

NK1 拮抗剂前药化合物与 5-HT3 受体拮抗剂的联用用途

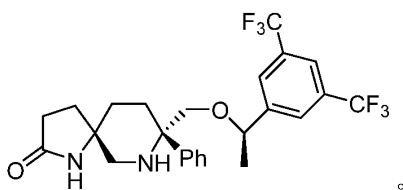
技术领域

本公开属于医药领域，涉及罗拉吡坦前药与 5-HT3 受体拮抗剂联合在制备预防或治疗恶心和/或呕吐的药物中的用途。

背景技术

速激肽是神经激肽受体的肽配体。神经激肽受体，比如 NK1，NK2 和 NK3，与各种生物过程有关。可在哺乳动物的神经和循环系统以及在周围组织中发现它们。因此，这类受体的调节已被研究用于潜在地治疗或预防哺乳动物的各种疾病。典型的神经激肽受体拮抗剂和它们的用途包括：US5760018(1998)(疼痛，炎症，偏头痛和呕吐)，US5620989(1997)(疼痛，伤害感受和炎症)，WO95/19344(1995)，WO 94/13639(1994)和 WO 94/10165(1994)。其它 NK1 受体拮抗剂的种类还包括：Wu 等人，*Tetrahedron* 56，3043-3051(2000)；Rombouts 等人，*Tetrahedron Letters* 42，7397- 7399(2001)；和 Rogiers 等人，*Tetrahedron* 57，8971-8981(2001)。

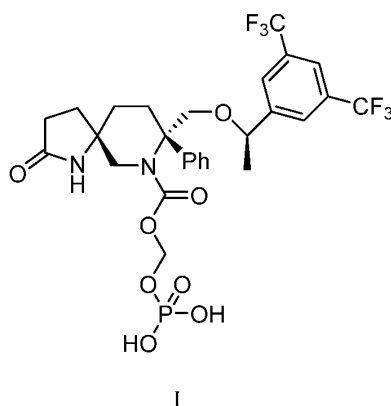
US7049320 提供一种有效的、选择性的、和具有有益的治疗和药理学性质和良好代谢性稳定性的 NK1 拮抗剂罗拉吡坦，其可采用游离碱形式或药学上可接受的盐形式，适合胃肠外给药的制剂，



US9101615 提供式罗拉吡坦的前药，即，式 I 化合物游离胺(或两个胺)的氢被选自-Y、-X 的基团置换的前药及其盐，其中 Y 选自-P(O)(OH)₂、-S(O)_{n1}R¹、-C(O)(C₁₋₆烷基)X、-C(O)(C₁₋₆烷基)(芳基)、-C(O)OR⁴；X 选自-NR²R³、-P(O)(OH)₂ 或-S(O)_{n1}R₁；R¹ 是 H 或 C₁₋₆烷基；R² 是 H 或 C₁₋₆烷基；R³ 是 H 或 C₁₋₆烷基；R⁴ 是 H 或 C₁₋₆烷基；n1 是 0-4。该前药可用于合适的液体制剂(包括或不包括所述胃肠外递药载体)中治疗需要其治疗的患者。

另一方面，药物溶血性是药物进入人体后免疫因素导致的红细胞大量破坏引起的，临床上出现了贫血、黄疸、酱油和尿液等溶血现象。药物性溶血性贫血可分为以下三种类型：(1)药物性免疫，导致抗体介导的溶血性反应；(2)药物作用于具有遗传酶缺陷的红细胞(例如 G6PD 缺陷)；(3)药物对异常血红蛋白的溶血反应。治疗这种疾病的关键在于停止使用相关药物，控制溶血的发生，以防止并发症的发生。为了解决式 I 化合物在生理 pH 溶剂度低的问题，研究人员采用含有 Captisol、丙二醇和乙醇的共溶剂制剂明显提高化合物 1 的溶解度，但是共溶剂制剂在静脉内给药后有明显的溶血作用。CN102573475 公开了一种改进处方，含有聚乙二醇 15-羟基硬脂酸酯、中链甘油三酯。但药物组合物的溶血作用仍然没有彻底解决，即便将式 I 化合物制备成含有磷酸酯的前药。

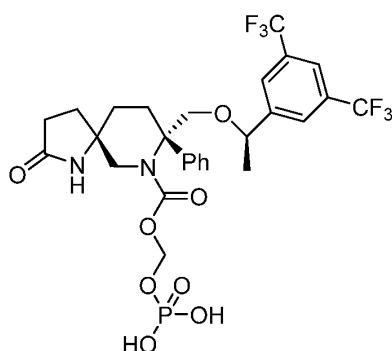
PCT/CN2020/098460 提供了一种新的对治疗各种生理失调、病征和疾病有效而副作用较小的 NK1 拮抗剂前药化合物，其结构如下所示，



本公开提供一种新的对治疗各种生理失调、病征和疾病有效而副作用较小的 NK1 拮抗剂前药化合物与 5-HT₃ 受体拮抗剂联合在制备预防或治疗恶心和/或呕吐的药物中的用途，并显示了良好的治疗效果。

发明内容

本公开提供了一种式 (I) 所示化合物或其可药用盐联合 5-HT₃ 受体拮抗剂在制备预防或治疗恶心和/或呕吐的药物中的用途，



I

在某些实施方式中，所述的 5-HT₃ 受体拮抗剂选自格拉司琼、昂丹司琼、雷莫司琼、托烷司琼、帕洛诺司琼和多拉司琼，优选帕洛诺司琼。

在某些实施方式中，所述式 (I) 所示化合物或其可药用盐的给药剂量为 10-500mg，例如 10mg、20 mg、27.25mg、30 mg、40 mg、50 mg、54.5mg、60 mg、70 mg、80 mg、81.75mg、90 mg、100 mg、109mg、110mg、120 mg、130 mg、136.25mg、140 mg、150 mg、160 mg、163.5mg、170 mg、180 mg、190 mg、190.75mg、200 mg、210mg、218mg、220 mg、230 mg、240 mg、245.25mg、250 mg、260 mg、270 mg、272.5mg、280 mg、290 mg、299.75mg、300 mg、310mg、320 mg、327mg、330 mg、340 mg、350 mg、354.25mg、360 mg、370 mg、380 mg、381.5mg、390 mg、400 mg、408.75mg、410mg、420 mg、430 mg、436mg、440 mg、450 mg、460 mg、463.25mg、470 mg、480 mg、490 mg、490.5mg、500 mg。给药频次可以是一日一次、一日二次、一日三次、一周一次、二周一次。

在某些实施方式中，所述 5-HT₃ 受体拮抗剂的给药剂量为 0.075-1mg，例如，0.125mg、0.25mg、0.375mg、0.5mg、0.625mg、0.75mg，优选 0.25-0.75mg。给药频次可以是一日一次、一日二次、一日三次、一周一次、二周一次。

在某些实施方式中，所述式 (I) 所示化合物或其可药用盐的给药剂量为 27.25mg、54.5mg、81.75mg、109mg、136.25mg、163.5mg、190.75mg、218mg、245.25mg、272.5mg、299.75mg、327mg、354.25mg、381.5mg、408.75mg、436mg、463.25mg 或 490.5mg，给药频次可以是一日一次、一日二次、一日三次、一周一次、二周一次。所述 5-HT₃ 受体拮抗剂的给药剂量为 0.125mg、0.25mg、0.375mg、0.5mg、0.625mg 或 0.75mg，给药频次可以是一日一次、一日二次、一日三次、一周一次、二周一次。

本公开所述药物的可药用盐可以是盐酸盐、磷酸盐、磷酸氢盐、硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、乙酸盐、草酸盐、丙二酸盐、戊酸盐、谷氨酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂

酸盐、月桂酸盐、硼酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、羟乙基磺酸盐、马来酸盐。苹果酸盐、酒石酸盐、苯甲酸盐、双羟萘酸盐、水杨酸盐、香草酸盐、扁桃酸盐、琥珀酸盐、葡萄糖酸盐、乳糖酸盐或月桂基磺酸盐等。

本公开的方法用于治疗或预防由多种事件引起的恶心和/或呕吐，包括由中度或高度致呕吐性化疗的化疗诱发的恶心及呕吐(“CINV”)、放疗诱发的恶心及呕吐(“RINV”)及术后恶心及呕吐(“PONV”)。所述方法优选在呕吐诱发事件发生前不久(即，在该事件前不超过 1 或 2 小时)实施。所述方法可用于治疗恶心急性期期间或延迟期期间的恶心和/或呕吐。本公开所述联合的给药方式选自同时给药、独立地配制并共给药或独立地配制并相继给药。

本公开所述联合的给药途径选自经口给药、胃肠外给药、经皮给药，所述胃肠外给药包括但不限于静脉注射、皮下注射、肌肉注射。

本公开进一步涉及一种预防或治疗恶心和/或呕吐的方法，包括向患者给予式 (I) 所示化合物或其可药用盐以及 5-HT₃ 受体拮抗剂。

本公开进一步涉及一种预防或治疗呕吐的方法，包括对患有呕吐的患者或具有患呕吐的风险的患者给予本公开的组合。在其他实施方案中，本公开提供了通过给予一种或多种本文所述的组合来预防或治疗呕吐的方法。所述组合优选在呕吐诱发事件前不久(即，所述事件前不超过 2 小时)给药。所述呕吐可为急性期呕吐(即，呕吐诱发事件后约 24 小时内发生的呕吐)，或迟发性呕吐(即，在所述急性期之后，但在呕吐诱发事件后 7 天、6 天、5 天或 4 天之内发生的呕吐)。所述呕吐可包括由中度或高度致呕吐性化疗引起的化疗诱发的恶心及呕吐(“CINV”)、放疗诱发的恶心及呕吐(“RINV”)或术后恶心及呕吐(“PONV”)。本公开所述的方案中，所述的联合任选的还包含其他组分，所述其他组分包括但不限于其他止吐药等。

本公开还提供了一种用于预防或治疗恶心和/或呕吐的式 (I) 所示化合物或其可药用盐，其与 5-HT₃ 受体拮抗剂联合使用。

本公开还提供了一种用于预防或治疗恶心和/或呕吐的 5-HT₃ 受体拮抗剂，其与式 (I) 所示化合物或其可药用盐联合使用。

本公开还涉及一种包含式 (I) 所示化合物或其可药用盐、5-HT₃ 受体拮抗剂，以及一种或多种药用载体的药物组合物。所述药物组合物可以制成药学上可接受的任一剂型。例如，可以配制为片剂、胶囊剂、丸剂、颗粒剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂、注射剂(包括注射液、注射用无菌粉末与注射用浓溶液)、栓剂、吸入剂或喷雾剂。

本公开所述的含式(I)所示化合物或其可药用盐、5-HT₃受体拮抗剂的药物组合物，可以单独给药，或者与一种或多种治疗剂联合使用。

待组合的各成分（例如，式(I)所示化合物或其可药用盐、5-HT₃受体拮抗剂，与其他任意组分药物）可同时给药或依次顺序地分开用药。此外，待组合的各成分还可以以同一制剂形式或以分开的不同制剂的形式联合给药。

本公开还提供了一种药物包装盒，其中包装有本公开所述的式(I)所示化合物或其可药用盐、5-HT₃受体拮抗剂的药物组合物。

本公开所述的“联合”是一种给药方式，是指一定时间期限内给予至少一种剂量的式(I)所示化合物或其可药用盐以及至少一种剂量的化疗药物，其中给予的药物都显示药理学作用。所述的时间期限可以是一个给药周期内，优选4周内，3周内，2周内，1周内，或24小时以内，更优选12小时以内。可以同时或依次给予式(I)所示化合物或其可药用盐以及5-HT₃受体拮抗剂。这种期限包括这样的治疗，其中通过相同给药途径或不同给药途径给予式(I)所示化合物或其可药用盐以及5-HT₃受体拮抗剂。本公开所述联合的给药方式选自同时给药、独立地配制并共给药或独立地配制并相继给药。

术语“术后恶心和/或呕吐”(PONV)采用其在本领域中的常规含义。在本领域中众所周知，其意味着在手术后发生的出现一次或多次呕吐发作(呕吐和/或干呕)或出现呕吐的欲望(恶心)。干呕涉及与呕吐相同的生理机制，但是发生在闭合的声门上。PONV可定义为在手术结束后48小时内发生的恶心和/或呕吐，也可以定义为在手术结束后24小时内发生的恶心和/或呕吐。

“治疗有效量”指产生它为了其施用的所需效应的治疗剂的量。在一些实施方式中，该术语指当根据方案施用于患有或易患疾病、病症和/或状况的群体时，足以治疗所述疾病、病症和/或状况的量。在一些实施方式中，治疗有效量是降低疾病、病症和/或状况的一种或多种症状的发生率和/或严重性，和/或延迟其发作的量。本领域普通技术人员将了解，术语“治疗有效量”实际上不需要实现在特定个体中的成功治疗。相反，治疗有效量可以是当施用于需要此类治疗的患者时，在大量受试者中提供特定的所需药理学应答的量。在一些实施方式中，提及治疗有效量可以指如在一种或多种特定组织(例如，受疾病、病症或状况影响的组织)或流体(例如，血液、唾液、血清、汗液、泪、尿等)中测量的量。本领域普通技术人员将了解，在一些实施方式中，治疗有效量的特定试剂或疗法可以以单一剂量配制和/或施用。在一些实施方式中，治疗有效试剂可以以多个剂量配制和/或施用，例如，作为方案的部分。

本文中的所有数字都可以理解为由“约”修饰，当涉及诸如量，时间持续时间等可测量值时，其意指涵盖 $\pm 10\%$ ，优选 $\pm 5\%$ ，或更多的变化。除非另作说明，否则这些变化对于获得所需量的药物都是适当的。优选为距指定值 $\pm 1\%$ ，甚至更优选为 $\pm 0.1\%$ 。

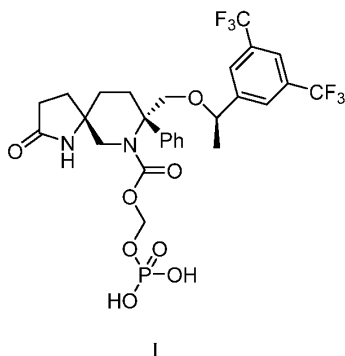
本公开将式(I)所示化合物或其可药用盐与5-HT₃受体拮抗剂联合给药，改善了恶心和/或呕吐等疾病的治疗效果。

具体实施方式

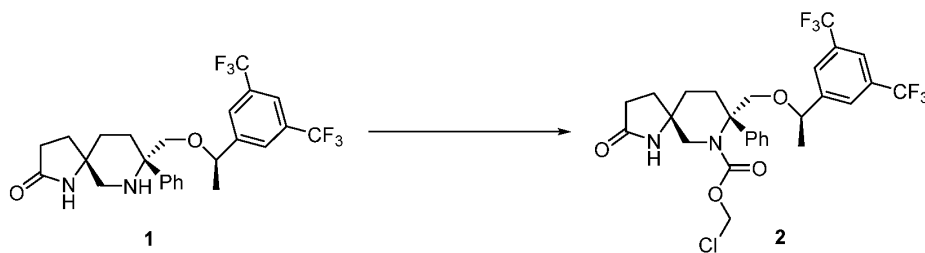
以下结合实施例进一步描述本公开中，但这些实施例并非限制本公开中的范围。

本公开中实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照原料或商品制造厂商所建议的条件。未注明具体来源的试剂，为市场购买的常规试剂。

实施例1:

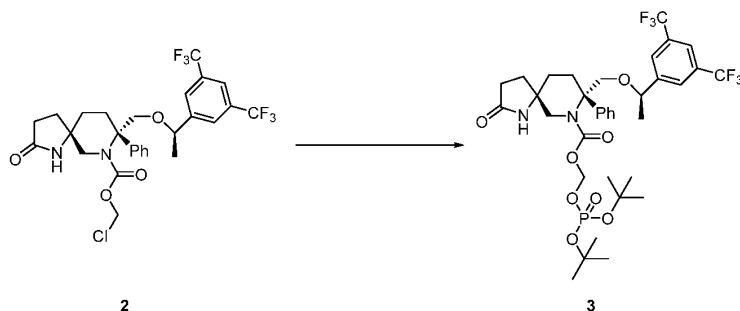


第一步:



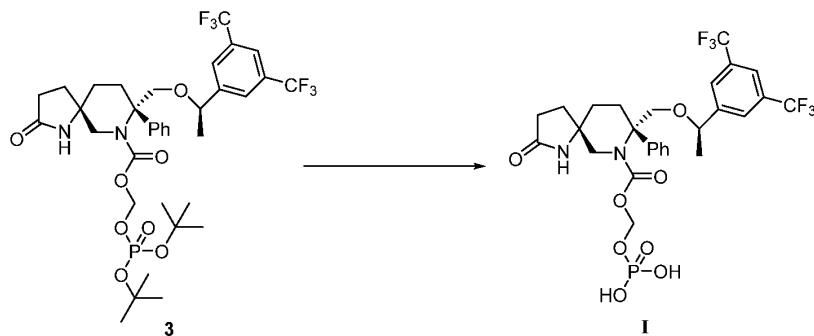
在N₂保护下，于100mL三口瓶中称取化合物1（2.43g，4.86mmol，1eq）溶于二氯甲烷（36mL）中，加入二异丙基乙胺（5g，38.76 mmol，8eq），冷却到-30℃，加入三甲基氯硅烷（1.36g，12.52 mmol，2.6eq），室温下搅拌2h。再冷却到-25℃，滴加氯甲酸氯甲酯（0.77g，6 mmol，1.23 eq）的二氯甲烷溶液，控温-20℃~-5℃搅拌至反应完毕，将反应液倒入冰水中，分液，二氯甲烷萃取，加入水和1N的盐酸溶液，分液，再依次用食盐水、饱和碳酸氢钠水溶液和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩，得到3.0g黄色胶状物，收率104%。

第二步:



在 N_2 保护下, 于500mL三口瓶中加入化合物2 (2.8g, 4.53mmol, 1eq), 四丁基碘化铵 (1.68g, 4.55mmol, 1eq), 磷酸二叔丁酯钾盐 (5.63g, 22.67mmol, 5eq) 和二氧六环 (84mL), 加热至55℃下搅拌4h。反应液降温, 倒入乙酸乙酯和水中, 分液, 用乙酸乙酯萃取, 用亚硫酸钠的水溶液洗涤, 再依次用水、食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到3.73g黄色泡沫, 收率107%。

第三步:



在 N_2 保护下, 于500mL单口瓶中加入化合物3 (6.65g, 8.67mmol, 1eq) 溶于二氯甲烷 (200mL) 中, 冰水冷却下缓慢加入三氟乙酸 (9.89g, 86.7mmol, 10.0eq), 搅拌至反应完毕, 浓缩, 得到2.29g油状物, 经反相硅胶柱 (C18) 纯化 (A溶液: 20mmol NH_4HCO_3 水溶液, B溶液: 乙腈) 纯化, 再用1M磷酸调节pH=1~2, 用二氯甲烷萃取, 饱和盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得目标产物式 (I) 所示化合物2.7g。

实施例2: 式 (I) 所示化合物联合帕洛诺司琼在大鼠中的毒性试验

大鼠连续29天、每周1~2次静脉注射给予式 (I) 所示化合物、帕洛诺司琼或式 (I) 所示化合物+帕洛诺司琼复方, 停药恢复4周, 观察可能引起毒性反应的性质、程度、量

效和时效关系及可逆性，判断毒性靶器官或靶组织，同时研究其毒代动力学特征，了解毒性研究中暴露剂量与毒理学结果之间的关系。

药物配制

按含量折算，称取所需量的式(I)所示化合物，加入适量的0.02M 磷酸盐缓冲液(pH约为7.40)配制至所需浓度，低浓度给药制剂可由高浓度给药制剂稀释得到，配制后经过滤(PES滤膜)后使用。配制后暂存条件及有效期：15~25℃，遮光，72小时内使用。

按含量折算，称取所需量的帕洛诺司琼，加入适量的0.02M 磷酸盐缓冲液(pH约为7.40)配制至所需浓度，低浓度给药制剂可由高浓度给药制剂稀释得到，配制后经过滤(PES滤膜)后使用。配制后暂存条件及有效期：15~25℃，遮光，72小时内使用。

以固定比例(式(I)所示化合物：帕洛诺司琼游离碱=872:1)，称取所需量的式(I)所示化合物及帕洛诺司琼至所需浓度，保证其浓度比为式(I)所示化合物：帕洛诺司琼游离碱=872:1；低浓度给药制剂可由高浓度给药制剂使用0.02M 磷酸盐缓冲液(pH约为7.40)稀释得到，配制后经过滤(PES滤膜)后使用。配制后暂存条件及有效期：15~25℃，遮光，72小时内使用。

1.1 给药

本试验式(I)所示化合物+帕洛诺司琼复方组低、中、高剂量组分别设计为(以下剂量以式(I)所示化合物+帕洛诺司琼表示)5+0.0006、15+0.24、30+10 mg/kg。另设式(I)所示化合物 5、20、40 mg/kg组及帕洛诺司琼 10 mg/kg组，其式(I)所示化合物剂量、帕洛诺司琼剂量与复方高剂量组中式(I)所示化合物剂量、帕洛诺司琼剂量相同。此外，另设对照组，静脉注射给予等体积的溶媒(0.02M 磷酸盐缓冲液(pH约为7.40))。

静脉滴注，前4周每周给药2次，第5周给药1次，共给药9次，末次给药后停药恢复4周，15分钟/只/次，给药体积20 ml/kg。

1.2 通过观察动物活动情况等，测定体重、摄食量，检测检查血液学、血液生化、尿常规、眼科、骨髓涂片，分析相关数据。

1.3 毒代动力学

采样时间：

式(I)所示化合物组、帕洛诺司琼组及式(I)所示化合物+帕洛诺司琼各剂量组：首、末给药前及给药后2分钟(±30秒)、0.25(±1分钟)、0.5小时(±1分钟)、2小时(±1分钟)、4小时(±2分钟)、8小时(±5分钟)、24小时(±30分钟)、48小时(±30分钟)；

对照组：首、末次给药前及给药后2分钟(±1分钟)；

采样方法：根据情况，采血前可用CO₂-O₂混合气体（体积比7:3）进行麻醉；

采样动物：各组首次、末次毒代采样存活大鼠；

采样部位：颈静脉；

采样量： ≥ 0.3 mL；

抗凝剂：EDTA-K₂；

血样处理：全血样品离心前冰盒中放置，于2~8℃、离心力1800×g离心10分钟，分离血浆2管，其中一管50 μL，剩余血浆放置于另一管，样品分装后于-66℃以下保存待检。

1.4 大体解剖和组织病理学检查

1.5 统计分析

体重、摄食量、血液学、血液生化、尿比重、骨髓涂片检查各细胞系百分比及巨核细胞计数（如有）、脏器重量及系数等定量指标采用均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）描述，尿常规检测（尿比重除外）、骨髓涂片有核细胞增生情况（如有）等定性指标（二分类、无序多分类及有序多分类）采用频数计数描述。样本数小于3时，该组数据不进行统计学比较。

定量指标先采用LEVENE检验进行方差齐性检验，当方差齐时（ $P>0.05$ ），则采用单因素方差分析（ANOVA）进行统计学检验；当方差不齐时（ $P\leq 0.05$ ），则采用Kruskal-Wallis H秩和检验（K-W法）进行统计分析。当单因素方差分析显示差异有统计学意义时（ $P\leq 0.05$ ），则采用Dunnett's t检验（Dunnett法）对组间差异进行比较；当单因素方差分析显示差异无统计学意义时（ $P>0.05$ ），则统计分析结束。当Kruskal-Wallis H秩和检验显示差异有统计学意义时（ $P\leq 0.05$ ），则采用Mann-Whitney U检验（M-W法）对组间差异进行比较；当Kruskal-Wallis H秩和检验显示差异无统计学意义时（ $P>0.05$ ），则统计分析结束。

有序多分类指标采用Kruskal-Wallis H秩和检验（K-W法）进行分析；差异有统计学意义时（ $P\leq 0.05$ ），采用Mann-Whitney U秩和检验（M-W法）比较组间差异。

二分类指标采用Fisher确切概率法（EXACT）进行分析，差异有统计学意义时（ $P\leq 0.05$ ），则继续用Fisher确切概率法比较两组间的差异。

组间差异比较在式（I）所示化合物各剂量组、帕洛诺司琼组、式（I）所示化合物+帕洛诺司琼各剂量组与对照组之间进行。

所有检验均为双侧检验 $\alpha = 0.05$ 。所有分析均分性别进行。体重、血液学、血液生化、脏器重量及系数等采用PRISTIMA 7.2.0版数据采集系统进行统计分析。其余指标数据使用Stata/IC 15.0 for Windows进行统计分析。

一般状态观察、眼科检查及病理等资料采用描述分析。

实施例3：恒河猴体内29天毒性试验

恒河猴连续29天、每周1~2次静脉注射给予式(I)所示化合物，停药恢复4周，观察可能引起毒性反应的性质、程度、量效和时效关系及可逆性，判断毒性靶器官或靶组织，同时研究其毒代动力学特征，了解毒性研究中暴露剂量与毒理学结果之间的关系。

药物配制

按含量折算，称取所需量的式(I)所示化合物，加入适量的0.02M 磷酸盐缓冲液(pH约为7.40)配制至所需浓度，低浓度给药制剂可由高浓度给药制剂稀释得到，配制后经过滤(PES滤膜)后使用。配制后暂存条件及有效期：15~25℃，遮光，72小时内使用。

1.1 给药

本试验式(I)所示化合物低、中、高剂量分别为2、10、50 mg/kg。另设对照组，以相同方式给予等体积溶媒(0.02M 磷酸盐缓冲液(pH约为7.40))。

静脉滴注，前4周每周给药2次，第5周给药1次，共给药9次，末次给药后停药恢复4周，30分钟/只/次，给药体积20 ml/kg。

1.2 通过观察动物活动情况等，测定体重、摄食量、体温(肛温)、心电图、血压，检测检查血液学、血液生化、尿常规、眼科、骨髓涂片，分析相关数据。

1.3 毒代动力学

采样时间：

式(I)所示化合物各剂量组：首、末次给药前及给药结束后2分钟(±30秒)、0.25(±1分钟)、0.5(±1分钟)、2(±2分钟)、4(±2分钟)、8(±2分钟)、24(±5分钟)小时、48小时(±1分钟)；

对照组：首、末次给药前及给药结束后0.25(±1分钟)小时；

采样动物：各组存活猴；

采样部位：下肢隐静脉或其它适宜静脉；

采样量：≥ 0.4 mL；

抗凝剂：EDTA-K2；

血样处理：全血样品离心前冰盒中放置，于2~8℃、离心力1800×g离心10分钟，分离血浆2管，其中一管50 μL，剩余血浆放置于另一管，样品分装后于-66℃以下保存待检。

1.4 大体解剖和组织病理学检查

1.5 统计分析

体重、摄食量、体温、心电图、血压、血液学、血液生化、尿比重、骨髓涂片检查各细胞系百分比及巨核细胞计数（如有）、脏器重量及系数等定量指标采用均数 $\pm$ 标准差（ $\bar{X} \pm SD$ ）描述；骨髓涂片有核细胞增生情况（如有）、尿常规检查（尿比重除外）等定性指标（二分类、无序多分类及有序多分类）采用频数计数描述。样本数小于3时，该组数据不进行统计学比较。

定量指标先采用LEVENE检验进行方差齐性检验，当方差齐时（ $P>0.05$ ），则采用单因素方差分析（ANOVA）进行统计学检验；当方差不齐时（ $P\leq 0.05$ ），则采用Kruskal-Wallis H秩和检验（K-W法）进行统计分析。当单因素方差分析显示差异有统计学意义时（ $P\leq 0.05$ ），则采用Dunnett's t检验（Dunnett法）对组间差异进行比较；当单因素方差分析显示差异无统计学意义时（ $P>0.05$ ），则统计分析结束。当Kruskal-Wallis H秩和检验显示差异有统计学意义时（ $P\leq 0.05$ ），则采用Mann-Whitney U检验（M-W法）对组间差异进行比较；当Kruskal-Wallis H秩和检验显示差异无统计学意义时（ $P>0.05$ ），则统计分析结束。

有序多分类指标如尿液检查（清澈度、葡萄糖、胆红素、酮体、潜血、酸碱值、蛋白、尿胆原、白细胞）、骨髓涂片有核细胞增生状况采用Kruskal-Wallis H秩和检验进行分析，差异有统计学意义时（ $P\leq 0.05$ ），则采用Mann-Whitney U检验（M-W法）对组间差异进行比较。

二分类（尿亚硝酸盐）及无序多分类（尿液颜色）指标采用Fisher 确切概率法（EXACT）进行分析，差异有统计学意义时（ $P\leq 0.05$ ），则继续用Fisher 确切概率法比较组间的差异。

组间差异比较在式（I）所示化合物各组与对照组之间进行。

所有检验均为双侧检验 $\alpha = 0.05$ 。所有分析均分性别进行。体重、摄食量、血液学、血液生化、脏器重量及系数等采用PRISTIMA 7.2.0版数据采集系统进行统计分析。其余指标使用Stata/IC 15.0 for Windows进行统计分析。

一般状态观察、眼科检查及病理等资料采用描述分析。

测试例1：水溶性数据和化学稳定性

1.1 配制试剂

试剂： $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

1.2 配制方法

按100ml规格配制如下:

pH=3.0: 磷酸盐缓冲溶液: 100ml 2mmol/L NaH_2PO_4 , 0.1M H_3PO_4 调节pH至3.0。

pH=4.0: 磷酸盐缓冲溶液: 100ml 2mmol/L NaH_2PO_4 , 0.1M H_3PO_4 调节pH至4.0。

pH=7.0: 超纯水

pH=9.0: 磷酸盐缓冲溶液: 100ml 2mmol/L Na_2HPO_4 , 0.1M NaOH溶液调节pH至9.0

1.3 测试方法

精确称取适量待测化合物, 少量多次加入溶液搅拌等待化合物溶解, 测定溶液中化合物含量。数据见表1。

2.1 化合物稳定性实验

称取约1mg样品至小瓶中, 放置真空袋中抽真空, 再放入装有变色硅胶的容器内, 密封, 平行配制两份。按取样时间点配制足够的份数, 分别放置在4度和室温下。测得式(I)所示化合物在不同pH值下溶解度, 数据见表1。

表1

pH	溶解度	饱和溶解度
7.4	26mg/ml	19.8mg/ml
9.0	28 mg/ml	21.4 mg/ml

备注: 较好 放置7天, 纯度降低<0.5%; 中等 放置7天, 纯度降低0.5%~2.0%; 较差 放置7天, 纯度降低>2.0%

测试例2: 溶血作用

红血球(RBC)随机地从兔颈静脉或耳中央动脉采取(EDTA全血)10ml, 放入玻璃珠的三角烧瓶中振摇10分钟, 除去纤维蛋白原, 使成脱纤血液。加入氯化钠注射液约10倍量, 摇匀, 1500转/分钟离心10分钟, 除去上清液, 沉淀的红细胞再用氯化钠注射液按上述方法洗涤3次, 至上清液不显红色。将所得红细胞用氯化钠注射液配成2% (v/v) 的混悬液, 以备用。

取测试样品(式(I)所示化合物)溶于PBS (pH 7.4或pH 5), 过滤, 配制0.4mg/ml、0.8mg/ml、1.2mg/ml、1.6mg/ml和2mg/ml, 以备用。

取一定量的测试样品溶液加入上述血红蛋白在上清液中测试。

若试管中的溶液呈澄明红色, 管底无细胞残留或有少量红细胞残留, 表明有溶血发生; 如红细胞全部下沉, 上清液体无色澄明, 表明无溶血发生。若溶液中有棕红色或红

棕色絮状沉淀，轻轻倒转3-5次仍不分散，表明可能有红细胞凝聚发生；应进一步置显微镜下观察，如可见红细胞聚集为凝聚。本公开提供的化合物采用该方法测定溶血作用。

结论：式（I）所示化合物在浓度高至2mg/ml都没有出现溶血作用。

测试例3：罗拉吡坦乳剂溶血性作用

参照CN102573475中方法制备罗拉吡坦乳剂（处方为：4.4% 聚乙二醇-15 羟基硬脂酸酯、1.1% 中链甘油三酸酯和0.66% 大豆油），用PBS配制0.18mg/ml、0.09mg/ml、0.045mg/ml、0.023mg/ml、0.011mg/ml、0.056mg/ml和0.028mg/ml，以备用。

参照测试例2中方法测定溶血作用。

结论：所有浓度的罗拉吡坦乳剂均存在溶血作用。

测试例4：食蟹猴中的药代动力学测试

以食蟹猴为受试动物，应用LC/MS/MS法测定了注射给予式（I）所示化合物后不同时刻血浆中的药物浓度。研究该化合物在食蟹猴体内的药代动力学行为，评价其药动学特征。

药物配制

称取一定量待测化合物，用20mmol/L磷酸二氢钠配制成pH=4.0溶液，以备用。

1.1 给药

静脉滴注，推注时间约30min，给药剂量3.54 mg/kg，给药浓度2 mg/ml，给药体积5ml/kg。

1.2 操作

给药前及给药结束后5min、0.25h、0.5h、1h、2h、4h、6h、8h、10h和24h，经股静脉采血，每个样品采集约0.6 mL，肝素钠抗凝，采集后马上放置冰上。血液样本采集后放置于标记好的离心管中，离心分离血浆（离心条件：离心力2200g，离心10 min，2-8℃）。

应用LC/MS/MS测定血浆样品中的式（I）所示化合物和罗拉吡坦的含量。

1.3 药代动力学参数结果

表2

	化合物	
	(ng/ml) ^a	(ng/ml) ^b
AUC _{0-24h} (ng/mL*h)	1434.78	8410.94

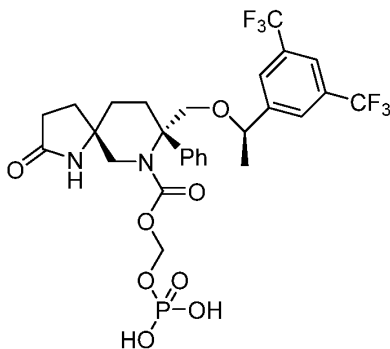
$T_{1/2}(h)$	0.47	13.16
$MRT\ 0-\infty\ (h)$	0.26	8.17

注：a 式 (I) 所示化合物在食蟹猴体内药代动力参数，b 式 (I) 所示化合物代谢为罗拉吡坦在食蟹猴体内药代动力参数。

结论：式 (I) 所示化合物在食蟹猴体内药代动力学研究中，在食蟹猴中绝大部分迅速转化为活性代谢产物罗拉吡坦，其具有良好的药代动力学性质。

权利要求书:

1. 式(I)所示化合物或其可药用盐联合 5-HT₃ 受体拮抗剂在制备预防或治疗恶心和/或呕吐的药物中的用途,



I

2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述的5-HT₃受体拮抗剂选自格拉司琼、昂丹司琼、雷莫司琼、托烷司琼、帕洛诺司琼和多拉司琼,优选帕洛诺司琼。

3. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述式(I)所示化合物或其可药用盐的给药剂量为10-500mg。

4. 根据权利要求1-3任意一项所述的用途,其中所述5-HT₃受体拮抗剂的给药剂量为0.075-1mg。

5. 根据权利要求1-4任意一项所述的用途,其中所述式(I)所示化合物或其可药用盐的给药频次选自一日一次、一日二次、一日三次、一周一次、二周一次。

6. 根据权利要求1-5任意一项所述的用途,其中所述5-HT₃受体拮抗剂的给药频次选自一日一次、一日二次、一日三次、一周一次、二周一次。

7. 根据权利要求1-6任意一项所述的用途,其中所述的恶心和/或呕吐选自化疗诱发的恶心及呕吐、放疗诱发的恶心及呕吐或术后恶心及呕吐。

8. 根据权利要求 1-7 任意一项所述的用途，其中所述的恶心和/或呕吐选自恶心急性期期间或延迟期期间的恶心和/或呕吐。
9. 药物组合物，包含式 (I) 所示化合物或其可药用盐、5-HT₃ 受体拮抗剂，
5 以及一种或多种药用载体。
10. 一种药物包装盒，其中包装有式 (I) 所示化合物或其可药用盐、5-HT₃ 受体拮抗剂的药物组合物。
- 10 11. 一种预防或治疗恶心和/或呕吐的方法，包括向患者给予式 (I) 所示化合物或其可药用盐以及 5-HT₃ 受体拮抗剂。
12. 根据权利要求 11 的方法，其中式 (I) 所示化合物或其可药用盐以及 5-HT₃ 受体拮抗剂在呕吐事件发生后给予，或在呕吐诱发事件发生前不超过 1 或 2 小时
15 给予。