



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112898278 B

(45) 授权公告日 2022.05.13

(21) 申请号 201911135404.0

(22) 申请日 2019.11.19

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112898278 A

(43) 申请公布日 2021.06.04

(73) 专利权人 广东医科大学
地址 524023 广东省湛江市霞山文明东路2号

(72) 发明人 黄云生 徐道华 谢晓阳 李玉运
马文辉 陈爱芳

(74) 专利代理机构 北京植德律师事务所 11780
专利代理师 关巍 唐华东

(51) Int. Cl.

C07D 405/12 (2006.01)

C09K 11/06 (2006.01)

A61K 31/4725 (2006.01)

A61K 49/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(56) 对比文件

US 2015/0133493 A1, 2015.05.14

WO 2005/048810 A2, 2005.06.02

Preet Anand et al..A review on coumarins as acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease.《Bioorg. Med. Chem.》.2011,第20卷第1175-1180页.

Carmen Abate et al..Arylamides hybrids of two high-affinity $\sigma 2$ receptor ligands as tools for the development of PET radiotracers.《European Journal of Medicinal Chemistry》.2011,第46卷第4733-4741页.

Xiang Zhou et al..Design, synthesis, and acetylcholinesterase inhibitory activity of novel coumarin analogues.《Bioorg. Med. Chem.》.2008,第16卷第8011-8021页.

审查员 郭军霞

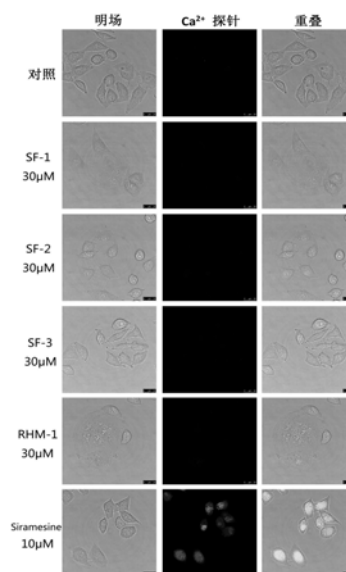
权利要求书1页 说明书10页 附图2页

(54) 发明名称

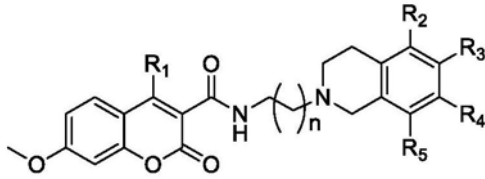
Sigma-2荧光配体的制备及应用

(57) 摘要

本发明主要涉及一系列sigma-2荧光配体的合成及其在药学、医学领域中的应用。具体而言,本发明涉及一系列含有苯并吡喃结构的化合物并对sigma-2受体具有高亲和活性和选择性。这些化合物对sigma-2受体具有很好的亲和活性,对高度表达sigma-2受体的肿瘤细胞、阿尔茨海默病患者脑细胞等具有诊断和治疗作用。



1. 结构式I所示的化合物或其药学上可接受的盐



结构式 I

其中, R_1 、 R_2 、 R_5 为氢, R_3 、 R_4 为甲氧基; n 选自0、1、2、3、4、5。

2. 根据权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物选自:

N-(2-(6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉)乙基)-7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酰胺;

N-(2-(6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉)丙基)-7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酰胺;

N-(2-(6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉)丁基)-7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酰胺。

3. 根据权利要求1-2的化合物或其药学上可接受的盐的制备方法, 所述方法包括以下步骤:

1) 将适当量的取代的2-羟基4-甲氧基苯甲醛和丙二酸二乙酯反应、水解, 得到相应的取代的7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酸;

2) 将适当量的取代的1,2,3,4-四氢异喹啉和适当量的N-BOC-溴代烷基胺进行取代反应, 脱除BOC得到相应的取代的1,2,3,4-四氢异喹啉-2-烷基胺;

3) 将上述取代的7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酸和取代的1,2,3,4-四氢异喹啉-2-烷基胺进行缩合反应, 得到终产物。

4. 组合物, 包括权利要求1-2的化合物或其药学上可接受的盐, 以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

5. 组合物, 包括权利要求3的制备方法制得的化合物或其药学上可接受的盐, 以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

6. 根据权利要求1-2的化合物或其药学上可接受的盐在制备与sigma-2受体结合相关的制剂中的用途。

7. 根据权利要求6的用途, 所述化合物或其药学上可接受的盐选择性地与sigma-2受体结合。

8. 根据权利要求1-2的化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗、预防和/或诊断由sigma-2受体介导的阿尔茨海默病的药剂中的用途。

9. 根据权利要求1-2的化合物或其药学上可接受的盐在制备抑制由sigma-2受体介导的A β 聚集的制剂中的用途。

10. 根据权利要求1-2的化合物或其药学上可接受的盐在制备乳腺癌诊断试剂中的用途。

11. 根据权利要求10的用途, 其中, 所述化合物或其药学上可接受的盐结合到高度表达的sigma-2受体的乳腺癌细胞, 并通过测定其荧光特征对乳腺癌组织进行诊断。

Sigma-2荧光配体的制备及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及肿瘤、阿尔茨海默病等的诊断或治疗,特别涉及新的sigma-2荧光配体化合物,其制备方法及其在药学、医学领域中的应用。

背景技术

[0002] sigma-2受体在肿瘤细胞中高度表达,其在扩增肿瘤细胞中的密度比在正常细胞中高出10倍以上(Br J Cancer 2000,82,1223-1232;British J Cancer 1999,81,925-933)。因此,sigma-2受体被认为是肿瘤细胞扩增的生物标记(biomarker)。选择性的sigma-2配体化合物可以作为探针(如荧光标记,放射性标记等)用来诊断肿瘤的状态,即恶性还是良性(Med Res Rev 2014,34(3),532-566,2014;Biochimica et Biophysica Acta 2015,1848,2703-2714)。

[0003] β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein,A β)分子量约4kDa,由 β 淀粉样前体蛋白(β -amyloid precursor protein,APP)水解而来,由细胞分泌,在细胞基质沉淀聚积后具有很强的神经毒性作用。A β 的沉积不仅与神经元的退行性病变有关,而且可以激活一系列病理事件,包括星型胶质细胞和小胶质细胞的激活、血脑屏障的破坏和微循环的变化等,是阿尔茨海默病(AD)患者脑内老年斑周边神经元变性和死亡的主要原因。现阶段对阿尔茨海默病的诊断主要是通过一些智力/记忆的测试,还没有可靠的生物化学诊断的方法。这种智力或记忆的测试的诊断非常滞后,主观性强,没法量化。因此,发展一种科学、能够量化甚至精确定位的诊断方法迫在眉睫。

[0004] 研究发现sigma-2受体在AD患者的大脑中表达也明显升高(PLOS ONE,2014,9(11):e111898)。A β 呈现浓度依赖性地结合到sigma-2受体而且明显诱导sigma-2受体的表达,且这种诱导作用也呈现时间和浓度相关性(PLOS ONE,2014,9(11):e111899)。sigma-2受体拮抗剂不但能够有效阻止A β 结合到神经细胞,且能够解离已经结合到神经细胞上的A β 蛋白(PLOS ONE,2014,9(11):e111898,PLOS ONE,2014,9(11):e111899,J Neurochem.2017,140(4),561-575,Neurosci.Lett.2019,691,3-10)。因此,sigma-2受体是抗AD药物的一个有效靶点,sigma-2拮抗剂能够有效阻止和逆转A β 的结合和沉积,对治疗AD具有应用价值。由于sigma-2受体在阿尔茨海默病人脑的高度表达,sigma-2配体化合物有可能开发成显影试剂用于阿尔茨海默病的早期诊断。

[0005] 大量研究已经表明肿瘤细胞(如乳腺癌,胰腺癌,前列腺癌)在癌变过程中高度表达sigma-2受体(比周围的正常组织高出10倍以上),因此,对sigma-2受体具有高度亲和力的化合物能够选择性地结合到高度表达sigma-2受体的肿瘤细胞。目前乳腺癌的诊断主要依靠放射显影(如CT,具有辐射副作用)、观摩、活检(需要侵入取样)等手段。这些方法的主要缺点在于其成本高、精确度低(假阳性、假阴性高)、对身体损害大。

[0006] 本发明涉及的是一系列具有荧光结构的,对sigma-2受体具有高亲和活性和选择性的化合物,这些化合物能够有效地、选择性地结合到sigma-2受体,利用其发射荧光的特征从而可应用于肿瘤的诊断。这些化合物能够拮抗A β 在神经细胞中的结合,阻止其引起的

信号传导和细胞毒性,对AD具有诊断、治疗或改善作用。

发明内容

[0007] 本发明主要涉及一系列sigma-2荧光配体,包括其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物,其制备方法,以及这些化合物在肿瘤的诊断,阿尔茨海默的治疗、预防和/或诊断中的应用。特别地,本发明的化合物可以选择性地与sigma-2受体结合。

[0008] 本发明亦提供用于制备本发明化合物的方法和中间体。

[0009] 本发明亦提供包含药学上可接受的载体和本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物的至少一种的组合物。

[0010] 本发明的化合物可用于诊断肿瘤。

[0011] 本发明的化合物可用于诊断、治疗和/或预防阿尔茨海默病。

[0012] 本发明的化合物可用于疗法。

[0013] 本发明的化合物可用于制备供诊断肿瘤的药剂。

[0014] 本发明的化合物可用于制备供诊断、治疗和/或预防阿尔茨海默病的药剂。

[0015] 本发明的化合物可单独使用、与本发明的其它化合物联用或者与一种或多种(优选一至两种)其它药物联用。

[0016] 本发明的这些特征和其它特征将随着本公开内容继续,以展开形式陈述。

附图说明

[0017] 图1化合物SF-1、SF-2、SF-3对细胞内Ca²⁺的影响。其中,RHM-1是拮抗剂参照试剂,siramesine是激动剂参照试剂。其中“明场”指在正常光线下电镜观察图片;“Ca²⁺探针”指在Fluo-3AM荧光探针下电镜观察图片;“重叠”指“明场”下图片和Fluo-3AM下的图片叠加。

[0018] 图2化合物SF-1对于乳腺癌细胞MCF-7的标记作用,SF-1给药3小时后进行荧光拍照,图像取自40X镜头倍数。左边图为正常光线下电镜观察图片,中间图为荧光(sigma-2配体)下的电镜图片,右边图为前两者的叠加图。

[0019] 图3化合物SF-2对于乳腺癌细胞MCF-7的标记作用,SF-2给药3小时后进行荧光拍照,图像取自40X镜头倍数。左边图为正常光线下电镜观察图片,中间图为为荧光(sigma-2配体)下的电镜图片,右边图为前两者的叠加图。

[0020] 图4化合物SF-3对于乳腺癌细胞MCF-7的标记作用,SF-3给药3小时后进行荧光拍照,图像取自40X镜头倍数。左边正常光线下电镜观察图片,中间图为为荧光(sigma-2配体)下的电镜图片,右边图为前两者的叠加图。

具体实施方式

[0021] I. 定义

[0022] 如上面和本发明整个说明书所用,下面的术语,除非另外指明,应当理解为具有下面的含义:

[0023] 术语“本发明化合物”及等价的表达,意欲包括如在上文中描述的通式(I)化合物,其表达包括前药、药学上可接受的盐和溶剂合物,例如水合物(当上下文许可时)。类似地,对于中间体而言,无论它们本身是否要求保护,意欲包括它们的盐和溶剂合物(当上下文许

可时)。为清楚起见,当上下文许可时,具体实例有时在文中指明,但是这些实例是纯粹说明性的且当上下文许可时不打算排除其它的实例。

[0024] 术语“烷基”意指其可在链上具有约1至约6个碳原子的直链或支链脂族烃基。支链意指一个或多个低级烷基例如甲基、亚甲基、乙基或丙基连接于直链烷基链上。烷基的实例包括甲基、亚甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、正戊基和3-戊基。

[0025] 术语“烷氧基”是指烷基-O-基团,其中烷基基团如本文所述。示例性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。

[0026] 术语“烷氨基”是指烷基-N-基团,其中烷基基团如本文所述。示例性烷氨基基团包括甲氨基、乙氨基、正丙氨基、异丙氨基、正丁氨基和庚氨基。

[0027] 术语“卤代”或“卤素”意指氟、氯、溴或碘。

[0028] 术语原子的“取代的”或“取代”意指所指定原子上一个或多个氢由选自指定基团的取代基置换,条件是指定原子的正常价未被超过。如本文中所提及,术语“(被)取代(的)”表示至少一个氢原子被非氢基团替代,条件是保持正常价数且取代作用产生稳定化合物。当取代基为酮基(即, $=O$)时,则原子上的2个氢被替代。酮基取代基不会出现在芳族部分上。当提及环体系(例如碳环或杂环)被羰基或双键取代时,意指羰基或双键为环的一部分(即在环内)。如本文中所使用,环双键为在两个相邻环原子之间所形成的双键(例如 $C=C$ 、 $C=N$ 或 $N=N$)。

[0029] 在本发明化合物上存在氮原子(例如胺类)的情况中,其可通过用氧化剂(例如mCPBA和/或过氧化氢)处理而转化成N-氧化物,从而得到本发明的其它化合物。因此,认为所显示和要求保护的氮原子涵盖所显示的氮及其N-氧化物($N \rightarrow O$)衍生物。

[0030] 术语“选择性地”、“选择性的”、“特异(性)的”等表述所述化合物对sigma-2受体比其他受体(例如sigma-1)具有更大的亲和性。

[0031] 术语“药学上可接受的盐”表示本发明化合物的相对无毒的无机和有机酸加成盐,和碱加成盐。这些盐可以在化合物的最终分离和纯化过程中原位制备。特别是,可以通过独立使纯化的游离碱形式的化合物与适宜的有机或无机酸反应,和将如此形成的盐分离,来制备酸加成盐。示例性酸加成盐包括氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、草酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、硼酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、naphthylate、甲磺酸盐、葡庚糖酸盐、乳糖酸盐(lactobionate)、氨基磺酸盐、丙二酸盐、水杨酸盐、丙酸盐、亚甲基-双-b-羟基萘甲酸盐、龙胆酸盐、异硫代硫酸盐、二对甲苯酰酒石酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、环己基氨基磺酸盐和奎尼酸盐月桂基磺酸盐(quinateslaurylsulphonate)等(参见例如,Berge等人,“Pharmaceutical Salts”, J.Pharm.Sci.,66:1-9(1977)和Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版, MackPublishing Company, Easton, Pa., 1985, 第1418页, 据此整体通过引用并入本文)。也可以通过独立进行使纯化的酸形式的化合物与适宜的有机或无机碱反应,和分离如此形成的盐,来制备碱加成盐。碱加成盐包括药学上可接受的金属盐和胺盐。适宜的金属盐包括钠、钾、钙、钡、锌、镁和铝盐。钠和钾盐为优选。适宜的无机碱加成盐是由金属碱制备的,所述金属碱包括氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化铝、氢氧化锂、氢氧化镁和氢氧化锌。适宜的胺碱加成盐是由胺制备的,所述胺具有足够的碱性以形成稳定的盐,并且优

选包括由于其药用的低毒性和可接受性而在医药化学中常用的那些胺,所述胺的实例包括氨、乙二胺、N-甲基-葡糖胺、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、普鲁卡因、N-苄基苯乙胺、二乙胺、哌嗪、三(羟基甲基)-氨基甲烷、四甲基氢氧化铵、三乙胺、二苄胺、二苄羟甲胺、脱氢松香胺、N-乙基哌啶、苄胺、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、乙胺、碱性氨基酸例如赖氨酸和精氨酸、二环己基胺等。

[0032] 术语“药学上可接受的前药”表示可根据本发明使用的化合物的前药,以及,在可能的情况下,本发明化合物的两性离子形式,所述前药,在合理的医学判断范围内,适合用于与人和低级动物的组织接触而没有不适当的毒性、刺激、过敏反应等,与合理的利益/风险比率相称,并对预期的使用是有效的。术语“前药”表示迅速在体内转化,例如通过在血液中水解,产生上式母体化合物的化合物。可以通过体内代谢裂解而迅速转化的官能团,形成与本发明化合物的羧基反应的一类基团。所述官能团包括,但不限于,如烷酰基(例如乙酰基、丙酰基、丁酰基等)、未取代的和取代的芳酰基(例如苯甲酰基和取代的苯甲酰基)、烷氧基羰基如乙氧基羰基)、三烷基甲硅烷基(例如三甲基和三乙基甲硅烷基)、与二羧酸形成的单酯(例如琥珀酰基)等这类的基团。由于本发明有用的化合物的可代谢裂解基团在体内容易被裂解,所以携带这样的基团的化合物可以作为前药。携带代谢可裂解基团的化合物具有可以表现出提高的生物利用度的优点,所述优点是由于存在代谢可裂解基团而给予母体化合物提高的溶解度和/或吸收率的结果。下列文献提供了前药的详尽论述:Design of Prodrugs,H.Bundgaard编辑,Elsevier(1985);Methods in Enzymology,K.Widder等人编辑,Academic Press,42,第309-396(1985);A Textbook of Drug Design and Development,Krogsgaard-Larsen和H.Bundgaard编辑,第5章;“Design and Applications of Prodrugs”第113-191页(1991);Advanced Drug Delivery Reviews,H.Bundgaard,8,第1-38页(1992);Journal of Pharmaceutical Sciences,77:285(1988);Nakeya等人,Chem.Pharm.Bull.,32:692(1984);Higuchi等人,“Pro-drugs as Novel Delivery Systems”,A.C.S.Symposium Series的第14卷,以及Bioreversible载体in Drug Design,Edward B.Roche编辑,American Pharmaceutical Association and Pergamon Press(1987),上述文献通过引用整体并入本文。前药的实例包括但不限于,本发明化合物中的醇和胺官能团的乙酸酯(盐)、甲酸酯(盐)和苯甲酸酯(盐)衍生物。

[0033] 术语“药物组合物”意指包含式(I)化合物以及依施用方式和剂型的性质而定的至少一种选自以下药学上可接受的成分的组合物,包括:载体、稀释剂、佐剂、赋形剂或赋形剂,例如防腐剂、填充剂、崩解剂、润湿剂、乳化剂、悬浮剂、甜味剂、矫味剂、香味剂、抗菌剂、抗真菌剂、润滑剂和分散剂。悬浮剂的实例包括乙氧化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄耆胶、或这些物质的混合物。通过多种抗菌剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯代丁醇、苯酚、山梨酸等,能够确保预防微生物的作用。最好包括等渗剂,例如糖、氯化钠等。通过使用延迟吸收剂,例如单硬脂酸铝和明胶,能够使注射剂型延长吸收。适宜的载体、稀释剂、溶剂或赋形剂的实例包括水、乙醇、多元醇、它们的适宜的混合物、植物油(例如橄榄油)、和注射有机酯例如油酸乙酯。赋形剂的实例包括乳糖、枸橼酸钠、碳酸钙、磷酸二钙。崩解剂的实例包括淀粉、藻酸和一些复合硅酸盐。润滑剂的实例包括硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠、滑石以及高分子量聚乙二醇。

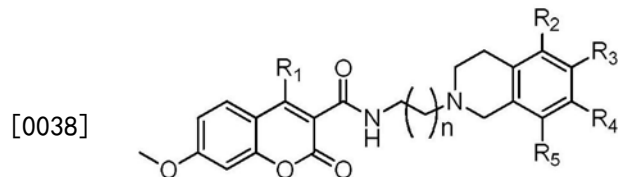
[0034] 术语“药学上可接受”意指在合理的医疗判断范围内,适用于与人和低等动物细胞

接触而没有过度的毒性、刺激性、变应性反应等,且与合理的益处/风险比相应。

[0035] 术语“药学上可接受的剂型”意指本发明化合物的剂型,包括例如片剂、糖锭剂、散剂、酞剂、糖浆剂、液体制剂(包括混悬剂、喷雾剂、吸入片剂、锭剂、乳剂、溶液剂、颗粒剂、胶囊剂和栓剂)以及用于注射的液体制剂,包括脂质体制剂。一般可在Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Co., Easton, PA, 最新版中发现配制技术和制剂。

[0036] II. 本发明的优选实施方案

[0037] 在一方面,本发明提供结构式I所示的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物。



结构式 I

[0039] 其中, R_1 - R_5 独立地选自: 氢原子、氨基、羟基、卤素、酰胺基、 C_{1-6} 烷基、烷氨基、烷氧基, 优选氢原子、卤素、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基; n 选自 0、1、2、3、4、5, 优选 1、2、3。

[0040] 根据前述任一方面, 所述 C_1 - C_6 烷基选自甲基、亚甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基。

[0041] 根据前述任一方面, 所述 C_1 - C_6 烷氧基选自甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基、己氧基。

[0042] 根据前述任一方面, 优选地, R_1 选自: 氢原子、羟基、甲基、亚甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基; 或者 R_1 选自: 甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基、己氧基。

[0043] 优选地, R_2 独立地选自: 氢原子、甲基、亚甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基、己氧基, 更优选甲氧基。

[0044] 优选地, R_3 独立地选自: 氢原子、甲基、亚甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基、己氧基, 更优选甲氧基。

[0045] 优选地, R_4 独立地选自: 氢原子、甲基、亚甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基、己氧基, 更优选甲氧基。

[0046] 优选地, R_5 独立地选自: 氢原子、甲基、亚甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基、己氧基, 更优选甲氧基。

[0047] 在一方面, 本发明提供下列化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物:

[0048] N-(2-(6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉)乙基)-7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酰胺;

[0049] N-(2-(6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉)丙基)-7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酰胺;

[0050] N-(2-(6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉)丁基)-7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酰胺。

[0051] 在一方面, 本发明提供选自示例性实施例范围内的化合物的任何子集列表的化合

物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0052] III、本发明的其它实施方案

[0053] 在另一个实施方案中,本发明提供一种组合物,所述组合物包含至少一种本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物的制备方法,包括以下步骤:

[0054] 1) 将适当量的取代的2-羟基4-甲氧基苯甲醛和丙二酸二乙酯反应、水解,得到相应的取代的2-氧-苯并吡喃-3-甲酸;

[0055] 2) 将适当量的取代的1,2,3,4-四氢异喹啉和适当量的N-BOC-溴代烷基胺进行取代反应,脱除BOC得到相应的取代的1,2,3,4-四氢异喹啉-2-烷基胺;

[0056] 在另一个实施方案中,本发明提供一种组合物,所述组合物包含至少一种本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0057] 在另一个实施方案中,本发明提供一种药物组合物,所述药物组合物包含药学上可接受的载体和至少一种本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0058] 在另一个实施方案中,本发明提供一种药物组合物,所述药物组合物包含:药学上可接受的载体和治疗上有效量的至少一种本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0059] 在另一个实施方案中,本发明提供一种药物组合物,所述药物组合物进一步包含另外的治疗剂。

[0060] 在另一个实施方案中,本发明提供用于制备本发明的化合物的方法。

[0061] 在另一个实施方案中,本发明提供用于制备本发明的化合物的中间体的方法。

[0062] 在另一个实施方案中,本发明提供用于治疗和/或预防阿尔茨海默病的方法,所述方法包括向需要这类治疗和/或预防的患者给予治疗上有效量的至少一种本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0063] 在另一个实施方案中,本发明提供使用本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物,治疗和/或预防阿尔茨海默病的治疗方法。

[0064] 在另一个实施方案中,本发明提供使用本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物在制备治疗、预防和/或诊断阿尔茨海默病的药剂中的用途。

[0065] 在另一个实施方案中,本发明提供本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物在制备抑制A β 聚集的制剂中的用途。

[0066] 在另一个实施方案中,本发明提供本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物用于制备肿瘤诊断的制剂的用途,所述化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物结合到高度表达的sigma-2受体的癌细胞,并通过测定其荧光特征对肿瘤组织进行诊断。

[0067] 在另一个实施方案中,本发明亦提供本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物用于制备早期肿瘤诊断的制剂的用途。

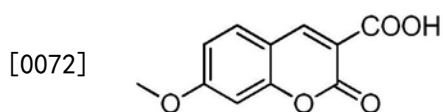
[0068] 在另一个实施方案中,本发明提供本发明的化合物或其异构体、前药、药学上可接受的盐或溶剂化物在制备与sigma-2受体结合相关的制剂中的用途,优选地,所述与sigma-2受体结合为选择性地。

[0069] 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述。本领域技术人员将会理

解,下面的实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

[0070] 实施例1:中间体的合成

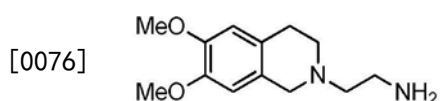
[0071] 1、中间体7-甲氧基苯并吡喃-2-氧-3-甲酸的合成



[0073] 取2-羟基-4-甲氧基苯甲醛2.0g (13.15mmol),丙二酸二乙酯4.3g (26.3mmol),无水哌嗪0.57g (6.56mmol)于50ml烧瓶内,加入乙醇15ml,加入至回流,滴加5滴冰乙酸(0.1mL),回流反应4h,冷却至室温,旋干反应液,加入10%氢氧化钾溶液(100mL,178.3mmol)回流1.5小时,抽滤析出固体,干燥,固体用乙酸乙酯和甲醇重结晶得产物1.81g,产率63.2%。

[0074] ^1H NMR (CDCl_3 , ppm) δ 12.24 (b, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.03 (dd, 2.4Hz, 1H), 6.94 (d, 1H), 3.97 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , ppm) δ 166.3, 164.6, 163.1, 157.1, 151.3, 131.7, 115.2, 112.3, 110.9, 100.8, 56.3。

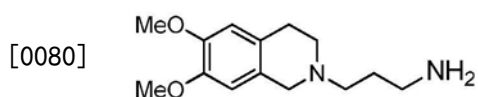
[0075] 2、中间体6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉-2-乙胺的合成



[0077] 取溴乙胺氢溴酸盐10.0g (48.81mmol),三乙胺7.42g (73.22mmol)溶于50ml乙醇中,冰浴至 0°C ,滴加Boc-酸酐12.85g (58.57mmol),滴加完毕后缓慢升温至室温反应15h,反应完毕后,减压旋干乙醇,加入50ml水,用乙酸乙酯($3 \times 100\text{ml}$)萃取,收集有机相,无水硫酸钠干燥,减压旋干乙酸乙酯,得到淡黄色油状产物Boc-溴乙胺10.0g,产率91.4%。

[0078] 取6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉盐酸盐2.0g (8.8mmol)溶于25ml二氯甲烷中,加入三乙胺2.64g (26.12mmol),Boc-溴乙胺2.34g (10.45mmol),室温下搅拌过夜,反应结束后将反应液倒入50ml水,水层用 $3 \times 50\text{ml}$ 二氯甲烷萃取,收集有机相,无水硫酸钠干燥,加入4.0g硅胶粉,产物经硅胶柱层析纯化(洗脱剂:乙酸乙酯:石油醚=1:1)的淡黄色油状产物2.4g,加入20ml二氯甲烷,滴入1ml三氟乙酸,室温搅拌6h,减压旋干二氯甲烷,加入20ml水,用10%氢氧化钠溶液调节pH=10,用二氯甲烷萃取($3 \times 50\text{ml}$),收集有机相,无水硫酸钠干燥,减压旋干二氯甲烷得淡黄色油状产物1.6g,产率95%。

[0079] 3、中间体6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉-2-丙胺的合成

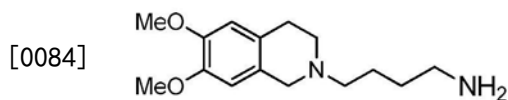


[0081] 取溴丙胺氢溴酸盐8.0g (36.54mmol),三乙胺5.6g (54.81mmol)溶于50ml乙醇中,冰浴至 0°C ,滴加Boc-酸酐9.6g (423.85mmol),滴加完毕后缓慢升温至室温反应15h,反应完毕后,减压旋干乙醇,加入50ml水,用乙酸乙酯($3 \times 100\text{ml}$)萃取,收集有机相,无水硫酸钠干燥,减压旋干乙酸乙酯,得到淡黄色油状产物Boc-溴丙胺8.01g,产率92.1%。

[0082] 取6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉盐酸盐2.0g (8.8mmol)溶于25ml二氯甲烷中,加入三乙胺2.64g (26.12mmol),Boc-溴丙胺2.48g (10.45mmol),室温下搅拌过夜,反应结束后将反应液倒入50ml水,水层用 $3 \times 50\text{ml}$ 二氯甲烷萃取,收集有机相,无水硫酸钠干燥,

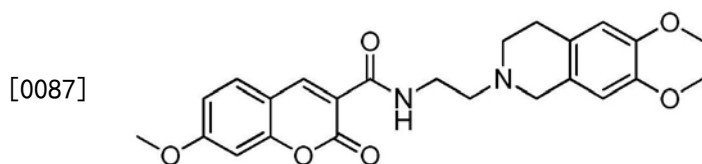
加入4.0g硅胶粉,产物经硅胶柱层析纯化(洗脱剂:乙酸乙酯:石油醚=1:1)的淡黄色油状产物2.5g,加入20ml二氯甲烷,滴入1ml三氟乙酸,室温搅拌6h,减压旋干二氯甲烷,加入20ml水,用10%氢氧化钠溶液调节pH=10,用二氯甲烷萃取(3×50ml),收集有机相,无水硫酸钠干燥,减压旋干二氯甲烷得淡黄色油状产物2.1g,产率93%。

[0083] 4、中间体6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉-2-丁胺的合成



[0085] 取6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉盐酸盐1.0g(4.35mmol),4-溴-1-丁腈0.71g(4.79mmol),三乙胺1.5g(10.86mmol)溶于15ml氯仿中,加热回流过夜反应。反应结束后将反应液倒入50ml水,水层用3×50ml二氯甲烷萃取,收集有机相,无水硫酸钠干燥,加入2.5g硅胶粉,产物经硅胶柱层析纯化(洗脱剂:乙酸乙酯:石油醚=1:1)的白色固体0.9g,产率80%。取固体0.55g溶于25ml THF中,冰浴至0℃,分批加入1.5g(39.53mmol)的LiAlH₄,缓慢升温至回流反应过夜,TLC监测反应完全,加入冰水淬灭反应,加入无水硫酸钠,抽滤,用二氯甲烷萃取(3×50ml),收集有机相,旋干得黄色油状产物0.3g,产物不经纯化直接投下一步。

[0086] 实施例2:N-(2-(6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉)乙基)-7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酰胺(SF-1)的合成



[0088] 取7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酸0.17g(0.77mmol),溶于10ml二氯亚砷中,回流反应6小时,减压旋干二氯亚砷,得黄色固体。取6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉-2-乙胺0.17g(0.72mmol)溶于20ml DCM中,加入0.36g(3.6mmol)三乙胺,冰浴至0℃,缓慢上述酰氯的DCM溶液,滴加完毕后升温至室温反应过夜。TLC监测反应完全后加入50ml水,用二氯甲烷萃取(3×50ml),收集有机相,无水硫酸钠干燥得黄色固体0.34g,用甲醇重结晶得黄色产物0.19g,产率56.2%。

[0089] ¹H NMR (DMSO-d₆, ppm) δ8.83-8.85 (m, 2H), 7.88-7.90 (d, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.02-7.04 (d, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.68-3.70 (6H), 3.52-3.54 (m, 4H), 2.64-2.72 (m, 6H); C-13NMR (DMSO, ppm) δ164.9, 161.7, 161.3, 156.6, 148.3, 147.6, 147.4, 132.0, 126.9, 126.4, 115.2, 114.1, 112.6, 112.3, 110.5, 100.7, 56.7, 56.6, 56.0, 55.9, 55.4, 50.9, 37.1, 28.7。

[0090] 实施例3:N-(2-(6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉)丙基)-7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酰胺(SF-2)的合成

[0091] 取7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酸0.2g(0.91mmol),溶于10ml二氯亚砷中,回流反应6小时,减压旋干二氯亚砷,得黄色固体。取6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉-2-丙胺0.21g(0.84mmol)溶于20ml DCM中,加入0.42g(4.2mmol)三乙胺,冰浴至0℃,缓慢上述酰氯的DCM溶液,滴加完毕后升温至室温反应过夜。TLC监测反应完全后加入50ml水,用二氯甲烷萃取(3×50ml),收集有机相,无水硫酸钠干燥得黄色固体0.6g,用甲醇重结晶得淡黄色

产物0.3g,产率78.9%。

[0092] ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm) δ 8.80 (s, 1H), 8.72 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.08 (d, 1H), 7.03 (dd, 1H), 6.61 (d, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.68 (6H), 3.45 (s, 2H), 3.40 (dd, 2H), 2.71 (t, 2H), 2.61 (t, 2H), 2.50 (dt, 2H), 1.74-1.81 (m, 2H); C-13NMR (DMSO, ppm) δ 164.8, 161.8, 161.3, 156.6, 148.1, 147.6, 147.3, 131.9, 127.0, 126.4, 115.4, 114.1, 112.6, 110.4, 100.7, 56.7, 55.9, 55.8, 55.6, 51.2, 38.0, 28.7, 26.8。

[0093] 实施例4:N-(2-(6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉)丁基)-7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酰胺(SF-3)的合成

[0094] 取7-甲氧基-2-氧-苯并吡喃-3-甲酸0.3g (1.36mmol),溶于10ml二氯亚砷中,回流反应6小时,减压旋干二氯亚砷,得黄色固体。取6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢异喹啉-2-丁胺0.3g (1.13mmol)溶于20ml DCM中,加入0.64g (5.67mmol)三乙胺,冰浴至0℃,缓慢上述酰氯的DCM溶液,滴加完毕后升温至室温反应过夜。TLC监测反应完全后加入50ml水,用二氯甲烷萃取(3×50ml),收集有机相,无水硫酸钠干燥得黄色油状物0.2g,经甲醇重结晶纯化得深黄色固体0.4g,产率60.8%。

[0095] ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm) δ 8.80 (s, 1H), 8.65 (m, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.60 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (6H), 3.43 (s, 2H), 3.35 (t, 2H), 2.69 (m, 2H), 2.57-2.60 (t, 2H), 2.44 (b, 2H), 1.57 (b, 4H); C-13NMR (DMSO, ppm) δ 164.8, 161.8, 161.4, 156.6, 148.1, 147.6, 147.3, 131.9, 127.1, 126.4, 115.5, 114.1, 112.6, 112.2, 110.4, 100.7, 57.8, 56.7, 55.9, 55.6, 51.2, 39.4, 28.8, 27.5, 24.5。

[0096] 实施例5:化合物SF-1, SF-2, SF-3对sigma受体的亲和活性

[0097] 1、sigma-1受体亲和活性测定:采用豚鼠脑细胞膜匀浆(含约100mg蛋白)。向细胞膜匀浆和3nM [^3H] (+)-pentazocine (31.6Ci/mmol, PerkinElmer NEN) 的50mM Tris-HCl (pH 8.0) 中加入测试化合物(被测化合物事先溶解在乙醇中,以0.005nM-1000nM不同浓度加入到培养液中),用缓冲液稀释到最终培养体积为0.5mL,在25℃下培养120分钟。用冰冷的10mM Tris-HCl (pH 8.0) 终止培养,接着快速用Whatman FG/B玻璃纤维滤纸(事先用0.5% polyethylenimine浸透)过滤到Brandel收集瓶内,滤纸用5mL冰的缓冲液洗两次。在10 μM (+)-pentazocine存在下测定非特异性结合。滤液用Beckman LS 6000SC spectrometer计数确定化合物结合sigma-1受体的生物活性(表1)。

[0098] 2、sigma-2受体亲和活性测定:选择鼠肝细胞膜匀浆(约含35mg蛋白)。向细胞膜匀浆和3nM [^3H] DTG (38.3Ci/mmol PerkinElmer NEN) 以及100nM (+)-pentazocine (用来结合sigma-1受体) 的50mM的Tris-HCl (pH 8.0) 中,加入测试化合物(被测化合物事先溶解在乙醇中,以0.005nM-1000nM不同浓度加入到培养液中),用缓冲液稀释到最终培养体积为0.5mL,于25℃下培养120分钟。用冰的10mM Tris-HCl (pH 8.0) 终止培养,接着快速用Whatman FG/B玻璃纤维滤纸(事先用0.5% polyethylenimine浸透)过滤到Brandel收集瓶内,滤纸用5mL冰缓冲液洗两次。在5 μM DTG存在下测定非特异性结合。滤液用Beckman LS 6000SC spectrometer计数确定化合物结合sigma-2受体的生物活性(表1)。由表1可见,相对于sigma-1受体,本发明所制备的化合物SF-1、SF-2、SF-2能够选择性地与sigma-2受体结合,并能够激发荧光,以标记高表达sigma-2受体的肿瘤细胞。

[0099] 实施例6:化合物SF-1, SF-2, SF-3对细胞内Ca $^{2+}$ 的影响

[0100] MCF-7细胞消化后,取24孔板,每孔加0.5ml含5万细胞的悬液,24小时后加入用DMEM溶解的各浓度的药物,药物处理24小时后吸弃培养基,加入含Fluo-3AM钙离子荧光探针2.5 μ M浓度的培养基孵育30min,吸弃含探针的培养基,加入新培养基孵育20min,吸弃培养基,用PBS洗两遍,在活细胞成像仪下观察(图1)。

[0101] 由图1可见,化合物SF-1,SF-2和SF-3对细胞内Ca²⁺没有影响,sigma-2受体激动剂siramesine在10 μ M浓度下明显增加了细胞内Ca²⁺浓度(图1,中间),而sigma-2受体拮抗剂RHM-1对细胞内Ca²⁺没有影响。因此,SF-1,SF-2,和SF-3均属于sigma-2受体拮抗剂。

[0102] 实施例7:化合物SF-1,SF-2,SF-3对肿瘤细胞的毒性

[0103] 用含10%胎牛血清的DMEM培养基培养MCF-7细胞,取96孔板,分组,每孔加100ml含6000个细胞的悬液,24小时后加入用DMEM溶解的各浓度的药物,对照组以等量DMEM代替,分别在处理24小时,48小时后用cck8试剂盒检测,具体步骤为,吸弃旧培养基,加入100ml含10% cck8试剂的培养基,孵育2h,用酶标仪在450nm波长处测量OD值,计算公式为:

[0104] 细胞活力(%) = $\frac{A(\text{加药}) - A(\text{空白})}{A(0\text{加药}) - A(\text{空白})} \times 100$

[0105] 实验数据由三组平行实验得到(表1)。

[0106] 由表1可见,本发明制备的化合物SF-1,SF-2,SF-3对于MCF-7肿瘤细胞不具备细胞毒性。

[0107] 实施例8:化合物SF-1,SF-2,SF-3对乳腺癌细胞的标记

[0108] MCF-7细胞消化后,取24孔板,每孔加0.5ml含5万细胞的悬液,24小时后加入用DMEM溶解的各浓度的药物,药物处理3小时后吸弃培养基,用PBS洗两遍,在活细胞成像仪拍照(表1,图2)。

[0109] 由表1可见,化合物SF-1,SF-2,SF-3能够有效标记肿瘤细胞MCF-7,并激发荧光。鉴于肿瘤细胞高度表达sigma-2受体,而正常细胞表达很低甚至不表达sigma-2受体,因此,化合物SF-1,SF-2,SF-3可以标记高表达sigma-2受体的肿瘤细胞,化合物SF-1,SF-2,SF-3在肿瘤的诊断领域具有应用前景。

[0110] 表1.SF-1,SF-2,SF-3的生物活性

化合物	IC50 (nM)		σ_2 激动/拮抗	MCF-7 细胞毒性	标记 MCF-7
	$K_i \sigma_1$	$K_i \sigma_2$			
[0111] SF-1	> 1000	21	拮抗	无	明显
SF-2	> 1000	50	拮抗	无	中等
SF-3	> 1000	8	拮抗	无	较差

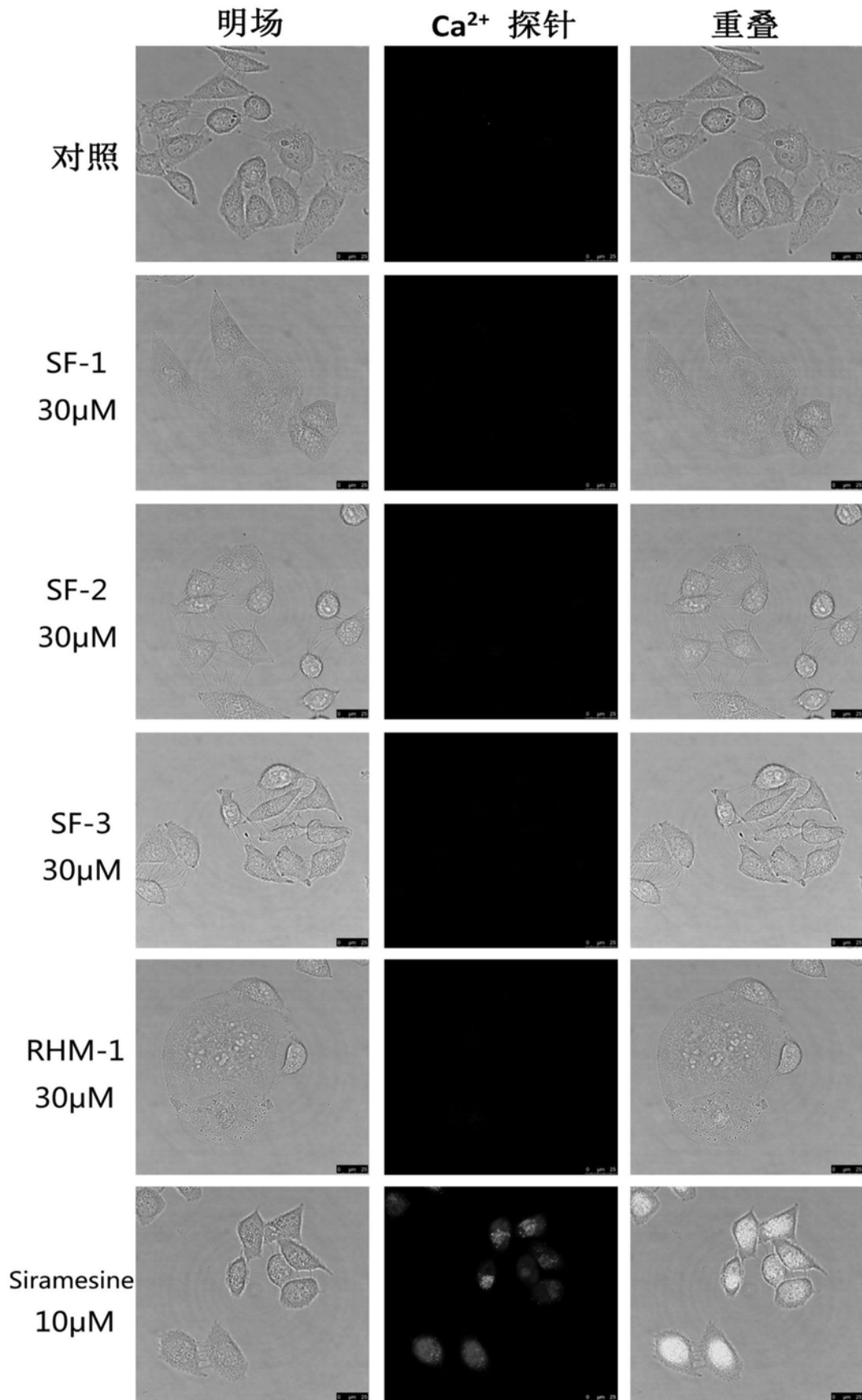


图1

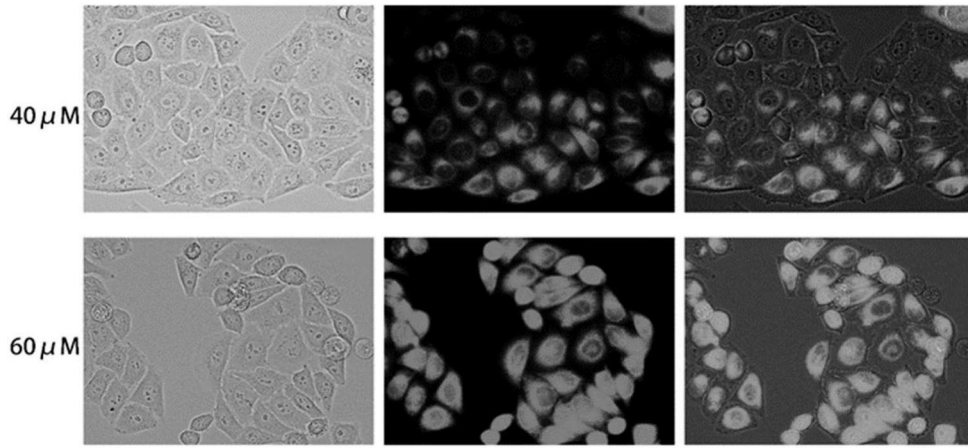


图2

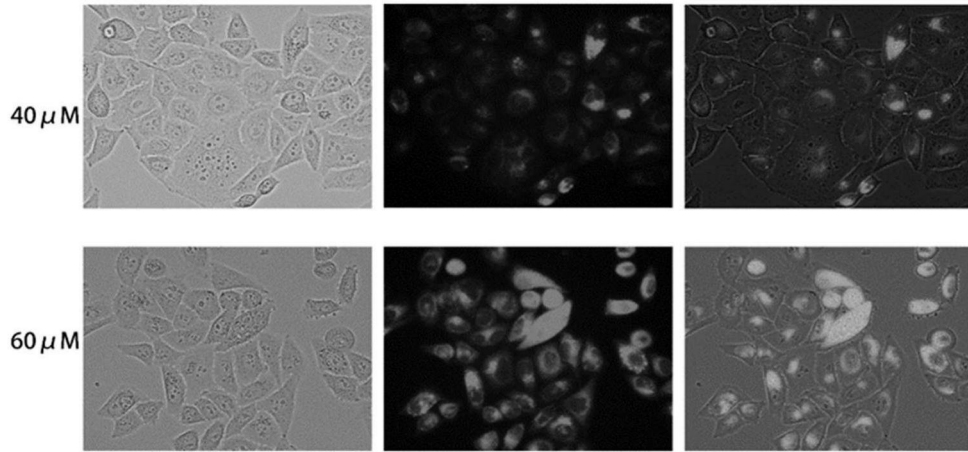


图3

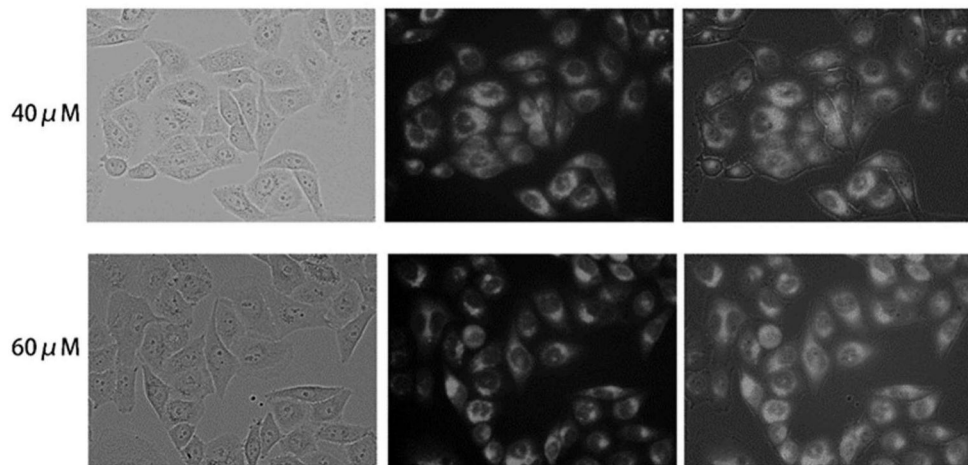


图4