



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101848892 B

(45) 授权公告日 2013. 08. 21

(21) 申请号 200780045550. 3

代理人 李进 李连涛

(22) 申请日 2007. 10. 12

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

0620259. 2 2006. 10. 12 GB

60/829, 243 2006. 10. 12 US

C07D 209/44 (2006. 01)

C07C 65/05 (2006. 01)

C07C 69/02 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

A61K 31/496 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 06. 09

(86) PCT申请的申请数据

PCT/GB2007/003871 2007. 10. 12

(56) 对比文件

WO 2006051808 A1, 2006. 05. 18,

WO 2006055760 A1, 2006. 05. 26,

(87) PCT申请的公布数据

W02008/044034 EN 2008. 04. 17

审查员 李伟

(73) 专利权人 阿斯特克斯治疗有限公司

地址 英国剑桥

(72) 发明人 M·弗里德里克森 J·F·莱昂斯

N·T·汤普森 M·温科维克

B·威廉斯 A·J·伍德赫德

A·J·-A·乌尔福德

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

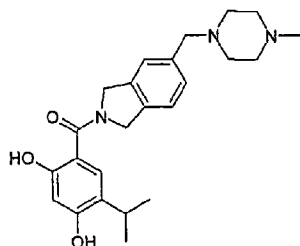
权利要求书6页 说明书100页 附图11页

(54) 发明名称

作为 HSP90 抑制剂的氢化苯酰胺衍生物

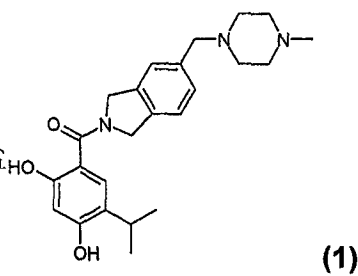
(57) 摘要

本发明提供式(1)化合物的酸加成盐。本发明还提供制备式(1)化合物及其烷基类似物的方法、用于所述方法的新中间体和制备中间体的方法。本发明还提供式(1)化合物及其乙基类似物的新医疗用途。



(1)

1. 一种式 (1) 化合物的酸加成盐 所述酸加成盐是用乳酸



形成的盐。

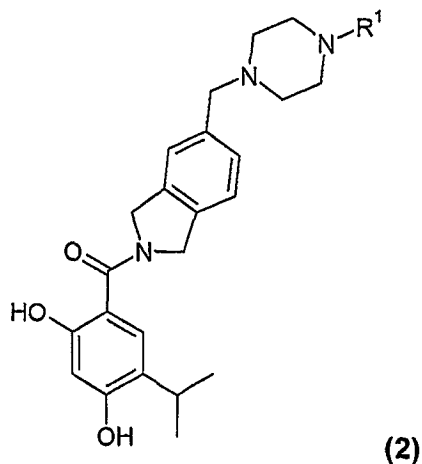
2. 权利要求 1 的酸加成盐, 所述酸加成盐是用 L- 乳酸形成的盐。

3. 权利要求 1 的酸加成盐, 其为至少 90% 的晶形, 其中晶形选自:

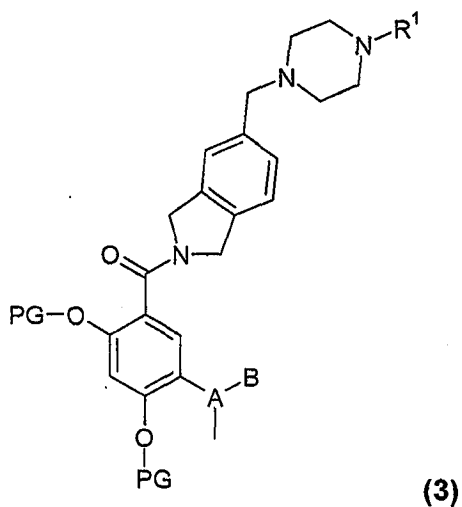
FL1: 其特征在于 XRPD 图在 6.53, 13.10, 14.13, 14.40, 17.22, 18.65, 19.52, 19.82, 22.33, 22.84 和 23.09 具有衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰, 和

FL2: 其特征在于 XRPD 图在 8.03, 10.71, 11.98, 13.13, 15.39, 16.09, 16.61, 17.26, 18.17, 18.82, 20.40, 21.01, 21.53, 22.34, 22.56, 23.71 和 27.70 具有衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

4. 制备式 (2) 化合物的方法:



其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基; 所述方法包括使式 (3) 化合物

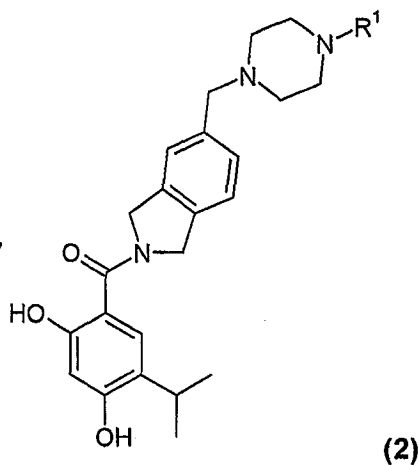


催化氢化, 其中 PG 是在氢化条件下可脱除的保护基团, A-B 是 $CH-CH_3$ 或 $C=CH_2$, 然后当制备的式 (2) 化合物为游离碱形式时, 则将游离碱任选转化为酸加成盐。

5. 权利要求 4 的方法, 其中 PG 是苄基。

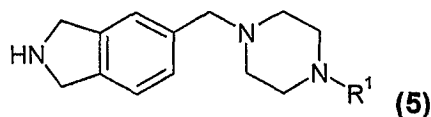
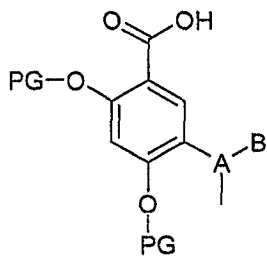
6. 权利要求 4 或权利要求 5 的方法, 其中 A-B 是 $C = CH_2$ 。
7. 权利要求 4 或权利要求 5 的方法, 其中 A-B 是 $CH-CH_3$ 。
8. 权利要求 4 或权利要求 5 的方法, 其中催化氢化用钯催化剂完成。
9. 权利要求 8 的方法, 其中钯催化剂是钯 / 碳。
10. 权利要求 4 或权利要求 5 的方法, 其中 R^1 是甲基或乙基。
11. 权利要求 10 的方法, 其中 R^1 是甲基。
12. 权利要求 10 的方法, 其中 R^1 是乙基。

13. 制备式 (2) 化合物的方法,

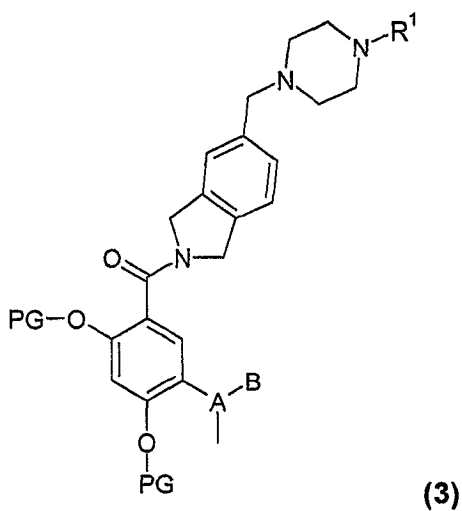


该方法包括:

(a-i) 使式 (4) 化合物或其活化形式或衍生物与式 (5) 化合物:



在酰胺形成条件下反应得到式 (3) 化合物;

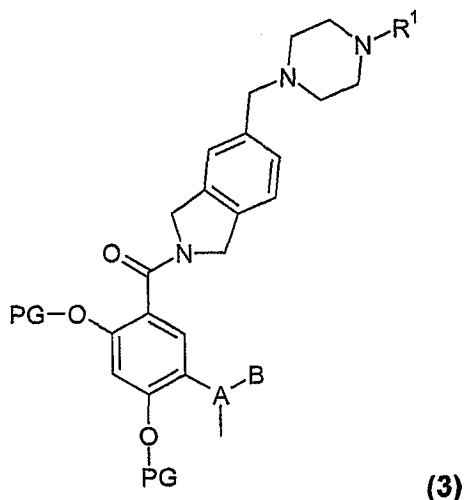


其中 R^1 、PG、A 和 B 如权利要求 4-7 和 10-12 中任一项限定; 和

(b) 使式 (3) 化合物催化氢化以脱除保护基团 PG, 当 A-B 是 $C = CH_2$ 时, 则将基团 A-B

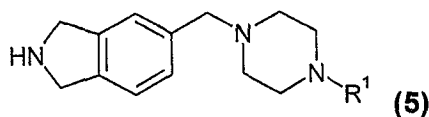
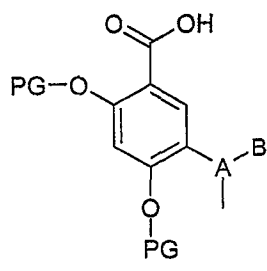
还原为异丙基,然后当制备的式(2)化合物为游离碱形式时,则将游离碱任选转化为酸加成盐。

14. 制备式(3)化合物的方法:



其中 R^1 、PG、A 和 B 如权利要求 4-7 和 10-12 中任一项限定;该方法包括:

(a-i) 使式(4)化合物或其活化形式或衍生物与式(5)化合物:

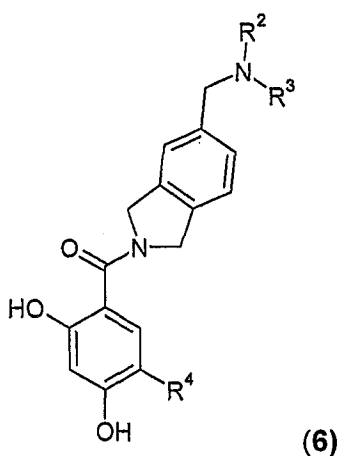


在酰胺形成条件下反应。

15. 权利要求 13 或权利要求 14 的方法,其中使式(4)化合物与式(5)化合物在羧酸活化剂的存在下反应,所述羧酸活化剂是碳二亚胺衍生物。

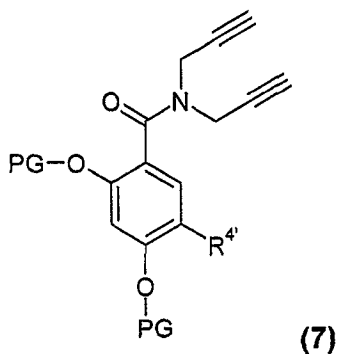
16. 权利要求 15 的方法,其中反应是在催化性辅助亲核试剂的存在下完成。

17. 制备式(6)化合物的方法:

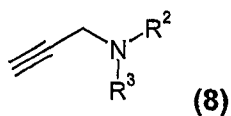


其中 R^2 和 R^3 相同或不同,各自是 C_{1-4} 烷基,或 NR^2R^3 形成 4-7 元饱和杂环,所述杂环任选包含另一个选自 O、N 和 S 的杂原子,被 1 或 2 个 C_{1-4} 烷基任选取代; R^4 选自氢、卤素、 C_{1-5} 烷基和 C_{3-4} 环烷基;该方法包括:

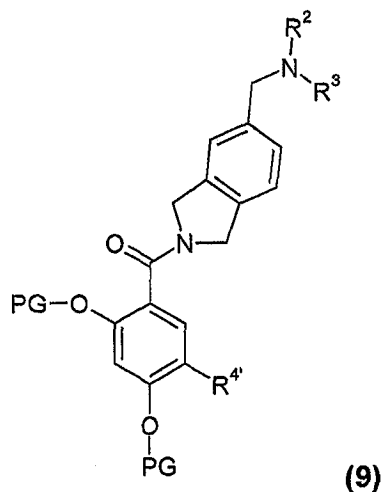
(a-ii) 使式 (7) 化合物：



其中 PG 是在氢化条件下可脱除的保护基团, $R^{4'}$ 选自氢、卤素、 C_{1-5} 烷基、 C_{2-5} 链烯基和 C_{3-4} 环烷基 ; 与式 (8) 化合物 :



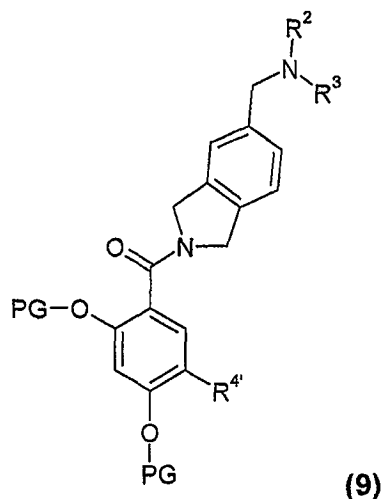
在过渡金属催化剂的存在下反应得到式 (9) 化合物 :



和

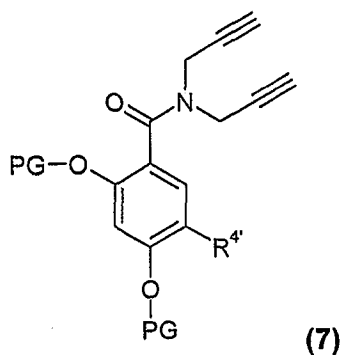
(b) 使式 (9) 化合物催化氢化以脱除保护基团 PG, 当 $R^{4'}$ 是 C_{2-5} 链烯基时, 则将基团 $R^{4'}$ 还原为 C_{2-5} 烷基 ; 然后当制备的式 (6) 化合物呈游离碱形式时, 则将游离碱任选转化为酸加成盐。

18. 制备式 (9) 化合物的方法 :

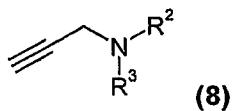


其中 R^2 、 R^3 、 $R^{4'}$ 和 PG 如权利要求 17 限定；该方法包括：

(a-ii) 使式 (7) 化合物：



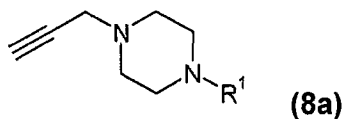
其中 PG 是在氢化条件下可脱除的保护基团， $R^{4'}$ 选自氢、卤素、 C_{1-5} 烷基、 C_{2-5} 链烯基和 C_{3-4} 环烷基；与式 (8) 化合物：



在过渡金属催化剂的存在下反应。

19. 权利要求 17 或权利要求 18 的方法，其中过渡金属催化剂是 Wilkinson's 催化剂。

20. 权利要求 17 或权利要求 18 的方法，其中式 (8) 化合物是式 (8a) 化合物：



其中 R^1 如权利要求 4、11 或 12 中任一项限定。

21. 权利要求 17 或权利要求 18 的方法，其中 $R^{4'}$ 是异丙基或异丙烯基。

22. 权利要求 21 的方法，其中 $R^{4'}$ 是异丙烯基。

23. 权利要求 4 所限定的式 (3)、或权利要求 18 所限定的式 (9) 的化学中间体。

24. 权利要求 1-3 中任一项的酸加成盐在制备用于以下的药物中的用途：

i : 用作 Hsp90 抑制剂；或

ii : 治疗哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的由 Hsp90 介导的疾病或病症；或

iii : 抑制 Hsp90；或

iv : 治疗选自如下的由 Hsp90 介导的增殖性疾病：膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、肾癌、表皮

癌、肝癌、肺癌、食管癌、胆囊癌、卵巢癌、胰腺癌、胃癌、宫颈癌、甲状腺癌、前列腺癌、胃肠系统癌或皮肤癌；淋巴系造血系统肿瘤；髓系造血系统肿瘤；甲状腺滤泡癌；间质来源的肿瘤；中枢或周围神经系统肿瘤；黑色素瘤；精原细胞瘤；畸胎瘤；骨肉瘤；着色性干皮病；角化棘皮瘤；甲状腺滤泡癌；或卡波济肉瘤；或

v：(i) 使恶性细胞对抗癌药敏感，其中所述癌症由 Hsp90 介导；(ii) 缓解或降低对抗癌药抵抗的发病率，其中所述癌症由 Hsp90 介导；(iii) 逆转对抗癌药的抵抗，其中所述癌症由 Hsp90 介导；(iv) 加强抗癌药活性，其中所述癌症由 Hsp90 介导；(v) 延缓或预防对抗癌药抵抗的出现，其中所述癌症由 Hsp90 介导；或

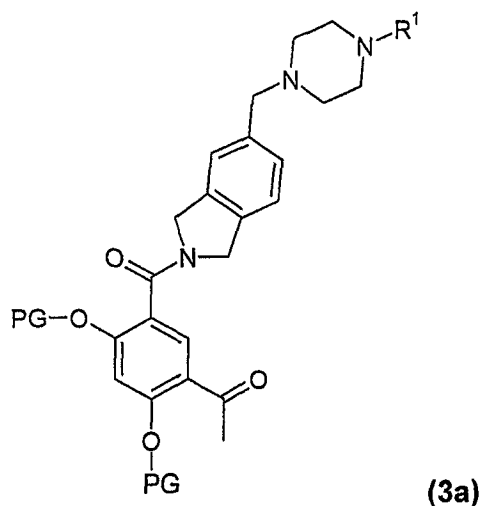
vi：治疗癌症，其中所述癌症由 Hsp90 介导，所述治疗的特征在于不存在药物抵抗；或

vii：预防或治疗或缓解或减轻在进行治疗剂治疗的患者中由 Hsp90 介导的疾病或病症的发病率，其中所述由 Hsp90 介导的疾病或病症是对所述治疗剂的抵抗的进展；或

viii：治疗以抗癌剂进行治疗的患者的由 Hsp90 介导的癌症，所述治疗的特征在于不存在对所述抗癌剂的抵抗。

25. 一种药用组合物，所述药用组合物包含权利要求 1-3 中任一项限定的酸加成盐，和药学上可接受的载体。

26. 制备权利要求 4-7 中任一项限定的式 (3) 化合物的方法，该方法包括使式 (3a) 化合物：



与 Wittig 试剂或适合将基团 $-C(=O)-CH_3$ 转化为基团 $-C(=CH_2)-CH_3$ 的其它试剂反应。

作为 HSP90 抑制剂的氢化苯酰胺衍生物

[0001] 本发明涉及抑制或调节热休克蛋白 Hsp90 活性的化合物的新的结晶和盐形式,和所述化合物治疗或预防由 Hsp90 介导的疾病或病症的用途。还提供制备该化合物和新的化学中间体的新方法。

[0002] 发明背景

[0003] 在对细胞应激包括热、毒素、辐射、感染、炎症和氧化剂的反应中,所有细胞都产生一组共同的热休克蛋白 (Hsp) (Macario&deMacario 2000)。大多数热休克蛋白发挥分子伴侣的作用。分子伴侣在折叠中期与蛋白质结合并使其稳定,让蛋白折叠成其功能状态。正常情况下 Hsp90 是最丰富的胞质 Hsp。人有两种 Hsp90 同工型,主要为诱导型 Hsp90 α , 少数为组成性表达型 Hsp90 β , 还有两种其它密切相关的分子伴侣受限于其细胞内位置 (内质网 GP96/GRP94; 线粒体 TRAP1)。除非另外说明,否则术语 HSP90 用于本文包括所有这些类似物。Hsp90 在折叠晚期与蛋白结合,与其它 Hsp 的区别在于其蛋白质底物的大部分都涉及信号转导。Hsp90 具有独特的 ATP 结合位点,包括细菌旋转酶、拓扑异构酶和组氨酸激酶的 Bergerat 折叠特征。已显示在 Hsp90 的 N-末端袋结合的 ATP 被水解。这种 ATP 酶 (ATPase) 活性引起 Hsp90 构象改变,为使客户蛋白 (client protein) 构象改变所必需。

[0004] 人们发现可调节 ATP 酶活性的二聚化结构域和第二个 ATP 结合位点靠近 Hsp90 的 c-末端。Hsp90 的二聚化对于 ATP 水解很关键。通过与各种其它伴侣蛋白相互作用进一步调控 Hsp90 的活化,可从与其它伴侣包括 Hsp70、Hip、Hop、p23 和 p50cdc37 的复合物中分离。也已证明许多其它共伴侣蛋白 (co-chaperone) 与 Hsp90 结合。已形成简化模型,其中 ATP 与氨基末端袋结合改变 Hsp90 构象以便与多伴侣复合物缔合。首先客户蛋白与 Hsp70/Hsp40 复合物结合。然后该复合物通过 Hop 与 Hsp90 缔合。当 ADP 被 ATP 代替时,Hsp90 的构象改变,释放 Hop 和 Hsp70,募集不同类型的共伴侣分子包括 p50cdc37 和 p23。ATP 水解导致成熟复合物释放这些共伴侣分子和客户蛋白。安莎霉素类抗生素除莠霉素、格尔德霉素 (GA) 和 17-烯丙基氨基-17-去甲氧基格尔德霉素 (17-AAG) 是阻断 ATP 结合的 ATP 结合位点抑制剂,防止转化为成熟复合物 (Grenert 等,1997. J Biol Chem., 272:23834-23850)。

[0005] 尽管 Hsp90 的表达很普遍,但 GA 对肿瘤产生的 Hsp90 的结合亲和力比正常细胞系高 (Kamal 等, Nature 2003;425:407-410)。GA 在肿瘤细胞中还表现更有效的细胞毒活性,以更高浓度汇集在异种移植小鼠模型的肿瘤内 (Brazidec J. Med. Chem. 2004,47, 3865-3873)。而且癌细胞中 Hsp90 的 ATP 酶活性提高,提示在这些细胞中的应激水平增加。据报道在晚期癌症还出现 Hsp90 基因扩增 (Jolly 和 Morimoto JNCI Vol. 92, No. 19, 1564-1572, 2000)。

[0006] 与癌症表型有关的遗传不稳定性增加导致非天然或突变蛋白的产生增加。泛素途径还可起到防范非天然或错折叠的蛋白而保护细胞的作用,通过靶向这些蛋白进行蛋白酶体降解以实现上述作用。突变蛋白的性质是非天然的,因此有可能显示结构不稳定性,对伴侣系统的需要增加。(Giannini 等, Mol Cell Biol. 2004;24(13):5667-76)。

[0007] 有证据表明 Hsp90 主要见于肿瘤细胞中的“活化”多伴侣复合物内,与正常细胞中的“潜伏”复合物相反。多伴侣复合物的一种组分是 cdc37 共伴侣。Cdc37 在 ATP 结合位点

的基底 (base) 与 Hsp90 结合,可影响与“活化”态 Hsp90 结合的抑制剂的脱落率 (off rate) (Roe 等,Ce11116,(2004),87-98 页)。人们认为与 Hsp90-Hsp70 型伴侣复合物结合的客户蛋白对泛素化和靶向蛋白酶体降解更敏感。已用伴侣相互作用基序鉴定 E3 泛素连接酶,显示其中之一 (CHIP) 可促进 Hsp90 客户蛋白泛素化和降解 (Connell 等,2001. Xu 等,2002)。

[0008] Hsp90 客户蛋白

[0009] 已报道的 Hsp90 客户蛋白数现在超过 100 种。因为其许多客户蛋白参与细胞信号增殖和存活,所以 Hsp90 作为肿瘤学靶点已受到重视。特别是两组客户蛋白,细胞信号蛋白激酶和转录因子,表明 Hsp90 调节可能具有作为抗癌疗法的潜在益处。

[0010] 涉及细胞增殖和存活的 Hsp90 蛋白激酶客户蛋白包括下列蛋白:

[0011] c-Src

[0012] 细胞 Src (c-Src) 是受体酪氨酸激酶,为多种生长因子受体启动有丝分裂发生所必需,包括表皮生长因子受体 (EGFR)、血小板衍生生长因子受体 (PDGFR)、集落刺激因子-1 (CSF-1R) 和碱性成纤维细胞生长因子 (bFGFR) 的受体。在过度表达 EGFR 和 ErbB2 的许多相同的人类癌症中 C-Src 也过度表达和活化。Src 调节破骨细胞功能,也是维持正常骨稳态必需的。

[0013] p185erbB2

[0014] ErbB2 (Her2/neu) 是受体酪氨酸激酶,过度表达于多种恶性肿瘤包括乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌和胃癌。ErbB2 最初被鉴定为致癌基因,抑制 Hsp90 引起 erbB2 多泛素化和降解。

[0015] Polo 有丝分裂激酶

[0016] Polo 样 (Polo-like) 激酶 (Plk) 在 M 期是细胞周期进展的重要调节剂。Plk 参与有丝分裂纺锤体的组装和 CDK/ 细胞周期蛋白复合物的活化。Plk1 通过 Cdc25C 的磷酸化和激活调控 CDK 的酪氨酸去磷酸化。CDK1 活化转而导致纺锤体形成并进入 M 期。

[0017] Akt (PKB)

[0018] Akt 参与通过刺激细胞增殖和抑制凋亡调节细胞生长的途径。安莎霉素类抑制 Hsp90 可通过泛素化和蛋白酶体降解缩短 Akt 半衰期。Akt 的下调也需要 cdc37 与 Hsp90 结合。用安莎霉素类处理后 24 小时,癌细胞停滞在细胞周期的 G2/M 期,24-48 小时后开始凋亡。用安莎霉素处理后 24 小时正常细胞也停滞,但不发展为凋亡。

[0019] c-Raf, B-RAF, Mek

[0020] RAS-RAF-MEK-ERK-MAP 激酶途径介导对生长信号的细胞反应。大约 15% 人类癌症中 RAS 突变为致癌形式。三种 RAF 基因是通过结合 RAS 调控的丝氨酸 / 苏氨酸激酶。

[0021] EGFR

[0022] 表皮生长因子受体 (EGFR) 涉及细胞生长、分化、增殖、存活、凋亡和迁移。在许多不同的癌症中已发现 EGFR 过度表达,显示其激酶域的活化突变是一种肺腺癌亚类的发病原因。

[0023] F1t3

[0024] FMS- 样酪氨酸激酶 3 (FLT3) 是参与细胞增殖、分化和凋亡的受体酪氨酸激酶。F1t3 活化也导致磷脂酰肌醇 3- 激酶 (PI3K) 活化和 RAS 信号转导级联。

[0025] c-Met

[0026] c-met 是结合肝细胞生长因子 (HGF) 的受体酪氨酸激酶, 调节细胞运动和细胞生长。c-met 过度表达于肿瘤, 包括甲状腺癌、胃癌、胰腺癌和结肠癌。HGF 也见于肿瘤周围, 包括肝转移。这提示 c-met 和 HGF 在侵袭和转移中发挥重要作用。

[0027] Cdk1. Cdk2. Cdk4. Cdk6

[0028] Cdk1、Cdk2、Cdk4 和 Cdk6 驱动细胞周期。CDK 通过与特异性亚基如细胞周期蛋白、抑制和组装因子结合调节其活性。CDK 通过与特异性细胞周期蛋白的相互作用确定其活性的底物特异性和时限 (timing)。Cdk4/ 细胞周期蛋白 D 和 Cdk6/ 细胞周期蛋白 D 在 G1 期有活性, Cdk2/ 细胞周期蛋白 E 和 Cdk2/ 细胞周期蛋白 A 在 S 期有活性, Cdc2/ 细胞周期蛋白 A 和 Cdc2/ 细胞周期蛋白 B 在 G2/M 期有活性。

[0029] 4 型细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK4) 在允许细胞从细胞周期 G1 期过渡到 S 期中发挥关键作用, 在许多人类癌症中被组成性活化。在多种人类肿瘤中 CDK4 激活剂细胞周期蛋白 D1 过度表达, CDK4 抑制剂 p16 缺失。

[0030] 已研制在 G1/S 期或在 G2/M 边界可逆性阻断正常细胞的 Cdk1/Cdk2 抑制剂。细胞通常较不耐受 G2/M 停滞, 因此它们出现凋亡性细胞死亡。因为已知 Hsp90 可影响细胞存活途径, 所以可用 Hsp90 抑制剂进一步增大这种作用。

[0031] Wee-1

[0032] Wee-1 蛋白激酶使酪氨酸 15 (Tyr15) 上的 CDC2 抑制性磷酸化。这是响应 DNA 损伤的 G2 期检查点的活化所必需的。

[0033] 涉及细胞增殖和存活的 Hsp90 转录因子包括:

[0034] 突变型 p53

[0035] P53 是导致细胞周期停滞和诱导凋亡的肿瘤抑制蛋白。在大约一半癌症中 P53 突变。突变型 p53 与 Hsp90 相关, 在用 Hsp90 抑制剂处理的癌细胞系中下调, 但不影响野生型 p53 水平。

[0036] 黄体酮受体 / 雌激素受体 / 雄激素受体

[0037] 大约 70% 的绝经后乳腺癌女性具有表达雌激素受体的肿瘤。这些患者的第一线治疗针对防止通过该途径传导信号从而抑制肿瘤生长。这可通过切除卵巢、用促性腺激素释放激素激动剂治疗、抑制芳香酶或用与雌激素受体结合但防止进一步信号传导的特异性激动剂治疗。最终患者对这些干预出现抵抗, 通常是因为位于细胞膜上的雌激素受体与生长因子受体之间出现干扰。在无配体状态下, 雌激素受体与促进激素结合的 Hsp90 复合。与成熟受体 Hsp90 复合物结合后, 配体受体可与参与维持细胞增殖的靶基因调控区内的激素效应元件 (HRE) 结合。抑制 Hsp90 引起雌激素受体的蛋白酶体降解, 由此防止通过该途径进一步传导生长信号。前列腺癌是对治疗干预有反应的激素依赖性恶性病变, 所述干预降低睾酮的循环水平或防止睾酮与雄激素受体结合。虽然患者最初对这些治疗有反应, 但其后多数通过恢复经雄激素受体的信号途径出现抵抗。在配体结合之前, 雄激素受体存在于与 Hsp90 及其它共伴侣包括 p23 和抑免蛋白的复合物内。这种相互作用使雄激素受体维持高亲和力和配体结合构象。抑制 Hsp90 引起雄激素受体及其它共伴侣的蛋白酶体降解, 可使肿瘤对其它激素疗法敏感。

[0038] 突变型类固醇激素受体 (在例如抗激素疗法时产生且可能对此类疗法抵抗) 可能对 HSP90 的依赖性更大, 这是因为它们的稳定性和激素结合功能。

[0039] Hif-1a

[0040] 低氧诱导因子-1a(HIF-1a) 是控制基因表达的转录因子,所述基因在血管生成中发挥作用。HIF-1a 表达于大多数转移灶,已知与 Hsp90 相关。用安莎霉素处理肾癌细胞系引起 HIF-1a 的泛素化和蛋白酶体降解。

[0041] Hsp90 抑制剂能够影响对肿瘤细胞增殖的信号转导有重要意义的多个靶点。调节单个靶点活性的信号转导抑制剂可能无效,因为信号途径太多和迅速出现抵抗。

[0042] 通过调节涉及细胞信号和细胞增殖的多个靶点,HSP90 抑制剂可能有利于治疗多种增殖性疾病。

[0043] ZAP70

[0044] ZAP-70,一种 Syk-ZAP-70 蛋白酪氨酸激酶家族成员,正常表达于 T 细胞和自然杀伤细胞,对于启动 T 细胞信号系统具有关键作用。但是,它也异常表达于大约 50% CLL 患者中,通常表达于具有未突变 B 细胞受体基因的患者中。免疫球蛋白重链可变区(IgV_H) 基因的突变状态在慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 的白血病细胞中是重要的预后因素。ZAP-70 在 CLL 细胞中的表达与 IgV_H 突变状态、疾病进展和存活相关。ZAP-70 阳性 CLL 比 ZAP-70 阴性 CLL 的侵袭性更强,表明 ZAP-70 在该病中可能是恶性程度的主要驱动因素。ZAP-70 与 HSP90 在 B-CLL 淋巴母细胞中物理缔合,因此抑制 Hsp90 可使这些细胞对目前的化疗或单克隆抗体疗法敏感。

[0045] 热休克蛋白和抗肿瘤药物抵抗

[0046] 人们早已认识到任何指定多肽的天然三级构象由其初级(氨基酸)序列决定。但是,如上文解释,现在已明确体内许多蛋白的正确折叠需要热休克蛋白(Hsp)发挥分子伴侣的辅助作用。虽然这种伴侣功能对所有情况下的正常细胞功能都很重要,但对应激(如热、低氧或酸中毒)细胞特别关键。

[0047] 这种情况通常见于肿瘤细胞,所述细胞存在于不利的宿主环境中。因此在此类细胞中通常出现的 Hsp 上调可能代表一种机制,恶性细胞通过这种机制在破坏蛋白折叠的条件下维持其蛋白体的完整性。由此,应激蛋白(特别是 Hsp90)的调节剂或抑制剂代表一类具有同时抑制多种畸变信号途径的独特功能的化疗剂。因此它们可发挥抗肿瘤作用,同时消除与其它治疗方案有关的抵抗情况(或减小其发生率)。

[0048] 而且,所有类型的治疗性抗癌干预都必须增加对靶肿瘤细胞施加的应激。在减轻这种应激的有害作用时,Hsps 直接涉及抵抗抗癌药物和治疗方案的作用。因此,应激蛋白功能(特别是 Hsp90)的调节剂或抑制剂代表一类化疗剂,具有下列潜能:(i) 使恶性细胞对抗癌药物和/或治疗敏感;(ii) 缓解或降低对抗癌药物和/或治疗抵抗的发生率;(iii) 逆转对抗癌药物和/或治疗的抵抗;(iv) 加强抗癌药物和/或治疗的活性;(v) 延迟或预防对抗癌药物和/或治疗抵抗的发生。

[0049] 作为抗真菌剂、抗原虫剂和抗寄生虫剂的 HSP90 抑制剂

[0050] 近年来真菌感染已成为人们关注的主要病因,因为有效的抗真菌剂数量有限,对现有抗真菌剂如唑类抵抗的发生率增加。此外,越来越多免疫受损患者(例如器官移植患者、正在化疗的癌症患者、烧伤患者、AIDS 患者或者糖尿病酮症酸中毒患者等患者)使由真菌引起的机会性真菌感染的发病率增加,所述真菌如念珠菌属、隐球菌属和曲霉菌属,有时是镰刀菌属、毛孢子菌属和 *Dreschlera species*。

[0051] 因此,需要可用于治疗逐渐增加的真菌感染患者的新的抗真菌剂,特别是治疗对现有抗真菌药抵抗的真菌引起的感染。

[0052] HSP90 在细菌(如大肠杆菌中的 HTPG)和酵母(如 HSC82 和 HSP82)的演变中被保存。虽然尚未正式鉴定大肠杆菌形式的客户,但在酵母和所有高等生物体中已显示 HSP90 家族对如上描述的许多必需蛋白质发挥伴侣功能。

[0053] 多种病原体引起的感染伴随对 HSP90 的抗体反应。例如在白色念珠菌感染的患者, HSP90 的 47kDa C-端片段是免疫优势表位。而且这种抗体反应伴随好的预后,提示对抗感染的保护性作用。在小鼠侵袭性念珠菌病模型中,对这种多肽中表位的重组抗体也具有抗感染保护作用。(参阅 Mathews 等 Antimicrobial Agents and Chemotherapy (抗微生物剂和化学疗法) 2003vol 47, 2208-2216 及其中的文献)。同样表面表达的 HSP90 充当美洲锥虫病、蛔虫病、利什曼病、弓形体病和曼氏血吸虫所致感染的抗原,已推测抗 HSP90 抗体产生抗疟原虫感染和疟疾的保护作用。

[0054] Mycograb (NeuTec Pharma/Novartis) 是抗热休克蛋白 90 的人重组单克隆抗体,研制用于治疗念珠菌病,在早期试验中已显示明显的反应。而且,天然产物 HSP90 抑制剂格尔德霉素、除莠霉素和根赤壳菌素最初是由其抗真菌活性确认。几种人病原体中,关键的必需蛋白质已被确认为 HSP90 客户(参阅 Cowen 和 Lindquist, Science. 2005 Sep 30; 309(5744):2175-6.)。因此 HSP90 可在病原体如念珠菌属的生长中发挥重要作用, HSP90 抑制剂可用于治疗包括念珠菌病在内的多种感染性疾病。

[0055] 也已发现 Hsp90 增加真菌产生抗真菌药抵抗性的能力(参阅 Cowen LE, Lindquist S. "Hsp90 potentiates the rapid evolution of new traits: drug resistance in diverse fungi (Hsp90 使新特性快速产生:多种真菌的抵抗性)". Science. 2005 Sep 30; 309(5744):2185-9)。因此,联合给予 Hsp90 抑制剂和抗真菌药可增强抗真菌药的功效,通过预防抵抗表型的出现减少抵抗。

[0056] 治疗疼痛、神经性疾病和中风的 HSP90 抑制剂

[0057] Cdk5 是丝氨酸/苏氨酸激酶 Cdk 家族的成员,大部分是细胞周期的关键调节剂。Cdk5 通过与其神经元特异性激活剂 p35 和 p39 缔合调节活性。最新证据表明 CDK5 可使 tau 蛋白和多种其它神经元蛋白如 NUDE-1、突触蛋白 1、DARPP32 和 Munc18/Syntaxin1A 复合物磷酸化。也有证据表明 p35 转化为 p25 诱发 Cdk5 活性畸变在神经退行性疾病如阿尔茨海默病(AD)、肌萎缩性侧索硬化(ALS)和 C 型 Niemann-Pick 病(NPD)的发病机理中发挥作用。 $A\beta_{1-42}$ 处理后 tau 的异常高度磷酸化使微管不稳定,促使轴突变性,形成包含神经原纤维缠结(NFT)的成对螺旋丝(PHF),这是 AD 的基本损害之一。还发现 cdk5 是神经元正常发育所必需。

[0058] 最近已确定作为 CDK5 活性调节剂的 p35 蛋白是 HSP90 的客户蛋白,因此通过改变 HSP90 的水平和活性可调节 CDK5 的活性。因此抑制 HSP90 可导致易感个体的 p35 丢失, CDK5 抑制,磷酸化 tau 蛋白减少,将有利于阿尔茨海默病患者。

[0059] 另外已显示用现有药物抑制 HSP90 可减少体外细胞系统中 tau 蛋白集合体的聚集。(Dickey 等, Curr Alzheimer Res. 2005 Apr; 2(2):231-8)。

[0060] 也已显示 Cdk5 在介导疼痛信号传导中发挥作用。已显示 Cdk5 和 p35 都表达于伤害感受性神经元中。在 p35 敲除小鼠中,其 Cdk5 活性明显减少,延迟出现对疼痛性热刺

激的反应 (Pareek, T. K. 等, Proceedings of the National Academy of Sciences., 103: 791-796 (2006)。另外已显示给予细胞周期蛋白依赖性激酶 5 (Cdk5) 抑制剂 roscovitine 在大鼠中可缓解福尔马林诱发的伤害感受性反应 (Wang, Cheng-haung 等, Acta Pharmacologica Sinica., 26: 46-50 (2005)。钙蛋白酶的活化为钙依赖性, 已知通过激活 NMDA 受体钙通道完成 (Amadoro, G; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103, 2892-2897 (2006))。已知 NMDA 受体拮抗剂在临床上有效治疗神经性疼痛疾病 (Christoph, T 等, Neuropharmacology, 51, 12-17 (2006))。这种功效可能与 NMDA 受体相关性钙内流对钙蛋白酶活性的作用及其后来对 Cdk5 活性的作用有关。此类调节 Cdk5 活性的化合物, 将有利于治疗或预防疼痛, 由此通过 HSP90 抑制, 调节 CDK5 调节剂 p35 可抑制 CDK5。

[0061] 希望有用于姑息性治疗疼痛的药物, 即除了由缓解潜在疾病或病症 (疼痛原因) 而缓解疼痛外还直接缓解疼痛。

[0062] 已显示多种 Cdk's (特别是 Cdk's 4、5 和 6) 参与或介导缺氧或缺血损伤后的神经元死亡 (Rashidan, J. 等; Proceedings of the National Academy of Sciences., 102: 14080-14085 (2005)。而且, 已显示 Cdk 抑制剂 flavopiridol 明显减少大鼠病灶脑缺血模型的神经元死亡 (Osuga, H. 等; Proceedings of the National Academy of Sciences., 97: 10254-10259 (2000)。已显示 Cdk5 抑制剂在神经元细胞死亡的坏死和凋亡过程中都具有保护作用 (Weishaupt, J. 等; Molecular and Cellular Neuroscience., 24: 489-502 (2003)。

[0063] 中风是脑血管事件, 在到达大脑的正常血流中断, 大脑接收太多或太少血液时发生。中风是全世界范围内的主要死因之一, 也是神经残疾最常见的原因之一。

[0064] 缺血性中风是最常见的中风类型, 由动脉血内流受阻引起脑循环血液不足所致。正常情况下, 由脑内动脉系统保证充足的脑血供。但是, 各种疾病包括炎症和动脉粥样硬化可引起血栓, 即在血管内形成的血凝块。血栓可阻断动脉血流, 导致脑缺血和后来的神经症状。缺血性中风还可由来自心脏的栓子 (气泡) 停留在颅内血管引起, 导致灌注压降低或血粘度增加, 脑血流不足。栓子可由各种疾病导致, 包括心房纤颤和动脉粥样硬化。

[0065] 第二种中风类型是出血性中风, 包括通往大脑的动脉出血或破裂。出血性中风导致血流入脑组织内, 包括脑的硬膜外腔、硬膜下腔或蛛网膜下腔。出血性中风通常由已暴露于高血压或血栓形成的动脉硬化血管破裂引起。

[0066] 干预中风的一个时机是预防或减少有中风危险的患者中风的危险。中风有许多已知的危险因素, 包括血管炎症、动脉粥样硬化、高血压、糖尿病、高脂血症和房颤。在危险时, 患者已用药物治疗以控制血压或管理血脂水平, 已用抗血小板药 (如氯吡格雷) 和抗凝剂治疗。第二个时机是治疗急性中风。但是, 现有治疗急性中风的药物疗法只限于在中风后小于 3 小时的狭窄治疗时间窗内恢复血流。仍然需要在较长治疗时间窗内有效的药物。另一个时机是在急性中风期后康复或恢复, 即减少或预防阴影内次级细胞损伤。仍然需要有效减少或预防中风后次级细胞损伤的药物。

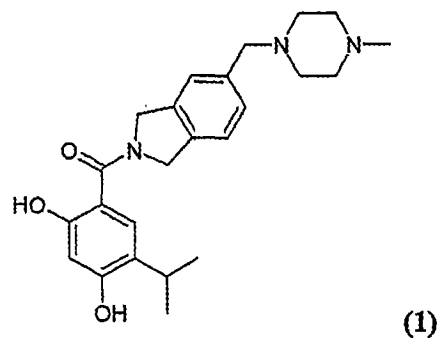
[0067] 希望获得可在不止一个上述时机中用于治疗中风的单种药物。此类药物可给予有中风危险的患者, 也可以给予患急性中风的患者, 或者给予急性中风期后接受康复或恢复治疗的患者。此类药物还可针对中风生化级联中不止一种的独特机制。

[0068] HSP90 抑制剂和丙型肝炎及其它病毒性疾病的治疗

[0069] 宿主细胞被病毒 RNA/DNA 感染导致细胞蛋白合成向病毒核酸编码的关键病毒蛋白的明显改向。增加的蛋白合成负荷对细胞产生应激,因为对能量和合成前体的需求增加。热休克蛋白上调通常是病毒感染的后果,至少部分归因于这种应激。HSP 诱导的功能之一可能是帮助稳定和折叠高水平的“异种”蛋白(在病毒复制时产生)。具体来讲最新研究已提示丙型肝炎(HCV)复制子感染的细胞稳定产生功能性 NS2/3 蛋白酶需要 HSP90。也已证明 HSP90 抑制剂阻断体外系统的病毒复制。(Nagakagawa, S, Umehara T, Matsuda C 等, Biochem. Biophys. Res Commun. 353(2007)882-888 ;Waxman L, Witney, M 等, PNAS 98(2001)13931-13935)。

[0070] 我们的早期申请 PCT/GB2006/001382,其通过引用全部结合到本文中,公开 2,4-二羟基苯甲酸的异吲哚啉酰胺作为 Hsp90 抑制剂。PCT/GB2006/001382 具体公开和举例的化合物之一是化合物 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮,具有下文所示结构。为方便起见,这种化合物在本申请可称为化合物 1 或式 (1) 化合物。

[0071]



[0072] 发明概述

[0073] 本发明提供具有 Hsp90 抑制或调节活性、可用于预防或治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症的式 (1) 化合物的酸式盐(特别是 L-乳酸盐)、晶形和新的类似物。本发明还提供制备式 (1) 化合物及其酸加成盐(特别是 L-乳酸盐)及其类似物的新方法,和新的化学中间体。本发明范围还包括化合物的治疗用途。

[0074] 通称和定义

[0075] 在本说明书中,除非上下文另外标明,否则术语“本发明化合物(compounds of the invention)”或“发明化合物(compound of the invention)”,是总称(a)式(10)的新化合物及其盐、溶剂化物、N-氧化物和互变异构体,(b)化合物(1)的酸加成盐(特别是 L-乳酸盐),和(c)式(1)化合物及其酸加成盐(特别是 L-乳酸盐)的晶形。

[0076] 用于本文时,术语“治疗(treatment)”和相关术语“处理(treat)”指预防性或预防治疗以及治愈性或姑息性治疗疼痛。因此,术语包括受试者或患者已出现疼痛的情况,也包括目前未出现但将出现疼痛的情况。术语“治疗(treatment)”及相关术语也包括完全和部分减轻或预防疼痛。因此,例如,本发明化合物可预防现有疼痛加重,或者减轻或甚至消除疼痛。当用于预防性含义时,所述化合物可防止任何疼痛出现或者可减轻可能出现的疼痛的程度。

[0077] 用于本文时,术语“调节”用于热休克蛋白 Hsp90 的活性,指改变热休克蛋白生物活性的水平。因此,调节包括引起相关热休克蛋白活性增加或降低的生理学改变。在最后一

种情况下,可将调节描述为“抑制”。调节可以直接或间接发生,可在任何生理学水平通过任何机制介导,包括例如在基因表达水平(包括例如转录、翻译和/或翻译后修饰)、在编码调控元件(直接或间接作用于热休克蛋白活性水平)的基因表达水平。因此,调节可表示提高/抑制热休克蛋白表达或者热休克蛋白过度表达或表达不足,包括基因扩增(即多基因复制)和/或通过转录作用增加或降低表达,以及通过突变使热休克蛋白(包括灭活、激活)活性过高(或过低)和(灭活或)激活。由此理解术语“调节(modulated)”。

[0078] 用于本文时,术语“介导”例如与本文描述的热休克蛋白联合使用(例如用于各种生理过程、疾病、状态、病症、疗法、治疗或干预)时,意欲限制性地使用,使得该术语用于的各种过程、疾病、状态、病症、治疗和干预为热休克蛋白 Hsp90 在其中发挥生物学作用的过程、疾病、状态、病症、治疗和干预。在术语用于疾病、状态或病症的情况下,热休克蛋白 Hsp90 可直接或间接发挥生物学作用,可为疾病、状态或病症出现症状(或其发病或进展)所必需和/或足够的条件。因此,热休克蛋白 Hsp90 活性(特别是畸变水平的热休克蛋白 Hsp90 活性,如 Hsp90 过度表达)不一定是疾病、状态或病症的最接近的原因(proximal cause);而应将热休克蛋白 Hsp90 介导的疾病、状态或病症视为包括具有多因素病因和复杂进展,而 Hsp90 只部分参与这些病因和进展的疾病、状态或病症。在该术语用于治疗、预防或干预(如在本发明的“Hsp90 介导性治疗”和“Hsp90 介导性预防”中)的情况下, Hsp90 可直接或间接发挥作用,可为进行治疗、预防或干预结果所必需和/或足够的条件。因此, Hsp90 介导的疾病或病症包括出现对任何具体癌症药物或治疗的抵抗(特别是包括对本文所述的一种或多种信号抑制剂抵抗)。

[0079] 用于本文时,术语“调节”用于细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 的活性,指激酶生物学活性的水平变化。因此,调节包括引起相关激酶活性增加或降低的生理改变。在后一种情况下,可将调节描述为“抑制”。调节可以直接或间接发生,可在任何生理水平通过任何机制介导,包括例如在基因表达水平(包括如转录、翻译和/或翻译后修饰),编码直接或间接作用于细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 水平的调控元件的基因表达水平,或者在酶(如细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5)) 活性水平(如通过变构机制、竞争性抑制、活性位点灭活、干扰反馈抑制途径等)。因此,调节可包括提高/抑制细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 的表达或者细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 的过度表达或表达不足,包括基因扩增(即多基因复制),和/或通过转录作用增加或减低表达,以及通过突变使细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 活性过高(或过低)和(灭活)激活,包括(灭活)激活。由此理解术语“调节(modulated)”。

[0080] 用于本文时,术语“介导”例如与本文描述的细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 联合使用(例如用于各种生理过程、疾病、状态、病症、疗法、治疗或干预)时,意欲限制性地使用,使得该术语用于的各种过程、疾病、状态、病症、治疗和干预为细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 在其中发挥生物学作用的过程、疾病、状态、病症、治疗和干预。在术语用于疾病、状态或病症的情况下,细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 可直接或间接发挥生物学作用,可为疾病、状态或病症出现症状(或其发病或进展)所必需和/或足够的条件。因此,细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 活性(特别是畸变水平的细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 活性,如细胞周期蛋白依赖性激酶 5(CDK5) 过度表达)不一定是疾病、状态或病症的最接近的原因(proximal cause);而应将 CDK5 介导的疾病、状态或病症视为包括具有多因素病因

和复杂进展,而 CDK5 只部分参与这些病因和进展的疾病、状态或病症。在该术语用于治疗、预防或干预(如在本发明的“CDK5 介导性治疗”中)的情况下,CDK5 可直接或间接发挥作用,可为进行治疗、预防或干预结果所必需和/或足够的条件。

[0081] 术语“干预”在本文是用于限定产生任何水平生理改变的任何措施的专业术语。因此,干预可包括诱导或阻遏任何生理过程、事件、生化途径或细胞/生化事件。本发明的干预通常完成(或促成)疾病或病症的治愈、治疗或预防。

[0082] 用于本文时,术语“组合”用于两种或多种化合物和/或药物(本文也称为组分),意欲指其中联合两种或多种化合物/药物的物质。由此理解本文的术语“合并(combined)”和“组合(combining)”。

[0083] 两种或多种化合物/药物在组合物中的联合可以是物理性或非物理性。物理性联合合并的化合物/药物实例包括:

[0084] • 将两种或多种化合物/药物包含在混合物中(如在同一单位剂量内)的组合物(如单一制剂);

[0085] • 包含以下物质的组合物,该物质中两种或多种化合物/药物被化学地/物理化学地(如通过交联、分子聚集或与共用载体部分结合)联接;

[0086] • 包含以下物质的组合物,该物质中两种或多种化合物/药物被化学地/物理化学地共组装(如处于脂肪囊、颗粒(如微粒或纳米微粒)或乳滴上或其中);

[0087] • 药盒、药物包装或患者包装(patient packs),其中同时包装或同时呈现两种或多种化合物/药物(如作为单位剂量配置的一部分);

[0088] 非物理性联合合并的化合物/药物实例包括:

[0089] • 包含所述两种或多种化合物/药物中的至少一种的物质(如非单一型制剂),与其一起的是临时将所述至少一种化合物联合以形成所述两种或多种化合物/药物的物理联合体的说明书;

[0090] • 包含所述两种或多种化合物/药物中的至少一种的物质(如非单一型制剂),与其一起的是所述两种或多种化合物/药物的联合疗法的说明书;

[0091] • 包含所述两种或多种化合物/药物中至少一种化合物/药物的物质,与其一起的是已给予(或正给予)所述两种或多种化合物/药物中另外一种化合物/药物的患者群的用药说明书;

[0092] • 包含所述两种或多种化合物/药物中至少一种化合物/药物的物质,所述化合物/药物的量或形式特别适合与所述两种或多种化合物/药物中另外一种化合物/药物联合使用。

[0093] 用于本文时,术语“联合”指作为同一个总体治疗方案的一部分给药的化合物/药物。这样,两种或多种化合物/药物各自的剂量可能不同:各自可在同一时间或不同时间给药。因此应理解可以按顺序(如之前或之后)或同时给予组合的化合物/药物,采用同一药用制剂形式(即一起)或不同药用制剂形式(即分开)。在同一制剂同时给药是作为单一制剂,但在不同药用制剂同时给药为非单一型。根据给药途径的不同,联合疗法中两种或多种化合物/药物各自的剂量也可以不同。

[0094] 用于本文时,术语“药盒”指具有定量工具(如测量装置)和/或递送工具(如吸入器或注射器)的一种或多种单位剂量药用组合物的配置,任选全部装在共用的外包装

内。在装有两种或多种化合物 / 药物组合的药盒中, 单种化合物 / 药物可为单一或非单一型制剂。可将单位剂量装在泡罩包装 (blister pack) 内。药盒还可任选包含使用说明书。

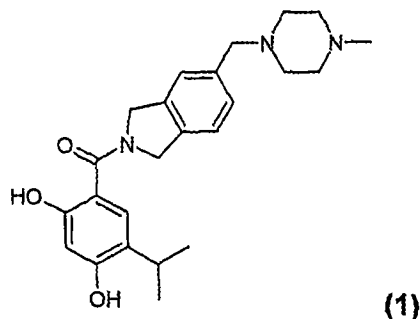
[0095] 用于本文时, 术语“药物包装”指任选装在共用外包装内的一种或多种单位剂量药用组合物的配置。在装有两种或多种化合物 / 药物组合的药物包装中, 单种化合物 / 药物可为单一或非单一型制剂。可将单位剂量装在泡罩包装内。药物包装还可任选包含使用说明书。

[0096] 用于本文时, 术语“患者包装”指患者的给药包装, 装有整个疗程的药用组合物。患者包装通常包含一个或多个泡罩包装。患者包装具有优于传统处方的优点, 药剂师将散装供应量分成患者的药物供应量, 以便患者总能得到患者包装内的包装说明书, 这在患者处方中通常是没有的。已显示加入包装说明书可改善患者对医嘱的依从性。

[0097] 酸加成盐

[0098] 第一方面, 本发明提供式 (1) 化合物的酸加成盐

[0099]



[0100] 具有化学名 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮。

[0101] 术语“盐 (salt)”和“酸加成盐 (acid addition salt)”在本申请可互换使用。除非上下文另外说明, 否则术语“盐 (salt)”用于本文指酸加成盐。

[0102] 关于化合物 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮及其酸加成盐, 其范围包括其所有溶剂化物、互变异构体和同位素, 上下文允许时, 还包括 N-氧化物及其它离子形式。

[0103] 酸加成盐可用多种酸 (无机和有机酸) 形成。酸加成盐的实例包括用选自下列的酸形成的盐: 乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、海藻酸、抗坏血酸 (如 L-抗坏血酸)、天冬氨酸 (如 L-天冬氨酸)、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、丁酸、樟脑酸 (如 (+) 樟脑酸)、樟脑磺酸、(+)-(1S)-樟脑-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、柠檬酸、环拉酸、十二烷酸、十二烷基硫酸、乙-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、甲酸、富马酸、粘酸、龙胆酸、葡糖庚酸 (glucoheptonic)、D-葡萄糖酸、葡糖醛酸 (如 D-葡糖醛酸)、谷氨酸 (如 L-谷氨酸)、 α -酮戊二酸、乙醇酸、马尿酸、氢溴酸、盐酸、氢碘酸、羟乙磺酸、异丁酸、乳酸 (如 (+)-L-乳酸 [本文其它地方可简称为 L-乳酸] 和 (±)-DL-乳酸)、月桂基磺酸、乳糖醛酸、马来酸、苹果酸、(-)-L-苹果酸、丙二酸、(±)-DL-扁桃酸、甲磺酸、粘酸、萘磺酸 (如萘-2-磺酸和萘-1,5-二磺酸)、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、硝酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、扑酸、磷酸、丙酸、L-焦谷氨酸、水杨酸、4-氨基-水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、鞣酸、酒石酸 (如 (+)-L-酒石酸)、硫氰酸、甲苯磺酸 (如对甲苯磺酸)、十一烯酸、缬草酸

和 xinafoic acids。

[0104] 特别的酸加成盐是用盐酸、乳酸（如 L- 乳酸）或硫酸形成的盐。

[0105] 优选的盐是用乳酸形成的盐，即乳酸盐，特别是 L- 乳酸盐。

[0106] 酸加成盐通常是药学上可接受的盐，药学上可接受的盐的实例讨论于 Berge 等，1977, “Pharmaceutically Acceptable Salts,” J. Pharm. Sci., 66 卷, 1-19 页。但是，也可制备药学上不可接受的盐作为中间形式，然后转化为药学上可接受的盐。可用于例如纯化或分离本发明化合物的此类非药学上可接受的盐形式也形成本发明一部分。

[0107] 在固态时，本发明的盐可以是晶态或非晶态或其混合物。

[0108] 在一个实施方案中，盐是非晶态。

[0109] 在非晶态固体时，不存在通常在晶形中出现的三维结构，非晶形中分子相互之间的位置基本无规，参阅如 Hancock 等，J. Pharm. Sci. (1997), 86, 1)。

[0110] 在另一个实施方案中，盐基本上是晶态。

[0111] 本发明的盐可用母体化合物通过常规化学方法合成，所述方法描述于如 Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 页, August 2002。通常，此类盐可通过使游离碱形式的式 (1) 化合物与合适的酸在水或有机溶剂或者两者的混合物中反应制备。

[0112] 另一方面，本发明提供制备 (2, 4- 二羟基 -5- 异丙基 - 苯基) - [5- (4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基甲基) -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基] - 甲酮的酸加成盐的方法，所述方法包括在溶剂（通常是有机溶剂）或溶剂混合物中形成 (2, 4- 二羟基 -5- 异丙基 - 苯基) - [5- (4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基甲基) -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基] - 甲酮游离碱溶液，用酸处理该溶液以形成酸加成盐沉淀物。

[0113] 可将酸作为溶液加入，所述溶液的溶剂可与溶解游离碱的溶剂混溶。游离碱最初溶解于其中的溶剂可以是不能溶解其酸加成盐的溶剂。或者，游离碱最初溶解其中的溶剂可以是至少部分溶解酸加成盐的溶剂，然后加入酸加成盐更少溶于其中的不同溶剂，以便盐从溶液中沉淀。

[0114] 在形成酸加成盐的备选方法中，使 (2, 4- 二羟基 -5- 异丙基 - 苯基) - [5- (4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基甲基) -1, 3- 二氢 - 异吲哚 -2- 基] - 甲酮溶于含有挥发酸和任选共溶剂的溶剂中，从而形成酸加成盐与挥发酸的溶液，然后将所得溶液浓缩或蒸发以分离盐。可用这种方法制备的酸加成盐实例是乙酸盐。

[0115] 当盐形成时，通常从有机溶剂中沉淀，由此可通过分离溶液中的固体如通过过滤离析。

[0116] 可通过技术人员众所周知的方法将本发明的一种盐形式转化为游离碱和任选另一种盐形式。例如，使盐溶液穿过含胺固定相的柱（如 Strata-NH₂ 柱）可形成游离碱。或者，可将盐的水溶液用碳酸氢钠处理以分解盐，沉淀出游离碱。然后可通过上文或本文其它地方描述的方法之一将游离碱与另一种酸合并。

[0117] 盐如酸加成盐具有优于相应游离碱的许多优点。例如，盐将具有优于游离碱的下列一种或多种优点，因为它们：

[0118] • 更容易溶解，因此更利于 i. v. 给药（如输注）；

- [0119] • 稳定性更好（如贮存期改善）；
- [0120] • 热稳定性更好；
- [0121] • 碱性更弱，因此更利于 i. v. 给药；
- [0122] • 利于生产；
- [0123] • 改善在水溶液中的溶解度；
- [0124] • 理化性质更好；
- [0125] • 抗癌活性可改善；和
- [0126] • 治疗指数可改善。
- [0127] 式 (1) 化合物的 L- 乳酸盐的特别优点是：
- [0128] • 非水合，因此更容易配制；
- [0129] • 具有的多晶形比游离碱及其它测试的盐形式（即与盐酸和硫酸形成的盐）更少；
- [0130] • 不吸湿；和
- [0131] • 溶解率 (rate of solubility) 比游离碱及其它测试的盐更好。

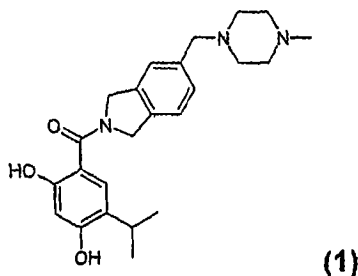
[0132] 术语“稳定的”或“稳定性”用于本文包括化学稳定性和固态（物理）稳定性。术语“化学稳定性”指可以分离形式或制剂形式贮存化合物，化合物在制剂中与例如本文所述药学上可接受的载体、稀释剂或助剂在正常贮存条件下混合，经过例如 6 个月或 6 个月以上、更通常是 12 个月或 12 个月以上、例如 18 个月或 18 个月以上的时间，几乎不发生或没有化学降解或分解。“固态稳定性”指可采用分离的固体形式或者固体制剂形式贮存化合物，化合物在制剂中与例如本文所述药学上可接受的载体、稀释剂或助剂在正常贮存条件下混合，很少或不发生固态转换（如水合、脱水、溶剂化、去溶剂化、结晶化、再结晶化或固态相转变）。

[0133] 术语“不吸湿”和“不吸湿性”和相关术语用于本文指暴露于高相对湿度如 90% 相对湿度的条件下吸收少于 5% 重量（相对于其自身重量）的水的物质，和 / 或在高湿度条件下不发生晶形改变的物质，和 / 或在高相对湿度的条件下不吸收水进入晶体内（内水）的物质。

[0134] 晶形

[0135] 另一方面，本发明提供基本呈晶形的式 (1) 化合物

[0136]



[0137] 或其酸加成盐。

[0138] 用“基本结晶 (substantially crystalline)”指式 (1) 化合物或其酸加成盐为 50% - 100% 结晶，更特别地，式 (1) 化合物或其盐可为至少 50% 结晶，或至少 60% 结晶，或至少 70% 结晶，或至少 80% 结晶，或至少 90% 结晶，或至少 95% 结晶，或至少 98% 结晶，或

至少 99% 结晶,或至少 99.5% 结晶,或至少 99.9% 结晶,例如 100% 结晶。

[0139] 更优选式 (1) 化合物或其盐为 95% -100% 结晶,如至少 98% 结晶,或至少 99% 结晶,或至少 99.5% 结晶,或至少 99.6% 结晶,或至少 99.7% 结晶,或至少 99.8% 结晶,或至少 99.9% 结晶,如 100% 结晶的化合物或其盐 (或可选自那些化合物或盐)。

[0140] 固态的本发明晶形可为溶剂化 (如水合) 或非溶剂化 (如无水) 的。

[0141] 在一个实施方案中,晶形非溶剂化 (如无水)。

[0142] 术语“无水”用于本文不排除一些水存在于盐 (如盐的晶体) 上或其中的可能。例如,可能有一些水存在于盐 (如盐晶体) 的表面,或者少量水存在于盐体 (如晶体) 内。通常,无水形式每分子化合物包含少于 0.4 分子水,更优选每分子化合物包含少于 0.1 分子水,如 0 分子水。

[0143] 在另一个实施方案中,晶形溶剂化。当晶形水合时,它们可包含例如至多 3 个结晶水分子,更通常至多 2 个水分子,如 1 个水分子或 2 个水分子。还可形成非化学计量水合物,其中存在的水分子数少于 1 或者是非整数。例如,当存在少于 1 个水分子时,每分子化合物可以有例如 0.4,或 0.5,或 0.6,或 0.7,或 0.8,或 0.9 个水分子。

[0144] 其它溶剂化物包括醇化物如乙醇化物和异丙醇化物。

[0145] 本文描述的晶形、其个别晶体及其晶体结构形成本发明的进一步的方面。

[0146] 晶形及其晶体结构可用多种方法表征,包括单晶 X 线晶体学、X 线粉末衍射 (XRPD)、差示扫描量热法 (DSC) 和红外线光谱学,如傅立叶变换红外光谱学 (FTIR)。可用重量分析蒸汽吸收研究和 XRPD 分析各种湿度条件下晶体的行为。

[0147] 化合物的晶体结构可用 X 线晶体学测定,按照常规方法进行,所述方法如描述于本文和 Fundamentals of Crystallography, C. Giacovazzo, H. L. Monaco, D. Viterbo, F. Scordari, G. Gilli, G. Zanotti 和 M. Catti, (International Union of Crystallography/Oxford University Press, 1992 ISBN 0-19-855578-4(p/b), 0-19-85579-2(h/b))。该技术包括分析和解释单晶体的 X 线衍射。

[0148] 或者,化合物的结晶结构可用 X 线粉末衍射 (XRPD) 的固态技术分析。XRPD 可根据常规方法进行,所述方法如描述于本文和 Introduction to X-ray Powder Diffraction, Ron Jenkins 和 Robert L. Snyder (John Wiley & Sons, New York, 1996)。在 XRPD 衍射图中有确定峰 (而不是无规的本底噪声) 则表示化合物具有结晶度。

[0149] 化合物的 X 线粉末图特征用 X 线衍射光谱的衍射角 (2θ) 和晶面间距 (d) 参数表示。其关系用 Bragg's 公式表示, $n\lambda = 2d \sin \theta$, (其中 $n = 1$; λ = 所用阴极的波长; d = 晶面间距; 和 θ = 衍射角)。这里,根据数据的特征,晶面间距、衍射角和整体图对在 X 线粉末衍射中晶体的鉴定很重要。不应限制性解释相对强度,因为它可能随晶体生长方向、粒度和测量条件的不同而改变。此外,衍射角通常指在 $2\theta \pm 0.2^\circ$ 范围内符合的角度。峰指主峰,并包括在上述以外的衍射角不大于中位数的峰。

[0150] 式 (1) 化合物及其酸加成盐存在多种不同的晶形,下文更详细地描述这些晶形,并在实施例表征。

[0151] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮游离碱的晶形

[0152] 已发现式 (1) 化合物的游离碱存在至少 6 种不同晶形,其中 3 种 (本文指定为形

式 FB1、FB2 和 FB5) 在空气中不稳定, 3 种 (本文指定为形式 FB3、FB4 和 FB6) 在空气中稳定。下文实施例 6A 描述游离碱晶形的特征。

[0153] 形式 FB1

[0154] 在一个实施方案中, 本发明提供 (2,4- 二羟基 -5- 异丙基 - 苯基) -[5-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基甲基) -1,3- 二氢 - 异吡啶 -2- 基] - 甲酮晶形, 其特征在于 XRPD 图在 5.52 具有衍射角峰 ($2\theta / ^\circ$)。

[0155] 优选 XRPD 图在 15.21、16.11、16.72、18.21 和 20.29 衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 也显示峰。

[0156] 更优选 XRPD 图在 9.44、11.05、11.99、17.09、19.23、19.73、21.09 和 26.72 衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 也显示峰。

[0157] 最优选 XRPD 图基本如本文图 1 显示。

[0158] 另一方面, 本发明提供制备晶形 FB1 的方法, 该方法包括使 (2,4- 二羟基 -5- 异丙基 - 苯基) -[5-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基甲基) -1,3- 二氢 - 异吡啶 -2- 基] - 甲酮溶于正丁醇以形成饱和溶液, 然后加入二 (异丙基) 醚使晶形 FB1 沉淀。

[0159] 晶形 FB1 在空气中不稳定, 静置后转化为形式 FB3 (见下文)。

[0160] 因此, 本发明还提供制备本文限定的晶形 FB3 的方法, 该方法包括使形式 FB1 暴露于空气足够时间, 以便转换为 FB3。

[0161] 形式 FB2

[0162] 在另一个实施方案中, 本发明提供 (2,4- 二羟基 -5- 异丙基 - 苯基) -[5-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基甲基) -1,3- 二氢 - 异吡啶 -2- 基] - 甲酮晶形, 其特征在于 XRPD 图在 5.35 具有衍射角峰 ($2\theta / ^\circ$)。

[0163] 优选 XRPD 图在 14.68、17.00、18.61、19.86 和 20.15 也显示衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

[0164] 更优选 XRPD 图还在 6.73、10.40、10.67、18.26、18.87、19.24、21.13、21.44 和 26.86 显示衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

[0165] 最优选 XRPD 图基本如本文图 2 所示。

[0166] 另一方面, 本发明提供制备晶形 FB2 的方法, 该方法包括使 (2,4- 二羟基 -5- 异丙基 - 苯基) -[5-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基甲基) -1,3- 二氢 - 异吡啶 -2- 基] - 甲酮溶于 THF 以形成饱和溶液, 然后加入乙酸异丙酯使晶形 FB2 沉淀。

[0167] 晶形 FB2 在空气中也不稳定, 静置后转化为形式 FB3 (见下文)。

[0168] 因此, 本发明还提供制备本文限定的晶形 FB3 的方法, 该方法包括使晶形 FB2 暴露于空气足够时间, 以便转换为 FB3。

[0169] 形式 FB3

[0170] 在另一个实施方案中, 本发明提供 (2,4- 二羟基 -5- 异丙基 - 苯基) -[5-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基甲基) -1,3- 二氢 - 异吡啶 -2- 基] - 甲酮晶形, 其特征在于 XRPD 图在 6.05 具有衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

[0171] 优选 XRPD 图也在 12.15、13.60、15.77、17.82、18.89、19.64、20.20 和 20.93 显示衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

[0172] 更优选 XRPD 图还在 7.87、9.15、10.22、16.62、17.16、22.19、23.33 和 24.53 显示衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

[0173] 最优选 XRPD 图基本如本文图 3 所示。

[0174] 形式FB3 在空气中在 40℃和 75%相对湿度下至少 1 个月是稳定的,因此适合用于固体药用组合物。因此,另一方面,本发明提供一种固体药用组合物,该药用组合物包含本文限定的晶形FB3 的 2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮游离碱。

[0175] 形式FB4

[0176] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮晶形,其特征在于 XRPD 图在 6.29 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0177] 优选 XRPD 图也在 8.91、9.96、14.11、16.11、17.11、18.48、19.91、21.57、22.46、23.59 和 24.88 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0178] 更优选 XRPD 图还在 12.62、17.40、17.88、19.33、20.35 和 27.25 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0179] 最优选 XRPD 图基本如本文图 4 所示。

[0180] 从 X 线晶体学研究中,已发现形式FB4 具有的晶体结构属于四方晶空间群 (tetragonal space group) $P4_2/n$, 在 293K 的晶格参数为 $a = b = 28.2$, $c = 6.0 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ 。晶体堆积 (crystal packing) 图如图 5 显示。

[0181] 因此,在另一个实施方案中,本发明提供结晶的 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮游离碱,该游离碱:

[0182] (a) 具有如图 5 显示的晶体结构;和/或

[0183] (b) 具有如本文表 5 坐标 (coordinates) 限定的晶体结构;和/或

[0184] (c) 在 293K 具有晶格参数为 $a = b = 28.2$, $c = 6.0 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$;

[0185] 和/或

[0186] (d) 具有属于四方晶空间群如 $P4_2/n$ 的晶体结构。

[0187] 晶形FB4 是稳定的二水合物,可用于制备固体药用组合物。因此,另一方面,本发明提供一种固体药用组合物,该药用组合物包含本文限定的晶形FB4 的 2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮游离碱。

[0188] 另一方面,本发明提供制备晶形FB4 的方法,该方法包括使 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮溶于乙醇以形成饱和溶液,然后加入二(异丙基)醚使晶形FB4 沉淀。

[0189] 形式FB5

[0190] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮晶形,其特征在于 XRPD 图在 7.12 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0191] 优选 XRPD 图也在 9.71、10.14、13.73、16.58、18.71、19.46、20.15 和 22.35 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0192] 更优选 XRPD 图还在 11.50、14.60、15.34、16.94、21.97、23.43 和 26.36 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0193] 最优选 XRPD 图基本如本文图 6 所示。

[0194] 另一方面,本发明提供制备晶形 FB5 的方法,该方法包括使 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮溶于异丙醇以形成饱和溶液,然后加入乙酸异丙酯使晶形 FB5 沉淀。

[0195] 形式 FB6

[0196] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮晶形,其特征在于 XRPD 图在 18.66 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0197] 优选 XRPD 图也在 9.09、9.68、16.08、16.46、16.94、18.13、20.05 和 22.48 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0198] 更优选 XRPD 图还在 4.60 和 26.53 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0199] 最优选 XRPD 图基本如本文图 7 所示。

[0200] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮与盐酸之间形成的盐的晶形

[0201] 已发现式 (1) 化合物的盐酸盐存在至少 5 种不同晶形,其中 1 种 (本文指定为形式 FH3) 在空气中稳定,4 种 (本文指定为形式 FH1、FH2、FH4 和 FH5) 在空气中不稳定。

[0202] 形式 FH1

[0203] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮盐酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 7.34 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0204] 优选 XRPD 图也在 5.59、7.99、10.33、14.32、15.29、18.59 和 25.32 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0205] 更优选 XRPD 图还在 11.70、13.95、14.72、16.37、16.82、19.99、20.40、20.82、21.26、22.57、23.01、24.60、25.82、27.10、28.27 和 28.78 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0206] 最优选 XRPD 图基本如本文图 8 所示。

[0207] 另一方面,本发明提供制备晶形 FH1 的方法,该方法包括将乙酸乙酯/HCl 和甲醇加入 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮的游离碱中得到溶液,然后除去溶剂,留下二盐酸盐。

[0208] 形式 FH2

[0209] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮盐酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 3.40 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0210] 优选 XRPD 图也在 6.81、9.03、11.84、15.70、16.10、18.13、20.84、23.19、23.94、24.78 和 25.65 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0211] 更优选 XRPD 图还在 6.04、13.01、13.69、16.59、17.17、21.39、21.87、24.78、25.97、26.94、27.59、28.06 和 29.53 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0212] 最优选 XRPD 图基本如本文图 9 所示。

[0213] 可用丙酮作为反溶剂使形式 FH1 从饱和 DMF 溶液中沉淀制备形式 FH2。因此,另一方面,本发明提供制备晶形 FH2 的方法,该方法包括形成形式 FH1 在 DMF 中的饱和溶液,然后加入丙酮使形式 FH2 沉淀。

[0214] 形式 FH3

[0215] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮盐酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 9.35 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0216] 优选 XRPD 图也在 10.40、10.78、12.51、14.78、18.74、19.09、21.68、22.32、23.07、24.86、25.14 和 29.02 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0217] 更优选 XRPD 图还在 5.83、10.78、11.35、11.71、13.35、13.81、14.10、17.18、17.65、19.46、20.11、21.18、23.71、26.49、27.03、28.09、28.70 和 29.52 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0218] 最优选 XRPD 图基本如本文图 10 所示。

[0219] 可通过将 HCl/二氧六环加入 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮游离碱的乙醇溶液中制备形式 FH3。因此,另一方面,本发明提供制备盐酸盐形式 FH3 的方法,该方法包括 (i) 使 2,4-二羟基-5-异丙基-苯基-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮游离碱溶于乙醇中;(ii) 向其内加入氯化氢/二氧六环溶液;(iii) 将所得混合物蒸发至干;(iv) 使残留物溶于温热的乙醇:水 (9:1;5mL) 中;(v) 使溶液具有晶种,将溶液搅拌至少 2 小时(如至少 4 或 6 或 8 或 10 或 12 或 14 小时),除去沉淀的形式 FH3。

[0220] 形式 FH4

[0221] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮盐酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 11.62 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0222] 优选 XRPD 图也在 7.04、11.62、15.54、16.68、18.54、20.73、22.26、22.94、23.77 和 25.07 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0223] 更优选 XRPD 图还在 9.89、12.30、13.27、14.14、16.06、17.99、19.24、23.36、24.63、25.72、26.91 和 27.63 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0224] 最优选 XRPD 图基本如本文图 11 所示。

[0225] 可用 1,4-二氧六环作为反溶剂从 DMF 溶液中沉淀制备形式 FH4。因此,另一方面,本发明提供制备晶形 FH4 的方法,该方法包括形成形式 FH1 在 DMF 中的饱和溶液,然后加入 1,4-二氧六环使形式 FH4 沉淀。

[0226] 形式 FH5

[0227] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮盐酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 2.32 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0228] 优选 XRPD 图也在 6.15、11.79、15.79、20.81、22.76 和 23.76 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0229] 最优选 XRPD 图基本如本文图 12 所示。

[0230] 可用丙酮作为反溶剂从饱和甲醇溶液中沉淀制备形式 FH5。

[0231] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮与 L-乳酸之间形成的盐的晶形

[0232] 式(1)化合物的乳酸盐存在1种不稳定形式(FL3)和2种稳定形式(FL1和FL2)。

[0233] 形式 FL1

[0234] 在另一个实施方案中,本发明提供(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮L-乳酸盐晶形,其特征在于XRPD图在16.81具有衍射角($2\theta/^\circ$)峰。

[0235] 优选XRPD图也在6.53、13.10、14.13、14.40、17.22、18.65、19.52、19.82、22.33、22.84和23.09显示衍射角($2\theta/^\circ$)峰。

[0236] 更优选XRPD图还在6.18、8.39、11.08、15.21、16.21、20.49、20.76、21.13、22.02、23.94、25.19、26.41、26.95和27.81显示衍射角($2\theta/^\circ$)峰。

[0237] 最优选XRPD图基本如本文图13所示。

[0238] 形式FL1可如下制备:使(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮游离碱悬浮于乙醇和EtOAc混合物(如体积比为3:5)中;将L-乳酸加入混合物内(如其中L-乳酸采用乙醇溶液的形式);使混合物变清(如通过加热直至透明和/或滤出任何残余固体);搅拌澄清的混合物(使其具有晶种)和除去晶形FL1(如通过过滤)。

[0239] 形式 FL2

[0240] 在另一个实施方案中,本发明提供(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮L-乳酸盐晶形,其特征在于XRPD图在22.34具有衍射角($2\theta/^\circ$)峰。

[0241] 优选XRPD图也在8.03、10.71、11.98、13.13、15.39、16.09、16.61、17.26、18.17、18.82、20.40、21.01、21.53、22.34、22.56、23.71和27.70显示衍射角($2\theta/^\circ$)峰。

[0242] 更优选XRPD图还在24.30、24.65、26.56和28.29显示衍射角($2\theta/^\circ$)峰。

[0243] 最优选XRPD图基本如本文图14所示。

[0244] 从X线晶体学研究中,已发现形式FL2具有的晶体结构属于单斜晶空间群 $P2_1$,在293K的晶格参数为 $a = 5.8$, $b = 16.6$, $c = 14.9 \text{ \AA}$, $\beta = 98^\circ$, $\alpha = \gamma = 90^\circ$ 。FL2的晶体堆积图如本文图15所示。

[0245] 因此,在另一个实施方案中,本发明提供(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮L-乳酸盐,其为结晶的,并且:

[0246] (a) 具有如图15显示的晶体结构;和/或

[0247] (b) 具有如本文表16坐标限定的晶体结构;和/或

[0248] (c) 在293K的晶格参数为 $a = 5.8$, $b = 16.6$, $c = 14.9 \text{ \AA}$, $\beta = 98^\circ$, $\alpha = \gamma = 90^\circ$;和/或

[0249] (d) 具有属于单斜晶空间群如 $P2_1$ 的晶体结构。

[0250] 晶形FL2是名义上(nominally)为三水合物的稳定水合物,因为不对称单元中有3个结晶水位,但它们在室温和湿度下不是100%被占据的。形式FL2可用于制备固体药用组合物。因此,另一方面,本发明提供一种固体药用组合物,该药用组合物包含本文限定的晶形FL2的(2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮L-乳酸盐。

[0251] 可用丙酮作为反溶剂从饱和甲醇水溶液中沉淀制备形式 FL2。因此,另一方面,本发明提供制备晶形 FL2 的方法,该方法包括形成形式 FL1 在甲醇:水(优选 9:1 比率)中的饱和溶液,然后加入丙酮使形式 FL2 沉淀。

[0252] 形式 FL3

[0253] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 5.53 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0254] 优选 XRPD 图也在 11.07、13.16、16.69、17.17、18.00、18.49、19.28、21.05、22.47 和 22.84 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0255] 更优选 XRPD 图还在 8.36、13.85、19.79、20.34、21.47、21.93、24.56、26.28、27.06、27.47 和 29.11 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0256] 最优选 XRPD 图基本如本文图 16 所示。

[0257] 形式 FL3 是不稳定的形式,可用庚烷作为反溶剂从饱和 THF 溶液中沉淀制备。因此,另一方面,本发明提供制备晶形 FL3 的方法,该方法包括形成形式 FL1 在 THF 中的饱和溶液,然后加入庚烷使形式 FL3 沉淀。

[0258] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮与硫酸之间形成的盐的晶形

[0259] 硫酸盐存在 2 种不稳定形式 (FS1 和 FS2) 和 4 种稳定形式 (FS3、FS4、FS5 和 FS6)。

[0260] 可通过使 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮游离碱溶于硫酸中,然后蒸发至干制备 1:1 盐。

[0261] 形式 FS1

[0262] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮硫酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 4.79 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0263] 优选 XRPD 图也在 10.02、11.28、14.38、15.27、16.91、18.29、20.12、21.76 和 22.32 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0264] 更优选 XRPD 图还在 10.68、12.89、17.64、18.86、19.28、20.82、21.21、22.89、23.83、24.22、24.42、25.13 和 29.04 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0265] 最优选 XRPD 图基本如本文图 17 所示。

[0266] 形式 FS1 可如下制备:在室温下制备 1:1 盐(见上文)在水中的饱和溶液,然后缓慢加入乙腈使形式 FS1 沉淀。

[0267] 因此,另一方面,本发明提供制备晶形 FS1 的方法,该方法包括形成 1:1 盐在水中的饱和溶液,然后加入乙腈使形式 FS1 沉淀。

[0268] 形式 FS2

[0269] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮硫酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 7.43 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0270] 优选 XRPD 图也在 7.03、8.67、11.76、13.84、17.50 和 23.20 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0271] 更优选 XRPD 图还在 4.17、8.09、9.27、9.65、10.41、10.98、12.53、14.55、15.39、16.24、16.89、18.05、18.93、19.47、24.21、25.21、25.75、26.62 和 27.67 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0272] 最优选 XRPD 图基本如本文图 18 所示。

[0273] 另一方面,本发明提供制备形式 FS2 的方法,该方法包括使化合物 (1) 溶于浓 H_2SO_4 中,加入乙腈(如相对于 H_2SO_4 为 4 倍体积)使形式 FS2 沉淀。

[0274] 形式 FS3

[0275] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)]-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮硫酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 5.43 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0276] 优选 XRPD 图也在 10.30、11.24、14.26、14.91、16.41、17.53、18.38、18.61、19.01、19.92、21.77、22.67、24.23 和 25.36 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0277] 更优选 XRPD 图还在 4.81、12.94、13.98、15.62、19.38、20.27、20.71、21.19、23.79、27.38 和 28.82 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0278] 最优选 XRPD 图基本如本文图 19 所示。

[0279] 使形式 FS1 在空气中干燥 2 天可制备形式 FS3。

[0280] 形式 FS4

[0281] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)]-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮硫酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 7.48 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0282] 优选 XRPD 图也在 7.16、7.97、8.82、9.09、9.37、10.45、11.77、14.36、16.21、16.99、17.28、17.59、18.90、23.13、23.68 和 23.96 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0283] 更优选 XRPD 图还在 4.64、8.42、13.25、13.54、15.03、17.96、19.43、19.83、21.36、24.77、25.64、26.19、26.73、27.20、27.76 和 28.64 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0284] 最优选 XRPD 图基本如本文图 20 所示。

[0285] 将形式 FS2 在 40°C 和 75% RH 培养 (incubate) 几周可制备形式 FS4。

[0286] 形式 FS5

[0287] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)]-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮硫酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图在 7.99 具有衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0288] 优选 XRPD 图也在 7.11、9.33、9.57、10.45、11.64、13.27、14.28、15.60、16.98、17.65、18.01、18.80、23.21、23.51、23.92、25.06 和 26.24 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0289] 更优选 XRPD 图还在 4.70、14.65、15.12、19.32、19.83、21.08、24.30、27.28 和 28.67 显示衍射角 ($2\theta/^\circ$) 峰。

[0290] 最优选 XRPD 图基本如本文图 21 所示。

[0291] 使形式 FS2 在空气中干燥可制备形式 FS5。

[0292] 形式 FS6

[0293] 在另一个实施方案中,本发明提供 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)]-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮硫酸盐晶形,其特征在于 XRPD 图

在 4.82 具有衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

[0294] 优选 XRPD 图也在 9.98、14.45、15.38、16.97、18.18、20.23、20.93 和 22.29 显示衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

[0295] 更优选 XRPD 图还在 11.35、12.92、17.52、19.42、21.31、21.66、21.89、22.84、23.04、23.94、24.51、25.26 和 29.18 显示衍射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

[0296] 最优选 XRPD 图基本如本文图 22 所示。

[0297] 形式 FS6 可如下制备：制备 1 : 1 盐（见上文）在 DMF 中的饱和溶液，然后加入甲苯使形式 FS6 沉淀。

[0298] 化合物 (1) 的酸加成盐和晶形的药学用途

[0299] 其他方面，本发明提供：

[0300] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐），或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形，其用于预防或治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症。

[0301] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的用途，或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形的用途，用于制备用于预防或治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症的药物。

[0302] • 预防或治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐），或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形。

[0303] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐），或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形，其用于缓解或降低由 Hsp90 介导的疾病或病症的发病率。

[0304] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的用途，或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形的用途，用于制备用于缓解或降低由 Hsp90 介导的疾病或病症的发病率。

[0305] • 缓解或降低由 Hsp90 介导的疾病或病症的发病率的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐），或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形。

[0306] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐），或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形，其用于治疗哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症。

[0307] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的用途，或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形的用途，用于制备用于治疗哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的药物。

[0308] • 治疗哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的方法，该方法包括给予哺乳动物抑制异常细胞生长有效量的本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐），或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形。

[0309] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐（如 L- 乳酸盐），或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐（如 L- 乳酸盐）的晶形，其用于缓解或降低哺乳动物中包含或源自异

常细胞生长的疾病或病症的发病率。

[0310] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的用途, 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形的用途, 用于制备用于缓解或降低哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的发病率的药物。

[0311] • 缓解或降低哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的发病率的方法, 该方法包括给予哺乳动物抑制异常细胞生长有效量的本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形。

[0312] • 治疗哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的方法, 该方法包括给予哺乳动物抑制 Hsp90 活性有效量的本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形。

[0313] • 缓解或降低哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的发病率的方法, 该方法包括给予哺乳动物抑制 Hsp90 活性有效量的本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形。

[0314] • 用作 Hsp90 抑制剂的本文限定的式 (10) 化合物。

[0315] • 抑制 Hsp90 的方法, 该方法包括使 Hsp90 与抑制 Hsp90 的本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形接触。

[0316] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形, 其用于通过抑制 Hsp90 活性调节细胞过程 (如细胞分裂)。

[0317] • 调节细胞过程 (如细胞分裂) 的方法, 用本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形抑制 Hsp90 活性。

[0318] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形, 其用于预防或治疗如本文描述的疾病。

[0319] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的用途, 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形的用途, 用于制备药物, 其中药物用于本文限定的任何一种或多种用途。

[0320] • 一种药用组合物, 所述药用组合物包含本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形, 和药学上可接受的载体。

[0321] • 一种采用适合口服给药形式的药用组合物, 所述药用组合物包含本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形, 和药学上可接受的载体。

[0322] • 一种采用适合胃肠外给药如通过静脉内 (i. v.) 给药形式的药用组合物, 所述药用组合物包含本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形, 和药学上可接受的载体。

[0323] • 一种采用适合注射或输注静脉内 (i. v.) 给药形式的药用组合物, 所述药用组合

物包含本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形, 和药学上可接受的载体。

[0324] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形, 其用于药品中。

[0325] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形, 其用于上文列出和本文其它地方描述的任何用途和方法。

[0326] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形, 其用于治疗或预防患者的疾病或病症, 所述患者已经过筛选并已确定患有或者有危险患上疾病或病症, 所述疾病或病症将对具有抗 Hsp90 活性的化合物的治疗敏感。

[0327] • 本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的用途, 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形的用途, 其用于制备用于治疗或预防患者的疾病或病症的药物, 所述患者已经过筛选并已确定患有或者有危险患上疾病或病症, 所述疾病或病症将对具有抗 Hsp90 活性的化合物的治疗敏感。

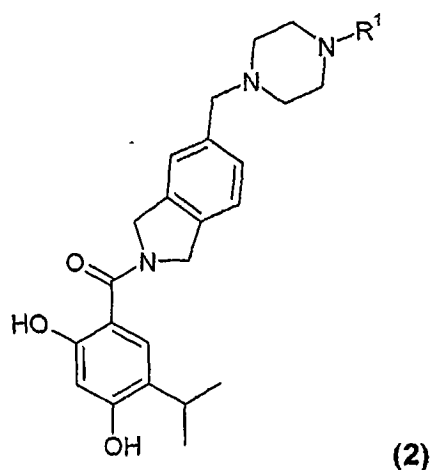
[0328] • 诊断和治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症的方法, 该方法包括 (i) 筛选患者以确定患者所患或可能患的疾病或病症是否对具有抗 Hsp90 活性化合物的治疗敏感; 和 (ii) 当表明患者的疾病或病症敏感时, 则给予患者本文限定的式 (1) 化合物的酸加成盐 (如 L- 乳酸盐), 或者本文限定的式 (1) 化合物或其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的晶形。

[0329] 新的过程

[0330] 本发明还提供制备式 (1) 化合物、其类似物及其酸加成盐 (如 L- 乳酸盐) 的新过程, 以及用于制备合成式 (1) 化合物的关键中间体的新过程。

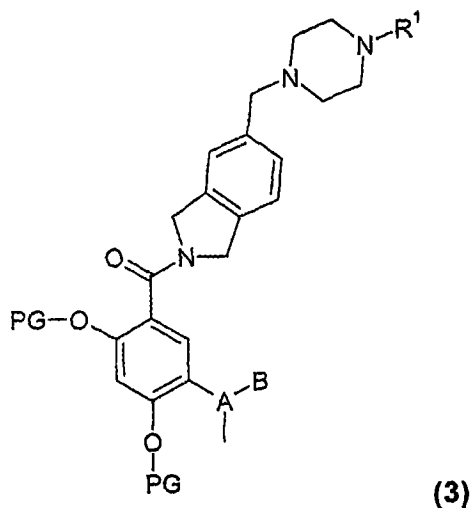
[0331] 因此, 另一方面, 本发明提供制备式 (2) 化合物的过程:

[0332]



[0333] 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基; 所述过程包括使式 (3) 化合物催化氢化:

[0334]



[0335] 其中 PG 是在氢化条件下可脱除的保护基团, A-B 是 CH-CH_3 或 $\text{C}=\text{CH}_2$, 当该过程的产物是游离碱时, 任选使式 (2) 化合物转化为酸加成盐 (如 L-乳酸盐)。

[0336] 保护基团 PG 优选苄基。

[0337] 部分 A-B 可以是 CH-CH_3 或 $\text{C}=\text{CH}_2$ 。

[0338] 在一个实施方案中, 部分 A-B 是 $\text{C}=\text{CH}_2$ 。

[0339] 在另一个实施方案中, 部分 A-B 是 CH-CH_3 。

[0340] 催化氢化通常用钯催化剂进行, 如钯 / 碳 (钯 / 炭)。

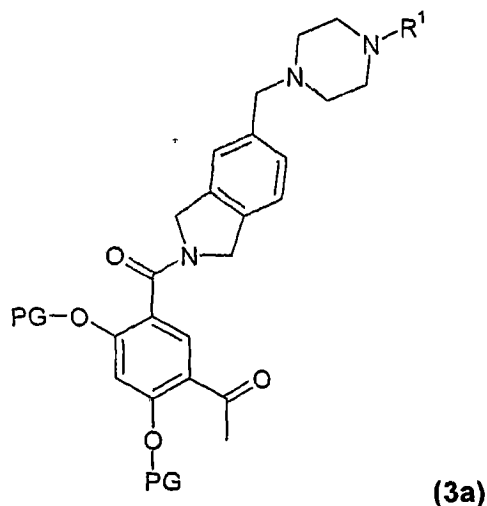
[0341] 以上过程可用于制备式 (1) 化合物或其乙基、丙基和丁基同系物。优选该过程用于制备其中 R^1 是甲基或乙基的化合物。

[0342] 在一个实施方案中, R^1 是甲基, 即该过程用于制备式 (1) 化合物。

[0343] 在另一个实施方案中, R^1 是乙基。

[0344] 式 (3) 化合物可通过使式 (3a) 化合物:

[0345]



[0346] 与 Wittig 试剂或其它适合将基团 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$ 转化为基团 $-\text{C}(=\text{CH}_2)-\text{CH}_3$ 的试剂反应制备。例如, 可使苯乙酮化合物 (3a) 与 Wittig 试剂 MePPh_3Br 在碱如丁基锂或叔丁醇钾的存在下在 THF 中反应以得到式 (3) 化合物, 其中 A-B 是 $\text{C}=\text{CH}_2$ 。

[0347] 因此, 另一方面, 本发明提供制备本文限定的式 (3) 化合物的过程, 该过程包括使如上限定的式 (3a) 化合物与 Wittig 试剂或其它适合将基团 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$ 转化为基

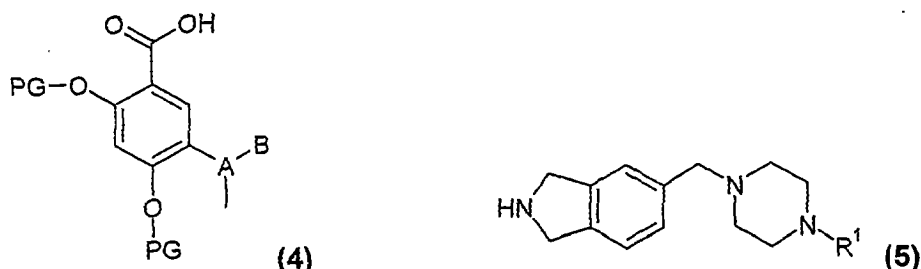
团 $-C(=CH_2)-CH_3$ 的试剂反应。

[0348] 或者,更优选可通过以下式 (4) 的取代苯甲酸或其激活形式或衍生物与以下式 (5) 的异吲哚啉反应,制备式 (3) 化合物。

[0349] 因此,本发明又一方面提供制备本文限定的式 (3) 化合物的过程,该过程包括:

[0350] (a-i) 使式 (4) 化合物或其激活形式或衍生物与式 (5) 化合物:

[0351]



[0352] 在酰胺形成条件下反应。

[0353] 本发明还提供制备本文限定的式 (2) 化合物的过程,该过程包括:

[0354] (a-i) 使本文限定的式 (4) 化合物或其激活形式或衍生物与本文限定的式 (5) 化合物在酰胺形成条件下反应,得到式 (3) 化合物;和

[0355] (b) 使式 (3) 化合物催化氢化以脱除保护基团 PG,其中 A-B 是 $C=CH_2$,将基团 A-B 还原为异丙基,当过程的产物是游离碱时,任选将式 (2) 化合物转化为酸加成盐(如 L-乳酸盐)。

[0356] 在苯甲酸 (4) 与异吲哚啉 (5) 反应之前,可先将苯甲酸用亚硫酸氯处理,或者在催化量二甲基甲酰胺的存在下与草酰氯反应,或者使酸的钾盐与草酰氯反应,使其转化为酰基氯。然后可使酰基氯与异吲哚啉 (5) 在无干扰的碱如三乙胺的存在下反应。反应可在室温附近在极性溶剂如二氧六环中进行。

[0357] 作为上文描述使用酰基氯方法的备选,可使苯甲酸 (4) 与异吲哚啉 (5) 在通常用于形成酰胺或肽键类型的酰胺偶合剂的存在下反应。此类试剂的实例包括 1,1'-羰二咪唑 (CDI)、1,3-二环己基碳二亚胺 (DCC) (Sheehan 等, J. Amer. Chem. Soc. 1955, 77, 1067)、1-乙基-3-(3'-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺(本文称为 EDC 或 EDAC,但在本领域也称为 EDCI 和 WSCDI) (Sheehan 等, J. Org. Chem., 1961, 26, 2525),基于脒阳离子的偶合剂如 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N, N, N', N'-四甲基脒六氟磷酸盐 (HATU) 和基于磷的偶合剂如 1-苯并-三唑基氧基三-(吡咯烷-1-基)磷六氟磷酸盐 (PyBOP) (Castro 等, Tetrahedron Letters, 1990, 31, 205)。基于碳二亚胺的偶合剂优选与 1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt) (L. A. Carpino, J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 4397) 或 1-羟基苯并三唑 (HOBt) (Konig 等, Chem. Ber, 103, 708, 2024-2034) 联合使用。优选偶合剂包括与 HOAt 或 HOBt 合并的 EDC(EDAC) 和 DCC。

[0358] 一种具体偶合剂包含与 HOBt 合并的 EDC。

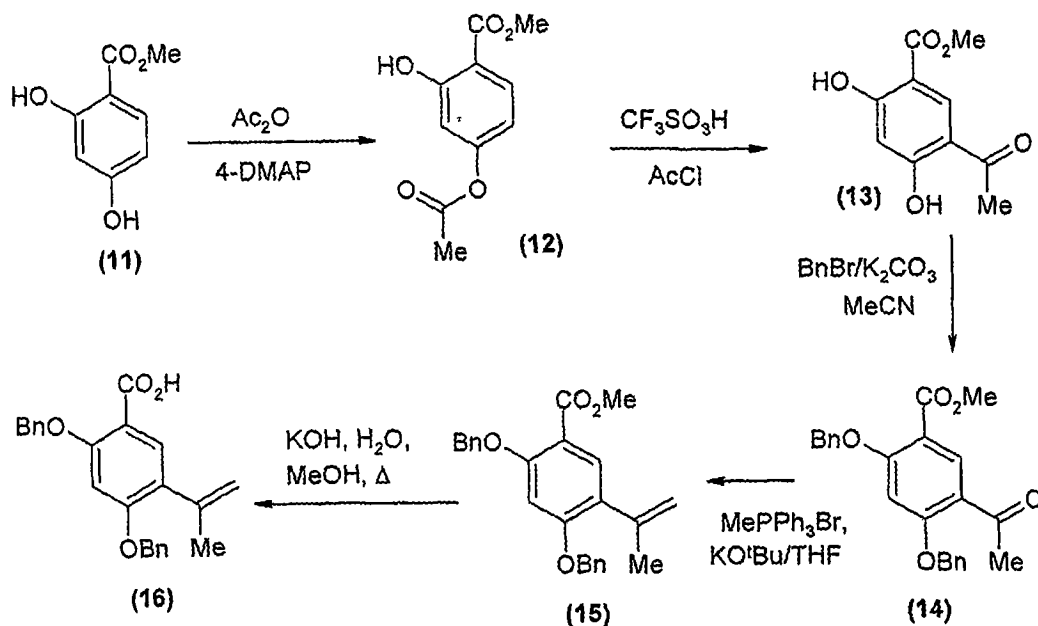
[0359] 优选偶合剂是 1,1'-羰二咪唑 (CDI)。

[0360] 偶合反应通常在非水性、非质子溶剂如乙腈、二氧六环、二甲基亚砷、二氯甲烷、二甲基甲酰胺或 N-甲基吡咯烷中进行,或者在水性溶剂中(任选与一种或多种混溶性共溶剂一起)进行。反应可在室温下进行。反应可在无干扰的碱如叔胺如三乙胺或 N, N-二异丙

基乙胺的存在下进行。

[0361] 可通过流程 1 显示的反应顺序制备其中 A-B 是 $C=CH_2$ 的式 (4) 化合物。

[0362]



[0363] 流程 1

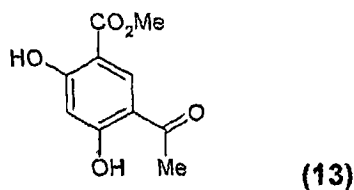
[0364] 流程 1 的原料是 2,4-二羟基苯甲酸甲酯 (11), 使其在 N,N-二甲基-4-氨基吡啶的存在下与乙酸酐反应单乙酰化, 得到二酯 (12)。使化合物 (12) 与三氟甲磺酸与任选乙酰氯反应得到苯乙酮 (13), 将二酯 (12) 转化为取代的苯乙酮 (13)。将苯乙酮 (13) 用苄基溴在碱如碳酸钾的存在下处理得到二苄基化合物 (14), 然后与 Wittig 试剂 $MePPh_3Br$ 在碱如丁基锂或叔丁醇钾的存在下在 THF 中反应, 得到异丙烯基化合物 (15)。通常用水性碱金属氢氧化物如钾钠氢氧化物处理使酯水解成羧酸 (16)。水解反应可用有机共溶剂如醇 (如甲醇) 进行, 通常将反应混合物加热至非极限温度, 如至多约 50-90°C。

[0365] 可按照流程 1 的描述制备其中 A-B 是 $CH-CH_3$ 的式 (4) 化合物, 但通过催化氢化将异丙烯基化合物 (15) 还原为相应的异丙基化合物, 然后使所得二羟基化合物与苄基溴在如上描述的碱的存在下反应再苄基化。

[0366] 描述于以上流程 1 的反应顺序产生的收率明显优于 PCT/GB2006/001382 流程 4 中相应步骤的收率, 使用更适合生产规模合成的试剂和条件。而且, 从大规模合成的角度来看, 最重要的是流程 1 显示的反应流程不需要层析纯化。

[0367] 因此, 本发明提供制备式 (13) 化合物的过程 (“中间过程 A”):

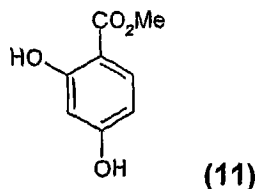
[0368]



[0369] 该过程包括:

[0370] (i) 使式 (11) 化合物:

[0371]



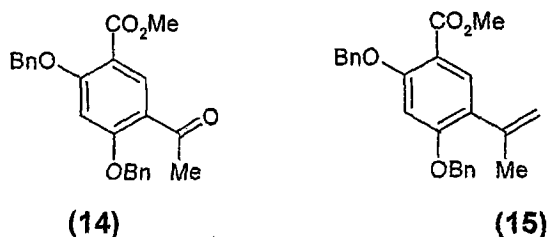
[0372] 与 (a) 乙酸酐在 4-二甲基氨基吡啶（通常加热，例如加热至至多约 60° 的温度）的存在下反应，接着与 (b) 三氟甲磺酸和任选乙酰氯（通常在室温）反应；或者

[0373] (ii) 使式 (11) 化合物与乙酰氯在阳离子交换树脂如 Amberlyst™ 15 树脂的存在下反应。

[0374] 中间过程 A 得到化合物 (13) 的收率优于 PCT/GB2006/001382 相应过程公开的收率。

[0375] 本发明还提供制备式 (15) 化合物的过程（“中间过程 B”）：

[0376]



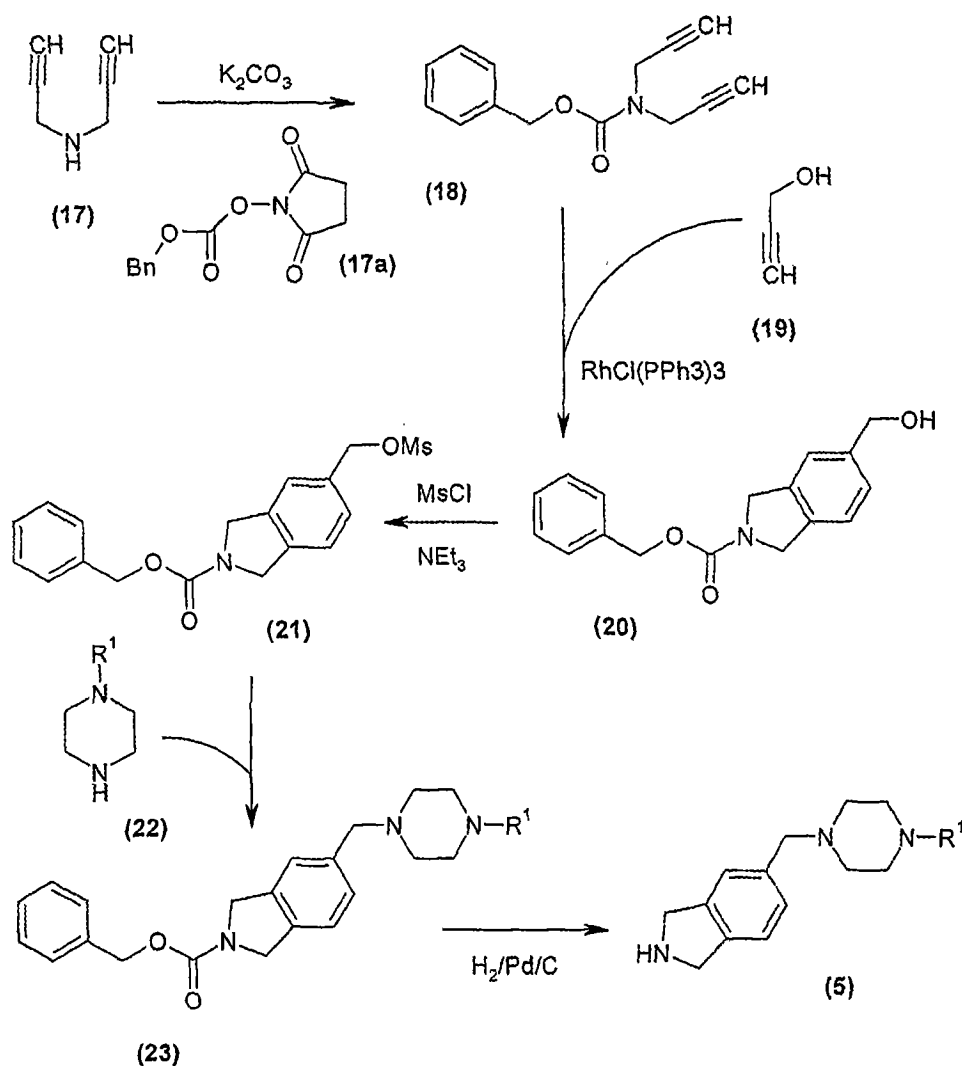
[0377] 使式 (14) 化合物与 Wittig 试剂 MePPh_3Br 在叔丁醇钾的存在下在 THF 中反应。

[0378] 中间过程 B 得到的产物收率明显优于 PCT/GB2006/001382 相应过程步骤（其中用正丁基锂作为 Wittig 反应的碱）公开的收率。此外，叔丁醇钾碱比正丁基锂更适合生产规模过程，反应可在室温或者只适当冷却进行，而使用正丁基锂通常需要将反应混合物冷却至 0°C 或更低温度。不需要层析纯化。

[0379] 本发明又一方面提供制备本文限定的式 (16) 化合物的过程，该过程包括中间过程 B，然后用碱金属氢氧化物如氢氧化钾水解化合物 (15) 的甲酯基，得到式 (16) 化合物。

[0380] 可通过流程 2 显示的合成途径制备异引哌啶化合物 (5)。

[0381]

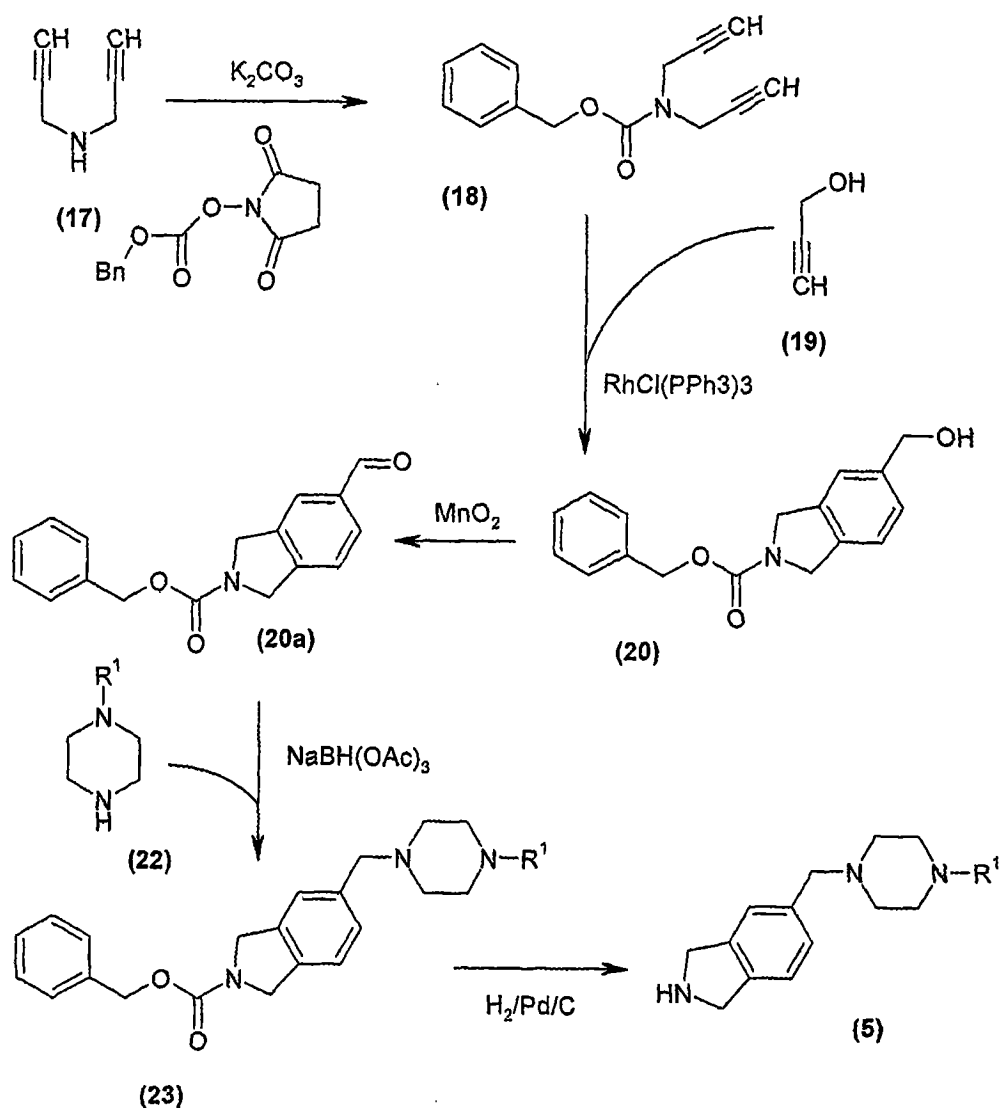


[0382] 流程 2

[0383] 在流程 2 中,使二炔丙基胺 (17) 与 N-(苄氧基羰氧基)琥珀酰亚胺 (17a) 在乙酸乙酯中在碳酸钾的存在下反应,得到 Z-保护的二炔丙基胺 (18) (术语“Z”指苄氧基羰基)。作为 N-(苄氧基羰氧基)琥珀酰亚胺的备选,可用氯甲酸苄酯引入苄氧基羰基保护基团。然后使化合物 (18) 与炔丙醇 (19) 在 Wilkinson's 催化剂的存在下发生 2+2+2 环化加成反应,得到 Z-保护的异吲哚啉 (20)。然后通过与甲磺酰氯在极性溶剂如 THF 中在无干扰的碱如三乙胺的存在下反应得到甲磺酰基化合物 (21),将异吲哚啉 (20) 上的羟甲基转化为甲磺酰氧基。使甲磺酰基化合物 (21) 与烷基哌嗪 (22) 在丙酮溶液中反应得到 Z-保护的异吲哚啉 (23)。然后用钯/炭催化剂氢化,脱除苄氧基羰基得到不被保护的异吲哚啉化合物 (5)。

[0384] 流程 2a 举例说明流程 2 所示反应顺序的变化。

[0385]



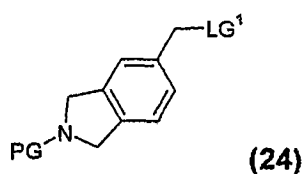
[0386] 流程 2a

[0387] 在流程 2a 中, 羟甲基吲哚啉 (20) 不转化为甲磺酸酯 (21), 而是用二氧化锰在二氯甲烷中氧化为相应的醛 (21a), 然后在还原性胺化条件如在三乙酰氧基硼氢化钠的存在下与式 (22) 化合物反应, 将醛转化为式 (23) 化合物。然后按照上文流程 2 描述的氢化脱除 Z- 基团, 得到中间体 (5)。

[0388] 因此, 另一方面, 本发明提供制备本文限定的式 (5) 化合物的过程, 该过程包括:

[0389] (i) 使式 (24) 化合物:

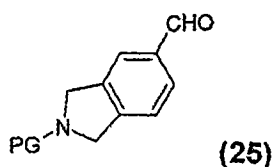
[0390]



[0391] 其中 PG 是保护基团 (如苄氧羰基) 且 LG^1 是离去基团 (如甲磺酰氧基), 与本文限定的式 (22) 化合物反应; 或者

[0392] (ii) 使式 (25) 化合物:

[0393]

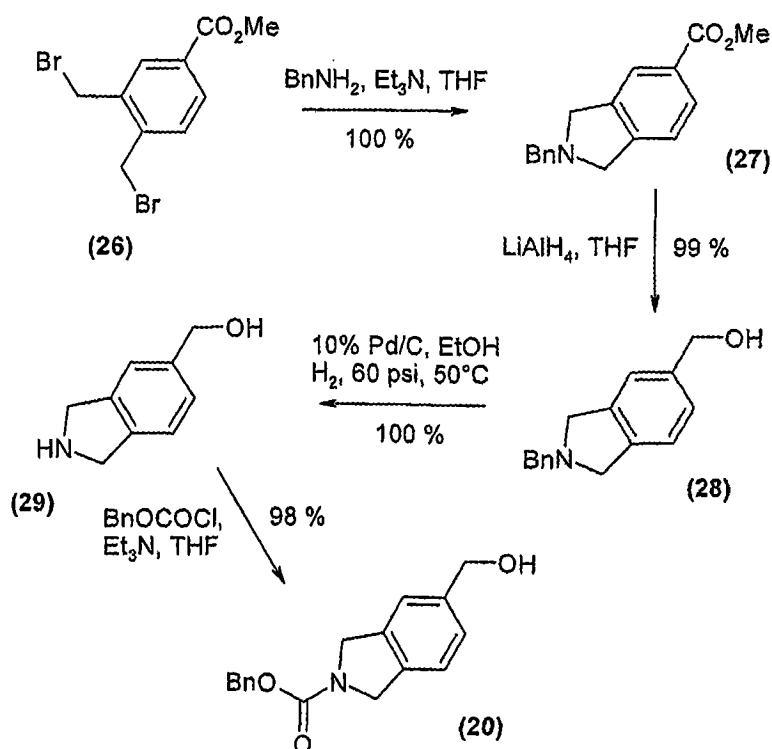


[0394] 其中 PG 是保护基团（如苄氧羰基），与本文限定的式 (22) 化合物在还原性胺化条件（如在三乙酰氧基硼氢化钠的存在下）下反应；

[0395] 然后脱除保护基团 PG，例如当 PG 是苄氧羰基时通过氢化。

[0396] 在流程 2 和 2a 中，在过渡金属催化剂的存在下通过 2+2+2 环化加成反应制备中间体 (20)。作为 2+2+2 环化加成反应的备选，可通过流程 3 显示的反应顺序制备中间体 (20)。

[0397]



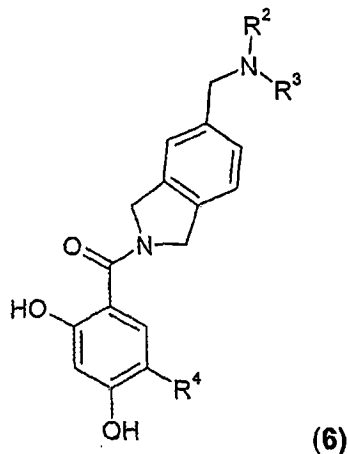
[0398] 流程 3

[0399] 在流程 3 中，使双溴甲基苯甲酸酯 (26) 与苄胺在极性非质子溶剂如四氢呋喃 (THF) 中在无干扰的碱如三乙胺的存在下反应，得到 N-苄基二氢异吲哚中间体 (27)。然后用氢化铝锂在 THF 中将中间体 (27) 的酯基还原为相应的醇，得到羟基甲基二氢异吲哚中间体 (28)。然后在轻微提高的温度（如至多约 50° ）在醇（如乙醇）溶剂中用钯 / 炭催化剂氢化使羟基甲基二氢异吲哚中间体 (28) 脱苄基，得到中间体 (29)。然后通过与适合将苄氧羰基（“Z”）基团引入二氢异吲哚环的氮原子上的试剂反应，将中间体 (29) 转化为中间体 (20)。例如，可使中间体 (29) 与氯甲酸苄酯在极性非质子溶剂如 THF 中在无干扰的碱如三乙胺的存在下反应，得到中间体 (20)。

[0400] 流程 2、2a 和 3 显示的合成途径的基本优点是按照途径形成的各种中间体产物具有非常有利于大规模合成的极好的物理化学性质。因此，当与流程 1 的步骤顺序结合时，结果是合成途径具有明显优于我们的早期申请 PCT/GB2006/001382 中相应合成途径的优点。具体来讲，主要优点包括：

[0401] ■ 更高的收率

- [0402] ■更容易纯化（不需要层析纯化）
 [0403] ■改良的中间体物理化学性质,更容易操作
 [0404] ■更容易扩大为生产过程
 [0405] 另一方面,本发明提供制备式(6)化合物的过程:
 [0406]

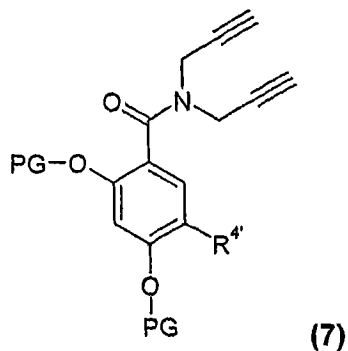


[0407] 其中 R^2 和 R^3 相同或不同,各自是 C_{1-4} 烷基或 NR^2R^3 形成 4-7 元饱和杂环,所述杂环任选包含选自 O、N 和 S 的另外的杂原子,被 1 或 2 个 C_{1-4} 烷基任选取代; R^4 选自氢、卤素、 C_{1-5} 烷基和 C_{3-4} 环烷基;

[0408] 该过程包括:

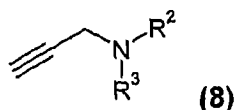
[0409] (a-ii) 使式(7)化合物:

[0410]



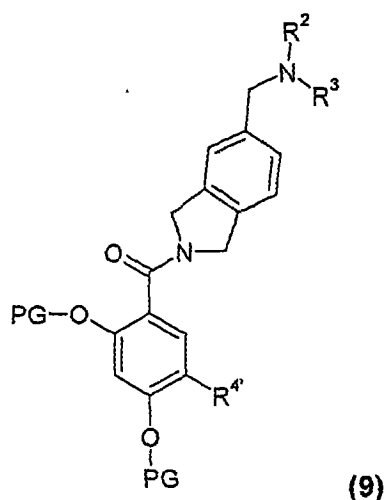
[0411] 其中 PG 是在氢化条件下可脱除的保护基团, $R^{4'}$ 选自氢、卤素、 C_{1-5} 烷基、 C_{2-5} 链烯基和 C_{3-4} 环烷基;与式(8)化合物:

[0412]



[0413] 在过渡金属催化剂的存在下反应得到式(9)化合物;

[0414]



[0415] 和

[0416] (b) 使式 (9) 化合物催化氢化以脱除保护基团 PG, 当 $R^{4'}$ 是 C_{2-5} 链烯基时, 将基团 $R^{4'}$ 还原为 C_{2-5} 烷基; 然后, 当制备游离碱形式的式 (6) 化合物时, 将游离碱任选转化为酸加成盐。

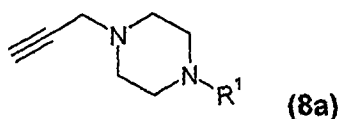
[0417] 本发明还提供制备本文限定的式 (9) 化合物的过程, 该过程包括:

[0418] (a-ii) 使本文限定的式 (7) 化合物与本文限定的式 (8) 化合物在过渡金属催化剂的存在下反应。

[0419] 式 (7) 化合物与式 (8) 化合物的反应是 2+2+2 环化加成反应的实例 (参阅 C. P. Dell, J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 1998, 3873-3905 综述及其中的文献)。反应通常在惰性溶剂如甲苯中, 加热 (如加热至室温至 100°C 范围的温度), 在过渡金属催化剂的存在下进行。优选催化剂是 Wilkinson's 催化剂 - 氯三 (三苯基膦) 铑 ($\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$)。

[0420] 在一个特别实施方案中, 式 (8) 化合物是式 (8a) 化合物:

[0421]



[0422] 其中 R^1 如本文限定, 优选甲基或乙基。

[0423] 在碱如碳酸钾的存在下, 在极性溶剂如丙酮中, 通过炔丙基溴与式 (22) 化合物反应 (见流程 22), 可制备式 (8a) 化合物。

[0424] 在一个实施方案中, R^1 是甲基, 即该过程用于制备式 (1) 化合物。

[0425] 在另一个实施方案中, R^1 是乙基。

[0426] 在式 (7) 和 (9) 中, $R^{4'}$ 选自氢、卤素、 C_{1-5} 烷基、 C_{2-5} 链烯基和 C_{3-4} 环烷基。在一个优选实施方案中, $R^{4'}$ 是异丙基或异丙烯基, 更特别地, 为异丙烯基。

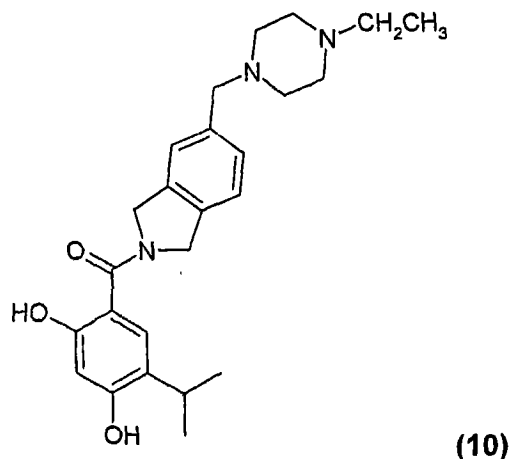
[0427] 新的化学中间体

[0428] 以上式 (3)、(3a)、(5)、(7)、(9)、(14)、(15)、(16)、(20)、(20a)、(21) 和 (23) 的化学中间体视为新的化学中间体, 由此各自形成本发明又一方面。

[0429] 新的 Hsp90 抑制剂化合物

[0430] 另一方面, 本发明提供本文限定的式 (2) 的新化合物, 其中 R^1 是乙基。新的化合物可由式 (10) 表示:

[0431]



[0432] 式 (10) 还包括任何盐、溶剂化物、晶形、互变异构体、N- 氧化物及其同位素变体。

[0433] 本发明还特别提供：

[0434] • 本文限定的式 (10) 化合物,其用于预防或治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症。

[0435] • 本文限定的式 (10) 化合物的用途,用于制备用于预防或治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症的药物。

[0436] • 预防或治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症的方法,该方法包括给予有需要的患者本文限定的式 (10) 化合物。

[0437] • 本文限定的式 (10) 化合物,用于缓解或降低由 Hsp90 介导的疾病或病症的发病率。

[0438] • 本文限定的式 (10) 化合物的用途,用于制备用于缓解或降低由 Hsp90 介导的疾病或病症的发病率的药物。

[0439] • 缓解或降低由 Hsp90 介导的疾病或病症的发病率的方法,该方法包括给予有需要的患者本文限定的式 (10) 化合物。

[0440] • 本文限定的式 (10) 化合物,用于治疗哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症。

[0441] • 本文限定的式 (10) 化合物的用途,用于制备用于治疗哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的药物。

[0442] • 治疗哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的方法,该方法包括给予哺乳动物抑制异常细胞生长有效量的本文限定的式 (10) 化合物。

[0443] • 本文限定的式 (10) 化合物,用于缓解或降低哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的发病率。

[0444] • 本文限定的式 (10) 化合物的用途,用于制备用于缓解或降低哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的发病率的药物。

[0445] • 缓解或降低哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的发病率的方法,该方法包括给予哺乳动物抑制异常细胞生长有效量的本文限定的式 (10) 化合物。

[0446] • 治疗哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的方法,该方法包括给予哺乳动物抑制 Hsp90 活性有效量的本文限定的式 (10) 化合物。

[0447] • 缓解或降低哺乳动物中包含或源自异常细胞生长的疾病或病症的发病率的方法

法,该方法包括给予哺乳动物抑制 Hsp90 活性有效量的本文限定的式 (10) 化合物。

[0448] • 本文限定的式 (10) 化合物,其用作 Hsp90 抑制剂。

[0449] • 抑制 Hsp90 的方法,该方法包括使 Hsp90 与本文限定的式 (10) 的 Hsp90- 抑制化合物接触。

[0450] • 本文限定的式 (10) 化合物,用于通过抑制 Hsp90 活性调节细胞过程 (如细胞分裂)。

[0451] • 调节细胞过程 (如细胞分裂) 的方法,用本文限定的式 (10) 化合物抑制 Hsp90 活性。

[0452] • 本文限定的式 (10) 化合物,用于预防或治疗本文所述疾病。

[0453] • 本文限定的式 (10) 化合物用于制备药物的用途,其中药物用于本文限定的任何一种或多种用途。

[0454] • 一种药用组合物,包含本文限定的式 (10) 化合物和药学上可接受的载体。

[0455] • 一种采用适合口服给药形式的药用组合物,包含本文限定的式 (10) 化合物和药学上可接受的载体。

[0456] • 一种采用适合胃肠外给药如通过静脉内 (i. v.) 给药形式的药用组合物,包含本文限定的式 (10) 化合物和药学上可接受的载体。

[0457] • 一种采用适合通过注射或输注静脉内 (i. v.) 给药形式的药用组合物,包含本文限定的式 (10) 化合物和药学上可接受的载体。

[0458] • 本文限定的式 (10) 化合物,用作药物。

[0459] • 用于上文列出和本文其他地方描述的任何用途和方法的本文限定的化合物。

[0460] • 本文限定的式 (10) 化合物,用于治疗或预防患者的疾病或病症,所述患者已经过筛选并已确定患有或者有危险患疾病或病症,所述疾病或病症将对具有抗 Hsp90 活性的化合物的治疗敏感。

[0461] • 本文限定的式 (10) 化合物的用途,用于制备用于治疗或预防患者的疾病或病症的药物,所述患者已经过筛选并已确定患有或者有危险患疾病或病症,所述疾病或病症将对具有抗 Hsp90 活性的化合物的治疗敏感。

[0462] • 诊断和治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症的方法,该方法包括 (i) 筛选患者以确定患者所患或可能患的疾病或病症是否将对具有抗 Hsp90 活性的化合物的治疗敏感;和 (ii) 当表明患者的疾病或病症敏感时,给予患者本文限定的式 (10) 化合物。

[0463] 提到式 (10) 化合物,还包括其离子形式、盐、溶剂化物、互变异构体、同位素和被保护形式,如下讨论。

[0464] 式 (10) 包括具有一种或多种同位素取代的化合物,提到具体元素,其范围包括元素的所有同位素。例如,提到氢,其范围包括 ^1H 、 $^2\text{H}(\text{D})$ 和 $^3\text{H}(\text{T})$ 。同样,提到碳和氧,其范围分别包括 ^{12}C 、 ^{13}C 和 ^{14}C 以及 ^{16}O 和 ^{18}O 。

[0465] 同位素可为放射性或非放射性。在本发明的一个实施方案中,化合物不含放射性同位素。此类化合物优选用于治疗。但是,在另一个实施方案中,化合物可包含一种或多种放射性同位素。含有此类放射性同位素的化合物可用于诊断。

[0466] 式 (10) 还包括化合物的任何多晶形、化合物的溶剂化物 (如水合物)、络合物 (如与化合物如环糊精的包合物或插合物,或与金属的络合物)。

[0467] 生物活性和治疗用途

[0468] 式 (10) 和 (1) 化合物及其盐 (特别是 L- 乳酸盐) 和晶形是 Hsp90 抑制剂, 因此将有利于治疗多种增殖性疾病。此类增殖性疾病的实例无限制, 但可选自癌症, 如膀胱癌、乳腺癌、结肠癌 (如结肠直肠癌, 如结肠腺癌和结肠腺瘤)、肾癌、表皮癌、肝癌、肺癌 (如腺癌、小细胞肺癌和非小细胞肺癌)、食管癌、胆囊癌、卵巢癌、胰腺癌 (如外分泌胰腺癌)、胃癌、宫颈癌、甲状腺癌、前列腺癌、胃肠系统癌 (如胃肠基质肿瘤) 或皮肤癌 (如鳞状细胞癌); 淋巴系造血系统肿瘤, 如白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、B 细胞淋巴瘤 (如弥漫性大 B 细胞淋巴瘤)、T 细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、毛细胞淋巴瘤或伯基特 (Burkett's) 淋巴瘤; 髓系造血系统肿瘤, 如急性慢性骨髓性白血病、伊马替尼敏感性和难治性慢性骨髓性白血病、骨髓增生异常综合征、Bortezomib 敏感性和难治性多发性骨髓瘤、骨髓组织增生性疾病或前髓细胞性白血病; 甲状腺滤泡癌; 间质来源的肿瘤, 如纤维肉瘤或横纹肌肉瘤; 中枢或周围神经系统肿瘤, 如星形细胞瘤、神经母细胞瘤、神经胶质瘤或神经鞘瘤; 黑色素瘤; 精原细胞瘤; 畸胎瘤; 骨肉瘤; 着色性干皮病; 角化棘皮瘤; 甲状腺滤泡癌; 或卡波济肉瘤。间质来源肿瘤的又一实例是尤因肉瘤。

[0469] 癌症可以是对 Hsp90 抑制敏感的癌症, 此类癌症可用标题为“诊断方法”部分列出的方法确定。

[0470] 一组癌症包括人乳腺癌 (如原发性乳腺肿瘤、淋巴结阴性的 (node-negative) 乳腺癌、乳腺的侵袭性导管腺癌、非子宫内膜样乳腺癌); 和套细胞淋巴瘤。此外, 其它癌症是结肠直肠癌和子宫内膜癌。

[0471] 另一组癌症包括淋巴系的造血系统肿瘤, 如白血病、慢性淋巴细胞性白血病、套细胞淋巴瘤和 B 细胞淋巴瘤 (如弥漫性大 B 细胞淋巴瘤), 任选还包括慢性骨髓性白血病和多发性骨髓瘤。

[0472] 优选癌症亚型包括 ErbB2- 阳性乳腺癌、前列腺癌、肺癌和胃癌; 慢性骨髓性白血病; 雄激素受体依赖性前列腺癌; Flt3 依赖性急性骨髓性白血病; 与 Braf 突变有关的黑色素瘤; 多发性骨髓瘤; velcade 难治性多发性骨髓瘤; 和胃肠道基质肿瘤 (GIST)。

[0473] 其中, 特别优选的癌症是本文限定的多发性骨髓瘤和 velcade 难治性肿瘤类型。

[0474] 另一组优选的癌症亚类包括激素难治性前列腺癌、转移性黑色素瘤、HER2 阳性乳腺癌、突变 EGFR 阳性非小细胞肺癌和耐甲磺酸伊马替尼 (Gleevec) 的胃肠道基质肿瘤。

[0475] 式 (10) 和 (1) 的 Hsp90 抑制剂化合物及其盐 (特别是 L- 乳酸盐) 和晶形也可用于治疗其它疾病如病毒感染、寄生虫疾病、自身免疫性疾病 (如多发性硬化和红斑狼疮)、神经退行性疾病 (如阿尔茨海默病)、炎症、I 和 II 型糖尿病、动脉粥样硬化和心脏病。

[0476] 式 (10) 和 (1) 的 Hsp90 抑制剂化合物及其盐 (特别是 L- 乳酸盐) 和晶形在临床上也可为有利于移植和免疫抑制。

[0477] 式 (10) 和 (1) 的 Hsp90 抑制剂化合物及其盐 (特别是 L- 乳酸盐) 和晶形与现有或新的治疗剂联合使用时, 在临床上也可有利于上文描述的疾病。

[0478] 根据 Hsp90 客户蛋白的活性和实验证据, 下列疾病可能对式 (10) 和 (1) 的 Hsp90 抑制剂化合物及其盐 (特别是 L- 乳酸盐) 和晶形的治疗特别敏感。

[0479] ErbB2- 阳性乳腺癌、前列腺癌、肺癌和胃癌

[0480] 过度表达的 ErbB2 (HER-2) 可见于大约 30% 乳腺癌, 曲妥单抗下调 ErbB2 受体使细

胞对泰素敏感。ErbB2 过度表达与预后不良和药物抵抗有关 (Tsugawa 等, 1993. Oncology 1993 ;50 :418)。

[0481] 肺癌中的突变 EGFR

[0482] 表皮生长因子受体 (EGFR) 激酶域的体细胞突变, 包括 L858R 和外显子 19 缺失, 是非小细胞肺癌 (NSCLC) 对吉非替尼 (gefitinib) 和埃罗替尼 (erlotinib) 反应的基础。某些情况下对这些酪氨酸激酶抑制剂的获得性抵抗由第二种突变 T790M 介导。安沙霉素抗生素如格尔德霉素有效抑制热休克蛋白 90 (Hsp90), 促使需要伴侣正确折叠构象的致癌激酶发生泛素介导的降解。使 EGFR 突变细胞系暴露于格尔德霉素诱导 phospho-Akt 和细胞周期蛋白 D1 明显耗竭, 和凋亡。这些数据提示 EGFR 的突变活化与依赖 Hsp90 稳定有关, Hsp90 抑制可能代表治疗 EGFR- 突变 NSCLC 的新策略。

[0483] 慢性骨髓性白血病

[0484] 畸变的 BCR-AbI 蛋白通过染色体易位产生, 导致组成型活性 AbI 激酶域。已显示这种易位事件是 CML 的病因。P210BcrAbI 是已知的 Hsp90 客户蛋白。用 hsp90 抑制剂处理 BCR-AbI 细胞系 K562 诱导凋亡。Bcr-AbI 抑制剂 **Gleevec[®]** 也诱导 K562 细胞凋亡; 但 **Gleevec[®]** 抵抗的 K562 细胞对 Hsp90 抑制剂仍保持敏感 (Gorre 等, 2002, Blood 100 : 3041-3044)。

[0485] 雄激素受体依赖性前列腺癌

[0486] 雄激素受体激酶是 Hsp90 客户蛋白。当手术不能治疗癌症时通常采用激素替代疗法。癌症可能通过受体突变而对激素处理无反应。受体的 Hsp90 调节在突变后将仍然有效。

[0487] 雌激素依赖性乳腺癌的情况也同样适用。

[0488] F1t3- 依赖性急性骨髓性白血病

[0489] 酪氨酸激酶受体 F1t3 的内部复制导致其组成型活化和癌变。这些内部复制可见于 20% 所有报道的 AML 病例, 提示预后不良。与 CML 中 ABL 激酶的活化非常相似, 这代表另一种产生恶性肿瘤的单基因损伤实例。预期 Hsp90 抑制剂在临床上可有利于这些患者, 因为 F1t3 是 Hsp90 客户蛋白 (Bali 等, 2004Cancer Res. 64(10) :3645-52)。

[0490] 与 Braf 突变有关的黑色素瘤

[0491] Braf 编码丝氨酸 / 苏氨酸激酶, 在 70% 所有黑色素瘤中都突变。其中 80% 表现单 V599E 点突变, 使 BRAF 的激酶活性提高。这种突变在 NIH3T3 细胞中也转换 (Bignell 等, 2002Nature. 417(6892) :949-54)。

[0492] 多发性骨髓瘤

[0493] Hsp90 抑制剂 17-AAG 有效抑制 Bortezomib 难治性多发性骨髓瘤细胞系增殖。IGF-1R 和 IL-6R 的细胞表面水平在 17-aag 处理的 MM-1 细胞中也减少 (Mitsiades 等, Blood 107 :1092-1100, 2006)。IL-6 对多发性骨髓瘤细胞的自分泌刺激, 和对骨髓基质细胞的旁分泌刺激通过 Hsp90 客户 IKK 的下调也减少。

[0494] Velcade 难治性多发性骨髓瘤

[0495] 式 (10) 和 (1) 的 Hsp90 抑制剂化合物及其盐 (特别是 L- 乳酸盐) 和晶形可用于治疗 velcade 难治性肿瘤类型, 包括治疗具有下列疾病的患者: 第二线套细胞淋巴瘤、无痛性非霍奇金淋巴瘤、IIIB 和 IV 期支气管肺泡癌、晚期非小细胞肺癌、乳腺癌、前列腺癌和卵巢癌和非霍奇金淋巴瘤。

[0496] 胃肠道基质肿瘤 (GIST)

[0497] GIST 疾病特别是依赖于生长因子活化或过度表达 (如 c-kit) 的疾病

[0498] Hsp90 抑制剂临床上可能有效的其它疾病或病症包括但不限于:

[0499] 神经退行性疾病

[0500] 亨廷顿病 (HD) 是无有效治疗的进行性神经退行性疾病。Hsp90 的 GA 抑制和由此引起的 Hsp 上调有效地预防神经元细胞中亨廷顿蛋白聚集。(Sittler 等, 2001, Human Molecular Genetics, 10 卷, 12 期, 1307-1315)。HSP 上调在临床上还可有利于其它蛋白错误折叠的疾病如 CJD 和阿尔茨海默病。

[0501] 炎性疾病, 包括类风湿性关节炎、哮喘、慢性阻塞性肺病和炎性肠病

[0502] 已显示 GA 分离 HSF-1 与 Hsp90, 导致 HSF-1 的活化和核易位。然后 HSF-1 作为转录因子诱导 HSP90 和 Hsp70。Hsp70 的诱导参与消除小鼠诱发水肿模型中的炎症 (Ilanaro 等, 2004 Human Molecular Genetics, 2001, 10 卷, 12 期, 1307-1315)。另外 GA 治疗抑制 TNF- α 或 PMA 的 IkappaB 激酶 (IKK) 激活。IkBa 是 Nf-kB 和 Ap-1 调节剂 (Broemer 等, 2004)。Ap-1 和 Nf-kB 是产生促炎症细胞因子的主要转录因子 (Yeo 等, 2004 Biochem Biophys Res Commun. 30 ;320 (3) :816-24)。通过抑制 p38MapK 也调节促炎症细胞因子转录物的稳定性 (Wax 等, 2003. Rheumatism 48 卷, 2 期, 541-550 页)。

[0503] 动脉粥样硬化

[0504] 已知炎症和免疫细胞在人动脉粥样硬化起始和进展中发挥中枢的作用 (Riganó 等, Ann. N. Y. Acad. Sci., 2007, 1107 :1-10), 已报道 Hsp90 在颈动脉粥样硬化中充当自身抗原。Riganó 等在 60% 受试患者 (患颈动脉粥样硬化斑块) 血清中发现抗 Hsp90 的特异性抗体和细胞, 但在健康患者血清中无抗 Hsp90 的特异性抗体和 T 细胞。因此, 式 (10) 和 (1) 的 Hsp90 抑制剂化合物及其盐 (特别是 L- 乳酸盐) 和晶形应当可用于治疗或预防动脉粥样硬化。

[0505] 血管生成相关性疾病, 包括但不限于: 肿瘤血管生成、银屑病、类风湿性关节炎和糖尿病性视网膜病

[0506] 由在内皮细胞中 Hsp90 客户蛋白 eNOS 和 Akt 调节血管生成的诱导 (Sun 和 Liao, 2004 Arterioscler Thromb Vase Biol. 24 (12) :2238-44)。在小鼠模型中抑制低氧诱导因子 (HIF)-1 α 也可减少胃肿瘤的生长、血管生成和血管成熟 (Stoeltzing 等, 2004 J Natl Cancer Inst ;96 :946-956.)。

[0507] I 型和 II 型糖尿病

[0508] Hsp90 抑制对 Akt 信号和 e-nos 有很大影响。这是在 I 型糖尿病中高血糖诱发的内皮细胞凋亡 (Lin 等, 2005 J Cell Biochem. 1 ;94 (1) :194-201) 和 II 型糖尿病中高血压发病 (Kobayashi 等, 2004 Hypertension. 44 (6) :956-62.) 的两种关键调节物。

[0509] 免疫抑制和移植

[0510] 已显示 Hsp90 抑制可下调 Lck, 一种 T 细胞活化需要的 T 细胞特异性酪氨酸激酶。(Yorgin 等, 2000 J Immunol. 15 ;164 (6) :2915-23.)

[0511] 心脏病

[0512] 心肌缺血是西方世界最常见的死亡原因。Hsps, 特别是 Hsp70 (用根赤壳菌素处理诱导) 在大鼠心肌细胞中已显示心肌保护活性 (Griffin 等, 2004)。抑制 Hsp90 引起 HSF-1

从伴侣复合物释放然后激活 Hsp 基因。抑制 Hsp90 还下调 HIF-1, 其参与缺血性心脏病和中风的发病。

[0513] 感染性疾病

[0514] 丙型肝炎病毒 NS2/3 蛋白酶是 Hsp90 客户蛋白, 病毒加工和复制需要 Hsp90 活性 (Whitney 等, 2001. Proc Natl Acad Sci U S A. 20 ;98(24) :13931-5.)。

[0515] 寄生虫疾病

[0516] 已报道 GA 具有抗恶性疟原虫 Hsp90 直向同源物的抗疟药活性。GA 抑制疟原虫生长的 IC_{50} 与氯喹相似。GA 也有效抗恶性疟原虫的氯喹抵抗株 (Kamar 等, 2003. Malar J. 15 ; 2(1) :30)。

[0517] 抑制、预防或逆转药物抵抗的进展

[0518] 如上讨论, 一般应激蛋白 (特别是 Hsp90) 功能的调节剂或抑制剂代表具有下列潜能的一类化疗剂: (i) 使恶性细胞对抗癌药和 / 或治疗敏感; (ii) 缓解或降低对抗癌药和 / 或治疗抵抗的发病率; (iii) 逆转对抗癌药和 / 或治疗的抵抗; (iv) 加强抗癌药和 / 或治疗的活性; (v) 延缓或预防对抗癌药和 / 或治疗抵抗的出现。

[0519] 因此, 本发明还提供:

[0520] • 预防或治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症 (或者缓解或降低发病率) 的方法, 该方法包括给予有需要的患者本发明化合物, 其中由 Hsp90 介导的疾病或病症是出现对抗癌药的抵抗。

[0521] • 具有下列用途的方法: (i) 使恶性细胞对抗癌药敏感; (ii) 缓解或降低对抗癌药抵抗的发病率; (iii) 逆转对抗癌药的抵抗; (iv) 加强抗癌药活性; (v) 延缓或预防对抗癌药抵抗的出现, 该方法包括给予有需要的患者本发明化合物。

[0522] • 治疗癌症的方法, 该方法包括给予有需要的患者本发明化合物, 该方法的特征在于不存在药物抵抗。

[0523] • 预防或治疗正用治疗剂 (如抗癌剂) 治疗的患者中由 Hsp90 介导的疾病或病症 (或者缓解或降低发病率) 的方法, 该方法包括给予患者本发明化合物, 其中由 Hsp90 介导的疾病或病症是出现对所述治疗剂的抵抗。

[0524] • 具有下列用途的方法: (i) 使恶性细胞对抗癌剂敏感; (ii) 缓解或降低对抗癌剂抵抗的发病率; (iii) 逆转对抗癌剂的抵抗; (iv) 加强抗癌剂活性; (v) 延缓或预防对抗癌剂抵抗的出现, 该方法包括给予正用所述抗癌剂治疗的患者本发明化合物。

[0525] • 治疗正用抗癌剂治疗的患者的癌症的方法, 该方法包括给予有需要的患者本发明化合物, 该方法的特征在于不存在对抗癌剂的药物抵抗。

[0526] 生物活性

[0527] 式 (10) 和 (1) 化合物及其盐 (特别是 L- 乳酸盐) 和晶形的生物活性, 如作为 Hsp90 抑制剂的活性, 可用以下实施例列出的测定方法检测, 如描述于实施例 6 的等温滴定量热 (ITC) 试验和描述于实施例 7 的抗增殖活性测定。可根据 K_d 值确定 ITC 测定中指定化合物表现的活性水平, 本发明化合物具有小于 1 微摩尔的 K_d 值。在抗增殖活性测定中, 可根据 IC_{50} 值确定本测定中指定化合物表现的活性水平, 本发明化合物各自具有小于 0.1 微摩尔的 IC_{50} 值。

[0528] hERG

[0529] 在 1990 年代后期,当发现许多由 US FDA 批准的药物涉及心功能障碍引起的死亡时,这些药物已从美国销售市场上撤出。其后发现这些药物的副作用是由于阻断心肌细胞的 hERG 通道引起心律失常的发生。hERG 通道是钾离子通道家族之一,该家族第一个成员是在 1980 年代后期在黑腹果蝇 (mutant *Drosophila melanogaster* fruitfly) 中得到鉴定 (参阅 Lan, L. Y. 和 Jan, Y. N. (1990). A Super Family of Ion Channels. *Nature*, 345 (6277) :672)。hERG 钾离子通道的生物物理学性质描述于 Sanguinetti, M. C, Jiang, C, Curran, M. E., 和 Keating, MT. (1995). A Mechanistic Link Between an Inherited and an Acquired Cardiac Arrhythmia: hERG encodes the *lkr* potassium channel (遗传和获得性心律失常之间的机械联系: hERG 编码 *lkr* 钾通道)。Cell, 81 :299-307, 和 Trudeau, M. C, Warmke, J. W., Ganetzky, B., 和 Robertson, G. A. (1995), hERG, a Human Inward Rectifier in the Voltage-Gated Potassium Channel Family (hERG, 电压门控钾通道家族中的人内向整流器)。Science, 269 :92-95.。

[0530] 消除 hERG 阻断活性仍然是研制任何新药的重要考虑事项。

[0531] 式 (1) 化合物具有低 hERG 活性,很好地分离 Hsp90 抑制剂活性与 hERG 活性。具体来讲,式 (1) 化合物抗 hERG 的平均 IC_{50} 值是化合物在细胞增殖测定中的 IC_{50} 值的 30 倍以上。式 (1) 化合物抗 hERG 的平均 IC_{50} 值大于 $15 \mu M$ 。

[0532] 本发明化合物具有优良的 ADME 性质,特别是更好的肿瘤分布。

[0533] 疼痛、神经病变、中风和相关疾病的治疗

[0534] 本发明化合物具有 Hsp90 抑制或调节活性,因此可用于治疗、缓解或预防某些 cdk5 介导性疾病和病症。

[0535] 因此,第一方面,本发明提供本文限定的本发明化合物制备用于治疗疼痛的药物的用途。

[0536] 另一方面,本发明提供本文限定的本发明化合物制备用于预防或治疗中风的药物的用途。

[0537] 又一方面,本发明提供本文限定的本发明化合物制备用作神经保护剂的药物的用途。

[0538] 其它方面,本发明提供:

[0539] ■ 用于治疗疼痛的本文限定的本发明化合物。

[0540] ■ 用于减轻或消除患有疼痛的患者 (如哺乳动物如人) 的疼痛的本文限定的本发明化合物。

[0541] ■ 本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途,所述药物用于减轻或消除患有疼痛的患者 (如哺乳动物如人) 的疼痛。

[0542] ■ 本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗以下任何一种或多种:伤害感受、躯体痛、内脏痛、急性痛、慢性痛、痛觉过敏、异常疼痛、术后痛、过敏反应引起的疼痛、头痛、炎性痛 (风湿痛、牙痛、痛经或感染)、神经痛、肌肉骨骼痛、癌症相关痛或血管痛。

[0543] ■ 用于治疗伤害感受、躯体痛、内脏痛、急性痛、慢性痛、痛觉过敏、异常疼痛、术后痛、过敏反应引起的疼痛、头痛、炎性痛 (风湿痛、牙痛、痛经或感染)、神经痛、肌肉骨骼痛、癌症相关痛或血管痛任何一种或多种的本文限定的本发明化合物。

[0544] ■治疗患者如哺乳动物（如人）的疼痛的方法，该方法包括给予患者治疗有效量的本文限定的本发明化合物。

[0545] ■减轻或消除患有疼痛的患者（如哺乳动物如人）的疼痛的方法，该方法包括给予患者减轻疼痛或消除疼痛有效量的本文限定的本发明化合物。

[0546] ■用于治疗伤害感受、躯体痛、内脏痛、急性痛、慢性痛、痛觉过敏、异常疼痛、术后痛、过敏反应引起的疼痛、头痛、炎性痛（风湿痛、牙痛、痛经或感染）、神经痛、肌肉骨骼痛、癌症相关痛或血管痛任何一种或多种的方法，该方法包括给予患者治疗有效量的本文限定的本发明化合物。

[0547] ■用于预防或治疗中风的本文限定的本发明化合物。

[0548] ■预防或治疗患者如哺乳动物（如人）的中风的方法，该方法包括给予患者治疗有效量的本文限定的本发明化合物。

[0549] ■用作神经保护剂的本文限定的本发明化合物。

[0550] ■预防或减轻中风患者的神经元损伤的方法，该方法包括给予患者保护神经有效量的本文限定的本发明化合物。

[0551] ■本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于预防或减少有中风危险的患者中风的危险，所述患者如具有任何一种或多种选自血管炎症、动脉粥样硬化、高动脉压、糖尿病、高脂血症和房颤的危险因素的患者。

[0552] ■预防或减少有中风危险的患者中风的危险的本文限定的本发明化合物，所述患者如具有任何一种或多种选自血管炎症、动脉粥样硬化、高动脉压、糖尿病、高脂血症和房颤的危险因素的患者。

[0553] ■预防或减少有中风危险的患者中风的危险的方法，所述患者如具有任何一种或多种选自血管炎症、动脉粥样硬化、高动脉压、糖尿病、高脂血症和房颤的危险因素的患者，该方法包括给予患者有效治疗量的本文限定的本发明化合物。

[0554] ■用于预防或治疗由细胞周期蛋白依赖性激酶 5 介导的疾病或病症的本文限定的本发明化合物。

[0555] ■本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于预防或治疗由细胞周期蛋白依赖性激酶 5 介导的疾病或病症。

[0556] ■预防或治疗由细胞周期蛋白依赖性激酶 5 介导的疾病或病症的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物。

[0557] ■缓解或降低由细胞周期蛋白依赖性激酶 5 介导的疾病或病症的发病率的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物。

[0558] ■本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于预防或治疗由 cdk5 或 p35 介导的疾病或病症。

[0559] ■本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于预防或治疗由 cdk5 或 p35 介导的疾病或病症，所述疾病或病症除外阿尔茨海默病、亨廷顿病或克雅氏病。

[0560] ■本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于预防或治疗由 cdk5 或 p35 介导的疾病或病症，所述疾病或病症除外神经退行性病变。

[0561] ■本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于预防或治疗以 cdk5 或 p35 水平提高为特征的疾病或病症。

[0562] ■用于预防或治疗由 cdk5 或 p35 介导的疾病或病症的本文限定的本发明化合物,所述疾病或病症除外阿尔茨海默病、亨廷顿病或克雅氏病。

[0563] ■用于预防或治疗由 cdk5 或 p35 介导的疾病或病症的本文限定的本发明化合物,所述疾病或病症除外神经退行性病变。

[0564] ■用于预防或治疗以 cdk5 或 p35 水平提高为特征的疾病或病症的本文限定的本发明化合物。

[0565] ■预防或治疗由 cdk5 或 p35 介导的疾病或病症的方法,所述疾病或病症除外阿尔茨海默病、亨廷顿病或克雅氏病,该方法包括给予有需要的患者治疗有效量的本文限定的本发明化合物。

[0566] ■预防或治疗由 cdk5 或 p35 介导的疾病或病症的方法,所述疾病或病症除外神经退行性病变,该方法包括给予有需要的患者治疗有效量的本文限定的本发明化合物。

[0567] ■预防或治疗以 cdk5 或 p35 水平提高为特征的疾病或病症的方法,该方法包括给予有需要的患者治疗有效量的本文限定的本发明化合物。

[0568] ■用于预防或治疗神经病变的本文限定的本发明化合物,所述神经病变如周围神经病变,除外阿尔茨海默病、亨廷顿病或克雅氏病。

[0569] ■本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途,所述药物用于预防或治疗神经病变,如周围神经病,除外阿尔茨海默病、亨廷顿病或克雅氏病。

[0570] ■预防或治疗神经病变如除外阿尔茨海默病、亨廷顿病或克雅氏病的周围神经病的方法,该方法包括给予有需要的患者治疗有效量的本文限定的本发明化合物。

[0571] 抗真菌、抗原虫、抗病毒和抗寄生虫活性

[0572] 本发明化合物及其酸加成盐和晶形具有抗真菌活性、抗原虫活性和抗寄生虫活性。

[0573] 特别地,本发明化合物可用于治疗致病性真菌、原虫和寄生虫感染,其中病原体引起的感染通常与对 HSP90 的抗体反应有关。

[0574] 在一个实施方案中,本发明提供用作抗真菌剂的本文限定的式 (I) 化合物及其亚类。

[0575] 真菌的实例包括在人及其他动物中致病的那些真菌,例如:

[0576] ■念珠菌属如白色念珠菌 (*Candida albicans*) 和热带念珠菌 (*Candida tropicalis*);

[0577] ■隐球菌属如新型隐球菌 (*Cryptococcus neoformans*) 和隐球菌性脑膜炎 (*Cryptococcal meningitis*);

[0578] ■曲霉菌属如烟曲霉菌 (*Aspergillus fumigatus*)、黄曲霉菌 (*Aspergillus flavus*) 和黑曲霉菌 (*Aspergillus niger*);

[0579] ■小孢子菌属如犬小孢子菌 (*Microsporum canis*) 和石膏样小孢子菌 (*Microsporum gypsum*);

[0580] ■表皮癣菌属;

[0581] ■发癣菌属如马发癣菌 (*Trichophyton equinum*)、须发癣菌 (*Trichophyton mentagrophytes*) 和红色毛癣菌 (*Trichophyton rubrum*);

[0582] ■絮状表皮癣菌 (*Epidermophyton floccosum*);

- [0583] ■威尼克外瓶霉 (*Exophiala werneckii*) ;
- [0584] ■镰孢菌属 (*Fusarium*) 如茄病镰刀菌 (*Fusarium solani*) ;
- [0585] ■申克孢子丝菌 (*Sporothrix schenckii*) ;
- [0586] ■青霉菌属如红色青霉 (*Penicillium rubrum*) ;
- [0587] ■链格孢属 ;
- [0588] ■毛长喙壳菌 (*Ceratocystis pilifera*) ;
- [0589] ■霜粉金孢子菌 (*Chrysosporium pruinsum*) ;
- [0590] ■长蠕孢属 (*Helminthosporium*) ;
- [0591] ■宛氏拟青霉 (*Paecilomyces variotti*) ;
- [0592] ■酵母, 如酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 和糠疹癣菌属 (*Pityrosporum*) 如圆形糠疹癣菌 (*Pityrosporum orbiculare*) 和卵状糠疹癣菌 (*Pityrosporum ovale*) ;
- [0593] ■组织胞浆菌属 (*Histoplasma*) 如荚膜组织胞浆菌 (*Histoplasma capsulatum*) ;
- [0594] ■球孢子菌属 ;
- [0595] ■副球孢子菌属 ;和
- [0596] ■芽生菌属。
- [0597] 在另一个实施方案中, 本发明提供用作抗原虫剂的式 (I) 化合物及其亚类。原虫的实例包括 :
- [0598] ■克氏锥虫 (*Trypanosoma cruzi*) ;
- [0599] ■利什曼原虫属 ;如杜氏利什曼原虫复合体 (*L. donovani complex*) (杜氏利什曼原虫 (*L. donovani*), 婴儿利什曼原虫 (*L. infantum*), 和恰氏利什曼原虫 (*L. chagasi*)) ;墨西哥利什曼原虫复合体 (*L. mexicana complex*) (3 种主要种属 - 墨西哥利什曼原虫 (*L. mexicana*), 亚马逊利什曼原虫 (*L. amazonensis*), 和委内瑞拉利什曼原虫 (*L. venezuelensis*)) ;热带利什曼原虫 (*L. tropica*) ;大型利什曼原虫 (*L. major*), 埃塞俄比亚利什曼原虫 (*L. aethiopica*) ;和 4 种主要种类的 *Viannia* 亚属 (*L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) panamensis*, 和 *L. (V.) peruviana*) ;
- [0600] ■鼠弓形体 (*Toxoplasma gondii*) ;和
- [0601] ■阴道毛滴虫 (*Trichomonas vaginalis*)。
- [0602] 在又一个实施方案中, 本发明提供用作抗寄生虫剂的本文限定的式 (I) 化合物及其亚类。
- [0603] 寄生虫的实例包括寄生的蠕虫, 如 :
- [0604] ■寄生的线虫如蛔虫 (*Ascaris lumbricoides*) ;
- [0605] ■寄生的扁形虫如寄生的吸虫, 如曼氏血吸虫 (*Schistosoma mansoni*)。
- [0606] 本发明还特别提供 :
- [0607] • 用于预防或治疗真菌、原虫或寄生虫疾病或病症 (除外恶性疟原虫引起的疾病或病症) 的本文限定的本发明化合物, 如以对 Hsp90 的抗体反应为特征的疾病或病症。
- [0608] • 本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途, 所述药物用于预防或治疗真菌、原虫或寄生虫疾病或病症 (除外恶性疟原虫引起的疾病或病症), 如以对 Hsp90 的抗体反应为特征的疾病或病症。

[0609] • 预防或治疗真菌、原虫或寄生虫疾病或病症（除外恶性疟原虫引起的疾病或病症），如以对 Hsp90 的抗体反应为特征的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物。

[0610] • 用于预防或治疗真菌疾病或病症，如以对 Hsp90 的抗体反应为特征的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物。

[0611] • 本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于预防或治疗真菌疾病或病症，如以对 Hsp90 的抗体反应为特征的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物。

[0612] • 预防或治疗真菌疾病或病症，如以对 Hsp90 的抗体反应为特征的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物。

[0613] • 用于预防、阻止或逆转动物（如哺乳动物，如人）致病性真菌感染的本文限定的本发明化合物。

[0614] • 本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于预防、阻止或逆转动物（如哺乳动物，如人）致病性真菌感染。

[0615] • 预防、阻止或逆转动物（如哺乳动物，如人）致病性真菌感染的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物。

[0616] • 用于上文列出和本文其它地方描述的任何用途和方法的本文限定的本发明化合物。

[0617] • 本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于预防或治疗本文描述的任何疾病或病症。

[0618] • 本文限定的本发明化合物与抗真菌剂（如唑类抗真菌剂）辅助性化合物的组合。

[0619] • 一种药用组合物，含有本文限定的本发明化合物与抗真菌剂（如唑类抗真菌剂）辅助性化合物。

[0620] • 本文限定的本发明化合物，其用于预防、减少或逆转对于与其联合给药的抗真菌剂、抗原虫剂或抗寄生虫剂（优选抗真菌剂）的抵抗的进展。

[0621] • 本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途，所述药物用于与抗真菌剂、抗原虫剂或抗寄生虫剂（优选抗真菌剂）联合给药，以预防、减少或逆转对抗真菌剂、抗原虫剂或抗寄生虫剂出现抵抗。

[0622] • 预防或减少患者（如人患者）出现对抗真菌剂抵抗的方法，该方法包括给予患者抗真菌剂、抗原虫剂或抗寄生虫剂（优选抗真菌剂）和本文限定的本发明化合物的组合。

[0623] • 预防或治疗由 Hsp90 介导的疾病或病症（或者缓解或降低发病率）的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物与抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物的组合，其中由 Hsp90 介导的疾病或病症是出现对抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物的抵抗。

[0624] • 具有下列用途的方法：(i) 使真菌、原虫或寄生虫细胞对抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物敏感；(ii) 缓解或降低对抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物抵抗的发病率；(iii) 逆转对抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物抵抗；(iv) 加强抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物的活性；(v) 延迟或预防对抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物抵抗的进展，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物与所述抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物的组合。

[0625] • 治疗真菌、原虫或寄生虫疾病或病症的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物与抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物的组合，该方法的特征在于不存在

药物抵抗。

[0626] • 预防或治疗正用抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物治疗的患者中由 Hsp90 介导的疾病或病症（或者缓解或降低发病率）的方法，该方法包括给予患者本文限定的本发明化合物，其中由 Hsp90 介导的疾病或病症是出现对所述抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物的抵抗。

[0627] • 具有下列用途的方法：(i) 使真菌、原虫或寄生虫细胞对抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物敏感；(ii) 缓解或降低对抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物抵抗的发病率；(iii) 逆转对抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物抵抗；(iv) 加强抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物的活性；(v) 延迟或预防对抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物抵抗的进展，该方法包括给予正用所述辅助化合物治疗的患者本文限定的本发明化合物。

[0628] • 在正用抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物治疗的患者中治疗真菌、原虫或寄生虫疾病的方法，该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物，该方法的特征在于不存在药物抵抗，如对所述抗真菌、抗原虫或抗寄生虫药物的抵抗。

[0629] 如本申请书引言部分的以上描述，已发现具有 Hsp90 抑制剂活性的化合物表现有效的抗真菌活性，预防出现抗真菌剂抵抗，特别是 Hsp90 依赖性的抗真菌剂抵抗。而且，已发现抑制 Hsp90 活性可减少对抗真菌药如唑类抵抗的进展。因此本发明化合物将用于预防或治疗多种真菌疾病和病症，当与其它抗真菌药如唑类联合给药时，还将有助于增强抗真菌药的活性。

[0630] 本发明化合物的抗真菌活性可通过测定最小抑制真菌（真菌抑制）浓度 (m. i. c) 评估。该测试通常如下进行：制备一系列装有合适营养培养基的板或管，各板或管还装有不同浓度的待测化合物，然后用真菌接种培养基。培养期后，肉眼观察板上存在或不存在真菌生长。m. i. c. 是防止真菌生长需要的最小浓度。

[0631] 化合物可用于动物医药（如治疗哺乳动物如人）。

[0632] 可用本文限定的本发明化合物对抗的动物真菌感染包括：

[0633] ■ 表面真菌病 – 即限于皮肤和毛发最外层的真菌感染；

[0634] ■ 皮肤真菌病 – 即扩散深入表皮但通常只限于皮肤角质层、毛发和指甲的真菌感染；

[0635] ■ 皮下真菌病 – 即累及真皮、皮下组织、肌肉和筋膜的真菌感染；

[0636] ■ 原发性病原体引起的系统性真菌病（这些通常主要在肺中开始，可扩散至其它器官系统）；和

[0637] ■ 条件病原体引起的系统性真菌病（在其它情况下将不被感染的免疫缺陷患者的感染）。

[0638] 本文限定的本发明化合物可使用的真菌疾病的具体实例包括：

[0639] ■ 皮肤癣菌感染如花斑癣（皮肤表面真菌感染）、脚癣（运动员足）、头癣（头部表面真菌感染）、须癣（胡须部位真菌感染）、体癣（光滑皮肤区的真菌感染）。

[0640] ■ 粘膜念珠菌病如口腔念珠菌病、食管和阴道念珠菌病。

[0641] ■ 侵袭性或深部器官念珠菌病（如真菌血症、心内膜炎和眼内炎）。

[0642] ■ 隐球菌感染如隐球菌性脑膜炎。

[0643] ■ 组织胞浆菌病。

- [0644] ■芽生菌病,肺(有时为皮肤)的真菌感染。
- [0645] ■免疫系统减弱或用抗癌药或抗 AID 药治疗的患者的侵袭性真菌感染,如侵袭性念珠菌病和侵袭性曲霉菌病。
- [0646] ■曲霉菌病如过敏性支气管肺曲霉菌病。
- [0647] ■曲霉肿 (Aspergilloma)。
- [0648] ■擦烂性感染(发生在皮肤折叠处如脚趾或手指之间、腋下或腹股沟区的真菌感染)。
- [0649] ■ Maduramycosis(真菌侵入足部组织,也称为足分支菌病)。
- [0650] ■球孢子菌病。
- [0651] ■毛霉菌病。
- [0652] ■芽生菌病。
- [0653] ■地霉菌病。
- [0654] ■着色芽生菌病。
- [0655] ■分生孢子菌病。
- [0656] ■组织胞浆菌病。
- [0657] ■鼻孢子菌病。
- [0658] ■奴卡菌病。
- [0659] ■副放线菌病。
- [0660] ■青霉病。
- [0661] ■ Monoliasis。
- [0662] ■孢子丝菌病。
- [0663] 特别重要的真菌感染是念珠菌病和曲霉菌病。
- [0664] 本发明化合物还具有抗原虫活性和抗寄生虫活性。本发明化合物的抗原虫活性可用常规方法评估,如测定最小抑制浓度(m. i. c.)或 50%抑制水平(IC₅₀)。
- [0665] 本发明化合物可使用的原虫和寄生虫疾病或病症实例包括:
- [0666] ■查格斯病((锥虫病)-由寄生虫克氏锥虫(*Trypanosoma cruzi*)引起的感染。
- [0667] ■蛔虫病-由寄生的线虫蛔虫(*Ascaris lumbricoides*)引起的人疾病。
- [0668] ■利什曼病-由利什曼属寄生虫引起的疾病。
- [0669] ■弓形体病-由原虫鼠弓形体(*Toxoplasma gondii*)引起的寄生虫疾病。
- [0670] ■血吸虫病(裂体血吸虫)-由寄生虫曼氏血吸虫引起的疾病。
- [0671] ■滴虫病-由寄生原虫阴道毛滴虫引起的性传播疾病。
- [0672] 抗病毒活性
- [0673] 如本申请书引言部分的以上讨论,用病毒 RNA/DNA 感染宿主细胞导致细胞蛋白合成基本重新转向由病毒核酸编码的关键病毒蛋白,这通常引起热休克蛋白上调。人们认为 HSP 诱导的功能之一可能是有助于在准备病毒复制时产生的高水平“外”蛋白的稳定和折叠,已显示(Nagkagawa 等)HSP 90 抑制剂可阻断病毒复制。因此,本发明化合物可用于对抗病毒感染,如通过阻断或抑制病毒复制。
- [0674] 因此,另一方面,本发明提供用于预防或治疗病毒感染(或病毒疾病)的本文限定的本发明化合物。

[0675] 又一方面,本发明提供:

[0676] • 本文限定的本发明化合物用于制备用于预防或治疗病毒感染(或病毒疾病)的药物的用途。

[0677] • 预防或治疗病毒感染(或病毒疾病)的方法,该方法包括给予有需要的患者本文限定的本发明化合物。

[0678] • 用于阻断或抑制宿主生物体(如动物如哺乳动物(如人))中病毒复制的本文限定的本发明化合物。

[0679] • 本文限定的本发明化合物用于制备药物的用途,所述药物用于阻断或抑制宿主生物体(如动物如哺乳动物(如人))中的病毒复制。

[0680] • 阻断或抑制宿主生物体(如动物如哺乳动物(如人))中的病毒复制的方法,该方法包括给予宿主生物体本文限定的本发明化合物。

[0681] 可用本发明化合物治疗的病毒感染实例包括由下列任何一种或多种病毒引起的感染:

[0682] • 小核糖核酸病毒(picornaviruses)如鼻病毒(普通感冒病毒)、柯萨奇病毒(如柯萨奇 B 病毒);和口蹄疫病毒;

[0683] • 肝炎病毒如甲型肝炎病毒(HAV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒(HDV)和戊型肝炎病毒(HEV);

[0684] • 冠状病毒(如普通感冒病毒和严重急性呼吸综合症(SARS)病毒);

[0685] • 腺病毒如人腺病毒(呼吸道和结膜感染的病因);

[0686] • 星状病毒(流感样症状的病因);

[0687] • 黄病毒(flaviviruses)如黄热病病毒;

[0688] • 正粘液病毒(orthomyxoviruses)如流感病毒(如 A、B 和 C 型流感病毒);

[0689] • 副流感病毒;

[0690] • 呼吸道合胞病毒;

[0691] • 肠病毒如脊髓灰质炎病毒(脊髓灰质炎病毒);

[0692] • 副粘病毒如麻疹(风疹)病毒、腮腺炎病毒、呼吸道合胞病毒(RSV)和犬瘟热病毒(CDV);

[0693] • 披膜病毒(Togaviruses)如风疹(德国麻疹)病毒和 Sindbis 病毒;

[0694] • 疱疹病毒如:

[0695] ■ 单纯疱疹病毒(HSV),如引起热病性疱疹(感冒疮)、龈口炎、疱疹角膜炎、疱疹性湿疹和 HSV 脑炎)的 HSV-1 ;和引起生殖器损伤、新生儿感染、HSV 脑膜炎和 HSV 直肠炎的 HSV-2 ;

[0696] ■ 水痘带状疱疹病毒(VZV),引起水痘、先天性水痘综合征和带状疱疹;

[0697] ■ Epstein-Barr 病毒(EBV),引起传染性单核细胞增多症、Burkitt's 淋巴瘤和鼻咽癌;

[0698] ■ 巨细胞病毒(CMV),如人巨细胞病毒(HCMV);

[0699] ■ 人疱疹病毒 6(HHV-6),引起幼儿急疹或婴儿玫瑰疹;

[0700] ■ 人疱疹病毒 8(HHV-8)或卡波济肉瘤相关性疱疹病毒(KSHV),可见于许多 AIDS 患者的唾液,与卡波济肉瘤有关;

- [0701] • 乳多空病毒如多瘤病毒和人乳头瘤病毒 (HPV) ;
- [0702] • 细小病毒 ;
- [0703] • 痘病毒如类天花病毒 (人天花病毒) ;
- [0704] • 棒状病毒如狂犬病病毒和水泡性口炎病毒 (VSV) ;和
- [0705] • 逆转录病毒如引起获得性免疫缺陷综合征 (AIDS) 的人免疫缺陷病毒 (HIV) ;和人 T 淋巴细胞病毒 (T-lymphotrophic virus) (HTLV) 。

[0706] 可用本发明化合物对抗的具体病毒感染包括疱疹病毒、痘病毒、Epstein-Barr 病毒、Sindbis 病毒、腺病毒、HIV (预防 HIV 感染个体出现 AIDS)、HPV、HCV 和 HCMV 病毒。

[0707] 病毒感染可以是丙型肝炎病毒 (HCV) 感染以外的感染。

[0708] 可用技术人员熟知的标准程序测定本发明化合物作为阻断或预防宿主生物体或宿主细胞中病毒复制的药物的活性。

[0709] 本发明化合物可用作单一抗病毒剂,或者可与其它抗病毒剂联合使用,如阿昔洛韦、更昔洛韦、奥塞米韦(Tamiflu[®])和扎那米韦(Relenza[®])、amantidine、金刚乙胺、阿德福韦酯、干扰素 (如干扰素 α -2b 和聚乙二醇干扰素 α -2a)、拉米夫定、恩替卡韦、利巴韦林、泛昔洛韦、伐昔洛韦、万乃洛韦、叠氮胸苷(AZT-Retrovir[®])、阿扎那韦、福沙那韦、拉米夫定、拉米夫定 + 阿巴卡韦、富马酸替诺福韦酯、富马酸替诺福韦酯 + 恩曲他滨、替拉那韦、那非那韦、茚地那韦、雷特格韦、利托那韦、洛匹那韦 + 利托那韦、地瑞拉韦、安泼那韦、恩夫韦地、沙奎那韦、羟基脲、VGV-1 和抗病毒疫苗。

[0710] 因此,本发明还提供 :

[0711] • 本文限定的本发明化合物与抗病毒剂辅助化合物的组合。

[0712] • 含有本文限定的本发明化合物与抗病毒剂辅助化合物的药用组合物。

[0713] 药用制剂

[0714] 虽然可以单独给予活性化合物,但优选作为药用组合物 (如制剂) 给药,所述药用组合物含有至少一种本发明的活性化合物,与其一起的是一种或多种药学上可接受的载体、佐剂、赋形剂、稀释剂、填充剂、缓冲剂、稳定剂、防腐剂、润滑剂,或者本领域技术人员熟知的其它材料,和任选其它治疗或预防剂 ;如减少或缓解与化疗有关的一些不良反应的药物。此类药物的具体实例包括止吐药,以及预防或缩短化疗伴随的中性粒细胞减少症持续时间和预防由红细胞或白细胞水平下降引起的并发症的药物,如促红细胞生成素 (EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 和粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 。

[0715] 因此,本发明还提供如上限定的药用组合物和制备药用组合物的方法,该方法包括使如上限定的至少一种活性化合物与本文限定的一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂、缓冲剂、佐剂、稳定剂或其它材料混合一起。

[0716] 术语“药学上可接受的”用于本文指在合理医学判断范围内,适用于接触患者 (如人) 组织的化合物、材料、组合物和 / 或剂型,不产生过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,具有合理的效益 / 危险比。在与制剂其它成分相容性方面,各种载体、赋形剂等也必须“可接受的”。

[0717] 因此,又一方面,本发明提供本文限定的本发明化合物,特别是采用药用组合物形式的本文限定的式 (10) 和 (1) 化合物及其结晶和盐形式。

[0718] 药用组合物可采用适合口服、胃肠外、体表、鼻内、眼部、耳部、直肠、阴道内或经皮

给药的任何形式。当意欲胃肠外给予组合物时,可将其配制用于静脉内、肌内、腹膜内、皮下给药或者通过注射、输注或其它递药工具直接递送入靶器官或组织内。可通过快速注射、短期输注或较长期的输注递药,可通过被动式递药或通过用合适的输注泵递药。

[0719] 适合胃肠外给药的药用制剂包括水性和非水性无菌注射溶液,可包含抗氧化剂、缓冲剂、制菌剂、共溶剂、有机溶剂混合物、环糊精络合剂、乳化剂(用于形成和稳定乳液制剂)、形成脂质体的脂质体组分、形成聚合物凝胶的胶化聚合物、冻干保护剂,和特别用于稳定可溶解形式中的活性成分和使制剂与预期接受者血液等渗的物质组合。用于胃肠外给药的药用制剂也可采用水性和非水性无菌混悬液形式,其可包括悬浮剂和增稠剂(R. G. Strickly, Solubilizing Excipients in oral and injectable formulations (口服和注射制剂的增溶赋形剂), Pharmaceutical Research, Vol 21 (2) 2004, 201-230 页)。

[0720] 如果药物的 pKa 与制剂 pH 值相差足够大,可通过调节 pH 使可电离的药物分子增溶至所需浓度。静脉内和肌内给药的可接受范围是 pH 2-12,但皮下给药的范围是 pH 2.7-9.0。通过药物的盐形式、强酸/碱如盐酸或氢氧化钠,或者通过缓冲剂溶液控制溶液 pH,所述缓冲剂包括但不限于甘氨酸、柠檬酸盐、乙酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、组氨酸、磷酸盐、三(羟基甲基)-氨基甲烷 (TRIS) 或碳酸盐形成的缓冲溶液。

[0721] 水溶液和水溶性有机溶剂/表面活性剂(即共溶剂)的组合通常用于注射制剂。用于注射制剂的水溶性有机溶剂和表面活性剂包括但不限于丙二醇、乙醇、聚乙二醇 300、聚乙二醇 400、甘油、二甲基乙酰胺 (DMA)、N-甲基-2-吡咯烷酮 (NMP; Pharmasolve)、二甲基亚砷 (DMSO)、Solutol HS 15、Cremophor EL、Cremophor RH 60 和聚山梨醇酯 80。通常(但不总是)可以在注射之前稀释此类制剂。

[0722] 丙二醇、PEG 300、乙醇、Cremophor EL、Cremophor RH 60 和聚山梨醇酯 80 是用于市售获得的注射剂中的完全有机水混溶性溶剂和表面活性剂,相互之间可联合使用。在 IV 快速注射或 IV 输注之前通常将所得有机制剂稀释至少 2 倍。

[0723] 或者可通过与环糊精进行分子络合增加水溶性。

[0724] 脂质体是闭合式球形囊泡,由外层脂质双层膜和内层水性核组成,总直径 $< 100 \mu\text{m}$ 。如果药物被包裹或插入脂质体内,则可根据疏水性水平,溶解适当疏水的药物。如果药物分子是脂质双层膜的整体部分,则也可用脂质体溶解疏水药物,在这种情况下,使疏水药物溶于脂质双层的脂质部分中。典型的脂质体制剂含有水、5-20mg/ml 磷脂、等渗剂、pH 5-8 缓冲剂和任选胆固醇。

[0725] 可将制剂装在单剂量或多剂量容器如密封安瓿和瓶中,可贮存于冷冻干燥(冻干)条件下,只需要在使用前即时加入无菌液态载体如水用于注射。

[0726] 可通过冻干本发明化合物或其加成盐制备药用制剂。冻干指冷冻干燥组合物的程序。因此冷冻干燥和冻干在本文作为同义词使用。典型操作是溶解化合物,使所得制剂变清、无菌过滤和无菌转移至适合冻干的容器(如瓶)内。在瓶的情况下,用冻干塞(lyo-stoppers)局部塞住。可将制剂冷却冰冻,在标准条件下进行冷冻干燥,然后密封加盖形成稳定、干燥的低压冷冻制剂。基于低压冷冻制剂的重量计,组合物将通常具有低残留含水量,如少于 5% 如少于 1% 重量。

[0727] 冷冻干燥制剂可包含其它赋形剂,例如增稠剂、分散剂、缓冲剂、抗氧化剂、防腐剂和渗透性调节剂。典型缓冲剂包括磷酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐和甘氨酸。抗氧化剂实例包括

抗坏血酸、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸氢钠、单硫代甘油、硫脲、丁羟甲苯、丁羟茴醚和乙二胺四乙酸盐。防腐剂可包括苯甲酸及其盐、山梨酸及其盐、对羟基苯甲酸的烷基酯、苯酚、氯丁醇、苯甲醇、硫柳汞、苯扎氯铵和西吡氯铵。必要时前述缓冲剂以及右旋糖和氯化钠可用于调节渗透性。

[0728] 增量剂通常在冻干法中用于促进过程和 / 或为冻干饼提供块体和 / 或机械整体性。增量剂指易溶于水的固体微粒稀释剂, 当与化合物或其盐共冻干时, 提供物理上稳定的冻干饼、更佳的冷冻干燥过程和快速且完整的重构。增量剂也可用于使溶液等渗。

[0729] 水溶性增量剂(bulking agent) 可以是通常用于冻干的任何药学上可接受的惰性固体材料。此类增量剂包括例如糖, 如葡萄糖、麦芽糖、蔗糖和乳糖; 多元醇如山梨醇或甘露醇; 氨基酸, 如甘氨酸; 聚合物如聚乙烯吡咯烷; 和多糖如葡聚糖。

[0730] 增量剂重量与活性化合物重量的比率通常在约 1- 约 5 如约 1- 约 3 范围, 如约 1-2 范围。

[0731] 或者可将其提供为可浓缩和密封在合适瓶内的溶液形式。可在配制过程的合适阶段过滤或者通过高压灭菌瓶及其内容物以将剂型灭菌。在递药之前, 供应的制剂可能需要进一步稀释或制备, 例如稀释入合适的无菌输注包装。

[0732] 可用无菌粉剂、粒剂和片剂制备临时注射溶液和混悬液。

[0733] 在本发明的一个优选实施方案中, 药用组合物采用适合 i. v. 给药如注射或输注给药的形式。

[0734] 在另一个优选实施方案中, 药用组合物采用适合皮下(s. c.) 给药的形式。

[0735] 适合口服给药的药用剂型包括片剂、胶囊剂、扁囊剂、丸剂、锭剂、糖浆剂、溶液、散剂、粒剂、酏剂和混悬液、舌下含片、补强片(wafers) 或贴剂和口腔贴剂。

[0736] 包含式(I) 化合物的药用组合物可用已知方法配制, 参阅如 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, USA。

[0737] 因此, 片剂组合物可包含单位剂量的活性化合物, 与其一起的是惰性稀释剂或载体如糖或糖醇, 如乳糖、蔗糖、山梨醇或甘露醇; 和 / 或非糖衍生的稀释剂如碳酸钠、磷酸钙、碳酸钙或者纤维素或其衍生物, 如甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素, 和淀粉如玉米淀粉。片剂还可包含标准成分如粘合剂和粒化剂(如聚乙烯吡咯烷酮)、崩解剂(如膨胀式交联聚合物如交联羧甲基纤维素)、润滑剂(如硬脂酸盐)、防腐剂(如对羟基苯甲酸酯)、抗氧化剂(如 BHT)、缓冲剂(如磷酸盐和柠檬酸盐缓冲剂) 和发泡剂如柠檬酸盐 / 碳酸氢盐混合物。此类赋形剂众所周知, 不需要在这里详细讨论。

[0738] 胶囊制剂可以是硬明胶或软明胶种类, 可包含固体、半固体或液体形式活性组分。胶囊可用动物明胶或其合成或植物来源的等同物形成。

[0739] 固体剂型(如片剂、胶囊剂等) 可有包衣或无包衣, 但通常具有包衣如保护性薄膜包衣(如涂蜡或涂漆) 或释放控制包衣。可设计包衣(如 Eudragit™ 型聚合物) 以便在所需胃肠道位置释放活性组分。因此, 可选择包衣以便在胃肠道内特定 pH 条件下降解, 从而将化合物选择性释放在胃或回肠或十二指肠中。或者或除此以外, 可用包衣作为味道掩盖剂以掩盖令人不快的味道如苦味药物。包衣可包含糖或其它帮助掩盖令人不快的味道的物质。

[0740] 取代包衣或除包衣以外, 可将药物提供在含有释放控制剂的固体骨架中, 所述释

放控制剂如适合在胃肠道内不同酸性或碱性条件下选择性释放化合物的释放延迟剂。或者,骨架材料或释放延缓包衣可采用侵蚀性聚合物(如马来酸酐聚合物)形式,当剂型通过胃肠道时基本连续性侵蚀。又或者,可将活性化合物配制在渗透性控制释放化合物的递药系统中。可用本领域技术人员熟知的方法制备渗透性释放及其它延迟释放或持续释放制剂。

[0741] 提供给患者的药用制剂可采用“患者包装”形式,该包装将完整疗程的制剂装在单一包装内,通常是泡罩式包装。患者包装具有优于传统处方(其中药剂师将散装供应的药物分成患者供应量)的优点,以便患者总能得到装在患者包装内的包装说明,这在患者处方中通常是没有的。已显示加入包装说明可改善患者对医嘱的依从性。

[0742] 体表使用的组合物包括软膏剂、霜剂、喷雾剂、贴剂、凝胶剂、液体滴剂和插入剂(如眼插入剂)。可用已知方法配制此类组合物。

[0743] 胃肠外给药的组合物通常为无菌水性或油性溶液或细微混悬液,或者可提供为精细的无菌粉剂形式,供无菌注射用水临时配制。

[0744] 直肠或阴道内给药的制剂实例包括阴道栓剂和栓剂,可用例如含有活性化合物的成形的可模塑或蜡状材料形成。因此,通过使活性成分与一种或多种常规固体载体如可可豆油混合,使所得混合物成形,可制备单剂量栓剂或阴道栓剂。可模塑蜡状材料的其它实例包括聚合物如高分子量聚亚烷基二醇,如高分子量聚乙二醇。

[0745] 或者,在阴道给药的情况下,制剂可采用棉塞形式,该棉塞浸透活性成分和任选一种或多种赋形剂或稀释剂。适合直肠和阴道给药的其它制剂包括霜剂、凝胶剂、泡沫剂、糊剂和喷雾剂。

[0746] 体表组合物的其它实例包括敷料,如浸透活性成分和任选一种或多种赋形剂或稀释剂的绷带和胶布。可使用的载体包括例如多元醇如聚乙二醇、丙二醇或甘油。合适的赋形剂是本领域已知合适的那些赋形剂。

[0747] 吸入给药的组合物可采用吸入式粉剂组合物或液体或粉剂喷雾剂形式,可用干粉吸入装置或气雾剂配药装置以标准形式给药。众所周知此类装置。吸入给药时,粉末化制剂通常含有活性化合物和惰性固体粉末化稀释剂如乳糖。

[0748] 本发明化合物将通常采用单位剂型,这样,将通常含有足量化合物以提供所需生物活性水平。例如,制剂可包含 1 纳克 -2 克活性成分,如 1 纳克 -2 毫克活性成分。在该范围内,化合物的具体亚范围是 0.1 毫克 -2 克活性成分(更通常为 10 毫克 -1 克,如 50 毫克 -500 毫克),或者 1 微克 -20 毫克(如 1 微克 -10 毫克,如 0.1 毫克 -2 毫克活性成分)。

[0749] 对于口服组合物,单位剂型可包含 1 毫克 -2 克,更通常为 10 毫克 -1 克,如 50 毫克 -1 克,如 100 毫克 -1 克活性化合物。

[0750] 将获得所需治疗效果的足量活性化合物给予有需要的患者(如人或动物患者)。

[0751] 治疗方法

[0752] 本发明化合物将用于预防或治疗由 Hsp90 客户蛋白介导的多种疾病或病症。上文列出此类疾病和病症的实例。

[0753] 通常将化合物给予需要此类给药的患者,如人或动物患者,优选人。

[0754] 通常给予有助于治疗或预防且通常无毒性的量的化合物。但是,在某些情况下(如在疾病威胁生命的情况下),给予式(I)化合物的益处可超过任何毒性反应或不良反应

的缺点,在这种情况下可考虑需要给予伴随一定程度毒性的量的化合物。

[0755] 可给予化合物一段延长的时间以维持有益的治疗效果,或者只短期给药。或者可采用脉冲式或连续方式给药。

[0756] 本发明化合物的典型日剂量可为每公斤体重 100 皮克-100 毫克范围,更通常为每公斤体重 5 纳克-25 毫克,更通常为每公斤体重 10 纳克-15 毫克(如 10 纳克-10 毫克,更通常为每公斤 1 微克-每公斤 20 毫克,如每公斤 1 微克-10 毫克),但必要时可给予更高或更低剂量。可以每天或者例如每 2 或 3 或 4 或 5 或 6 或 7 或 10 或 14 或 21 或 28 天重复给予化合物。

[0757] 在一种具体给药方案中,将每天为患者输注化合物 1 小时达 10 天,特别是 1 周至多 5 天,以所需间隔如 2-4 周、特别是每 3 周重复治疗。

[0758] 更具体来讲,可以每天为患者输注化合物 1 小时达 5 天,每 3 周重复治疗。

[0759] 在另一种具体给药方案中,为患者输注 30 分钟-1 小时,然后维持输注不同的持续时间,如 1-5 小时,如 3 小时。

[0760] 在又一种具体给药方案中,为患者连续输注 12 小时-5 天,特别是连续输注 24 小时-72 小时。

[0761] 但是,化合物的给药量和所用组合物类型将最终与正治疗的疾病或生理状态的性质相匹配,由医生决定。

[0762] 本文限定的化合物可作为单种治疗剂给药,或者在联合疗法中可与一种或多种其它化合物联合给药用于治疗具体疾病,如肿瘤性疾病,如上文限定的癌症。

[0763] 可与本发明化合物一起(无论是同时或以不同时间间隔)给药的其它治疗剂或治疗实例包括但不限于:

- [0764] • 拓扑异构酶 I 抑制剂
- [0765] • 抗代谢物
- [0766] • 微管蛋白靶向药物
- [0767] • DNA 结合剂和拓扑异构酶 II 抑制剂
- [0768] • 烷化剂
- [0769] • 单克隆抗体
- [0770] • 抗激素
- [0771] • 信号转导抑制剂
- [0772] • 蛋白酶体抑制剂
- [0773] • DNA 甲基转移酶
- [0774] • 细胞因子和类视色素
- [0775] • 染色质靶向疗法,如 HDAC 或 HAT 调节剂
- [0776] • 放疗;和

[0777] • 其它治疗或预防剂,如减轻或缓解一些与化疗有关的不良反应的药物。此类药物的具体实例包括止吐药,以及预防或缩短化疗相关性中性粒细胞减少症的持续时间和预防由红细胞或白细胞水平下降引起的并发症的药物,如促红细胞生成素(EPO)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和粒细胞集落刺激因子(G-CSF)。还包括抑制骨再吸收的药物,如二膦酸盐药物如唑来膦酸盐、帕米膦酸盐和伊班膦酸盐,抑制炎症反应的药物(如地

塞米松、泼尼松和泼尼松龙),和用于降低肢端肥大症患者血中生长激素和 IGF-I 水平的药物,如合成形式的脑激素生长抑素,包括乙酸奥曲肽,这是一种具有模拟天然激素生长抑素的药理学性质的长效八肽。还包括药物如亚叶酸,用作本身降低叶酸或亚叶酸水平的药物的解毒药,和药物如乙酸甲地孕酮,可用于治疗包括浮肿和血栓栓子事件在内的不良反应。

[0778] 在 Hsp90 抑制剂与其它疗法组合的情况下,可按照各自不同的剂量方案和通过不同途径给予两种或多种治疗。

[0779] 当在与 1、2、3、4 或多种其它治疗剂(优选 1 或 2 种,更优选 1 种)的联合疗法中给予化合物时,可同时或按顺序给予化合物。当按顺序给药时,可在接近的时间间隔(如用 5-10 分钟时间)或更长的间隔(如隔开 1、2、3、4 或多小时,或者必要时甚至隔开更长时间)给药,精确的剂量方案与治疗剂的性质相配。

[0780] 本发明化合物还可与非化疗治疗联合给药,如放疗、光动力疗法、基因疗法、手术和控制饮食。

[0781] 用于与另一种化疗剂的联合疗法时,可将化合物与 1、2、3、4 或多种其它治疗剂例如一起配制在含有 2、3、4 或多种治疗剂的剂型中。或者,可单独配制个别治疗剂,一起提供为药剂盒形式,任选附送其使用说明书。

[0782] 本领域技术人员将通过其常用的一般知识清楚将使用的给药方案和组合疗法。

[0783] 诊断方法

[0784] 在给予化合物之前,可筛选患者以确定患者所患或可能患的疾病或病症是否将对用具有抗 Hsp90 活性的化合物的治疗敏感。

[0785] 例如,可分析取自患者的生物样品以确定患者所患或可能患的疾病或病症如癌症是否具有遗传异常或异常蛋白表达(导致 Hsp90 客户蛋白的突变或过度表达)的特征。导致 Hsp90 客户蛋白活化的此类异常的实例包括:Bcr-ABL 易位、Flt-3 内部复制和 Braf 突变或 ErbB2 过度表达。

[0786] 因此,患者可接受诊断测试以检测上调的标记物特征。术语诊断包括筛选。标记物包括遗传标记物,包括例如测量 DNA 组成以确定 Braf、BCR-abl 和 Flt3 或其它受影响的客户蛋白的突变。术语标记物还包括蛋白如 ErbB2,包括蛋白或一些片段或降解产物的水平或浓度,对于酶,还包括酶学活性。还可评估上述蛋白的蛋白(如磷酸化或未磷酸化)和 mRNA 水平以鉴定活性的改变。例如,磷酸化 AKT 水平可以提示对 HSP90 抑制剂的敏感度。

[0787] 诊断测试通常在生物样品上进行,所述样品选自例如肿瘤活检样品、血液样品(分离和富集脱落肿瘤细胞)、大便活检、痰液、染色体分析、胸水、腹水、口腔矛状体(buccal spears)或活检或尿液样品。

[0788] 筛选过程将通常包括直接测序、寡核苷酸或蛋白微阵列分析、用质谱法进行的蛋白组学分析、免疫组化法或用特异性抗体检测。

[0789] 本领域技术人员熟知鉴定和分析蛋白质突变和上调的方法。筛选方法可包括但不限于标准方法,如逆转录酶聚合酶链反应(RT-PCR)、原位杂交或免疫印迹法。

[0790] 用 RT-PCR 筛选时,通过产生 mRNA 的 cDNA 复制体然后用 PCR 扩增 cDNA 评估肿瘤中的 mRNA 水平。本领域技术人员已知 PCR 扩增的方法、引物的选择和扩增条件。核酸处理和 PCR 用标准方法进行,如描述于 Ausubel, F. M. 等编辑,Current Protocols in Molecular Biology, 2004, John Wiley&Sons Inc.,或者 Innis, M. A. 等编辑,PCR Protocols: a guide

to methods and applications,1990,Academic Press,San Diego.包括核酸技术在内的反应和处理还描述于 Sambrook 等,2001,第3版,Molecular Cloning :A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press。或者可使用市售获得的 RT-PCR 试剂盒(如 Roche Molecular Biochemicals),或者如列举于通过引用结合到本文中的美国专利 4,666,828、4,683,202、4,801,531、5,192,659、5,272,057、5,882,864 和 6,218,529 的方法。

[0791] 评估 mRNA 表达的原位杂交技术实例将是荧光原位杂交 (FISH) (参阅 Angerer, 1987 Meth. Enzymol., 152 :649)。

[0792] 通常,原位杂交包括下列主要步骤:(1) 固定待分析的组织;(2) 预杂交处理样品以增加靶核酸的可达性 (accessibility) 和减少非特异性结合;(3) 使核酸混合物与生物结构或组织中的核酸杂交;(4) 杂交后洗涤以除去在杂交时未结合的核酸片段,和 (5) 检测杂交的核酸片段。用于此类用途的探针通常用例如放射性同位素或荧光指示剂标记。优选探针足够长,例如约 50、100 或 200 个核苷酸至约 1000 或更多个核苷酸,以便在严格条件下与靶核酸能够特异性杂交。市售获得的 FISH 探针也可用于染色体重排的细胞遗传学检测,可用于检测白血病细胞群内 Flt3 和 Bcr-Abl 易位。实施 FISH 的标准方法描述于 Ausubel, F.M. 等编辑,Current Protocols in Molecular Biology,2004,John Wiley&Sons Inc 和 Fluorescence In Situ Hybridization:Technical Overview by John M.S.Bartlett in Molecular Diagnosis of Cancer,Methods and Protocols,第2版;ISBN:1-59259-760-2; March 2004,077-088 页;Series:Methods in Molecular Medicine。

[0793] 已描述基因表达描绘 (profiling) 的方法 (DePrimo 等,BMC Cancer 2003,3 : 3)。简言之,实验方案如下:用 (dT) 24 低聚物用总 RNA 合成双链 cDNA 以引发第一链 cDNA 合成,然后用无规六聚体引物进行第二链 cDNA 合成。双链 cDNA 作为模板用于 cRNA 体外转录,使用生物素化核糖核苷酸。按照 Affymetrix 描述的方案 (Santa Clara, CA, USA) 使 cRNA 化学破碎,然后在人基因组阵列上杂交过夜。

[0794] 或者,可通过肿瘤样品的免疫组化、用微量滴定板进行固相免疫测定、Western 印迹法、2- 二维 SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳、ELISA、流式细胞法和本领域已知用于检测特异性蛋白的其它方法测定 mRNA 表达的蛋白产物。检测方法将包括使用位点特异性抗体。技术人员将清楚所有这些熟知的检测“Philadelphia 染色体”的技术,提示 BCR-ABL 易位。

[0795] 因此,所有这些技术还可用于鉴定肿瘤,特别适合用本发明的化合物治疗。

实施例

[0796] 现在将通过(但不限于)描述于下列实施例的具体实施方案解释本发明。

[0797] 在实施例中,可使用下列缩写。

[0798] AcOH 乙酸

[0799] BOC 叔丁氧基羰基

[0800] Bn 苄基

[0801] CDI 1,1- 羰二咪唑

[0802] DMAW90 溶剂混合物 :DCM :MeOH, AcOH, H₂O (90 : 18 : 3 : 2)

[0803] DMAW120 溶剂混合物 :DCM :MeOH, AcOH, H₂O (120 : 18 : 3 : 2)

[0804] DMAW240 溶剂混合物 :DCM :MeOH, AcOH, H₂O (240 : 20 : 3 : 2)

[0805]	DCM	二氯甲烷
[0806]	DMF	二甲基甲酰胺
[0807]	DMSO	二甲基亚砷
[0808]	EDC	1-乙基-3-(3'-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺
[0809]	Et ₃ N	三乙胺
[0810]	EtOAc	乙酸乙酯
[0811]	Et ₂ O	乙醚
[0812]	h	小时
[0813]	HOAt	1-羟基氮杂苯并三唑
[0814]	HOBt	1-羟基苯并三唑
[0815]	MeCN	乙腈
[0816]	MeOH	甲醇
[0817]	min.	分钟
[0818]	Ms	甲磺酰基
[0819]	MsO	甲磺酸酯
[0820]	P. E.	石油醚
[0821]	PG	保护基团
[0822]	r. t.	室温
[0823]	SiO ₂	二氧化硅
[0824]	TBTU	N, N, N', N' - 四甲基 -O-(苯并三唑 -1- 基) 脲四氟硼酸盐
[0825]	THF	四氢呋喃

[0826] 除非另外说明,否则在 27℃将质子磁共振 (¹H NMR) 谱记录在 Bruker AV400 仪器上,该仪器以 400.13MHz 在 DMSO-d₆ 或 MeOH-d₄ (按提示) 中运行,报告如下:化学位移 δ / ppm (质子数,多样性其中 s = 单峰, d = 双峰, t = 三峰, q = 四峰, m = 多峰, br = 宽峰)。用残留的质子溶剂作为内标物。

[0827] 在实施例中,用下文列出的系统和操作条件通过液相层析和质谱法表征制备的化合物。当存在具有不同同位素的原子且只提及单种质量时,提及的化合物质量是单同位素质量 (即 ³⁵Cl ; ⁷⁹Br 等)。如下描述,使用不同的系统,将这些系统配有近似的操作条件,设置在近似的操作条件下运行。下文还描述使用的操作条件。

[0828] 系统描述:

[0829] 系统 1 (分析系统):

[0830] HPLC 系统:Waters 2795

[0831] 质谱检测器:Micromass Platform LC

[0832] PDA 检测器:Waters 2996PDA

[0833] 系统 2 (制备和分析系统):

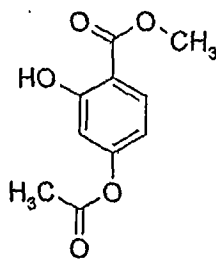
[0834] HPLC 系统:Waters Fraction lynx 系统

[0835] 质谱检测器:Waters ZQ

[0836] PDA 检测器:Waters 2996PDA

[0837] 系统 3 (制备和分析系统):

- [0838] HPLC 系统 :Agilent 1100 系统
- [0839] 质谱检测器 :LC/MSD
- [0840] UV 检测器 :Agilent MWD
- [0841] 操作条件:
- [0842] 酸性分析条件 :
- [0843] 洗脱剂 A :H₂O (0.1% 甲酸)
- [0844] 洗脱剂 B :CH₃CN (0.1% 甲酸)
- [0845] 梯度 :用 3.5 分钟,5-95%洗脱剂 B(用 15 分钟 w/ 柱 2)
- [0846] 流速 :0.8ml/min
- [0847] 柱 1 :Phenomenex Synergi 4 μ MAX-RP 80A, 2.0×50mm
- [0848] 柱 2 :Phenomenex Synergi 4 μ MAX-RP 80A, 2.0×150mm
- [0849] 碱性分析条件:
- [0850] 洗脱剂 A :H₂O (用 NH₄OH 调节 10mM NH₄HCO₃ 缓冲剂至 pH = 9.2)
- [0851] 洗脱剂 B :CH₃CN
- [0852] 梯度 :用 3.5 分钟,5-95%洗脱剂 B
- [0853] 流速 :0.8ml/min
- [0854] 柱 :Phenomenex Gemini 5 μ 2.0×50mm
- [0855] MS 条件 (Waters 系统):
- [0856] 毛细管电压 :3.6kV (3.40kV, ES 负)
- [0857] 锥孔电压 :25V
- [0858] 源温度 :120℃
- [0859] 扫描范围 :125-800amu
- [0860] 电离模式 :电喷雾 (ElectroSpray) 正、负或正 & 负
- [0861] MS 条件 (Agilent 系统):
- [0862] 毛细管电压 :4000V (3500V, ES 负)
- [0863] 碎裂电压 (Fragmentor)/ 增益 (Gain) :150/1
- [0864] 干燥气温 / 流速 :350℃ /13.0Lmin⁻¹
- [0865] 雾化器压 :50psig
- [0866] 扫描范围 :125-800amu
- [0867] 电离模式 :电喷雾 (ElectroSpray) 正或负
- [0868] 除非另外说明,否则各实施例的原料都可市售获得。
- [0869] 实施例 1
- [0870] 步骤 1
- [0871] 4- 乙酰氧基 -2- 羟基 - 苯甲酸甲酯
- [0872]

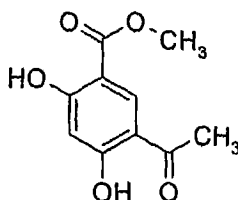


[0873] 将间苯二酚甲酯 (50g, 0.298mol) 和 N, N-二甲基-4-氨基吡啶 (0.27g, 0.0022mol, 0.74mol%) 加入甲苯 0.2L 内, 然后加入乙酸酐 (30mL, 0.318mol)。将溶液加热至 50℃ 2 小时。在 50℃ 蒸发除去溶剂成小体积, 使残留物与甲苯共沸 1 次。向残留油状物内立即加入甲苯 (100mL), 同时仍温热, 该溶液不需进一步纯化即可用于步骤 2。

[0874] 步骤 2

[0875] 5-乙酰基-2,4-二羟基-苯甲酸甲酯

[0876]



[0877] 在 N₂ 下使步骤 1 的甲苯溶液在冰浴中冷却, 用 30 分钟缓慢加入三氟甲磺酸 (26mL)。搅拌后形成精细的白色固体, 在室温下搅拌使其溶解 16 小时以得到黄色溶液。向溶液内加入乙酰氯 (2mL), 将溶液在室温下再搅拌 1 小时。将该溶液导入 EtOAc (600mL) 和溶于水 (400mL) 的 NaOAc·3H₂O (40g) 的搅拌冷却 (0℃) 溶液内。将有机相用水 (2 次, 200mL) 和饱和盐水洗涤, 不干燥的情况下蒸发成小体积。使残留物与庚烷 (2 次, 100mL) 共沸, 加入庚烷 (100mL), 将结晶固体过滤除去, 用庚烷在烧结物上充分洗涤, 干燥得到 49.5g (79%)。

[0878] 合并批料的最终纯化

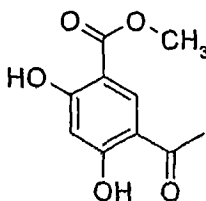
[0879] 将合并的固体批料 (96.3g) 与 10% IPA/庚烷 (250mL) 加热至沸腾, 然后冷却至室温, 最终达到 0℃, 过滤, 将残留物干燥 72 小时 (油泵) 以得到 (88.04g, 91.5%), 纯品 (hplc, tlc 和 NMR)。

[0880] ¹H NMR (DMSO-d₆) 12.58 (1H, s), 11.22 (1H, s), 8.33 (1H, s), 6.45 (1H, s), 3.90 (3H, s), 2.62 (3H, s)。

[0881] 步骤 3

[0882] 5-乙酰基-2,4-二羟基-苯甲酸甲酯 (备选程序)

[0883]



[0884] 使间苯二酚甲酯 (50g, 0.298mol) 和 Amberlyst 15 树脂 (40g) 悬浮于甲苯 150mL (在氮气气氛下) 中, 将溶液在 70℃ 油浴中加热 (内温 56℃)。用 30 分钟以每批 5mL 分

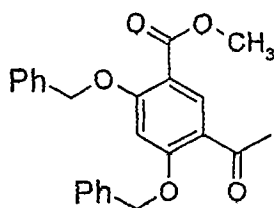
批加入乙酰氯 (22mL, 308mmol), 放出气体 HCl (使氮气流通过 NaOH 水溶液洗涤)。将溶液在 70℃ 搅拌 4.5 小时, 然后在油浴温度加热 3.5 小时 (内温 96℃)。使溶液冷却至 50℃, 加入 EtOAc (100mL), 同时在该温度过滤溶液。将残留的树脂用 EtOAc (50mL) 洗涤, 将合并的滤液浓缩成结晶固体浆料 (固体加溶剂的总重量为 128g)。向浆料内加入庚烷 (100mL), 在室温 10 分钟后过滤除去固体。将残留物用庚烷: 甲苯 (2 : 1, 60mL) 洗涤, 然后用 bp40-60℃ 的石油醚洗涤, 真空干燥得到产物 1, 29g (46.4%) (NMR 显示 3% 的由甲酯皂化形成的材料)。

[0885] 将滤液蒸发至小体积, 加入 20% EtOAc/ 庚烷 (100mL)。在室温下静置 16 小时后得到第二种产物 4.75g (7.6%) (NMR 与产物 1 相同)。

[0886] 步骤 4

[0887] 5-乙酰基-2,4-双-苄氧基-苯甲酸甲酯

[0888]

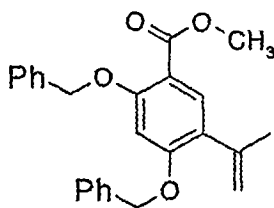


[0889] 将苄基溴 (70mL, 0.59mol) 加入 5-乙酰基-2,4-二羟基苯甲酸甲酯 (60.7g, 0.29mol) 和无水碳酸钾 (87.8g, 0.64mol) 在乙腈 (800mL) 中的搅拌混合物内, 搅拌混合物并保持回流 16 小时。冷却至室温后, 将混合物倒在水 (3L) 上, 剧烈搅拌 2 小时。将固体过滤收集, 用水 (2L) 漂洗, 减压抽吸干燥, 在 60℃ 真空烘箱中干燥过夜至恒定质量, 得到 5-乙酰基-2,4-双苄氧基苯甲酸甲酯 (112.1g, 99%), 为霜状固体。¹HNMR (DMSO-d₆) 8.21 (1H, s), 7.55 (4H, m), 7.43 (4H, m), 7.37 (2H, m), 7.04 (1H, s), 5.38 (4H, s), 3.79 (3H, s), 2.48 (3H, s). MS: [M+H]⁺ 391.

[0890] 步骤 5

[0891] 2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯甲酸甲酯

[0892]



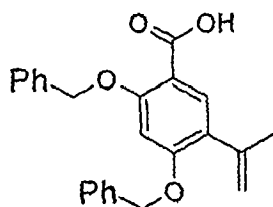
[0893] 将叔丁醇钾 (29.1g, 0.26mol) 加入溴化甲基三苯基磷 (92.8g, 0.26mol) 在无水四氢呋喃 (1L) 中的搅拌混悬液内, 在室温下将混合物搅拌 10 分钟, 向其内加入 5-乙酰基-2,4-双苄氧基苯甲酸甲酯 (78.0g, 0.2mol), 在室温下将混合物再搅拌 30 分钟。加入甲醇 (100mL) 以猝灭过量磷叶立德, 真空除去溶剂, 得到静置后结晶的橙色油状物。使残留物从甲醇 (330mL) 中重结晶。将固体吸滤收集, 用甲醇 (50mL) 洗涤, 减压吸干, 得到 2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯甲酸甲酯, 为浅黄色针状物。母液静置过夜后沉积出第二种材料产物 (合并收率: 56.55g, 73%) ¹HNMR (DMSO-d₆) 7.59 (1H, s), 7.52 (2H, d), 7.64-7.32 (8H, m), 6.97 (1H, s), 5.28 (2H, s), 5.22 (2H, s), 5.09 (1H, s), 5.04 (1H, s), 3.76 (3H, s), 2.02 (3H, s). MS: [M+H]⁺ 389.

[0894] 可如下获得又一种酯产物。将结晶残留物真空蒸发至干,将油性固体用 5% 乙酸乙酯 / 庚烷 (250ml) 处理。将乙酸乙酯分小批加入剧烈搅拌的混合物中,直至残留物沉积出大量固体三苯基氧化膦。过滤除去固体,将滤液真空蒸发至干,得到橙色油状物。用甲醇 (如上描述) 重结晶,进一步得到呈浅黄色结晶固体的 2,4- 双苄氧基 -5- 异丙烯基 - 苯甲酸甲酯 (总收率 85-90%)。

[0895] 步骤 6

[0896] 2,4- 双苄氧基 -5- 异丙烯基 - 苯甲酸

[0897]

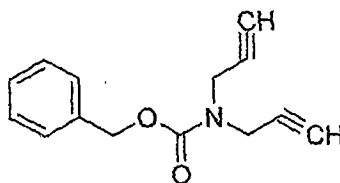


[0898] 将氢氧化钾 (10.96g, 0.19mmol) 加入 2,4- 双苄氧基 -5- 异丙烯基 - 苯甲酸甲酯 (61.0g, 0.16mol) 在甲醇 (750ml) 和水 (250ml) 中的搅拌混悬液内,搅拌混合物并保持回流 16 小时。冷却后真空除去有机溶剂,加入 2M 盐酸 (200ml) 使混合物酸化至 pH 2 或更低。将混合物用水 (2L) 稀释,用乙酸乙酯 (2L) 提取,分离有机层,真空除去溶剂,得到 2,4- 双苄氧基 -5- 异丙烯基 - 苯甲酸 (58.8g, 100%), 为无色固体。¹H NMR(DMSO-d₆) 7.52(2H, d), 7.47-7.29(9H, m), 6.82(1H, s), 5.20(2H, s), 5.17(2H, s), 5.06(1H, s), 5.04(1H, s), 2.03(3H, s). MS: [M+H]⁺ 375.

[0899] 步骤 7

[0900] 二 - 丙 -2- 炔基 - 氨基甲酸苄酯

[0901]



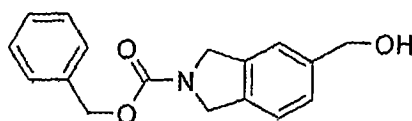
[0902] 用 20 分钟向二炔丙胺 (46.7g, 502mmol) 在 EtOAc (200mL) 和 10% K₂CO₃ 水溶液 (700mL, 507mmol) 中的冷却 (0°C) 溶液内缓慢加入 N-(苄氧羰基氧基) 琥珀酰亚胺 (125g, 502mmol) 在 EtOAc (500mL) 中的溶液。

[0903] 将溶液在 0°C 搅拌 2 小时,然后在室温下搅拌 16 小时。分离各相,将有机相先后用 10% K₂CO₃ 水溶液 (700mL, 507mmol) 和饱和盐水 (500mL) 洗涤,用 EtOAc 稀释至 1000mL,得到 0.5M 溶液。

[0904] 步骤 8

[0905] 5- 羟基甲基 -1,3- 二氢 - 异吲哚 -2- 羧酸苄酯

[0906]



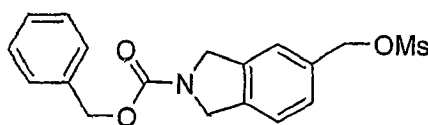
[0907] 使炔丙醇 (26.4mL, 424mmol) 在甲苯 (120mL) 中的溶液脱气。蒸发上文的 0.5M- 二

炔溶液 (440mL, 220mmol), 使残留物溶于甲苯 (80mL)。用 2 小时分 14 等份加入这种被保护的二炔溶液和 Wilkinson's 催化剂 (2.26g, 2.44mmol, 1.11%, 不断地监测内温, 以便温度保持 50-100°C。当蒸发溶液 (以除去过量炔丙醇) 时, 用 30 分钟让溶液冷却至 50°C。将残留物用甲苯 (500mL) 和炭 (Darco 4-12 目, 20g) 在 100°C 加热 30 分钟, 然后用硅藻土 (Celite) 床热过滤, 蒸发褐色溶液。当加入硅胶 (层析级 65g) 时, 在 80°C 使残留物溶于 EtOAc (400mL) 中, 继续加热 20 分钟。将热溶液过滤, 然后蒸发 (引晶) 得到浅褐色固体。加入 10% EtOAc/ 庚烷 (v/v, 100mL), 过滤除去固体。将固体用庚烷 (100mL) 在烧结物上洗涤, 干燥 (50°C, 油泵, 16 小时) 得到标题化合物 59.0g (95%)。¹H NMR (400MHz, Me-d₃-OD) : 7.51-7.16 (m, 8H), 5.21 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 4.70 (s, 2H), 4.61 (s, 2H)。

[0908] 步骤 9

[0909] 5- 甲磺酰基氧基甲基 -1,3- 二氢 - 异吲哚 -2- 羧酸苄酯

[0910]

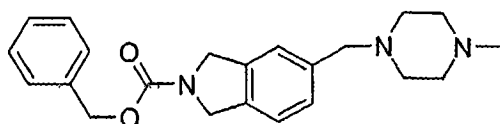


[0911] 向 5- 羟基甲基 -1,3- 二氢 - 异吲哚 -2- 羧酸苄酯 (65.75g, 0.232mol) 在 THF (470mL) 和 EtOAc (770mL) 中的溶液内加入 Et₃N (39mL, 0.28mol)。用冰浴冷却溶液, 加入甲磺酰氯 (19mL, 0.245mol) 溶于 EtOAc (50mL) 中的溶液 (以便内温 < 12°C)。在冰浴中搅拌 2 小时后, 再加入甲磺酰氯 (1.9mL 和 0.95mL) 和 Et₃N (3.9mL) (以便 tlc 显示再搅拌 1 小时后没有剩余原料)。加入 NaHCO₃ (550mL), 将溶液搅拌 20 分钟, 然后加入饱和盐水 (200mL), 分离各相。将有机相干燥 (MgSO₄), 引晶蒸发, 得到不需彻底干燥即可用于下一步的潮湿固体。

[0912] 步骤 10

[0913] 5-(4- 甲基 - 哌嗪 -1- 基甲基) -1,3- 二氢 - 异吲哚 -2- 羧酸苄酯二盐酸盐

[0914]



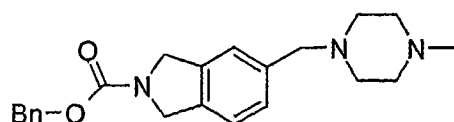
2HCl

[0915] 使步骤 9 的固体 (取 0.232mol) 溶于丙酮 (700mL) 中, 用 45 分钟将该溶液加入 K₂CO₃ (48g) 和 N- 甲基哌嗪 (50mL, 0.45mol) 在丙酮 (330mL) 中的冷却 (内温 15-17°C) 混悬液内。将混悬液在 15°C 搅拌 3 小时 (tlc 显示原料完全消除), 蒸发溶液至小体积, 使残留物分配在 EtOAc (1000mL) 与水 (500mL) 和饱和盐水 (50mL) 的混合物之间。将有机相用水 (500mL) 和饱和盐水 (150mL) 的混合物洗涤, 最后用饱和盐水 (300mL) 洗涤。将溶液干燥 (MgSO₄) 和过滤, 向该溶液内加入 1M-HCl/MeOH (430mL, 0.43mol)。冷却混悬液 (0°C 30 分钟), 将固体过滤除去, 用 EtOAc 洗涤, 然后在烧结物上用庚烷洗涤, 干燥 (油泵, RT 72 小时) 固体, 得到产物 1 的标题化合物 66.34g (65%), 为无色固体。¹H NMR (400MHz, Me-d₃-OD) : 7.64-7.51 (m, 2H), 7.51-7.29 (m, 6H), 5.23 (s, 2H), 4.79 (dd, J = 16.2, 6.1Hz, 4H), 4.49 (s, 2H), 3.66 (s, 8H), 3.03 (s, 3H)。

[0916] 备选步骤 10A

[0917] 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯二盐酸盐

[0918]



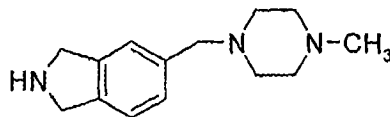
[0919] 步骤 10A 可用作代替上文步骤 9 和 10 的备选途径。

[0920] 向二氧化锰 (15.5g, 178mmol) 在 DCM(100mL) 中的混悬液内加入 5-羟基甲基-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯 (3.35g, 11.8mmol), 在室温下搅拌 6 小时后, 再加入二氧化锰 (5g, 57mmol)。在室温下再搅拌 1 小时后, 加入 Celite (7g), 用 Celite™ 床过滤溶液, 得到澄清的浅黄色溶液。用 DCM 洗涤 Celite™, 通过蒸发将合并的有机溶液的体积调节至 100mL。加入 N-甲基哌嗪 (1.31mL, 11.8mmol) 和乙酸 (0.68mL), 接着加入三乙酰氧基硼氢化钠 (4.98g, 23.5mmol)。将黄色溶液搅拌 16 小时, 得到无色溶液。向溶液内加入 2M-HCl (10mL, 20mmol) 出现泡腾现象。30 分钟后加入水 (10mL) 和 K₂CO₃ (5.5g, 39.8mmol), 干燥 (Na₂SO₄) 有机相。过滤后, 边搅拌边加入 4M-HCl/二氧六环 (6mL), 将混悬液蒸发至干。加温使残留物溶于 MeOH 中, 蒸发后, 将固体在烧结物上先后用 EtOAc 和汽油 (bp 40-60℃) 洗涤, 然后在 50℃ 真空干燥得到标题化合物 3.61g (70%)。1H NMR (400MHz, Me-d₃-OD): 7.65-7.51 (2H, m), 7.51-7.27 (6H, m), 5.23 (2H, s), 4.83-4.69 (4H, m), 4.49 (2H, s), 3.66 (8H, d), 3.03 (3H, s)

[0921] 步骤 11

[0922] 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-2,3-二氢-1H-异吲哚

[0923]



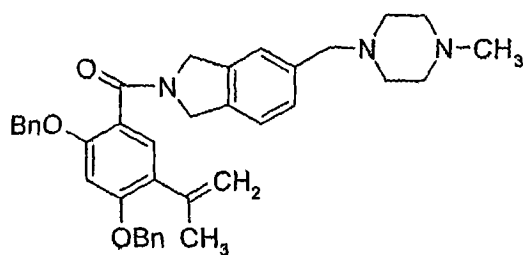
[0924] 向 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯二盐酸盐 (步骤 10, 59.8g, 136.7mmol) 内加入 EtOAc (400mL) 和 10% K₂CO₃ 水溶液 (400mL)。将有机相用饱和盐水 (200mL) 洗涤, 然后干燥 (MgSO₄)。将溶液过滤, 蒸发成油状物 (与石油醚 (bp 40-60℃) 静置后结晶)。真空干燥固体得到无色固体: 48.8g (133.5mmol)。

[0925] 使一部分固体 (24.4g, 66.8mmol) 溶于 MeOH (170mL) 中, 在使溶液脱气和用氮气吹扫后, 加入 10% Pd/C (1.22g), 在 1 个大气压下使混合物氢化 2.5 小时。过滤溶液, 蒸发溶液, 使残留物与甲苯在 30-40℃ 共沸 2 次。使残留物溶于 DMF (92mL) 中, 立即将溶液脱气和用 N₂ 气吹扫 (NB 在此阶段的产物对空气敏感, 接触氧气后变黑。DMF 溶液立即使用, 但脱气和在 N₂ 气气氛下封存后可贮存)

[0926] 步骤 12

[0927] (2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮

[0928]



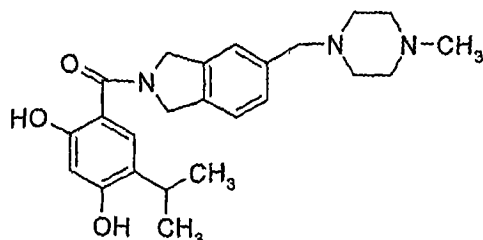
[0929] 使间苯二酚酸（步骤6, 23.7g, 63.4mmol）和1-羟基苯并三唑（10.21g, 66.7mmol）的溶液溶于DMF(92mL)中, 向该溶液加入N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(12.8g, 66.8mmol)。将溶液在室温下搅拌40分钟, 将该溶液加入步骤11的胺(66.8mmol)与DMF(5mL)洗涤液一起的溶液内。使溶液脱气, 将溶液在室温下搅拌16小时。向溶液内加入10% K₂CO₃(500mL)和EtOAc(500mL), 将有机相用10% K₂CO₃(500mL)、水(4×100mL)和饱和盐水(200mL)连续洗涤。将溶液蒸发至小体积, 加入20% EtOAc/庚烷(250mL), 贮存于0℃。将已形成的固体过滤除去, 用庚烷洗涤2次, 真空干燥得到标题化合物35.05g(94.4%)。

[0930] ¹H NMR(400MHz, Me-d₃-OD): 7.49–7.10(m, 14H), 6.86(d, J = 2.5Hz, 1H), 5.17(d, J = 2.5Hz, 4H), 5.09(d, J = 11.3Hz, 2H), 4.88(s, 2H), 4.63(s, 2H), 3.54(d, J = 16.0Hz, 2H), 2.50(s, 7H), 2.28(d, J = 7.6Hz, 3H), 2.11(s, 3H)。

[0931] 步骤13

[0932] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮

[0933]



[0934] 使步骤12的产物(4.7g)溶于1:1MeOH/水(98mL)中, 用N₂吹扫后加入10% Pd/C和K₂CO₃(2.38g, 17.2mmol), 在H₂气氛下使混悬液氢化16小时。过滤溶液, 蒸发溶剂。向残留物内加入2M-HCl水溶液(40mL), 将溶液用1:1EtOAc/汽油(40mL×2)洗涤, 然后加入NaOH将pH调节至pH8.5, 加入EtOAc(50mL)。将溶液加热至60℃, 除去水相。将热有机相用水(30mL)洗涤, 然后蒸发至小体积(约5mL), 让其在室温下引晶静置16小时。向结晶材料内加入1:1EtOAc/汽油(10mL), 将混合物过滤和干燥, 得到游离碱的标题化合物1.76g。

[0935] ¹H NMR(400MHz, Me-d₃-OD): 7.29(s, 3H), 7.19(s, 1H), 6.39(s, 1H), 4.91(s, 4H), 3.56(s, 2H), 3.28–3.15(m, 1H), 2.53(s, 8H), 2.31(s, 3H), 1.23(d, J = 6.9Hz, 7H)。

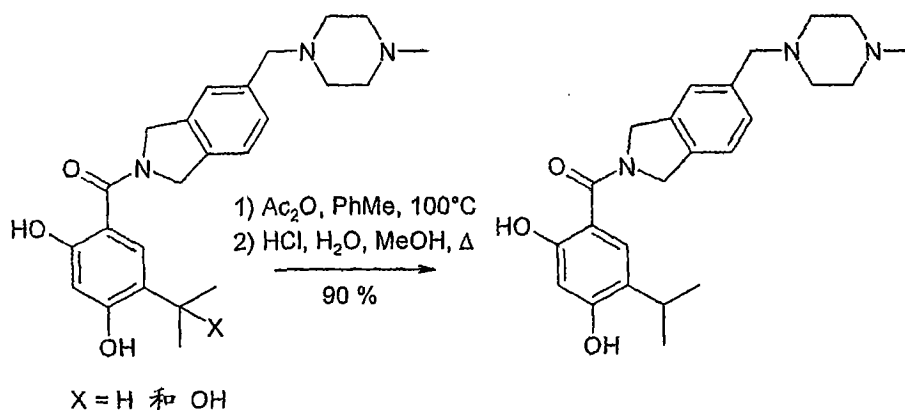
[0936] 任选步骤14

[0937] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮的纯化

[0938] 在一些产物批料中, 标题化合物(式中X = H)可包含小量杂质2,4-二羟

基-5-(2-羟基丙-2-基)-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮(式中X=OH)。可通过以下方法除去杂质。

[0939]



[0940] 将乙酸酐(1.04ml, 11.0mmol)加入不纯的2-(2,4-二羟基-5-异丙基苯甲酰基)-5-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢异吲哚(2.05g, 5.0mmol)在甲苯(20ml)中的搅拌混悬液内,将所得混合物搅拌并在100℃保持16小时。冷却至室温后,真空除去溶剂,得到褐色油状物,使其溶于甲醇(20ml)中。加入浓盐酸(1ml),将混合物搅拌并保持回流5小时。冷却至室温后,真空除去有机溶剂和挥发性材料,将含水残留物用水(25ml)稀释,小心地加入10%碳酸钾水溶液剧烈搅拌碱化至pH 8。加入50%乙酸乙酯/庚烷(50ml),在室温下将混合物剧烈搅拌16小时。将固体材料吸滤收集,用50%乙酸乙酯/庚烷(50ml)漂洗,减压吸干,在50℃真空烘箱干燥过夜,得到2-(2,4-二羟基-5-异丙基苯甲酰基)-5-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢异吲哚(1.85g, 90%),为灰白色固体。

[0941] ^1H NMR(DMSO- d_6) 10.07(1H, br s), 9.60(1H, br s), 7.24(3H, m), 7.06(1H, s), 6.40(1H, s), 4.76(4H, br s), 3.44(2H, s), 3.10(1H, m), 2.32(8H, m), 2.14(3H, s), 1.15(6H, d). MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 410.

[0942] 实施例2

[0943] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸盐(形式 FL1)

[0944] 使实施例1的产物(1.24g, 3.303mmol)悬浮于乙醇(3mL)和 EtOAc(5mL)中,加入 L-乳酸(0.285g, 3.13mmol)溶于乙醇(3mL)中的溶液。加热溶液直至变清,然后过滤。用 EtOAc(5mL)洗涤滤器,将合并的滤液在室温下引晶搅拌2小时。将形成的结晶体过滤收集,用 EtOAc 洗涤,然后在50℃真空干燥,得到标题化合物 1.29g。

[0945] ^1H NMR(400MHz, Me- d_3 -OD): 7.30(s, 3H), 7.18(s, 1H), 6.39(s, 1H), 4.91(s, 4H), 4.08(q, $J = 6.8\text{Hz}$, 1H), 3.70-3.63(m, 2H), 3.28-3.15(m, 1H), 3.01(s, 4H), 2.68(m, 7H), 1.36(d, $J = 6.8\text{Hz}$, 3H), 1.23(d, $J = 6.9\text{Hz}$, 6H).

[0946] 实施例2A

[0947] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸盐

[0948] 实施例2A描述的合成途径包含与描述于实施例1和2的途径基本相同的加工步骤,但其中加工条件更适合更大规模的反应。

[0949] 步骤1

[0950] 4-乙酰氧基-2-羟基-苯甲酸甲酯

[0951] 向间苯二酚甲酯 (16.5Kg, 98.1mol) 和 N, N-二甲基-4-氨基吡啶 (89.1g, 0.73mol, 7.4mol%) 在甲苯 (66L) 中的加热溶液 (50℃) 内缓慢 (用 2 小时) 加入乙酸酐 (9.9L, 104.9mol)。将溶液再加热至 50℃ 另 1.5 小时, 然后在 50℃ 蒸发除去溶剂至小体积, 使残留物与甲苯共沸 1 次。向残留油状物内立即加入甲苯 (33L), 同时仍然加温, 该溶液不需进一步纯化即用于步骤 2。

[0952] 步骤 2

[0953] 5-乙酰基-2,4-二羟基-苯甲酸甲酯

[0954] 在 N₂ 下用冰浴冷却步骤 1 的甲苯溶液, 用 3 小时缓慢加入三氟甲磺酸 (9.44L)。搅拌后形成精细的白色固体, 用 20 小时使其温热至室温溶解, 然后在室温下搅拌 37 小时得到黄色溶液。向溶液内加入乙酰氯 (726mL), 将溶液在室温下再搅拌 1 小时。将该溶液导入 EtOAc (217.8L) 和 NaOAc·3H₂O (14.52Kg) 溶于水 (145L) 中的搅拌冷却 (0℃) 溶液内。将有机相用饱和盐水 (2 次, 72.6L) 洗涤, 蒸发至 5.5Kg。加入甲苯: 异丙醇 (2 : 3), 将结晶固体过滤除去, 干燥得到 12.6Kg (2 步收率为 61%), mp 124-126℃。

[0955] 步骤 3

[0956] 5-乙酰基-2,4-双苄氧基-苯甲酸甲酯

[0957] 向苄基溴 (16.14L, 136mol) 和无水碳酸钾 (20.25Kg, 147.6mol) 在乙腈 (184.5L) 中的搅拌溶液内经 5 小时, 分 6 批加入 5-乙酰基-2,4-二羟基苯甲酸甲酯 (14Kg, 66.6mol, 步骤 2)。将混合物搅拌并保持回流 20 小时, 冷却至室温, 将混合物倒在水 (682L) 上, 剧烈搅拌 2 小时。将固体离心收集, 在 60℃ 真空烘箱中减压干燥过夜至恒定质量, 得到 5-乙酰基-2,4-双-苄氧基苯甲酸甲酯 (23.5Kg, 97.3%), 为霜状固体, mp 114-115℃。

[0958] 步骤 4

[0959] 2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯甲酸甲酯

[0960] 在 15℃ 用 3 小时将叔丁醇钾 (6.72Kg, 60.1mol) 在无水 THF (60L) 中的溶液加入溴化甲基三苯基磷 (21.43Kg, 60.1mol) 和 5-乙酰基-2,4-双苄氧基苯甲酸甲酯 (21.3Kg, 54.6mol, 步骤 3) 在无水四氢呋喃 (213L) 中的搅拌混悬液内。将混合物在 15℃ 搅拌 70 分钟, 用 60 分钟温热至 20℃。加入甲醇 (27.3L) 以猝灭过量磷叶立德, 真空浓缩溶剂, 然后加入 EtOAc 和水。将有机相用活性炭处理, 过滤和蒸发至小体积。使残留物从沸腾的 MeOH 中结晶, 将固体吸滤收集, 用甲醇洗涤, 减压干燥, 得到 2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯甲酸甲酯 18.1Kg (85%), 为浅黄色针状物 mp 92-94℃ (hplc 使纯度为 99.6%)。

[0961] 步骤 5

[0962] 2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯甲酸

[0963] 将氢氧化钾 (0.527Kg, 9.4mol) 加入 2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯甲酸甲酯 (3.1Kg, 8mol, 步骤 4) 在甲醇 (18.6L) 和水 (12.4L) 中的搅拌混悬液内, 将混合物搅拌并保持回流 3 小时。在部分真空下除去容器中的甲醇, 向剩余溶液内加入甲苯 (62L)。将溶液加热至 40℃, 向混合物内加入浓 HCl (1.36L)。将两相混合物加热至 50℃, 分离各相。在 50℃ 用水 (31L) 洗涤有机相, 减压蒸发有机相, 得到 2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯甲酸 2.851Kg (95% 收率), 为无色固体。

[0964] 步骤 6

[0965] 二-丙-2-炔基-氨基甲酸苄酯

[0966] 向 K_2CO_3 (4Kg, 29.0mol) 在水 (17.5L) 和甲苯 (12.5L) 中的冷却 ($5^\circ C$) 溶液内加入二炔丙胺 (2.50Kg, 26.88mol)。加入苄氧基氯甲酸酯 (4.8Kg, 28.14mol), 加入的速率使 $T < 10^\circ C$ 。将溶液在 $5^\circ C$ 搅拌 10 分钟, 让其温热至室温。分离水相, 将有机相用 0.2M HCl (12.5L)、饱和 $NaHCO_3$ (13.5L) 和盐水 (17L) 洗涤, 所得溶液用于步骤 7 (测定含有 6.23Kg, 根据蒸发的部分, 102%)。

[0967] 步骤 7

[0968] 5-羟基甲基-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯

[0969] 使炔丙醇 (2.11Kg, 37.7mol) 在甲苯 (32.48L) 中的溶液脱气, 加热至 $55^\circ C$ 。将二-丙-2-炔基-氨基甲酸苄酯 (4.06Kg, 17.86mol, 步骤 6) 在甲苯和 Wilkinsons 催化剂 (0.162Kg) 中的溶液分 10 等份加入, 以便温度 $< 65^\circ C$ (在下一次添加之前让放热平息)。然后将溶液在 $55^\circ C$ 搅拌 1 小时, 接着冷却至 $20^\circ C$ 。加入 DCM (8.12L), 使混合物浓缩至小体积。加入甲苯 (8L), 将溶液蒸发至恒重, 得到标题化合物 5.72Kg (113%)。

[0970] 步骤 8

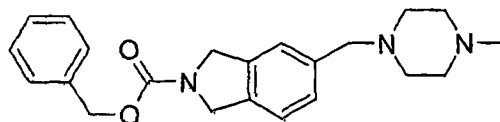
[0971] 5-甲磺酰基氧基甲基-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯

[0972] 向 5-羟基甲基-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯 (11Kg, 38.8mol, 步骤 7) 和 Et_3N (7.04L, 50.6mol) 在 DCM (55L) 中的冷却溶液 ($5^\circ C$) 内加入甲磺酰氯 (2.97L, 38.4mol) 以便内温 $< 10^\circ C$ 。在 $5^\circ C$ 搅拌 0.5 小时后, 溶液用于以下步骤 9。

[0973] 步骤 9

[0974] 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯二盐酸盐

[0975]



2HCl

[0976] 使步骤 8 的固体 (取 0.232mol) 溶于丙酮 (700mL) 中, 用 45 分钟将该溶液加入 K_2CO_3 (48g) 和 N-甲基哌嗪 (50mL, 0.45mol) 在丙酮 (330mL) 中的冷却 (内温 $15-17^\circ C$) 混悬液内。将混悬液在 $15^\circ C$ 搅拌 3 小时 (t1c 显示完全消除原料), 将溶液蒸发至小体积, 使残留物分配在 EtOAc (1000mL) 与水 (500mL) 和饱和盐水 (50mL) 的混合物之间。将有机相用水 (500mL) 和饱和盐水 (150mL) 的混合物洗涤, 最后用饱和盐水 (300mL) 洗涤。将溶液干燥 ($MgSO_4$) 和过滤, 向该溶液内加入 1M-HCl/MeOH (430mL, 0.43mol)。冷却 ($0^\circ C$ 30 分钟) 混悬液, 过滤除去固体, 将其用 EtOAc 洗涤, 然后在烧结物上用庚烷洗涤, 干燥 (油泵, RT 72 小时) 固体得到产物 1 标题化合物 66.34g (65%), 为无色固体。 1H NMR (400MHz, Me- d_3 -OD): 7.64-7.51 (m, 2H), 7.51-7.29 (m, 6H), 5.23 (s, 2H), 4.79 (dd, $J = 16.2, 6.1$ Hz, 4H), 4.49 (s, 2H), 3.66 (s, 8H), 3.03 (s, 3H)。

[0977] 步骤 9

[0978] 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯

[0979] 在 $25^\circ C$ 搅拌 DCM (33L) 和 N-甲基哌嗪 (21.45L, 193.4mol), 用最少 30 分钟加入步骤 8 的溶液以便温度为 $20-30^\circ C$ 。

[0980] 将溶液再搅拌 30 分钟后,加入水 (55L),用水 (2×55L) 洗涤有机相。使产物提取入 0.8M HCl (66L) 内,分离各层。将水相用 DCM (55L) 洗涤,然后用 2M NaOH 碱化至 pH 10-11,使产物提取入 EtOAc (2×55L) 内。将合并的有机相过滤以除去固体,蒸发然后与甲苯共沸,干燥至恒重,得到标题化合物,6.63kg (47% 收率, hplc 检测纯度为 98%)。

[0981] 步骤 10

[0982] 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-2,3-二氢-1H-异吲哚

[0983] 向 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯 (步骤 9, 1.3Kg, 3.55mol) 溶于 EtOH (13L) 中的脱气溶液内加入 10% Pd/C (0.065Kg)。在 30℃ 使氢通过混合物 4 小时或者直至 NMR 显示完成。然后在 N₂ 气氛下将溶液搅拌 1 小时,通过用 GF/F 过滤器过滤然后通过 Cuno 过滤器过滤除去催化剂。将滤液蒸发至小体积,与甲苯 (3.9L) 共沸,干燥至恒重,得到呈红色/黑色油性固体的标题化合物 (0.78Kg),贮存于氮气下备用。

[0984] 步骤 11

[0985] (2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮

[0986] 在 25℃ 将 1,1'-羰二咪唑 (4.82Kg, 29.8mol) 加入 2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯甲酸 (10.58Kg, 28.3mol, 步骤 5) 在 DMF (21.2L) 中的溶液内。在 25℃ 20 分钟后,5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-2,3-二氢-1H-异吲哚 (7.2Kg, 31.1mol, 步骤 10) 在 DMF (7.2L) 中的溶液保持低于 35℃ 的温度,将溶液在 25℃ 搅拌至少 12 小时。将形成的固体过滤除去,用乙酸异丙酯 (2×21.6L) 洗涤,在 35℃ 干燥至恒重,得到标题化合物 8.7Kg (77% 收率, hplc 纯度为 97.5%)。

[0987] 步骤 12

[0988] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮

[0989] 使步骤 11 的产物 (0.9Kg, 1.53mol) 溶于异丙醇 (6.8L) 和水 (1.04L) 中,用 N₂ 吹扫后,加入 10% Pd/C (90g) 和 K₂CO₃ (0.212Kg, 1.53mol),在 3Barr H₂ 压力下使混悬液氢化 60-70 分钟。将溶液用水 (0.5L) 稀释和过滤。向滤液内加入 HCl 水溶液 (30% 盐酸, 0.85Kg 用水 5.42Kg 稀释),在 60℃ 真空浓缩溶液 (除去 10L 异丙醇)。将水 (0.45L) 加入溶液内,继续浓缩 (直至再除去 10L 异丙醇)。将水相用 EtOAc (4.61L) 洗涤,用乙腈 (4.06L) 稀释,加入浓氨水溶液 (0.35Kg) 中和至 pH 7.5-8.5。将混悬液搅拌 2.5 小时,然后过滤除去固体。将残留物用乙腈 (2×0.8L) 洗涤,在 40℃ 干燥至恒重,得到标题化合物 588g (94% 收率)。

[0990] 步骤 13

[0991] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸盐 (形式 FL1)

[0992] 使步骤 12 的产物 (646g, 1.58mol) 溶于乙醇 (5.17L) 中,过滤溶液。将 L-乳酸 (142g, 1.58mol) 溶于乙醇 (2.59L) 中的溶液过滤,加入过滤的溶液 (上文),然后向混合物内加入 EtOAc (7.75L)。将混悬液在室温下搅拌 12 小时,然后再冷却至 5℃ 2 小时。将已形成的固体过滤除去,用 EtOAc (2×2.58L) 和庚烷 (2×1.94L) 洗涤,在 35℃ 干燥至恒重,得到标题化合物 (581g, 74% 收率)。

[0993] 实施例 3

[0994] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮二盐酸盐(形式FH3)

[0995] 加热使实施例1的产物(0.49g,1mmol)溶于乙醇(10mL)和4M HCl/二氧六环(0.5mL,2mmol)中,将溶液蒸发至干。用温热的乙醇:水(9:1;5mL)溶解残留物。边引晶边将溶液搅拌16小时,将已形成的固体过滤除去,真空干燥,得到标题化合物。

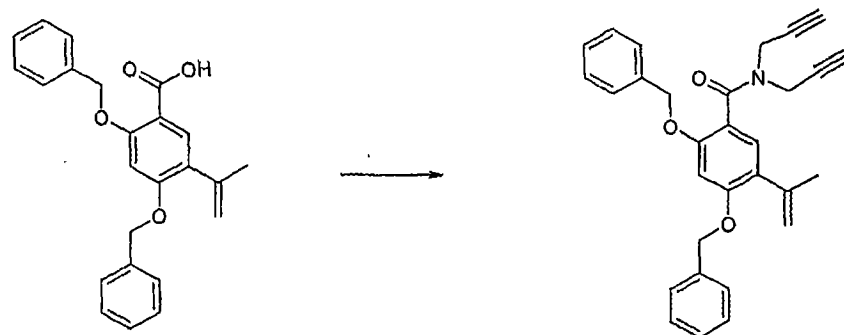
[0996] ^1H NMR(400MHz, Me-d₃-OD): 7.63-7.52(m, 2H), 7.47(s, 1H), 7.17(s, 1H), 6.40(s, 1H), 4.96(d, J = 7.0Hz, 4H), 4.47(s, 2H), 3.87-3.40(m, 8H), 3.30-3.16(m, 1H), 3.02(s, 3H), 1.23(d, J = 6.9Hz, 6H).

[0997] 实施例4

[0998] (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮的合成

[0999] 4A. 2,4-双-苄氧基-5-异丙烯基-N,N-二-丙-2-炔基-苯甲酰胺的合成

[1000]



[1001] 将2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯甲酸(实施例1步骤6)(1当量)在二氯甲烷(10ml)中的搅拌溶液先后用N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(1.2当量)、1-羟基苯并三唑(1.2当量)和二炔丙胺(1.5当量)处理,在室温下将混合物搅拌过夜。将混合物先后用2M盐酸和2M氢氧化钠洗涤,分离有机层,真空除去溶剂,得到产物,所得产物为纯产物,或者用硅胶柱层析纯化(根据需要用乙酸乙酯在石油醚中的混合物或甲醇/乙酸乙酯洗脱)。MS:[M+H]⁺450

[1002] 4B. 1-乙基-4-丙-2-炔基-哌嗪的合成

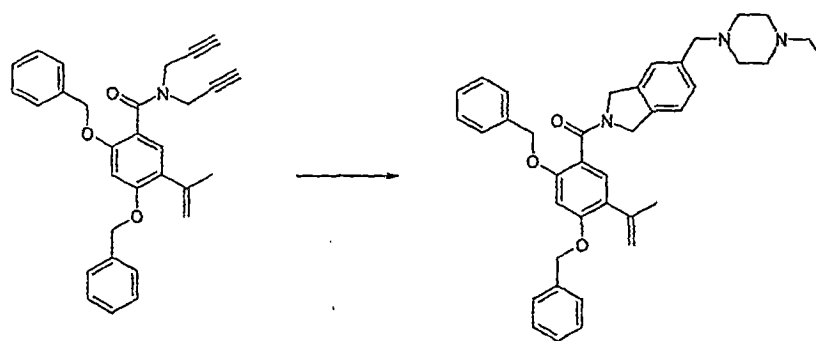
[1003]



[1004] 在N₂和0℃下向丙酮(27ml)中的1-乙基哌嗪(2.33g,20.2mmol)和K₂CO₃(2.79g,20.2mmol)内滴加炔丙溴(2.00g,13.5mmol)。在室温下将反应物搅拌过夜。过滤反应物,将盐用小量丙酮洗涤。将滤液合并,逐渐蒸发浓缩。使残留物吸收在EtOAc中,用水洗涤。用EtOAc再提取水相。将合并的有机层用盐水洗涤,用MgSO₄干燥。将产物过滤和蒸发至干,剩下浅橙色油状物。

[1005] 4C. (2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯基)-[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮的合成

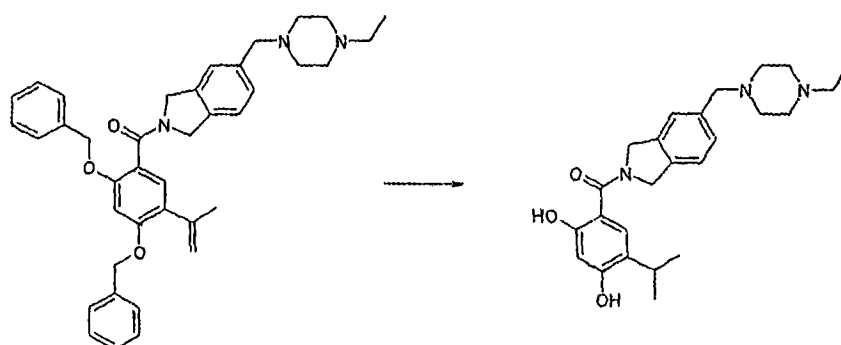
[1006]



[1007] 用实施例 5B 的方法制备标题化合物, 但用柱层析完成纯化, 而不是成盐。MS : $[M+H]^+ 602$.

[1008] 4D. (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮的合成

[1009]



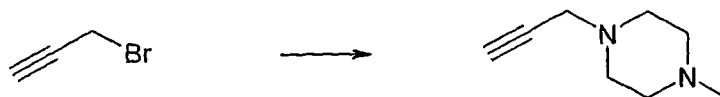
[1010] 用描述于实施例 1 步骤 13 的方法使 (2,4-双苄氧基-5-异丙烯基-苯基)-[5-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮氢化, 但改变后处理和纯化程序。因此, 在氢化后, 过滤催化剂, 蒸发滤液。将水和 EtOAc 加入产物内, 中和水层。然后用 EtOAc ($\times 3$) 提取产物。将合并的有机层用盐水洗涤, 用 $MgSO_4$ 干燥。将所得溶液过滤, 蒸发至干, 剩下浅黄色油状物 / 固体。柱层析 (梯度洗脱 100% DCM 至 10% MeOH/DCM) 纯化产物得到呈浅黄色固体的产物。MS : $[M+H]^+ 424$.

[1011] 实施例 5

[1012] 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-2,3-二氢-1H-异吲哚的备选合成

[1013] 5A. 1-甲基-4-丙-2-炔基-哌嗪的合成

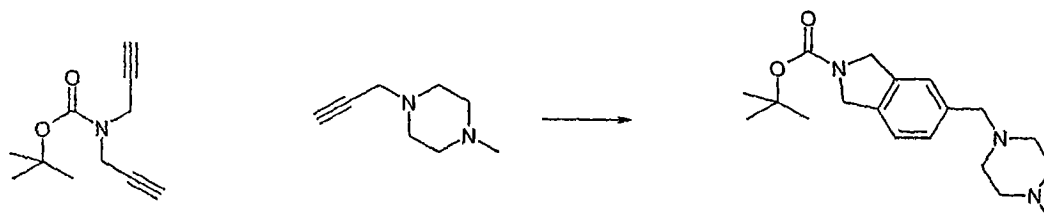
[1014]



[1015] 在 N_2 和 $0^\circ C$ 下向丙酮 (380ml) 中的 1-甲基哌嗪 (37.7ml, 337mmol) 和 K_2CO_3 (46.6g, 337mmol) 内加入丙酮 (70ml) 中的炔丙溴 (25ml, 225mmol, 80%, 在甲苯中)。保持反应物的内温 $< 10^\circ C$ 。在室温下将反应物搅拌 3 小时。过滤反应物, 用小部分丙酮 ($\times 2$) 洗涤盐。将滤液合并蒸发浓缩 (逐渐地)。向残留物内加入水, 用 DCM ($\times 3$) 提取产物。将合并的有机层用盐水洗涤, 用 $MgSO_4$ 干燥。将产物过滤和蒸发至干, 得到呈黄色油状物的 1-甲基-4-丙-2-炔基-哌嗪。

[1016] 5B. 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸叔丁酯的合成

[1017]



[1018] 制备 N-boc-二炔丙胺 (36.3ml, 226mmol, 86% 纯度) 在 EtOAc (30ml) 中的溶液, 在分液漏斗中通过 N_2 鼓泡脱气。在第二个分液漏斗中将三 (三苯基膦) 氯化铑 (I) (1.39g, 1.50mmol, 1mol%) 加入预脱气的 EtOAc (15ml) 内。(NB 也可用 $CpRu(COD)Cl$ 作为备选催化剂)。

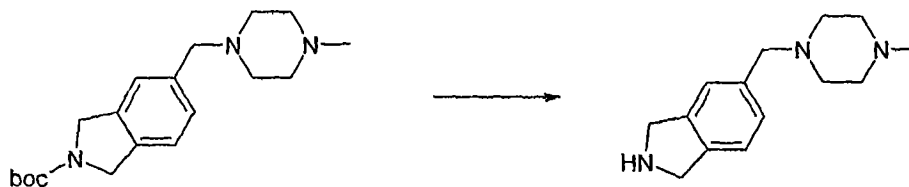
[1019] 在主要的反应烧瓶中, 将 1-炔丙基-4-甲基哌嗪 (32.3ml, 150mmol, 90% 纯度) 用 EtOAc (75ml) 稀释, 使 N_2 鼓泡穿过混合物脱气。用冰水浴冷却混合物, 然后加入三 (三苯基膦) 氯化铑 (I) (1.39g, 1mol%) / EtOAc。缓慢加入 N-boc-二炔丙胺 / EtOAc, 出现轻微放热。内温上升至 $25^\circ C$, 保持在该温度。添加大概完成三分之一后 (~ 45 分钟), 放热渐渐消失 (尽管继续缓慢加入 N-boc-二炔丙胺 / EtOAc)。制备另一部分三 (三苯基膦) 氯化铑 (I) 催化剂 (1.39g, 1mol%) / EtOAc (15ml, 预脱气), 非常缓慢地加入反应物内。几分钟后开始新的放热, 上升至 $30^\circ C$ 。将小量冰加入水浴内逐渐冷却反应物温度。一旦放热开始消退, 则继续缓慢加入 N-boc-二炔丙胺 / EtOAc。用 2 小时实施整个添加过程。然后将反应混合物在室温下静置过夜, 接着用 EtOAc 稀释, 用 NH_4Cl ($\times 2$) (含水, 饱和) 洗涤以除去过量 1-炔丙基-4-甲基哌嗪。用小量的水稀释混合物以溶解盐。将有机层用水、盐水洗涤, 用 $MgSO_4$ 干燥。将产物过滤和蒸发至干得到褐色油状物。

[1020] 向所得油性残留物内加入正庚烷。静置油状物 / 庚烷 (~ 10 分钟) 直至形成红色沉淀物。将沉淀物过滤, 用新鲜正庚烷 ($\times 2$) 洗涤。干燥滤液得到红色油性产物。

[1021] 通过形成甲苯磺酸 (TsOH) 盐进一步纯化所需产物。因此, 使粗产物吸收在 MeOH (20ml) 中, 加入 TsOH $\cdot H_2O$ (1eq, NMR 的估计纯度)。使溶液蒸发至干, 然后溶于甲苯 ($\times 1$) 中并再蒸发。使所得产物吸收在醚中。几分钟后, 形成沉淀物和溶液。将沉淀物过滤, 用更多醚 ($\times 2$) 洗涤直至滤液变为无色。将黄色固体干燥得到产物, 为 TsOH 盐。MS: $[M+H]^+ 332$ 。

[1022] 5C. 5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-2,3-二氢-1H-异吲哚的合成

[1023]



[1024] 在 $0^\circ C$ 使异吲哚啉甲苯磺酸盐吸收在 DCM (0.3M) 中, 缓慢加入 TFA (12eq.)。在室温下将反应物搅拌过夜。将反应物蒸发至干, 然后与甲苯 / MeOH ($\times 3$) 蒸发, 得到作为酸加成盐混合物的产物。MS: $[M+H]^+ 232$ 。

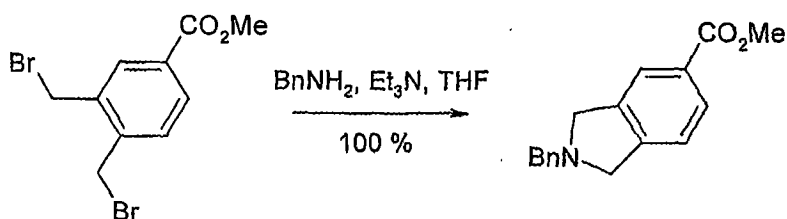
[1025] 实施例 5C 的化合物可用于实施例 1 步骤 12 的方法。

[1026] 实施例 6

[1027] 5-羟基甲基-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯的备选合成

[1028] 6A. 2-苄基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-羧酸甲酯

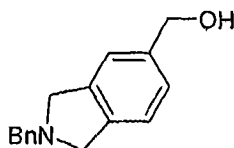
[1029]



[1030] 将无水四氢呋喃 (25ml) 中的苄胺 (3.21g, 30.0mmol) 加入 3,4-双-(溴甲基)苯甲酸甲酯 (9.66g, 30.0mmol) (购自 Fluorochem) 和三乙胺 (9ml, 64.7mmol) 在无水四氢呋喃 (50ml) 中的搅拌混合物内, 在室温下将所得混合物搅拌 3 小时。在 40℃ 真空除去溶剂, 使残留物分配在乙酸乙酯 (100ml) 与水 (100ml) 之间。将有机层用另一部分水 (100ml) 洗涤, 分离, 在 40℃ 真空除去溶剂得到呈浅橙色固体的 2-苄基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-羧酸甲酯, 不需进一步纯化立即使用, 如下讨论。¹H NMR (DMSO-d₆) 7.82 (2H, m), 7.40-7.25 (6H, m), 3.90 (3H, s), 3.88 (2H, s), 3.84 (4H, s). MS: [M+H]⁺ 268.

[1031] 6B. (2-苄基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基)-甲醇

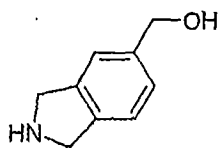
[1032]



[1033] 使 2-苄基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-羧酸甲酯 (来自前一步) 溶于无水四氢呋喃 (75ml) 中, 用 15 分钟滴加至氢化铝锂 (1.71g, 45.0mmol) 在无水四氢呋喃 (75ml) 中快速搅拌的混悬液内。将混合物在室温下搅拌 2 小时, 通过缓慢滴加 1M 硫酸钠溶液 (12ml) 破坏过量氢化铝锂。将固体过滤除去, 用乙酸乙酯 (2×50ml) 漂洗, 吸干。真空除去溶剂, 得到呈黄褐色固体的 (2-苄基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基)-甲醇 (7.15g, 99%)。¹H NMR (DMSO-d₆) 7.40-7.30 (4H, m), 7.28 (1H, m), 7.17-7.10 (3H, m), 5.10 (1H, t), 4.47 (2H, d), 3.85 (2H, s), 3.82 (2H, s), 3.80 (2H, s). MS: [M+H]⁺ 240.

[1034] 6C. (2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基)-甲醇

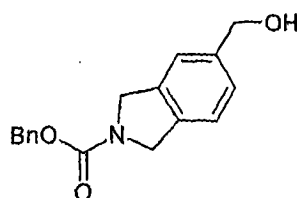
[1035]



[1036] 将 10% 钯 / 活性炭 (200mg) 加入 (2-苄基-2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基)-甲醇 (2.39g, 10.0mmol) 在乙醇 (60ml) 中的溶液内, 将所得混合物置于 Parr 装置中, 加热至 50℃, 在 60psi 氢气气氛下震荡 30 小时。冷却至室温后, 使混合物重力下过滤, 用乙醇 (2×10ml) 漂洗固体, 真空除去溶剂, 得到呈灰白色固体的 (2,3-二氢-1H-异吲哚-5-基)-甲醇 (1.49g, 100%)。¹H NMR (DMSO-d₆) 7.20 (1H, s), 7.18 (1H, d), 7.12 (1H, d), 5.10 (1H, br s), 4.46 (2H, s), 4.05 (4H, s). MS: [M+H]⁺ 150.

[1037] 6D. 5-羟基甲基-1,3-二氢-异吲哚-2-羧酸苄酯

[1038]



[1039] 将 (2,3-二氢-1H-异咪唑-5-基)-甲醇 (1.34g, 9.0mmol) 在无水四氢呋喃 (50ml) 中的混合物逐渐加温以帮助溶解, 让其冷却至室温。加入三乙胺 (1.5ml, 10.8mmol), 将搅拌的混合物用氯甲酸苄酯 (1.35ml, 9.5mmol) 滴加处理, 在室温下搅拌 3 小时。真空除去溶剂, 使残留物分配在乙酸乙酯 (30ml) 与 2M 盐酸 (30ml) 之间。将有机层用水 (30ml) 洗涤, 分离, 真空除去溶剂, 得到静置后固化的粉红色油状物。将固体用 10% 乙酸乙酯/己烷 (10ml) 研磨, 过滤, 用庚烷 (10ml) 漂洗并吸干, 得到呈淡粉红色固体的标题化合物 (2.5g, 98%)。¹H NMR (DMSO-d₆) 7.45–7.21 (8H, m), 5.20 (1H, t), 5.17 (2H, s), 4.71 (2H, br s), 4.64 (2H, brs), 4.50 (2H, d). MS: [M+H]⁺ 284.

[1040] 标题化合物可用于实施例 1 步骤 9。

[1041] 生物活性

[1042] 实施例 7

[1043] 等温滴定量热法

[1044] 用等温滴定量热法测定本发明化合物与人 Hsp90 蛋白结合的能力。

[1045] 用 VP-ITC 滴定量热器 (Microcal Inc., Northampton, MA, USA) 进行等温滴定量热 (ITC) 试验。根据公开的方法 (Jez, J. M. 等, Chem Biol. 2003Apr;10(4):361–8.) 进行人 Hsp90 α N-端域的克隆、表达和纯化。在含有 25mM Tris、100mM NaCl、1mM MgCl₂、1mM TCEP、5% DMSO, pH 7.4 的缓冲液中制备人 Hsp90 α N-端域和化合物的溶液。在实施滴定之前将所有溶液过滤和脱气。通过积分量热信号获得每次注入配体引起的焓改变。用 Origin 7.0 (Microcal Software Inc., Northampton, MA) 分析数据。用各自单独滴定的最终注入量评估稀释热并在数据拟合前减去。使用不同的 ITC 试验模式以获得广泛亲和力范围内的化合物解离常数 (K_d's)。对于结合弱的化合物, 使用低 c-值 ITC 法 (Turnbull W. B. & Daranas A. H. J. Am. Chem. Soc. 2003Dec 3;125(48):14859–66), 其中量热细胞内的蛋白为 10–20 μM, 注射器中化合物浓度为 1–20mM。在这种试验类型中, 将化学计量参数 (N) 锁定为 1 用于数据拟合。对于 20–0.004 μM 范围的 K_d's, 可将试验设计为结合位点浓度除以 K_d (c-值) 在 5 至 1000 之间。对于大部分这些试验, 量热细胞中的蛋白浓度在 4–100 μM 范围, 注射器中的配体浓度在 50–1500 μM 范围。在化合物溶解度有限的罕见情况下, 将化合物溶液置于量热细胞中, 用注射器中的蛋白滴定, 维持 c-值在 5 至 1000 之间。在较弱结合竞争剂的存在下进行滴定, 用竞争性 ITC 试验达到 K_d's < 4nM, 所述方法描述于 Sigurskjold B. W. Anal Biochem. 2000Jan 15;277(2):260–6。

[1046] 化合物 (1) 的 K_d 值小于 0.1 微摩尔 (micromolar)。

[1047] 实施例 8

[1048] 抗增殖活性

[1049] 通过在多种细胞系如人结肠癌细胞系 HCT116 中测量化合物抑制细胞生长的能力, 可确定本发明化合物的抗增殖活性。用 Alamar Blue 测定法 (Nociari, M. M, Shalev, A., Benias, P., Russo, C. Journal of Immunological Methods 1998, 213, 157–167) 测量细胞生

长的抑制。该方法以活力细胞将刃天青还原为其荧光产物试卤灵的能力为基础。每次增殖测定时,将细胞接种于 96 孔板上,让其恢复 16 小时,然后再加入抑制剂化合物 72 小时。培养期结束时,加入 10% (v/v) Alamar Blue,再培养 6 小时,接着以 535nm ex/590nm em 检测荧光产物。在非增殖细胞测定的情况下,使细胞保持融合 96 小时,然后再加入抑制剂化合物 72 小时。用前述 Alamar Blue 测定法检测活力细胞数。细胞系可购自 ECACC (European Collection of cell Cultures)。

[1050] 化合物 (1) 抗 HCT116 细胞系的 IC_{50} 值小于 0.1 微摩尔。

[1051] 用 Oncodesign (Dijon, France) 的针对 100 种细胞系的测定测试 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸盐的抗增殖活性。下表列出抗每种细胞系的 IC_{50} 值,表中数字指纳摩尔浓度。化合物的测试浓度至多为 10,000 纳摩尔 (nanomolar)。

[1052]

N°	细胞系	待测化合物的浓度(纳摩尔)
血液		
1	ARH-77	>10000
2	BV-173	73
3	CCRF-CEM	107
4	CCRF-CEM/VLB	>10000
5	Daudi	136
6	EHEB	> 10000
7	HL-60	389
8	HL-60/R10	847
9	K-562	147
10	K-562/Gleevec	175
11	KCL-22	24
12	KG-1	> 10000
13	LAMA-84	1098
14	MC90	93
15	NAMALWA	93

[1053]

16	OCI-AML2	> 10000
17	Raji	881
18	Ramos	46
19	RPMI 8226	10
20	RPMI 8226/Dox40	213
21	SUP-B15	37
22	U-937	104
脑		
23	CGL-1	> 10000
24	CGL-3	75
25	CGL-9	161
乳腺		
26	CAMA-1	22
27	Evsa-T	168
28	HCC1954	28
29	MCF-7	>10000
30	MCF-7/ras	166
31	MDA-MB-435	122
32	MDA-MB-435S	26
33	ZR-75-1	131
结肠		
34	DLD-1	56
35	HCT 116	38
36	HCT-15	>10000
37	LoVo	51
38	LS 174T	159
结缔组织		
39	SW-872	>10000
头颈部		
40	BB30-HNSCC	273
41	BB49-HNSCC	146
42	FaDu	29
43	KB	48
44	KB3	48
45	LB1617-HNSCC	139

[1054]

46	LB771-HNSCC	391
肾		
47	A-498	267
48	BB64-RCC	>10000
49	BB65-RCC	1251
50	Caki-1	> 10000
51	LB1047-RCC	58
52	LB996-RCC	158
肝		
53	Hep 3B2.1-7	95
54	SK-HEP-1	> 10000
肺		
55	A-427	130
56	Calu-1	270
57	Calu-3	>10000
58	Calu-6	32
59	LB11-SCLC/OC1	17
60	LB12-SCLC/OC2	52
61	LB13-SCLC/OC3	21
62	LB37-NSCLC	63
63	LB61-NSCLC	>10000
64	NCI-H1299	587
65	NCI-H460	118
66	NCI-H520	98
67	NCI-H596	84
68	NCI-H69	162
69	NCI-H82	>10000
70	SK-MES-1	270
卵巢		
71	Caov-3	94
72	IGROV-1	109
73	IGROV-1/CDDP	147
74	NIH:OVCAR-3	45
75	NIH:OVCAR-3/CPT20	>10000
76	PA-1	> 10000

[1055]

胰腺		
77	BxPC-3	196
78	Capan-2	144
79	PANC-1	327
前列腺		
80	DU 145	85
81	LNCaP-FGC	78
皮肤		
82	A-375	1481
83	A-375-SM	340
84	A-431	3799
85	BB74-MEL	162
86	CMEL-5	130
87	Hs 294T	219
88	LB1319-MEL	35
89	Malme-3M	157
90	SK-MEL-2	138
91	SK-MEL-5	185
92	UZG4-MEL	180
胃		
93	AGS	66
94	Hs 746T	34
95	KATO III	162
甲状腺		
96	FTC-238	26
膀胱		
97	J82	20
98	LB796-BLC	83
99	LB831-BLC	149
100	T24	852

[1056] 结果证明 (2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸盐对多种不同的细胞系都具有有效的抗增殖活性。

[1057] 药用制剂

[1058] 实施例 9

[1059] (i) 片剂

[1060] 制备含有式 (1) 或式 (2) 化合物的片剂组合物,使 50mg 化合物与作为稀释剂的

197mg 乳糖 (BP) 和作为润滑剂的 3mg 硬脂酸镁混合,用已知方法压紧形成片剂。

[1061] (ii) 胶囊剂

[1062] 制备胶囊剂,使 100mg 式 (1) 或式 (2) 化合物与 100mg 乳糖混合,将所得混合物填入标准避光的硬胶囊内。

[1063] (iii) 注射剂 I

[1064] 可制备用于注射给药的胃肠外组合物,使式 (1) 或式 (2) 化合物 (如盐形式) 溶于含有 10% 丙二醇的水中,得到浓度为 1.5% 重量的活性化合物。然后将溶液过滤灭菌,填入安瓿内并密封。

[1065] (iv) 注射剂 II

[1066] 制备用于注射的胃肠外组合物,使式 (1) (如盐形式) 或式 (2) 化合物 (2mg/ml) 和甘露醇 (50mg/ml) 溶于水中,灭菌过滤溶液,填入可密封的 1ml 瓶或安瓿内。

[1067] (v) 注射剂 III

[1068] 可制备通过注射或输注 i. v. 递药的制剂,使式 (1) (如盐形式) 或式 (2) 化合物以 20mg/ml 溶于水中。然后将瓶密封,高压灭菌。

[1069] (vi) 注射剂 IV

[1070] 可制备通过注射或输注 i. v. 递药的制剂,使式 (1) (如盐形式) 或式 (2) 化合物以 20mg/ml 溶于含有缓冲剂 (如 0.2M 乙酸盐 pH 4.6) 的水中。然后将瓶密封,高压灭菌。

[1071] (vii) 皮下注射剂

[1072] 制备用于皮下给药的组合物,使式 (1) 或式 (2) 化合物与药物级玉米油混合得到浓度为 5mg/ml。使组合物灭菌,填入合适容器内。

[1073] (viii) 冻干制剂

[1074] 将等份试样配制的式 (1) 或式 (2) 化合物放入 50ml 瓶内冻干。冻干过程中,用一步冷冻方案在 (-45℃) 冰冻组合物。使温度上升至 -10℃ 退火,然后降低至 -45℃ 冰冻,接着在 +25℃ 初步干燥约 3400 分钟,然后以增加步骤进行二次干燥 (温度达到 50℃)。初步和二次干燥时的压力设定为 80 毫托。

[1075] (ix) 2% 体表凝胶制剂

[1076]	<u>% w/w</u>
[1077] 化合物	2.00
[1078] 羟丙基甲基纤维素 (Methocel F4M)	2.50
[1079] 聚环氧乙烷 (Polyox WSR-205)	0.25
[1080] 丙二醇	10.00
[1081] 尼泊金甲酯	0.15
[1082] 尼泊金丙酯	0.05
[1083] 纯水至	100.00

[1084] 实施例 10

[1085] 晶体结构研究

[1086] 式 (1) 化合物及其盐存在多种不同晶形。已用下文描述的方法鉴定和表征这些晶形。

[1087] 通用方法

[1088] 单晶衍射法

[1089] 用来自配备 ϕ 测角器和 ADSC Quantum 315CCD 检测器的 ESRFID23.1 束线 (beamline) 的同步辐射 ($\lambda = 0.775 \text{ \AA}$) 收集室温 (20°C) 下的晶体学数据。收集 2 种 ϕ 扫描的图像, $\phi=0-180^\circ$ 且 $\Delta\phi=1^\circ$, 一种高辐射剂量, 一种低剂量。检测器距离晶体 110mm。用 ProDC 软件控制数据收集, 用 Dtrek 处理和测量图像。

[1090] 用 SHELXS-97 实施的和 SHELXL-97 改进的直接法解晶体结构。在几何学背景上产生氢原子, 同时通过观察 Fo-Fc 差异图确认杂原子结合的氢原子的位置。将氢原子的位置和热参数缩至相应的非氢原子上。用各向异性热因子模拟非氢原子的热运动。

[1091] 粉末衍射法

[1092] 将用于 X 线粉末衍射 (XRPD) 数据收集的样品用大理石研钵轻轻地研磨, 装入晶体学毛细管 (购自 Hampton Research, 石英或玻璃型 10, 0.4 或 0.7mm 直径) 内。在室温下收集衍射图, 使用 CuK α 辐射 ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) (所述辐射来自 Rigaku 旋转阳极 RU3HR), Osmic 蓝色共焦光学元件, 1/4c 测角器和 Rigaku HTC 成像板检测器。收集 2D 图像, 同时旋转 ϕ 轴, 使检测器与晶体距离 250mm。用 CrystalClear 软件控制数据收集, 用 Datasqueeze (方位角 $0 < x < 360^\circ$ 的平均强度, 2θ 范围 $3-30^\circ$, 步幅 0.02°) 将 2D 图像转化为 1D 图 (2θ vs. 强度)。在 house 程序 (houseprogram) 中, 用 AstexXRPD 处理和显示 1D XRPD 图。

[1093] 用滴定试验测定盐化学计量

[1094] 在下列实施例中, 当提到盐并给出盐的化学计量时, 用下列滴定方法测定化学计量。

[1095] 新鲜制备 150mM KCl 和 20mM HCl 的 (KCl/HCl) 溶液用于各批料的滴定试验。滴定 1ml 等份试样溶液, 由此产生的电位滴定曲线用作对照曲线。所有滴定都在 25°C 用 300mM KOH 在 2 μ l 的多步骤中用 Mettler Toledo MP220pH 计进行。在每天测量批料之前和之后记录 4 种标准缓冲剂的电极电位读数。使化合物 (1) 的盐样品 (1-3mg) 溶于 1ml KCl/HCl 溶液, 用小型磁搅拌器剧烈搅拌滴定。用 4 种标准缓冲剂的标定曲线将记录的电极电位转化为 pH 值。处理样品和对照滴定数据得到 pH 范围 2-12 的 Bjerrum 图。Bjerrum 图计算和分析方法描述于综述 "Physicochemical Profiling (Solubility, Permeability and Charge State)", A. Avdeef (Current Topics in Medicinal Chemistry 2001, p277-351)。

[1096] 用起始 nH (pH = 2 的质子数) 推断化合物 (1) 盐的化学计量 (即游离碱以 -2 质子开始, 单盐以 -1 质子 (化合物 (1)⁺ 酸⁻) 开始), 而双盐 (化合物 (1)²⁺ 酸²⁻ 或化合物 (1)²⁺ * 酸⁻) 以 nH = 0 开始。

[1097] 10A. 游离碱盐形式

[1098] (A-i) 游离碱晶形 FB1

[1099] 在室温下制备化合物 (1) 在 1-丁醇中的饱和溶液。用大约 4 $\times$ 体积的二 (异丙基) 醚缓慢沉淀, 得到晶形 FB1。XRPD 分析新鲜样品得到图 1 显示的图, 主峰在下表 1 列出。空气中干燥 3 天后, 得到新的 XRPD 图显示晶形 FB1 已经完全转化为晶形 FB3。

[1100] 表 1. 化合物 (1) 形式 FB1 的主要 XRPD 峰

[1101]

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	$I/\%$
5.52	15.99	100
9.44	9.36	5
11.05	8.00	6
11.99	7.38	4
15.21	5.82	16
16.11	5.50	16
16.72	5.30	11
17.09	5.18	8
18.21	4.87	19
19.23	4.61	6
19.73	4.50	9
20.29	4.37	16
21.09	4.21	5
26.72	3.33	3

[1102] (A-ii) 游离碱晶形 FB2

[1103] 在室温下制备化合物 (1) 在 THF 中的饱和溶液。用大约 4× 体积的乙酸异丙酯缓慢沉淀, 得到晶形 FB2。形式 FB2 新鲜样品的 XRPD 图显示于图 2, XRPD 图的主峰在下表 2 列出。将样品空气中干燥 3 天, 然后得到新的 XRPD 图: 这证明晶形 FB2 已变成晶形 FB3。

[1104] 表 2. 化合物 (1) 晶形 FB2 的主要 XRPD 峰

[1105]

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	$I/\%$
5.35	16.49	100
6.73	13.13	2
10.40	8.50	3
10.67	8.28	4
14.68	6.03	13
17.00	5.24	11
18.26	4.85	8

[1106]

18.61	4.76	10
18.87	4.70	8
19.24	4.61	7
19.86	4.47	18
20.15	4.40	16
21.13	4.20	9
21.44	4.14	7
26.86	3.32	3

[1107] (A-iii) 游离碱晶形 FB3

[1108] 晶形 FB3 用上文描述的形式 FB1 和 FB2 获得, 或者通过蒸发游离碱溶液获得。晶形 FB3 的 XRPD 图显示于图 3, 主峰在下表 3 列出。发现晶形 FB3 在空气中在 40℃ 和 75% RH 可以稳定至少一个月。

[1109] 表 3. 化合物 (1) 晶形 FB3 的主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
6.05	14.59	100
7.87	11.22	9
9.15	9.66	7
10.22	8.65	3
12.15	7.28	11
13.60	6.50	14
15.77	5.62	17
16.62	5.33	4
17.16	5.16	7
17.82	4.97	11
18.89	4.69	22
19.64	4.52	12
20.20	4.39	21
20.93	4.24	10
22.19	4.00	5
23.33	3.81	6
24.53	3.63	5

[1110]

[1111] (A-iv) 游离碱晶形 FB4

[1112] 在化合物 (1) 乙醇溶液的沉淀试验中观察到晶形 FB4。单晶 X 线分析显示该晶形是二水合物。在室温下制备化合物 (1) 在乙醇中的饱和溶液。用大约 4× 体积的异丙醚缓慢沉淀, 得到晶形 FB4, 发现其在空气中可以稳定。形式 FB4 的 XRPD 图显示于图 4, 主峰在下表 4 列出。晶体堆积图和原子坐标见图 5 和表 5。

[1113] 表 4. 化合物 (1) 晶形 FB4 的主要 XRPD 峰

[1114]

2 θ /°	d/Å	I/%
6.29	14.04	100
8.91	9.92	12
9.96	8.87	14
12.62	7.01	4
14.11	6.27	16
16.11	5.50	14
17.11	5.18	10
17.40	5.09	5
17.88	4.96	8
18.48	4.80	17
19.33	4.59	4
19.91	4.46	10
20.35	4.36	8
21.57	4.12	23
22.46	3.95	13
23.59	3.77	14
24.88	3.58	17
27.25	3.27	9

[1115] 表 5. 化合物 (1) 晶形 FB4 晶体结构的晶胞参数和 cif 格式坐标

[1116] 空间群 :P42/n

[1117] 293K 的晶胞, a、b 和 c 具有 5% s. u. :

[1118] $a = b = 28.2$ [1119] $c = 6.0$ [1120] $\alpha = \beta = \gamma = 90$

[1121] cif 格式坐标:

[1122] loop_

[1123] _atom_site_label

[1124] _atom_site_type_symbol

[1125] _atom_site_fract_x

[1126] _atom_site_fract_y

[1127] _atom_site_fract_z

[1128] _atom_site_U_iso_or_equiv

[1129] _atom_site_adp_type

[1130] _atom_site_occupancy

[1131] _atom_site_symmetry_multiplicity

[1132] _atom_site_calc_flag

[1133] _atom_site_refinement_flags

[1134] _atom_site_disorder_assembly

[1135] _atom_site_disorder_group

[1136] C1 C 0.60531(14) 0.59657(13) 0.3978(7) 0.0816(11) Uani 11d...

[1137] H1A H 0.6390 0.5959 0.3641 0.098 Uiso 11 calc...

[1138] H1B H 0.6000 0.6175 0.5237 0.098 Uiso 11 calc...
[1139] N2 N 0.58709(11) 0.54841(11) 0.4433(6) 0.0845(10) Uani 11d...
[1140] C3 C 0.55080(14) 0.53422(15) 0.2788(8) 0.0924(13) Uani 11d...
[1141] H3A H 0.5207 0.5275 0.3505 0.111 Uiso 11 calc...
[1142] H3B H 0.5608 0.5065 0.1955 0.111 Uiso 11 calc...
[1143] C4 C 0.54727(14) 0.57663(14) 0.1322(7) 0.0838(11) Uani 11d...
[1144] C5 C 0.57724(14) 0.61201(14) 0.2011(7) 0.0801(11) Uani 11d...
[1145] C6 C 0.51860(15) 0.58333(16) -0.0535(8) 0.0921(13) Uani 11d...
[1146] H6 H 0.4985 0.5592 -0.1007 0.111 Uiso 11calc...
[1147] C7 C 0.52000(15) 0.62568(18) -0.1672(8) 0.0926(13) Uani 11d...
[1148] C8 C 0.54951(17) 0.66174(16) -0.0895(8) 0.0966(13) Uani 11d...
[1149] H8 H 0.5497 0.6908 -0.1625 0.116 Uiso 11 calc...
[1150] C9 C 0.57843(16) 0.65525(16) 0.0930(8) 0.0935(13) Uani 11d...
[1151] H9 H 0.5983 0.6794 0.1423 0.112 Uiso 11 calc...
[1152] C10 C 0.49149(17) 0.63467(19) -0.3746(8) 0.1025(14) Uani 11d..
[1153] H10A H 0.5120 0.6491 -0.4853 0.123 Uiso 11calc...
[1154] H10B H 0.4808 0.6045 -0.4336 0.123 Uiso 11 calc...
[1155] N11 N 0.44995(12) 0.66545(12) -0.3408(6) 0.0847(10) Uani 11d..
[1156] C12C 0.41355(16) 0.64016(16) -0.2169(7) 0.0928(12) Uani 11d..
[1157] H12A H 0.4257 0.6319 -0.0708 0.111 Uiso 11calc...
[1158] H12B H 0.4056 0.6110 -0.2941 0.111 Uiso 11calc ...
[1159] C13 C 0.36951(16) 0.67000(18) -0.1912(8) 0.1005(14) Uani 11d..
[1160] H13A H 0.3458 0.6524 -0.1081 0.121 Uiso 11 calc...
[1161] H13B H 0.3771 0.6985 -0.1080 0.121 Uiso 11 calc...
[1162] N14 N 0.35044(13) 0.68296(14) -0.4066(6) 0.0961(11) Uani 11d..
[1163] C15 C 0.38701(19) 0.70846(17) -0.5299(7) 0.1001(14) Uani 11d..
[1164] H15A H 0.3953 0.7373 -0.4509 0.120 Uiso 11 calc...
[1165] H15B H 0.3749 0.7173 -0.6753 0.120 Uiso 11 calc ...
[1166] C16 C 0.43006(17) 0.67828(18) -0.5565(7) 0.0987(14) Uani 11d..
[1167] H16A H 0.4218 0.6497 -0.6376 0.118 Uiso 11calc...
[1168] H16B H 0.4537 0.6954 -0.6425 0.118 Uiso 11calc...
[1169] C17 C 0.3076(2) 0.7126(2) -0.3808(11) 0.137(2) Uani 11d...
[1170] H17A H 0.2836 0.6950 -0.3029 0.206 Uiso 11 calc ...
[1171] H17B H 0.2959 0.7215 -0.5250 0.206 Uiso 11 calc ...
[1172] H17C H 0.3154 0.7407 -0.2978 0.206 Uiso 11 calc ...
[1173] C18 C 0.59855(15) 0.51789(15) 0.6047(8) 0.0896(12) Uani 11d...
[1174] O19 O 0.57503(11) 0.47935(11) 0.6072(6) 0.1109(11) Uani 11d...
[1175] C20 C 0.63596(13) 0.52545(13) 0.7750(7) 0.0818(11) Uani 11d...
[1176] C21 C 0.64335(16) 0.48917(15) 0.9312(8) 0.0920(13) Uani 11d...

[1177] C22 C 0.67703(18) 0.49413(16) 1.0959(8) 0.0986(14) Uani 11d...
[1178] H22 H 0.6811 0.4701 1.2002 0.118 Uiso 11 calc...
[1179] C23 C 0.70497(16) 0.53453(15) 1.1082(8) 0.0907(12) Uani 11d...
[1180] C24 C 0.70021(15) 0.57066(15) 0.9542(8) 0.0877(12) Uani 11 d.B.
[1181] C25 C 0.66614(15) 0.56535(14) 0.7956(8) 0.0889(12) Uani 11d...
[1182] H25 H 0.6624 0.5898 0.6929 0.107 Uiso 11calc...
[1183] O26 O 0.61807(14) 0.44835(11) 0.9277(7) 0.1192(12) Uani 11d...
[1184] H26 H 0.5962 0.4508 0.8383 0.179 Uiso 11 calc R..
[1185] O27 O 0.73840(13) 0.53982(12) 1.2687(6) 0.1135(11)Uani 11d...
[1186] H27 H 0.7403 0.5153 1.3418 0.170 Uiso 11 calc R..
[1187] C28 C 0.73311(18) 0.61386(17) 0.9614(10) 0.1084(16) Uani 11d..
[1188] H28 H 0.7646 0.6017 1.0009 0.130 Uiso 11 calc.Al
[1189] C29 C 0.7389(2) 0.6388(2) 0.7301(12) 0.107(3) Uani 0.775(12)1 d P
[1190] B 1
[1191] H29A H 0.7600 0.6654 0.7448 0.160 Uiso 0.78 1 calc P B 1
[1192] H29B H 0.7085 0.6497 0.6790 0.160 Uiso 0.78 1 calc P B 1
[1193] H29C H 0.7518 0.6167 0.6246 0.160 Uiso 0.78 1 calc P B 1
[1194] C30 C 0.7207(3) 0.6487(3) 1.1347(14) 0.120(3) Uani 0.775(12) 1 d P
[1195] B 1
[1196] H30A H 0.7434 0.6741 1.1332 0.180 Uiso 0.78 1 calc P B 1
[1197] H30B H 0.7211 0.6336 1.2778 0.180 Uiso 0.78 1 calc P B 1
[1198] H30C H 0.6896 0.6612 1.1060 0.180 Uiso 0.78 1 calc P B 1
[1199] C29 C 0.6972(10) 0.6587(7) 0.927(11) 0.22(3)Uani 0.225(12) 1 d P B
[1200] 2
[1201] C30 C 0.7740(7) 0.6111(12) 0.913(5) 0.147(13) Uani 0.225(12) 1 d P
[1202] B 2
[1203] O1W O 0.75198(14) 0.46640(15) 1.5369(7) 0.1195(12) Uani 11 d D..
[1204] H1W1 H 0.7317(14) 0.4461(18) 1.565(11) 0.16(3) Uiso 11 d D..
[1205] H2W1 H 0.7750 0.4600 1.6200 0.220 Uiso 11d D..
[1206] O2W O 0.31342(14) 0.60501(17) 0.3540(9) 0.1423(15) Uani 11d D..
[1207] H1W2 H 0.337(2) 0.595(3) 0.285(14) 0.220 Uiso 11d D..
[1208] H2W2 H 0.324(3) 0.629(2) 0.424(13) 0.220 Uiso 11d D..
[1209] (A-v) 游离碱晶形 FB5

[1210] 形式 FB5 是不稳定的形式, 只见于涉及化合物 (1) 的异丙醇溶液的结晶试验。形式 FB5 在空气中转换为 FB6。尽管不受任何理论的约束, 但认为 FB5 是异丙醇溶剂化物。

[1211] 在室温下制备化合物 (1) 在异丙醇中的饱和溶液, 然后用大约 4 体积的乙酸异丙酯缓慢沉淀, 形成形式 FB5。新鲜样品的 XRPD 图显示于图 6, 主峰在下表 6 列出。将 FB5 样品空气中干燥 2 天, 其后 XRPD 分析显示转化为形式 FB6。

[1212] 表 6. 化合物 (1)FB5 的主要 XRPD 峰

[1213]

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	$I/\%$
------------------	----------------	--------

[1214]

7.12	12.41	100
9.71	9.10	14
10.14	8.72	17
11.50	7.69	4
13.73	6.45	16
14.60	6.06	5
15.34	5.77	4
16.58	5.34	21
16.94	5.23	6
18.71	4.74	32
19.46	4.56	48
20.15	4.40	13
21.97	4.04	6
22.35	3.97	14
23.43	3.79	9
26.36	3.38	8

[1215] (A-vi) 游离碱晶形 FB6

[1216] 形式 FB6 只作为形式 FB5 的老化产物出现。形式 FB6 在空气中稳定。让形式 FB5 空气中干燥 2 天制备形式 FB6, 其样品的 XRPD 图显示于图 7。主峰在下表 7 列出。

[1217] 表 7. 化合物 (1) 形式 FB6 的主要 XRPD 峰

[1218]

2 θ /°	d/Å	I/%
4.60	19.21	4
9.09	9.72	14
9.68	9.13	25
16.08	5.51	25
16.46	5.38	28
16.94	5.23	14
18.13	4.89	23
18.66	4.75	100
20.05	4.42	31
22.48	3.95	10
26.53	3.36	9

[1219] 10B. 化合物 (1) 盐酸盐 1 : 2 盐晶形

[1220] (B-i) 化合物 (1) 盐酸盐 - 形式 FH1

[1221] 将 EtOAc/HCl 和 MeOH 先后加入 2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮内,直至形成溶液。蒸发溶剂,用甲苯再蒸发,然后用 MeOH 蒸发直至干燥,得到 2,4-二羟基-5-异丙基-苯基)-[5-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-甲酮,为二 HCl 盐。这种形式非常吸湿,在空气湿气中溶解。XRPD 图显示于图 8,主峰列出于下表 8。

[1222] 表 8. 化合物 (1) 盐酸盐形式 -FH1 的主要 XRPD 峰

[1223]

2 θ /°	d/Å	I/%
5.59	15.79	16
7.34	12.04	100
7.99	11.05	19
10.33	8.56	11
11.70	7.56	3
13.95	6.34	4
14.32	6.18	10
14.72	6.01	4
15.29	5.79	11
16.37	5.41	4
16.82	5.27	8
18.59	4.77	10
19.99	4.44	3
20.40	4.35	4
20.82	4.26	2
21.26	4.18	4
22.57	3.94	3
23.01	3.86	1
24.60	3.62	6
25.32	3.51	20
25.82	3.45	6
27.10	3.29	4
28.27	3.15	7
28.78	3.10	7

[1224] (B-ii) 化合物 (1) 盐酸盐 - 形式 FH2

[1225] 形式 FH2 可见于用形式 FH1 的 DMSO 或 DMF 溶液的沉淀试验。这种形式在空气中转换为形式 FH3。在室温下制备形式 FH1 (B-i) 在 DMF 中的饱和溶液。用大约 4 体积丙酮缓慢沉淀得到形式 FH2。形式 FH2 新鲜样品的 XRPD 图显示于图 9, 主峰列出于下表 9。将形式 FH2 样品空气中干燥 2 天, 其后 XRPD 分析显示已转化为形式 FH3。

[1226] 表 9. 化合物 (1) 盐酸盐形式 FH2 的主要 XRPD 峰

[1227]

2 θ /°	d/Å	I/%
---------------	-----	-----

[1228]

3.40	25.99	100
6.04	14.62	3
6.81	12.97	81
9.03	9.78	29
11.84	7.47	20
13.01	6.80	3
13.69	6.46	4
15.70	5.64	10
16.10	5.50	31
16.59	5.34	8
17.17	5.16	4
18.13	4.89	14
20.84	4.26	23
21.39	4.15	6
21.87	4.06	8
23.19	3.83	13
23.94	3.71	14
24.78	3.59	6
25.65	3.47	18

25.97	3.43	6
26.94	3.31	5
27.59	3.23	3
28.06	3.18	5
29.53	3.02	6

[1229] (B-iii) 化合物 (1) 盐酸盐 - 形式 FH3

[1230] 形式 FH3 可见于形式 FH1 的乙醇或异丙醇溶液的沉淀试验以及形式 FH2 的降解作用。形式 FH3 在空气中在 40℃ 和 75% RH 稳定至少一个月。形式 FH3 的制备描述于上文实施例 3。形式 FH3 的 XRPD 图显示于图 10, 主峰列出于表 10。

[1231] 表 10. 化合物 (1) 盐酸盐形式 FH3 的主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
5.83	15.15	5
9.35	9.45	100
10.40	8.50	89
10.78	8.20	19
11.35	7.79	11
11.71	7.55	16
12.51	7.07	48
13.35	6.63	10
13.81	6.41	17
14.10	6.27	5
14.78	5.99	42

[1232]

17.18	5.16	8
17.65	5.02	9
18.74	4.73	51
19.09	4.65	35
19.46	4.56	13
20.11	4.41	8
21.18	4.19	18
21.68	4.10	28
22.32	3.98	76

23.07	3.85	28
23.71	3.75	16
24.86	3.58	96
25.14	3.54	45
26.49	3.36	5
27.03	3.30	8
28.09	3.17	14
28.70	3.11	16
29.02	3.07	29
29.52	3.02	17

[1234] (B-iv) 化合物 (1) 盐酸盐 - 形式 FH4

[1235] 形式 FH4 只见于一种沉淀试验 (DMF/ 二氧六环)。这种形式在空气中不稳定并分解。在室温下制备形式 FH 1 在 DMF 中的饱和溶液。用大约 4 体积 1,4- 二氧六环缓慢沉淀得到形式 FH4。新鲜 FH4 样品的 XRPD 图显示于图 11, 主峰列出于下表 11。该样品在空气中分解。

[1236] 表 11. 化合物 (1) 盐酸盐 - 形式 FH4 的主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
7.04	12.55	31
9.89	8.93	10
11.62	7.61	100
12.30	7.19	10
13.27	6.67	8
14.14	6.26	14
15.54	5.70	57
16.06	5.51	17
16.68	5.31	34
17.99	4.93	13
18.54	4.78	26
19.24	4.61	19
20.73	4.28	43
22.26	3.99	28
22.94	3.87	27
23.36	3.81	13
23.77	3.74	35

[1237]

[1238]

24.63	3.61	12
25.07	3.55	36
25.72	3.46	8
26.91	3.31	15
27.63	3.23	11

[1239] (B-v) 化合物 (1) 盐酸盐 - 形式 FH5

[1240] 形式 FH5 只见于一种沉淀试验 (甲醇 / 丙酮)。这种形式不稳定,在潮湿空气中溶解。在室温下制备形式 FH1 在甲醇中的饱和溶液。用大约 4 体积丙酮缓慢沉淀得到形式 FH5。新鲜 FH5 样品的 XRPD 图显示于图 12,主峰列出于下表 12。样品在空气中分解。

[1241] 表 12. 化合物 (1) 盐酸盐 - 形式 FH5 的主要 XRPD 峰

[1242]

2 θ /°	d/Å	I/%
2.32	38.00	100
6.15	14.35	18
11.79	7.50	6
15.79	5.61	5
20.81	4.27	8
22.76	3.90	3
23.76	3.74	5

[1243] 10C. 化合物 (1)L- 乳酸盐 1 : 1 盐晶形

[1244] (C-i) 化合物 (1)L- 乳酸盐 - 形式 FL1

[1245] 按照上文实施例 2 的描述制备 L- 乳酸盐形式 FL1。

[1246] 形式 FL1 在空气中在 40℃ 和 75% RH 稳定至少一个月。形式 FL1 的 XRPD 图显示于图 13,主峰列出于表 13。

[1247] 表 13. 化合物 (1) 乳酸盐 - 形式 FH1 的主要 XRPD 峰

[1248]

2 θ /°	d/Å	I/%
6.18	14.30	15
6.53	13.52	50
8.39	10.54	19
11.08	7.98	7
13.10	6.75	85
14.13	6.26	33
14.40	6.15	23
15.21	5.82	4
16.21	5.46	6
16.81	5.27	100
17.22	5.15	45
18.65	4.75	23

[1249]

19.52	4.54	33
19.82	4.48	34
20.49	4.33	7
20.76	4.27	13
21.13	4.20	17
22.02	4.03	12
22.33	3.98	44
22.84	3.89	40
23.09	3.85	25
23.94	3.71	14
25.19	3.53	7
26.41	3.37	14
26.95	3.31	5
27.81	3.21	14

[1250] (C-ii) 化合物 (1)L- 乳酸盐 - 形式 FL2

[1251] 形式 FL2 可见于形式 FL1 甲醇溶液的沉淀试验。单晶 X 线分析显示形式 FL2 是水合物。虽然因为不对称单元中有 3 个结晶水位置所以名义上为三水合物,但在室温和实验室湿度下它们并非 100% 被占据。在室温下制备形式 FL1 在甲醇:水 9:1 中的饱和溶液。用大约 4 体积丙酮缓慢沉淀得到在空气中稳定的形式 FL2。形式 FL2 的 XRPD 图显示于图 14,主峰在下表 14 列出。晶体堆积图显示于图 15,原子坐标在下表 15 列出。

[1252] 表 14. 化合物 (1) 乳酸盐 - 形式 FL2 的主要 XRPD 峰

[1253]

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	$I/\%$
8.03	11.00	29
10.71	8.26	53
11.98	7.38	90
13.13	6.74	49
15.39	5.75	29
16.09	5.50	32
16.61	5.33	42
17.26	5.13	37
18.17	4.88	20
18.82	4.71	56
20.40	4.35	40
21.01	4.22	49
21.53	4.12	27
22.34	3.98	100
22.56	3.94	73
23.71	3.75	82

[1254]

24.30	3.66	8
24.65	3.61	12
26.56	3.35	13
27.70	3.22	21
28.29	3.15	16

[1255] 表 15. 化合物 (1) 乳酸盐 - 形式 FL2 晶体结构的晶胞参数和 cif 格式坐标

[1256] 空间群 : $P2_1$ [1257] 293K 的晶胞, a 、 b 、 c 和 β 具有 5% s. u. :[1258] $a = 5.8$ [1259] $b = 16.6$ [1260] $c = 14.9$ [1261] $\beta = 98$ [1262] $\alpha = \gamma = 90$

[1263] cif 格式坐标 :

[1264] loop_

[1265] _atom site_label

[1266] _atom site_type_symbol

[1267] _atom site_fract_x

[1268] _atom site_fract_y

[1269] _atom site_fract_z

[1270] _atom_site_U_iso_or_equiv
[1271] _atom_site_adp_type
[1272] _atom_site_occupancy
[1273] _atom_site_symmetry_multiplicity
[1274] _atom_site_calc_flag
[1275] _atom_site_refinement_flags
[1276] _atom_site_disorder_assembly
[1277] _atom_site_disorder_group
[1278] C1 C -0.643(2) 1.1037(6) 0.6763(7) 0.097(3) Uani 11d...
[1279] H1A H -0.6995 1.0577 0.6395 0.117 Uiso 11 calc...
[1280] H1B H -0.5231 1.1308 0.6484 0.117 Uiso 11 calc...
[1281] N2 N -0.5563(16) 1.0791(5) 0.7694(6) 0.096(2) Uani 11d...
[1282] C3 C -0.692(3) 1.1148(8) 0.8352(8) 0.124(4) Uani 11d...
[1283] H3A H -0.7713 1.0734 0.8651 0.148 Uiso 11 calc...
[1284] H3B H -0.5925 1.1454 0.8805 0.148 Uiso 11 calc...
[1285] C4 C -0.8553(19) 1.1667(7) 0.7825(7) 0.094(3) Uani 11d...
[1286] C5 C -0.8393(19) 1.1609(6) 0.6900(7) 0.092(3) Uani 11d...
[1287] C6 C -1.036(3) 1.2141(8) 0.8083(8) 0.110(3) Uani 11d...
[1288] H6 H -1.0636 1.2139 0.8682 0.132 Uiso 11 calc...
[1289] C7 C -1.172(2) 1.2611(8) 0.7456(8) 0.105(3) Uani 11d...
[1290] C8 C -1.145(2) 1.2560(8) 0.6564(9) 0.111(3) Uani 11d...
[1291] H8 H -1.2387 1.2867 0.6138 0.133 Uiso 11 calc...
[1292] C9 C -0.979(2) 1.2053(9) 0.6287(7) 0.109(3) Uani 11d...
[1293] H9 H -0.9640 1.2017 0.5677 0.130 Uiso 11 calc...
[1294] C10 C -1.3561(18) 1.3173(8) 0.7739(9) 0.106(3) Uani 11d...
[1295] H10A H -1.4455 1.3402 0.7202 0.127 Uiso 11 calc...
[1296] H10B H -1.4617 1.2864 0.8055 0.127 Uiso 11 calc...
[1297] N11 N -1.2550(14) 1.3836(6) 0.8332(6) 0.096(2) Uani 11d...
[1298] C12 C -1.1136(17) 1.4353(6) 0.7839(7) 0.091(3) Uani 11d...
[1299] H12A H -1.2098 1.4591 0.7324 0.109 Uiso 11 calc...
[1300] H12B H -0.9935 1.4035 0.7615 0.109 Uiso 11 calc...
[1301] C13 C -1.0015(17) 1.5021(7) 0.8462(8) 0.100(3) Uani 11d...
[1302] H13A H -0.8991 1.4783 0.8961 0.121 Uiso 11 calc...
[1303] H13B H -0.9092 1.5368 0.8128 0.121 Uiso 11 calc...
[1304] N14 N -1.1853(15) 1.5509(5) 0.8822(6) 0.094(2) Uani 11d...
[1305] H14 H -1.2741 1.5755 0.8352 0.113 Uiso 11 calc...
[1306] C15 C -1.3350(18) 1.4966(7) 0.9279(7) 0.095(3) Uani 11d...
[1307] H15A H -1.4599 1.5276 0.9479 0.114 Uiso 11 calc...
[1308] H15B H -1.2441 1.4730 0.9808 0.114 Uiso 11 calc...

[1309] C16 C -1.4358(17) 1.4308(7) 0.8658(8) 0.098(3) Uani 11d...
 [1310] H16A H -1.5310 1.3959 0.8977 0.117 Uiso 11 calc...
 [1311] H16B H -1.5346 1.4542 0.8148 0.117 Uiso 11 calc...
 [1312] C17 C -1.068(2) 1.6140(9) 0.9439(9) 0.119(4) Uani 11d...
 [1313] H17A H -1.1835 1.6447 0.9694 0.178 Uiso 11 calc...
 [1314] H17B H -0.9807 1.6492 0.9103 0.178 Uiso 11 calc...
 [1315] H17C H -0.9658 1.5886 0.9916 0.178 Uiso 11 calc ...
 [1316] C18 C -0.382(2) 1.0287(9) 0.7999(8) 0.113(4) Uani 11d...
 [1317] O19 O -0.345(2) 1.0216(8) 0.8837(6) 0.156(4) Uani 11d...
 [1318] C20 C -0.228(2) 0.9847(6) 0.7418(7) 0.096(3) Uani 11d...
 [1319] C21 C -0.069(3) 0.9286(9) 0.7863(9) 0.119(4) Uani 11d...
 [1320] C22 C 0.064(2) 0.8867(9) 0.7367(9) 0.114(4) Uani 11d...
 [1321] H22 H 0.1812 0.8547 0.7669 0.137 Uiso 11 calc...
 [1322] C23 C 0.038(2) 0.8879(7) 0.6447(8) 0.097(3) Uani 11d...
 [1323] C24 C -0.1201(18) 0.9425(7) 0.5972(8) 0.096(3) Uani 11d.B.
 [1324] C25 C -0.253(2) 0.9882(7) 0.6463(8) 0.100(3) Uani 11d...
 [1325] H25 H -0.3632 1.0228 0.6160 0.120 Uiso 11 calc...
 [1326] O26 O -0.036(2) 0.9229(9) 0.8775(6) 0.169(5) Uani 11d...
 [1327] H26 H -0.1427 0.9456 0.8980 0.253 Uiso 11 calc R..
 [1328] O27 O 0.1658(15) 0.8404(5) 0.5948(6) 0.118(3) Uani 11d...
 [1329] H27 H 0.2091 0.7999 0.6238 0.176 Uiso 11 calc R..
 [1330] C28 C -0.141(4) 0.9478(11) 0.4948(10) 0.138(6) Uani 11d...
 [1331] H28 H -0.0894 0.8953 0.4750 0.166 Uiso 11 calc .A 1
 [1332] C29 C -0.029(11) 1.004(4) 0.449(3) 0.24(3) Uani 0.58(6)1 d P B 1
 [1333] H29A H -0.0741 0.9976 0.3847 0.363 Uiso 0.581 calc P B 1
 [1334] H29B H 0.1361 0.9972 0.4628 0.363 Uiso 0.581 calc P B 1
 [1335] H29C H -0.0703 1.0575 0.4662 0.363 Uiso 0.581 calc P B 1
 [1336] C30 C -0.417(7) 0.950(3) 0.4621(19) 0.159(19) Uani 0.58(6)1 d P B
 [1337] 1
 [1338] H30A H -0.4911 0.9083 0.4918 0.239 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 [1339] H30B H -0.4462 0.9424 0.3978 0.239 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 [1340] H30C H -0.4773 1.0016 0.4772 0.239 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 [1341] C29 C -0.156(11) 1.040(2) 0.465(2) 0.14(2) Uani 0.42(6)1 d P B 2
 [1342] H29D H -0.0071 1.0655 0.4814 0.215 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 [1343] H29E H -0.2703 1.0675 0.4943 0.215 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 [1344] H29F H -0.1983 1.0438 0.4003 0.215 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 [1345] C30 C -0.295(12) 0.897(4) 0.446(2) 0.150(19) Uani 0.42(6)1 d P B 2
 [1346] H30D H -0.3403 0.9185 0.3870 0.224 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 [1347] H30E H -0.4300 0.8910 0.4766 0.224 Uiso 0.42 1 calc P B 2

- [1348] H30F H -0.2234 0.8451 0.4418 0.224 Uiso 0.42 1 calc P B 2
- [1349] O1L O -1.5549(12) 1.6174(6) 0.7786(6) 0.124(3) Uani 11d...
- [1350] O2L O -1.7419(12) 1.7087(6) 0.6890(7) 0.125(3) Uani 11d...
- [1351] C1L C -1.5569(17) 1.6742(7) 0.7238(8) 0.098(3) Uani 11d...
- [1352] C2L C -1.3365(17) 1.6989(8) 0.6926(9) 0.108(4) Uani 11d...
- [1353] H2L H -1.3065 1.7549 0.7117 0.129 Uiso 11calc...
- [1354] C3L C -1.355(2) 1.6971(12) 0.5917(11) 0.143(5) Uani 11d...
- [1355] H3L1 H -1.2130 1.7162 0.5734 0.214 Uiso 11 calc...
- [1356] H3L2 H -1.4813 1.7312 0.5662 0.214 Uiso 11 calc...
- [1357] H3L3 H -1.3842 1.6429 0.5706 0.214 Uiso 11 calc...
- [1358] O3L O -1.1538(13) 1.6538(7) 0.7316(8) 0.150(4) Uani 11d...
- [1359] H3L H -1.0243 1.6711 0.7191 0.224 Uiso 11d...
- [1360] O1W O -0.448(6) 1.237(6) 1.045(2) 0.45(5) Uani 0.78(6) 1 d P..
- [1361] O2W O 0.021(15) 0.8037(17) 0.9990(19) 0.74(7) Uani 11d...
- [1362] O3W O -0.35(3) 0.773(9) 0.953(15) 0.77(8) Uani 0.22(6) 1 d P..
- [1363] (C-iii) 化合物 (1)L- 乳酸盐 - 形式 FL3

[1364] 形式 FL3 可见于形式 FL1 的 THF 溶液的沉淀试验。形式 FL3 在空气中转化为形式 FL1。在室温下制备形式 FL1 在 THF 中的饱和溶液。用大约 4 体积庚烷缓慢沉淀得到形式 FL3。新鲜形式 FL3 样品的 XRPD 图显示于图 16, 主峰在下表 16 列出。将 FL3 样品空气中干燥 2 天, 其后 XRPD 分析显示已转化为形式 FL1。

- [1365] 表 16. 化合物 (1) 乳酸盐 - 形式 FL3 的主要 XRPD 峰

[1366]

2 θ /°	d/Å	I/%
5.53	15.98	100
8.36	10.56	5
11.07	7.98	41
13.16	6.72	12
13.85	6.39	8
16.69	5.31	39
17.17	5.16	21
18.00	4.92	49
18.49	4.80	11
19.28	4.60	14
19.79	4.48	5
20.34	4.36	7
21.05	4.22	21
21.47	4.14	7
21.93	4.05	4
22.47	3.95	16
22.84	3.89	23
24.56	3.62	4
26.28	3.39	6
27.06	3.29	3
27.47	3.24	3

[1367]

29.11	3.07	6
-------	------	---

[1368] 10D. 化合物 (1) 硫酸盐 1 : 1 盐晶形

[1369] (D-i) 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS1

[1370] 形式 FS1 可见于以乙腈作为沉淀剂的结晶试验中。它在空气中不稳定, 转化为形式 FS3。在室温下制备化合物 (1) 的 1 : 1 盐 (通过使化合物 (1) 溶于 H₂SO₄ 并蒸发至干制备) 在水中的饱和溶液。用大约 4 体积乙腈缓慢沉淀得到形式 FS1。FS1 的 XRPD 图显示于图 17, 主峰在下表 17 列出。

[1371] 表 17. 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS1 的主要 XRPD 峰

[1372]

2 θ /°	d/Å	I/%
4.79	18.45	100
10.02	8.82	28
10.68	8.28	3
11.28	7.84	10
12.89	6.86	6
14.38	6.15	34
15.27	5.80	12
16.91	5.24	17
17.64	5.02	7
18.29	4.85	11
18.86	4.70	3
19.28	4.60	4
20.12	4.41	10
20.82	4.26	8
21.21	4.19	3
21.76	4.08	10
22.32	3.98	13
22.89	3.88	7
23.83	3.73	5
24.22	3.67	3
24.42	3.64	3
25.13	3.54	8
29.04	3.07	8

[1373] 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS2

[1374] 形式 FS2 在空气中不稳定, 转化为形式 FS5。如果保持 40℃ 和 75% RH, 形式 FS2 转化为形式 FS4。使化合物 (1) 溶于 1mol 当量浓 H₂SO₄ 中, 用大约 4 体积乙腈沉淀, 将形成的结晶物过滤。FS2 的 XRPD 图显示于图 18, 主峰在表 18 列出。

[1375] 表 18. 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS2 的主要 XRPD 峰

[1376]

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	$I/\%$
4.17	21.20	2
7.03	12.57	24
7.43	11.89	100
8.09	10.92	11
8.67	10.19	90
9.27	9.54	17
9.65	9.16	19
10.41	8.49	7
10.98	8.05	6
11.76	7.52	31
12.53	7.06	5
13.84	6.40	26
14.55	6.08	8
15.39	5.75	16
16.24	5.45	4
16.89	5.25	7
17.50	5.06	26
18.05	4.91	17
18.93	4.68	16
19.47	4.56	16
23.20	3.83	24
24.21	3.67	19
25.21	3.53	10
25.75	3.46	14
26.62	3.35	13
27.67	3.22	13

[1377] 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS3

[1378] 形式 FS3 是稳定形式, 可作为形式 FS1 在空气中老化后的产物和形式 FS6 在温暖和潮湿环境 (40°C, 75% RH) 中转化的产物被观察到。形式 FS3 样品的 XRPD 图显示于图 19, 该样品是让形式 FS1 空气中干燥 2 天制备的, 主峰在表 19 列出。

[1379] 表 19. 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS3 的主要 XRPD 峰

[1380]

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	$I/\%$
4.81	18.36	17
5.43	16.25	100
10.30	8.58	48
11.24	7.87	24
12.94	6.84	5
13.98	6.33	7
14.26	6.21	26

[1381]

14.91	5.94	33
15.62	5.67	12
16.41	5.40	56

17.53	5.05	26
18.38	4.82	28
18.61	4.76	40
19.01	4.66	22
19.38	4.58	10
19.92	4.45	30
20.27	4.38	13
20.71	4.28	6
21.19	4.19	9
21.77	4.08	31
22.67	3.92	20
23.79	3.74	19
24.23	3.67	27
25.36	3.51	21
27.38	3.25	6
28.82	3.09	9

[1382] 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS4

[1383] 形式 FS4 是稳定形式, 只见于形式 FS2 在温暖和潮湿环境 (40°C, 75% RH) 中转化的产物。形式 FS4 样品的 XRPD 图显示于图 20, 该样品是将形式 FS2 在 40°C 和 75% RH 培养几周制备的, 主峰在表 20 列出。

[1384] 表 20. 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS4 的主要 XRPD 峰

[1385]

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	$I/\%$
4.64	19.03	4
7.16	12.34	39
7.48	11.80	100
7.97	11.08	29
8.42	10.49	13
8.82	10.02	34
9.09	9.73	29
9.37	9.43	35
10.45	8.46	30
11.77	7.51	53
13.25	6.68	17
13.54	6.54	16
14.36	6.16	24
15.03	5.89	13
16.21	5.46	21
16.99	5.22	33
17.28	5.13	31
17.59	5.04	30
17.96	4.93	19
18.90	4.69	24

[1386]

19.43	4.57	10
19.83	4.47	8
21.36	4.16	12
23.13	3.84	31
23.68	3.75	28
23.96	3.71	32
24.77	3.59	18
25.64	3.47	17
26.19	3.40	14
26.73	3.33	13
27.20	3.28	11
27.76	3.21	17
28.64	3.11	9

[1387] 化合物(1)硫酸盐-形式FS5

[1388] 形式 FS53 是稳定形式, 可见于形式 FS2 在空气中老化和形式 FS4 在干燥环境 (20°C, 11% RH) 中转化的产物。形式 FS5 样品的 XRPD 图显示于图 21, 该样品是让形式 FS2 空气中干燥 2 天制备的, 主峰在表 21 列出。

[1389] 表 21. 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS5 的主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
4.70	18.80	19
7.11	12.42	56
7.99	11.05	100
9.33	9.47	42
9.57	9.23	29
10.45	8.46	54
11.64	7.60	30
13.27	6.67	62
14.28	6.20	20
14.65	6.04	13
15.12	5.86	14
15.60	5.67	24
16.98	5.22	88
17.65	5.02	22
18.01	4.92	35
18.80	4.72	48
19.32	4.59	17
19.83	4.47	13
21.08	4.21	18
23.21	3.83	39
23.51	3.78	23
23.92	3.72	36
24.30	3.66	19
25.06	3.55	22
26.24	3.39	37
27.28	3.27	13

[1390]

[1391]

28.67	3.11	18
-------	------	----

[1392] 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS6

[1393] 在晶型筛选过程中在多种不同结晶试验中鉴定了形式 FS6。它在空气中稳定, 但在温暖潮湿环境 (40°C, 75% RH) 中转化为形式 FS3。

[1394] 在室温下制备化合物 (1) 的 1 : 1 硫酸盐 (通过使化合物 (1) 溶于 H₂SO₄ 并蒸发至干制备) 在 DMF 中的饱和溶液。用大约 4 体积甲苯缓慢沉淀得到形式 FS6。FS6 的 XRPD 图显示于图 22, 主峰在表 22 列出。

[1395] 表 22. 化合物 (1) 硫酸盐 - 形式 FS6 的主要 XRPD 峰

[1396]

2 θ /°	d/Å	I/%
4.82	18.32	100
9.98	8.86	32
11.35	7.79	9
12.92	6.85	4
14.45	6.13	36
15.38	5.76	17
16.97	5.22	19
17.52	5.06	7
18.18	4.87	15
19.42	4.57	9
20.23	4.39	16
20.93	4.24	13
21.31	4.17	5
21.66	4.10	5
21.89	4.06	7
22.29	3.98	17
22.84	3.89	8
23.04	3.86	6
23.94	3.71	4
24.51	3.63	4
25.26	3.52	9
29.18	3.06	7

[1397] 实施例 11

[1398] 抗真菌活性的确定

[1399] 用以下方案确定式 (I) 化合物的抗真菌活性。

[1400] 测试化合物抗一组真菌的活性,包括近平滑念珠菌 (*Candida parapsilosis*)、热带念珠菌 (*Candida tropicalis*)、白色念珠菌 (*Candida albicans*) - ATCC 36082 和新型隐球菌 (*Cryptococcus neoformans*)。使测试生物体保持在 4℃ 的 Sabourahd Dextrose Agar 斜面上。使酵母在酵母-氨基酸肉汤 (YNB) 中在旋转筒上 27℃ 生长过夜制备每种生物体的单纯混悬液,该肉汤含有氨基酸 (Difco, Detroit, Mich.), pH 7.0 和 0.05 吗啉丙磺酸 (MOPS)。然后将混悬液离心,用 0.85% NaCl 洗涤 2 次,接着对洗涤细胞混悬液声处理 4 秒 (Branson Sonifier, model 350, Danbury, Conn.)。在血细胞计数仪中对单纯芽生孢子计数,用 0.85% NaCl 调节至所需浓度。

[1401] 用经过修改的肉汤微稀释法确定待测化合物的活性。将待测化合物稀释在 DMSO 中达到 1.0mg/ml 比率,然后以 64 μ g/ml 稀释在具有 MOPS (用氟康唑作为对照) 的 YNB 肉汤 pH 7.0 中,得到每种化合物的工作溶液。使用 96 孔板,用 YNB 肉汤准备第 1 孔和 3-12 孔,在第 2-11 孔放入稀释 10 倍的化合物溶液 (浓度范围是 64-0.125 μ g/ml)。用第 1 孔作为无菌对照,用作分光光度测定的空白。第 12 孔作为生长对照。用第 2-11 孔内各 10 μ l 培养接种微量滴定板 (最终接种量为 104 个生物体 /ml)。将接种板在 35℃ 培养 48 小时。用涡旋混合器 (Vorte-Genie 2Mixer, Scientific Industries, Inc., Boemia, N. Y.) 将各板搅拌 2 分钟后,通过测量 420nm 的吸光度 (Automatic Microplate Reader, DuPont Instruments, Wilmington, Del.), 用分光光度计确定 MIC 值。将与对照孔相比生长减少大约 50% (或以上) 的最低药物浓度视为 MIC 终点。使用浊度测定时,将 MIC 终点限定为孔内浊度 < 50% 对照的最低药物浓度 (IC₅₀)。通过将所有各孔从 96 孔板再培养至 Sabourahd Dextrose

Agar (SDA) 板, 在 35℃ 培养 1-2 天, 然后检测活力, 确定最小细胞溶解浓度 (MCC)。

[1402] 实施例 12

[1403] 减轻疼痛或预防疼痛的活性的测试方法

[1404] (i) 炎性痛觉过敏测试

[1405] 可用大鼠炎性疼痛模型检测机械痛觉过敏。用 analgesymeter (Ugo Basile, Milan) 通过 Randal-Sellito 法测量未试验动物对逐渐增加的压力刺激的缩爪阈值, 然后将全部弗氏完全佐剂 (FCA) 跖内注入左后爪。24 小时后, 在给予药物或溶媒之前 (给药前) 和之后的 10 分钟至 6 小时再测量缩爪阈值。根据下式计算同侧爪痛觉过敏的逆转:

[1406]

$$\text{逆转 \%} = \frac{\text{给药后阈值} - \text{给药前阈值}}{\text{未试验动物阈值} - \text{给药前阈值}} \times 100$$

[1407] (ii) 神经性痛觉过敏测试

[1408] 可在部分结扎左坐骨神经引起的神经性疼痛大鼠模型中检测机械痛觉过敏。手术后大约 14 天, 在给予药物或溶媒之前 (给药前) 和之后的 10 分钟至 6 小时测量结扎 (同侧) 和未结扎 (对侧) 爪的机械退缩阈值。根据下式计算每个时间点痛觉过敏的逆转:

[1409]

$$\text{逆转 \%} = \frac{\text{给药后同侧阈值} - \text{给药前同侧阈值}}{\text{给药前对侧阈值} - \text{给药前同侧阈值}} \times 100$$

[1410] 所有试验都用每组 6 只动物进行。使贮备浓度的药物溶于蒸馏水中, 接着稀释在 0.9% 盐水中, 以 4ml kg^{-1} 的体积皮下给药。所有药物都装在塑料瓶内, 避光保存。

[1411] 用反复测量的 ANOVA 和 Tukey's HSD 检验对退缩阈值读数 (g) 进行统计学分析。功效指在所用剂量观察到痛觉过敏的最大逆转。

[1412] (iii) 测试式 (0) 化合物对大鼠骨癌疼痛模型的作用

[1413] 为成年雌性大鼠胫骨内注射 MRMZ-1 大鼠乳腺癌细胞 (3×10^7 个细胞 /ml)。动物通常逐渐出现机械痛觉过敏、机械异常疼痛 (对非有害刺激的皮肤敏感性) 和后肢保留 (hind limb sparing), 在注射细胞后第 12-14 天开始。从注射细胞当天开始每周 3 次给予式 (0) 化合物 (如剂量为 10 和 $30 \mu\text{g/kg s.c.}$), 确定与溶媒处理的对照相比, 后肢保留和机械异常疼痛的抑制程度。

[1414] 等同物

[1415] 上述实施例用于解释本发明, 不应视为对本发明范围施加任何限制。很容易理解可在不脱离本发明原则的情况下, 对上文描述和实施例举例说明的本发明的具体实施方案进行多种修饰和变更。所有此类修饰和变更都意欲包括在本申请内。

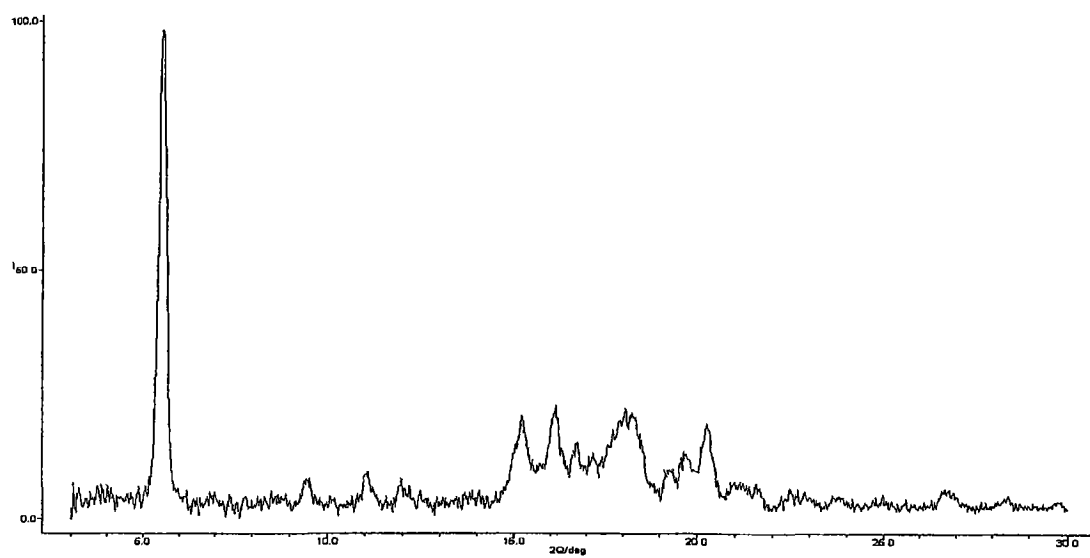


图 1

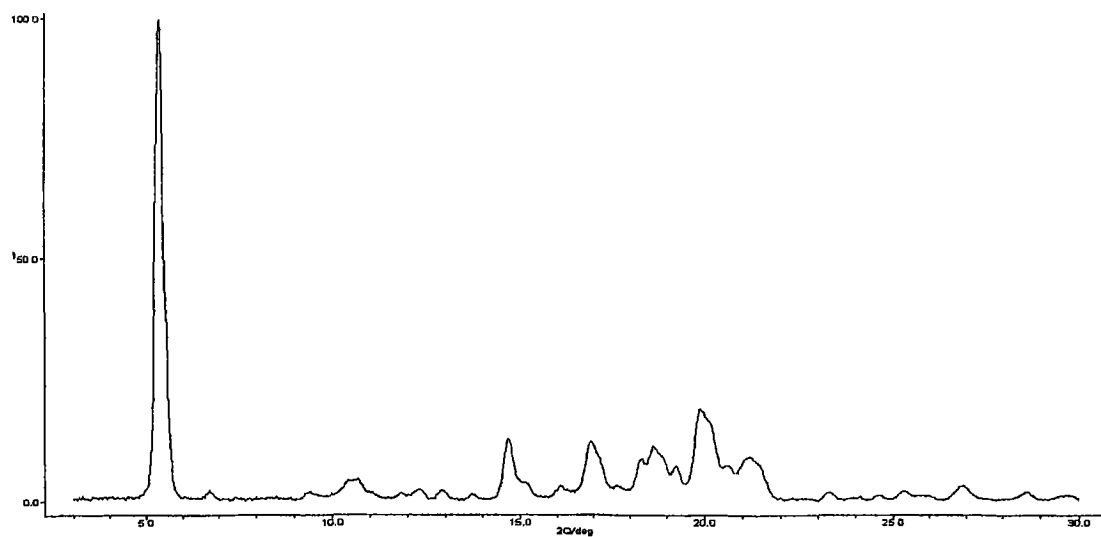


图 2

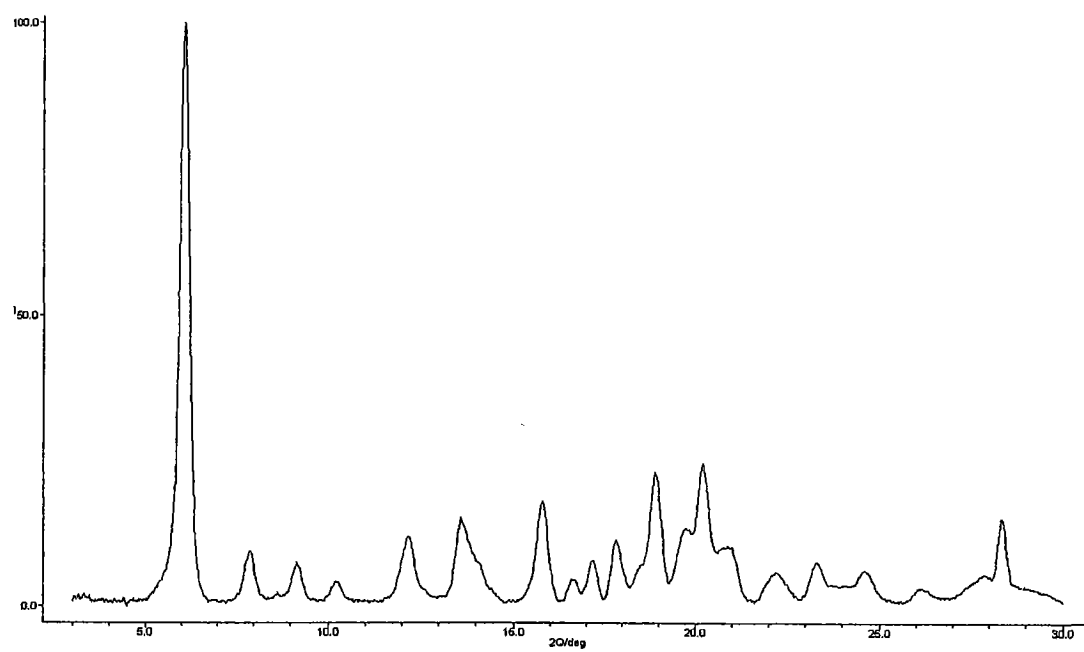


图 3

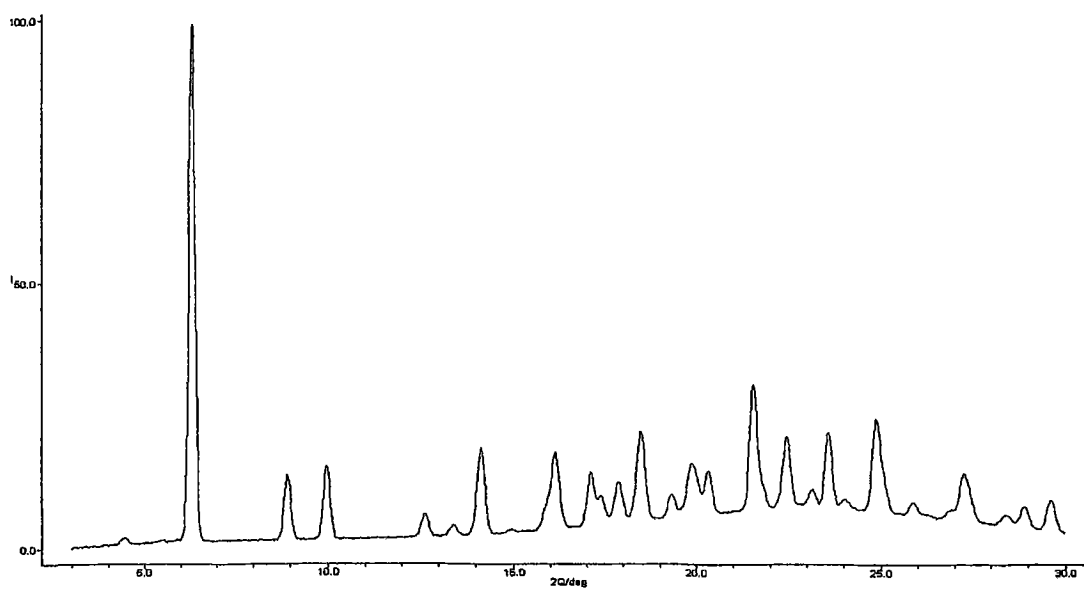


图 4

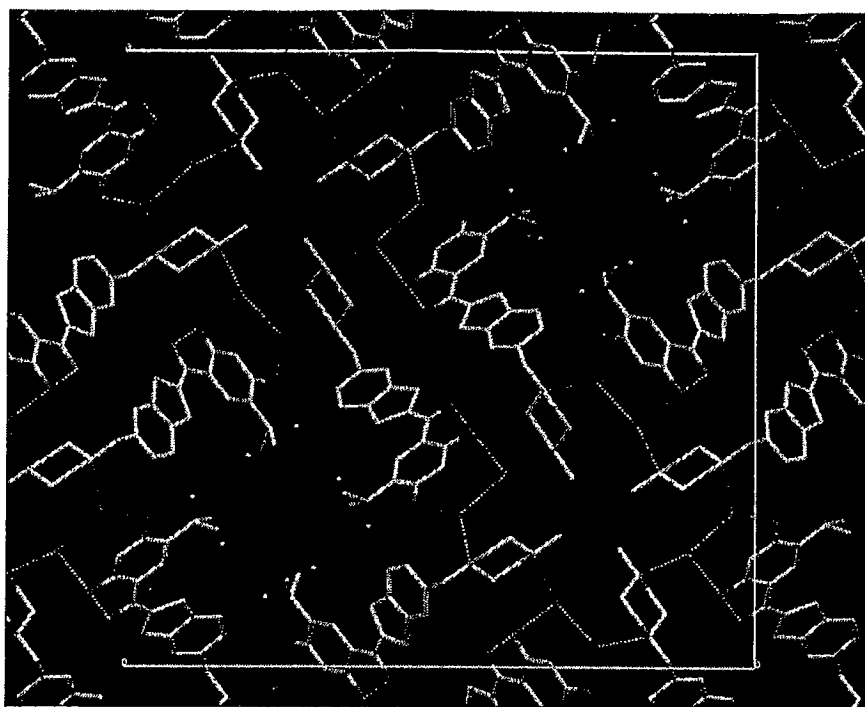


图 5

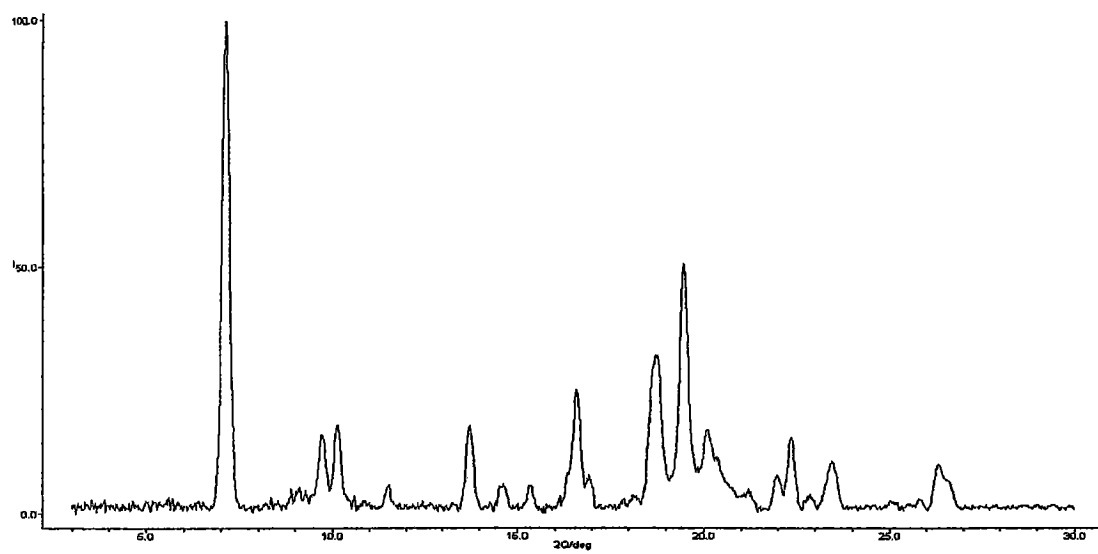


图 6

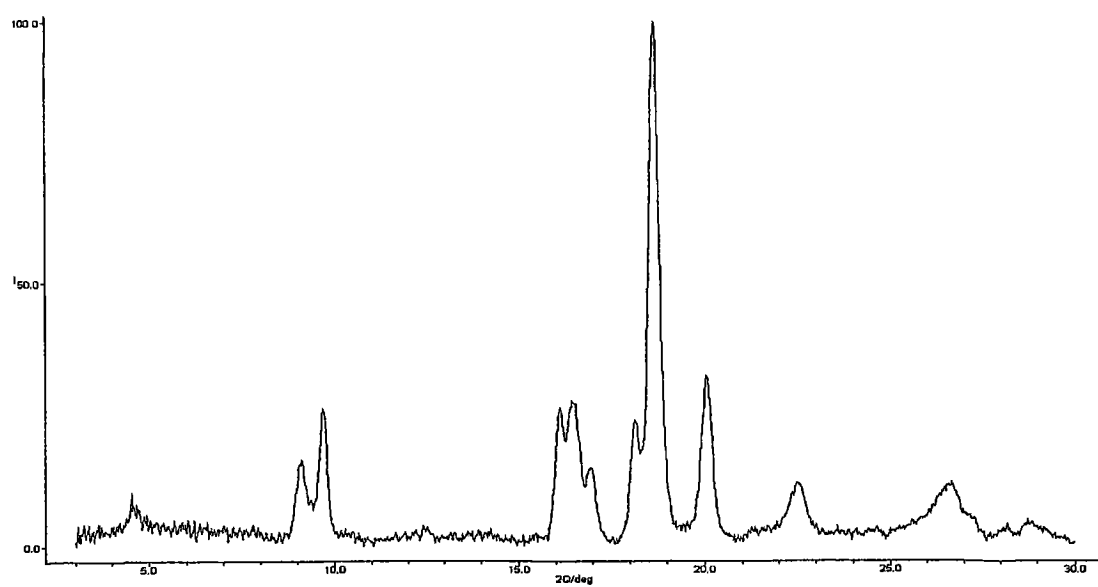


图 7

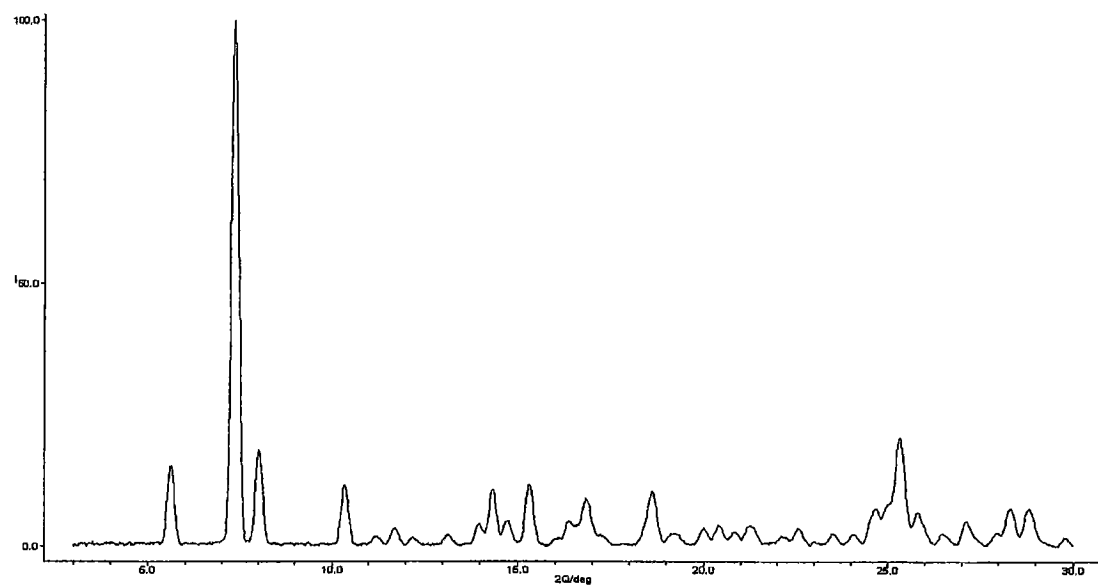


图 8

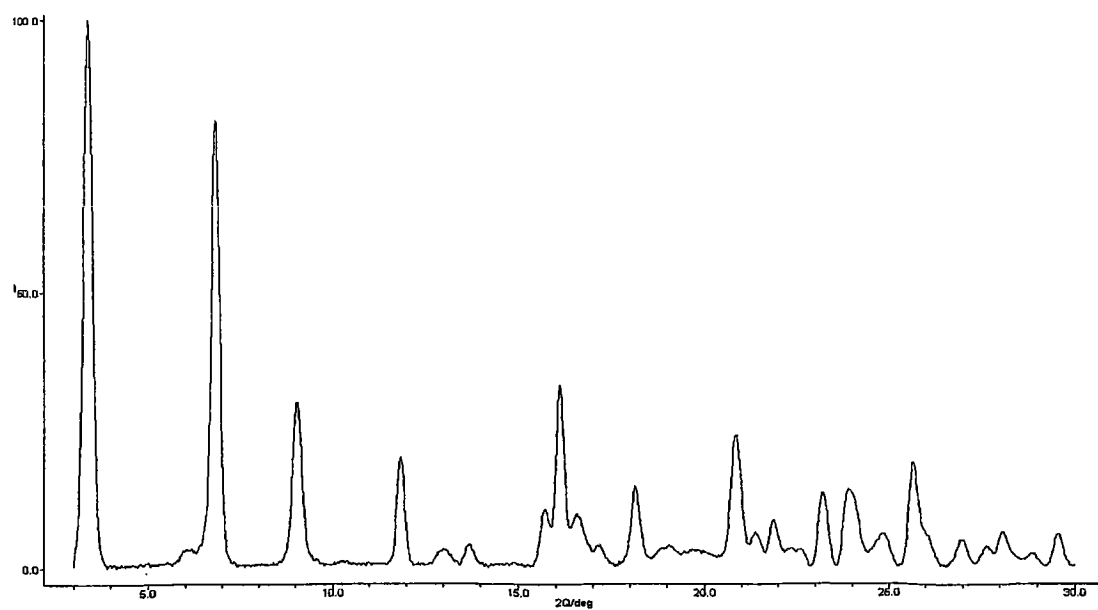


图 9

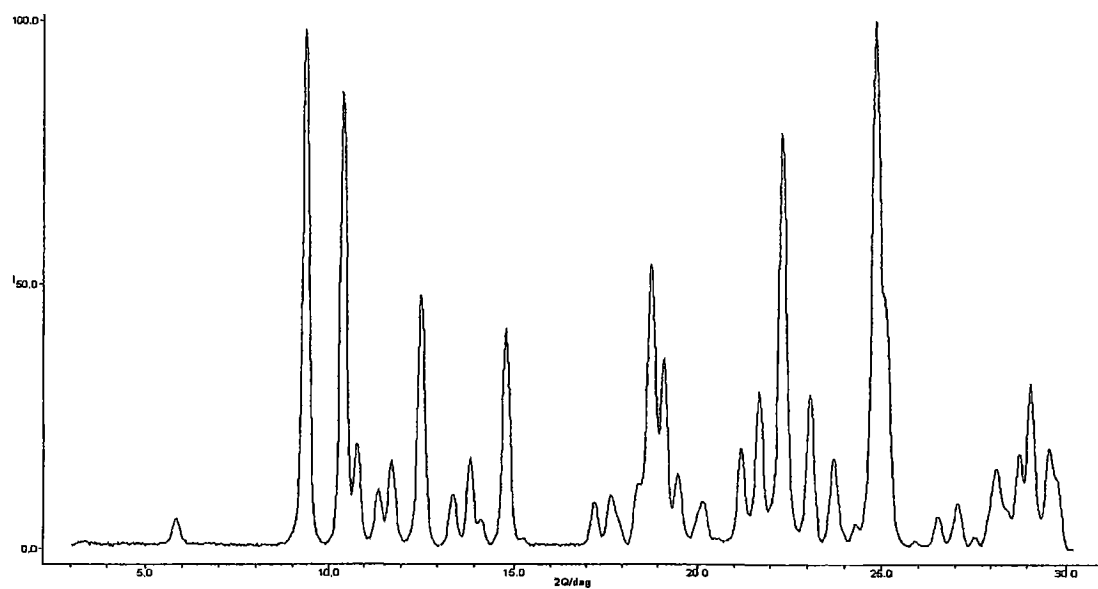


图 10

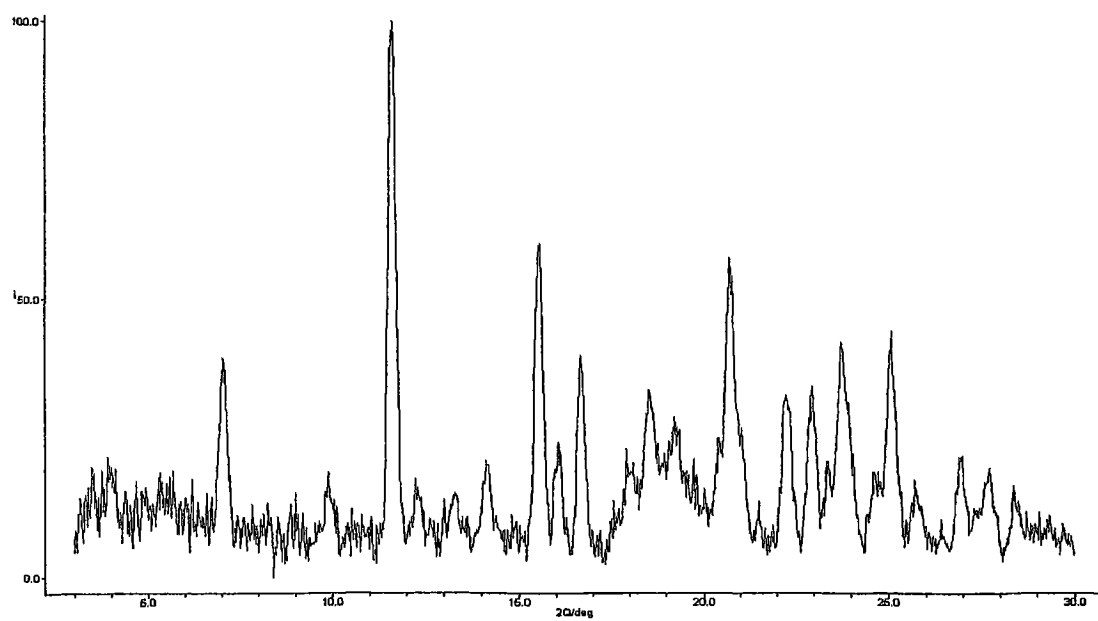


图 11

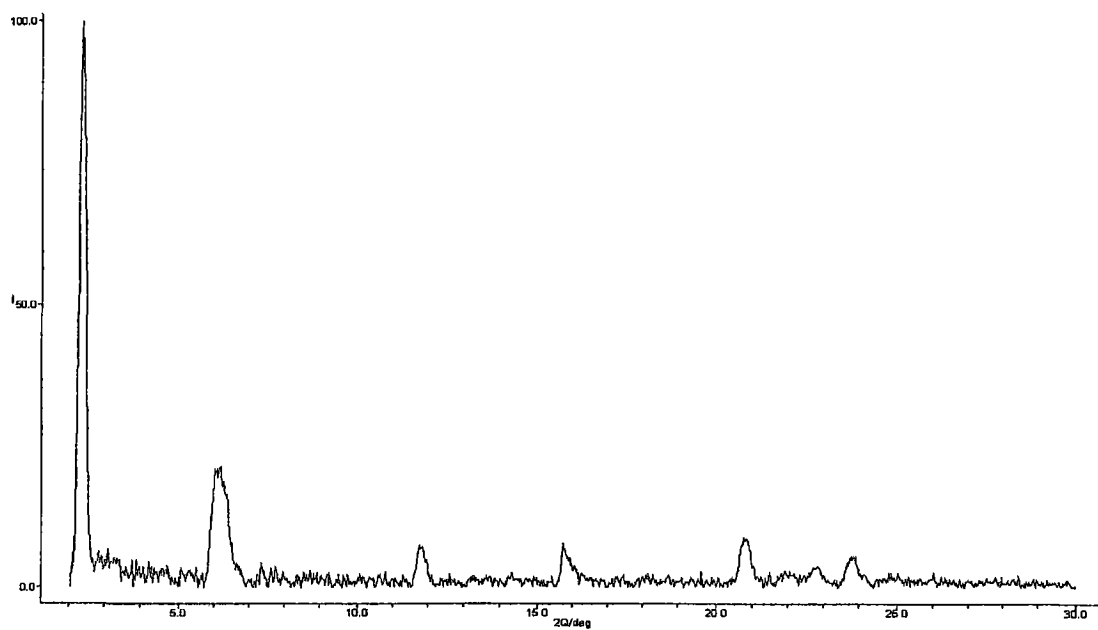


图 12

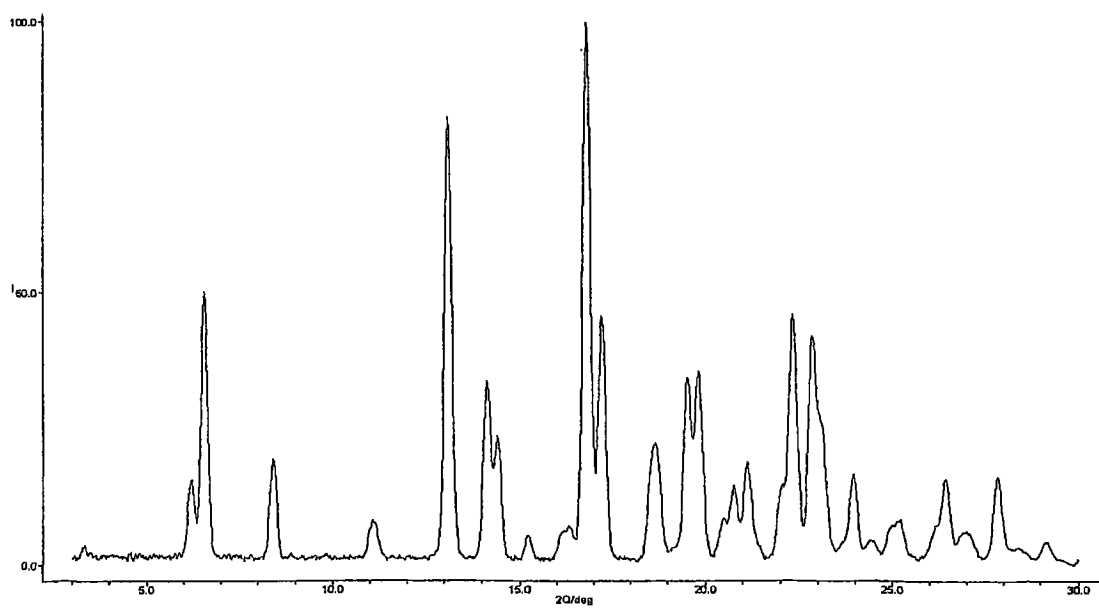


图 13

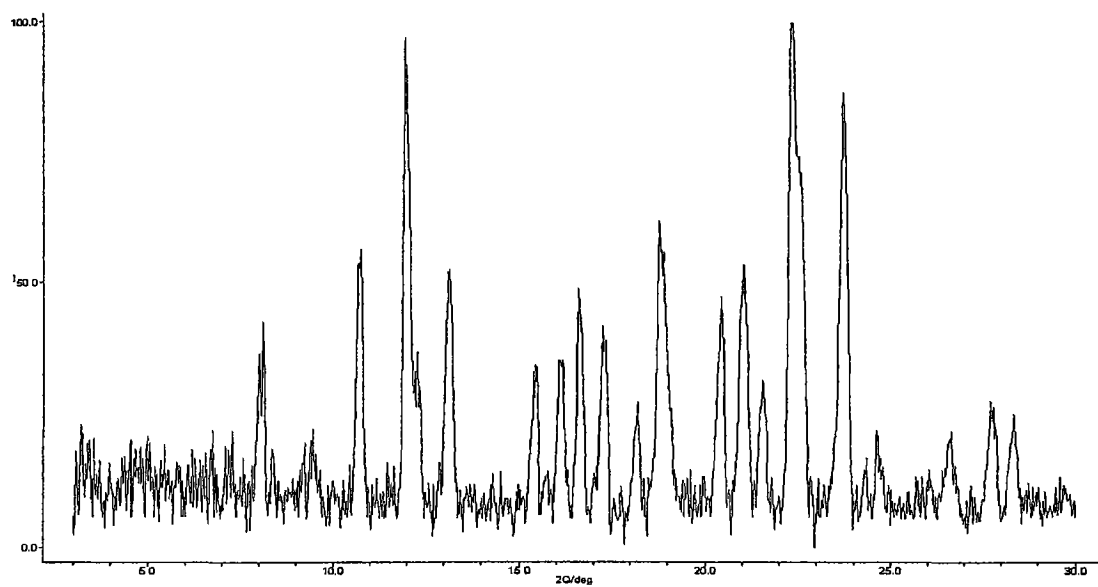


图 14

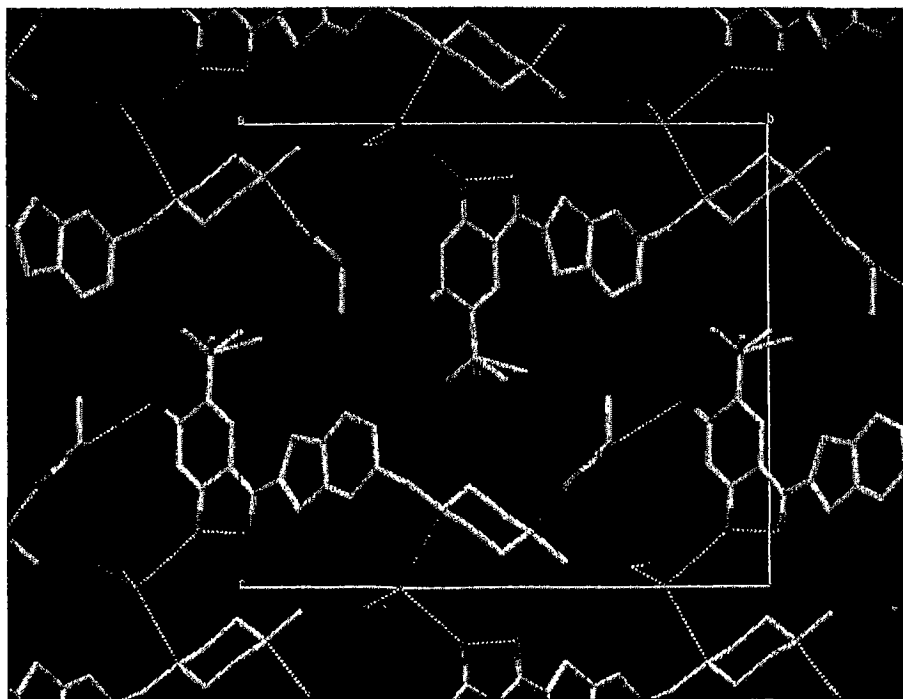


图 15

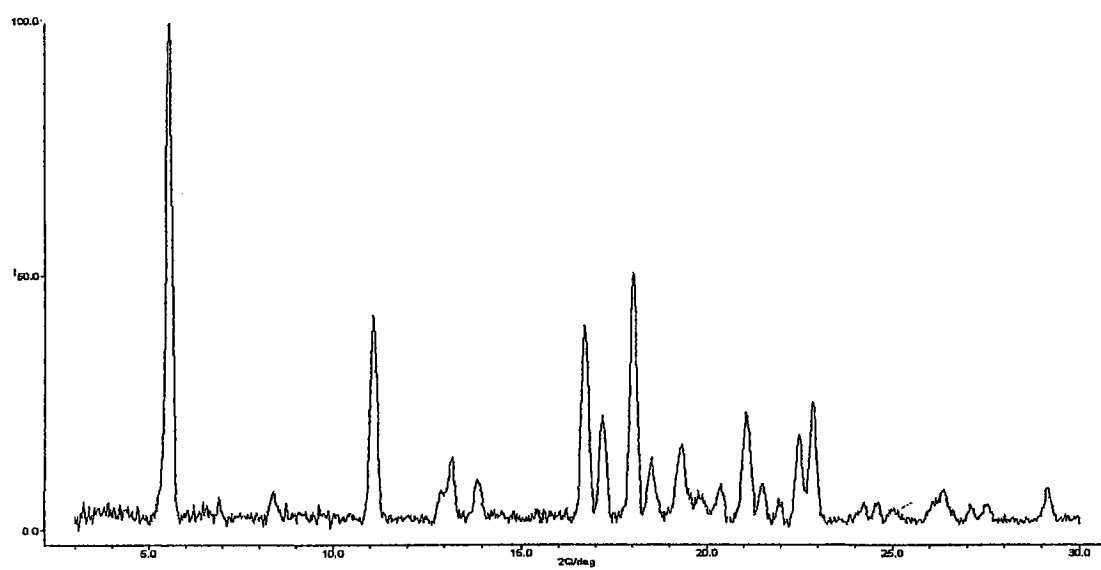


图 16

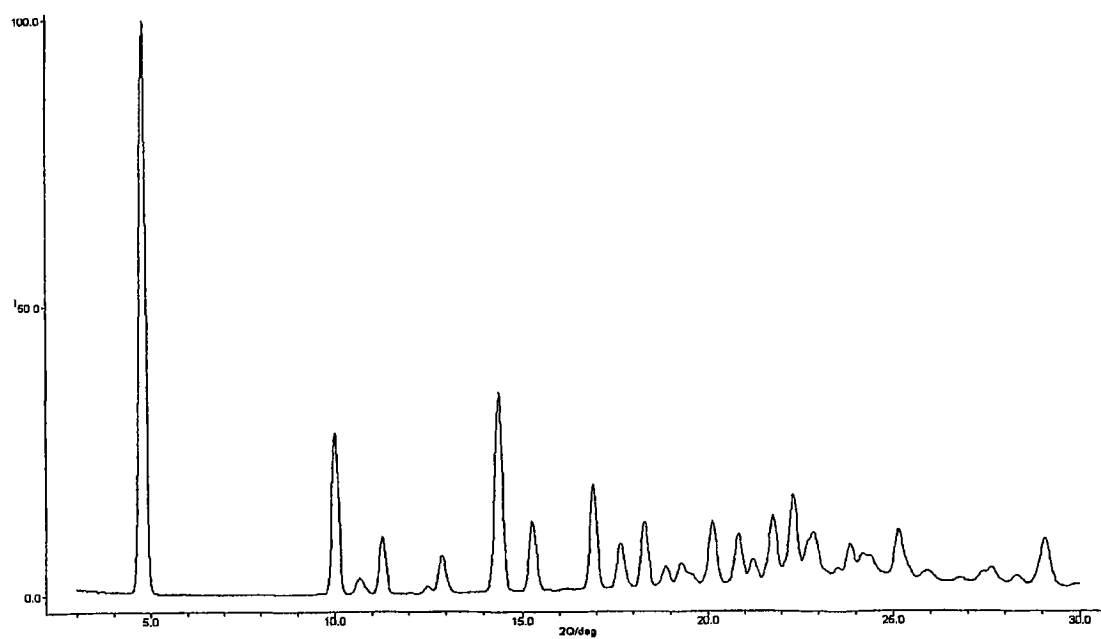


图 17

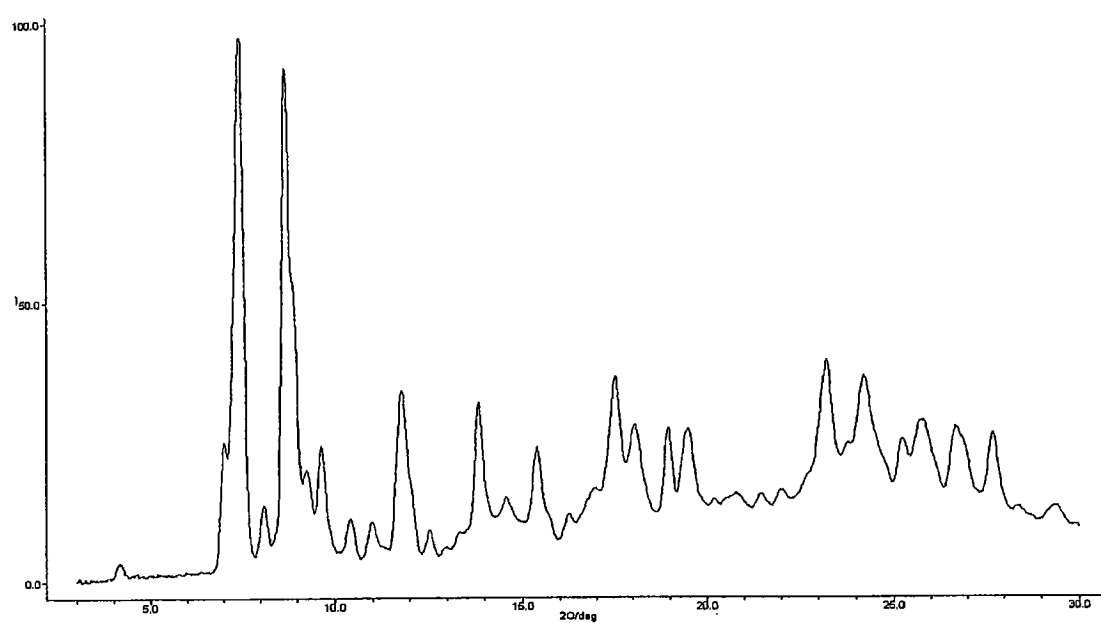


图 18

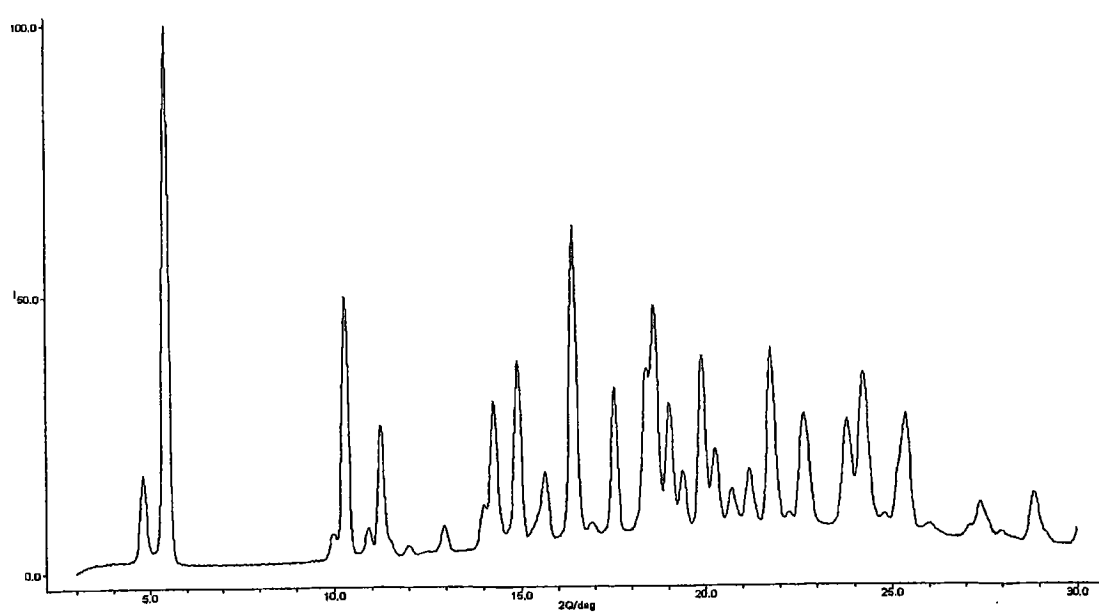


图 19

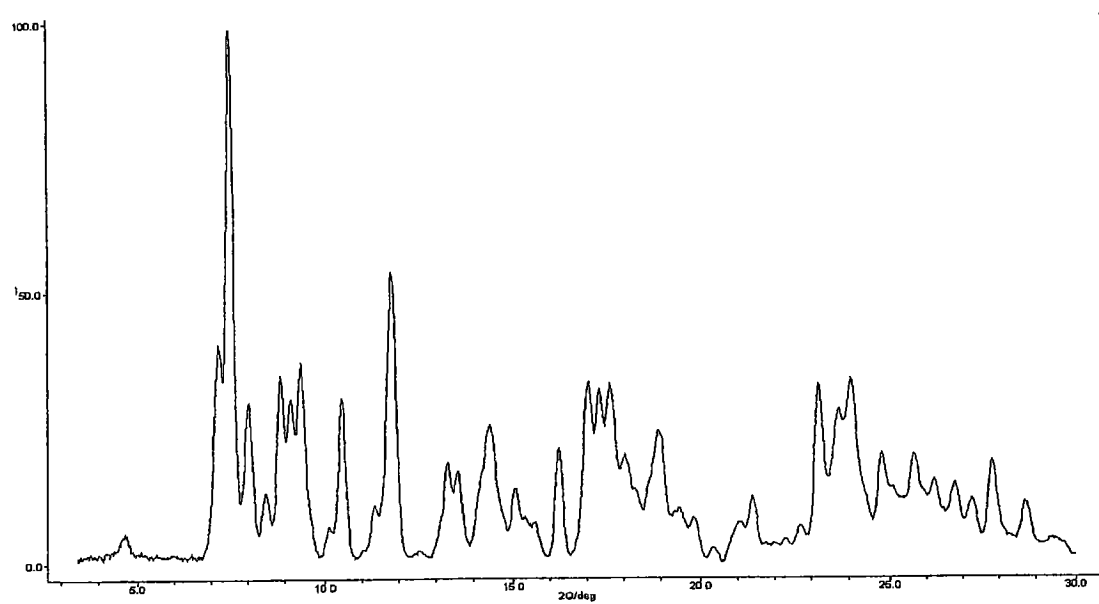


图 20

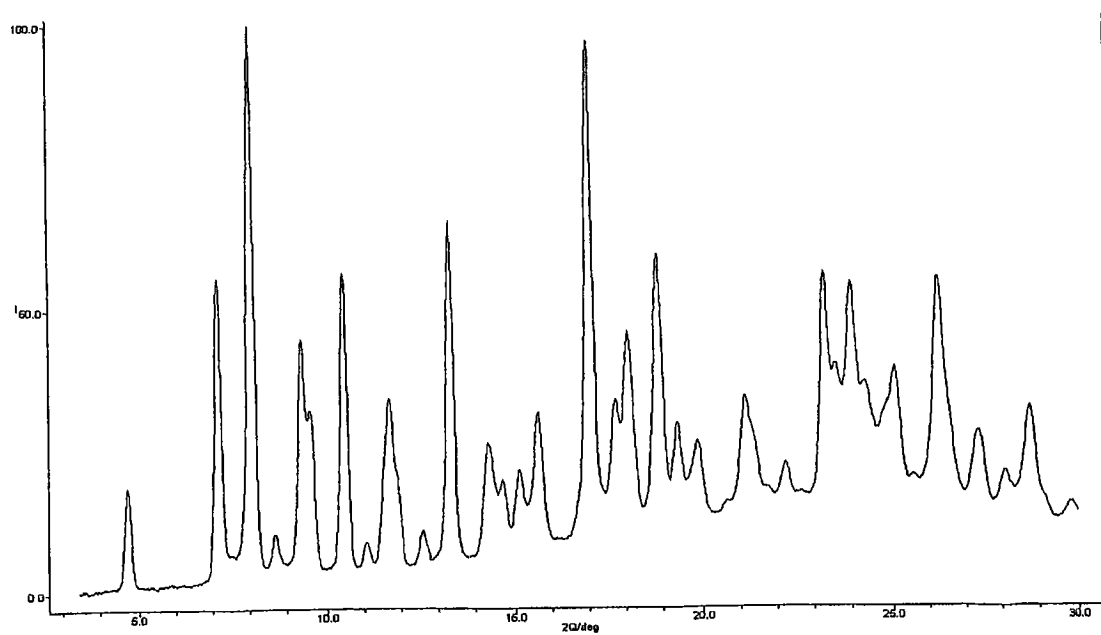


图 21

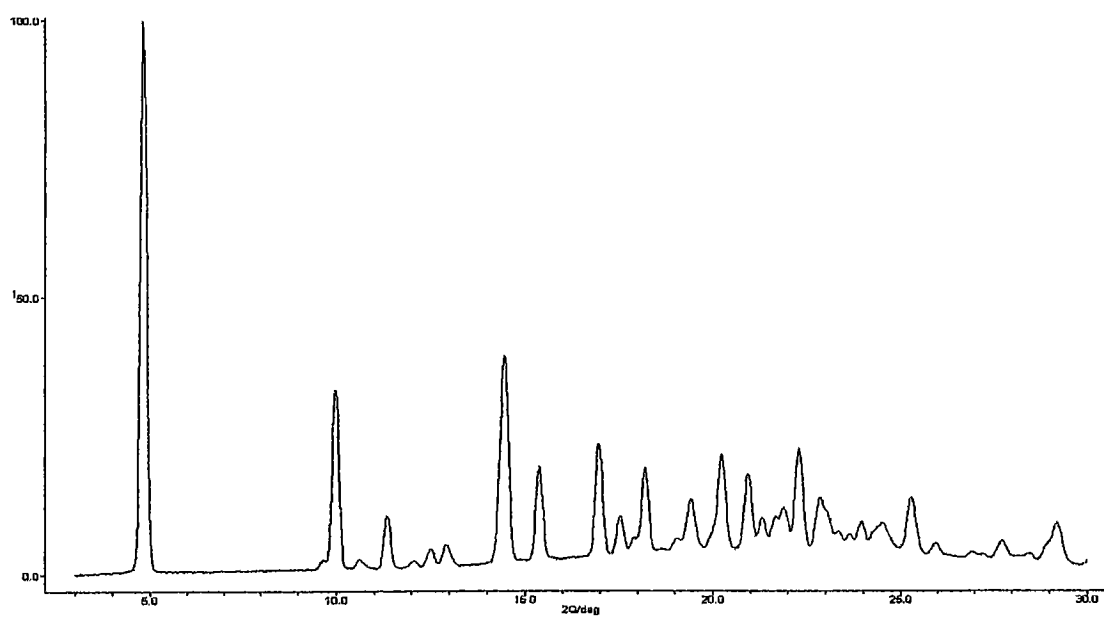


图 22