

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：095148355

※ 申請日期：95.12.22

※IPC 分類：

C07D 403/06 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61K 31/551 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

經芳基取代之喹唑酮及其用途

ARYL-SUBSTITUTED QUINAZOLONES, AND USES THEREOF

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

普羅雷克西斯製藥公司

Prolexys Pharmaceuticals, Inc.

代表人：(中文/英文)

蘇德西爾 沙哈斯拉布德

SAHASRABUDHE, SUDHIR

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國猶他州 84116 鹽湖城西冬特利斯大道 2150 號

2150 West Dauntless Avenue, Salt Lake City, Utah 84116, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

美國 / U.S.A.

三、發明人：(共 6 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 齊龍武 / QI, LONGWU

2. 雷伊 歌波 溫卡特 / VENKAT, RAJ GOPAL

3. 麥可 皮爾斯 / PIERCE, MICHAEL

4. 保羅 B 羅賓斯 / ROBBINS, PAUL B.

5. 蘇德西爾 沙哈斯拉布德 / SAHASRABUDHE, SUDHIR R.

6. 羅伯特 賽利亞 / SELLIAH, ROBERT

..

國 籍：(中文/英文)

- 1.中國大陸 / CHINA
- 2.印度 / INDIA
- 3.美國 / U.S.A.
- 4.美國 / U.S.A.
- 5.美國 / U.S.A.
- 6.美國 / U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，
其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國、2005.12.22、60/753,801

2. 美國、2006.07.27、60/833,855

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

相關申請案

本申請案主張美國臨時申請案號 60／753,801（申請於 2005 年 12 月 22 日）和 60／833,855（申請於 2006 年 7 月 27 日）的權益，該等申請案之內容以引用方式納入本文中。

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關用於抑制細胞增生（例如使用於治療或預防癌）之化合物。

【先前技術】

發明背景

許多為了治療疾病而投予之藥物是針對生病細胞和正常細胞之間的一般差異。例如，用以治療卵巢癌和乳癌及抑制微管功能之紫杉醇（paclitaxel）被認為是顯示腫瘤細胞特異性，其係根據腫瘤細胞相對於正常細胞之較大增生速率（Miller 和 Ojima，Chem. Rec. 1：195-211，2002）。然而，儘管有此一致見解，紫杉醇的活體外活性在腫瘤細胞株之間廣泛地改變（Weinstein 等人，Science 275：343-349，1997），指示遺傳因子可修飾腫瘤細胞對紫杉醇之敏感性和腫瘤細胞之反應性不單單是由其增生之速率決定。

分子標靶治療代表一種有希望的抗癌藥物發現之新穎方法（Shawver 等人，Cancer Cell 1：117-23，2002）。使用此方法，小分子被設計成直接抑制在特定腫瘤細胞類型

中突變或過表現之非常致癌蛋白質。藉由標靶在腫瘤細胞內所發現之特定分子缺陷，此方法最後可產生切合每個腫瘤基因組成（genetic makeup）之治療法。二個最近成功的分子標靶抗癌治療法之例子為基利克（Gleevec）（伊馬替尼（imatinib）甲烷磺酸鹽），一種發現於費城染色體（Philadelphia chromosome）-陽性慢性骨髓性白血病之斷裂點叢集區（breakpoint cluster region）-艾貝森（abelsen）激酶（BCR-ABL）癌蛋白（oncoprotein）之抑制劑（Capdeville 等人，Nat Rev Drug Discov 1：493-502，2002）和賀癌平（Herceptin（曲妥珠單抗（trastuzumab）），一種針對發現於轉移性乳癌之 HER2／NEU 癌蛋白的單株抗體（Mokbel 和 Hassanally，Curr Med Res Opin 17：51-9，2001）。

一個補充的策略包括尋找僅在特定癌蛋白存在下或在特定腫瘤抑制劑不存在下變成對腫瘤細胞致命的基因型－選擇性抗腫瘤藥劑。該等基因型-選擇性化合物可直接標靶癌蛋白或它們可標靶其他涉及癌蛋白-連接的訊號網之決定性蛋白質。已經被報告為顯示合成致死性（synthetic lethality）之化合物包括（i）在缺乏 PTEN 的骨髓瘤細胞中的雷帕黴素（rapamycin）類似物 CCI-779（Shi 等人，Cancer Res 62：5027-34，2002），（ii）在 BCR-ABL-轉型細胞中的基利克（Druker 等人，NatMed 2：561-6，1996）和（iii）多種較少適當地定性之化合物（Stockwell 等人，ChemBiol6：71-83，1999；Torrance 等人，Nat Biotechnol 19：

940-5, 2001)。

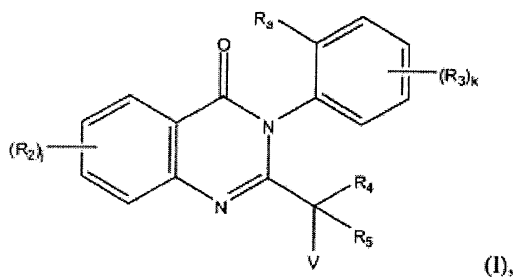
雖有上述所討論之研究，但對於發展及／或鑑定選擇性地標靶腫瘤細胞之化合物依然是相當需要的。

【發明內容】

發明概述

已鑑定許多可使用於治療或預防個體（例如需要治療或預防的人）之癌（例如，由於在 BRAF、HRAS、NRAS 或 KRAS 中突變而可以 Ras 路徑活性作用為特徵的腫瘤或白血病）的化合物／藥劑／藥物。如使用在本文中，術語“藥劑”和“藥物”可交換地使用；它們可為化合物或分子。

在一具體實例中，本發明提供一種以結構式 (I) 表示之化合物：



或其醫藥上可接受的鹽，其中：

R_a 為鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之芳基-O-、經取代或未經取代之烷基-O-、經取代或未經取代之烯基-O-或經取代或未經取代之炔基-O-，其中烷基、烯基和炔基視情況可被 NR、O 或 $S(O)_n$ 中斷；

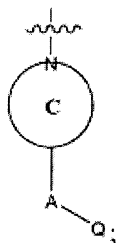
R_2 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷

基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{COOR}'$ 、 $-\text{CON}(\text{R})_2$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{OR}'$ 組成之群組；

R_3 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{COOR}'$ 、 $-\text{CON}(\text{R})_2$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{OR}'$ 組成之群組；

R_4 和 R_5 獨立地選自由 $-\text{H}$ 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之非芳族雜環和經取代或未經取代之芳基所組成之群組，其中烷基、烯基和炔基視情況可被 NR 、 O 或 $\text{S}(\text{O})_n$ 中斷；或 R_4 和 R_5 一起形成碳環或雜環基團；

V 為 $-\text{NH}-\text{L}-\text{A}-\text{Q}$ 或



環 C 為經取代或未經取代之雜環芳族或非芳族環；

A 為 NR 或 O ；或 A 為共價鍵；

L 為視情況可被一或多個選自 N 、 O 和 S 之雜原子中斷的經取代或未經取代之烴基 (hydrocarbyl) 基團；

Q 係選自由 $-\text{R}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 和 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ 組成之群組；

R 各自獨立地為 $-\text{H}$ 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代

或未經取代之芳基或經取代或未經取代之非芳族雜環；

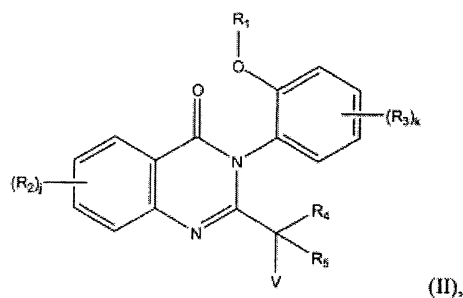
R' 各自獨立地為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基基團、經取代或未經取代之非芳族雜環或經取代或未經取代之芳基基團；

j 為從 0 至 4 之整數；

k 為從 0 至 4 之整數，其限制條件為 j 和 k 之至少一個為 1 至 4 之整數；及

n 各自獨立地 0、1 或 2。

在另一具體實例中，本發明提供一種以結構式 (II) 表示之化合物：



或其醫藥上可接受的鹽，其中：

R_1 為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基或經取代或未經取代之炔基，其各自視情況可被 NR 、 O 或 $S(O)_n$ 中斷；

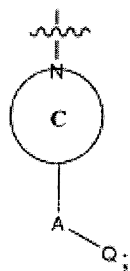
R_2 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、 $-CN$ 、 $-COOR'$ 、 $-CON(R)_2$ 、 $-NRC(O)R$ 、 $-SO_2N(R)_2$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 和 $-OR'$ 組成之群組；

R_3 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷

基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{COOR}'$ 、 $-\text{CON}(\text{R})_2$ 、 $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{OR}'$ 組成之群組；

R_4 和 R_5 獨立地選自由 $-\text{H}$ 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之非芳族雜環和經取代或未經取代之芳基所組成之群組，其中烷基、烯基和炔基視情況可被 NR 、 O 或 $\text{S}(\text{O})_n$ 中斷；或 R_4 和 R_5 一起形成碳環或雜環基團；

V 為 $-\text{NH}-\text{L}-\text{A}-\text{Q}$ 或



環 C 為經取代或未經取代之雜環芳族或非芳族環；

A 為 NR 或 O ；或 A 為共價鍵；

L 為視情況可經一或多個選自 N 、 O 和之 S 雜原子中斷的經取代或未經取代之烴基基團；

Q 係選自由 $-\text{R}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 和 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ 組成之群組；

R 各自獨立地為 $-\text{H}$ 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之芳基或經取代或未經取代之非芳族雜環；

R' 各自獨立地為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基基團、經取代

或未經取代之非芳族雜環或經取代或未經取代之芳基基團；

j 為從 0 至 4 之整數；

k 為從 0 至 4 之整數，其限制條件為 j 和 k 之至少一個為 1 至 4 之整數；及

n 各自獨立地 0、1 或 2。

本發明之化合物可與醫藥上可接受之載體一起調配成醫藥組成物。

在本發明之另一觀點中，本發明係有關選擇性地殺死或抑制腫瘤細胞之生長（對腫瘤細胞是有毒的）的本文中所示之化合物。

在另一具體實例中，本發明提供治療哺乳動物之症狀的方法，其包含將治療有效量的本發明化合物投予至哺乳動物。

適當藥劑可於所存在之形式或在完全或部分代謝之後具有所述之活性。

在某些觀點中，化合物藉由細胞凋亡或非細胞凋亡機制殺死細胞。

在某些觀點中，細胞具有增加之 Ras 路徑活性（例如，RasV12）。

在某些觀點中，該症狀為癌。

本發明之另一觀點提供一種殺死細胞、促進細胞死亡或抑制細胞增殖的方法，其包含將有效量的本發明化合物投予至細胞。適當藥劑可於其所存在形式或在完全或部分

代謝之後具有所述之活性。在某些具體實例中，細胞為癌細胞。

在一具體實例中，本發明為一種減少腫瘤生長速率的方法，其包含投予足以減少腫瘤生長速率的量之治療劑，其中治療劑為本發明之化合物。適當藥劑可於所存在之形式或在完全或部分代謝之後具有所述之活性。

在一觀點中，本發明為一種治療罹患癌之病人的方法，其包含將有效量的本發明之化合物投予至病人。適當藥劑可於所存在之形式或在完全或部分代謝之後具有所述之活性。

在另一觀點中，本發明為一種增加腫瘤細胞對化學治療劑之敏感性（例如，相加或加乘）的方法，其中腫瘤細胞與本文中所揭示之化合物接觸。在相關的觀點中，本發明為一種減少正常細胞對化學治療劑之敏感性的方法，其中正常細胞與本文中所揭示之化合物接觸。

在一具體實例中，本發明為一種鑑定可能對用本發明之化合物治療有反應之病人的方法。使用該技藝中已知的標準示性方法，鑑定為具有顯示一或多個下列屬性之贅瘤的病人被預期為有反應的：以一或多個路徑成員（例如磷酸化 Erkl/2、磷酸化 MEK 等等）之活化作用為特徵的異常 Ras 訊號路徑活性，及／或基因表現輪廓(gene expression profile)及／或相似或相同基因型之細胞株活體外或活體內暴露於本發明之化合物的敏感性。

在另一具體實例中，本發明為一種進行醫藥業務之方

法，其包括：

(a) 鑑定用於抑制細胞增生之候選治療劑，其中候選治療劑為本文中所揭示之化合物，

(b) 進行步驟 (a) 中所鑑定之候選治療劑在動物中的效能和毒性之治療輪廓 (profiling)；及

(c) 調配一種包括一或多個步驟 (b) 中鑑定為具有可接受之治療輪廓的候選治療劑的醫藥製劑。

取代或除了步驟 (b) 和 (c) 之一或二者，該方法可包括授權第三者進一步發展候選治療劑之權利。在另一具體實例中，進行藥物發現業務之方法包含建立一用於配銷醫藥製劑之配銷系統。視情況地，建立一銷售集團以行銷該醫藥製劑。

本發明進一步提供包裝醫藥。在一具體實例中，包裝醫藥包含：(i) 治療有效量的本文中所揭示之化合物；和 (ii) 投予該藥劑治療患有癌之病人的指示、標籤或二者。指示或標籤可儲存於可被電腦讀取之電子媒體例如 CD、DVD、磁片、記憶卡、等等中。

本發明進一步提供本文中所揭示之化合物於製造治療癌之藥物用途。

在某些具體實例中，本發明之方法尚包含共同投予一或多種藥劑，例如經由細胞凋亡機制典型地殺死細胞之化學治療劑。適合使用於減少腫瘤之生長速率和治療罹患癌之病人的藥劑包括（但不限制於）小有機分子類、肽類、蛋白質類、擬肽類 (peptidomimetics)、核酸類、抗體和

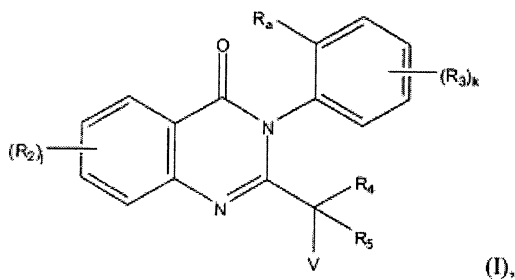
其組合。

意欲本發明的所有具體實例可與一或多個其他具體實例，甚至該等描述在本發明的不同觀點下者組合。

【實施方式】

本發明之詳細說明

本發明也提供以結構式 (I) 表示之化合物，其中化合物適合使用於本文中所揭示之方法和組成物：



或其醫藥上可接受的鹽，其中：

R_a 為鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之芳基-O-、經取代或未經取代之烷基-O-、經取代或未經取代之烯基-O-或經取代或未經取代之炔基-O-，其中烷基、烯基和炔基視情況可被 NR、O 或 $S(O)_n$ 中斷；

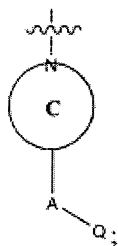
R_2 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、-CN、-COOR'、-CON(R)₂、-NRC(O)R、-SO₂N(R)₂、-N(R)₂、-NO₂、-OH 和 -OR' 組成之群組；

R_3 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、-CN、-COOR'、-CON(R)₂、-NRC(O)R、-SO₂N(R)₂、

$-\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{OR}'$ 組成之群組；

R_4 和 R_5 獨立地選自由 $-\text{H}$ 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之非芳族雜環和經取代或未經取代之芳基所組成之群組，其中烷基、烯基和炔基視情況可被 NR 、 O 或 $\text{S}(\text{O})_n$ 中斷；或 R_4 和 R_5 一起形成碳環或雜環基團；

V 為 $-\text{NH}-\text{L}-\text{A}-\text{Q}$ 或



環 C 為經取代或未經取代之雜環芳族或非芳族環；

A 為 NR 或 O ；或 A 為共價鍵；

L 為視情況可被一或多個選自 N 、 O 和 S 之雜原子中斷的經取代或未經取代之烴基基團；

Q 係選自由 $-\text{R}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 和 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ 組成之群組；

R 各自獨立地為 $-\text{H}$ 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之芳基或經取代或未經取代之非芳族雜環；

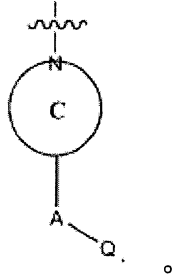
R' 各自獨立地為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基基團、經取代或未經取代之非芳族雜環或經取代或未經取代之芳基基團；

j 為從 0 至 4 之整數；

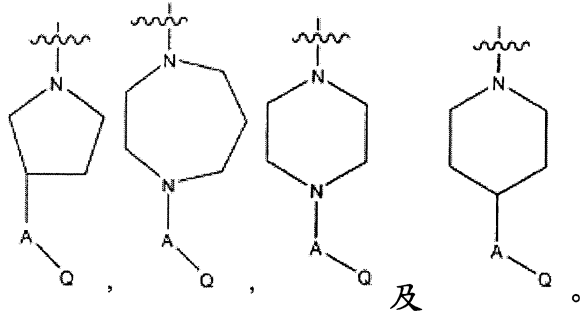
k 為從 0 至 4 之整數，其限制條件為 j 和 k 之至少一個為 1 至 4 之整數；及

n 各自獨立地 0、1 或 2。

對於某些本發明之化合物，V 為

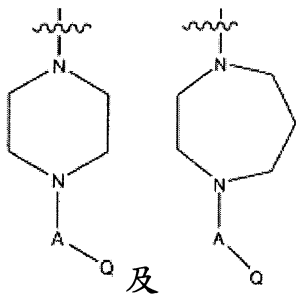


上述結構所包含之 V 的適當例子包括

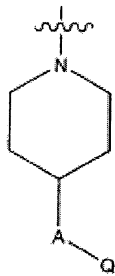


當 V 為以這些結構之一表示時，A 典型地為共價鍵或 NR。

V 之特別適合的例子為

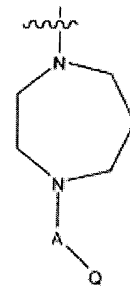


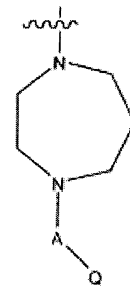
其中 A 為共價鍵；和



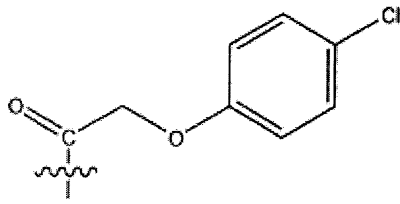
其中 A 為 NR。

在某些具體實例中，A 為共價鍵和 Q 為 -R。當 Q 為 -R 時，Q 典型地為 -H 或經取代或未經取代之烷基基團（例如，甲



基、乙基）。在某些該等具體實例中，V 為 ，A 為共價鍵和 Q 為 -H、甲基或乙基，特別是甲基。

在某些具體實例中，本發明化合物（特別是其中 V 如上所表示之化合物）中之取代基 -Q 為鹽基基團。鹽基基團典型地為以 $-C(O)R'$ 表示，其中 R' 如上所定義。在某些具體實例中， $-C(O)R'$ 中之 R' 為經取代或未經取代之芳基或芳氧基烷基基團，特別是經取代或未經取代之苯基或苯氧基烷基基團例如經取代或未經取代之苯氧基甲基基團。苯基基團之適當取代基包括 C_{1-6} 烷基、 CF_3 、羥基、 C_{1-4} 烷氧基、芳基、芳氧基、鹵素、 $-N(R)_2$ 、硝基、羧酸、羧酸酯、和磺鹽基。苯氧基甲基基團之適當取代基包括鹵素，特別是氯。氯，當存在時，較佳為在苯基環之 4-位置，以產生如下所示之 -Q 基團：



在其中 V 以 -NH-L-A-Q 表示的化合物中，L 典型地為經取代或未經取代之伸烷基或聚（烷二醇）（例如，聚（乙二醇）、聚（丙二醇）。適當伸烷基的例子以 $-(CH_2)_j-$ 表示，其中 j 為從 1 至 6 之整數，例如 2 至 4。聚（烷二醇類）通常為 2-或 3-聚物(mers)。

R_4 和 R_5 典型地獨立為 -H 或經取代或未經取代之烷基基團（例如，烷基、烷氧基烷基、單-或二烷胺基烷基、芳烷基），特別是當 V（包括 A 和 Q）具有上述值時。更典型地， R_4 和 R_5 獨立為經取代或未經取代之 C_1 - C_4 烷基基團，特別是甲基。

R_1 典型地為經取代或未經取代之烷基基團，特別是未經取代之 C_1 - C_4 烷基基團（例如，甲基、乙基、正-丙基、異-丙基、正-丁基、第二-丁基、第三-丁基）。在一例子中， R_1 典型地為經取代或未經取代之烷基基團，當 R_4 、 R_5 和 V 具有如上所述之值時。

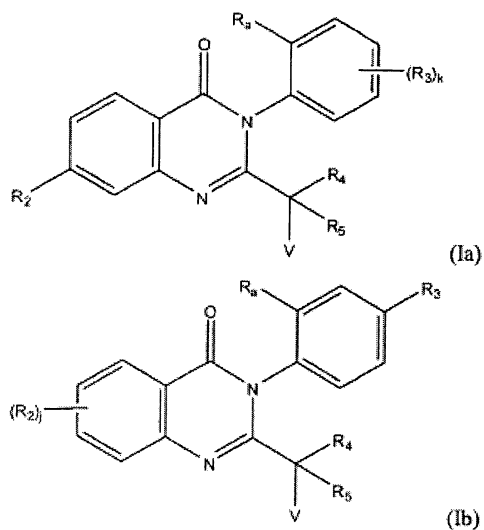
在某些具體實例中，j 為從 1、2、3 或 4，例如當 k 為 0 時。在某些具體實例中，k 為 1、2、3 或 4，例如當 j 為 0 時。在某些具體實例中，j 為從 1 至 4 之整數和 k 為從 1 至 4 之整數。例如，j 為 1 和 k 為 1，j 為 1 和 k 為 2，j 為 1 和 k 為 3，j 為 1 和 k 為 4，j 為 2 和 k 為 1，j 為 2 和 k 為 2，j 為 2 和 k 為 3，j 為 2 和 k 為 4，j 為 3 和 k 為 1，j

為 3 和 k 為 2，j 為 3 和 k 為 3，j 為 3 和 k 為 4，j 為 4 和 k 為 1，j 為 4 和 k 為 2，j 為 4 和 k 為 3，或 j 為 4 和 k 為 4。

當一或多個 R_2 及／或 R_3 取代基基團存在時，它們通常獨立地選自由極性經取代之烷基、極性經取代之烷氧基、極性經取代之碳環芳基、經取代或未經取代之雜芳基（例如含氮雜芳基例如咪唑基、噁唑基、噻唑基、吡啶基、嘧啶基、三唑基）及經取代或未經取代之非芳族雜環（例如吡唑基、哌啶基（piperadiny1）、哌嗪基、嗎福啉基、高哌嗪基（homopiperaziny1））所組成之群組。有利地，這些基團改良化合物之水溶解度。特別適合之極性取代基包胺基、醯胺基、胍基、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_3\text{H}$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{COOH}$ （包括水解成 $-\text{COOH}$ 之酯類），包括其鹽類。其他適合的取代基包括硝基、鹵素例如氯、溴和碘，及經鹵素取代之烷基和烷氧基（例如 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ ）。

額外適合之 R_2 及／或 R_3 的值包括 $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}$ 和 $-\text{N}(\text{R})_2$ ，特別是 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}$ 和 $-\text{NHR}$ 。對於 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}$ 和 $-\text{NHR}$ ， R 典型地為 $-\text{H}$ 或經取代之烷基。該等烷基上的取代基有利地為能夠與另一官能基反應而形成共價鍵之基，例如胺、羧酸、醯鹵、鹵素或類似物。較佳地， R 為胺烷基（例如，其中烷基典型地為 $\text{C}_3\text{-C}_6$ ），當 R_2 及／或 R_3 為 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}$ 或 $-\text{NHR}$ 時或 R 為 $-\text{H}$ ，當 R_2 及／或 R_3 為 $-\text{NHR}$ 時。 R_2 及／或 R_3 之例子包括 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 和 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2$ 。

在某些具體實例中，結構式 (I) 之化合物係以下列特定結構表示：



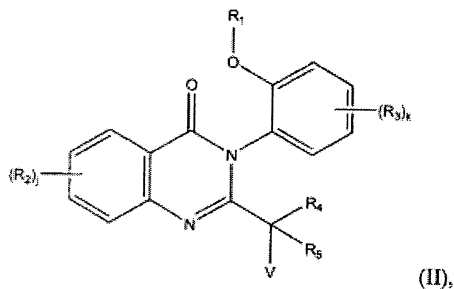
在結構式 (Ia) 中， R_2 典型地為 $-NHR$ (例如， $-NH_2$) 和 R_a 典型地為烷氧基 (例如，甲氧基、乙氧基)。結構式 (Ib) 中， R_3 典型地為鹵素或 $-OCF_3$ 及 R_a 典型地為鹵素和烷氧基 (例如，甲氧基、乙氧基)。在某些具體實例中，結構式 (Ia) 中之 R_3 存在於與結構式 (Ib) 中之 R_3 相同的位置。

特別適合之本發明化合物具有一或多個下列特徵：

- (1) V 為 4-哌啶基、4-高哌啶基、4-甲基高哌啶基或 4-(4-氯苯氧基乙醯基)哌啶基，較佳地 4-甲基高哌啶基；
- (2) R_4 為 $-H$ 或未經取代之烷基基團，較佳地為 $-H$ 或甲基；
- (3) R_5 為 $-H$ 或未經取代之烷基，較佳地為 $-H$ 或甲基；
- (4) R_a 為未經取代之烷基-O-基團，較佳地為乙基-O- (例如，乙氧基)；
- 和 (5) R_2 和 R_3 之至少一個為一種增加水溶解度之基團 (例如， $-NH_2$)、 $-NO_2$ 、 $-OCF_3$ 及／或鹵素。該等

適當化合物的例子具有特徵 (1) ; 特徵 (1) 和 (2) ; 特徵 (1) - (3) ; 特徵 (1) - (4) ; 或特徵 (1) - (5) 。

本發明也提供一種以結構式 (II) 表示之化合物，其中化合物適合使用於本文中所揭示之方法和組成物：



或其醫藥上可接受的鹽，其中：

R_1 為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基或經取代或未經取代之炔基，其各自視情況可被 NR、O 或 $S(O)_n$ 中斷；

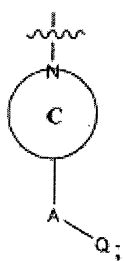
R_2 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、-CN、-COOR'、-CON(R)₂、-NRC(O)R、-SO₂N(R)₂、-N(R)₂、-NO₂、-OH 和 -OR' 組成之群組 (例如，鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、-CN、-COOR'、-CON(R)₂、-SO₂N(R)₂、-OH 和 -OR')；

R_3 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、-CN、-COOR'、-CON(R)₂、-NRC(O)R、-SO₂N(R)₂、-N(R)₂、-NO₂、-OH 和 -OR' 組成之群組 (例如，鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代

或未經取代之非芳族雜環、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{COOR}'$ 、 $-\text{CON}(\text{R})_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{OR}'$)；

R_4 和 R_5 獨立地選自由 $-\text{H}$ 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之非芳族雜環和經取代或未經取代之芳基所組成之群組，其中烷基、烯基和炔基視情況可被 NR 、 O 或 $\text{S}(\text{O})_n$ 中斷；或 R_4 和 R_5 一起形成碳環或雜環基團；

V 為 $-\text{NH}-\text{L}-\text{A}-\text{Q}$ 或



環 C 為經取代或未經取代之雜環芳族或非芳族環；

A 為 NR 或 O ；或 A 為共價鍵；

L 為視情況可經一或多個選自 N 、 O 和 S 之雜原子中斷的經取代或未經取代之烴基基團；

Q 係選自由 $-\text{R}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 和 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ 組成之群組；

R 各自獨立地為 $-\text{H}$ 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之芳基或經取代或未經取代之非芳族雜環；

R' 各自獨立地為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基基團、經取代或未經取代之非芳族雜環或經取代或未經取代之芳基基

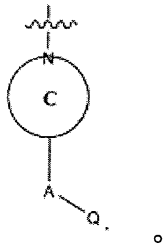
團；

j 為從 0 至 4 之整數；

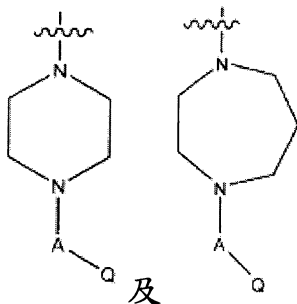
k 為從 0 至 4 之整數，其限制條件為 j 和 k 之至少一個為 1 至 4 之整數；及

n 各自獨立地 0、1 或 2。

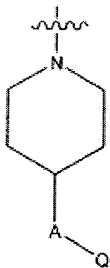
對於某些本發明之化合物， V 為



V 之特別適合的例子為

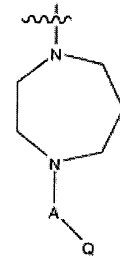


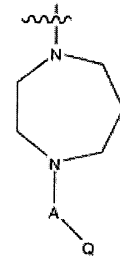
其中 A 為共價鍵；和



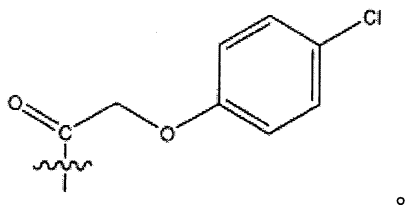
其中 A 為 NR 。

在某些具體實例中， A 為共價鍵和 Q 為 $-R$ 。當 Q 為 $-R$ 時， Q 典型地為 $-H$ 或經取代或未經取代之烷基基團（例如，甲



基、乙基)。在某些該等具體實例中，V 為 ，A 為共價鍵和 Q 為 -H、甲基或乙基，特別是甲基。

在某些具體實例中，本發明化合物（特別是其中 V 如上所表示之化合物）中之取代基-Q 為鹽基基團。鹽基基團典型地以 $-C(O)R'$ 表示，其中 R' 如上所定義。在某些具體實例中， $-C(O)R'$ 中之 R' 為經取代或未經取代之芳基或芳氧基烷基基團，特別是經取代或未經取代之苯基或苯氧基烷基基團例如經取代或未經取代之苯氧基甲基基團。苯基基團之適當取代基包括 C_{1-6} 烷基、 CF_3 、羥基、 C_{1-4} 烷氧基、芳基、芳氧基、鹵素、 $-N(R)_2$ 、硝基、羧酸、羧酸酯、和磺鹽基。苯氧基甲基基團之適當取代基包括鹵素，特別是氯。氯，當存在時，較佳為在苯基環之 4-位置，以產生如下所示之-Q 基團：



在其中 V 以 $-NH-L-A-Q$ 表示的化合物中，L 典型地為經取代或未經取代之伸烷基或聚（烷二醇）（例如，聚（乙二醇）、聚（丙二醇）。適當伸烷基的例子以 $-(CH_2)_j-$ 表示，其中 j 為從 1 至 6 之整數，例如 2 至 4。聚（烷二醇類）通常為 2-或 3-聚物(mers)。

R_4 和 R_5 典型地獨立為 -H 或經取代或未經取代之烷基基團（例如，烷基、烷氧基烷基、單-或二烷基胺基烷基、芳烷基），特別是當 V （包括 A 和 Q ）具有上述值時。更典型地， R_4 和 R_5 獨立為 -H 或經取代或未經取代之 C_1 - C_4 烷基基團，特別是甲基。

R_1 典型地為經取代或未經取代之烷基基團，特別是未經取代之 C_1 - C_4 烷基基團（例如，甲基、乙基、正-丙基、異-丙基、正-丁基、第二-丁基、第三-丁基）。在一例子中， R_1 典型地為經取代或未經取代之烷基基團，當 R_4 、 R_5 和 V 具有如上所述之值時。

在某些具體實例中， j 為從 1、2、3 或 4，例如當 k 為 0 時。在某些具體實例中， k 為 1、2、3 或 4，例如當 j 為 0 時。在某些具體實例中， j 為從 1 至 4 之整數和 k 為從 1 至 4 之整數。例如， j 為 1 和 k 為 1， j 為 1 和 k 為 2， j 為 1 和 k 為 3， j 為 1 和 k 為 4， j 為 2 和 k 為 1， j 為 2 和 k 為 2， j 為 2 和 k 為 3， j 為 2 和 k 為 4， j 為 3 和 k 為 1， j 為 3 和 k 為 2， j 為 3 和 k 為 3， j 為 3 和 k 為 4， j 為 4 和 k 為 1， j 為 4 和 k 為 2， j 為 4 和 k 為 3，或 j 為 4 和 k 為 4。

當一或多個 R_2 及／或 R_3 取代基基團存在時，它們通常獨立地選自由極性經取代之烷基、極性經取代之烷氧基、極性經取代之碳環芳基、經取代或未經取代之雜芳基（例如含氮雜芳基例如咪唑基、呋唑基、噻唑基、吡啶基、嘧啶基、三唑基）及經取代或未經取代之非芳族雜環（例

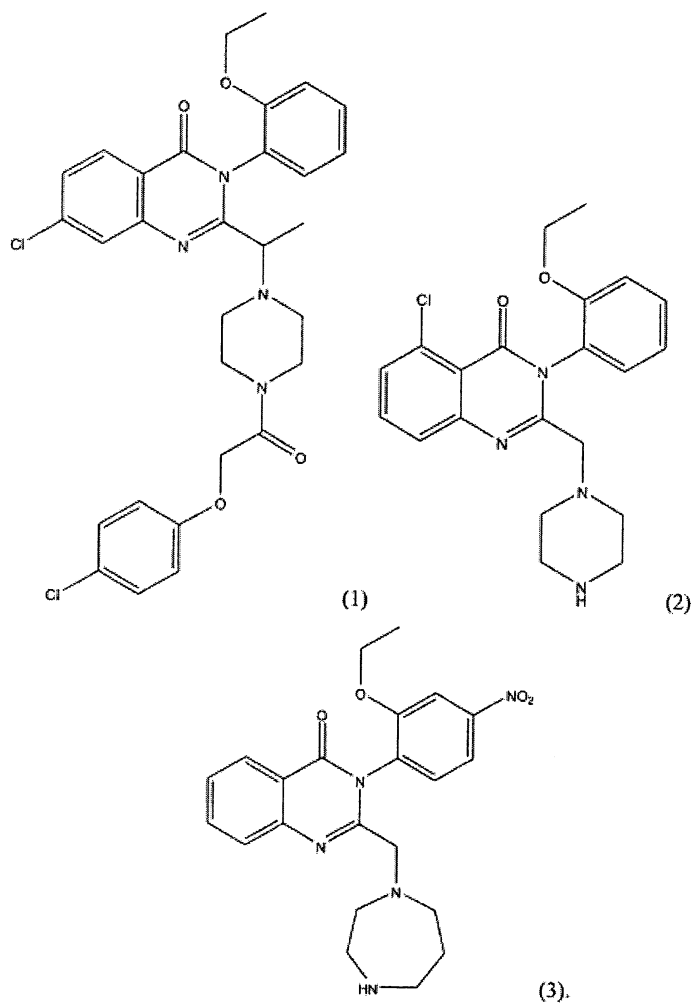
如吡唑基 (pyrrazolyl)、哌啶基、哌啶基、嗎福啉基、高哌啶基) 所組成之群組。有利地，這些基團改良化合物之水溶解度。特別適合之極性取代基包胺基、醯胺基、胍基、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_3\text{H}$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{COOH}$ (包括水解成 $-\text{COOH}$ 之酯類)，包括其鹽類。其他適合的取代基包括硝基、鹵素例如氯、溴和碘，及經鹵素取代之烷基和烷氧基 (例如 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$)。

額外適合之 R_2 及 / 或 R_3 的值包括 $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}$ 和 $-\text{N}(\text{R})_2$ ，特別是 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}$ 和 $-\text{NHR}$ 。對於 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}$ 和 $-\text{NHR}$ ， R 典型地為 $-\text{H}$ 或經取代之烷基。該等烷基上的取代基有利地為能夠與另一官能基反應而形成共價鍵之基，例如胺、羧酸、醯鹵、鹵素或類似物。較佳地， R 為胺烷基 (例如，其中烷基典型地為 $\text{C}_3\text{-C}_6$)，當 R_2 及 / 或 R_3 為 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}$ 或 $-\text{NHR}$ 時或 R 為 $-\text{H}$ ，當 R_2 及 / 或 R_3 為 $-\text{NHR}$ 時。 R_2 及 / 或 R_3 之例子包括 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 和 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2$ 。

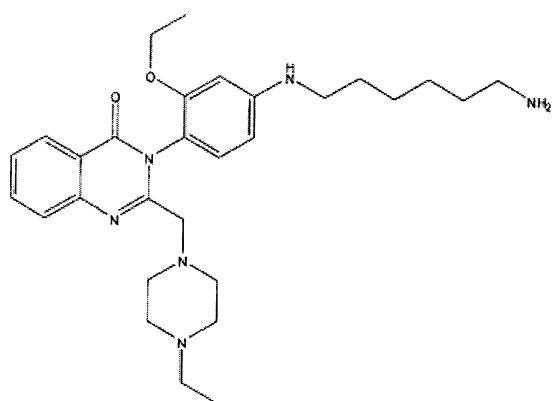
特別適合之本發明化合物具有一或多個下列特徵：
 (1) V 為 4-哌啶基、4-高哌啶基、4-甲基高哌啶基或 4-(4-氯苯氧基乙醯基)哌啶基；(2) R_4 為未經取代之烷基基團，較佳地為甲基； R_5 為 $-\text{H}$ 或未經取代之烷基，較佳地為 $-\text{H}$ 或甲基；(4) R_1 為未經取代之烷基基團，較佳地為乙基；和 (5) R_2 和 R_3 之至少一個為一種增加水溶解度之基團、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{NO}_2$ 及 / 或鹵素。該等適當化合物的例子具有特徵 (1)；特徵 (1) 和 (2)；特徵 (1) - (3)；特

徵 (1) - (4) ； 或 特 徵 (1) - (5) 。

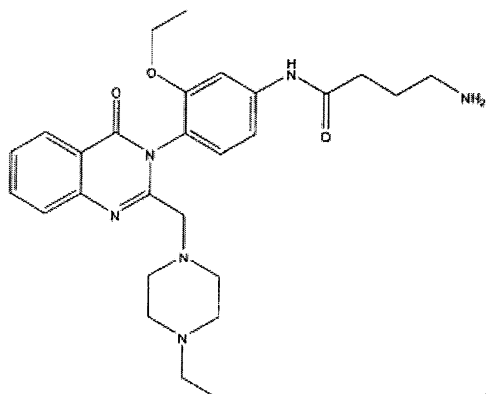
典 型 的 化 合 物 包 括 化 合 物 (1) 、 (2) 和 (3) ：



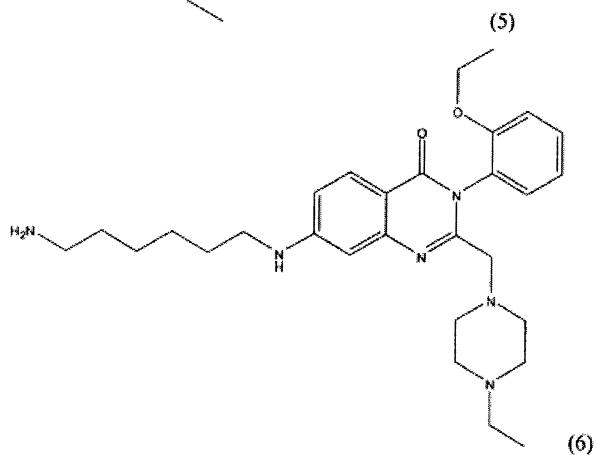
額 外 典 型 的 化 合 物 包 括 化 合 物 (4) - (9) ：



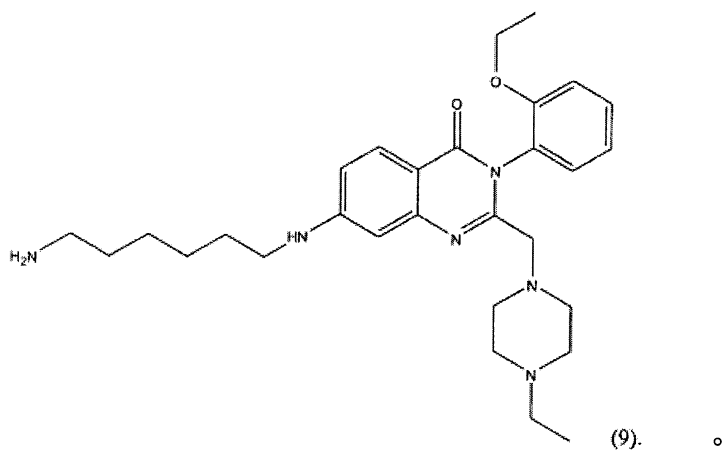
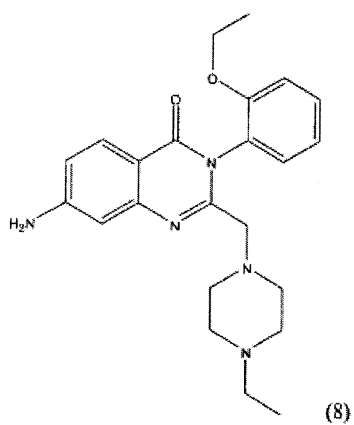
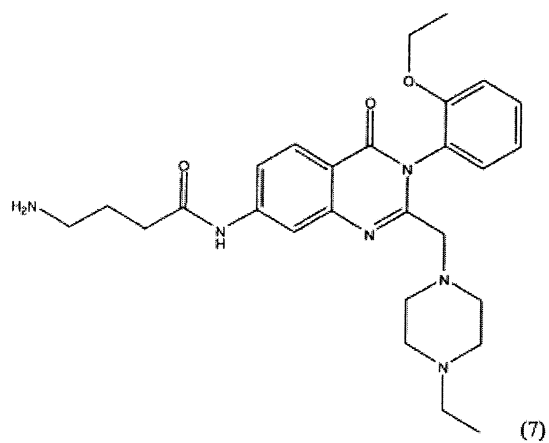
(4)



(5)



(6)

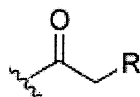


另外典型的化合物係顯示於該等實施例中。

包括在本發明中之化合物包括本文中所揭示之化合物的鏡像異構物和非鏡像異構物。本發明也包括本文中所揭示之化合物的鹽類，特別是醫藥上可接受鹽。除此之外，本發明包括本文中所揭示之化合物的溶劑合物、水合物和多形晶形。

意欲本發明的所有具體實例可與一或多個其他具體實例，甚至該等在本發明之不同觀點下所述者組合。

術語“醯基”如使用在本文中包括該等以下列通式表示之部分：



其中適當的 R 基團包括（但不限制於）H、烷基、烷氧基、芳烷基、芳氧基、芳基、雜芳基、雜芳烷基、雜芳氧基、和環烷基，其中任何該等基團視需要地進一步適當地經取代。

術語“烴基（hydrocarbyl）”係指經取代或未經取代之環或非環飽和或不飽和烴基基團。當指示時，烴基原子可被一或多個雜原子例如 N、O 和 S 中斷（也就是，雜原子不在基團之末端）。術語“烷基”係指經取代或未經取代之飽和烴基團，包括直鏈烷基和支鏈烷基基團，包括鹵烷基基團例如三氟甲基和 2,2,2-三氟乙基、等等。C₀ 烷基表示氫，其中基團在末端位置，如果在內部，為一鍵。術語“烯基”和“炔基”係指可能取代作用類似於上述烷基，但其分別包含至少一個雙鍵或參鍵之經取代或未經取代之不飽和脂族基團。

術語“烷氧基”係指一具有烷基基團連接至其之氧。代表性烷氧基基團包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、第三-丁氧基等等。“醚”為二個烴基共價鍵聯至一氧。因此，使烷基成為醚的烷基之取代基為或類似烷氧基。

術語“芳烷基”，如使用在本文中，係指經芳基基團

取代之烷基基團。

術語“碳環”如使用在本文中包括 3-至 8-員經取代或未經取代之單環飽和或不飽和環脂族基團，其中環之每個原子為碳。

術語“雜環”如使用在本文中包括 3-至 8-員，較佳地 4-至 8-員，經取代或未經取代之單環環基團，其中環包括 1 至 3 個雜原子。非芳族雜環基團的例子包括吡咯啉、哌啉（piperidine）、哌啉、四氫呋喃和四氫噻吩。

術語“芳基”如使用在本文中包括 5-、6-、和 7-員經取代或未經取代之單環碳環或雜環芳族基團。術語“芳基”也包括具有二個或多個環之多環環系統，其中二個鄰接環共用二個或多個碳，其中至少一個之環為芳族，例如，另一個環可為環烷基、環烯基、環炔基、芳基及／或雜環基。碳環芳基基團包括苯、萘、菲、酚、苯胺、等等。術語“雜芳基”包括經取代或未經取代之芳族 5-至 7-員環結構，更佳地，5-至 6-員環，其環結構包括一至四個雜原子。術語“雜芳基”也包括具有二個或多個環之多環環系統，其中二個鄰接環共用二個或多個碳，其中至少一個之環為雜芳族，例如，另一個環可為環烷基、環烯基、環炔基、芳基、及／或雜環。雜芳基基團包括，例如，吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噻唑、三唑、吡唑、吡啉、吡啶、吡啶、吡啶和噻啉、等等。

術語“雜原子”如使用在本文中除了表示除了碳或氫之外的任何原子，較佳雜原子為氮、氧、磷、和硫。

術語“多環基”或“多環”係指二個或多個環（例如，環烷基、環烯基、環炔基、芳基、雜芳基、及／或雜環），其中二個鄰接環共用二個或多個碳，例如，環為“稠合環”。多環之每個環可經取代或未經取代。

術語“經取代”係指在一或多個之骨架的碳上具有替代氫之取代基的部分。應瞭解的是“取代”或“經...取代”包括暗示條件為該取代係根據經取代之原子和取代基的允許價，和取代產生安定化合物，例如，其不會例如藉由重排作用、環化作用、脫去作用、等等自發地進行轉變。如使用在本文中，術語“經取代”意欲包括所有可允許的有機化合物取代基。在一廣泛觀點中，可允許的取代基包括有機化合物之非環和環、支鏈和非支鏈碳環和雜環芳族和非芳族取代基。可允許的取代基對於適當有機化合物可為一或多個且為相同或不同。為了本發明之目的，雜原子例如氮可具有氫取代基及／或任何符合雜原子之價的本文所述之有機化合物之可允許的取代基。取代基可包括（例如）鹵素、羥基、羰基（例如羧基、烷氧基羰基、甲醯基、或醯基）、硫羰基（例如硫酯、硫乙酸酯、或硫甲酸酯）、烷氧基、磷醯基、磷酸鹽、磷酸鹽、次磷酸鹽、胺基、醯胺基、脒、亞胺、氰基、硝基、疊氮基、氫硫基、烷硫基、硫酸鹽、磺酸鹽、胺磺醯基、磺醯胺基、磺醯基、雜環基、芳烷基、或芳族或雜芳族部分。熟習該項技術者應瞭解在烴鏈上經取代之部分本身可經取代，如果適當。

術語“小有機分子”係指具有小於 2000 amu 之分子量

的非聚合化合物。典型地，該等分子具有小於 1000 amu，例如小於 500 amu 之分子量。

選擇性細胞殺死

基因型-選擇性化合物作為分子探針之能力係根據化學遺傳學 (Chemical Genetics) 之前提，小分子可用以鑑定生物效應的蛋白質和路徑 (Schreiber, 1998, Bioorg, Med. Chem. 6, 1127-1152; Stockwell, 2000, Nat Rev Genet 1, 116-25; Stockwell, 2000, Trends Biotechnol 18, 449-55)。例如，天然產物雷帕黴素 (rapamycin) 延緩細胞生長的觀察使可能發現作為調節細胞生長之蛋白質的雷帕黴素之哺乳動物標靶 (mTOR) (Brown 等人, 1994, Nature 369, 756-758; Sabatini 等人, 1994, Cell 78, 35-43)。

已用定義遺傳因子 (genetic elements) 工程改造一系列人類腫瘤細胞，使用於鑑定該等其之中斷導致腫瘤生成性表現型之關鍵路徑 (Hahn 等人, 1999, Nat Med 5, 1164-70; Hahn 等人, 2002, Nat Rev Cancer 2, 331-41; Lessnick 等人, 2002, Cancer Cell 1, 393-401)。預期這些以實驗方式轉型之細胞將使在特定癌相關之對偶基因存在下顯示合成致死性之基因型-選擇性藥劑的鑑定成為可能。具有基因型-選擇性致死性之化合物可作為存在於腫瘤細胞中的訊號網之分子探針，而引導具有有利治療指數之臨床上有效的藥物及／或作為有效的藥物之後續開發。

本發明提供殺死癌細胞 (特別是基因型-特異性癌細

胞，例如該等具有提高的 Ras 訊號活性者）之化合物。

因此，本發明之一觀點提供一種選擇性地殺死癌細胞（特別是該等具有提高的 Ras 活性之癌細胞）的方法，該方法包含將治療有效量的本文中所揭示之化合物投予至需要治療之哺乳動物病患。

如此項技藝中所熟知的，Ras 之構成性活化作用（constitutive activation）顯示為一種人類癌細胞之惡性生長的重要因素。RAS 原致癌基因（H-RAS、N-RAS、K-RAS）之突變常常發現於 20% 至 30% 之所有人類腫瘤中的基因畸變，雖然發生率因腫瘤類型改變很大（Bos, Cancer Res. 49: 4682-4689, 1989）。在胰臟（90%）、結腸（50%）、和肺（30%）之腺癌（adenocarcinomas）中檢測到最高比例之 RAS 突變。在甲狀腺之濾泡性和未分化癌（undifferentiated carcinoma）中，RAS 突變之發生率也是可觀的（50%）。最常觀察到的 RAS 突變發生於 Ras 調節決定性的位置一即，密碼子 12、13、和 61。每個這些突變造成正常 GTP 酶活性的喪失。Ras 活化為也時常在血液惡性腫瘤(hematologic malignancie)例如類骨髓球性白血病和多發性骨髓瘤中觀察到。在約三分之一的骨髓發育不良症候群（myelodysplastic syndromes）（MDS）和急性類骨髓球性白血病（AML）中，RAS 基因被突變地活化。RAS 突變發生於約 40% 之新診斷多發性骨髓瘤病人中，且頻率隨疾病進展而增加。

具有活化之 Ras 路徑的細胞可被本文中所揭示之化合

物選擇性地殺死，可能經由細胞凋亡機制。

因此，在某些具體實例中，某些特定基因型之癌細胞可被本文中所揭示之化合物選擇性地殺死。這些可包括具有（harboring）構成性活化之 Ras 突變或 Ras 訊號路徑突變，和提高 ERK1、MEK1 活性之癌。

在某些其他具體實例中，標靶細胞之基因型可被選擇性地改變，所以先前對本發明之化合物不敏感的標靶細胞現在變為敏感而被這些化合物殺死。

在某些具體實例中，本發明提供一種選擇性地殺死具有提高之 Ras 路徑活性的癌細胞同時保護沒有提高之 Ras 活性的較正常細胞之方法。此可能是有用的，因為許多癌具有體細胞（somatic）Ras V12 或其他在癌細胞中導致提高之 Ras 訊號活性的相似突變，而在相同病人／個體中的正常細胞通常沒有相同 RasV12 或其他路徑突變。本發明之化合物可用於選擇地殺死這些癌細胞。本發明方法將有效殺死癌細胞，因為正常細胞可能沒有提高之 Ras 訊號活性。

在某些具體實例中，提高之 Ras 活性藉由於胺基酸位置 12、13、及／或 61 的構成性活化之 Ras（N-、H-、或 K-Ras）突變顯示。

在一些其他具體實例中，提高之 Ras 活性藉由顯示一或多個 Ras 路徑蛋白質之下游成分，包括但不限制於 Raf、MEK、MAPK、等等的提高活性顯示。

在其他具體實例中，細胞經由標靶蛋白質或蛋白質等

的引入或表現可對該（等）藥劑敏感。表現可藉由用表現標靶蛋白質之載體（例如腺病毒或反轉錄病毒載體）感染標靶細胞完成（參見下文）。

或者，標靶蛋白質可直接地提供給標靶細胞。例如，蛋白質（等）可使用各種此項技藝中已知的方法引進標靶細胞中（詳見下文）。在一具體實例中，蛋白質可藉由將其裹入在其表面上具有正電荷（例如，脂轉染物（lipofectin））和其視情況可針對抗標靶組織之細胞表面抗原的抗體（例如，抗癌細胞表面抗原之抗體）之脂質體中提供給標靶細胞。在另一具體實例中，藉由穿胞運輸（transcytosis），使用任何能夠媒介此效果的“內化肽類”（包括但不限制於 HIV 蛋白質 Tat 之 N-端區域（例如，Tat 之殘基 1-72 或其可促進穿胞運輸之較小的斷片）、全部或部分之果蠅（*Drosophila antennopedia*）III 蛋白質、足夠部分的蜂毒肽（mastoparan）、等等）可將蛋白質提供至標靶細胞（參見下文）。

在其他具體實例中，減少之蛋白質（及／或其他標靶蛋白質）可藉由遞送抗體、RNAi（siRNA、短髮夾狀 RNA、等等）、反義序列、或對該等標靶蛋白質特異性之小分子抑制劑達成。

該等蛋白質之拮抗劑遞送至標靶細胞為此項技藝中已知的。參見，例如，WO04078940A2、EP1439227A1、WO04048545A2、US20040029275A1、WO03076592A2、WO04076674A1、WO9746671A1，全部以引用方式納入本

文中。

本發明之另一觀點提供一種使用本發明之化合物和一種或多種經由細胞凋亡機制殺死細胞之藥劑或治療（例如，放射線療法）之結合治療方法。該等藥劑包括許多下述化學治療藥。

咸信某些蛋白質在對本發明化合物敏感之細胞中具有提高之表現程度。

在某些具體實例中，標靶細胞用以表現較高含量之標靶蛋白質（等）致使提高本發明化合物殺死或減慢增生速率的敏感性。

例如，標靶蛋白質可使用各種此項技藝中已知的方法引進標靶細胞中（詳見下文）。在一具體實例中，標靶蛋白質可提藉由將其裹入在其表面上具有正電荷（例如，脂轉染物（lipofectin））和其視情況可針對抗標靶組織之細胞表面抗原的抗體（例如，抗癌細胞表面抗原之抗體）之脂質體中供給標靶細胞。

或者，編碼功能標靶之核酸類可使用（例如）腺病毒或反轉錄病毒載體引進該等標靶細胞中。

除此之外，內源性標靶蛋白質活性可被刺激表現或抑制標靶蛋白質抑制劑之活性的藥劑（轉錄或轉譯抑制劑、或促進在細胞中之蛋白質更新的抑制劑）刺激。

在某些觀點中，本發明之方法也包括投予增加細胞中標靶蛋白質之含量的藥劑。增加標靶蛋白質之含量的藥劑可（例如）包括適合輸送至（例如）與異源性內化作用域

或調配成脂質體製劑融合之細胞內的編碼蛋白質之多核苷酸。

在某些觀點中，本發明之方法也包括投予減少細胞中標靶蛋白質之含量的藥劑。減少標靶蛋白質之含量的藥劑可（例如）抑制內源性蛋白質表現、抑制蛋白質表現或提高蛋白質抑制劑之功能。

下段敘述本發明的某些示範具體實例，其意欲能夠彼此合併。除此之外，具體實例僅用於說明目的，且於任何方面不應該被解釋為限制。

細胞株

先前的報告已經指示可能藉由引入表現 hTERT 之載體和致癌 RAS 蛋白質以及其他分裂 p53、RB 和 PP2A 之功能者將原生人類細胞轉化成腫瘤生成性細胞（Hahn 等人，2002，Mol Cell Biol 22，2111-23；Hahn 等人，1999，Nature 400，464-8；Hahn 和 Weinberg，2002，Nat Rev Cancer 2，331-41；Lessnick 等人，2002，Cancer Cell 1，393-401）。一系列的工程改造之人類腫瘤生成性細胞和其前驅物可使用於本文中所述之分析。先前已經報告這些工程改造之腫瘤生成性細胞的各種特性，包括其倍增時間、其在培養中對複製衰老（replicative senescence）和危機（crisis）的抵抗性、其對伽瑪輻射之反應、其以非貼附性（anchorage-independent）方式生長之能力和其在免疫缺陷小鼠中形成腫瘤之能力（Hahn 等人，1999，上述；Hahn

等人，2002，上述；Lessnick 等人，2002，上述）。

篩選基因型-選擇性化合物之方法

如使用在本文中，術語藥劑和藥物可交換地使用。如使用在本文中，術語“對...是有毒的”係指藥劑或化合物殺死或抑制腫瘤生成性細胞之生長／增生的能力。大規模篩選包括其中以高通量格式篩選數百或數千之化合物對工程改造之腫瘤生成性細胞的選擇性毒性之篩選。在本發明之一具體實例中，選擇性毒性係藉由比較測試細胞（其為腫瘤生成性細胞）和對照組細胞與候選藥劑接觸之後的細胞存活率（cell viability）測定。適當的對照組為一種與測試細胞同類型之細胞的細胞，除了對照組細胞不是腫瘤生成性之外。例如，對照組細胞可為從其獲得測試細胞之母原生細胞。對照組細胞在與測試細胞相同之條件下與候選藥劑接觸。適當對照組可同時地進行，或其可被預先建立（例如，預先建立之標準或參考）。細胞存活率可藉由此項技藝中已知的方法（包括染料例如 Sytox、鈣黃綠素 (calcein) 乙醯氧基甲酯（鈣黃綠素 (calcein) AM）和艾拉馬爾藍（Alamar Blue）之使用）測定。在某些本發明之具體實例中，用候選藥劑治療之後將一種染料例如鈣黃綠素 AM 係施用至測試和對照組細胞。在活細胞中，鈣黃綠素 AM 被細胞內酯酶裂解，形成陰離子螢光衍生物鈣黃綠素 (calcein)，其不能擴散至活細胞外。因此，當用鈣黃綠素 (calcein) AM 培養時活細胞顯示綠色螢光，而死細胞不顯

示綠色螢光。可檢測活細胞所顯示之綠色螢光且因此可提供細胞存活率之測量。

在某些本發明具體實例中，以動物模式將一已確定為活體外選擇性地誘發細胞死亡之藥劑進一步示性。動物模式包括小鼠、大鼠、兔子、和猴子，其可為非基因轉殖（例如，野生型）或基因轉殖動物。在工程改造之腫瘤生成性細胞中選擇性地誘發細胞死亡之藥劑的效果可以動物模式評估任何數目的效果，例如其在動物之腫瘤生成性細胞中選擇性地誘發細胞死亡之能力和其對動物的一般毒性。例如，方法可進一步包含在適當大鼠模式中評估藥劑（藥物）對腫瘤生成性細胞之選擇性毒性。

在腫瘤生成性細胞誘發死亡之藥劑的效果可以動物模式評估任何數目之效果，例如其在動物之腫瘤生成性細胞中誘發死亡之能力和其對動物的一般毒性。例如，該方法可包含以適當小鼠模式進一步評估藥劑（藥物）對腫瘤生成性細胞之毒性。為了說明，藥劑可藉由使用腫瘤生長分析進一步評估，該分析評估測試藥劑抑制小鼠中已建立之固態腫瘤的生長之能力。該分析可藉由將腫瘤細胞植入裸鼠之脂肪墊中實施。然後在投予藥劑之前使腫瘤細胞生長至某大小。在所設定星期數（例如三個星期）監測腫瘤之體積。分析過程期間也監測測試動物之一般健康狀態。

已鑑定為選擇性地殺死或抑制腫瘤生成性細胞之生長／增生的藥劑可進一步以細胞為基礎之分析示性以評估其作用的機制。例如，該藥劑可用細胞凋亡分析測試以評估

其經由前凋亡路徑誘發細胞死亡能力。除此之外，在腫瘤細胞中誘發死亡之藥劑可評估其在腫瘤細胞中藉由非細胞凋亡路徑誘發死亡的能力。例如，可以細胞凋亡分析測試該藥劑以評估其沒有經由前凋亡路徑誘發細胞死亡之能力。

在上述分析中如果測試細胞之存活率大於對照組細胞之存活率，則確定藥劑（藥物）選擇性地抑制細胞毒性。對照組細胞在和測試細胞相同條件下與候選藥劑接觸。適當對照組可同時地進行，或其可被預先建立（例如，預先建立之標準或參考）。

本發明之基因型-選擇性化合物

RAS^{V12} 之表現導致一些已示性之訊號路徑，包括 RAF-MEK-MAPK 訊號級聯（signaling cascade）、磷脂酰肌醇（phosphatidylinositol）3-激酶（PI3K）訊號路徑和 Ral-鳥嘌呤解離因子路徑（Ral-GDS）的活化。這些路徑之每個已涉及人類癌，和最近工作証明這些路徑在此細胞轉型之系統中協同地作用（Hamad 等人，2002，Genes Dev 16，2045-57）。

鑑定基因型-選擇性化合物之標靶的方法

在某些具體實例中，本發明係有關本發明化合物（在本文中也稱為“配體”）鑑定涉及賦與（conferring）生病細胞之表現型的標靶（在本文中也稱為“細胞組分”）（例

如，蛋白質類、核酸類、或脂質類）之用途。

在一具體實例中，本發明提供一種鑑定涉及腫瘤形成之細胞組分的方法，藉由腫瘤生成性細胞（例如工程改造之人類腫瘤生成性細胞、組織、器官、生物或其溶解產物或萃取物）與目標抗腫瘤化合物接觸；及接觸之後，鑑定與配體（直接地或間接地）交互作用之細胞組分，產生涉及腫瘤形成之細胞組分的鑑定。在另一具體實例中，本發明提供一種用以鑑定涉及腫瘤形成之細胞組分的方法。在此方法中，（a）腫瘤生成性細胞，例如工程改造之人類腫瘤生成性細胞、組織、器官、有機體或其溶解產物或萃取物與配體之抑制劑接觸與配體接觸；和（b）鑑定與配體的抑制劑（直接地或間接地）交互作用之細胞組分細胞組分，該細胞組分涉及腫瘤形成。細胞可連續地或同時地與配體和配體之抑制劑接觸。與配體或任何本發明的藥劑交互作用之細胞組分可藉由已知的方法鑑定。

如本文中所述，這些方法之目標化合物（或配體）可藉由任何化學的方法產生。配體視需要地用另一化合物衍生。此修正之一優點為（例如）在配體和標靶分離之後，所衍生之化合物可用以幫助配體標靶複合物收集或配體收集。衍生群組之非限制例包括生物素、螢光黃、地高辛（digoxigenin）、綠色螢光蛋白、同位素、聚組胺酸、磁珠、麩胱甘肽 S 轉移酶、光活化交鏈劑或其任何組合物。衍生群組也可與標靶（例如，愛拉斯汀(erastin)結合蛋白質）結合使用以便幫助它們的檢測。

根據本發明，標靶（細胞組分）可為一種活體內或活體外合成之自然存在的生物分子。標靶可由胺基酸類、核酸類、糖類、脂質類、天然產物或其任何組合組成。本發明之一優點為不需要標靶之本性或功能的先前知識。

配體和標靶之間的交互作用可為共價或非共價，視情況地，配體-標靶對之配體可或不顯示對其他標靶之親和性。配體-標靶對之標靶可或不顯示對其他配體之親和性。

例如，配體和標靶之間的結合可以蛋白質程度使用活體外生化方法（包括光交聯、放射性標誌配體結合、和親和層析法）鑑定（Jakoby WB 等人，1974，Methods in Enzymology 46：1）。或者，小分子可固定在適當固體載體或親和性基質（matrix）例如洋菜糖基質上和用以篩選多種細胞類型和有機體之萃取物。同樣地，小分子可與細胞、組織、器官、有機體或其溶解產物或萃取物接觸和固體載體可於稍後加入以取回小分子和結合標靶蛋白質。

表現性選殖(expression cloning)可用以測試蛋白質之小群（small pool）內的標靶（King RW 等人，1997，Science 277：973）。肽類（Kieffer 等人，1992，PNAS 89：12048）、核苷衍生物（Haushalter KA 等人，1999，Curr. Biol. 9：174）、和藥物-牛血清白蛋白（藥物-BSA）結合物（Tanaka 等人，1999，Mol. Pharmacol. 55：356）已使用於表現性選殖。

另一緊密地結合配體結合與編碼標靶之 DNA 的有用技術為噬菌體顯現法(phage display)。在噬菌體顯現法（其已佔優勢地使用於單株抗體領域）中在病毒表面上產生肽

或蛋白質庫且篩選活性 (Smith GP, 1985, Science 228: 1315)。噬菌體篩選 (panned) 連接至固相之標靶 (Parmley SF 等人, 1988, Gene 73: 305)。噬菌體顯現法的優點之一為 cDNA 在噬菌體中且因此不需要分離的選殖步驟。

非限制例包括結合反應條件，其中配體包含標記例如生物素、螢光黃、地高辛 (digoxigenin)、綠色螢光蛋白、放射性同位素、組胺酸標籤 (Histidine-tag)、磁珠、酵素或其組合。在本發明之一具體實例中，標靶可以機制為基礎的分析篩選，例如檢測結合至標靶之配體的分析。此可包括固相或流體相結合事件 (event)，其中配體或蛋白質或其一之指示劑被檢測。或者，編碼先前未定義功能之蛋白質的基因可用報導系統 (例如， β -半乳糖苷酶、螢光素酶、或綠色螢光蛋白質) 轉染於細胞中和較佳以高通量篩選方法或用資料庫 (library) 之個別成員對照資料庫篩選。可使用其他以機制為基礎的分析。例如，測量對酵素活性之效果的生化分析、其中標靶和報導系統 (例如，螢光素酶或 β -半乳糖苷酶) 已引進細胞中之以細胞為基礎的分析、和檢測自由能改變之結合分析。結合分析可用固定至井、珠子或晶片或被固定化抗體 (immobilized antibody) 捕獲或被毛細管電泳解析之標靶實施。該等結合之配體通常可使用比色或螢光或表面電漿子共振 (surface plasmon resonance) 檢測。

在某些具體實例中，本發明尚涵蓋藉由調整根據本發明鑑定的標靶 (細胞組分) 之功能 (例如，活性或表現)

治療或預防疾病（例如，癌）之方法。為了說明，如果標靶鑑定為促進腫瘤生長，則治療劑可用以修飾或減少標靶之功能（活性或表現）。或者，如果標靶鑑定為抑制腫瘤生長，則治療劑可用以提高標靶之功能（活性或表現）。治療劑為本發明之化合物。

治療之方法

在某些具體實例中，本發明提供一種用以治療或預防個體之癌的方法。術語“癌”、“腫瘤”和“贅瘤”在本文中可交換地使用。如使用在本文中，癌（腫瘤或贅瘤）係以一或多個下列性質為特徵：細胞生長不被環境中的正常生化和物理影響調整；退行發育（例如，缺乏正常協調 (coordinated) 的細胞分化）；和在一些例子中，轉移。癌症包含（例如）肛門癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、慢性淋巴球性白血病、慢性骨髓性白血病、子宮內膜癌、髮狀細胞性白血病、頭頸癌、肺（小細胞）癌、多發性骨髓瘤、非何杰金氏淋巴瘤、濾泡型淋巴瘤、卵巢癌、腦瘤、結腸癌、肝細胞癌、卡波西氏 (Kaposi) 肉瘤、肺（非小細胞癌）、黑色素瘤、胰臟癌、前列腺癌、腎臟細胞癌、和軟組肉瘤。額外的癌症可發現於例如，Isselbacher 等人（1994）Harrison's Principles of Internal Medicine 1814-1877，以引用方式納入本文中。

典型地，上述和藉由本文中所述之方法可治療的癌顯示去調節 Ras 路徑活性。上述癌包含 Ras 訊號路徑中的突變，產生提高的 Ras 訊號活性。例如，突變可能是 Ras 基

因（例如 Ras V12）中構成性活化(constitutively active)突變。突變也可在任意的可產生活化作用或改變路徑之活性的 Ras-路徑相關基因中。

在一具體實例中，本發明係有有關一種治療或預防個體的癌之方法，其包含將治療有效量的化合物投予至個體，該化合物對工程改造之人類腫瘤生成性細胞、或特定基因型（或特定改變的基因型）之癌細胞選擇性地有毒。在某些具體實例中，癌以包含活化之 RAS 路徑的細胞為特徵。在某些進一步具體實例中，癌以表現 SV40 小 T 癌蛋白，或顯示調節 sT 及／或致癌性 RAS 之標靶的細胞為特徵。

在一相關具體實例中，本發明涵蓋結合實施本發明之方法與其他抗腫瘤治療例如針對固態腫瘤和用於控制轉移之建立的習知化學療法。其他抗腫瘤治療之投予可在化學療法期間或之後進行。該等藥劑典型地與醫藥上可接受之載體一起調配，且可靜脈內地、口服地、經頰地、非經腸道地、藉由吸入噴霧、藉由局部施用或經皮地投予。藥劑也可藉由局部投予來投予。較佳地，一或多個額外與抗癌化學治療劑（例如，本發明之化合物）結合投予之藥劑以相加或加乘方式抑制癌細胞。

大量的習知化合物已顯示具有抗腫瘤活性。這些化合物在化學療法已用作萎縮固態腫瘤、預防轉移和進一步生長、或減少白血病或骨髓惡性腫瘤中惡性細胞之數目的藥劑。化學療法已有效治療各種類型之惡性腫瘤，但許多抗

腫瘤化合物誘發不良副作用。在許多例子中，當合併二個或多個不同治療時，治療可加乘地作用且允許和使減少每個治療之劑量，藉此減少每個化合物於較高藥量所產生的有害副作用。在其他例子中，難以治療之惡性腫瘤可對二個或多個不同治療的合併療法有反應。

因此，本發明之化合物和醫藥組成物可與習知抗腫瘤化合物共同投予。習知抗腫瘤化合物包括（只用於舉例說明）：氨基苯乙哌啶酮（aminoglutethimide）、安莎克林（amsacrine）、阿那曲唑（anastrozole）、天冬醯胺酶（asparaginase）、bcg、比卡魯胺（bicalutamide）、博萊黴素（bleomycin）、布舍瑞林（buserelin）、白消安（busulfan）、喜樹鹼（camptothecin）、卡培他濱（capecitabine）、卡鉑（carboplatin）、卡莫司汀（carmustine）、苯丁酸氮芥（chlorambucil）、順鉑（cisplatin）、克拉屈濱（cladribine）、克羅多納（clodronate）、秋水仙素（colchicine）、環磷醯胺（cyclophosphamide）、環丙孕酮（cyproterone）、阿糖胞苷（cytarabine）、達卡巴嗪（dacarbazine）、更生黴素（dactinomycin）、柔紅黴素（daunorubicin）、雙烯雌酚（dienestrol）、二乙烯二苯乙烯雌酚（diethylstilbestrol）、多西他賽（docetaxel）、多柔比星（doxorubicin）、表柔比星（epirubicin）、雌二醇（estradiol）、雌莫司汀（estramustine）、依托泊苷（etoposide）、依西美坦（exemestane）、非格司亭（filgrastim）、氟達拉濱

(fludarabine)、氟氫可的松(fludrocortisone)、氟尿嘧啶、氟甲睾酮(flouxymesterone)、氟他胺(flutamide)、吉西他濱(gemcitabine)、大豆異黃酮(genistein)、戈舍瑞林(goserelin)、羥基脲(hydroxyurea)、艾達黴素(idarubicin)、異環磷醯胺(ifosfamide)、伊馬替尼(imatinib)、干擾素(interferon)、伊立替康(irinotecan)、伊諾替康(irinotecan)、來曲唑(letrozole)、亞葉酸鈣(leucovorin)、柳菩林(leuprolide)、左美素(levamisole)、洛莫司汀(lomustine)、氮芥(mechlorethamine)、甲羥孕酮(medroxyprogesterone)、甲地孕酮(megestrol)、美法倫(melphalan)、巯基嘌呤、美司鈉(mesna)、甲氮蝶呤(methotrexate)、絲裂黴素(mitomycin)、米托坦(mitotane)、米托蒽醌(mitoxantrone)、尼魯米特(nilutamide)、諾考達唑(nocodazole)、奧曲肽(octreotide)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、紫杉醇(paclitaxel)、帕米膦酸鹽(pamidronate)、噴司他丁(pentostatin)、普卡黴素(plicamycin)、卟吩姆(porfimer)、丙卡巴肼(procarbazine)、雷替曲塞(raltitrexed)、利妥昔單抗(rituximab)、鏈佐星(streptozocin)、蘇拉明(suramin)、他莫昔芬(tamoxifen)、替莫唑胺(temozolomide)、替尼泊苷(teniposide)、睾酮(testosterone)、硫代鳥嘌呤(thioguanine)、塞替派(thiotepa)、二氯二茂鈦(titanocene dichloride)、托撲太肯(topotecan)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、維A酸(tretinoin)、長春鹼(vinblastine)、

長春新鹼（vincristine）、長春地辛（vindesine）、和長春瑞濱（vinorelbine）。

在其他具體實例中，本發明之化合物和醫藥組成物可與選自下列之習知抗腫瘤化合物共同投予：EGF-受體拮抗劑、硫化砷、阿德力黴素（adriamycin）、順鉑（cisplatin）、卡鉑（carboplatin）、西咪替丁（cimetidine）、洋紅黴素（carminomycin）、氮芥（mechlorethamine）鹽酸鹽、五甲基蜜胺、塞替派（thiotepa）、替尼泊苷（teniposide）、環磷醯胺（cyclophosphamide）、苯丁酸氮芥（chlorambucil）、脫甲氧基竹紅菌素（demethoxyhypocrellin）A、美法倫（melphalan）、異環磷醯胺（ifosfamide）、曲磷胺（trofosfamide）、曲奧舒凡（Treosulfan）、鬼臼毒素或鬼臼毒素衍生物、依托泊苷（etoposide）磷酸鹽、替尼泊苷（teniposide）、依托泊苷（etoposide）、異長春鹼（leurosine）、環氧長春鹼（leurosine）、長春地辛（vindesine）、9-胺基喜樹鹼（9-aminocamptothecin）、抗癌妥（camptothecin）、克立那托（crisnatol）、甲地孕酮（megestrol）、甲喋呤（methopterin）、絲裂黴素（mitomycin）C、海鞘素（ecteinascidin）743、白消安（busulfan）、卡莫司汀（carmustine）（BCNU）、洛莫司汀（lomustine）（CCNU）、洛伐他汀（lovastatin）、1-甲基-4-苯基吡啶鎘離子、司莫司汀（semustine）、星形孢菌素（staurosporine）、鏈佐星（streptozocin）、酞青素、達卡巴嗪（dacarbazine）、

胺喋呤、甲氨蝶呤(methotrexate)、三甲曲沙(trimetrexate)、
 硫代鳥嘌呤(thioguanine)、巯基嘌呤、氟達拉濱
 (fludarabine)、配他汀(pentastatin)、克拉屈濱
 (cladribine)、阿糖胞苷(cytarabine)(ara C)、泊非
 黴素(porfiromycin)、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、多柔比
 星(doxorubicin)鹽酸鹽、亞葉酸鈣(leucovorin)、黴酚
 酸、柔紅黴素(daunorubicin)、去鐵胺(deferoxamine)、
 氟尿苷(floxuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、雷
 替曲塞(raltitrexed)、艾達黴素(idarubicin)、表柔比
 肯(epirubicin)、吡柔比肯(pirarubicin)、佐柔比星
 (zorubicin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、博萊黴素
 (bleomycin)硫酸鹽、放線菌黴素(actinomycin)D、沙
 弗拉辛(safracins)、沙弗拉黴素(saframycins)、奎諾
 卡辛(quinocarcins)、地可莫立(discodermolides)、長
 春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、長春瑞濱
 (vinorelbine)酒石酸鹽、維替泊芬(vertoporfin)、紫杉
 醇(paclitaxel)、他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛西芬
 (raloxifene)、太唑呋喃(tiazofuran)、硫代鳥嘌呤
 (thioguanine)、利巴韋林(ribavirin)、EICAR、雌莫司
 汀(estramustine)、雌莫司汀(estramustine)磷酸鈉、
 氟他胺(flutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、布舍瑞
 林(buserelin)、柳菩林(leuprolide)、喋啶類、烯二炔
 類(enediynes)、左美素(levamisole)、阿佛拉康(aflacon)、
 干擾素(interferon)、白介素(interleukins)、阿地白介

素 (aldesleukin) 、 非 格 司 亭 (filgrastim) 、 沙 格 司 亭 (sargramostim) 、 利 妥 昔 單 抗 (rituximab) 、 BCG 、 維 A 酸 (tretinoin) 、 貝 他 米 松 (betamethosone) 、 吉 西 他 濱 (gemcitabine) 鹽 酸 鹽 、 維 拉 帕 米 (verapamil) 、 VP-16 、 六 甲 蜜 胺 (altretamine) 、 毒 胡 蘿 蔔 素 (thapsigargin) 、 奧 沙 利 鉑 (oxaliplatin) 、 異 丙 鉑 (iproplatin) 、 四 鉑 (tetraplatin) 、 洛 鉑 (lobaplatin) 、 DCP 、 PLD-147 、 JM118 、 JM216 、 JM335 、 賽 特 鉑 (satraplatin) 、 多 西 他 賽 (docetaxel) 、 脫 氧 紫 杉 醇 、 TL-139 、 5'- 正 - 脫 水 長 春 鹼 (5'-nor-anhydrovinblastine) (以 下 : 5'- 正 - 長 春 鹼 (vinblastine)) 、 喜 樹 鹼 (camptothecin) 、 伊 立 替 康 (irinotecan) (Camptosar 、 CPT-11) 、 托 撲 太 肯 (topotecan) (Hycamptin) 、 BAY 38-3441 、 9- 硝 基 喜 樹 鹼 (9-nitrocamptothecin) (Orethecin 、 魯 比 替 康 (rubitecan)) 、 依 喜 替 康 (exatecan) (DX-8951) 、 勒 托 替 康 (lurtotecan) (GI-147211C) 、 吉 美 替 康 (gimatecan) 、 高 喜 樹 鹼 類 (homocamptothecins) 地 莫 替 康 (diflomotecan) (BN-80915) 和 9- 胺 基 喜 樹 鹼 (IDEC-13') 、 SN-38 、 ST1481 、 卡 拉 尼 斯 (karanitecin) (BNP1350) 、 吲 哚 卡 唑 類 (indolocarbazoles) (例 如 , NB-506) 、 原 小 藥 鹼 類 (protoberberines) 、 茛 托 利 辛 類 (intoplicines) 、 茛 並 異 喹 啉 酮 類 、 苯 并 啡 啉 類 或 NB-506 。

在 另 一 相 關 具 體 實 例 中 , 本 發 明 涵 蓋 與 其 他 抗 腫 瘤 治 療 例 如 放 射 線 結 合 之 方 法 的 實 施 。 如 使 用 在 本 文 中 , 術 語 “ 放 射 線 ” 意 欲 包 括 任 何 藉 由 光 子 、 中 子 、 電 子 、 或 其 他

類型之離子化放射線的贅瘤細胞或標的之治療。該等放射線包括（但不限制於）X射線、 γ -放射線、或重離子粒子，例如 α 或 β 粒子。此外，放射線可為放射性。照射個體贅瘤細胞之方法為此項技藝中已知的且包括（例如）遠隔放射線治療（external beam therapy）、和近距離治療（brachytherapy）。

測定癌（腫瘤或贅瘤）是否已被治療之方法為熟習該項技術者已知且包括（例如）腫瘤細胞之量減少（例如，細胞增生減少或腫瘤大小減少）。要瞭解的是本發明之治療可為持續和完全反應或可包含部份或暫態臨床反應。參見例如，Isselbacher 等人（1996）Harrison's Principles of Internal Medicine 13 ed., 1814-1882，以引用方式納入本文中。

測試穩定作用或提高之腫瘤細胞的死亡之分析為此項技藝中已知的，包括（例如）評定細胞存活率之標準劑量反應分析；DNA 萃取物之洋菜膠電泳法或測定 DNA 斷裂（fragmentation）（細胞死亡的特性）之流動式細胞測量法；測量涉及細胞凋亡之多肽類的活性之分析；和細胞死亡的形態跡象之分析。有關該等分析之詳情揭述於本文其他地方。其他分析包括，染色質分析（例如，計算縮合的（condensed）核染色質之頻率）或抗藥性分析如，例如，Lowe 等人（1993）Cell 74：95 7-697（以引用方式納入本文中）中所述。也參見美國專利第 5,821,072 號，也以引用方式納入本文中。

醫藥組成物

可剖析 (profiled) 有希望的治療劑以便決定其包含在醫藥組成物中之適合性。該等藥劑之常見評估為治療指數，其為治療劑量對中毒劑量之比例。如適當的話 (例如，治療反應之需要或需要將毒性反應減到最少) 可調整治療劑量 (效力) 和中毒劑量之低限。例如，治療劑量可為藥劑之治療有效量 (有關治療一或多種症狀) 和中毒劑量可為引起死亡 (例如， LD_{50}) 或在某比例之治療人口中引起不要的效果之劑量。較佳地，藥劑之治療指數為至少 2，更佳地，至少 5，和甚至更佳地，至少 10。剖析治療劑也可包括測量該藥劑之藥物動力學，以測定當藥劑以各種調配物及／或經由各種路徑投予時之生物可利用性及／或吸收。

本發明之化合物可投予至需要其之個體，在某些具體實例中，個體為哺乳動物例如人類，或非人類的哺乳動物。當投予至個體時，本發明之化合物可以包含 (例如) 本發明之化合物和醫藥上可接受之載體的醫藥組成物投予。醫藥上可接受之載體為此項技藝中已知的且包括 (例如) 水溶液例如水或生理緩衝鹽溶液 (physiologically buffered saline) 或其他溶劑或載體例如二醇類、甘油、油類例如橄欖油或可注射有機酯。在一較佳具體實例中，當該等醫藥組成物用於人類投予時，水溶液為無熱原，或實質上無熱原。可選擇賦形劑 (例如) 以有效延遲藥劑之釋放或選擇性地標靶一或多個細胞、組織或器官。

醫藥上可接受之載體可包含（例如）具有穩定或增加本發明化合物的吸收之作用的生理上可接受之藥劑。該等生理上可接受之藥劑包括，例如，醣類，例如葡萄糖、蔗糖或聚葡萄糖類、抗氧化劑，例如抗壞血酸或麩胱甘肽、螯合劑、低分子量蛋白質或其他穩定劑或賦形劑。醫藥上可接受之載體（包括生理上可接受之藥劑）的選擇視（例如）組成物之投予路徑而定。醫藥組成物（製劑）也可為一種脂質體或其他聚合物基質，其可已合併（例如）本發明之化合物於其中。（例如）其由磷脂質類或其他脂質類組成之脂質體為較容易製造和投予之非毒性、生理上可接受和可代謝的載體。

包含本發明化合物之醫藥組成物（製劑）可藉由任何許多的投予路徑包括，例如，口服；肌肉內地；靜脈內地；肛內地(anally)；陰道內地；非經腸道地；鼻內地；腹膜內地；皮下地；和局部地投予至個體。組成物可藉由注射或藉由潛伏（incubation）投予。

在某些具體實例中，本發明之化合物可單獨使用或與另一類型之抗腫瘤治療劑共同投予。如使用在本文中，術語“共同投予”係指任何二個或多個不同的治療化合物合併投予而致使先前投予治療的化合物在身體中仍有效時投予第二種化合物之形式（例如，二種化合物在病人中同時有效，其可包括二種化合物之加乘效應）。例如，不同的治療化合物可以相同調配物或以分開的調配物，共存地或相繼地投予。因此，接受該治療之個體可從不同治療化合

物之合併效應獲得利益。

意欲本發明之化合物將以治療有效量（劑量）投予至個體（例如，哺乳動物，較佳地人類）。“治療有效量”表示足以引出所要治療效果的化合物之濃度（例如，症狀的治療、贅瘤細胞之死亡）。通常要瞭解的是化合物之有效量將根據個體之體重、性別、年齡、和病史改變。影響有效量之其他因素可包括（但不限制於）患者症狀之嚴重性、欲治療之疾病、化合物之穩定性、及如果需要，欲與本發明之化合物一起投予之另一類型之治療劑。典型地，對於人類個體，有效量將在從約 0.001 毫克／公斤之體重至約 50 毫克／公斤之體重的範圍。較大的總劑量可藉由藥劑的多次投予遞送。測定效力和劑量之方法為熟習該項技術者已知的。參見，例如，Isselbacher 等人（1996）Harrison's Principles of Internal Medicine 13 ed., 1814-1882，以引用方式納入本文中。

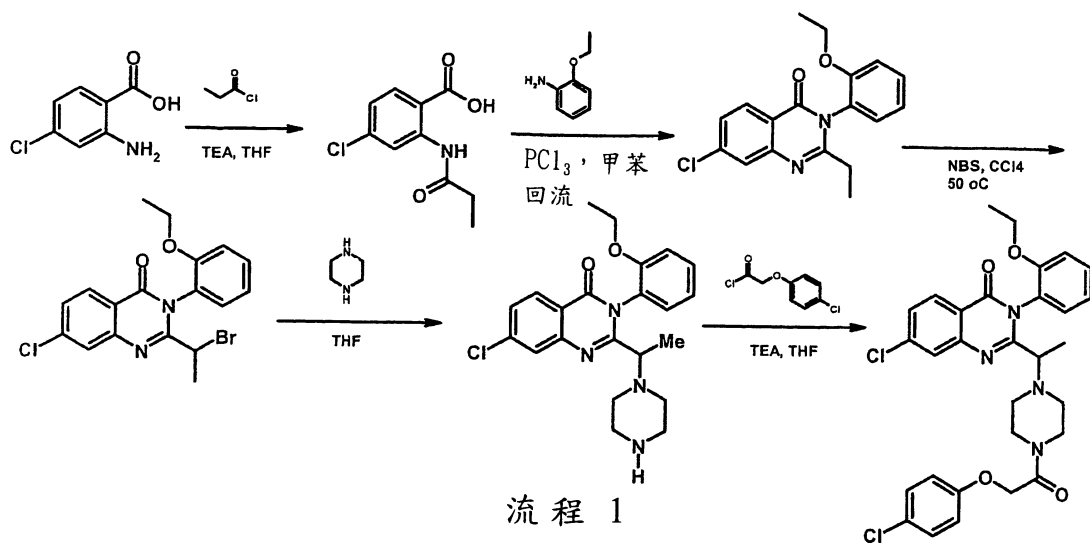
例子

現一般性地揭述本發明，藉由參考下列實施例將更容易地了解，包括該等實施例只為了說明本發明之某些觀點和具體實例之目的，且不意欲限制本發明。

實施例 1 2-（1-（4-（2-（4-氯苯氧基）乙醯基）哌咩-1-基）乙基）-7-氯-3-（2-乙氧基苯基）喹唑啉-4（3H）-酮之製備

2-（1-（4-（2-（4-氯苯氧基）乙醯基）哌咩-1-基）乙基）-7-氯-3-（2-乙氧基苯基）喹唑啉-4（3H）-酮之製備

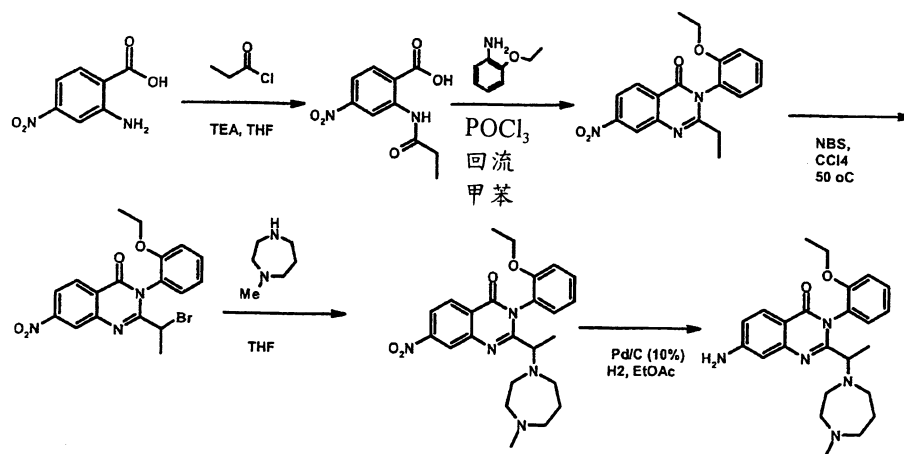
(化合物 1) 係根據流程 1 中所示反應製備。



簡而言之，2-胺基-4-氯苯甲酸用在三乙胺（TEA）和四氫呋喃（THF）中之丙醯氯醯化。醯化之化合物與 2-乙氧基苯胺在三氯化磷和甲苯中回流以產生 2-乙基-7-氯-3-(2-乙氧基苯基)喹唑啉-4(3H)-酮。用在四氯化碳中之 N-溴琥珀醯亞胺（NBS）溴化 2-乙基-7-氯-3-(2-乙氧基苯基)喹唑啉-4(3H)-酮，其之產物隨後與在 THF 中之哌啶反應。哌啶基部分用在 THF 和 TEA 中之 4-氯苯氧基乙醯基氯醯化以產生終產物。

實施例 2 3-(2-乙氧基苯基)-2-[(六氫-4-甲基-1H-1,4-二氮雜環庚烷(diazepin)-1-基)甲基]喹唑啉-4(3H)-酮之製備

3-(2-乙氧基苯基)-2-[(六氫-4-甲基-1H-1,4-二氮雜環庚烷-1-基)甲基]喹唑啉-4(3H)-酮(化合物 10)係根據流程 2 中所示反應製備。



化合物 10

流程 2

簡而言之，2-氨基-4-氯苯甲酸用在三乙胺（TEA）和四氫呋喃（THF）中之丙醯氯醯化。醯化之化合物與 2-乙氧基苯胺在三氧氯化磷（POCl₃）和甲苯中回流以產生 2-乙基-7-硝基-3-（2-乙氧基苯基）喹唑啉-4（3H）-酮。用在四氯化碳中之 N-溴琥珀醯亞胺（NBS）溴化 2-乙基-7-硝基-3-（2-乙氧基苯基）喹唑啉-4（3H）-酮，其之產物隨後與在 THF 中之 N-甲基高哌啶反應。此反應之產物使用催化量之 Pd／碳（10% Pd）進行氫化條件以產生化合物 10。

實施例 3 被化合物 1 抑制之細胞生長

測量化合物 1（在 DMSO 中）抑制正常和腫瘤生成性細胞之生長的能力。用 Sytox 初篩選（一種監測因化合物處理之結果的細胞存活-增生之改變的表型檢測法（phenotypic assay））分析化合物。其被設計成高通量方法，係用以鑑定特異性改變具有（harboring）發現於癌症患者之成因突變的細胞之生長可能性而不影響正常細胞之生長的化合物。

該分析依賴結合至核酸之不穿透膜性螢光染料（Sytox，得自分子探針）之便宜簡單且可靠的讀出。在健康細胞中，因為細胞的膜完整且染料將不進入，所以沒有檢測到訊號。然而，如果由於細胞凋亡或壞死而危害細胞的膜，將檢測到與同樣地受影響之細胞的數目成比例之螢光訊號。利用二階段讀出（在允許所有的細胞分類之清潔劑存在下的最後讀出），分析可鑑定產生白細胞鬱滯（cytostasis）、細胞毒性及／或致有絲分裂之化合物。第一個讀數或“死細胞”讀數，藉由指示在分析的時候培養基中的死亡或垂死細胞之數目提供所給予之化合物的毒性評估。第二個讀數或“總細胞”讀數，獲得細胞總數降低的細胞毒性之累積效果以及任何細胞生長抑制或抗增生效果二者，測試化合物在沒有毒性下可對測試組群中之細胞施以影響。

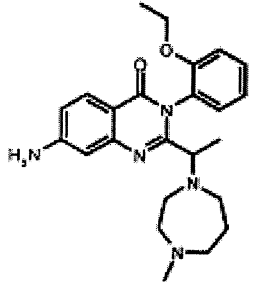
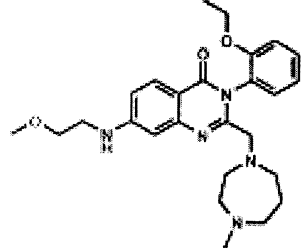
細胞以沒有處理而在井中 72 小時之後允許 95% 融合（confluence）之密度種入 96 井盤過夜。次日，將細胞曝露於稀釋系列之測試化合物經 48 小時期間。在此培養期之後，將 Sytox 試劑以製造適所推薦之濃度加至培養物且取得死亡細胞螢光讀數。此測量完成之後，將清潔劑 Saponin 加至每一培養井以可穿透允許 Sytox 試藥進入每一細胞之膜，藉此幫助測量留在培養基之細胞的總數。為了數據評估，顯示細胞毒或細胞生長抑制效果的化合物之間沒有區別。

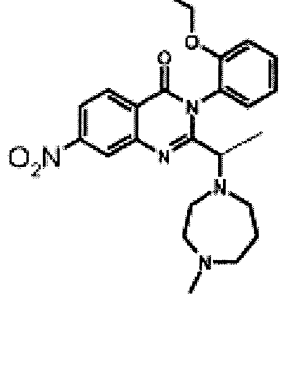
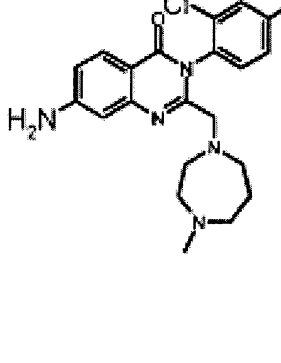
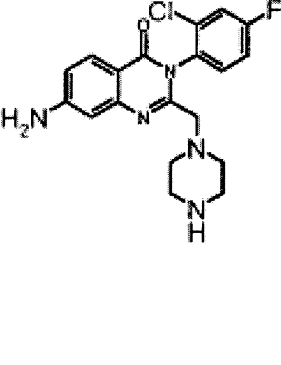
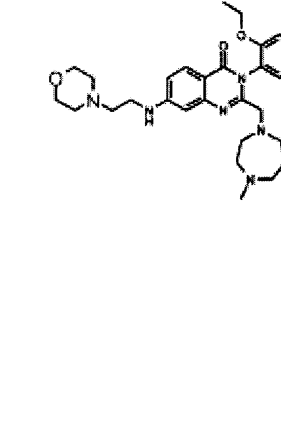
分析的結果顯示於圖 2 中。化合物 1 以約 10 μM 之 IC_{50} 抑制腫瘤生成性細胞之生長。

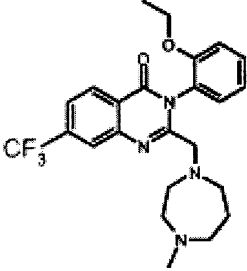
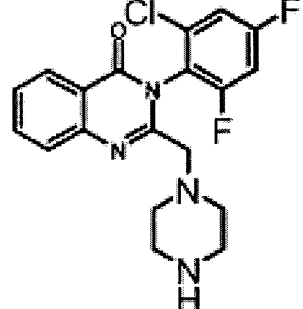
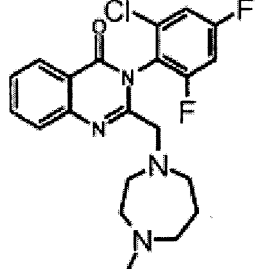
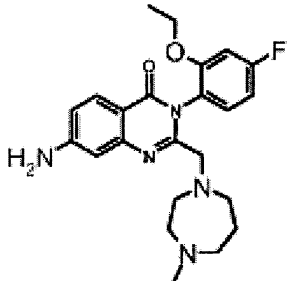
化合物 2 和 3 (顯示於圖 3 和 4 中) 分別以約 100 nM 和 200 nM 之 IC₅₀ 抑制 HT-1080 細胞之生長。

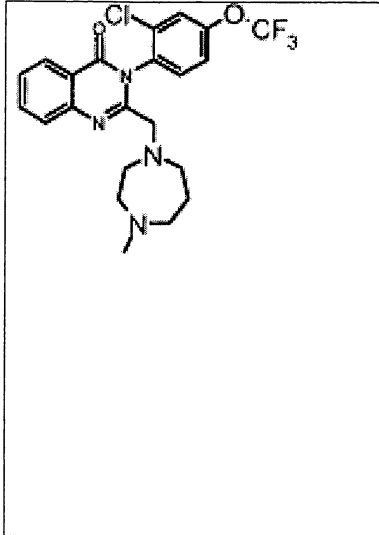
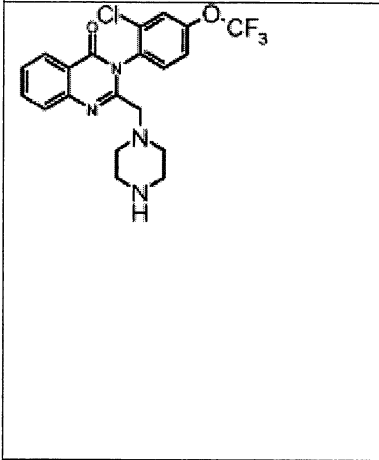
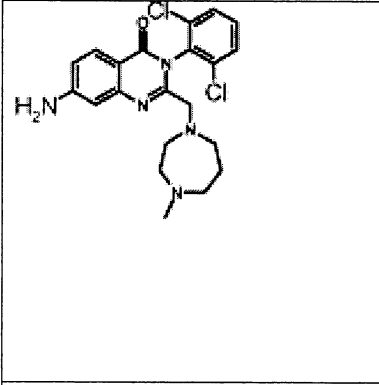
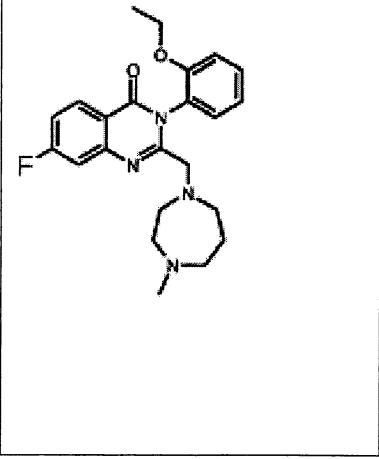
實施例 4 HT-1080 細胞之生長的抑制

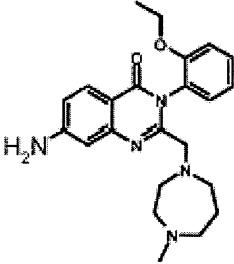
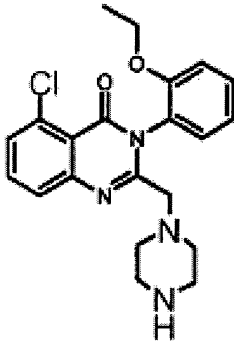
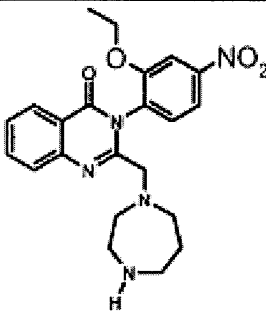
測量本發明之各種化合物(在 DMSO 中)抑制 HT-1080 細胞之生長的能力。使用於這些實驗之 HT-1080 細胞株係得自患有纖維肉瘤之病人且在 N-ras 基因中於密碼子 12 具有活化性突變(activating mutation)。使用實施例 3 中所述之檢測分析化合物。分析之結果顯示於下表中, 其中該括性對應於下列範圍: A - 小於 10 nM, B - 10-100 nM, C - 100-1000 nM, D - 1000-2000 nM, E - 大於 2000 nM。

結構	名稱	化合物 #	活性
	7-氨基-3-(2-乙氧基苯基)-2-(1-(4-甲基-1,4-二氮雜環庚烷-1-基)甲基]喹唑啉-4(3H)-酮	10	A
	3-(2-乙氧基苯基)-7-(2-(2-甲氧基乙胺基)-2-(4-甲基-1,4-二氮雜環庚烷-1-基)甲基]喹唑啉-4(3H)-酮	11	E

	3-(2-乙氧基苯基)-2- (1-(4-甲基-1,4-二氮 雜環庚烷-1-基)甲基) -7-喹唑啉-4(3H)-酮	12	C
	7-胺基-3-(2-氯-4-氟 苯基)-2-((4-甲基- 1,4-二氮雜環庚烷-1- 基)甲基)喹唑啉-4 (3H)-酮	13	E
	7-胺基-3-(2-氯-4-氟 苯基)-2-(哌啶-1-基甲 基)喹唑啉-4(3H)- 酮	14	E
	3-(2-乙氧基苯基)-2- (4-甲基-1,4-二氮 雜環庚烷-1-基)甲基) -7-(2-嗎福啉基乙胺 基)喹唑啉-4(3H)- 酮	15	C

	3- (2-乙氧基苯基) -2- ((4-甲基-1,4-二氮 雜環庚烷-1-基) 甲基) -7- (三氟甲基) 喹唑 啉-4 (3H) -酮	16	C
	3- (2-氯-4,6-二氟苯 基) -2- (哌啶-1-基甲 基) 喹唑啉-4 (3H) - 酮	17	C
	3- (2-氯-4,6-二氟苯 基) -2- ((4-甲基-1,4- 二氮雜環庚烷-1-基) 甲基) 喹唑啉-4 (3H) -酮	18	C
	7- (2-氨基-3- (2-乙氧 基-4-氟苯基) -2- ((4- 甲基-1,4-二氮雜環庚 烷-1-基) 甲基) 喹唑 啉-4 (3H) -酮	19	A

	3- (2- 氯 -4- 三 氟 甲 氧 基) 苯 基) -2- ((4- 甲 基 -1,4- 二 氮 雜 環 庚 烷 -1-基) 甲 基) 喹 唑 啉 -4 (3H) -酮	20	B
	3- (2- 氯 -4- (三 氟 甲 氧 基) 苯 基) -2- (哌 啶 -1-基 甲 基) 喹 唑 啉 - 4 (3H) -酮	21	C
	7- 胺 基 -3- (2,6- 二 氯 苯 基) -2- ((4- 甲 基 -1,4- 二 氮 雜 環 庚 烷 -1-基) 甲 基) 喹 唑 啉 -4 (3H) - 酮	22	C
	3- (2- 乙 氧 基 苯 基) -7- 氟 -2- ((4- 甲 基 -1,4- 二 氮 雜 環 庚 烷 -1-基) 甲 基) 喹 唑 啉 -4 (3H) - 酮	24	C

	7-氨基-3-(2-乙氧基苯基)-2-((1,4-二氮杂环庚烷-1-基)甲基)喹唑啉-4(3H)-酮	25	A
	5-氯-3-(2-乙氧基苯基)-2-(哌啶-1-基甲基)喹唑啉-4(3H)-酮	2	B
	2-((1,4-二氮杂环庚烷-1-基)甲基)-3-(2-乙氧基-4-硝基苯基)喹唑啉-4(3H)-酮	3	C

實施例 5 腫瘤異種移植物之處理

每日靜脈內投予之後檢查化合物 10 和 25 抑制 HT1080 異種移植物之生長的能力，使用同的方法檢查靜脈內投予。化合物 10 和 25 以其分別 IV MTD 劑量投予連續 5 天且評估。

摘要

使用於此異種移植研究之 HT-1080 細胞株係得自患有纖維肉瘤之病人且在 N-ras 基因中於密碼子 12 具有活化性突變 (activating mutation)。化合物抑制 HT-1080 腫瘤生長。當化合物以其個別 MTD 投予時，觀察到穩健腫瘤退化。沒有觀察到不良臨床徵兆。

小鼠品系：

裸 Balb/c (Nu/Nu 品系，查理斯河實驗室 (Charles River Laboratories))，雌性，5-6 週大 (~22 克平均體重)。

研究組：

A：未治療對照組，n = 6

B：化合物 10 之載體對照組，QD x 5 天，IV，n = 6

D：化合物 10 @ 25 毫克 / 公斤 (MTD)，QD x 5 天，IV，n = 6

E：化合物 10 @ 12.5 毫克 / 公斤 (1/2 MTD)，QD x 5 天，IV，n = 6

療程：

當平均腫瘤體積達 ~300 毫米³ 時開始和腫瘤開始積極地生長 (研究第 1 天)，及持續 5 天，每天，每隻動物被投予上述治療之一的單一 IV 注射，總計 5 個治療。

腫瘤植入和定期(staging)：

50 隻小鼠每隻藉由將 0.1 毫升之接種物以 SC 注射於右後側腹而植入 1×10^7 HT-1080 細胞。使用 26G x 3/8" 針號。腫瘤細胞接種物係使用培養於 DMEM [Gibco，編

號 10569-010〕 + 10% FCS [Gibco , 編號 F-2442] 中之 HT-1080 細胞 (ATCC 單離 , 冷凍庫存的第 6 次繼代培養) 製備。於收穫時,細胞已成長至 95-100 融合 (confluence) 。 HT-1080 接種物係以 1.0×10^8 細胞 / 毫升製備在滅菌 DMEM 培養基 + 10% FCS 中。在腫瘤植入後 +10 天,該等動物配組成治療和對照組,且各組由 6 隻鼠組成。從研究中排除由於太小或太大腫瘤的離群值。此認為是研究第 1 天,且在這天開始治療。

化合物 10 儲備溶液之製備：

在化合物投予之每天早上,新鮮製備化合物 10 儲備溶液,藉由先將 20 毫克之化合物 10 溶解在由水中之 400 mM HCl 所組成之溶劑至 0.2 毫升的最後體積而至 20 毫克 / 毫升的濃度。所得 100 毫克 / 毫升溶液然後使用由 1.1% (78 mM) 磷酸氫二鈉和 3% (90 mM) 蔗糖所組成之稀釋劑稀釋 1 : 5 , 至 20 毫克 / 毫升的濃度。此藉由混合 0.2 毫升體積之 100 毫克 / 毫升溶液與 0.8 毫升的稀釋劑進行。所得溶液應為約 pH = 6.8 和 304 mOsm。然後將此溶液過濾滅菌 (0.45 μ m) , 且使用於最後注射溶液之製備 (參見下文) 。

化合物 10 注射溶液之製備：

在投予化合物之 5 天中的每天,藉由使用注射用 5% 葡萄糖 (Baxter , 編號 2B0064 , NDC 0338-0017-04) 稀釋 20 毫克 / 毫升儲備溶液製備注射溶液,如下表所示 (2 個注射溶液之濃度係根據 22.0 克之平均體量) ：

研究組	劑量 毫克／ 公斤	注射溶液之 濃度	來自 20 毫克 ／ 毫升之稀 釋因子	注射溶液之製備	
				儲備溶液 之毫升	毫升稀釋 劑
D	25	2.75 毫克／ 毫升	7.27	0.275	1.725
F	12.5	1.375 毫克 ／ 毫升	14.54	0.138	1.862

化合物 10 之載體對照組：

載體對照組係藉由首先混合 0.1 毫升之 400 mM HCl 與 0.4 毫升之由 1.1% (78 mM) 磷酸氫二鈉和 3% (90 mM) 蔗糖組成之稀釋劑製備。然後藉由加入 3.135 毫升之注射用 5% 葡萄糖 (Baxter, 編號 2B0064, NDC 0338-0017-04) 進一步稀釋 (1:7.27) 所產生之溶液。然後使用 5M NaOH 調整溶液之 pH 至 7.4。最終溶液對應於載體 (該載體存在於為了 D 組而製備之注射溶液中)，但沒有化合物存在。在投予之前將載體對照組溶液過濾滅菌。

劑量概述 (根據平均體重 = 22.0 克)：

研究組	治療	注射溶液之 濃度	所給之化合 物的量	所給之注射 溶液的體積
B	載體對照組， 化合物 10	0 毫克／毫 升	只有載體	0.2 毫升
D	化合物 10@ 25 毫克／公斤	2.75 毫克／ 毫升	0.55	0.2 毫升
E	化 合 物 10@ 12.5 毫克／公 斤	1.375	0.275	0.2 毫升

腫瘤測量：

在第 1 天開始，每隔一天秤重所有動物和測量腫瘤尺寸 (L & W)。然後使用下式將腫瘤測量轉換成腫瘤體積 (毫米³)：

$$\text{腫瘤體積} = L \times W \times W / 2$$

平均每個研究組之每個時間點的所得腫瘤體積值，且然後對時間作圖。變異數以平均標準誤差 (SEM) 表示。這些實驗之結果顯示於圖 1-3 中。

異種移植研究指示所選擇之化合物能夠引起穩健 HT-1080 腫瘤退化。在用 Prolexys 化合物劑量之動物中沒有觀察到不良臨床症狀。這些化合物因此顯示腫瘤選擇性細胞死亡。

實施例 6 在與特定癌相關的對偶基因存在下具有增加之效力或活性的化合物之鑑定

在此揭示一種用以鑑定在 RAS^{V12} 存在下具有增加效力或活性之化合物的方法。雖然描述在本文中之方法使用 RAS^{V12} 作為轉型基因，但其他研究可使用廣泛種類之使用此方法的癌-有關之對偶基因以便定義涉及許多致癌基因和腫瘤抑制因子之訊號網。初篩選測試用於 4 微克／毫升之濃度（對應於具有 400 之分子量的化合物的 10 μM）的各化合物治療致瘤性細胞 48 小時之效果。使用上述 Sytox 法或染料鈣黃綠素 (calcein) 乙醯氧基甲酯 (鈣黃綠素 AM) (Wang 等人, 1993, Hum. Immunol. 37, 264-270) (其

為一種自由地擴散至細胞中之非螢光化合物)測定細胞存活率。在活細胞中，鈣黃綠素 AM 被細胞內酯酶裂解，形成陰離子螢光衍生物鈣黃綠素(calcein)，其不能擴散至活細胞外。因此，當用鈣黃綠素(calcein) AM 培養時活細胞顯示綠色螢光，而死細胞不顯示，當用 Sytox 培養時死和垂死的細胞螢光。誘發可與對照組細胞中所觀察的螢光區別的螢光之化合物後來在對照組和腫瘤生成性細胞中用稀釋系列方式測試以鑑定顯示合成致死率（其為腫瘤生成性細胞但不在同基因型原生細胞之致死率）的化合物。

實施例 7 化合物之結合搭擋的鑑定和定性

使用固定化之本發明化合物和細胞溶解產物的牽出試驗(pull down experiment)鑑定本發明化合物在細胞內側之結合搭擋。牽出試驗係用全腫瘤細胞溶解產物(lysate)進行。這些實驗中，本發明化合物被固定在 Affigel 10 且在標準牽出條件下以溶解產物培養。洗滌珠粒且以 100 μ M 愛拉斯汀或本發明化合物或 0.8% N-月桂鹽基肌胺酸(沙可西(sarkosyl)) 溶析。析出液進行質譜分析。

圖 5 顯示使用 BJELR 全細胞溶解產物及化合物(4)-(9)之牽出試驗分析之結果。

以引用方式納入

本文中所提及之所有刊物和專利以其全文引用方式納入，就如同每個個別刊物或專利被特定地和個別地指示以引用方式納入。假使衝突，將以本申請案（包括在本文中

的任何定義)為準。

同等物

而已討論本發明之具體實例，上述說明書為說明的且不為限制。熟習該項技術者在審閱此說明書和下述申請專利範圍時將變得顯而易知本發明的許多變化。本發明之全部範圍將藉由參考申請專利範圍，連同其同等物的全部範圍，和說明書，連同該等變化而一起決定。

【圖式簡單說明】

圖 1 顯示由化合物 25 所引起之抑制 HT1080 細胞異種移植物之生長的抑制作用。

圖 2 顯示由化合物 25 所引起之抑制 HT1080 細胞異種移植物之生長的抑制作用。

圖 3 顯示由化合物 10 所引起之抑制 HT1080 細胞異種移植物之生長的抑制作用。

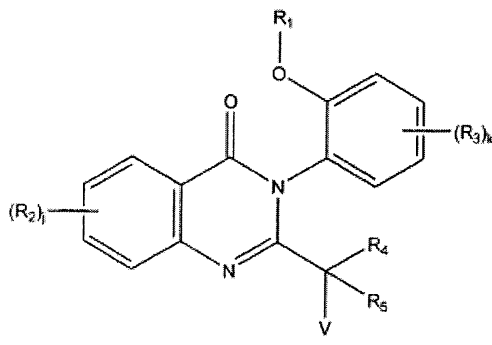
圖 4 顯示以得自使用固定在 Affi-凝膠 10 珠的自腫瘤細胞之溶解產物與化合物 4-9 的牽出試驗 (pull down experiment)之西方墨點法和 SDS-PAGE 鑑定的蛋白質。

【主要元件符號說明】

無

五、中文發明摘要：

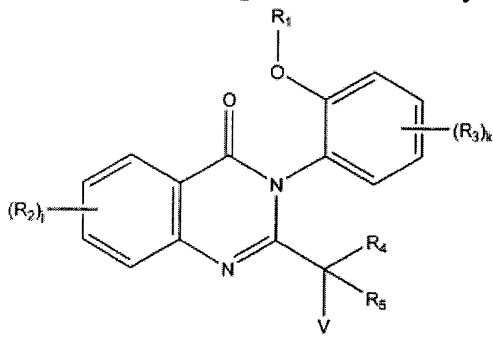
以結構式 (I) 表示之化合物：



可使用於（例如）例如罹患癌之病人的癌細胞之有效殺死或減少增生的速率。除了化合物本身之外，本發明提供該等化合物之醫藥組成物和使用該等化合物之治療的方法。

六、英文發明摘要：

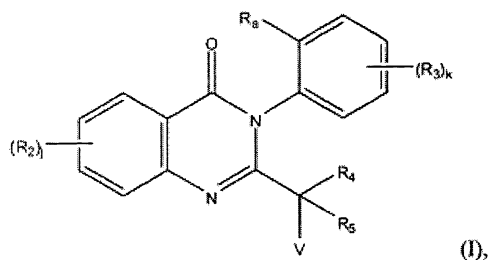
Compounds represented by Structural Formula (I):



are useful, for example, in the effective killing or reducing rate of proliferation of cancer cells, such as in patients suffering from cancer. In addition to the compounds themselves, the invention provides pharmaceutical compositions of the compounds and method of treatment using the compounds.

十、申請專利範圍：

1. 一種以結構式 (I) 表示之化合物，



或其醫藥上可接受的鹽，其中：

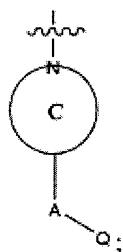
R_a 為鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之芳基-O-、經取代或未經取代之烷基-O-、經取代或未經取代之烯基-O-或經取代或未經取代之炔基-O-，其中烷基、烯基和炔基視情況可被 NR 、 O 或 $S(O)_n$ 中斷；

R_2 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、 $-CN$ 、 $-COOR'$ 、 $-CON(R)_2$ 、 $-NRC(O)R$ 、 $-SO_2N(R)_2$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 和 $-OR'$ 組成之群組；

R_3 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、 $-CN$ 、 $-COOR'$ 、 $-CON(R)_2$ 、 $-NRC(O)R$ 、 $-SO_2N(R)_2$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-OH$ 和 $-OR'$ 組成之群組；

R_4 和 R_5 獨立地選自由-H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之非芳族雜環和經取代或未經取代之芳基所組成之群組，其中烷基、烯基和炔基視情況可被 NR 、 O 或 $S(O)_n$ 中斷；或 R_4 和 R_5 一起形成碳環或雜環基團；

V 為 -NH-L-A-Q 或



環 C 為經取代或未經取代之雜環芳族或非芳族環；

A 為 NR 或 O；或 A 為共價鍵；

L 為視情況可被一或多個選自 N、O 和 S 之雜原子中斷的經取代或未經取代之烴基（hydrocarbyl）基團；

Q 係選自由 -R、-C(O)R'、-C(O)N(R)₂、-C(O)OR' 和 -S(O)₂R' 組成之群組；

R 各自獨立地為 -H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之芳基或經取代或未經取代之非芳族雜環；

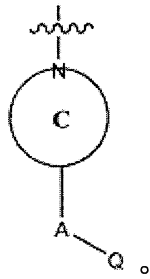
R' 各自獨立地為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基基團、經取代或未經取代之非芳族雜環或經取代或未經取代之芳基基團；

j 為從 0 至 4 之整數；

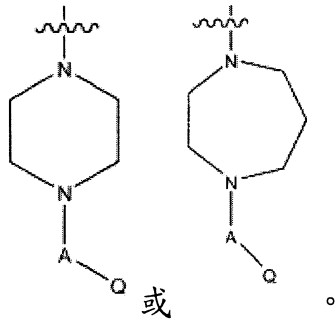
k 為從 0 至 4 之整數，其限制條件為 j 和 k 之至少一個為 1 至 4 之整數；及

n 各自獨立地 0、1 或 2。

2. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 V 為



3.如申請專利範圍第 2 項之化合物，其中 V 為



4.如申請專利範圍第 3 項之化合物，其中 Q 為 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 或 $-\text{R}$ 。

5.如申請專利範圍第 4 項之化合物，其中 Q 為 $-\text{H}$ 、甲基或乙基。

6.如申請專利範圍第 2 項之化合物，其中 A 為共價鍵或 NR。

7.如申請專利範圍第 2 項之化合物，其中 R_4 和 R_5 為 $-\text{H}$ 或經取代或未經取代之烷基。

8.如申請專利範圍第 7 項之化合物，其中 R_4 和 R_5 為 $-\text{H}$ 或未經取代之 C_1 - C_4 烷基基團。

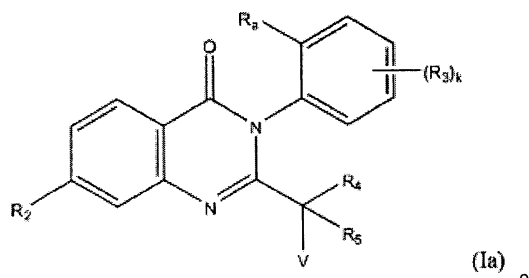
9.如申請專利範圍第 2 項之化合物，其中 R_a 為經取代或未經取代之烷基-O-基團。

10.如申請專利範圍第 9 項之化合物，其中 R_a 為未經取代之 C_1 - C_4 烷基-O-基團。

11.如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 j 為從 1 至 4 之整數。

12.如申請專利範圍第 11 項之化合物，其中 R_2 各自獨立地選自由 $-NRC(O)R$ 、 $-N(R)_2$ 、鹵素、極性經取代之烷基、極性經取代之碳環芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之非芳族雜環組成之群組。

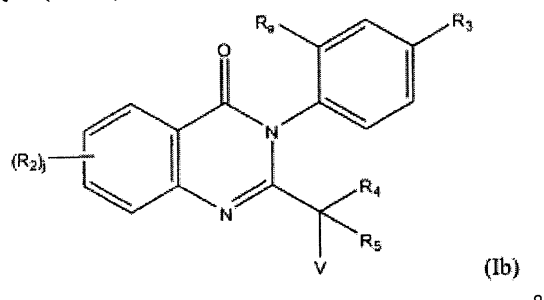
13.如申請專利範圍第 11 項之化合物，其中化合物以結構式 (Ia) 表示：



14.如申請專利範圍第 1 之化合物，其中 k 為從 1 至 4 之整數。

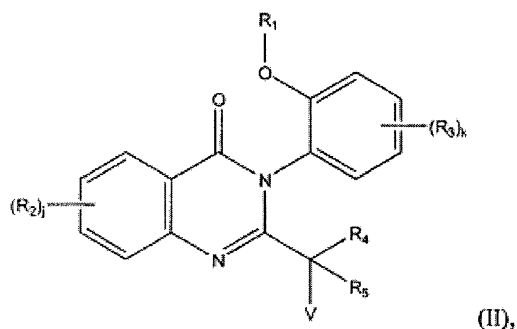
15.如申請專利範圍第 14 項之化合物，其中 R_3 各自獨立地選自由極性經取代之烷基、極性經取代之碳環芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之非芳族雜環所組成之群組。

16.如申請專利範圍第 14 項之化合物，其中化合物以結構式 (Ib) 表示：



17.如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 j 為從 1 至 4 之整數和 k 為從 1 至 4 之整數。

18.一種以結構式 (II) 表示之化合物，



或其醫藥上可接受的鹽，其中：

R_1 為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基或經取代或未經取代之炔基，其各自視情況可被 NR、O 或 $S(O)_n$ 中斷；

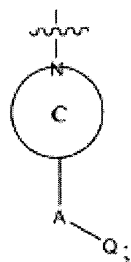
R_2 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、-CN、-COOR'、-CON(R)₂、-SO₂N(R)₂、-OH 和 -OR' 組成之群組；

R_3 各自獨立地選自由鹵素、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之非芳族雜環、-CN、-COOR'、-CON(R)₂、-SO₂N(R)₂、-OH 和 -OR' 組成之群組；

R_4 和 R_5 獨立地選自由-H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之非芳族雜環和經取代或未經取代之芳基所組成之群組，其中烷基、烯基和炔基視情況可被 NR、O

或 $S(O)_n$ 中斷；或 R_4 和 R_5 一起形成碳環或雜環基團；

V 為 $-NH-L-A-Q$ 或



環 C 為經取代或未經取代之雜環芳族或非芳族環；

A 為 NR 或 O；或 A 為共價鍵；

L 為視情況可經一或多個選自 N、O 和之 S 雜原子中斷的經取代或未經取代之烴基基團；

Q 係選自由 $-R$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-C(O)OR'$ 和 $-S(O)_2R'$ 組成之群組；

R 各自獨立地為 $-H$ 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、經取代或未經取代之芳基或經取代或未經取代之非芳族雜環；

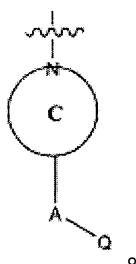
R' 各自獨立地為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基基團、經取代或未經取代之非芳族雜環或經取代或未經取代之芳基基團；

j 為從 0 至 4 之整數；

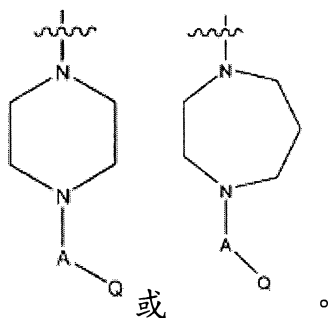
k 為從 0 至 4 之整數，其限制條件為 j 和 k 之至少一個為 1 至 4 之整數；及

n 各自獨立地為 0、1 或 2。

19. 如申請專利範圍第 18 項之化合物，其中 V 為



20.如申請專利範圍第 19 項之化合物，其中 V 為



21.如申請專利範圍第 20 項之化合物，其中 Q 為 -R。

22.如申請專利範圍第 21 項之化合物，其中 Q 為 -H、甲基或乙基。

23.如申請專利範圍第 19 項之化合物，其中 A 為共價鍵或 NR。

24.如申請專利範圍第 23 項之化合物，其中 R_4 和 R_5 為 -H 或經取代或未經取代之烷基。

25.如申請專利範圍第 24 項之化合物，其中 R_4 和 R_5 為 -H 或未經取代之 C_1 - C_4 烷基基團。

26.如申請專利範圍第 18 項之化合物，其中 R_1 為經取代或未經取代之烷基基團。

27.如申請專利範圍第 26 項之化合物，其中 R_1 為未經取代之 C_1 - C_4 烷基基團。

28.如申請專利範圍第 18 項之化合物，其中 j 為從 1 至 4 之整數。

29.如申請專利範圍第 28 項之化合物，其中 R_2 各自獨立地選自由 $-NRC(O)R$ 、 $-N(R)_2$ 、鹵素、極性經取代之烷基、極性經取代之碳環芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之非芳族雜環組成之群組。

30.如申請專利範圍第 18 項之化合物，其中 k 為從 1 至 4 之整數。

31.如申請專利範圍第 30 項之化合物，其中 R_2 各自獨立地選自由極性經取代之烷基、極性經取代之碳環芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之非芳族雜環所組成之群組。

32.如申請專利範圍第 18 項之化合物，其中 j 為從 1 至 4 之整數和 k 為從 1 至 4 之整數。

33.一種醫藥組成物，其包含如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物和醫藥上可接受之載體。

34.一種如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物之用途，其係用於製造治療哺乳動物之症狀的藥物。

35.如申請專利範圍第 34 項之用途，其中該症狀為癌。

36.如申請專利範圍第 34 項之用途，其中藥物尚包含一種經由細胞凋亡的機制殺死細胞之藥劑。

37.如申請專利範圍第 36 項之用途，其中該藥劑為一種化學治療劑。

38.如申請專利範圍第 37 項之用途，其中該化學治療劑係選自：EGF-受體拮抗劑、硫化砷、阿德力黴素 (adriamycin)、順鉑 (cisplatin)、卡鉑 (carboplatin)、

西咪替丁 (cimetidine)、洋紅黴素 (carminomycin)、氮芥 (mechlorethamine) 鹽酸鹽、五甲基蜜胺、塞替派 (thiotepa)、替尼泊苷 (teniposide)、環磷醯胺 (cyclophosphamide)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、脫甲氧基竹紅菌素 (demethoxyhypocrellin) A、美法侖 (melphalan)、異環磷醯胺 (ifosfamide)、曲磷胺 (trofosfamide)、曲奧舒凡 (Treosulfan)、鬼臼毒素或鬼臼毒素衍生物、依托泊苷 (etoposide) 磷酸鹽、替尼泊苷 (teniposide)、依托泊苷 (etoposide)、異長春鹼 (leurosidine)、環氧長春鹼 (leurosine)、長春地辛 (vindesine)、9-胺基喜樹鹼 (9-aminocamptothecin)、抗癌妥 (camptoirinotecan)、克立那托 (crisnatol)、甲地孕酮 (megestrol)、甲喋呤 (methopterin)、絲裂黴素 (mitomycin) C、海鞘素 (ecteinascidin) 743、白消安 (busulfan)、卡莫司汀 (carmustine)、洛莫司汀 (lomustine)、洛伐他汀 (lovastatin)、1-甲基-4-苯基]吡啶鎘離子、司莫司汀 (semustine)、星形孢菌素 (staurosporine)、鏈佐星 (streptozocin)、酞青素、達卡巴嗪 (dacarbazine)、胺喋呤、甲氨蝶呤 (methotrexate)、三甲曲沙 (trimetrexate)、硫代鳥嘌呤 (thioguanine)、巯基嘌呤、氟達拉濱 (fludarabin)、配他汀 (pentastatin)、克拉屈濱 (cladribin)、阿糖胞苷 (cytarabine)、泊非黴素 (porfiromycin)、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、多柔比星 (doxorubicin) 鹽酸鹽、亞葉酸鈣 (leucovorin)、黴酚酸、

柔紅黴素 (daunorubicin)、去鐵胺 (deferroxamine)、氮尿苷 (floxuridine)、去氧氟尿苷 (doxifluridine)、雷替曲塞 (raltitrexed)、艾達黴素 (idarubicin)、表柔比肯 (epirubicin)、吡柔比肯 (pirarubicin)、佐柔比星 (zorubicin)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、博萊黴素 (bleomycin) 硫酸鹽、放線菌黴素 (actinomycin) D、沙弗拉辛 (safracins)、沙弗拉黴素 (saframycins)、奎諾卡辛 (quinocarcins)、地可莫立 (discodermolides)、長春新鹼 (vincristine)、長春鹼 (vinblastine)、長春瑞濱 (vinorelbine) 酒石酸鹽、維替泊芬 (vertoporfin)、紫杉醇 (paclitaxel)、他莫昔芬 (tamoxifen)、雷洛西芬 (raloxifene)、太唑呋喃 (tiazofuran)、硫代鳥嘌呤 (thioguanine)、利巴韋林 (ribavirin)、EICAR、雌莫司汀 (estramustine)、雌莫司汀 (estramustine) 磷酸鈉、氟他胺 (flutamide)、比卡魯胺 (bicalutamide)、布舍瑞林 (buserelin)、柳菩林 (leuprolide)、喋啶類、烯二炔類 (enediynes)、左美素 (levamisole)、阿佛拉康 (aflacon)、干擾素 (interferon)、白介素 (interleukins)、阿地白介素 (aldesleukin)、非格司亭 (filgrastim)、沙格司亭 (sargramostim)、利妥昔單抗 (rituximab)、BCG、維 A 酸 (tretinoin)、貝他米松 (betamethosone)、吉西他濱 (gemcitabine) 鹽酸鹽、維拉帕米 (verapamil)、VP-16、六甲蜜胺 (altretamine)、毒胡蘿蔔素 (thapsigargin)、奧沙利鉑 (oxaliplatin)、異丙鉑 (iproplatin)、四鉑

(tetraplatin)、洛 鉑 (lobaplatin)、DCP、PLD-147、JM118、JM216、JM335、賽 特 鉑 (satraplatin)、多 西 他 賽 (docetaxel)、脫 氧 紫 杉 醇 、 TL-139 、 5'- 正 - 脫 水 長 春 鹼 (anhydrovinblasine)、喜 樹 鹼 (camptothecin)、伊 立 替 康 (irinotecan)、托 撲 太 肯 (topotecan)、BAY 38-3441、9-硝 基 喜 樹 鹼 (9-nitrocamptothecin)、依 喜 替 康 (exatecan)、勒 托 替 康 (lurtotecan)、吉 美 替 康 (gimatecan)、高 喜 樹 鹼 類 (homocamptothecins) 地 莫 替 康 (diflomotecan) 和 9-胺 基 喜 樹 鹼、SN-38、ST1481、卡 拉 尼 斯 (karanitecin)、吲 哚 卡 唑 類 (indolocarbazoles)、原 小 藥 鹼 類 (protoberberines)、節 托 利 辛 類 (intoplicines)、節 並 異 喹 啉 酮 類、苯 并 啡 啉 類 或 NB-506。

39.一種殺死細胞之方法，其包含將有效量的如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物和增加細胞中 VDAC 之含量 (abundance) 的藥劑投予至細胞。

40.如申請專利範圍第 39 項之方法，其中該細胞為一種癌細胞。

41.如申請專利範圍第 40 項之方法，其中該細胞具有可測量之 Ras 路徑活性。

42.一種殺死細胞之方法，其包含將有效量的如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物和減少細胞中 VDAC 之含量的藥劑投予至細胞。

43.一種促進細胞死亡或抑制細胞生長之方法，其包含將有效量的如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合

物投予至細胞。

44.一種減少腫瘤的生長速率之方法，其包含使腫瘤與有效量的如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物接觸。

45.一種增加腫瘤細胞對化學治療劑的敏感性之方法，其包含使腫瘤細胞與有效量的如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物接觸。

46.一種包裝醫藥，其包含：

(i) 治療有效量的如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物；和

(ii) 投予該藥劑治療患有癌之病人的指示、標籤或二者。

十一、圖式：

如次頁

物投予至細胞。

44.一種減少腫瘤的生長速率之方法，其包含使腫瘤與有效量的如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物接觸。

45.一種增加腫瘤細胞對化學治療劑的敏感性之方法，其包含使腫瘤細胞與有效量的如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物接觸。

46.一種包裝醫藥，其包含：

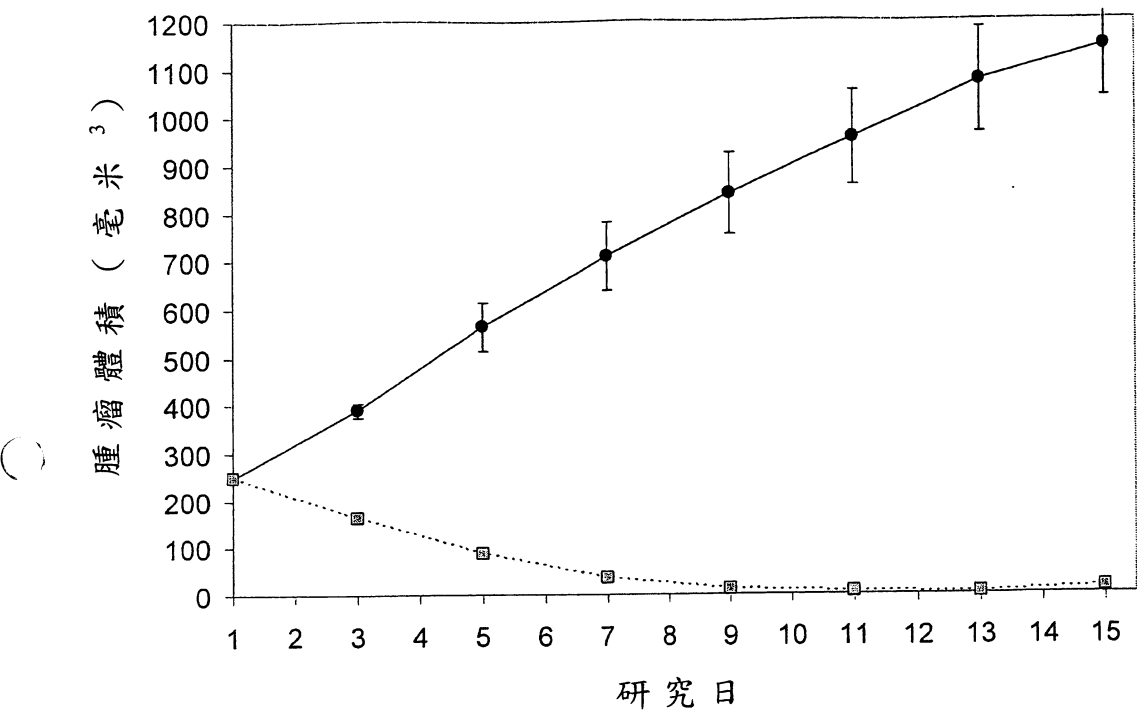
(i) 治療有效量的如申請專利範圍第 1 至 32 項中任一項之化合物；和

(ii) 投予該藥劑治療患有癌之病人的指示、標籤或二者。

十一、圖式：

如次頁

化合物 25 對 HT1080 之抗腫瘤活性



● 載體對照組，QD x 5 天，IV
...□... 化合物 25@ 25 毫克 / 公斤 (MTD)，QD x 5 天，IV

圖 1

化合物 25 對 HT1080 之抗腫瘤活性

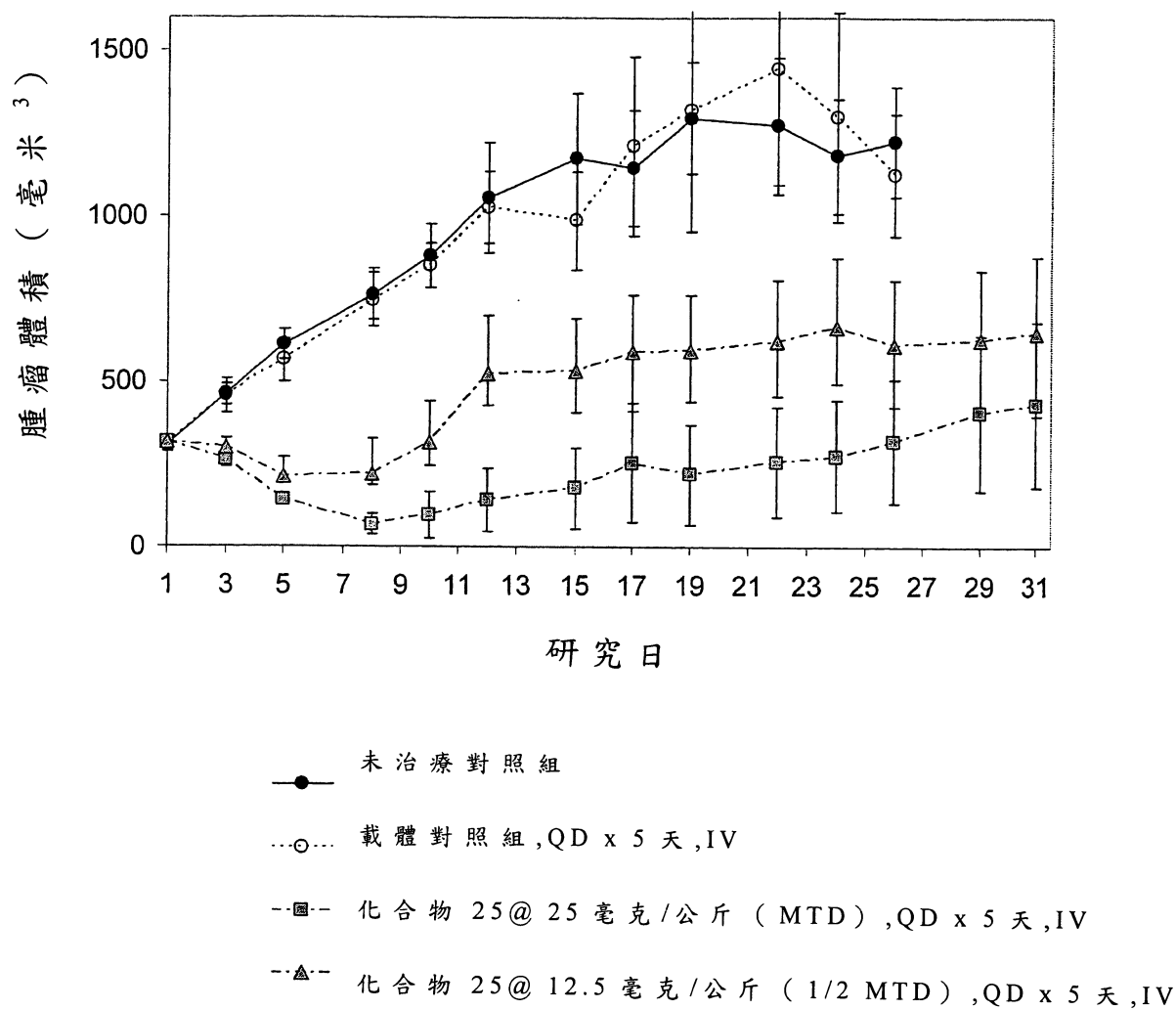


圖 2

化合物 10 對 HT1080 之抗腫瘤活性

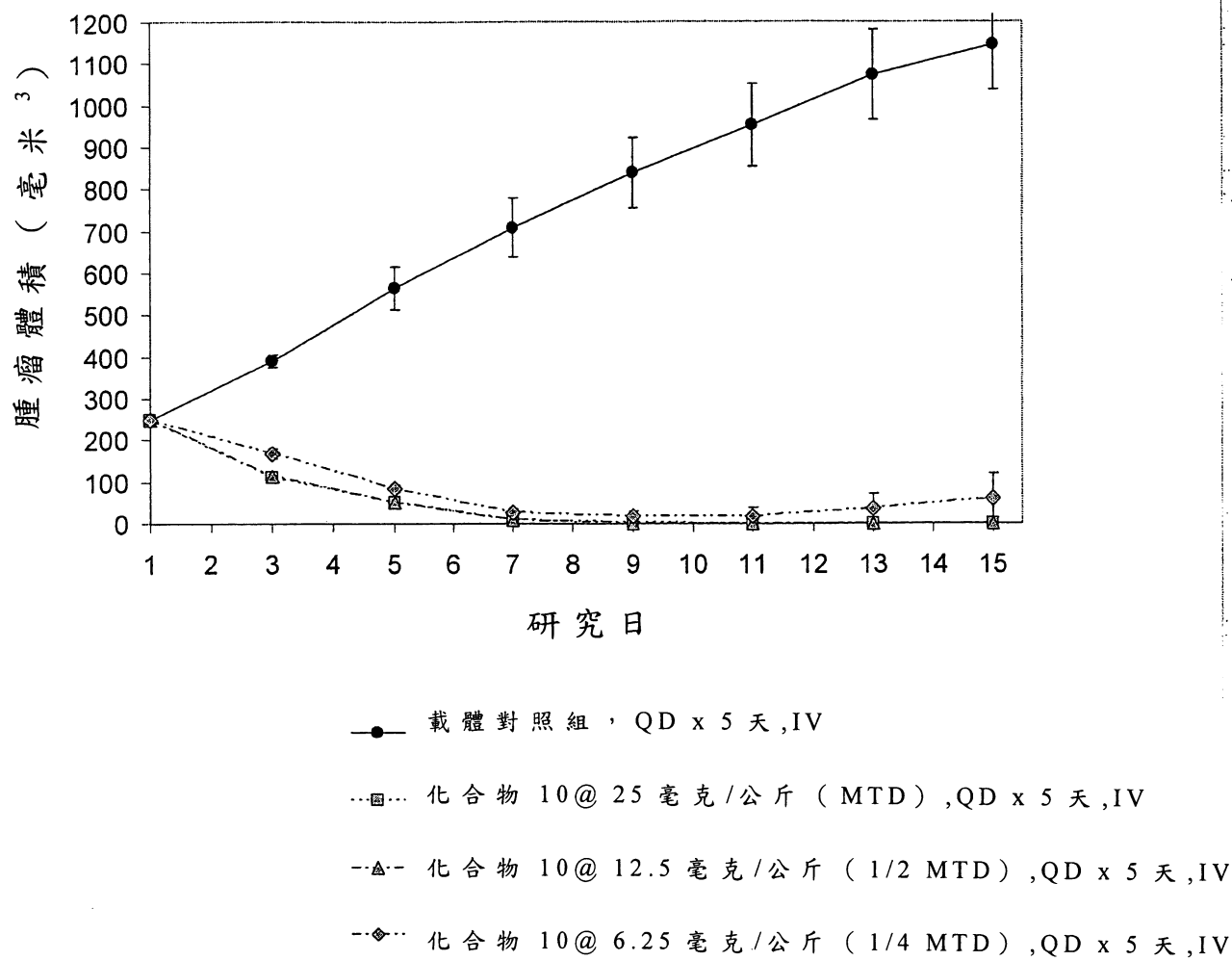
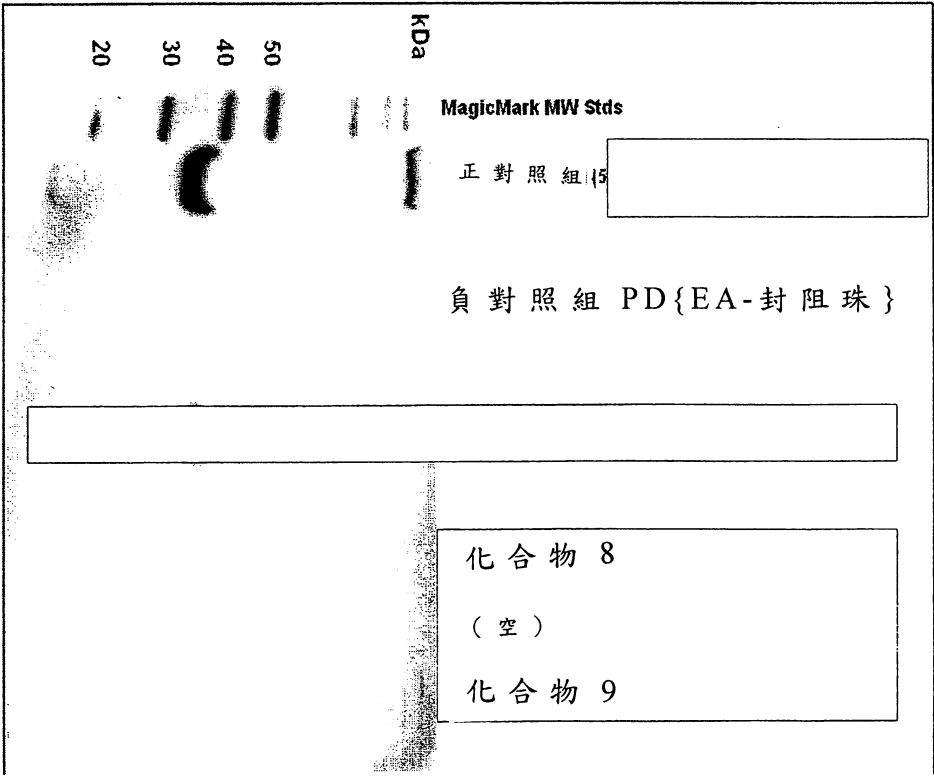
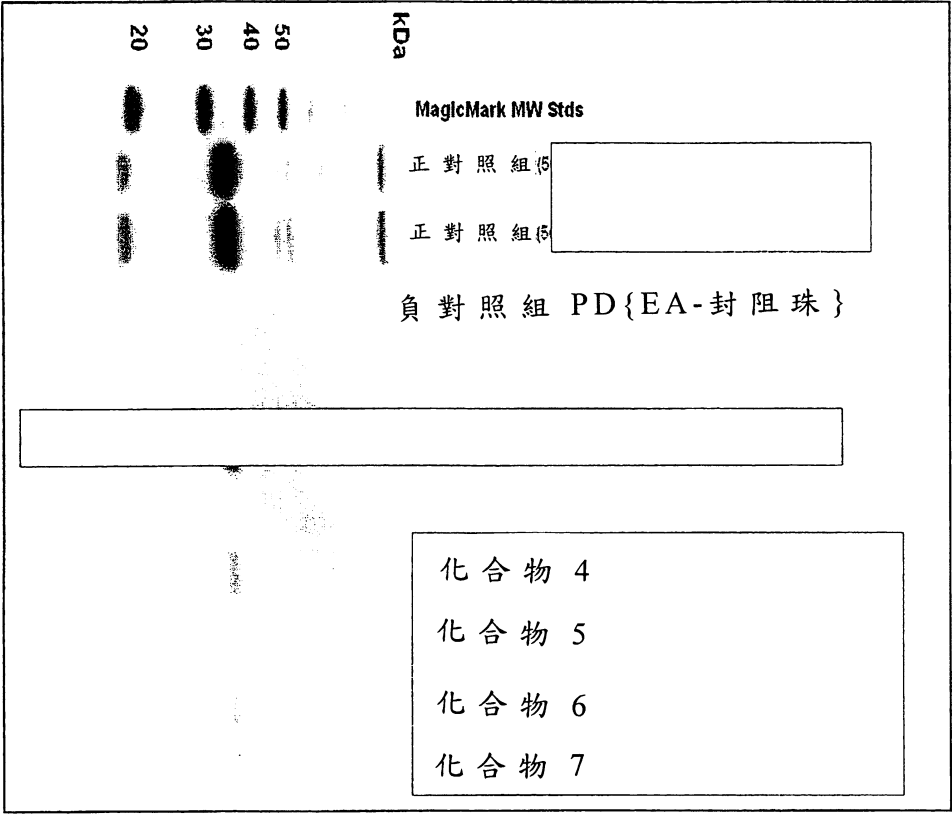


圖 3



七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：