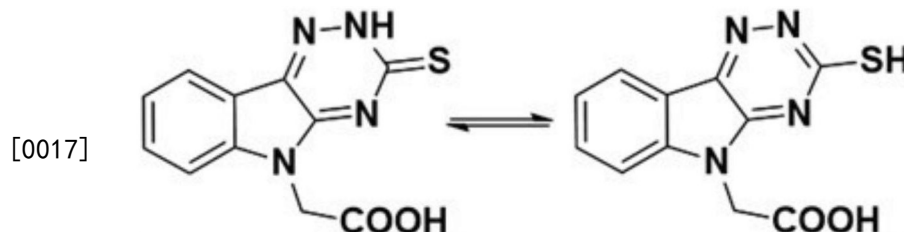
[0012] W02019040825和W02017064675描述了化学治疗剂在基于二硫化物的缀合物中用于治疗癌症的用途。

[0013] 美国专利第20010036926号描述了在生理条件下通过游离硫醇的作用活化的不稳定的二硫化物键合物质。

[0014] 上述发现表明,AKR1B1和AKR1B10抑制剂有望作为新的治疗药物用于癌症治疗。AKR1B1抑制剂,如乙酸衍生物(依帕司他、托瑞司他(tolrestat)、折那司他(zenarestat))、螺乙内酰胺(索比尼尔(sorbinil))或琥珀酰亚胺化合物(雷尼司他(ranirestat)),主要因其在预防糖尿病并发症中的作用而被研究(Hotta,《生物医学与药物治疗(BiomedPharmacother.)》5,244-2501995.;Costantino等人;《治疗专利专家意见(Expert OpinTherPatents.)》10,1245-1262,2000;Miyamoto,《治疗专利专家意见》2002,12,621-6312002;Srivastava等人;《内分泌评论(Endocr Rev.)》26,380-3922005)。近年来,在寻找更好的AKR抑制剂的过程中,兴趣转向了新的化学型(Alexiou等人;《当前药物化学》16:734-52,2009;Chatzopoulou等人;《治疗专利专家意见》11:1303-23,2012)。

[0015] 尽管许多醛酮还原酶抑制剂已被广泛研究,但没有一种在人类临床试验中显示出足够的功效而没有副作用。因此,仍然需要开发新的、有效且安全的醛酮还原酶AKR1B1和AKR1B10抑制剂,作为用于治疗糖尿病并发症、炎症疾病和癌症的潜在药物。

[0016] 3-巯基-5H-1,2,4-三嗪并[5,6-b]吡啶-5-乙酸(式II的赛米司他,系统名称2-(3-硫氧基-2,3-二氢-5H-[1,2,4]三嗪并[5,6-b]吡啶-5-基)乙酸)作为一种具有抗氧化性质的高效并且选择性的醛糖还原酶抑制剂已被提出并获得专利(Stefek等人;专利288508;Stefek等人,《药物化学杂志(J. Med. Chem.)》58:2649-57,2015;Prnova等人;《氧化还原报告(RedoxRep.)》20:282-82015;Soltesova Prnova等人;《生理学研究(Physiol. Res.)》64:587-91,2015;Stefek等人;《国际科学、工程与技术进展杂志(IJASEAT)》4:41-44,2016;Zhan等人;《生物分子结构与动力学杂志(J. Biomol. Struct. Dyn.)》37:1724-1735,2018;Soltesova Prnova等人;《神经科学(Neuroscience)》443:206-217,2020;Valachova等人;《国际分子科学杂志(Int J Mol Sci)》:E5609,2020)。最近描述了式II的赛米司他减轻ZDF和STZ诱导的糖尿病大鼠的周围神经病变的症状的能力(Soltesova Prnova等人;《神经化学研究(NeurochemRes.)》44:1056-1064,2019;Prnova等人;《瑙纽-施密特伯格药理学文献(Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.)》393:651-6612020)。证明了式II的赛米司他在体外和体内具有极低的细胞毒性,并且此外,在120天的毒理学测试中,在威斯塔大鼠(Wistar rat)中未观察到显著变化(Soltesova Prnova等人;《跨学科毒理学(Interdiscip. Toxicol.)》12:120-1282019)。



II

[0018] 式II的赛米司他的两种互变异构形式

[0019] 尽管式II的赛米司他显示出对醛酮还原酶AKR1B1和AKR1B10的有效抑制,其特征在于IC₅₀值分别=0.48±0.29和3.69±0.53μM(Stefek等人;《药物化学杂志》58:2649-57, 2015),改善其口服和肠胃外施用两者的药代动力学性质将是有利的,并且这种期望的改善尤其包含改善胃肠道的吸收、延长活性化合物的作用持续时间以及尤其是靶向分布到癌症细胞。由于健康组织中的高局部浓度,如肝毒性、消化不良、肾脏、精子和其它疾病,口服和肠胃外施用活性醛酮还原酶抑制剂可能会导致不良效果。

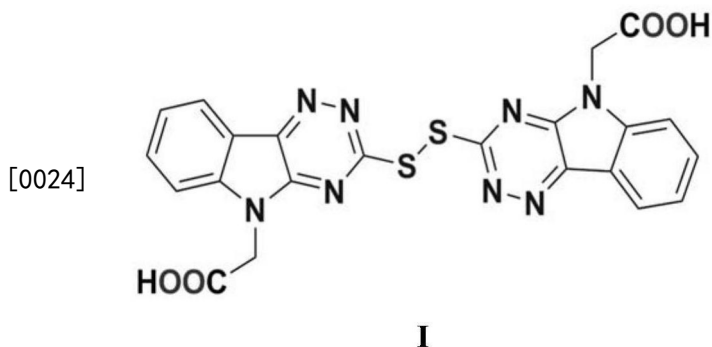
[0020] 本发明提出通过使用基于活性药物的前药的施用的治疗策略来解决这些问题。在这种基于前药的策略中,活性药物在非活性前药的化学或代谢激活后在期望的作用部位释放。与直接药物施用相比,这种方法可以显著提高作用部位的药物可用性并降低毒性。

[0021] 合成了式I的赛米司他二硫化物,并对其进行测试以获得有效的醛糖还原酶抑制剂。鉴于醛酮还原酶AKR1B1和AKR1B10在若干种慢性炎症性癌症类型的病因学中的关键作用,如上所述,假设通过用谷胱甘肽GSH还原其前体,在肿瘤细胞内释放式II的赛米司他将增加功效和药物作用。此概念基于这样的事实,即与健康组织或细胞外环境相比,肿瘤中的还原型谷胱甘肽水平高10-1000倍(Saito等人;《先进药物递送评论(Adv. Drug Deliv. Rev.)》55:199, 2003; Wang等人;《当前有机化学(Current Organic Chemistry)》20:1477, 2016; Turell等人;《自由基生物学与医学》65:244, 2013)。由于肿瘤细胞中GSH的高水平,二硫键在进入肿瘤组织时被切割,预计在血液循环中保持稳定。基于使用氧化还原敏感二硫化物的前药策略已被广泛开发,尤其是在癌症疗法中,作为一种向癌症细胞靶向分配化疗药物的手段(Meng等人;《生物材料(Biomaterials)》30:2180, 2009; Yang等人;《物理化学杂志B(J. Phys. Chem. B)》118:12311, 2014; Brülisauer等人;《控制释放杂志(J. Control Release)》195:147, 2014; Li等人;《亚洲药物科学杂志(Asian J. Pharm. Sci.)》15:311, 2020)。

[0022] 据了解,这是醛糖还原酶抑制剂的基于二硫化物的前药的第一个实例。迄今为止,获得专利并发表的醛糖还原酶抑制剂前药基于酯类(Bruno等人;《生物有机化学与医药化学(Bioorg. Med. Chem.)》10:1077, 2002; Da Settimo等人;《药物化学杂志》46:1419-28, 2003; Da Settimo等人;《药物化学(Med. Chem.)》48:6897-907, 2005; Rakowitz等人;《欧洲药物科学杂志》15:11-20, 2002; Sunkara等人;《药学与药理学杂志(J. Pharm. Pharmacol.)》52:1113, 2000)或酰胺(Wrobel等人;《药物化学杂志》34:2504, 1991)。

发明内容

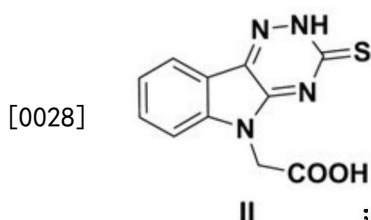
[0023] 本发明提供了式I的化合物赛米司他二硫化物2,2'-(二硫烷二基双(5H-[1,2,4]三嗪并[5,6-b]吡啶-3,5-二基))二乙酸:



[0025] 或其药学上可接受的形式：一元盐或二元盐、单酯或二酯、酰胺或其组合。

[0026] 除了式I的赛米司他二硫化物的结构之外，本发明还涉及一种用于其制备的方法，所述方法包括以下步骤：

[0027] -将式II的化合物赛米司他在室温下在乙酸中用温和氧化剂NaNO₂处理



[0029] 其中式I的产物已经在反应期间从反应混合物中沉淀出来；

[0030] -过滤，将所述产物用冰水和冷甲醇洗涤；

[0031] -通过通过水泵以及随后通过油泵获得的从3000Pa至0.1Pa的渐进式真空将所述式I的产物干燥。

[0032] 在本发明的一个实施例中，如上文所提及的式I的化合物赛米司他二硫化物或其药学上可接受的形式用作药物。

[0033] 在本发明的另一个实施例中，如上文所提及的式I的化合物赛米司他二硫化物或其药学上可接受的形式用于治疗其中期望抑制具有高GSH(还原型谷胱甘肽)的细胞/组织中的AKR1B1和/或AKR1B10醛酮还原酶的病状。

[0034] 在本发明的另一个实施例中，如上文所提及的式I的化合物赛米司他二硫化物或其药学上可接受的形式用于治疗源自慢性炎症的癌症，即结肠癌和直肠癌、肺癌、乳腺癌、肝癌、胰腺癌、前列腺癌、子宫内膜癌和宫颈癌。

[0035] 在本发明的另一个实施例中，如上文所提及的式I的化合物赛米司他二硫化物或其药学上可接受的形式作为辅助治疗药物与如多柔比星和柔红霉素等临床上使用的作为醛酮还原酶底物的化疗药物结合用于治疗癌症。

[0036] 在本发明的又一个实施例中，作为如上文所提及的式I的赛米司他二硫化物化合物或其药学上可接受的形式的式II的赛米司他前药用作药物。

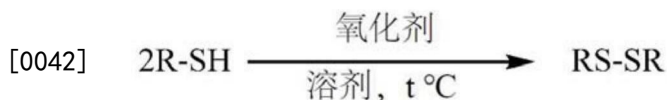
[0037] 在本发明的又一个实施例中，包括作为活性成分的如上文所提及的式I的化合物赛米司他二硫化物或其药学上可接受的形式的药物组合物与药学上可接受的药剂、稀释剂或载体(赋形剂)的混合物。

[0038] 本发明还涉及式I化合物如所定义的用作药物。

[0039] 制备

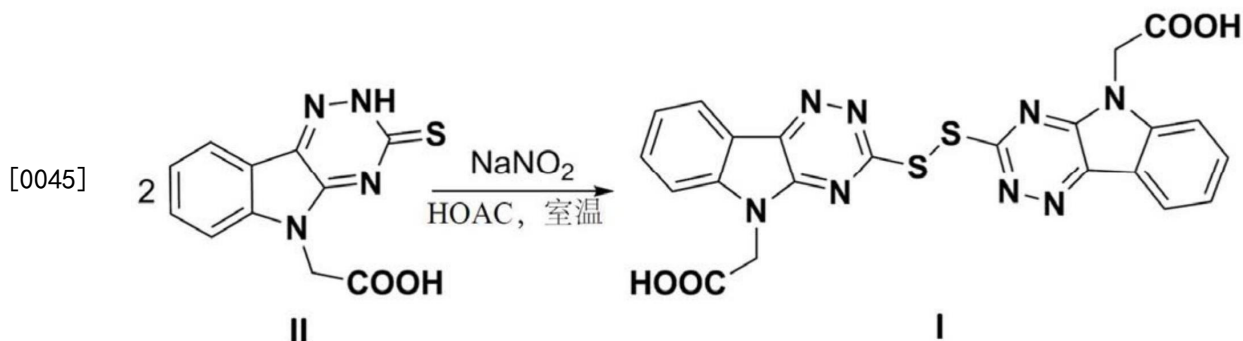
[0040] 本发明的式I化合物可以通过有机合成领域技术人员熟知的多种方法制备,包含下面描述的方法或其变体。所描述的方法是优选的,但是可能的制备方法不限于这些。

[0041] 通常,对称芳香族二硫化物(系统名称为二硫烷)可以根据方案1中概述的反应,根据本领域技术人员熟知的程序,通过氧化适当的芳香族硫醇来制备。过氧二硫酸盐,例如 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 或 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$,可以在升高的温度下在乙腈、碘、 H_2O_2 或 NaNO_2 中、在室温下在乙醇中或在弱酸或固态 NaIO_4 中用作氧化剂(Montazerzohori等人,《分子(Molecules)》12,694-702,2007;Ramadas等人,《国际有机试剂制备与程序(Organic Preparations and Procedures Int.)》28,352-355,1996;Phakdeeyothin和Yotphan,《有机和生物分子化学(Org.&Biomol.Chem.)》17,6432-40,2019;Firouzabadi等人;《合成通讯(Synth.Comm.)》28,1179-87,1998;Parida等人;《化学精选(Chem.Select)》1,490-4,2016;Carbonnel等人;《化学通讯(Chem.Comm.)》53,5706-9,2017;Owen等人;US6566384,2003;Teplyakov等人;《有机快报(Org.Lett.)》15:4038-41,2013;Branc 2011等人;PCT国际申请209125191,2009;Rubino等人;《医药化学(ChemMedChem.)》6,1258-68)。



[0043] 方案1

[0044] 例如,用于制备方案2中所示的式I化合物的经充分证明的程序可以在其它作者在不同类型的底物上使用的条件下(Abazid等人;磷、硫和硅以及相关元素(Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements)1994,88(1-4),195-206)用于合成各种二硫化物。

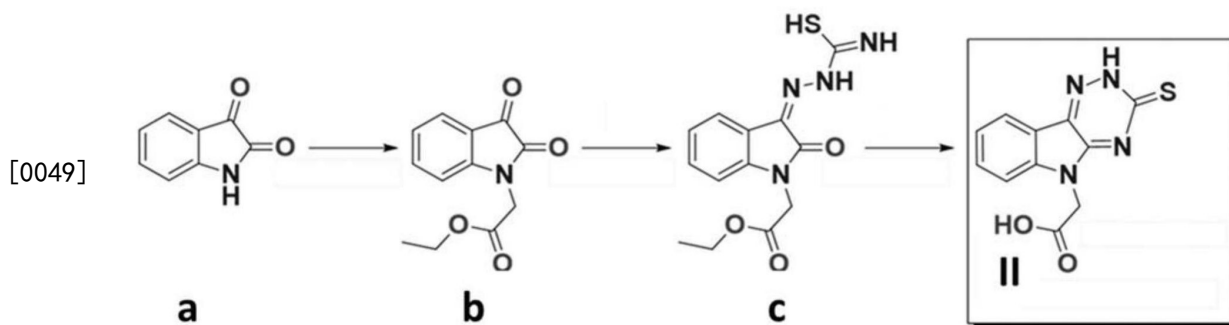


[0046] 方案2:式I的赛米司他二硫化物的制备

[0047] 作为用于合成式I化合物的起始材料的式II的赛米司他可以通过本领域技术人员熟知的合成程序制备,这些合成程序在标准著作,如Romanchick和Joullie,《杂环化合物(Heterocycles)》9,1631,1978;Neunhoeffer,H.,Wiley,P.E.《杂环化合物化学(Chem.Heterocycl.Comp.)》;威利国际科学出版社(Wiley-Interscience):纽约,1978,33,749;El Ashry,E.S.H.;Rashed,N.;Taha,M.《杂环化学研究进展(Advances in Heterocyclic Chemistry)》;Katritzky,A.R.编辑;学术出版社(Academic Press):纽约,59(1994)中描述。

[0048] 对于式II的赛米司他的制备,可以使用先前公布的使用起始靛红的程序(a,方案3) Hlaváč等人;《药物化学杂志》63:369-381,2020。反应通过氢化钙通过去质子化进行,其中化合物a在DMF中的过量氯乙酸乙酯中通过在100℃下在5小时内进行搅拌烷基化为b。随

后在100℃下与氨基硫脲在DMF中缩合,得到缩氨基脲c。最后,将中间体c在碳酸钾水溶液中在两天内回流,得到总产率为39%的式II的赛米司他。



[0050] 方案3:由靛红(a)合成式II的赛米司他

[0051] 在医学和药学中的用途

[0052] 本发明还涉及式I的二硫化物的用途,其在于此物质在体内被还原代谢以形成具有药理学活性的式II的赛米司他的两个分子。因此,其被指示为药物,并且尤其是作为式II的活性化合物的前药。

[0053] 尽管本发明的式I化合物本身不与醛糖还原酶(AKR1B1)和其它醛酮还原酶相互作用,但其在以增加的还原潜力为特征的组织(如肿瘤细胞)中代谢为作为醛酮还原酶AKR1B1和AKR1B10的有效抑制剂的式II的赛米司他。陈述“根据本发明的式I化合物本身不与醛酮还原酶AKR1B1和AKR1B10相互作用”应理解为式I化合物对AKR1B1或AKR1B10的抑制的IC₅₀值高于100μmol/l。

[0054] 因此,本发明的式I化合物预期可用于以需要抑制AKR1B1或AKR1B10的还原潜力增加为特征的病状,如肿瘤细胞。这些病状的特征在于,与生理健康细胞相比,并且尤其是与细胞外空间(胃肠道、中央血液室等)相比,还原型谷胱甘肽(GSH)水平显著增加。本发明的式I化合物可以用于包含结肠癌、肺癌、乳腺癌、肝癌、前列腺癌、胰腺癌、子宫内膜癌、宫颈癌等的病状的治疗和/或预防方案。

[0055] 本发明的另一方面是治疗其中AKR1B1或AKR1B10醛酮还原酶的抑制靶向如肿瘤细胞等以增加的还原潜力为特征的组织的方法,所述肿瘤细胞的特征在于与健康细胞或细胞外空间(胃肠道、中央血液室等)相比,还原型谷胱甘肽(GSH)水平显著增加。此方法包括向患有或易患此类病状的受试者施用治疗有效量的式I的二硫化物或其药学上可接受的形式。

[0056] 本发明的另一方面是式I的二硫化物作为辅助治疗药物与临床上使用的作为醛酮还原酶底物(如多柔比星和柔红霉素)的化疗药物或类似类型的化疗药物结合用于癌症治疗的用途。此方法包括将治疗有效量的式I的二硫化物或其药学上可接受的形式,如上文所描述,与治疗剂量的临床上使用的化疗药物(如多柔比星、柔红霉素等)结合施用于患有或易患此类病状的受试者。

[0057] 根据本发明的式I的二硫化物是对抗AKR1B1和其它醛酮还原酶的无活性化合物。因此,式I化合物在健康细胞和细胞外空间(胃肠道、中央血液室等)中保持无活性,其特征在于还原潜力降低(GSH水平低),并且因此避免了口服施用的活性醛糖还原酶抑制剂的已知潜在副作用,如肝毒性、消化不良、肾脏、精子和其它病症。

[0058] 式I的二硫化物疗法相对于式II的赛米司他或其它醛糖还原酶抑制剂的优点是活

性药物向肿瘤细胞的靶向分布,与式II的赛米司他相比,这可以实现更高的功效和更少的副作用。

[0059] 根据本发明的式I的二硫化物还可以具有这样的优点:在肿瘤的酸性环境中,此化合物与单独的式II的赛米司他相比被更好地吸收,如实例3中所记录的,所述实例描述了在pH 4.6的酸性环境中,式I化合物的水/辛醇分配比几乎是式II的赛米司他的水/辛醇分配比的4倍。

[0060] 根据本发明,式I的二硫化物还可以具有这样的优点,即由于其分子对称性,其同时提供式II的有效AR抑制剂赛米司他的两个分子,并且因此此处理可以更加有效。

[0061] 根据本发明,式I的二硫化物还可以具有其它有用的药理学性质,其比本身具有活性的已知的醛酮还原酶抑制剂更有利。

[0062] 本发明的式I的二硫化物将通常口服、口腔、直肠、皮肤、鼻腔、气管、支气管或通过任何其它胃肠外途径或通过吸入施用,或以药学上可接受的无毒有机或无机盐的形式,或药学上可接受的如上文所定义的式I化合物的形式施用。根据疾病和要治疗的患者以及施用途径,组合物可以以不同剂量施用。

[0063] 本发明还涉及药物组合物,其包括如上文所定义的式I化合物或其药学上可接受的形式与药学上可接受的药剂、稳定剂、稀释剂或载体的混合物。

附图说明

[0064] 图1:式I的二硫化物由于GSH浓度的增加而形成式II的赛米司他(CMTI)的裂解动力学。给出了个体实验的典型结果。式I的二硫化物,50 μ M;GSH 0(\blacktriangle);GSH 25 μ M(\blacksquare);GSH 50(\circ);GSH 100 μ M(\bullet);实验在pH 7.4和37 $^{\circ}$ C下在20mM磷酸盐缓冲液中一致地进行。

具体实施方式

[0065] 本发明由以下实例说明,所述实例呈现了式I的二硫化物的制备、式I化合物在各种浓度的GSH的情况下的还原动力学的测量、式I的二硫化物对醛糖还原酶(AKR1B1)的抑制的测量以及水/辛-1-醇分配比的测定。所给出的二硫化物的实例并不限制权利要求的范围。对于本领域技术人员而言将显而易见的是,可以在不脱离本发明的精神和范围的情况下在材料和方法方面进行许多修改。

[0066] 一般实验程序

[0067] 在Varian Gemini光谱仪上在 CDCl_3 或 DMSO-d_6 中进行 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 测量(300MHz或600MHz用于 ^1H ,并且75MHz或150MHz用于 $^{13}\text{C-NMR}$)。相对于所选TMS标准,化学位移以ppm为单位,并且相互作用常数J以Hz为单位。IR光谱在安捷伦科技公司(Agilent Technologies) Cary 630FTIR上在不含溶剂并且不参考空气的金刚石检测器上的固相中测量,范围为650-4002 cm^{-1} 。UV光谱记录在安捷伦科技公司Cary 8454UV-Vis仪器上。使用电喷雾电离(ESI),在配备有安捷伦科技公司6100四极质谱仪的安捷伦科技公司1200系列仪器上进行液相色谱法-质谱法(LC-MS)分析。熔点是使用Büchi熔点M-565测定的,并且没有进行校正。元素分析(C,H,N)使用Carlo-Erba Strumentazione Model 1106进行。

[0068] 起始材料的制备

[0069] 式II的赛米司他(2-(3-硫氧基-2,3-二氢-5H-[1,2,4]三嗪并[5,6-b]吡啶-5-基)

乙酸)是根据以下出版物中描述的方法制备的: Hlaváč 等人;《药物化学杂志》63:369-381, 2020。

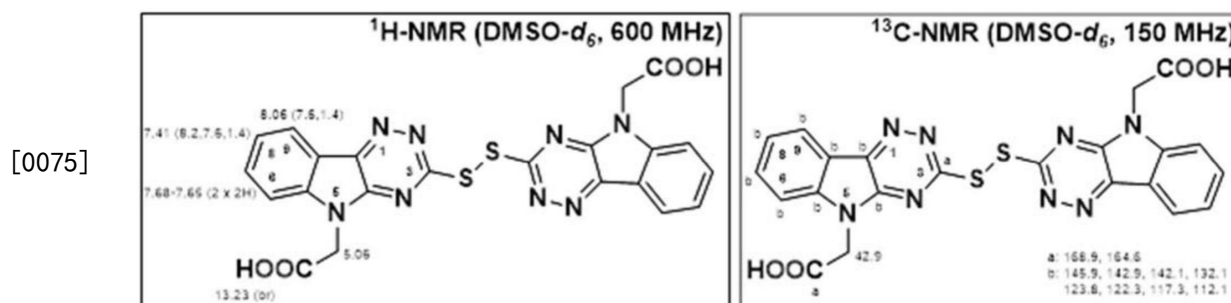
[0070] 实例1

[0071] 式I的二硫化物-2,2'-(二硫烷二基双(5H-[1,2,4]三嗪并[5,6-b]吡啶-3,5-二基))二乙酸的合成

[0072] 在室温下通过搅拌,向200mg (0.768mmol, 1.00mol当量)的含式II的赛米司他的20mL冰乙酸中添加过量的无水亚硝酸钠138mg (2.000mmol, 2.60mol当量)。在添加NaNO₂期间,反应混合物的颜色从黄色变为砖红色,释放出含有红色氮氧化物的烟气。固体物质在十分钟内从反应混合物中沉淀出来。使混合物静置另外1小时。通过过滤从反应混合物中分离出式I的产物。将过滤器上的沉淀物用冰水洗涤,并且然后用冰冷的CH₃OH洗涤。将固体残余物在真空中干燥,得到163mg (0.314mmol, 82%)呈浅棕色固体的式I的二硫化物。M.p.: 220-250°C (摄氏度);

[0073] ¹H-NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ 13.23 (br, 2H, 2x-COOH), 8.06 (dd, 2H, J(8,9) = 7.6Hz, J(7,9) = 1.4Hz, 2x H-C(9)), 7.68-7.65 (m, 4H, 2x H-C(6) and 2x H-C(7)), 7.41 (ddd, 2H, J(7,8) = 8.2Hz, J(8,9) = 7.6Hz, J(6,8) = 1.4Hz, 2x H-C(8)), 5.06 (s, 4H, 2xNCH₂COOH);

[0074] ¹³C-NMR (150MHz, DMSO-d₆): δ 168.9和164.6 (2x C-S和2x-COOH), 145.9, 142.9, 142.1, 132.1, 123.8, 122.3, 117.3, 112.1和42.9 (2x-CH₂-)。



[0076] FT-IR (以固态测量, cm⁻¹): 1730 (m), 1619 (w), 1577 (m), 1508 (w), 1467 (m), 1438 (m), 1413 (w), 1369 (m), 1334 (m), 1210 (m), 1174 (s), 1149 (m), 1089 (m), 1033 (w), 968 (m), 932 (m), 886 (w), 802 (m), 748 (s), 702 (w), 667 (m), 615 (m), 562 (w), 514 (w), 447 (m)。

[0077] UV-Vis (DMSO): λ_{max} = 269nm; HPLC-MS纯度为98%; 元素分析C₂₂H₁₄N₈O₄S₂ (518.526), 计算值:C, 50.96; H, 2.72; N, 21.61, 实验值:C, 50.87; H, 3.05; N, 21.80。

[0078] 实例2

[0079] 测试A

[0080] 通过GSH还原式I的二硫化物

[0081] 由于增加GSH浓度以形成式II的赛米司他的式I的二硫化物的裂解动力学研究如下: 向式I的二硫化物 (50μM) 于20mM磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 中的溶液中添加GSH, 浓度逐渐增加, 范围为0-100μM。在添加GSH后, 立即在302nm处开始所得式II的赛米司他的吸光度。使用消光系数ε = 38, 4mM⁻¹.cm⁻¹计算式II的赛米司他浓度。

[0082] 在测试A中测试实例1的式I化合物在存在GSH浓度增加的情况下将式I的二硫化物还原为式II的赛米司他单体的动力学, 并且发现式I化合物的二聚体在存在GSH的情况下分

裂以形成单体(式II的赛米司他),使得随着GSH浓度的增加,反应的速率和产率增加(图1,表1)。

[0083] 表1:在存在GSH浓度增加的情况下,式I的二硫化物裂解形成式II的赛米司他的初始速率和式I的二硫化物的最终还原度。

	GSH (μM)	0	25	50	100
[0084]	式 II 的赛米司他的初始形成速率 (毫摩尔/毫升/秒)	n.d.	4.46 ± 1.68	7.30 ± 1.46	9.83 ± 2.09
	式 I 的二硫化物的最终还原度 (%) *	n.d.	39.68 ± 1.59	67.70 ± 3.72	85.16 ± 5.11

[0085] *在第60秒达到最大值后计算。式I的二硫化物, $50\mu\text{M}$; 20mM 磷酸盐缓冲液 (pH 7.4), 在 37°C 下。结果是三个平行实验的算术平均值 \pm SD。缩写n.d.意指“检测不到的低值”。

[0086] 实例3

[0087] 测试B

[0088] 在存在GSH的情况下式I的二硫化物对ALR2的抑制

[0089] ALR2的制备。通过Hayman和Kinoshit的方法从大鼠晶状体中分离出ALR2酶(《生物化学杂志》240:877-882, 1965)。将匀浆在 $0-4^\circ\text{C}$ 下以 $10,000\text{g}$ 离心20分钟。将上清液用饱和硫酸铵溶液在40%、50%和最终75%饱和度下逐渐沉淀。在前两次沉淀后,使用上清液。将来自最后步骤的含有ALR2活性的沉淀物重悬于75%硫酸铵中,并以较小等分试样储存在液氮容器中。

[0090] 酶测试。ALR2活性采用分光光度法(Stefek等人;《生物有机化学与医药化学》16:4908-4920, 2008)通过测定340nm处的NADPH消耗测量,并且表示为光密度(O.D.)/秒/毫克蛋白的降低。反应混合物含有作为底物的 4.67mM D,L-甘油醛,含 0.11mM NADPH的 67mM 磷酸盐缓冲液 (pH 7.4),期望浓度的GSH和 0.05ml 的酶制剂,总体积为 1.5ml 。参考(空白)样品含有除了D,L-甘油醛底物之外的所有上述组分,并且用于校正与底物还原无关的NADPH氧化。通过添加D,L-甘油醛启动酶催化,并在 37°C 下初始1分钟后监测反应,持续4分钟。通过用蒸馏水稀释酶制剂来调整酶活性,使得 0.05ml 的制剂使对照样品的平均反应速率在 0.020 ± 0.005 吸光度单位/分钟的范围。通过向反应混合物中添加最终浓度为 $100\mu\text{M}$ 的含抑制剂的DMSO的储备溶液,使得最终DMSO浓度为1%来测定抑制剂对酶活性的影响。将具有相同浓度的抑制剂添加到参考样品中。在向反应混合物中添加GSH后2分钟,通过添加用作底物的D,L-甘油醛开始酶活性,并且根据测量的吸光度下降值确定I (%)值。

[0091] 在测试B中测试实例1的式I化合物,并且发现I (%)值随GSH浓度而变化,如表2所示。

[0092] 表2:在存在GSH浓度增加的情况下,式I的二硫化物对从大鼠晶状体中分离出的醛糖还原酶的抑制

	添加的 GSH (μM) *	0	5	10	20	40	100	1000	5000
[0093]	抑制 I (%)	< 1%	< 1%	8.9 ± 0.6	12.4 ± 1.4	16.1 ± 6.9	72.6 ± 9.1	94.0 ± 1.6	91.1 ± 1.5

[0094] *所使用的ALR2制剂的天然GSH含量 $<0.1\text{nmol/ml}$ 。实验中使用了浓度为 $100\mu\text{M}$ 的式I的二硫化物;磷酸盐缓冲液的浓度为 67mM (pH 7.4),并在 37°C 下使用。在向含有除了用作

底物的D,L-甘油醛之外的所有组分的反应混合物中添加GSH后2分钟测量酶活性。结果是三个平行实验的算术平均值 \pm SD。

[0095] 实例4

[0096] 测试C

[0097] 测定缓冲液/辛-1-醇体系中的分配比

[0098] 在室温下通过摇瓶法测定被定义为有机相中总溶质浓度与水相中总溶质浓度的平衡比的缓冲液/1-辛醇体系(系统名称为辛-1-醇)中的分配比。使用期望的缓冲液饱和的辛-1-醇作为用于测定的有机相。在存在DMSO(1%)的情况下,将式I的二硫化物或式II的赛米司他作为参考物质以100 μ M的最终浓度溶解于适当的缓冲液(4mL)中。将水溶液与辛-1-醇(20mL)一起振荡3小时。随后,在分液漏斗中分离各相,并通过校准曲线用分光光度法测定两相中溶质的浓度。

[0099] 在测试C中测试实例1的式I的二硫化物,并如表3所示测定磷酸盐缓冲液(pH 7.4)/辛-1-醇体系中的分配比。

[0100] 表3:式I的二硫化物在缓冲液/辛-1-醇体系中的分配比与式II的赛米司他的比较

化合物	D	
	pH 7.4*	pH 4.6**
式 I 的二硫化物	0.0095 \pm 0.0019	0.1136 \pm 0.0022
式 II 的赛米司他	0.0097 \pm 0.0007	0.0353 \pm 0.0007

[0102] *磷酸盐缓冲液(0.1M;pH 7.4)+0.15M KCl;**乙酸盐缓冲液(0.1M;pH 4.6)+0.15M KCl;式I的二硫化物(100 μ M);室温。结果是三个平行实验的算术平均值 \pm SD。

[0103] 工业实用性

[0104] 工业用途是式I的式的化合物是一种适于生产高效的式II醛糖还原酶抑制剂的前药,其靶向分布于癌症细胞,与单独的式II的赛米司他相比,预期具有更高的功效和更少的副作用,但与单独的式II的赛米司他相比,其在酸性肿瘤环境中更容易吸收。

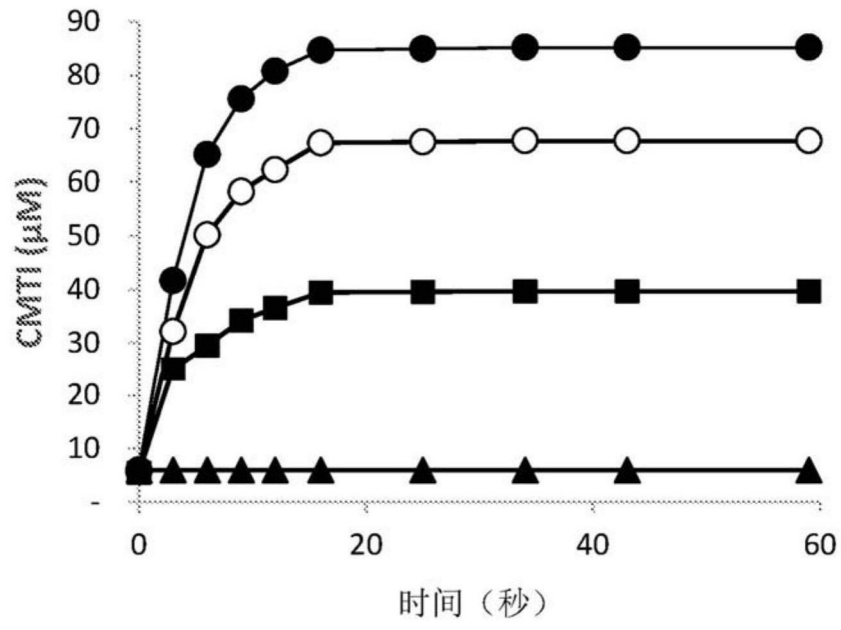


图1