



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113473986 B

(45) 授权公告日 2024.10.11

(21) 申请号 201980089587.9

(22) 申请日 2019.11.20

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 113473986 A

(43) 申请公布日 2021.10.01

(30) 优先权数据  
62/769,866 2018.11.20 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2021.07.19

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2019/000070 2019.11.20

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02020/106308 EN 2020.05.28

(73) 专利权人 恩福莱克逊治疗有限公司  
地址 美国马塞诸塞州

(72) 发明人 J·金凯德 M·邓克顿

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266  
专利代理师 徐迅 马莉华

(51) Int.Cl.  
A61K 31/4375 (2006.01)  
A61P 9/06 (2006.01)  
C07D 471/04 (2006.01)

(56) 对比文件  
US 2006276646 A1, 2006.12.07  
US 4271164 A, 1981.06.02

审查员 吴秋月

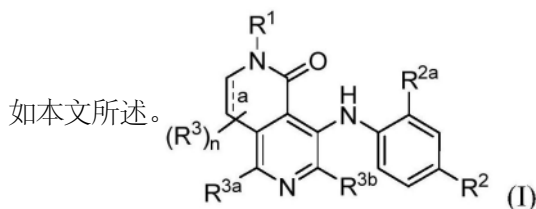
权利要求书2页 说明书65页 附图3页

(54) 发明名称

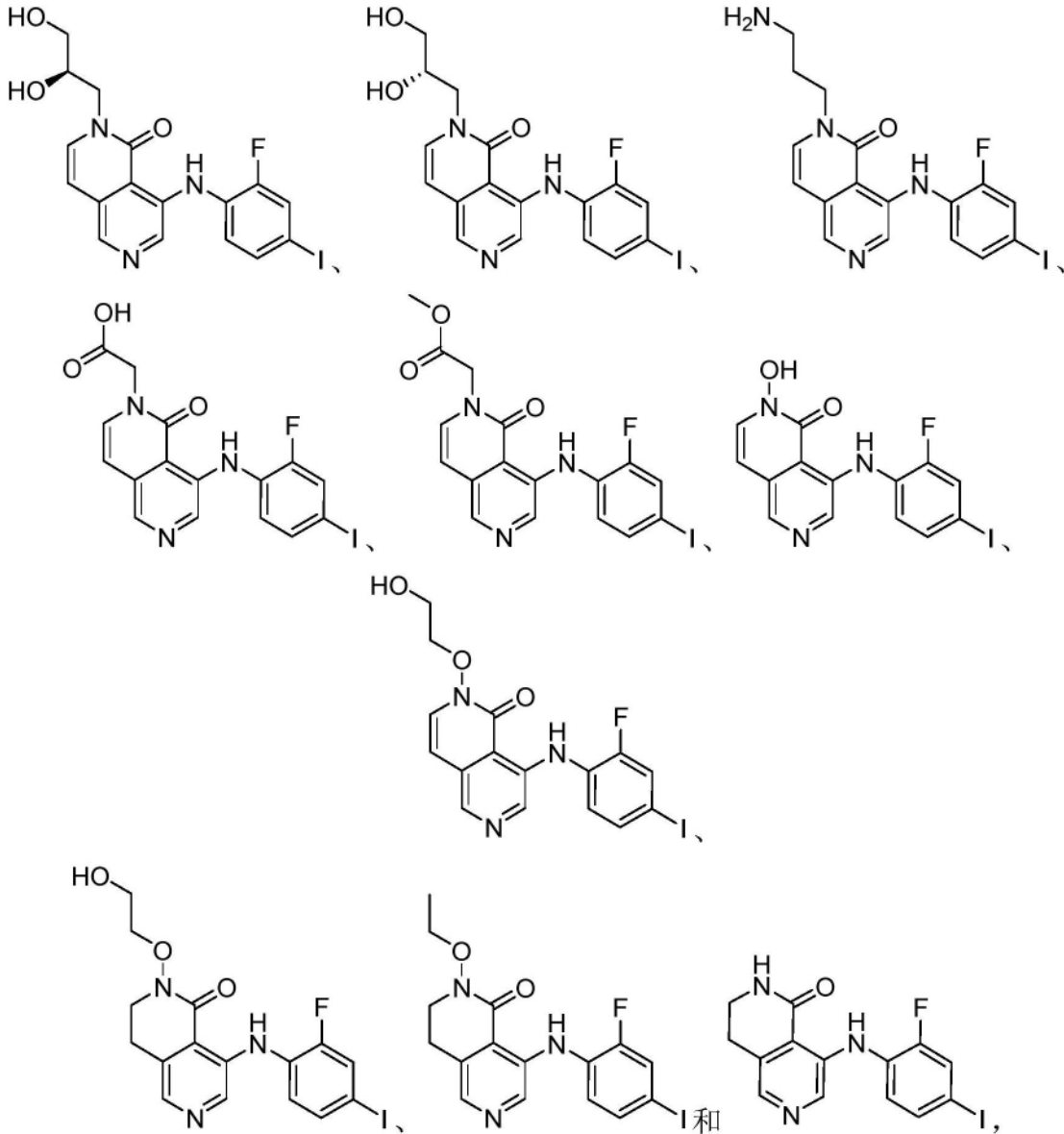
用于治疗皮肤疾病萘啶酮苯胺化合物

(57) 摘要

本文提供了化合物、包含该化合物的药物组合物、制备该化合物的方法、以及使用该化合物和组合物治疗对象的疾病或病症的方法,其中所述对象需要MEK抑制剂,其中该化合物是根据式(I)的化合物;其中,R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>2a</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>3a</sup>、R<sup>3b</sup>和下标n

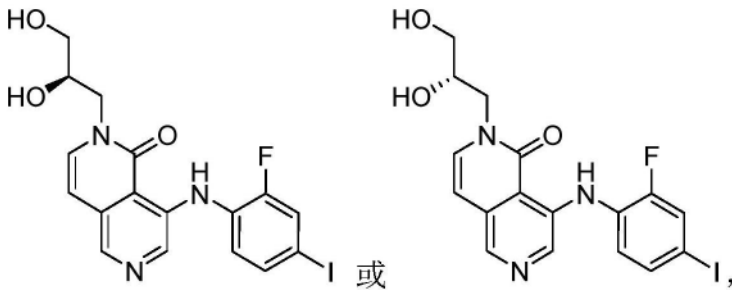


1. 一种化合物,其选自下组:



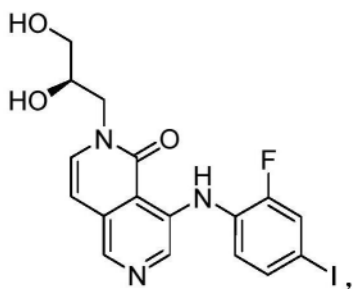
或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,如下式所示:



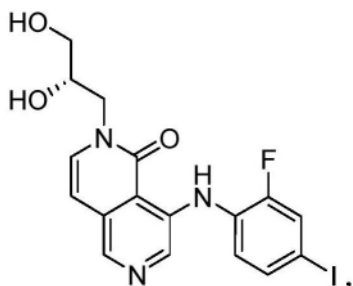
或其药学上可接受的盐。

3. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,如下式所示:



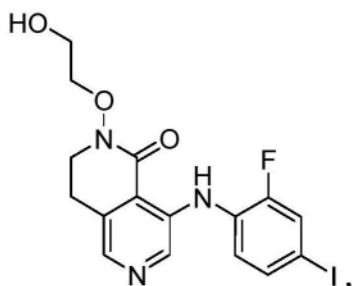
或其药学上可接受的盐。

4. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,如下式所示:



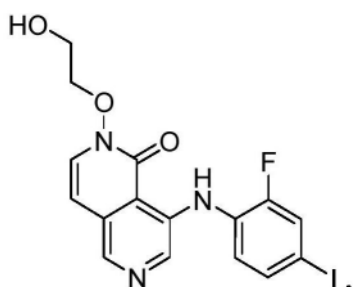
或其药学上可接受的盐。

5. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,如下式所示:



或其药学上可接受的盐。

6. 如权利要求1所述的化合物,其特征在于,如下式所示:



或其药学上可接受的盐。

7. 一种药物组合物,包括如权利要求1-6任一项所述的化合物和药学上可接受的载体。

## 用于治疗皮肤疾病萘啶酮苯胺化合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年11月20日提交的美国临时申请第62/769,866号的优先权,其全部内容并入本文用于所有目的。

[0003] 发明背景

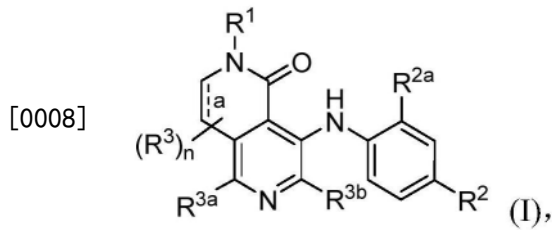
[0004] 1型神经纤维瘤病(NF1)发生于约1:3500的新生儿中,是影响人类神经功能的最常见的常染色体显性单基因疾病之一。临床上,NF1疾病的特征是在存在良性外周神经肿瘤,称为神经纤维瘤,涉及NF1基因中双等位基因突变的雪旺(Schwann)细胞,以及其他肿瘤和非肿瘤表现。参见Jousma等.小儿血癌(Pediatr.Blood Cancer)62:1709-1716,2015。NF1与几种皮肤疾病相关,包括皮肤神经纤维瘤;丛状神经纤维瘤;咖啡牛乳色斑(Café au lait spot);和腋下和腹股沟的雀斑。皮肤神经纤维瘤发生在超过95%的NF1患者中,可以出现在身体的任何地方,导致瘙痒、刺激、感染、身体疼痛和毁容。而且,皮肤神经纤维瘤与社交隔离和焦虑有关。

[0005] NF1是由一个或多个NF1(一种使RAS通路失活的基因)中种系突变引起的。因为NF1基因编码Ras-GAP蛋白,NF1缺失导致高Ras-GTP。因此,NF1的研究集中聚焦在检测Ras信号通路(包括Ras-MAPK级联)中的抑制剂。参见Jousma等小儿血癌(Pediatr.Blood Cancer)62:1709-1716,2015。根据它们的MAPK模块(module),已确定并命名了四种不同的MAPK级联。参见Akinleye等.血液学与肿瘤学杂志(Journal of Hematology&Oncology)6:27,2013。MEK蛋白属于一个酶家族,其在四种MAP激酶信号通路中,它们位于各自特定的MAPK靶点的上游。这些MEK蛋白中的两个(MEK1和MEK2)密切相关,参与这一信号通路级联。MEK1和MEK2的抑制剂已显示出能有效地抑制Ras下游的MEK信号转导,从而为靶向MEK治疗NF1提供了有力的理论基础。参见Rice等.医药化学通讯(Medicinal Chemistry Letters)3:416-421,2012。

[0006] 目前可用的MEK抑制剂设计成具有用于全身递送的口服生物利用度,并且与显著的副作用相关,包括左室射血分数降低、肌酸磷酸激酶升高、肺炎、肾功能衰竭、腹泻、感染、荨麻疹(urticaria)和斑丘疹,所有这些都是剂量限制或需要永久停用的。此外,临床试验显示长时间高剂量使用MEK抑制剂会产生副作用。参见Huang等.眼部药理学和治疗学杂志(J.Ocul.Pharmacol.Ther.)25:519-530,2009。例如,PD0325901(一种正在进行临床试验的MEK抑制剂)表现出了与共济失调、意识模糊和晕厥相关的神经副作用。此外,全身暴露于MEK抑制剂还观察到一些其他副作用,包括:痤疮样皮疹、CPK升高、恶心、呕吐、腹泻、腹痛和疲劳。因此,需要治疗NF1相关的皮肤神经纤维瘤的MEK的疗法,以限制这些严重的副作用。

### 发明内容

[0007] 在一个方面中,本文提供的是式(I)化合物:



[0009] 或其立体异构体、立体异构体的混合物,和/或其药学上可接受的盐,

[0010] 其中:

[0011] 下标n是0至2的整数;

[0012] 键“a”为单键或双键;

[0013] R<sup>1</sup>为氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>羟烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、杂环烷基、杂环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、R<sup>5</sup>-C(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,或-OR<sup>4</sup>,其中各个所述C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基和杂环烷基基团为未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代;

[0014] R<sup>2</sup>为卤素、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、-S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基,或C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基;

[0015] R<sup>2a</sup>为卤素或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0016] 各R<sup>3</sup>独立地为卤素或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

[0017] R<sup>3a</sup>和R<sup>3b</sup>各自独立地为氢、卤素、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基或C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基;

[0018] R<sub>4</sub>为氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>羟烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、杂环烷基、杂环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,或R<sup>5</sup>-C(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,其中各个所述C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基和杂环烷基基团为未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代;

[0019] R<sup>5</sup>为羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基、羟基氨基或N-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基羟基氨基;且

[0020] 各R<sup>6</sup>独立地为卤素、羟基、氧代(oxo)、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-羟烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>卤代烷基、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基、氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,或二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。

[0021] 在第二方面,本文提供了一种药物组合物,其包括式(I)化合物和药学上可接受的载体。

[0022] 在第三方面,本文提供一种治疗MEK抑制剂响应性病症、MEK抑制剂响应性皮肤病症、MEK介导的病症或疾病、或MEK-介导的皮肤病症的方法,所述方法包括施用治疗有效量的式(I)化合物或式(I)化合物的组合物,从而治疗所述病症或疾病。

[0023] 附图简要说明

[0024] 图1显示了用于制备式(Ia)化合物的合成方案1。

[0025] 图2显示了用于制备式(Ia)化合物的合成方案2。

[0026] 图3显示了用于制备式(Ib)化合物的合成方案3。

[0027] 发明详述

[0028] I. 通用

[0029] 本文提供了式(I)化合物、包括式(I)化合物的药物组合物、以及使用这些化合物或组合物治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的

病症或疾病、或MEK介导的真皮病症或疾病的方法。

## [0030] II. 定义

[0031] 本文所用的缩写具有其在化学和生物领域中常规意义。

[0032] 在取代基由其常规化学式(从左向右书写)指定的情况下,它们等同地包括由从右到左书写的结构所得的在化学上相同的取代基,例如-CH<sub>2</sub>O-意在包括-OCH<sub>2</sub>-。

[0033] “烷基”是指具有指定碳原子数(即C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>表示1至6个碳)的直链或支链的饱和、脂肪族基团。烷基可包括任意数量的碳,例如C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>和C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>。例如,C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基包括但不限于:甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲-丁基、叔-丁基、戊基、异戊基、己基等。烷基也可指具有至多20个碳原子的烷基,例如但不限于庚基、辛基、壬基、癸基等。

[0034] 术语“亚烷基”是指具有指定数量的碳原子(即C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>表示1至6个碳)的直链或支链饱和、脂肪族基团,且连接至少两个其他基团,即二价烃基。与亚烷基连接的两个部分可与亚烷基的相同原子或不同原子连接。例如,直链亚烷基可以是二价基团-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-,其中n是1、2、3、4、5或6。代表性的亚烷基包括但不限于:亚甲基、亚乙基、亚丙基、异亚丙基、亚丁基、亚异丁基、亚仲-丁基、亚戊基和亚己基。

[0035] “烯基”是指具有至少2个碳原子和至少一个双键且具有指定碳原子数(即C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>表示2到6个碳)的直链或支链烃。烯基可包括任意数量的碳,例如C<sub>2</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>5</sub>、C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>和C<sub>6</sub>。烯基可以具有任何合适数量双键,包括但不限于1、2、3、4、5或更多。烯基的实例包括但不限于:乙烯基(vinyl)(乙烯基(ethenyl))、丙烯基、异丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、异丁烯基、丁二烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、异戊烯基、1,3-戊二烯基、1,4-戊二烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、1,3-己二烯基、1,4-己二烯基、1,5-己二烯基、2,4-己二烯基,或1,3,5-己三烯基。

[0036] “炔基”是指具有至少2个碳原子和至少一个三键且具有指定碳原子数(即C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>表示2到6个碳)的直链或支链烃。炔基可包括任意数量的碳,例如C<sub>2</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>5</sub>、C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>和C<sub>6</sub>。炔基的实例包括但不限于:乙炔基、丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、丁二炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、异戊炔基、1,3-戊二炔基、1,4-戊二炔基、1-己炔基、2-己炔基、3-己炔基、1,3-己二炔基、1,4-己二炔基、1,5-己二炔基、2,4-己二炔基或1,3,5-己三炔基。

[0037] “环烷基”是指包含3-12个环原子或指定原子数的饱和或部分不饱和的、单环、稠合双环或桥接多环的环组件。环烷基可包括任意数量的碳,例如C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>、C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>、C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>、C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>、C<sub>3</sub>-C<sub>11</sub>和C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>。饱和单环环烷基环包括例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环辛基。饱和双环和多环环烷基环包括例如降冰片烷(norbornane)、[2.2.2]双环辛烷、十氢萘和金刚烷。环烷基也可以是部分不饱和的,在环中具有一个或多个双键或三键。代表性部分不饱和的环烷基包括但不限于:环丁烯基、环戊烯基、环己烯基、环己二烯基(1,3-和1,4-异构体)、环庚烯基、环庚二烯基、环辛烯基、环辛二烯基(1,3-、1,4-和1,5-异构体)、降冰片烯基(norbornene)和降冰片二烯基(norbornadiene)。当环烷基是饱和单环C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基时,示例性基团包括但不限于:环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。

[0038] “环烷基烷基”是指具有烷基组成部分和环烷基组成部分的基团,其中烷基组成部

分将环烷基组成部分连接到连接点。所述烷基组成部分如上定义,除了所述烷基组成部分是至少二价的(亚烷基)以连接到环烷基组成部分和连接到连接点。所述烷基组成部分可包括任意数量的碳,例如 $C_1-C_6$ 、 $C_1-C_2$ 、 $C_1-C_3$ 、 $C_1-C_4$ 、 $C_1-C_5$ 、 $C_2-C_3$ 、 $C_2-C_4$ 、 $C_2-C_5$ 、 $C_2-C_6$ 、 $C_3-C_4$ 、 $C_3-C_5$ 、 $C_3-C_6$ 、 $C_4-C_5$ 、 $C_4-C_6$ 和 $C_5-C_6$ 。环烷基组成部分如上定义。示例性环烷基-烷基包括但不限于:环丙基甲基、环丁基甲基、环戊基甲基和环己基甲基。

[0039] “烷氧基”是指具有将烷基连接至连接点的氧原子的烷基:烷基-O-。烷氧基可以具有任何合适数目的碳原子,例如 $C_1-C_6$ 。烷氧基包括,例如,甲氧基、乙氧基、丙氧基、异-丙氧基、丁氧基、2-丁氧基、异-丁氧基、仲-丁氧基、叔-丁氧基、戊氧基、己氧基等。

[0040] “羟烷基”是指如上所述的烷基,其中至少一个氢原子被羟基取代。至于烷基,羟烷基可以具有任何合适数目的碳原子,例如 $C_1-C_6$ 。示例性羟烷基包括但不限于:羟甲基、羟乙基(其中羟基在1-或2-位)、羟丙基(其中羟基在1-、2-或3-位)、羟丁基(其中羟基在1-、2-、3-或4-位)、羟基戊基(其中羟基在1-、2-、3-、4-或5-位)、羟基己基(其中羟基在1-、2-、3-、4-、5-或6-位)、1,2-二羟乙基等。

[0041] “烷氧基烷基”是指具有烷基组成部分和烷氧基组成部分的基团,其中烷基组成部分将烷氧基组成部分连接到连接点。所述烷基组成部分如上定义,除了所述烷基组成部分是至少二价的(亚烷基)以连接到烷氧基组成部分和连接到连接点。所述烷基成分可包括任意数量的碳,例如 $C_1-C_2$ 、 $C_1-C_3$ 、 $C_1-C_4$ 、 $C_1-C_5$ 、 $C_1-C_6$ 、 $C_2-C_3$ 、 $C_2-C_4$ 、 $C_2-C_5$ 、 $C_2-C_6$ 、 $C_3-C_4$ 、 $C_3-C_5$ 、 $C_3-C_6$ 、 $C_4-C_5$ 、 $C_4-C_6$ 和 $C_5-C_6$ 。烷氧基组成部分如上定义。烷氧基-烷基的实例包括但不限于:2-乙氧基-乙基和甲氧基甲基。

[0042] “卤素”或“卤代”是指氟、氯、溴或碘。

[0043] “卤代烷基”是指如上定义的烷基,其中一些或全部氢原子被卤素原子取代。至于烷基,卤代烷基可以具有任何合适数目碳原子,例如 $C_1-C_6$ 。例如,卤代烷基包括:三氟甲基、氟代甲基、2,2,2-三氟乙基等。在一些情况下,术语“全氟”可用于定义其中所有氢被氟取代的化合物或基团。例如,全氟甲基是指1,1,1-三氟甲基。

[0044] 除非另有说明,如本文所用“氨基”是指 $-NH_2$ 。

[0045] 除非另有说明,如本文所用“烷基氨基”是指 $-NHR$ 基团,其中R是如本文所定义的烷基,或其N-氧化物衍生物。在一些实施方式中,烷基氨基是 $C_1-C_6$ -烷基-氨基。在一些实施方式中, $C_1-C_6$ -烷基-氨基是甲氨基、乙氨基、正、异-丙氨基、正、异、叔-丁基氨基或甲基氨基-N-氧化物等等。

[0046] 除非另有说明,如本文所用“二烷基氨基”是指 $NR'R$ 基团,其中R和R'是如本文所定义的烷基,或其N-氧化物衍生物。在一些实施方式中,二烷基氨基是二( $C_1-C_6$ )烷基-氨基。在一些实施方式中,二( $C_1-C_6$ )烷基-氨基是二甲基氨基、甲基乙基氨基、二乙基氨基或二甲基氨基-N-氧化物等等。

[0047] 除非另有说明,如本文所用“氨基烷基”是指被一个或两个 $NH_2$ 取代的烷基。在一些实施方式中,氨基烷基是氨基- $C_1-C_6$ -烷基。

[0048] 除非另有说明,如本文所用“烷基氨基烷基”是指被一个或两个 $-NH$ (烷基)基团取代的烷基。在一些实施方式中,烷基氨基烷基是 $C_1-C_6$ -烷基-氨基- $C_1-C_6$ -烷基。

[0049] 除非另有说明,如本文所用“二烷基氨基烷基”是指被一个或两个 $-N$ (烷基)<sub>2</sub>基团取代的烷基。在一些实施方式中,二烷基氨基烷基是二( $C_1-C_6$ )烷基-氨基-( $C_1-C_6$ )烷基。

[0050] 除非另有说明,如本文所用“羟基氨基”是指-NHOH。

[0051] 除非另有说明,如本文所用“N-烷基羟基氨基”是指-NHOH的氨基被如本文所定义的烷基取代。在一些实施方式中,N-烷基羟基氨基是N-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-羟基氨基。在一些实施方式中,N-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基-羟基氨基是N-甲基羟基氨基、N-乙基羟基氨基、N-(正、异-丙基)-羟基氨基或N-(正、异、叔-丁基)羟基氨基等。

[0052] “杂环烷基”是指具有3至12个环成员和1至4个N、O和S杂原子的饱和环体系。杂原子也可以被氧化,例如但不限于,-S(O)-和-S(O)<sub>2</sub>。杂环烷基可以包括任意数目的环原子,例如,3至6、4至6、5至6、3至8、4至8、5至8、6至8、3至9、3至10、3至11或3至12个环成员。任何合适数目的杂原子可以包含在杂环烷基中,例如1、2、3或4、或1至2、1至3、1至4、2至3、2至4或3至4。杂环烷基可以包括,诸如,吡丙啶基(aziridinyl)、氮杂环丁基(azetidiny1)、吡咯烷基、哌啶基、氮杂环庚基(azepanyl)、氮杂环辛基(azocanyl)、奎宁环基、吡唑烷基、咪唑烷基、哌嗪基(1,2-、1,3-和1,4-异构体)、环氧乙烷基(oxiranyl)、氧杂环丁基、四氢呋喃基、氧杂环己基(oxanyl)(四氢吡喃基)、氧杂环庚基(oxepanyl)、环硫乙烷基、硫杂环丁基、硫杂环戊基(四氢噻吩基)、硫杂环己基(thianyl)(四氢噻喃基)、恶唑烷基、异恶唑烷基、噻唑烷基、异噻唑烷基、二氧戊环基、二硫戊环基、吗啉基、硫代吗啉基、二恶烷基或二噻烷基。杂环烷基也可以稠合到芳族或非芳族环体系以形成包括但不限于吡啶的成员。杂环烷基可以是未取代的或取代的。例如,杂环烷基可以被C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或氧代基(=O)等等取代。

[0053] 杂环烷基可以通过环上的任何位置连接。例如,吡丙啶基可以是1-或2-吡丙啶基,氮杂环丁基可以是1-或2-氮杂环丁基,吡咯烷基可以是1-、2-或3-吡咯烷基,哌啶基可以是1-、2-、3-或4-哌啶基,吡唑烷基可以是1-、2-、3-或4-吡唑烷基,咪唑烷基可以是1-、2-、3-或4-咪唑烷基,哌嗪基可以是1-、2-、3-或4-哌嗪基,四氢呋喃基可以是1-或2-四氢呋喃基,恶唑烷基可以是2-、3-、4-或5-恶唑烷基,异恶唑烷基可以是2-、3-、4-或5-异恶唑烷基,噻唑烷基可以是2-、3-、4-或5-噻唑烷基,异噻唑烷基可以是2-、3-、4-或5-异噻唑烷基,以及吗啉基可以是2-、3-或4-吗啉基。

[0054] 当杂环烷基包含3至8个环成员和1至3个杂原子时,代表性成员包括但不限于:吡咯烷基、哌啶基、四氢呋喃基、氧杂环己烷基、四氢噻吩基、硫杂环己基、吡唑烷基、咪唑烷基、哌嗪基、恶唑烷基、异恶唑烷基、噻唑烷基、异噻唑烷基、吗啉基、硫代吗啉基、二恶烷基和二噻烷基。杂环烷基也可以形成具有5至6个环成员和1至2个杂原子的环,代表性成员包括但不限于:吡咯烷基、哌啶基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡唑烷基、咪唑烷基、哌嗪基、恶唑烷基、异恶唑烷基、噻唑烷基、异噻唑烷基和吗啉基。

[0055] “保护基团”是指使官能团对一组特定反应条件不起化学反应的化合物,但在随后的合成步骤中可移除,以使官能团恢复到其原始状态。这种保护基团对于本领域普通技术人员是公知的,并且包括在“有机合成中的保护基(Protective groups in Organic Synthesis)”,第4版,T.W.Greene和P.G.M. Wuts,约翰威立国际出版公司,纽约,2006中公开的化合物,其全部内容通过引用并入本文。

[0056] “盐”是指本发明化合物的酸式盐或碱式盐。药学上可接受的盐的示例性例子是无机酸(盐酸、氢溴酸、磷酸等)的盐、有机酸(乙酸、丙酸、谷氨酸、柠檬酸等)盐、季铵(甲基碘、乙基碘等)盐。应当理解,药学上可接受的盐是无毒的。关于合适的药学上可接受的盐的附加信息可以在雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences),17版,马克出版

公司,宾夕法尼亚州伊斯顿,1985中找到,其通过引用并入本文。

[0057] 本发明的酸性化合物的药学上可接受的盐是与碱形成的盐,即阳离子盐,如碱和碱土金属盐,如钠、锂、钾、钙、镁和铵盐,如铵、三甲基-铵、二乙基铵和三-(羟甲基)-甲基-铵盐。

[0058] 类似地,酸加成盐,例如无机酸、有机羧酸和有机磺酸,例如盐酸、甲磺酸、马来酸的酸加成盐,也可能提供碱性基团(如吡啶基),其构成结构的一部分。

[0059] 化合物的中性形式可通过使盐与碱或酸接触并以常规方式分离母体化合物而再生。化合物的母体形式在某些物理性质上不同于其各种盐形式,例如在极性溶剂中的溶解性,但是出于本发明目的在其他方面盐等同于化合物的母体形式。

[0060] “异构体”是指具有相同化学式但在结构上可区分的化合物。本发明的某些化合物具有不对称碳原子(光学中心)或双键;外消旋体、非对映异构体、几何异构体和单个异构体均旨在包括在本发明的范围内。

[0061] “互变异构体”是指以平衡状态存在的两种或多种结构异构体中的一种,它们很容易从一种转化为另一种。

[0062] “溶剂化物”是指本文提供化合物或其盐,其进一步包括通过非共价分子间作用力结合的化学计量或非化学计量的溶剂。当溶剂是水时,溶剂化物是水合物。

[0063] “水合物”是指与至少一个水分子复合的化合物。本发明的化合物可与1-10个水分子复合。

[0064] 关于组合物,“基本上不含”或“基本上不存在”立体异构体是指组合物中包含至少85或90重量%,在一些实施方式中包含至少95%、98%、99%或100重量%化合物的指定立体异构体。在一些实施方式中,本文提供的方法和化合物中,所述化合物基本上不含立体异构体。

[0065] 关于组合物,“分离的”是指包含至少85%、90%、95%、98%、99%至100重量%的特定化合物,剩余部分包含其它化学形态或立体异构体的组合物。

[0066] 如本文所用,“组合物”是指包含特定的量的特定成分的产品,以及直接或间接地基于包含特定量的特定成分的组合物制造的任何产品。“药学上可接受的”是指载体、稀释剂或赋形剂必须与制剂的其它成分相容并且对其接受者无害。

[0067] “药学上可接受的赋形剂”是指辅助向对象施用活性剂和对象吸收的物质。可用于本发明的药用赋形剂包括但不限于:粘合剂、填料、崩解剂、润滑剂、包衣、甜味剂、调味剂和色素。本领域技术人员将认识到,其它药物赋形剂可用于本发明。

[0068] “IC<sub>50</sub>”是指特定测试化合物在测量响应的分析中达到最大该响应50%的抑制的量、浓度或剂量。

[0069] “抑制”、“抑制了”和“抑制剂”是指禁止特定作用或功能的化合物或禁止特定作用或功能的方法。

[0070] “给药”是指向对象口服给药、作为栓剂给药、局部(topical)接触、胃肠外、静脉内、腹膜内、肌肉、病灶内、鼻内或皮下给药、鞘内给药,或植入缓-释装置,例如迷你-渗透泵。

[0071] “治疗”、“治疗的”和“治疗法”是指在治疗或改善损伤、病理或病况中取得成功的任何标志,包括任何客观或主观参数,例如症状的减轻;缓解;削弱或使损伤、病理或病况对

患者而言能够忍受;减慢退化或衰退的速度;使衰退的终点不那么衰弱;改善病人的身体或精神健康。症状的治疗或改善可以是基于客观或主观参数;包括身体检查、神经精神病学检查和/或精神病学评估的结果。

[0072] “患者”或“对象”是指患有或易患可通过施用本文提供的药物组合物来治疗的疾病或病症的活生物体。非限制性实例包括人类、其它哺乳动物、牛、大鼠、小鼠、狗、猴子、山羊、绵羊、奶牛、鹿和其它非哺乳动物。在一些实施方式中,患者是人。

[0073] “治疗有效量”是指可用于治疗或改善已鉴定的疾病或病症,或用于显示可检测的治疗或抑制效果的化合物或药物组合物的量。准确的量将取决于治疗的目的,并且是本领域技术人员使用已知技术可以确定的(参见,例如,Lieberman的《药物剂型(Pharmaceutical Dosage Forms)》(1992年第13卷);劳埃德(Lloyd)的《药物配混的工艺、科学和技术(The Art,Science and Technology of Pharmaceutical Compounding)》(1999);Pickar的《剂量计算(Dosage Calculations)》(1999);和《雷明顿:药学的科学与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy)》,第20版,2003年,Gennaro编,利平科特,威廉姆斯和威尔金斯(Lippincott,Williams&Wilkins))。

[0074] 本公开提供了“软”MEK抑制剂、包含“软”MEK抑制剂的组合物、以及用MEK抑制剂(如“软”MEK抑制剂)治疗和/或预防皮肤病症(例如MEK抑制剂响应性皮肤疾病或MEK介导的皮肤疾病,如皮肤RAS病(dermal rasopathy),如与1型神经纤维瘤病(NF1)相关的皮肤疾病,如皮肤神经纤维病、皮下神经纤维瘤和浅表丛状神经纤维瘤)的方法。例如,本文描述的方法提供了局部(local)或非全身性给药,例如局部(topical)、皮内的或病灶内给药MEK抑制剂,例如,“软”MEK抑制剂,如“软”MEK抑制剂,由此全身暴露所表现出的副作用(如为全身给药设计的MEK抑制剂显示出的已知副作用)显著减少。

[0075] 在一些实施方式中,“软MEK抑制剂”是抑制MEK1和/或2并且以在皮肤中达到治疗作用后可预测和可控制的代谢/降解为无毒和生物活性较低或无活性(即不抑制或在较低程度上抑制MEK1和/或2)产品为特征的化合物。

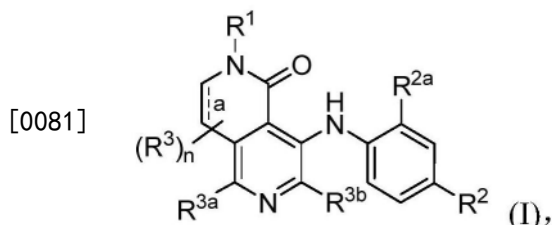
[0076] “硬MEK抑制剂”是指本领域已知的MEK抑制剂。在一些实施方式中,硬MEK抑制剂为了口服生物利用度而设计。这对于用全身递送将治疗有效水平的MEK抑制剂递送至周围病变是必要的。硬MEK抑制剂包括例如PD0325901;PD184161;SMK-17;AS703026(Pimasertib、MSC1936369);R0-4987655;司美替尼(Selumetinib)(AZD6244、ARRY142886);比美替尼(Binimetinib)(MEK162、ARRY-162、ARRY-438162);雷法替尼(Refametinib);卡比替尼(Cobimetinib)(GDC-0973、XL518);GDC-0623;AZD8330(ARRY-424704);CI-1040(PD184352);PD198306;和PD318088。

[0077] 虽然不希望被理论束缚,但相信软MEK抑制剂,例如,如本文所述的“软”MEK抑制剂,比已知的“硬”MEK抑制剂代谢更不稳定。由于它们固有的代谢不稳定性,例如,对于到达体内循环的降解,“软”MEK抑制剂,例如,诸如本文所述的“软”MEK抑制剂,具有皮肤活性,但在局部或非全身(如局部(topical)、皮内或病灶内)给药后具有低全身暴露,因为它们在暴露于血浆或血液或肝脏代谢酶时迅速降解。与“软”MEK抑制剂不同,已知MEK抑制剂在过去一直为了口服生物利用度而设计,这就要求允许在治疗有效水平进行全身递送所必需的在血浆或血液中的良好稳定性和对肝代谢的良好稳定性,并且更容易产生不希望的副作用和更高的毒性。因此,“软”MEK抑制剂,例如诸如本文所述的软MEK抑制剂,全身毒性较小。

[0078] “一个(a)”、“一个(an)”或“一个”,当在本文中用于取代基的基团或“取代基基团”时,是指至少一个。例如,在化合物被“一个”烷基或芳基取代的情况下,该化合物任选被至少一个烷基和/或至少一个芳基取代,其中每个烷基和/或芳基任选不同。在另一个实施方案中,在化合物被“一”取代基基团取代的情况下,该化合物被至少一个取代基基团取代,其中每个取代基基团任选不同。

[0079] III. 化合物

[0080] 在一个方面中,本文提供的是式(I)化合物:



[0082] 或其立体异构体、立体异构体的混合物,和/或其药学上可接受的盐,

[0083] 其中:

[0084] 下标n是0至2的整数;

[0085] 键“a”为单键或双键;

[0086]  $R^1$ 为氢、 $C_1-C_6$ 烷基、 $C_3-C_8$ 环烷基、 $C_3-C_8$ 环烷基- $C_1-C_6$ 烷基、 $C_1-C_6$ 羟烷基、 $C_1-C_6$ 烷氧基- $C_1-C_6$ 烷基、氨基- $C_1-C_6$ 烷基、 $C_1-C_6$ 烷基氨基- $C_1-C_6$ 烷基、二( $C_1-C_6$ 烷基)氨基- $C_1-C_6$ 烷基、杂环烷基、杂环烷基- $C_1-C_6$ 烷基、 $R^5-C(O)-C_1-C_6$ 烷基,或 $-OR^4$ ,其中各 $C_3-C_8$ 环烷基和杂环烷基基团为未取代的或被1至6个 $R^6$ 所取代;

[0087]  $R^2$ 为卤素、 $C_1-C_6$ 烷基、-S- $C_1-C_6$ 烷基、 $C_3-C_8$ 环烷基、 $C_2-C_6$ 烯基,或 $C_2-C_6$ 炔基;

[0088]  $R^{2a}$ 为卤素或 $C_1-C_6$ 烷基;

[0089] 各个 $R^3$ 独立地为卤素或 $C_1-C_6$ 烷基;

[0090]  $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 各自独立地为氢、卤素、 $C_1-C_6$ 烷基、 $C_2-C_6$ 烯基或 $C_2-C_6$ 炔基;

[0091]  $R_4$ 为氢、 $C_1-C_6$ 烷基、 $C_3-C_8$ 环烷基、 $C_3-C_8$ 环烷基- $C_1-C_6$ 烷基、 $C_1-C_6$ 羟烷基、 $C_1-C_6$ 烷氧基- $C_1-C_6$ 烷基、氨基- $C_1-C_6$ 烷基、 $C_1-C_6$ 烷基氨基- $C_1-C_6$ 烷基、二( $C_1-C_6$ 烷基)氨基- $C_1-C_6$ 烷基、杂环烷基、杂环烷基- $C_1-C_6$ 烷基,或 $R^5-C(O)-C_1-C_6$ 烷基,其中各 $C_3-C_8$ 环烷基和杂环烷基基团为未取代的或被1至6个 $R^6$ 所取代;

[0092]  $R^5$ 为羟基、 $C_1-C_6$ 烷氧基、氨基、 $C_1-C_6$ 烷基氨基、二( $C_1-C_6$ 烷基)氨基、羟基氨基或N- $C_1-C_6$ 烷基羟基氨基;且

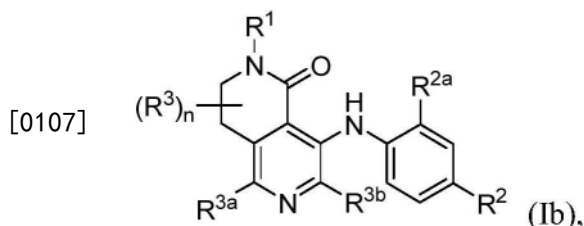
[0093] 各 $R^6$ 独立地为卤素、羟基、氧代(oxo)、 $C_1-C_6$ 烷基、 $C_3-C_8$ 环烷基、 $C_1-C_6$ 烷氧基、 $C_1-C_6$ -羟基烷基、 $C_1-C_6$ 卤代烷基、氨基、 $C_1-C_6$ 烷基氨基、二( $C_1-C_6$ 烷基)氨基、氨基- $C_1-C_6$ 烷基、 $C_1-C_6$ 烷基氨基- $C_1-C_6$ 烷基,或二( $C_1-C_6$ 烷基)氨基- $C_1-C_6$ 烷基。

[0094] 在一些实施方案中, $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^4$ 和 $R^6$ 中所述的环烷基各自为饱和单环 $C_3-C_8$ 环烷基。在一些实施方案中,单独的或作为 $C_3-C_8$ 环烷基- $C_1-C_6$ 烷基的一部分的 $C_3-C_8$ 环烷基是环丙基或环丁基。在一些实施方案中,单独的或作为 $C_3-C_8$ 环烷基- $C_1-C_6$ 烷基的一部分的 $C_3-C_8$ 环烷基是未取代的。在一些实施方案中,单独的或作为 $C_3-C_8$ 环烷基- $C_1-C_6$ 烷基的一部分的 $C_3-C_8$ 环烷基是被1至6个 $R_6$ 所取代的且 $R^6$ 如本文定义和所述。

[0095] 关于作为 $C_3-C_8$ 环烷基的一个或多个取代基的 $R^6$ ,在一些实施方案中,各个 $R^6$ 独立

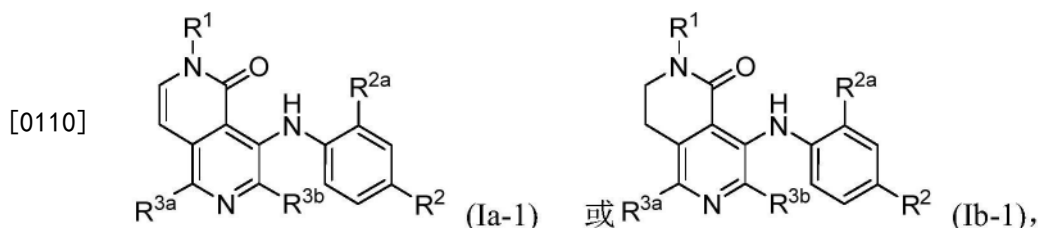


[0106] 在一些实施方案中,键“a”为单键且所述化合物由式(Ib)表示:



[0108] 其中, $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^3$ 、 $R^{3a}$ 、 $R^{3b}$ 和下标n如本文所述的任何方面或实施方案中所定义。

[0109] 在式(I)、(Ia)或(Ib)的一些实施方案中,下标n为0或1。在一些实施方案中,下标n为0且所述化合物由式(Ia-1)或(Ib-1)表示:



[0111] 其中, $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 如本文所述的任何方面或实施方案中所定义。

[0112] 关于(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中的任一个,在一些实施方案中, $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 各自独立为氢、卤素或 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在一些实施方案中, $R^{3a}$ 为氢、卤素或甲基。在一些实施方案中, $R^{3b}$ 为氢、卤素或甲基。在一些实施方案中, $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 各自为氢。在一些实施方案中, $R^{3a}$ 为氢且 $R^{3b}$ 为卤素。在一些实施方案中, $R^{3a}$ 为氢且 $R^{3b}$ 为氟。

[0113] 关于式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中的任一个,在一些实施方案中, $R^2$ 为卤素、 $C_1$ - $C_6$ 烷基、-S- $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_3$ - $C_8$ 环烷基、 $C_2$ - $C_6$ 烯基、或 $C_2$ - $C_6$ 炔基。在一些实施方案中, $R^2$ 为卤素或 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在一些实施方案中, $R^2$ 为卤素、-SCH<sub>3</sub>、-CH<sub>3</sub>、 $C_2$ - $C_3$ 烯基或 $C_2$ - $C_3$ 炔基。

[0114] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中, $R^2$ 为卤素。在一些实施方案中, $R^2$ 为氟。在一些实施方案中, $R^2$ 为碘。在一些实施方案中, $R^2$ 为氯。在一些实施方案中, $R^2$ 为溴。

[0115] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中, $R^2$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在一些实施方案中, $R^2$ 为 $C_1$ - $C_3$ 烷基。在一些实施方案中, $R^2$ 为甲基。

[0116] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中, $R^2$ 为-S- $C_1$ - $C_6$ 烷基。在一些实施方案中, $R^2$ 为-S- $C_1$ - $C_3$ 烷基。在一些实施方案中, $R^2$ 为-SCH<sub>3</sub>。

[0117] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中, $R^2$ 为 $C_3$ - $C_8$ 环烷基。在一些实施方案中, $R^2$ 为环丙基。

[0118] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中, $R^2$ 为 $C_2$ - $C_6$ 烯基。在一些实施方案中, $R^2$ 为 $C_2$ - $C_4$ 烯基。在一些实施方案中, $R^2$ 为乙烯基(vinyl)(乙烯基(ethenyl))、丙烯基、异丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、异丁烯基,或丁二烯基。在一些实施方案中, $R^2$ 为乙烯基。

[0119] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中, $R^2$ 为 $C_2$ - $C_6$ 炔基。在一些实施方案中, $R^2$ 为 $C_2$ - $C_3$ 炔基。在一些实施方案中, $R^2$ 为乙炔基或丙炔基。在一些实施方案中, $R^2$ 为乙炔基。

[0120] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中, $R^{2a}$ 为卤素或

C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为卤素或CH<sub>3</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为氟或CH<sub>3</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为碘或CH<sub>3</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为氯或CH<sub>3</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为溴或CH<sub>3</sub>。

[0121] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中,R<sub>2a</sub>为卤素。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为氟。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为碘。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为氯。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为溴。

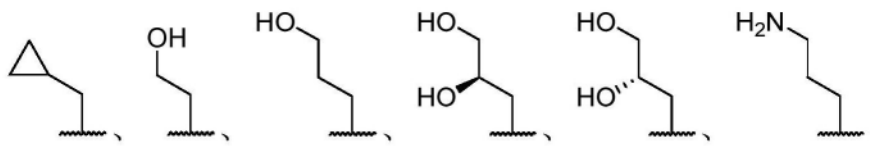
[0122] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>2a</sup>为CH<sub>3</sub>。

[0123] 在式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中任一个的一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>2a</sup>各自为卤素。在一些实施例中,R<sup>2</sup>为卤素且R<sup>2a</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基且R<sup>2a</sup>为卤素。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为-S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基且R<sup>2a</sup>为卤素。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为-SCH<sub>3</sub>且R<sup>2a</sup>为卤素。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基且R<sup>2a</sup>为卤素。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为环丙基且R<sup>2a</sup>为卤素。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>烯基且R<sup>2a</sup>为卤素。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>炔基且R<sup>2a</sup>为卤素。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为乙炔基且R<sup>2a</sup>为卤素。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>和R<sup>2a</sup>各自独立地为氟、氯、溴或碘。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为碘且R<sup>2a</sup>为氟。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为氟且R<sup>2a</sup>为碘。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为卤素且R<sup>2a</sup>为-CH<sub>3</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为氟且R<sup>2a</sup>为-CH<sub>3</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为碘且R<sup>2a</sup>为-CH<sub>3</sub>。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为-SCH<sub>3</sub>且R<sup>2a</sup>为氟。在一些实施方案中,R<sup>2</sup>为乙炔基且R<sup>2a</sup>为氟。

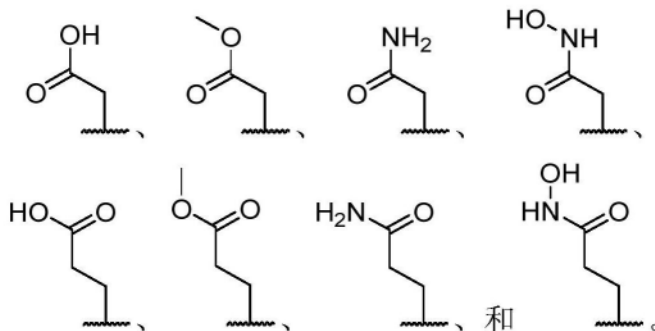
[0124] 关于式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ia-1)和(Ib-1)中的任一个,在一些实施方案中,R<sub>1</sub>为氢。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。R<sup>1</sup>为未取代或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为未取代或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,其中,所述C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基是未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,其中,所述C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基是未取代或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为环丙基、环丁基、环丙基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、或环丁基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;并且各个所述环丙基和环丁基为未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为环丙基、环丁基、环丙基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、或环丁基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,各个所述环丙基和环丁基是未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>羟烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为未取代或被1至6个R<sub>6</sub>取代的杂环烷基,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为未取代或被1至6个R<sub>6</sub>取代的杂环烷基,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为杂环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,其中,所述杂环烷基是未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为杂环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,其中,所述杂环烷基是未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>是氧杂环丁基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、氮杂环丁基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、吡咯烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、哌啶基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,或2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为R<sup>5</sup>-C(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;并且R<sup>5</sup>为羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基、二

(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基、羟基氨基或N-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基羟基氨基。在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为R<sup>5</sup>-C(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;且R<sup>5</sup>为羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氨基或羟基氨基。

[0125] 在一些实施例中,R<sup>1</sup>选自下组:氢、

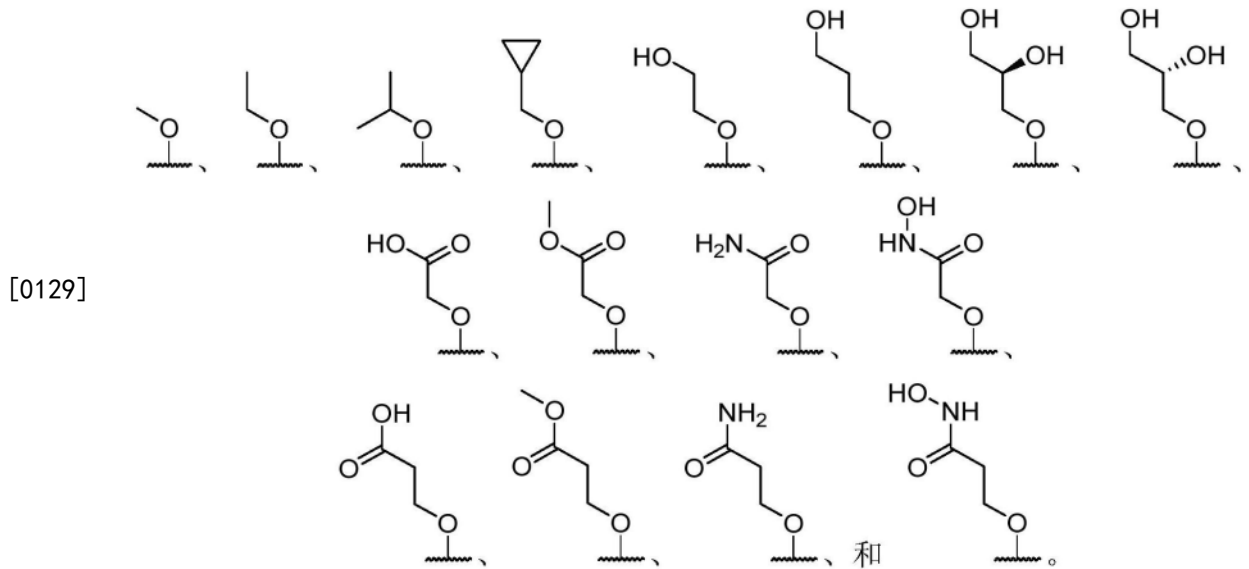


[0126]

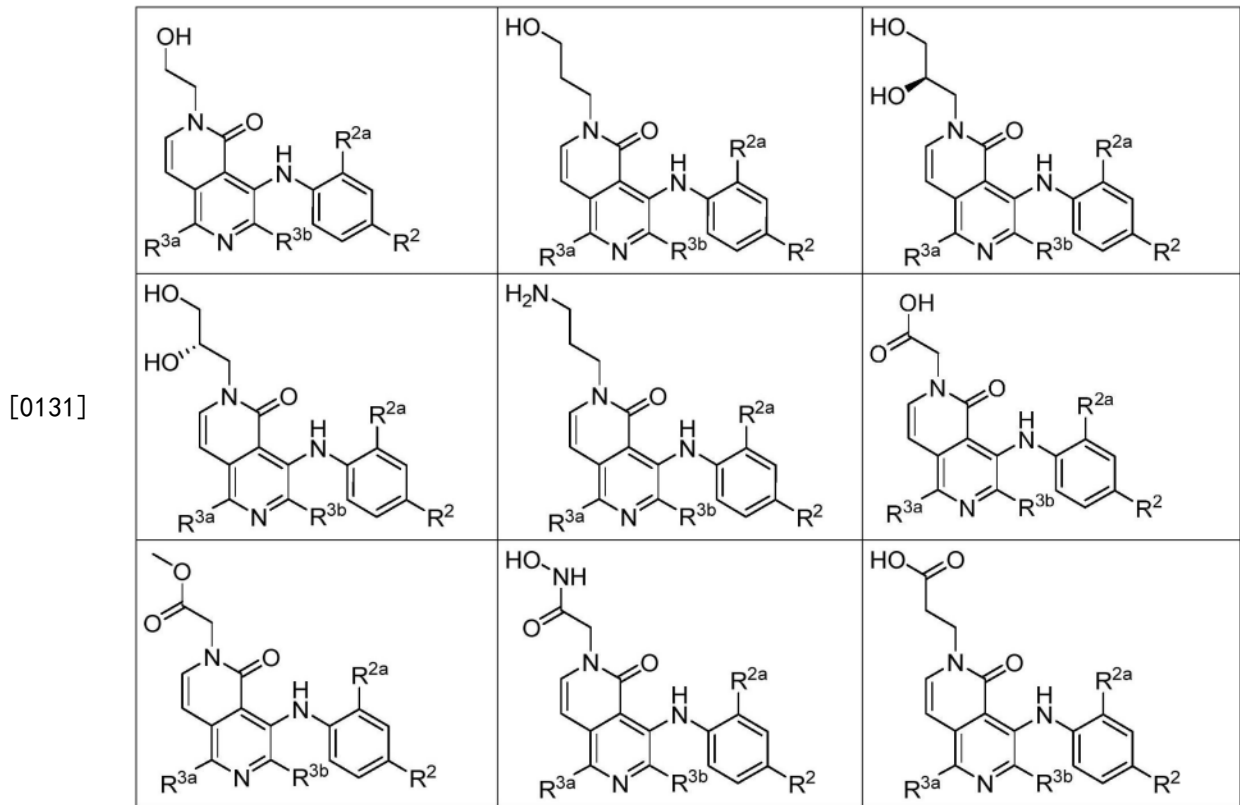


[0127] 在一些实施方案中,R<sup>1</sup>为OR<sup>4</sup>。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为氢。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为未取代或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为未取代或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,其中,所述C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基是未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,其中,所述C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>环烷基是未取代或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为环丙基、环丁基、环丙基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、或环丁基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;并且各个环丙基和环丁基为未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为环丙基、环丁基、环丙基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、或环丁基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;各个所述环丙基和环丁基是未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>羟烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为未取代或被1至6个R<sup>6</sup>取代的杂环烷基,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为未取代或被1至6个R<sup>6</sup>取代的杂环烷基,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为杂环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,其中,所述杂环烷基是未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且R<sup>6</sup>如本文所定义和描述。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为杂环烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,其中,所述杂环烷基是未取代的或被1至6个R<sup>6</sup>所取代的,且各个R<sup>6</sup>独立地为羟基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>是氧杂环丁基、氮杂环丁基、吡咯烷基、哌啶基、氧杂环丁基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、氮杂环丁基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基、吡咯烷基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>基、哌啶基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基,或2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为R<sup>5</sup>-C(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;并且R<sup>5</sup>为羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基氨基、二(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基)氨基、羟基氨基或N-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基羟基氨基。在一些实施方案中,R<sup>4</sup>为R<sup>5</sup>-C(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;且R<sup>5</sup>为羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基、氨基或羟基氨基。

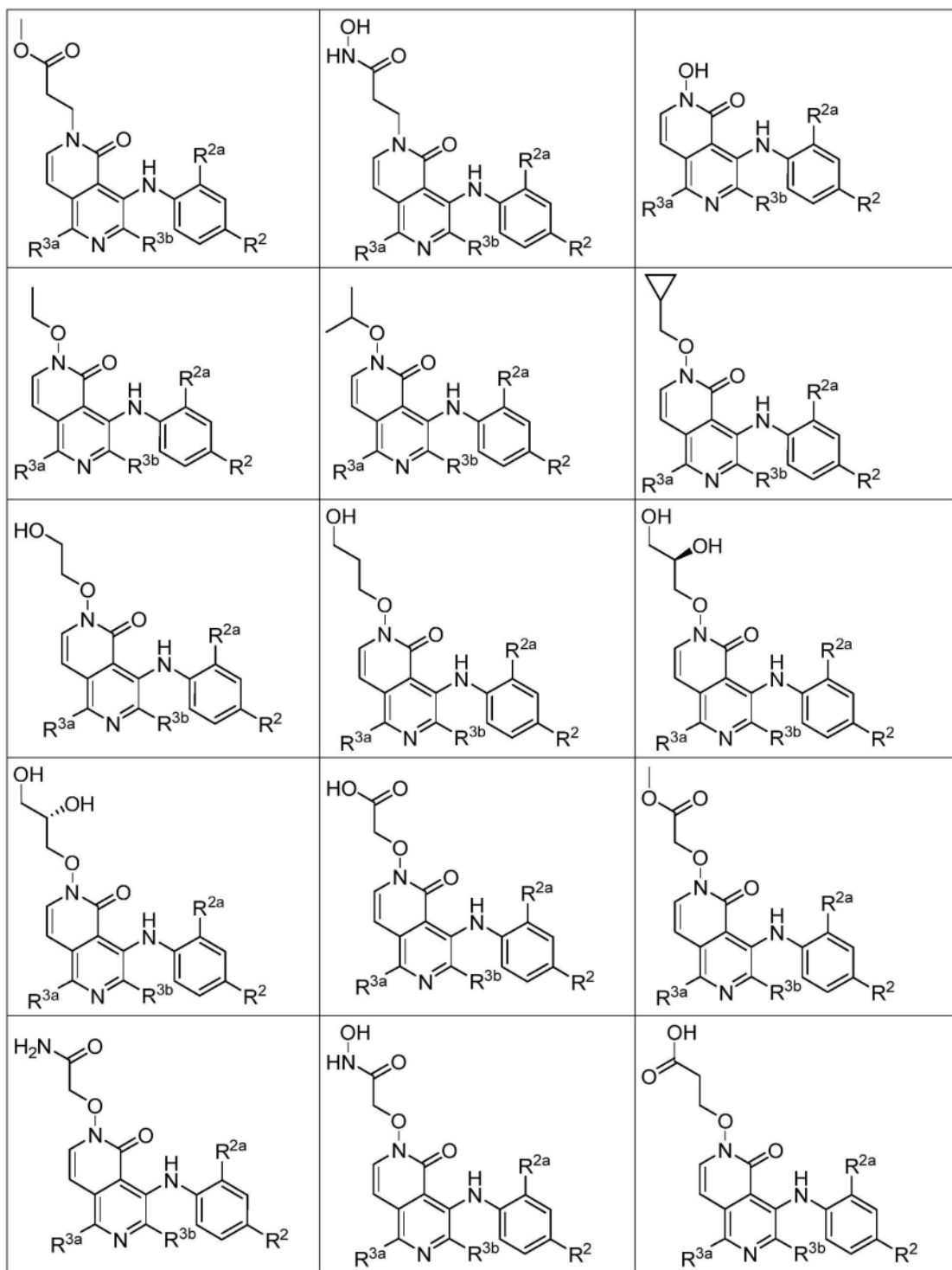
[0128] 在一些实施方案中,R<sup>1</sup>选自下组:-OH、



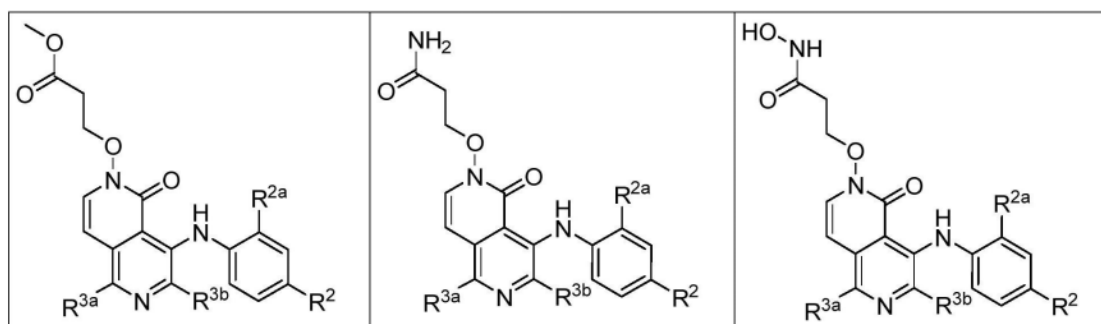
[0130] 在一些实施方案中,所述式(I)、(Ia)或(Ia-1)化合物由下式中的任一表示:



[0132]



[0133]

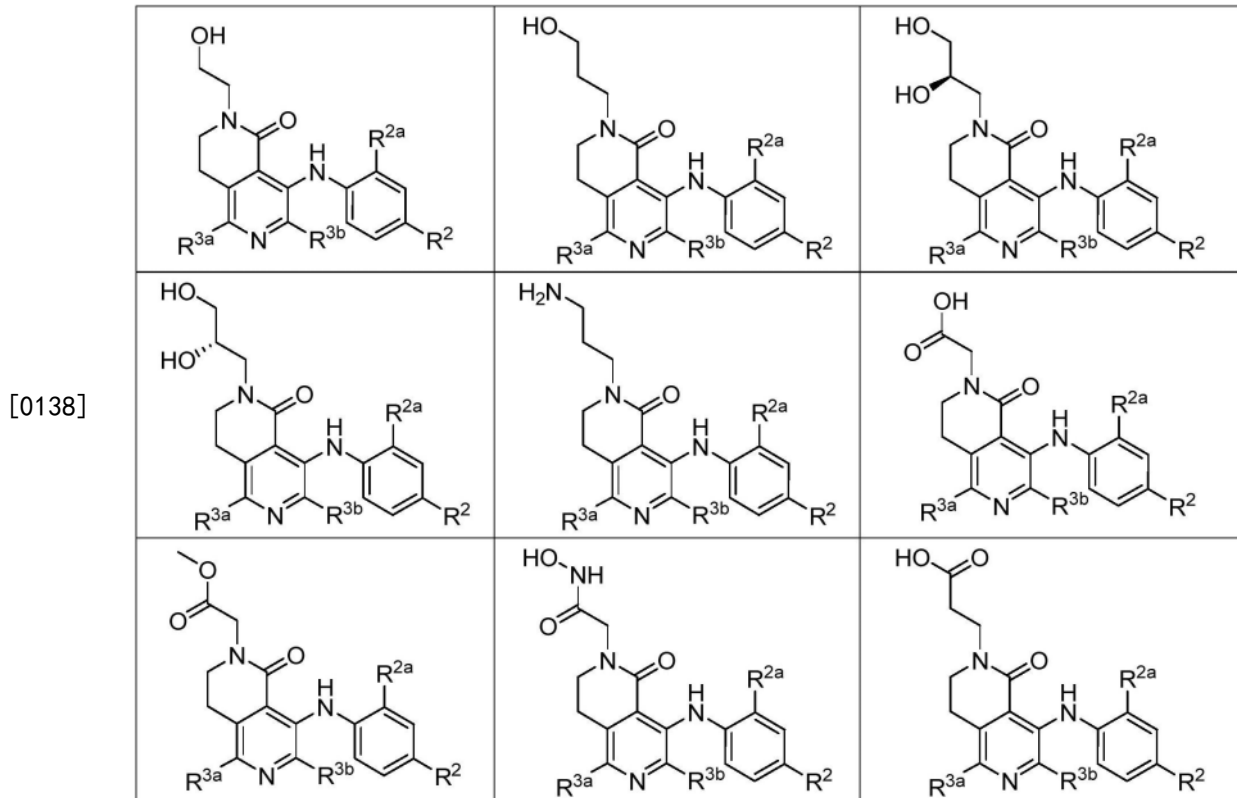


[0134] 其中,  $R^2$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 如本文所述的任意方面或实施方案中所定义。

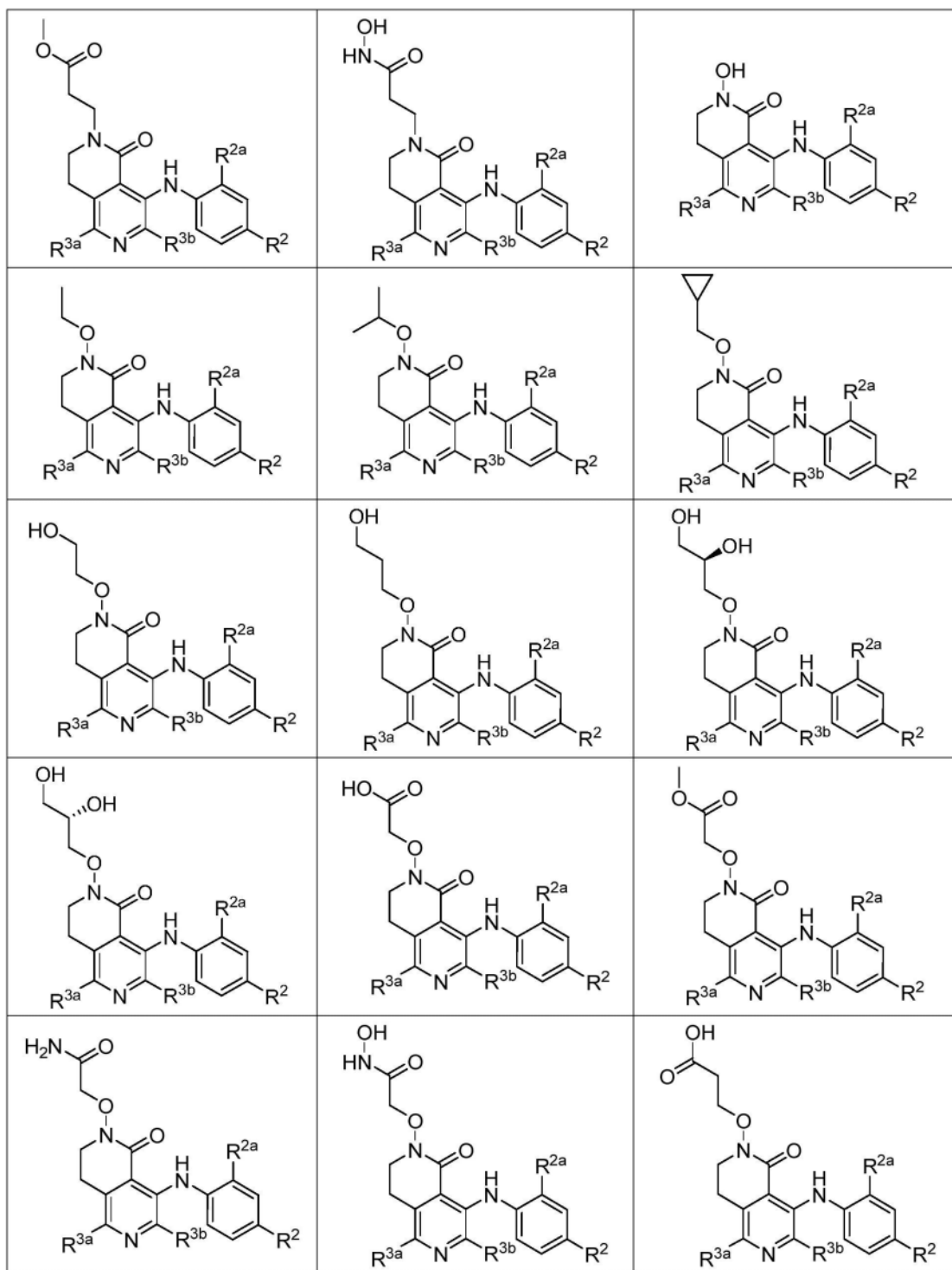
[0135] 在具有式 (Ia) 或 (Ia-1) 的上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为碘且 $R^{2a}$ 为氟。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为碘且 $R^{2a}$ 为甲基。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为乙炔基且 $R^{2a}$ 为氟。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为乙炔基且 $R^{2a}$ 为甲基。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为 $-SCH_3$ 且 $R^{2a}$ 为氟。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为 $-SCH_3$ 且 $R^{2a}$ 为甲基。

[0136] 在具有式 (Ia) 或 (Ia-1) 的上述结构的一些实施方案中,  $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 各自为氢。在上述结构的一些实施方案中,  $R^{3a}$ 为氢且 $R^{3b}$ 为卤素。在上述结构的一些实施方案中,  $R^{3a}$ 为氢且 $R^{3b}$ 为氟。

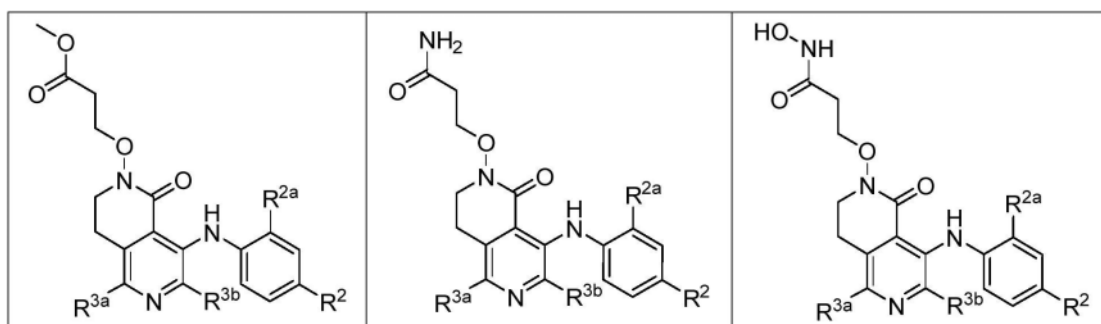
[0137] 在一些实施方案中, 所述式 (I)、(Ib) 或 (Ib-1) 化合物由下式中的任一表示:



[0139]



[0140]



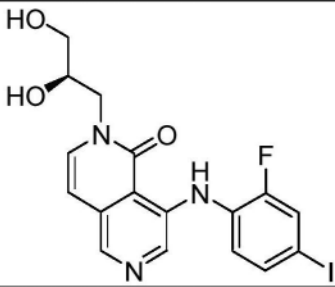
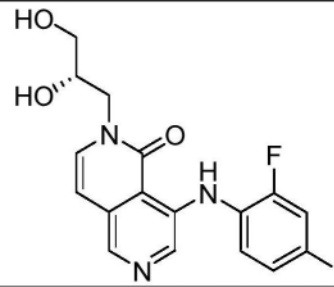
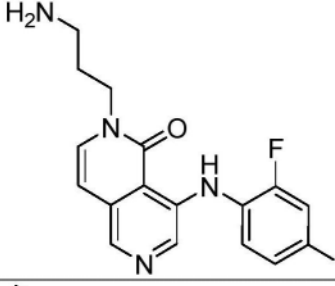
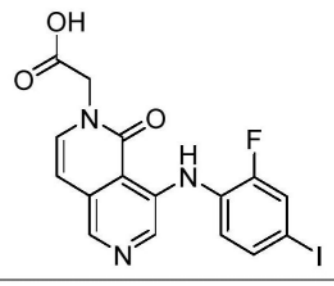
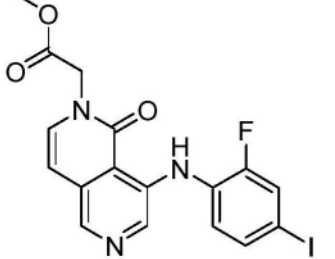
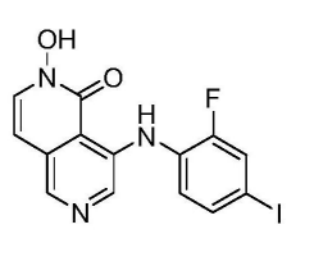
[0141] 其中,  $R^2$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 如本文所述的任意方面或实施方案中所定义。

[0142] 在具有式 (Ib) 或 (Ib-1) 的上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为碘且 $R^{2a}$ 为氟。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为碘且 $R^{2a}$ 为甲基。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为乙炔基且 $R^{2a}$ 为氟。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为乙炔基且 $R^{2a}$ 为甲基。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为 $-SCH_3$ 且 $R^{2a}$ 为氟。在上述结构的一些实施方案中,  $R^2$ 为 $-SCH_3$ 且 $R^{2a}$ 为甲基。

[0143] 在具有式 (Ib) 或 (Ib-1) 的上述结构的一些实施方案中,  $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 各自为氢。在上述结构的一些实施方案中,  $R^{3a}$ 为氢且 $R^{3b}$ 为卤素。在上述结构的一些实施方案中,  $R^{3a}$ 为氢且 $R^{3b}$ 为氟。

[0144] 示例的式 (I) 化合物列于表1。

[0145] 表1: 式 (I) 化合物

No.	结构	编号	结构
1.001		1.002	
1.003		1.004	
1.005		1.006	

[0146]

No.	结构	编号	结构
1.007		1.008	
[0147] 1.009		1.010	
1.011		1.012	

[0148] 另外的式(I)化合物列于表2。

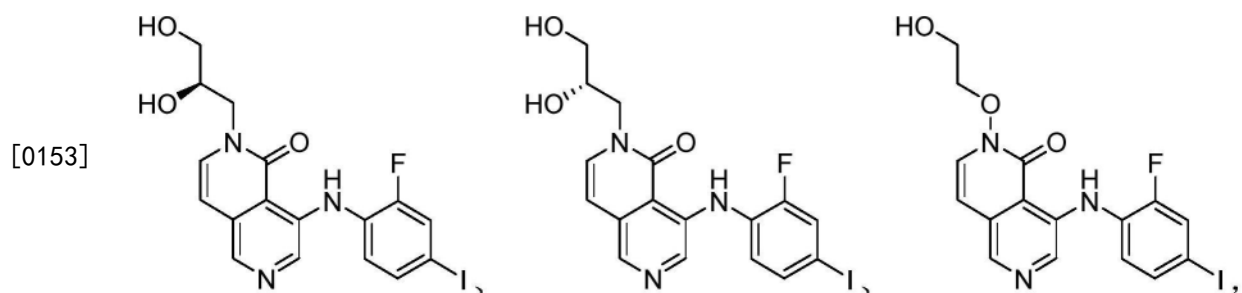
[0149] 表2:另外的式(I)化合物

编号	结构	编号	结构
1.013		1.014	
[0150] 1.015		1.016	

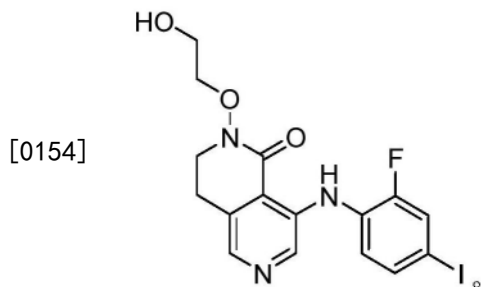
编号	结构	编号	结构
1.017		1.018	
1.019		1.020	
1.021		1.022	
1.023			

[0151]

[0152] 在一些实施方案中,所述式 (I) 化合物选自下组:



以及



[0155] 其他形式的化合物

[0156] 本发明的化合物可以作为盐存在。本发明包括这样的盐。可应用的盐形式的实例包括：盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、甲磺酸盐、硝酸盐、马来酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、富马酸盐、酒石酸盐（例如 (+)-酒石酸盐、(-)-酒石酸盐或其混合物，包括外消旋混合物）、琥珀酸盐、苯甲酸盐和与氨基酸如谷氨酸的盐。这些盐可以通过本领域技术人员已知的方法制备。还包括的是碱加成盐，如钠、钾、钙、铵、有机氨或镁盐，或类似盐。当本发明化合物含有相对碱性的官能团时，可以通过使这些化合物的中性形式与足够量的所需酸（无溶剂或在合适的惰性溶剂中）接触而获得酸加成盐。可接受的酸加成盐的实例包括衍生自无机酸如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等的那些、以及衍生自如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸等的有机酸的盐。还包括氨基酸，例如精氨酸等的盐，以及有机酸，例如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸等的盐。本发明的某些具体化合物同时含有碱性和酸性官能团，使得化合物可以转化为碱或酸加成盐。

[0157] 其它盐包括用于本发明方法的化合物的酸盐或碱盐。药学上可接受的盐的示例性例子是无机酸（盐酸、氢溴酸、磷酸等）的盐、有机酸（乙酸、丙酸、谷氨酸、柠檬酸等）盐、和季铵（甲基碘、乙基碘等）盐。应当理解，药学上可接受的盐是无毒的。关于合适的药学上可接受的盐的附加信息可以在雷明顿药物科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences), 17 版, 马克出版公司, 宾夕法尼亚州伊斯顿, 1985 中找到, 其通过引用并入本文。

[0158] 药学上可接受的盐包括用相对无毒的酸或碱制备的活性化合物的盐, 这取决于本文所述化合物上存在的特定取代基。当本发明化合物含有相对酸性的官能团时, 可以通过使这些化合物的中性形式与足够量的所需碱（无溶剂或在合适的惰性溶剂中）接触来获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐的实例包括钠、钾、钙、铵、有机氨基或镁盐, 或类似的盐。当本发明化合物含有相对碱性的官能团时, 可以通过使这些化合物的中性形式与足够量的所需酸（无溶剂或在合适的惰性溶剂中）接触而获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括衍生自无机酸如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等的那些、以及衍生自如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸等相对无毒的有机酸的盐。还包括氨基酸, 例如精氨酸等的盐, 以及有机酸, 例如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸等的盐（参见, 例如, Berge 等, “药用盐 (Pharmaceutical Salts)”, 药物科学杂志 (Journal of Pharmaceutical Science), 1977, 66, 1-19)。本发明的某些具体化合物同时含有碱性和酸性官能团, 使得化合物可以转化为碱或酸加成盐。

[0159] 化合物的中性形式优选通过使盐与碱或酸接触并以常规方式分离母体化合物而再生。化合物的母体形式与各种盐形式在某些物理性质上不同,如在极性溶剂中的溶解度。

[0160] 本发明的某些化合物可以非溶剂化形式以及溶剂化形式存在,包括水合形式。通常,溶剂化形式相当于非溶剂化形式,并且包括在本发明的范围内。本发明的某些化合物可以以多晶或无定形形式存在。通常,所有物理形式对于本发明所设想的用途是等同的,并且意图包含在本发明的范围内。

[0161] 本发明的某些化合物具有不对称碳原子(光学中心)或双键;对映异构体、外消旋体、非对映异构体、互变异构体、几何异构体、立体异构形式(可依照绝对立体化学被定义为(R)-或(S)-或用于氨基酸定义为(D)-或(L)-)和单独的异构体包括在本发明的范围内。本发明的化合物不包括现有技术中已知的太不稳定而难以合成和/或分离的化合物。本发明旨在包括外消旋和光学纯形式的化合物。光学活性(R)-和(S)-或(D)-和(L)-异构体可使用手性合成子或手性试剂制备,或使用常规技术拆分。

[0162] 同分异构体包括具有相同数目和种类的原子,因而具有相同分子量,但在原子的结构排列或构型方面不同的化合物。

[0163] 本领域技术人员将清楚的是,本发明的某些化合物可以互变异构形式存在,所有这些化合物的互变异构形式都在本发明的范围内。互变异构体是指以平衡状态存在的两种或多种结构异构体中的一种,它们很容易从一种异构体形式转化为另一种。

[0164] 除非另有说明,本文描述的结构还意在包括结构的所有立体化学形式;即每个不对称中心的R和S构型。因此,本发明的化合物的单一立体化学异构体以及对映体和非对映体的混合物都在本发明的范围内。

[0165] 除非另有说明,本发明的化合物还可以在构成这些化合物的一个或多个原子上含有非天然比例的原子同位素。例如,本发明的化合物可以用放射性或稳定同位素标记,例如氘( $^2\text{H}$ )、氚( $^3\text{H}$ )、碘-125( $^{125}\text{I}$ )、氟-18( $^{18}\text{F}$ )、氮-15( $^{15}\text{N}$ )、氧-17( $^{17}\text{O}$ )、氧-18( $^{18}\text{O}$ )、碳-13( $^{13}\text{C}$ )或碳-14( $^{14}\text{C}$ )。本发明化合物的所有同位素变体,无论是否是放射性的,均被包括在本发明的范围内。

[0166] 除了盐形式外,本发明提供了以前药形式存在的化合物。本文所述化合物的前药是在生理条件下易于发生化学变化以提供本发明化合物的那些化合物。另外,前药可以在离体环境中通过化学或生物化学方法转化成本发明的化合物。例如,当将前药放置在具有合适的酶或化学试剂的透皮贴剂储库中时,前药会缓慢地转化成本发明的化合物。

[0167] IV. 组合物

[0168] 在另一个方面,本文提供了一种药物组合物,其包括式(I)化合物和药学上可接受的载体。

[0169] 可以使用本领域可获得和本文公开的方法将本文提供的化合物配制成药物组合物。可在适当的药物组合物中提供本文公开的任何化合物,并通过适当的给药途径给药。

[0170] 向对象给药本文所述化合物可以是局部的(local)或非全身性的,例如局部的、皮内的或病灶内的。在一些实施方式中,化合物可以通过局部给药施用。在一些实施方式中,化合物可以通过皮内给药施用。在一些实施方式中,化合物可以通过病灶内给药(如通过病灶内注射)施用。

[0171] 本文提供的方法包括:在患者需要时,施用含有至少一种如本文所述化合物的药

物组合物,包括单独使用的或以与一种或多种相容的和药学上可接受的载体(例如稀释剂或佐剂)组合的形式使用的式(I)化合物(如果合适的话以盐形式),或者,与另一种用于治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病的药剂组合施用。

[0172] 在一些实施方式中,第二药剂可以与本文提供的化合物一起配制或包装。当然,仅当根据本领域技术人员的判断这种共配制剂不应干扰任一制剂的活性或给药方法时,第二种药剂将与本文提供的化合物配制在一起。在一些实施方式中,本文提供的化合物和第二种药剂是分开配制的。为本领域从业者的方便起见,它们可以包装在一起,或单独包装。

[0173] 在临床实践中,本文提供的活性药剂可以通过任何常规途径,特别是局部、皮内、病灶内、口服、肠道外、直肠或通过吸入(如以气溶胶的形式)给药。在一些实施方式中,本文提供的化合物是局部、皮内或病灶内给药的。在一些实施方式中,本文提供的化合物是局部给药的。在一些实施方式中,本文提供的化合物是皮内给药的。在一些实施方式中,本文提供的化合物是病灶内给药的。

[0174] 作为口服给药的固体组合物,可以使用片剂、丸剂、硬质明胶胶囊、粉剂或颗粒剂。在这些组合物中,活性产物与一种或多种惰性稀释剂或佐剂(例如蔗糖、乳糖或淀粉)混合。

[0175] 这些组合物可以包含稀释剂以外的物质,例如润滑剂,例如硬脂酸镁,或用于控制释放的包衣。

[0176] 作为口服给药的液体组合物,可以使用药学上可接受的、含惰性稀释剂(如水或液体石蜡)的溶液剂、悬浮液、乳剂、糖浆和酞剂。这些组合物还可包含稀释剂以外的物质,在一些实施方式中,包含润湿、甜味或调味产品。

[0177] 作为局部施用的组合物,可使用洗剂、酞剂、乳膏、乳液、凝胶或软膏。在这些组合物中,活性产物与一种或多种惰性赋形剂(包括水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、丁烷1,3二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油及其混合物)混合。

[0178] 用于肠道外、病灶内或皮内给药的组合物可以是乳剂或无菌溶液。作为溶剂或载体,可以使用丙二醇、聚乙二醇、植物油(特别是橄榄油),或可注射的有机酯,在一些实施方式中,油酸乙酯。这些组合物还可以含有佐剂,特别是润湿剂、等渗剂、乳化剂、分散剂和稳定剂。在一些实施方式中,灭菌可以以几种方式进行,使用细菌过滤器、通过辐射或通过加热。它们还可以以无菌固体组合物的形式制备,可在使用时将其溶解在无菌水或任何其它可注射无菌介质中。

[0179] 直肠给药的组合物是栓剂或直肠胶囊,除活性成分外,还含有赋形剂,如可可脂、半合成甘油酯或聚乙二醇。

[0180] 组合物也可以是气溶胶。对于以液体气溶胶的形式使用,所述组合物可以是稳定的无菌溶液或在使用时溶解在不制热无菌水、盐水或任何其它药学上可接受的载体中的固体组合物。为了以打算直接吸入的干燥气雾剂的形式使用,活性成分被精细分割并与水溶性固体(在一些实施方式中,右旋糖酐、甘露醇或乳糖)稀释剂或载体组合。

[0181] 在一些实施方式中,本文提供的组合物是药物组合物或单一单位剂型。本文提供的药物组合物和单一单位剂型包含预防或治疗有效量的一种或多种预防或治疗剂(例如,本文提供的化合物或其它预防或治疗剂),以及典型的一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。在一些实施方式中,术语“药学上可接受的”是指由联邦或州政府的监管机构批准

的或在美国药典或其他普遍认可的药典中列出的用于动物的,更具体地用于人类的。术语“载体”包括稀释剂、佐剂(例如,弗氏佐剂(完全和不完全))、赋形剂或给药载体。这种药物载体可以是无菌液体,例如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当药物组合物静脉给药时,水可用作载体。盐溶液和葡萄糖水溶液和甘油水溶液也可用作液体载体,特别是用于可注射溶液的液体载体。合适的药物载体的实例在雷明顿:药学的科学与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy),第22版(2012年9月15日)中描述。

[0182] 典型的药物组合物和剂型包含一种或多种赋形剂。合适的赋形剂对于药剂学领域的技术人员是公知的,并且在一些实施方式中,合适的赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙二醇、水、乙醇等。特定赋形剂是否适合掺入药物组合物或剂型中取决于本领域公知的多种因素,包括但不限于将剂型施用给对象的方式和剂型中的特定活性成分。如果需要,组合物或单个单位剂型还可以含有少量的润湿剂或乳化剂,或pH缓冲剂。

[0183] 本文提供的无乳糖组合物可以包含本领域公知,并且在一些实施方式中,在美国药典(USP 36-NF 31S2)中列出的赋形剂。通常,无乳糖组合物包含活性成分、粘合剂/填料和药学相容性和药学可接受量的润滑剂。示例性无乳糖剂型包括活性成分、微晶纤维素、预糊化淀粉和硬脂酸镁。

[0184] 本文还涵盖了无水药物组合物和剂型,其包含活性成分,因为水可以促进某些化合物的降解。例如水的加入(如5%)作为模拟长期贮存的一种方法在药学领域中被广泛接受,以确定例如制剂的保质期或随时间的稳定性等的特性。参见例如Jens T.Carstensen,药物稳定性:原理与实践,第二版,马塞尔德克(Marcel Dekker),纽约,1995年,第379-80页。实际上,水和热加速了某些化合物的分解。因此,水对制剂的影响是非常重要的,因为在制剂的制造、处理、包装、储存、装运和使用过程中通常会遇到湿气和/或湿度。

[0185] 本文提供的无水药物组合物和剂型可以使用无水或低水分成分和低水分或低湿度条件制备。如果期望在制造、包装和/或储存过程中与水分和/或湿度大量接触,则包含乳糖和包含伯胺或仲胺的至少一种活性成分的药物组合物和剂型可以是无水的。

[0186] 应制备和储存无水药物组合物,以保持其无水性质。因此,可以使用已知的防止暴露于水的材料包装无水组合物,使得它们可以被包括在合适的配方包中。在一些实施方式中,合适的包装包括但不限于:气密密封的箔片、塑料、单位剂量容器(如瓶)、罩板包装、和条状包装。

[0187] 还提供了药物组合物和剂型,其包含一种或多种降低活性成分分解速率的化合物。在本文中称为“稳定剂”的这种化合物包括但不限于抗氧化剂,如抗坏血酸、pH缓冲剂或盐缓冲剂。

[0188] 所述药物组合物和单独单位剂型可为溶液剂、混悬剂、乳剂、片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、缓释制剂等形式。口服制剂可以包括标准载体,例如药学级别的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。这些组合物和剂型将含有预防或治疗有效量的预防剂或治疗剂,在一些实施方式中,以纯化形式,连同合适量的载体,以便提供适当的给药对象的形式。制剂应与给药模式相适应。在一些实施方式中,药物组合物或单独单位剂型是无菌的,并且以适合形式给药给对象,在一些实施方式中,动物对象(如哺乳动物对象),在一

些实施方式中,为人。

[0189] 一种药物组合物被配制成与其预期的给药途径相容。在一些实施方式中,给药途径包括但不限于肠道外给药,如静脉、皮内、皮下、肌肉、皮下、口服、口腔、舌下、吸入、鼻内、经皮、局部、经粘膜、瘤内、滑膜内和直肠给药。在一些实施方式中,给药途径是皮内给药、局部给药或病灶内给药。在一些实施方式中,给药途径是非全身给药。在一些实施方式中,所述组合物根据常规方法配制为适于向人静脉、皮下、肌肉、口服、鼻内或局部给药的药物组合物。在一些实施方式中,药物组合物根据常规方法配制为用于向人皮下给药。通常,用于静脉给药的组合物是在无菌等渗水性缓冲液中的溶液剂。必要时,所述组合物还可包括增溶剂,以及局部麻醉剂(如利多卡因(lignocaine))以缓解注射部位的疼痛。

[0190] 在一些实施方式中,剂型包括但不限于:片剂;囊片;胶囊,如软弹性明胶胶囊;扁囊剂;锭剂;含片;分散剂;栓剂;软膏;巴布膏(泥罨剂(poultices));糊剂;粉末;敷料;乳膏;膏药;溶液剂;贴片;气雾剂(如鼻腔喷雾剂或吸入剂);凝胶剂;适用于向对象口服或粘膜给药的液体剂型,包括混悬剂(如含水或非含水液体悬浮液、水包油乳液或油包水液体乳液)、溶液剂和酏剂;适合于向对象胃肠外给药的液体剂型;和可被重组以提供适合于对患者进行胃肠外给药的液体剂型的无菌固体(如晶体或无定形固体)。

[0191] 本文提供的剂型的组成、形状和类型通常根据它们的用途而变化。在一些实施方式中,用于初治MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病的剂型可以含有比用于维持治疗相同病症或疾病的剂型更大量的其所包含的一种或多种活性成分。类似地,与用于治疗相同疾病或病症的口服剂型相比,胃肠外剂型可包含更小量的其所含的一种或多种活性成分。本文所涵盖的特定剂型的这些和其他方式彼此不同,其对于本领域技术人员来说是显而易见的。参见,例如,雷明顿:药学的科学与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy);医药出版社;22版(2012年9月15日)。

[0192] 通常,组合物的成分以单独供应或混合在一起以单位剂型提供,在一些实施方式中,作为在指示活性剂量的气密封容器(如安瓿或小袋)中干燥的冻干粉末或无水浓缩物提供。当组合物要通过输液给药时,可以用装有无菌药物级水或盐水的输液瓶配药。在通过注射给药组合物的情况下,可以提供一安瓿的无菌注射用水或生理盐水,以便在给药前将成分混合。

[0193] 典型的剂型包括本文提供的化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物,在每天约0.1mg至约1000mg的范围内,在早晨以每天一次的单剂量给药,或与食物一起全天分剂量服用。特定剂型可具有约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0、2.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、100、200、250、500或1000mg活性化合物。

[0194] 口服剂型

[0195] 适合于口服给药的药物组合物可以以离散的剂型呈现,例如但不限于片剂(如咀嚼片)、囊剂、胶囊和液体剂(如调味糖浆)。这种剂型含有预定量的活性成分,并且可以通过本领域技术人员公知的药剂学方法制备。参见,一般地,雷明顿:药学的科学与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy);医药出版社;22版(2012年9月15日)。

[0196] 在一些实施方式中,口服剂型是固体的,并在无水环境下用无水成分制备,如本文

详细描述。然而,本文提供的组合物的范围超出了无水固体口服剂型。因此,本文描述了其它形式。

[0197] 典型的口服剂型是通过根据常规药物复合技术将活性成分与至少一种赋形剂以紧密混合的形式结合而制备的。赋形剂可以采取多种形式,取决于给药所需的制剂形式。在一些实施方式中,适合用于口服液或气雾剂的剂型的赋形剂包括但不限于水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂 and 着色剂。在一些实施方式中,适用于固体口服剂型(如粉末剂、片剂、胶囊和囊剂)的赋形剂包括但不限于淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、造粒剂、润滑剂、粘合剂和崩解剂。

[0198] 由于易于给药,片剂和胶囊是最有利的口服单位剂形,其中可使用固体赋形剂。如果需要,片剂可以用标准的水性或非水性技术包衣。这种剂型可以通过任何药剂学方法制备。通常,药物组合物和剂型的制备是通过将活性成分与液体载体、细碎的固体载体或两者均匀和紧密地混合,然后在必要时将产品成形为所需的呈现形式。

[0199] 在一些实施方式中,片剂可以通过压缩或模压制备。压缩片剂可以通过在合适的机器中压缩任选地与赋形剂混合的自由流动形式(如粉末或颗粒)的活性成分来制备。模压片剂可以通过在合适的机器中将用惰性液体稀释剂润湿的粉末化的化合物的混合物模压而制成。

[0200] 在一些实施方式中,可用于口服剂型的赋形剂包括但不限于粘合剂、填料、崩解剂和润滑剂。适用于药物组合物和剂型的粘合剂包括但不限于玉米淀粉、马铃薯淀粉或其它淀粉、明胶、天然和合成胶如阿拉伯树胶、褐藻酸钠、褐藻酸、其它褐藻酸盐、粉状胶黄芪、瓜尔胶、纤维素及其衍生物(如乙基纤维素、乙酸钠纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠)、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、预糊化淀粉、羟丙基甲基纤维素,(如编号2208、2906、2910)、微晶纤维素及其混合物。

[0201] 在一些实施方式中,适合用于本文公开的药物组合物和剂型的填料包括但不限于滑石、碳酸钙(如颗粒或粉末)、微晶纤维素、粉状纤维素、右旋糖(dextrates)、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨醇、淀粉、预糊化淀粉及其混合物。药物组合物中的粘合剂或填料通常以药物组合物或剂型的约50-约99重量%中存在于其中。

[0202] 在一些实施方式中,微晶纤维素的合适形式包括但不限于,以AVICEL PH 101、AVICEL PH 103、AVICEL RC 581、AVICEL PH 105出售的材料(可自美国富美实公司(FMC Corporation),美国粘胶部,AVICEL销售,马库斯胡克,PA获得)及其混合物。一种特殊的粘合剂是微晶纤维素和羧甲基纤维素钠的混合物,其作为AVICEL RC 581出售。合适的无水或低水分赋形剂或添加剂包括AVICEL PH 103<sup>TM</sup>和淀粉1500LM。

[0203] 在组合物中使用的崩解剂是使当片剂暴露于含水环境时崩解。含有太多崩解剂的片剂可能在贮存中崩解,而含有太少崩解剂的片剂可能无法以所需的速率或在所需的条件下崩解。因此,应使用足够量的崩解剂(既不太多也不太少以免不利地改变活性成分的释放)以形成固体口服剂型。所用崩解剂的量根据制剂的类型而变化,本领域普通技术人员很容易辨别。典型的药物组合物包含约0.5至约15重量%的崩解剂,特别是约1至约5重量%的崩解剂。

[0204] 可用于药物组合物和剂型的崩解剂包括但不限于琼脂、褐藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、交聚维酮、波拉克林钾(polacrillin potassium)、乙醇酸淀粉钠、

马铃薯或木薯淀粉、预糊化淀粉、其它淀粉、粘土、其它褐藻酸、其它纤维素、树胶,及它们的混合物。

[0205] 可用于药物组合物和剂型的润滑剂包括但不限于硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨醇、甘露醇、聚乙二醇、其它二醇类、硬脂酸、十二醇硫酸钠、滑石、氢化植物油(如花生油、棉籽油、葵花籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、桂冠酸乙酯、琼脂,及它们的混合物。在一些实施方式中,另外的润滑剂包括微粉(syloid)硅胶(AEROSIL 200,由马里兰州巴尔的摩市的W.R.Grace公司制造)、合成二氧化硅的凝固气溶胶(由德克萨斯州普莱诺市的Degussa公司销售)、CAB 0 SIL(由马萨诸塞州波士顿市的Cabot公司销售的热解二氧化硅产品),及它们的混合物。如果都使用,润滑剂通常以小于它们所掺入的药物组合物或剂型的约1重量%的量使用。

[0206] 延迟释放剂型

[0207] 活性成分如本文提供的化合物可通过本领域普通技术人员公知的控释手段或递送装置给药。在一些实施方式中,但不限于下述美国专利序列号中描述的那些:3,845,770;3,916,899;3,536,809;3,598,123;4,008,719;5,674,533;5,059,595;5,591,767;5,120,548;5,073,543;5,639,476;5,354,556;5,639,480;5,733,566;5,739,108;5,891,474;5,922,356;5,972,891;5,980,945;5,993,855;6,045,830;6,087,324;6,113,943;6,197,350;6,248,363;6,264,970;6,267,981;6,376,461;6,419,961;6,589,548;6,613,358;和6,699,500;其中每一个内容通过引用整体并入本文。这种剂型可用于提供一种或多种活性成分的缓慢或受控释放,在一些实施方式中,使用氢丙基甲基纤维素、其它聚合物基质、凝胶、可渗透膜、渗透系统、多层涂层、微粒、脂质体、微球、或其组合以提供不同比例的所需释放曲线。本领域普通技术人员已知的合适的控释制剂,包括本文所述的制剂,可容易地选择用于与本文提供的活性成分一起使用。因此,本文所包括的是适合于口服给药的单独单位剂型,例如但不限于适合于控制释放的片剂、胶囊、凝胶帽和囊剂。

[0208] 所有的控释药物产品都有一个共同的目标,即相对于它们对应的非控释药物改善药物治疗。理想地,在医疗中使用优化设计的控释制剂的特征在于,在最短的时间内使用最少的原料药来治愈或控制疾病或病症。控释制剂的优点包括延长的药物的活性、减少的剂量频率和增加的患者的依从性。此外,控释制剂可用于影响作用开始的时间或其它特性,例如药物的血液水平,并因此可影响副(如不利的)作用的发生。

[0209] 大多数控释制剂被设计成最初释放一定量的药物(活性成分)以迅速产生所需的治疗效果,并逐渐和持续地释放其他量的药物以在延长的时间内保持该水平的治疗或预防效果。为了在体内维持这种恒定的药物水平,药物必须以一种速率从剂型中释放出来,该速率将取代正在代谢和排出体外的药物量。活性成分的受控释放可由各种生理因素刺激,包括但不限于pH、温度、酶、水或其它生理疾病或病症或化合物。

[0210] 在一些实施方式中,药物可以使用静脉输注、可植入渗透泵、透皮贴剂、脂质体或其他给药方式来给药。在一些实施方式中,可以使用泵(参见Sefton,CRC生物医药工程评论(CRC Crit.Ref.Biomed.Eng.)14:201(1987年);Buchwald等,外科手术(Surgery)88:507(1980年);Saudek等,新英格兰医学杂志(N.Engl.J.Med.)321:574(1989))。在一些实施方式中,可以使用聚合物材料。在一些实施方式中,可将受控释放系统放置在患者中由本领域技术人员确定的适当位置处,即因此只需要全身剂量的一小部分(参见,例如,Goodson,控

释药物的医学应用(Medical Applications of Controlled Release,) ,卷2,第115-138页(1984年)。其他控释系统在Langer的综述中描述(科学249:1527-1533(1990))。活性成分可以分散在固体内基质中,例如聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸丁酯、增塑或未增塑聚氯乙烯、增塑尼龙、增塑聚对苯二甲酸乙二醇酯、天然橡胶、聚异戊二烯、聚异丁烯、聚丁二烯、聚乙烯、乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、硅橡胶、聚二甲基硅氧烷、碳酸硅酮共聚物、亲水性聚合物如丙烯酸和甲基丙烯酸酯的水凝胶、胶原、交联聚乙烯醇和交联部分水解的聚乙酸乙烯酯,它们被不溶于体液的例如聚乙烯、聚丙烯、乙烯/丙烯共聚物、乙烯/丙烯酸乙酯共聚物、乙烯/乙酸乙烯酯共聚物、硅橡胶、聚二甲基硅氧烷、氯丁橡胶、氯化聚乙烯、聚氯乙烯、氯乙烯与乙酸乙烯酯、偏二氯乙烯、乙烯和丙烯、离聚物聚对苯二甲酸乙二醇酯、丁基橡胶环氧氯丙烷橡胶、乙烯/乙烯醇共聚物、乙烯/乙酸乙烯酯/乙烯醇三元共聚物和乙烯/乙烯基氧乙醇的外部共聚物膜所包围。然后活性成分在释放速率控制步骤中扩散通过外部聚合物膜。这种肠胃外组合物中的活性成分的百分比高度取决于其特性以及患者的需要。

#### [0211] 肠胃外剂型

[0212] 在一些实施方式中,提供了肠胃外剂型。在一些实施方式中,肠胃外剂型可以通过各种途径给药至对象,包括但不限于皮下、静脉注射(包括推注)、肌肉内和动脉内。在一些实施方式中,肠胃外剂型可以通过各种途径给药至对象,包括但不限于局部、皮内或病灶内。因为它们的给药通常绕过对象对污染物的天然防御,胃肠外剂型通常是无菌的或能够在给药至对象前被消毒。在一些实施方式中,肠胃外剂型包括但不限于,准备注射用溶液、可溶解或悬浮在药学上可接受的注射载体中的干产品、注射用悬浮液和乳剂。

[0213] 可用于提供肠胃外剂型的合适载体是本领域技术人员公知的。在一些实施方式中,合适的载体包括但不限于:注射用水USP;水性载体,例如但不限于氯化钠注射液、林格氏注射液、葡萄糖注射液、葡萄糖和氯化钠注射液、和乳酸林格氏注射液;水可混溶载体,例如但不限于乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇;和非水载体,例如但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。

[0214] 增加一种或多种本文公开的活性成分的溶解度的化合物也可以掺入到肠胃外剂型中。

#### [0215] 透皮、局部及粘膜剂型

[0216] 还提供了透皮、局部和粘膜剂型。透皮、局部和粘膜剂型包括但不限于眼用溶液剂、喷雾剂、气雾剂、乳膏、洗剂、软膏、凝胶、溶液剂、乳液、悬浮液或本领域技术人员已知的其它形式。参见,例如,雷明顿:药学的科学与实践;医药出版社;22版(2012年9月15日);以及药物剂型介绍(Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms),第4版,Lea&Febiger,费城(1985)。适用于治疗口腔内粘膜组织的剂型可配制成漱口水或口腔凝胶。此外,透皮剂型包括“储库型”或“基质型”贴剂,其可敷于皮肤并佩戴特定时间段以允许所需量的活性成分的渗透。

[0217] 术语“药学上可接受的载体”是指携带或运输任何对象组合物或其组分所涉及的药学上可接受的材料、组合物或溶媒,例如液体或固体填料、稀释剂、赋形剂、溶剂或封装材料。每个载体必须从与对象组合物及其组分兼容且不对患者有害的意义上而言是“可接受的”。可用于提供本文所包括的透皮、局部和粘膜剂型的合适的载体(如赋形剂和稀释剂)和其它材料是制药领域的技术人员所熟知的,并且取决于将涂敷给定药物组合物或剂型的特

定组织。考虑到这一事实,典型载体包括但不限于水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、丁烷1,3-二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油及其混合物,以形成无毒和药学上可接受的洗剂、酞剂、乳膏、乳液、凝胶或软膏。在一些实施方式中,可用作药学上可接受的载体的材料包括:(1)糖类,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉类,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;(4)黄耆粉;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石粉;(8)赋形剂,如可可脂、栓剂蜡;(9)油类,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;(10)二醇类,如丙二醇;(11)多元醇类,如甘油、山梨醇、甘露醇、聚乙二醇;(12)酯类,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)褐藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格氏溶液;(19)乙醇;(20)磷酸盐缓冲溶液;和(21)用于药物制剂的其他无毒相容物质。如果需要,还可以在药物组合物和剂型中添加保湿剂(moisturizers)或湿润剂(humectants)。这种附加成分的实例在本领域中是公知的。参见,例如,雷明顿:药学的科学与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy);医药出版社;22版(2012年9月15日)。

[0218] 根据待治疗的特定组织,可在使用所提供的活性成分进行治疗之前使用、与其结合使用或之后使用附加组分。在一些实施方式中,渗透促进剂可用于辅助将活性成分递送到组织。合适的渗透促进剂包括但不限于:丙酮;各种醇类,如乙醇、油醇和四氢呋喃甲醇;烷基亚砷类,如二甲基亚砷;二甲基乙酰胺;二甲基甲酰胺;聚乙二醇;吡咯烷酮类,如聚乙烯吡咯烷酮;科利当(Kollidon)等级(聚维酮(Povidone)、聚乙烯吡咯酮(Polyvidone));尿素;和各种水溶性或不溶性糖酯如吐温80(聚山梨醇酯80)和斯盘60(Span60)(山梨醇单硬脂酸酯)。

[0219] 还可以调节药物组合物或剂型的pH值,或药物组合物或剂型施加到的组织的pH值,以改善一种或多种活性成分的递送。类似地,可以调节溶剂载体的极性、其离子强度或张力(tonicity)以改善递送。还可以向药物组合物或剂型中添加诸如硬脂酸盐的化合物,以有利地改变一种或多种活性成分的亲水性或亲油性,从而改善递送。在这方面,硬脂酸盐可用作制剂的脂质载体、乳化剂或表面活性剂以及作为递送增强或渗透增强剂。可使用活性成分的不同盐、水合物或溶剂化物来进一步调节所得组合物的性质。

[0220] 剂量和单位剂型

[0221] 在人类治疗学中,医生将根据预防性或治疗性治疗,并根据待治疗对象特有的年龄、体重、病症或疾病的阶段和其他特定因素,确定他认为最合适的剂量学。在一些实施方式中,剂量为成人每天约1至约1000mg,或成人每天约5至约250mg或每天约10至50mg。在一些实施方式中,剂量为每个成人每天约5至约400mg或每天25至200mg。在一些实施方式中,也考虑到每天约50至约500mg的剂量率。

[0222] 在其它方面,提供了通过向有需要的对象施用治疗或预防有效量的本文提供的化合物或其药学上可接受的盐来治疗有需要对象中的疾病或病症和/或对象中MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的皮肤病症或疾病或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法。在治疗疾病或其一种或多种症状中的具有治疗或预防有效的化合物或组合物的量将随疾病或病症的性质和严重程度以及活性成分的施用途径而变化。频率和剂量也将根据每个对象的特定因素而变化,取决于特定疗法(如治疗剂或预防剂)、病症、疾病或病况的严重程度、给药途径以及对象的年龄、身体、体重、反应和既往病史。有效

剂量可由衍生自体外或动物模型试验系统的剂量-反应曲线推测到。

[0223] 在一些实施方式中,组合物的示例性剂量包括每千克对象或样品重量的毫克或微克量的活性化合物(例如,每千克约10微克至每千克约50毫克,每千克约100微克至每千克约25毫克,或每千克约100微克至每千克约10毫克)。对于本文提供的组合物,在一些实施方式中,给予对象的剂量为对象体重的0.140mg/kg至3mg/kg,基于活性化合物的重量。在一些实施方式中,施用给对象的剂量为对象体重的0.20mg/kg和2.00mg/kg之间、0.30mg/kg和1.50mg/kg之间、1mg/kg和100mg/kg之间、5mg/kg和50mg/kg之间、10mg/kg和50mg/kg之间、20mg/kg和50mg/kg之间、15mg/kg和40mg/kg之间、15mg/kg和35mg/kg之间、15mg/kg和30mg/kg之间、25mg/kg和35mg/kg、10mg/kg和30mg/kg之间、10mg/kg和20mg/kg之间、约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg,或约50mg/kg。

[0224] 在一些实施方式中,本文提供的用于本文所述疾病或病症的组合物的推荐每日剂量范围在每天约0.1mg至约1000mg的范围内,以每日一次的单剂量或全天的分剂量给出。在一些实施方式中,每日剂量以等分剂量每日给药两次。在一些实施方式中,每日剂量范围应为每天约10mg至约200mg,在一些实施方式中,每天约10mg至约150mg,在其他实施方式中,每天约25mg至约100mg。在某些情况下可能需要使用本文公开的范围之外的活性成分的剂量,这对于本领域普通技术人员将是显而易见的。此外,应注意的是,临床医生或治疗医生将知道如何和何时结合患者反应来中断、调整或终止治疗。

[0225] 不同的治疗有效量可适用于不同的疾病和病况,如本领域普通技术人员容易知道的那样。类似地,足以预防、控制、治疗或改善这种病症,但不足以引起或足以减少与本文提供的组合物相关的不良影响的量也包括在本文所述的剂量量和剂量频率表中。此外,当给对象被施用多个剂量的本文提供的组合物时,不是所有剂量都需要相同。在一些实施方式中,给予对象的剂量可以增加以改善组合物的预防或治疗效果,或者可以减少以减少特定对象正在经历的一种或多种副作用。

[0226] 在一些实施方式中,给药以预防、治疗、控制或改善对象的病症或一种或多种其症状本文提供的组合物的剂量,基于活性化合物的重量,为对象体重的0.1mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、10mg/kg或15mg/kg或更多。在一些实施方式中,所述组合物或本文提供的给药以预防、治疗、控制或改善对象中疾病或一种或多种其症状的组合物的剂量为0.1mg至200mg、0.1mg至100mg、0.1mg至50mg、0.1mg至25mg、0.1mg至20mg、0.1mg至15mg、0.1mg至10mg、0.1mg至7.5mg、0.1mg至5mg、0.1至2.5mg、0.25mg至20mg、0.25至15mg、0.25至12mg、0.25至10mg、0.25mg至7.5mg、0.25mg至5mg、0.5mg至2.5mg、1mg至20mg、1mg至15mg、1mg至12mg、1mg至10mg、1mg至7.5mg、1mg至5mg、或1mg至2.5mg的单位剂量。

[0227] 在一些实施方式中,治疗或预防可以用一个或多个负荷剂量(loading dose)的本文提供的化合物或组合物开始,然后再用一个或多个维持剂量。在这样的实施方式中,负荷剂量可以是,例如,每天约60至约400mg、或每天约100至约200mg,持续1天至5周。负荷剂量之后可以是一个或多个维持剂量。在一些实施方式中,各个维持剂量独立地为约每天约10mg至约200mg、每天约25mg和约150mg之间、或每天约25和约80mg之间。维持剂量可以每日给药,可作为单剂量或作为分剂量给药。

[0228] 在一些实施方式中,本文提供的化合物或组合物的剂量可以施用以在患者的血液或血清中实现活性成分的稳态浓度。稳态浓度可以通过根据技术人员可用的技术进行测量或者可以基于患者的身体特征(如身高、体重和年龄)来确定。在一些实施方式中,施用足够量的本文提供的化合物或组合物,以在患者的血液或血清中实现约300至约4000ng/mL、约400至约1600ng/mL或约600至约1200ng/mL的稳态浓度。在一些实施方式中,可施用负荷剂量以在1至5天内获得约1200至约8000ng/mL或约2000至约4000ng/mL的稳态血液或血清浓度。在一些实施方式中,可施用维持剂量以在患者的血液或血清中获得约300至约4000ng/mL、约400至约1600ng/mL或约600至约1200ng/mL的稳态浓度。

[0229] 在一些实施方式中,可以重复给药相同组合物,并且给药可以间隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或6个月。在一些实施方式中,可以重复给药相同的预防或治疗剂,并且给药可以间隔至少至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或6个月。

[0230] 在某些方面,本文提供的是单位剂量,其包含适合给药形式的化合物或其药学上可接受的盐。本文详细描述了这些形式。在一些实施方式中,单位剂量包括1至1000mg、5至250mg或10至50mg的活性成分。在特定实施方式中,单位剂量包含约1、5、10、25、50、100、125、250、500或1000mg的活性成分。这样的单位剂量可以根据本领域技术人员熟悉的技术制备。

[0231] 剂量可以在取决于所使用的剂型和使用的给药途径的范围内变化。对于任何化合物,治疗有效剂量可以从细胞培养分析中初步估计。可以在动物模型中配制一种剂量以在有病变(如皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤或浅表丛状神经纤维瘤)的皮肤中达到一定水平,包括在细胞培养中测定的 $IC_{50}$ (即达到症状最大抑制的一半的测试化合物的浓度)。这些信息可用于更准确地确定对人体有用的剂量。此外,可以通过例如高效液相色谱法测量血浆中的水平,以确定全身暴露。

[0232] 还应理解,用于任何特定患者的特定剂量和治疗方式将取决于多种因素,包括所使用的特定化合物的活性、年龄、病变的大小、病变的数量、一般健康状况、性别、饮食、给药时间、药物组合、以及治疗医师的判断和正在治疗的特定疾病的严重程度。在组合物中软MEK抑制剂(如本文所述的软MEK抑制剂)的量也将取决于组合物中的特定软MEK抑制剂。

[0233] 在一些实施方式中,局部(topical)剂量为约 $0.01\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.05\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.1\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.15\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.2\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.3\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.4\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.5\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.6\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.7\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.8\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ,或约 $0.9\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ;或在约 $0.01-0.03\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.03-0.05\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.05-0.1\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.1-0.3\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.3-0.5\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.5-0.8\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $0.8-1.0\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $1-10\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $10-20\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $20-30\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $30-40\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $40-50\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $50-60\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $60-70\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $70-80\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $80-90\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $90-100\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $100-125\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $125-150\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $150-175\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $175-200\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $200-250\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $250-300\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $300-350\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $350-400\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $400-450\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $450-500\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $500-550\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $550-600\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $600-650\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $650-700\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $700-750\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $750-800\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $800-850\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $850-900\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约 $900-950\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 或约 $950-1000\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 范围内。

[0234] 在一些实施方式中,局部剂量为在约 $0.5-1.0\text{mg}/\text{cm}^2$ 、 $1.0-1.5\text{mg}/\text{cm}^2$ 、 $1.5-2.0\text{mg}/\text{cm}^2$ 、 $2.5-2.5\text{mg}/\text{cm}^2$ 、 $3.0-3.5\text{mg}/\text{cm}^2$ 、 $3.5-5.0\text{mg}/\text{cm}^2$ 、 $5.0-7.5\text{mg}/\text{cm}^2$ 、 $7.5-10\text{mg}/\text{cm}^2$ 、 $1-$

10mg/cm<sup>2</sup>、约10-20mg/cm<sup>2</sup>、约20-30mg/cm<sup>2</sup>、约30-40mg/cm<sup>2</sup>、约40-50mg/cm<sup>2</sup>、约50-60mg/cm<sup>2</sup>、约60-70mg/cm<sup>2</sup>、约70-80mg/cm<sup>2</sup>、约80-90mg/cm<sup>2</sup>、约90-100mg/cm<sup>2</sup>、约100-125mg/cm<sup>2</sup>、约125-150mg/cm<sup>2</sup>、约150-175mg/cm<sup>2</sup>、约175-200mg/cm<sup>2</sup>、约200-250mg/cm<sup>2</sup>、约250-300mg/cm<sup>2</sup>、约300-350mg/cm<sup>2</sup>、约350-400mg/cm<sup>2</sup>、约400-450mg/cm<sup>2</sup>、约450-500mg/cm<sup>2</sup>、约500-550mg/cm<sup>2</sup>、约550-600mg/cm<sup>2</sup>、约600-650mg/cm<sup>2</sup>、约650-700mg/cm<sup>2</sup>、约700-750mg/cm<sup>2</sup>、约750-800mg/cm<sup>2</sup>、约800-850mg/cm<sup>2</sup>、约850-900mg/cm<sup>2</sup>、约900-950mg/cm<sup>2</sup>或约950-1000mg/cm<sup>2</sup>范围内。

#### [0235] V. 试剂盒

[0236] 还提供了试剂盒,其用于在对象需要其的情况下治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法中;或用于MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病或MEK介导的皮肤病症或疾病。所述试剂盒可包括本文提供的化合物或组合物、第二药剂或组合物、和说明书,其中说明书向医疗服务人员提供关于治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病的用法的信息。说明书可以以印刷形式,或以诸如软盘、CD或DVD等的电子介质的形式,或者以可获得该说明书的网站地址的形式提供。本文提供的化合物或组合物或第二药剂或组合物的单位剂量可以包括这样的剂量,即当施用给对象时,所述化合物或组合物的治疗或预防有效血浆水平可以在对象中保持至少1天。在一些实施方式中,化合物或组合物可以作为无菌水性药物组合物或干粉(如冻干)组合物。

[0237] 在一些实施方式中,提供了合适的包装。如本文所用,“包装”包括通常用于系统中并能够在固定限度内保持本文提供的化合物和/或第二药剂适用于给药对象的固体基质或材料。这些材料包括玻璃和塑胶(如聚乙烯、聚丙烯和聚碳酸酯)瓶、小瓶、纸、塑料和塑料箔层压封套等。如果使用电子束灭菌技术,包装应具有足够低的密度,以允许对其中的内容物进行灭菌。

#### [0238] VI. 方法

[0239] 在第三方面,本文提供一种在有需要对象中治疗疾病或病症的方法,并且该疾病或病症是对象中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病或MEK介导的皮肤病症或疾病。所述方法包括向对象施用治疗或预防有效量的本文公开的化合物,如式(I)化合物和表1和表2中的化合物,包括其单一对映体、对映体对的混合物、单个非对映体、非对映体的混合物、单个立体异构体、立体异构体的混合物或互变异构体形式;或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药、磷酸盐或活性代谢物。

[0240] 在一些实施方式中,所述方法包括向对象施用治疗有效量的式(I)化合物和表1和表2中的化合物,包括其单一对映体、对映体对的混合物、单个非对映体、非对映体的混合物、单个立体异构体、立体异构体的混合物或互变异构体形式;或其药学上可接受的盐或溶剂化物。在一些实施方式中,所述方法包括向对象施用治疗有效量的式(I)化合物和表1中的化合物,包括其单一对映体、对映体对的混合物、单个非对映体、非对映体的混合物、单个立体异构体、立体异构体的混合物或互变异构体形式;或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0241] 在一些实施方式中,MEK抑制剂响应性皮肤病症或MEK介导的皮肤病症选自下组:皮肤RAS病、1型神经纤维瘤病、皮肤神经纤维病、皮下神经纤维瘤和浅表丛状神经纤维瘤。

[0242] 在一些实施方式中,MEK抑制剂响应性皮肤病症或MEK介导的皮肤病症是1型神经

纤维瘤病。

[0243] 在一些实施方式中,给药包括通过软MEK抑制剂的局部或非全身应用(如局部、皮内、或病灶内应用)或通过软MEK抑制剂的栓剂应用使软MEK抑制剂与对象的皮肤、粘膜、阴道、阴茎、喉、外阴、子宫颈或肛门接触。

[0244] 在一些实施方式中,与1型神经纤维瘤病(NF1)相关的肿瘤(例如皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤或浅层丛状神经纤维瘤)缩小,例如肿瘤的大小或总体积相对于参考标准减少至少约15%(如约15%至约60%),从而治疗对象。在一些实施方式中,参考标准是例如来自相同的对象或不同的对象的未治疗对照瘤大小或总体积。

[0245] 在一些实施方式中,与1型神经纤维瘤病(NF1)相关的肿瘤(如皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤或浅层丛状神经纤维瘤)的大小或总肿瘤体积,相对于参考标准减少至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%。在一些实施方式中,参考标准是例如来自相同的对象或不同的对象的未治疗对照瘤大小或总体积。

[0246] 在一些实施方式中,所述方法包括用磁共振成像(MRI)或光学成像评估对象,例如,如在治疗前、治疗中和/或治疗后评估从对象身上获得的肿瘤的体积。

[0247] 1型神经纤维瘤病(NF1):在一些实施方式中,皮肤病症与NF1相关。NF1,又称冯·雷克林豪森神经纤维瘤病(von Recklinghausen Neurofibromatosis)或周围神经纤维瘤病,发生于约1:3000的新生儿中,是最普遍的遗传疾病和最常见的神经皮肤疾病之一。NF1是由神经纤维蛋白的缺乏引起的,这导致各种细胞信号通路(如Ras和Rho)的过度激活,与几种皮肤病症有关,包括皮肤神经纤维瘤(DF);皮下神经纤维瘤;浅层丛状神经纤维瘤(PF);皮肤(cutaneous)神经纤维瘤(CF);咖啡牛乳色斑;和腋下和腹股沟的雀斑。超过95%的NF1患者发生DF。DF可以出现在身体的任何地方,88%的40岁以上的NF1患者有超过100个DF。DF会导致严重的身体疼痛、毁容以及社交焦虑。面部DF会在受影响的个体中产生显著的社交焦虑问题和疼痛。DF(也被称为皮肤神经纤维瘤或离散性神经纤维瘤)自皮肤内或皮下的小神经生长,表现为小肿块,典型的开始于青春期。目前DF的治疗选择仅限于手术切除和CO<sub>2</sub>激光去除,这两种方法都会造成疤痕,且都不是预防性的。

[0248] 其他皮肤RAS病:在一些实施方式中,皮肤疾病与Ras的增强激活相关。在一些实施方式中,所述皮肤RAS病选自下组:牛皮癣、角化棘皮瘤(keratocanthoma)(KA)、角化过度、乳头状瘤、努南综合征(NS)、心面皮肤综合征(CFC)、克斯提洛综合征(面皮肤骨骼综合征或FCS综合征)、眼外胚层综合征、咖啡牛乳色斑(cafe au lait spots)和多发性雀斑综合征(Multiple lentiginos syndrome)(以前称为豹皮综合征)。

[0249] 在一些或任何实施方式中,要减少、改善、治疗或预防的疾病不是癌症(例如黑色素瘤)。

[0250] 在一些实施方式中,要减少、改善、治疗或预防的疾病是癌症、皮肤RAS病、与1型神经纤维瘤病相关的皮肤疾病、皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤或浅丛状神经纤维瘤、牛皮癣、角化棘皮瘤(KA)、角化过度、乳头状瘤、努南综合征(NS)、心面皮肤综合征(CFC)、克斯提洛综合征(面皮肤骨骼综合征或FCS综合征)、眼外胚层综合征、咖啡牛乳色斑和多发性雀斑综合征(以前称为豹皮综合征)。

[0251] 在一些实施方式中,要减少、改善、治疗或预防的疾病是癌症。在一些实施方式中,

要减少、改善、治疗或预防的疾病选自下组：基底细胞癌、鳞状细胞癌、日光性角化病、卡波西肉瘤、皮肤淋巴瘤、宫颈癌、HPV相关的鳞状细胞癌和黑色素瘤。

[0252] 在一些实施方式中，要减少、改善、治疗或预防的疾病是皮肤RAS病、与1型神经纤维瘤病相关的皮肤疾病、皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤或浅丛状神经纤维瘤、牛皮癣、角化棘皮瘤(KA)、角化过度、乳头状瘤、努南综合征(NS)、心面皮肤综合征(CFC)、克斯提洛综合征(面皮肤骨骼综合征或FCS综合征)、眼外胚层综合征、咖啡牛乳色斑和多发性雀斑综合征(以前称为豹皮综合征)。

[0253] 在一些实施方式中，本文所述的化合物用于减少有需要的对象中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病或MEK介导的皮肤病症或疾病。

[0254] 在一些实施方式中，本文所述的化合物用于缓解有需要的对象中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病或MEK介导的皮肤病症或疾病。

[0255] 在一些实施方式中，本文所述的化合物用于预防有需要的对象中的预防MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病或MEK介导的皮肤病症或疾病。

[0256] 在一些实施方式中，本文所述的化合物用于治疗有需要的对象中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病。

[0257] 分析方法

[0258] 可以根据本领域技术人员已知的任何分析方法测定化合物在有需要的对象中治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病的效力。本文其他地方提供了示例性分析方法。

[0259] VII. 联合治疗

[0260] 在一些实施方式中，本文提供的化合物和组合物可用于在有需要的对象中治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法，所述方法包括进一步施用能有效治疗皮肤病症或疾病的第二药剂。第二药剂可以是本领域技术人员已知的对治疗皮肤病症或疾病有效的任何药剂，包括目前由美国食品和药物管理局或美国以外国家的其他类似机构批准的药剂。

[0261] 在一些实施方式中，本文提供的化合物与一种第二药剂联合给药。在进一步的实施方式中，本文提供的化合物与两种第二药剂联合给药。在依旧进一步的实施方式中，本文提供的化合物与两种或更多的第二药剂联合给药。

[0262] 在一些实施方式中，所述方法包括下述步骤：将有效治疗有需要的对象中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病的量的化合物，与有效治疗或预防有需要的对象中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病的第二药剂联合施用给有需要的对象。所述化合物可以是本文所述的任何化合物，并且所述第二药剂可以是本领域或本文所述的任何第二药剂。在一些实施方式中，所述化合物为药物组合物或剂型的形式，如本文其他地方所述。

[0263] 如本文所用,术语“联合”包括使用多于一种疗法(例如一种或多种预防和/或治疗剂)。使用术语“联合”并不限制治疗(如预防和/或治疗剂)给予患有疾病的对象的顺序。第一种疗法(例如预防或治疗剂如本文提供的化合物)可以在向患有疾病的对象施用第二药剂(如一种预防或治疗剂)之前(如5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周前),同时施用第二药剂或在施用第二药剂之后(如5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周后)。

[0264] 如本文所用,术语“协同”包括本文提供的化合物和已经或正在被用于预防、控制或治疗疾病的另一种疗法(如预防剂或治疗剂)的联合,其比这些疗法的叠加效果更有效。联合疗法(如预防剂或治疗剂的联合)的协同作用允许对患有病症的对象使用较低剂量的一种或多种疗法和/或较少频率的施用所述疗法。使用较低剂量的疗法(如预防或治疗剂)和/或更低频率地施用所述疗法降低了与向对象施用所述疗法相关联的毒性,而不降低所述疗法在预防或治疗疾病中的功效。此外,协同效应可导致改进药剂在预防或治疗病症中的功效。最后,协同疗法(如预防或治疗剂的组合)可避免或减少与单独使用任何一种疗法相关的不良或不期望的副作用。

[0265] 本文提供的活性化合物可以与另一种治疗剂组合或交替施用,特别是能有效治疗有需要的对象中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病的药物。在联合治疗中,一起给药两种或多种药剂的有效剂量,而在交替或顺序步骤治疗中,连续或顺序给药每种药剂的有效剂量。给予的剂量取决于药物的吸收、失活和排泄率以及本领域技术人员已知的其它因素。需要注意的是,剂量值还将随着待缓解的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病病症的严重程度而变化。应进一步理解,对于任何特定的对象,特定的剂量方案和时间表应根据个体需要和管理或监督组合物施用的人的专业判断随时间而调整。

[0266] 在一些实施方式中,本文提供了在联合治疗中使用的第二药剂的剂量。在一些实施方式中,在本文提供的联合疗法中使用的剂量低于已经或当前用于治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病、或MEK介导的皮肤病症或疾病的剂量。第二药剂的推荐剂量可从本领域技术人员的知识中获得。对于那些被批准用于临床的第二药剂,推荐剂量在例如Hardma等人编辑,1996,古德曼吉尔曼治疗学的药理学基础(Goodman&Gilman The Pharmacological Basis Of Therapeutics)第九版,Mc-Graw-Hill,纽约;医师案头参考(PDR)第57版,2003,医药经济股份有限公司(Medical Economics Co.,Inc.),蒙特威尔,新泽西州;其全部并入本文作为参考。

[0267] 本公开提供了通过将本文所述的软MEK抑制剂和一种或多种另外的药剂一起给药的联合治疗。在一些实施方式中,所述一种或多种另外的药剂选自:

[0268] 治疗痤疮的药剂(如维甲酸(Accutane)、壬二酸、过氧化苯甲酰、水杨酸);

[0269] 镇痛药(如对乙酰氨基酚、辣椒素),例如Cox2抑制剂,如塞来昔布(Celecoxib);

[0270] 麻醉药(如苯佐卡因(Benzocaine)、苯佐卡因/薄荷醇、地布卡因(Dibucaine)、地哌冬(Diperodon)、利多卡因(Lidocaine)、利多卡因/丙胺卡因(Prilocaine)、普莫卡因

(pramoxine));

[0271] 抗感染药(如克罗米通(Crotamiton));

[0272] 抗瘙痒药(如乳酸铵、苯佐卡因、子囊霉素大环内酰胺,如吡美莫司(Pimecrolimus));

[0273] 抗瘙痒药/5HT<sub>3</sub>受体拮抗剂(如昂丹司琼(Ondansetron));

[0274] 抗生素(如克林霉素、强力霉素、红霉素、四环素);

[0275] 反副交感神经生理作用的止吐药(如苯海拉明);

[0276] 抗纤维化药(如胶原酶、吡非尼酮);

[0277] 抗组胺药(如曲普利啶(Actifed®)、非索非那定(Allerga®、Allegra®D-12、Allegra®-24)、阿斯特罗/阿斯特林(Astepro/Astelina)鼻喷剂(氮卓斯汀(Azalastine)(Dymista®)、盐酸羟嗪(安泰乐®(Atarax®))、盐酸苯海拉明(苯那君®(Benadryl®))、溴苯那敏(Dimetapp®感冒和过敏反应酞剂)、仙特明®(Zyrtec®)(西替利嗪)、氯屈米通®(Chlor-Trimeton®)(氯苯吡胺(Chlorpheniramine))、地氯雷他定(Desloratadine)(Clarinet®、Clarinet®D-12、Clarinet®D-24)、氯雷他定(克敏能®(Claritin®)、克敏能®D-12、克敏能®D-24和Alavert®)、茶苯海明(晕海宁®(Dramamine®))、苯海拉明(苯那君®过敏、Nytol®、Sominex®)、多西拉敏(维克斯®(Vicks®)、奈奎尔®(NyQuil®)、我可舒适®(Alka-Seltzer®)加强夜间感冒药)、赛庚啶(Periactin®)、异丙嗪(非那根®(Phenergan®))、阿伐斯汀(Acrivastine)(Semprex®、Semprex®-D)、氯马斯汀(Clemastine)(Tavist®)、多西拉敏(Unisom®)、左西替利嗪(Levoceterizine)(优泽®(Xyzal®));

[0278] 肥大细胞稳定剂(例如β<sub>2</sub>-肾上腺素能激动剂、色甘酸、色甘酸钠、Gastrocrom®、酮替芬、甲基黄嘌呤、奥马珠单抗、哌罗来斯(Pemrolast)、槲皮素、酮替芬(Zaditen®));

[0279] 抗炎药(例如NSAID(如阿司匹林、胆碱和水杨酸镁、双氯芬酸钾(凯扶兰®(Cataflam®))、双氯芬酸钠(扶他林®(Voltaren®)、扶他林®XR)、双氯芬酸钠与米索前列醇(奥斯克®(Arthrotec®))、二氟尼柳(Dolobid®)、依托度酸(洛丁®(Lodine®)、洛丁®XL)、非诺洛芬钙(纳尔丰®(Nalfon®))、氟比洛芬(Ansaid®)、布洛芬(艾德维尔®(Advil®)、摩特灵®(Motrin®)、摩特灵®IB、努普林®(Nuprin®))、吲哚美辛(吲哚新®(Indocin®)、吲哚新®SR)、酮洛芬(Actron®、奥鲁地®(Orudis®)、奥鲁地®KT、欧露维®(Oruvail®))、水杨酸镁(Arthritis、拜耳®选择、多恩片(Doan's pill)、美根(Magan)、Mobidin、Mobogesic)甲氯芬那酸钠(敏康能®(Meclomen®))、甲芬那酸(扑湿痛(Ponstel®))、美洛昔康(莫比可®(Mobic®))、纳布美通(Nabumetone)(瑞力芬®(Relafen®))、萘普生(Naprosyn®、Naprelan®)、萘普生钠(Aleve®、Anaprox®)、恶丙嗪(Oxaprozin)(Daypro®)、吡罗昔康(Feldene®)、罗非昔布(万络®(Vioxx®))、双水杨酯(Salsalate)(Amigesic、Anaflex 750、Disalcid、Marthritic、Mono-Gesic、Salflex、Salsitab)、水杨酸钠、舒林酸(奇诺力®(Clinoril®))、托美丁钠(Tolectin®)、伐地昔布(Valdecoxib)(Bextra®));

[0280] 受体酪氨酸激酶抑制剂(如舒尼替尼);

- [0281] 烷化剂(如达卡巴嗪、卡铂)；
- [0282] CDK4/6抑制剂(如LEE011)；
- [0283] PKC抑制剂(如AEB071)；
- [0284] MAPK抑制剂(如RAS抑制剂/法尼基转移酶抑制剂(如替吡法尼(Tipifarnib))、Raf激酶抑制剂(如索拉非尼(BAY43-9006、多吉美(Nexavar))、维莫非尼(Vemurafenib)、达拉菲尼(Dabrafenib)、LGX818、TAK-632、MLN2480、PLX-4720)、ERK抑制剂(如SCH772984、VTX11e)；
- [0285] PI3K抑制剂(如LY294002)；
- [0286] AKT抑制剂(如MK 2206)；
- [0287] PI3K/Akt抑制剂(如布帕尼西(buparlisib)、西妥木单抗(Cixutumumab))；
- [0288] mTOR抑制剂(例如,局部雷帕霉素、RAD001(依维莫司/雷帕霉素)、替西罗莫司(Temsirolimus)、西罗莫司)；
- [0289] 酪氨酸激酶抑制剂(如伊马替尼(格列卫®(Gleevec®))、卡博替尼(Cabozantinib)(酪氨酸激酶c-Met和VEGFR2抑制剂)、尼洛替尼(nilotinib)(Tasigna®)；
- [0290] VEGF抑制剂(如兰尼单抗(Ranibizumab)(Lucentis®)、西地尼布(Cediranib))；
- [0291] 免疫反应调节剂(如局部咪喹莫特、干扰素、PEG干扰素)；
- [0292] 钙通道阻断剂(如Avocil(美德玛(Mederma)) /15%维拉帕米、单独的维生素D、多西环素注射液)；
- [0293] 他汀(如洛伐他汀、甲氨蝶呤、长春花碱(Vinblastine)、普瑞巴林(Pregabalin)、替莫唑胺、PLX3397)；
- [0294] HDAC抑制剂(如AR-42)；
- [0295] HSP-90抑制剂(如格拉替雷(Ganetespib))；
- [0296] 维甲酸类(如阿达帕林、异维A酸、他扎罗汀、维A酸)；
- [0297] 类固醇(如阿氯米松、安西奈德、倍他米松、二丙酸倍他米松、增强型(augmented)二丙酸倍他米松、布地奈德、丙酸氯倍他素(Clobetasol propionate)、可的松、地奈德、地塞米松、醋酸双氟拉松(Diflorasone diacetate)、醋酸氟轻松(Fluocinolone acetonide)、氟轻松(fluocinonide)、氟氢缩松(Flurandrenolide)、丙酸氟替卡松(Fluticasone propionate)、丙酸卤贝他松(Halobetasol propionate)、氯氟舒松(Halocinonide)、氢化可的松、丁酸氢化可的松、戊酸氢化可的松、甲基强的松龙、莫米松、糠酸莫米松、泼尼卡酯(prednicarbate)、泼尼松龙(prednisolone)、强的松、氟羟氢化泼尼松、曲安奈德)；
- [0298] 局部钙调磷酸酶抑制剂(如吡美莫司(pimecrolimus)(爱宁达(Elidel)®乳膏1%,诺华(Novartis),他克莫司(tacrolimus)(普特彼(Protopic)®软膏,阿斯泰来(Astellas)))；
- 和
- [0299] 非药物干预(如光动力疗法(Levulan Kerastick外用+光疗)、电干燥法(ED)、YAG激光)。
- [0300] 在各种实施方式中,疗法(如本文提供的化合物和第二药剂)间隔至少5分钟、间隔至少30分钟、间隔至少1小时、间隔约1小时、间隔约1小时至约2小时、间隔约2小时至约3小时、间隔约3小时至约4小时、间隔约4小时至约5小时、间隔约5小时至约6小时、间隔约6小时

至约7小时、间隔约7小时至约8小时、间隔约8小时至约9小时、间隔约9小时至约10小时、间隔约10小时至约11小时、间隔约11小时至约12小时、间隔约12小时至18小时、间隔18小时至24小时、间隔24小时至36小时、间隔36小时至48小时、间隔48小时至52小时、间隔52小时至60小时、间隔60小时至72小时、间隔72小时至84小时、间隔84小时至96小时、或间隔6小时至120小时给药。在各种实施方式中,疗法间隔不超过24小时或不超过48小时给药。在一些实施方式中,在同一患者就诊中给予两种或更多种疗法。在一些实施方式中,本文提供的化合物和第二药剂同时给药。

[0301] 在一些实施方式中,本文提供的化合物和第二药剂间隔约2至4天、间隔约4至6天、间隔约1周、间隔约1至2周或间隔超过2周给药。

[0302] 在一些实施方式中,可以重复给药相同药剂,并且给药可以间隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或6个月。在一些实施方式中,可以重复给药相同的药剂,并且给药可以间隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或6个月。

[0303] 在一些实施方式中,本文提供的化合物和第二药剂以顺序且在时间间隔内给药给患者,在一些实施方式中,给药给哺乳动物,例如人,使得本文提供的化合物可以与其他药剂一起作用,以提供比以其他方式给药时增加的益处。在一些实施方式中,第二活性剂可以同时施用或以任何顺序依次在不同时间及时施用;然而,如果不是同时施用,它们应该在时间上足够近下给药,以便提供所需的治疗或预防效果。在一些实施方式中,本文提供的化合物和第二活性剂在重叠的时间发挥其作用。每个第二活性剂可以以任何适当的形式和通过任何适当的途径单独施用。在一些实施方式中,本文提供的化合物在给药第二活性剂之前、同时或之后给药。

[0304] 在一些实施方式中,本文提供的化合物和第二药剂循环给药给患者。循环疗法包括施用第一药剂(如第一预防或治疗剂)持续一段时间,随后施用第二药剂和/或第三药剂(如第二和/或第三预防或治疗剂)持续一段时间并重复该顺序的给药。循环疗法可以减少对一种或多种疗法的耐药性的发展,避免或减少一种疗法的副作用,和/或提高治疗的疗效。

[0305] 在一些实施方式中,本文提供的化合物和第二活性剂以少于约3周、约每两周一次、约每10天一次或约每周一次的周期给药。一个循环可以包括通过每次循环约90分钟、每次循环约1小时、每次循环约45分钟的输液给药本文提供的化合物和第二药剂。每个循环可以包括至少1周的暂停、至少2周的暂停、至少3周的暂停。给药的循环数为约1至约12个循环,更典型地为约2至约10个循环,更典型地为约2至约8个循环。

[0306] 在一些实施方式中,患者同时接受不同疗程的治疗,即在一定的时间间隔内单独施用单独剂量的第二试剂,使得本文提供的化合物可以与第二活性试剂一起作用。在一些实施方式中,一种组分可与可每两周或每三周施用一次的其他组分联合每周施用一次。换句话说,即使不是同时或在同一天给药,给药方式也是同时进行的。

[0307] 第二试剂可与本文提供的化合物相加或协同作用。在一些实施方式中,本文提供的化合物在相同的药物组合物中与一种或多种第二试剂同时施用。在一些实施方式中,本文提供的化合物在单独的药物组合物中与一种或多种第二试剂同时施用。在一些实施方式中,本文提供的化合物在使用第二药剂之前或之后施用。还考虑了通过相同或不同的给药

途径(如口服和肠道外)施用本文提供的化合物和第二药剂。在一些实施方式中,当本文提供的化合物与潜在产生包括但不限于毒性的不良副作用的第二药剂同时施用,第二活性剂可有利地以低于引起不良副作用的阈值的剂量施用。

[0308] VIII. 实施例

[0309] 通用合成方法

[0310] 本文提供的化合物可通过对本领域技术人员显而易见的任何方法制备、分离或获得。本文提供的化合物可以根据下面提供的示例性制备方案制备。示例性制备方案中未提供的反应条件、步骤和反应物对于本领域技术人员来说是显而易见的,并且是已知的。如本文所使用,在这些过程中、方案和实施例中使用的符号和惯例,无论特定缩写是否被具体定义,都与当代科学文献(例如是《美国化学学会杂志》或《生物化学杂志》)中使用的符号和惯例一致。具体地,但不限于,以下缩写可在实施例中和整个说明书中使用:g(克);mg(毫克);mL(毫升); $\mu$ L(微升);mM(毫摩尔); $\mu$ M(微摩尔);Hz(赫兹);MHz(兆赫兹);mmol(毫摩尔);hr或hrs(小时);min(分钟);MS(质谱);ESI(电喷雾离子化);TLC(薄层色谱);HPLC(高效液相色谱);THF(四氢呋喃); $\text{CDCl}_3$ (氘代氯仿);AcOH(乙酸);DCM(二氯甲烷);DMSO(二甲基亚砜);DMSO- $d_6$ (氘代二甲亚砜);EtOAc(乙酸乙酯);MeOH(甲醇);Tces(2,2,2-三氯乙氧基磺酰基);-Si(tert-Bu)(Ph) $_2$ 和-Si<sup>t</sup>BuPh $_2$ (叔丁基-二苯基甲硅烷基);和BOC(叔丁氧羰基)。

[0311] 对于以下所有实施例,可以使用本领域技术人员已知的标准处理和纯化方法。除非另有说明,所有温度均以 $^{\circ}\text{C}$ (摄氏度)表示。除非另有说明,所有反应都在室温下进行。本文所示的合成方法旨在通过使用特定实例来举例说明可应用的化学,并且不指示本公开的范围。

[0312] 式(Ia)化合物可如图1中所示的方案1制备,其中,下标n为0; $\text{R}^1$ 为氢、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、 $\text{C}_3$ - $\text{C}_8$ 环烷基、 $\text{C}_3$ - $\text{C}_8$ 环烷基- $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 羟烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷氧基- $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、氨基- $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基氨基- $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、二( $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基)氨基- $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基、杂环烷基、杂环烷基- $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基 $\text{R}^5$ -C(O)- $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基或-OH,其中各个 $\text{C}_3$ - $\text{C}_8$ 环烷基和杂环烷基为未取代的或被1至6个 $\text{R}^6$ 所取代的; $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^{2a}$ 、 $\text{R}^{3a}$ 、 $\text{R}^{3b}$ 、 $\text{R}^5$ 和 $\text{R}^6$ 如本文所述的任何方面、实施方案或权利要求中所定义。在一些实施方案中, $\text{R}^{3a}$ 和 $\text{R}^{3b}$ 各自为氢。

[0313] 从市售或常规可得的如式(101)所示的吡啶和市售可得的氯甲酸甲酯开始,可通过对本领域技术人员显而易见的方法制备式(102)化合物。然后式(102)化合物与式(103)化合物在 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ 和催化剂(如PdXPhos G2)的存在下反应,其中式(103)化合物由频那醇硼烷和乙基乙烯基醚制备得到。式(104)化合物在酸性条件下的环化反应提供了式(105)中间体。各种各样市售可得或常规可得的如 $\text{R}^1\text{NH}_2$ 所示胺或被保护的胺可与式(105)中间体反应提供式(106)化合物。式(Ia)化合物可通过式(106)化合物与市售可得或常规可得的苯胺类的偶联反应通过对本领域技术人员显而易见的方法,随后可选的脱保护制得。在式(Ia)化合物的一些实施方案中,其中 $\text{R}^1$ 为HOC(O)- $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基,在通过本领域已知方法进一步活化-C(O)OH之后,这些化合物转化为式(Ia),其中 $\text{R}^1$ 为 $\text{R}^5\text{C}(\text{O})$ - $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基。

[0314] 式(Ia)化合物可如图2中所示的方案2制备,其中,下标n为0; $\text{R}^1$ 为-OR<sup>4</sup>;以及 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^{2a}$ 、 $\text{R}^{3a}$ 、 $\text{R}^{3b}$ 和 $\text{R}^4$ 如本文所述的任何方面、实施方案或权利要求中所定义。在一些实施方案中, $\text{R}^{3a}$ 和 $\text{R}^{3b}$ 各自为氢。

[0315] 从如方案1中所示的式(104)常规中间体开始,各种市售可得或常规可得的如

$R^4ONH_2$ 所示的羟胺或被保护的羟胺可与式(104)反应,从而提供式(107)化合物。式(107)化合物在碱存在下的成环反应提供了式(108)化合物(注意 $R^1$ 中酯基也水解成相应的酸)。式(Ia)化合物可通过式(108)化合物与市售可得或常规可得的苯胺类的偶联反应通过对本领域技术人员显而易见的方法,随后可选的脱保护制得。在式(Ia)化合物的一些实施方案中,其中 $R^1$ 为 $-OR^4$ 且 $R^4$ 为 $HOC(O)-C_1-C_6$ 烷基,在通过本领域已知方法进一步活化 $-C(O)OH$ 之后,这些化合物转化为式(Ia),其中 $R^1-OR^4$ 且 $R^4$ 为 $R^{45}C(O)-C_1-C_6$ 烷基。在一些实施方案中,当 $R^1$ 为 $-OH$ ,根据方案1制备相应的式(Ia)化合物。

[0316] 式(Ib)化合物可如图3中所示的方案3制备,其中,下标 $n$ 为0且 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 如本文所述的任何方面、实施方案或权利要求中所定义。在一些实施方案中, $R^{3a}$ 和 $R^{3b}$ 各自为氢。

[0317] 从如方案1中所示的式(104)常规中间体开始,各种市售可得或常规可得的如 $R^1ONH_2$ 所示的胺、羟胺、被保护的胺或被保护的羟胺可与式(104)反应,从而提供式(109)化合物。式(109)化合物在还原试剂(如 $NaCNBH_3$ )存在下的还原环化反应提供了式(110)化合物(注意 $R^1$ 中酯基也水解成相应的酸)。式(Ia)化合物可通过式(110)化合物与市售可得或常规可得的苯胺类的偶联反应通过对本领域技术人员显而易见的方法,随后可选的脱保护制得。在式(Ia)化合物的一些实施方案中,其中 $R^1$ 为 $HOC(O)-C_1-C_6$ 烷基或 $-OR^4$ 且 $R^4$ 为 $HOC(O)-C_1-C_6$ 烷基,在通过本领域已知方法进一步活化 $-C(O)OH$ 之后,这些化合物转化为式(Ia),其中 $R^1$ 为 $R^5C(O)-C_1-C_6$ 烷基或 $-OR^4$ 且 $R^4$ 为 $R^5C(O)-C_1-C_6$ 烷基。

[0318] 利用本文提供的示例性制备方案和本领域普通技术人员之一已知的方法制备了表1和表2中的化合物。

[0319] 通用方法

[0320] NMR谱

[0321]  $^1H$ -NMR谱在布鲁克(Bruker)Avance III NMR谱图仪上在400MHz下记录。在氘代氯仿( $CDCl_3$ )或二甲基亚砷( $DMSO-d_6$ )中制备样品,并使用ACD NMR软件处理原始数据。

[0322] UPLC-MS分析

[0323] LCMS分析在沃特世(Waters)Acquity UPLC系统上进行,该系统由Acquity i-Class样品管理器-FL、Acquity i-Class二元溶剂管理器和Acquity i-Class UPLC色谱柱管理器组成。UV检测使用Acquity i-Class UPLC PDA检测器(扫描范围为210-400nm)实现,而质量检测使用Acquity QDa检测器实现(质量扫描范围为100-1250Da;正负模式同时进行)。沃特世Acquity UPLC BEH C18色谱柱( $2.1 \times 50mm, 1.7\mu m$ )用于实现分析物的分离。

[0324] 通过溶解(用或不用超声)在1mL的MeCN在 $H_2O$ 中的1:1(v/v)混合物中来制备样品。所得溶液在提交分析之前通过 $0.2\mu m$ 注射过滤器过滤。使用的所有溶剂(包括甲酸和36%氨溶液)均用作HPLC级。

[0325] 四种不同的分析方法用于分析如本文所述的化合物。四种分析方法中的每种如下详述:

[0326] 酸性运行(2min):含0.1%v/v甲酸的水[洗脱液A];含0.1%v/v甲酸的MeCN[洗脱液B];流速0.8mL/min;注射体积 $2\mu L$ ,和样品之间的平衡时间为1.5min。

[0327]

时间(min)	洗脱液A(%)	洗脱液B(%)
0.00	95	5

0.25	95	5
1.25	5	95
1.55	5	95
1.65	95	5
2.00	95	5

[0328] 酸性运行(4min):含0.1%v/v甲酸的水[洗脱液A];含0.1%v/v甲酸MeCN[洗脱液B];流速0.8mL/min;注射体积2 $\mu$ L,和样品之间的平衡时间为1.5min。

时间(min)	洗脱液A(%)	洗脱液B(%)
0.00	95	5
0.25	95	5
2.75	5	95
3.25	5	95
3.35	95	5
4.00	95	5

[0330] 基本运行(2min):含0.1%v/v氨的水[洗脱液A];含0.1%v/v氨的MeCN[洗脱液B];流速0.8mL/min;注射体积2 $\mu$ L,和样品之间的平衡时间为1.5min。

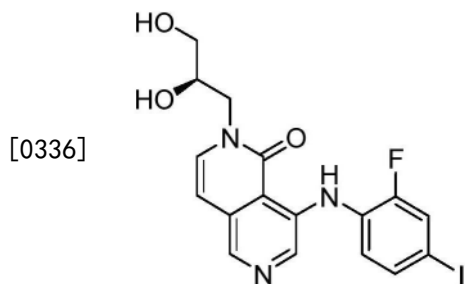
时间(min)	洗脱液A(%)	洗脱液B(%)
0.00	95	5
0.25	95	5
1.25	5	95
1.55	5	95
1.65	95	5
2.00	95	5

[0332] 基本运行(4min):含0.1%v/v氨的水[洗脱液A];含0.1%v/v氨的MeCN[洗脱液B];流速0.8mL/min;注射体积2 $\mu$ L,和样品之间的平衡时间为1.5min。

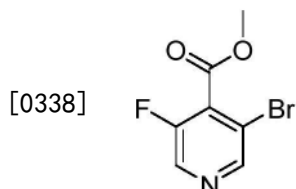
时间(min)	洗脱液 A(%)	洗脱液 B(%)
0.00	95	5
0.25	95	5

时间(min)	洗脱液 A(%)	洗脱液 B(%)
2.75	5	95
3.25	5	95
3.35	95	5
4.00	95	5

[0335] 实施例1: (R)-2-(2,3-二羟基丙基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮



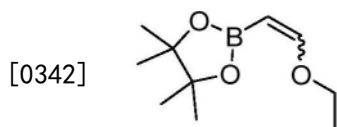
[0337] 步骤1:3-溴-5-氟异烟酸甲酯



[0339] 向在0℃下搅拌的干燥的二异丙基氨(8.8mL,62.5mmol)的干燥THF(300mL)溶液中加入n-BuLi(2.5M于己烷中,25mL,62.5mmol)。将反应混合物在室温下搅拌30min,然而冷却至-78℃并加入3-溴-5-氟吡啶(10g,56.8mmol)的干燥THF(300mL)溶液。将反应混合物搅拌1h并用氯甲酸甲酯(5.3mmol,68.2mmol)处理。将反应混合物搅拌1.5h,然后在0℃下用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液淬灭,用EtOAc(3×100mL)萃取,用H<sub>2</sub>O(100mL)和盐水(100mL)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并真空干燥。粗材料通过快速柱色谱(硅胶,己烷中0-7%的EtOAc)纯化,得到微黄色液体状产物(10.43g,78%)。UPLC-MS(酸性方法,2min):rt0.86min,m/z 234.0/236.0[M+H]<sup>+</sup>。

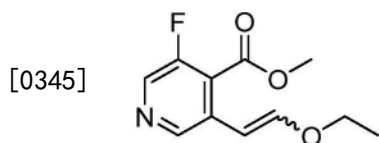
[0340] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>):δppm 8.69(t,J=0.5Hz,1H),8.57(d,J=8.4Hz,1H),4.08(s,3H)。

[0341] 步骤2:2-(2-乙氧基乙烯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷(式(103)化合物)



[0343] 向频那醇硼烷(20g,156mmol)和乙基乙烯基酯(61.4mL,640mmol)的混合物中小心地(由于为放热过程)加入醋酸钯(II)(0.176g,0.781mmol)。反应混合物在室温下搅拌18h。然后将反应混合物真空浓缩,将残余物通过硅胶塞(0-10%EtOAc于己烷中),得到黄色液体状产品(24.6g,85%)。UPLC-MS(酸性方法,2min):rt 0.92和1.03min,m/z199.2[M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>):δppm(注:E:Z异构体1.25:1的混合物)7.03(d,J=14.4Hz,1.25H),6.64(d,J=0.4Hz,1H),4.43(d,J=14.4Hz,1.25H),4.11(dd,J=7.8,4.4Hz,1H),3.94(q,J=7.1Hz,2H),3.84(q,J=7.1Hz,2.5H),1.28-1.24(m,31H),0.95-0.84(m,3H)。

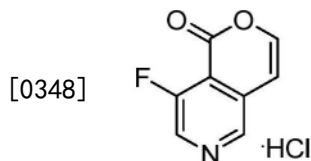
[0344] 步骤3:3-(2-乙氧基乙烯基)-5-氟异烟酸甲酯(式(104)化合物)



[0346] 将脱气的3-溴-5-氟异烟酸甲酯(10g,42.70mmol)、2-(2-乙氧基乙烯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷(12.7g,64.05mmol)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(48.7g,49.45mmol)和

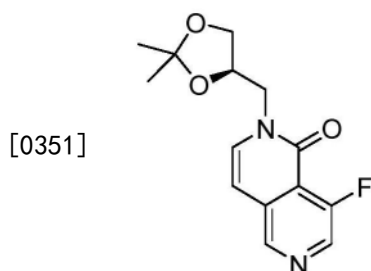
PdXPhos G2催化剂(3.4g, 4.27mmol)的THF/H<sub>2</sub>O(9:1v/v, 90:10mL)溶液在85℃下搅拌18h。将反应混合物冷却至室温,用EtOAc(100mL)稀释并经硅藻土垫过滤。将有机滤液用H<sub>2</sub>O(100mL)、盐水(100mL)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,并真空浓缩。粗材料通过快速柱色谱(硅胶,己烷中0-25%的EtOAc)纯化,得到微棕色油状产物(7.07g, 74%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min):rt 1.01和1.10min, m/z 226.1[M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δppm(注:E:Z异构体1.15:1的混合物) 9.18-9.13(m, 1H), 8.48(s, 1.15H), 8.30(dd, J=5.2, 0.8Hz, 2.15H), 7.03(d, J=12.9Hz, 1.15H), 6.41(dd, J=7.1, 0.7Hz, 1H), 5.91(d, J=12.9Hz, 1.15H), 5.27(d, J=7.1Hz, 1H), 4.05(q, J=7.1Hz, 2H), 4.01-3.90(m, 8.75H), 1.37(td, J=7.1, 2.8Hz, 6.5H)。

[0347] 步骤4: 8-氟-1H-吡喃并[4,3-c]吡啶-1-酮盐酸盐(式(105)化合物)



[0349] 向3-(2-乙氧基乙烯基)-5-氟异烟酸甲酯(2.07g, 9.2mmol)中加入4M HCl(26mL, 104mmol)并将反应混合物在100℃下搅拌18h。将反应混合物冷却并将形成的沉淀通过过滤分离,用二氧六环(3×5mL)洗涤,并真空干燥,得到浅棕色固体状产物(0.93g, 50%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min):rt 0.60, m/z 166.0[M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δppm 8.69(s, 1H), 8.63(d, J=2.2Hz, 1H), 7.41(d, J=5.6Hz, 1H), 6.60(dd, J=5.6, 2.5Hz, 1H)。

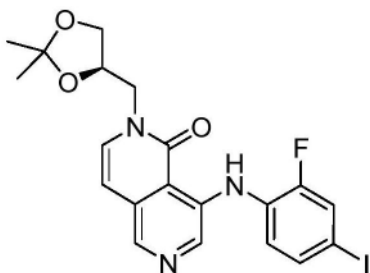
[0350] 步骤5: (R)-2-((2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊-4-基)甲基)-8-氟-2,6-萘啶-1(2H)-酮



[0352] 向8-氟-1H-吡喃并[4,3-c]吡啶-1-酮盐酸盐(300mg, 1.82mmol)的MeOH(13mL)溶液中加入(R)-2-((2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲胺(334mg, 2.55mmol)并将反应混合物在80℃加热72h。将反应混合物真空浓缩并将残余物溶解在EtOAc中,用H<sub>2</sub>O(30mL)、盐水(30mL)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,并真空浓缩。粗材料通过快速柱色谱(硅胶,己烷中0-80%的EtOAc)纯化,得到灰白色固体状产物(94mg, 19%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min):rt 0.84min, m/z 279.2[M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.74(s, 1H), 8.46(d, J=3.1Hz, 1H), 7.37(d, J=7.4Hz, 1H), 6.55(dd, J=7.4, 2.3Hz, 1H), 4.52(qd, J=6.6, 3.0Hz, 1H), 4.39(dd, J=13.8, 3.0Hz, 1H), 4.16(dd, J=8.8, 6.5Hz, 1H), 3.91(dd, J=13.8, 7.0Hz, 1H), 3.74(dd, J=8.8, 6.3Hz, 1H), 1.43(s, 3H), 1.34(s, 3H)。

[0353] 步骤6: (R)-2-((2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊-4-基)甲基)-8-(2-氟-4-碘苯氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮

[0354]

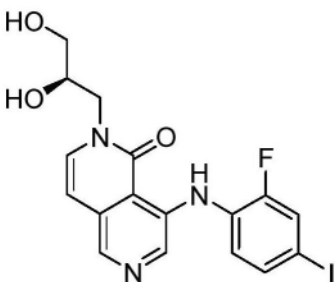


[0355] 将在-78℃下搅拌的2-氟-4-碘苯胺(49mg,0.21mmol)的干燥THF(1mL)溶液用LiHMDS(1M于THF中,0.3mL,0.3mmol)处理,将反应混合物搅拌10min。然后加入(R)-2-((2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊-4-基)甲基)-8-氟-2,6-萘啶-1(2H)-酮(60mg,0.216mmol)的干燥THF(1mL)溶液并将反应混合物于-78℃下搅拌15min,然后温热至室温。在0℃下将反应混合物用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(1mL)淬灭,并用EtOAc(3x7 mL)萃取。将合并有机相用H<sub>2</sub>O(7mL)、盐水(7mL)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,并真空浓缩。粗材料通过快速柱色谱(硅胶,己烷中0-50%的EtOAc)纯化,得到黄色固体状产物(68mg,64%)。UPLC-MS(酸性方法,2min):rt 1.17min,m/z 496.1[M+H]<sup>+</sup>。

[0356] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ10.56(s,1H),8.41(s,1H),8.28(s,1H),7.56-7.43(m,2H),7.33(t,J=8.4Hz,1H),7.25(d,1H),6.50(d,J=7.4Hz,1H),4.51(qd,J=6.5,3.1Hz,1H),4.36(dd,J=13.8,3.1Hz,1H),4.16(dd,J=8.7,6.5Hz,1H),3.88(dd,J=13.8,7.0Hz,1H),3.75(dd,J=8.7,6.2Hz,1H),1.44(s,3H),1.35(s,3H)。

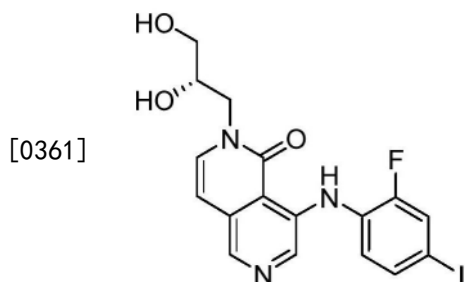
[0357] 步骤7:(R)-2-((2,3-二羟基丙基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮

[0358]

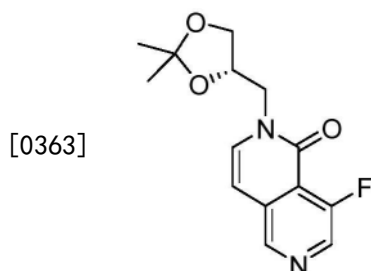


[0359] (R)-2-((2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊-4-基)甲基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮(68mg,0.137mmol)的二氧六环(3.5mL)溶液用4M HCl的二氧六环溶液(0.086mL)处理,并将反应混合物在室温下搅拌18h。将反应混合物真空浓缩得到橙黄色固体状产物(62mg,100%)。UPLC-MS(酸性方法,2min):rt 0.87min,m/z 456.0[M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CD<sub>3</sub>CN):δ11.13(s,1H),8.30(s,1H),7.94(s,1H),7.69(dd,J=10.1,1.9Hz,1H),7.61(dd,J=16.5,7.9Hz,2H),7.36(t,J=8.4Hz,1H),6.75(d,J=7.3Hz,1H),4.31(dd,J=13.5,3.2Hz,1H),4.03-3.91(m,1H),3.87(dd,J=13.4,8.2Hz,1H),3.58-3.44(m,2H)。

[0360] 实施例2:(S)-2-((2,3-二羟基丙基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮



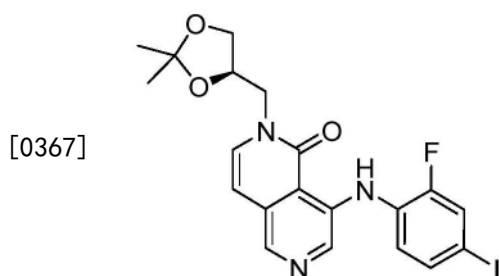
[0362] 步骤1: (S)-2-((2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊-4-基)甲基)-8-氟-2,6-萘啶-1(2H)-酮



[0364] 向8-氟-1H-吡喃并[4,3-c]吡啶-1-酮盐酸盐(500mg, 3.03mmol)的MeOH(22mL)溶液中加入(S)-(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲胺(556mg, 4.24mmol)并将反应混合物在80℃搅拌72h。将反应混合物真空浓缩并将残余物溶解在EtOAc中,用H<sub>2</sub>O(50mL)、盐水(50mL)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,并真空浓缩。粗材料通过快速柱色谱(硅胶,己烷中0-100%的EtOAc)纯化,得到黄色固体状产物(165mg, 20%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min):rt 0.76min, m/z 279.1[M+H]<sup>+</sup>。

[0365] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ8.74(s, 1H), 8.46(d, J=3.1Hz, 1H), 7.37(d, J=7.4Hz, 1H), 6.55(dd, J=7.4, 2.3Hz, 1H), 4.52(qd, J=6.5, 3.0Hz, 1H), 4.39(dd, J=13.8, 3.0Hz, 1H), 4.16(dd, J=8.8, 6.5Hz, 1H), 3.90(dd, J=13.8, 7.0Hz, 1H), 3.74(dd, J=8.8, 6.3Hz, 1H), 1.43(s, 3H), 1.34(s, 3H)。

[0366] 步骤-2: (S)-2-((2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊-4-基)甲基)-8-(2-氟-4-碘苯氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮

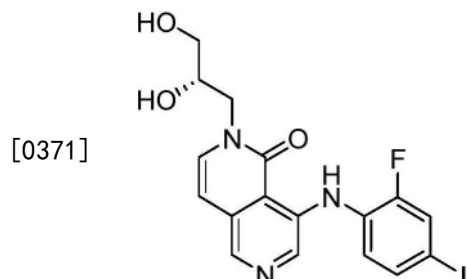


[0368] 将在-78℃下搅拌的2-氟-4-碘苯胺(53mg, 0.222mmol)的干燥THF(1mL)溶液用LiHMDS(1M于THF中, 0.33mL, 0.33mmol)处理,将反应混合物搅拌10分钟。然后加入(S)-2-((2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊-4-基)甲基)-8-氟-2,6-萘啶-1(2H)-酮(65mg, 0.234mmol)的干燥THF(1mL)溶液并将反应混合物于-78℃下搅拌15分钟,然后温热至室温。在0℃下将反应混合物用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(1mL)淬灭,并用EtOAc(3x7mL)萃取。将合并有机相用H<sub>2</sub>O(7mL)、盐水(7mL)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,并真空浓缩。粗材料通过快速柱色谱(硅胶,己烷中0-50%的EtOAc)纯化,得到黄色固体状产物(77mg, 66%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min):rt

1.14min, m/z 496.0 [M+H]<sup>+</sup>.

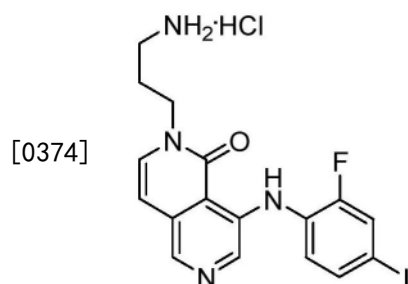
[0369] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ10.55 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.55-7.42 (m, 2H), 7.32 (t, J=8.4Hz, 1H), 7.24 (d, 1H), 6.49 (d, J=7.3Hz, 1H), 4.50 (qd, J=6.6, 3.2Hz, 1H), 4.35 (dd, J=13.8, 3.1Hz, 1H), 4.15 (dd, J=8.8, 6.5Hz, 1H), 3.87 (dd, J=13.8, 7.0Hz, 1H), 3.74 (dd, J=8.7, 6.2Hz, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.34 (s, 3H).

[0370] 步骤3: (S)-2-(2,3-二羟基丙基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮

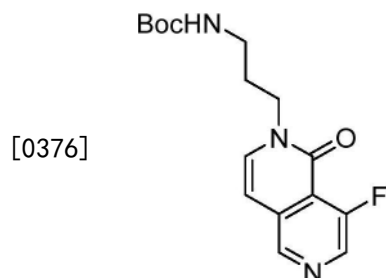


[0372] (S)-2-((2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊-4-基)甲基)-8-(2-氟-4-(三甲基甲硅烷基)苯基-氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮(67mg, 0.136mmol)的二氧六环(3.5mL)溶液用4M HCl的二氧六环溶液(85μL)处理,并将反应混合物在环境温度下搅拌18h。将反应混合物真空浓缩并将粗材料通过制备型HPLC纯化,得到黄色固体状产物(16mg, 26%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min): rt 1.02min, m/z 456.1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ10.73 (s, 1H), 8.35 (d, J=1.3Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.62 (dd, J=10.4, 2.0Hz, 1H), 7.55 (ddd, J=8.5, 2.1, 1.0Hz, 1H), 7.44 (t, J=8.5Hz, 1H), 7.37 (d, J=7.4Hz, 1H), 6.60 (d, J=7.4Hz, 1H), 4.23 (dd, J=13.4, 3.6Hz, 1H), 3.95 (m, 1H), 3.85 (dd, J=13.4, 7.8Hz, 1H), 3.54-3.46 (m, 2H).

[0373] 实施例3: 2-(3-氨基丙基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮盐酸盐



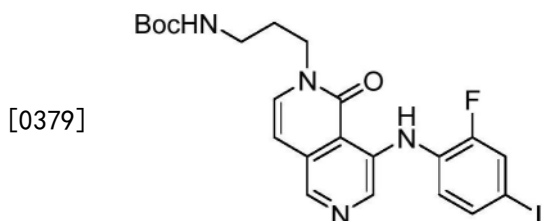
[0375] 步骤1: 3-(8-氟-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)丙基氨基甲酸叔丁酯



[0377] 将8-氟-1H-吡喃并[4,3-c]吡啶-1-酮盐酸盐(0.50g, 2.48mmol)和3-氨基丙基氨基甲酸叔丁酯(0.74g, 4.24mmol)的MeOH(22mL)溶液在80℃加热18h,然后真空浓缩。将粗残余物用EtOAc处理并将收集的有机相用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩,得到粗产物(1.02g, 35%纯),其不经进一步纯化直接用于下一步中。UPLC-MS(酸性方法, 2min): rt

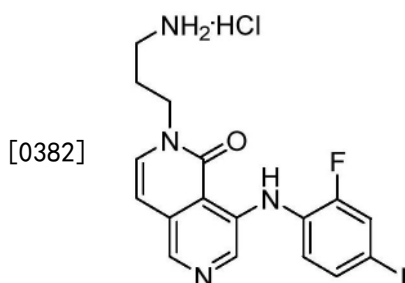
0.97min, m/z 322.1 [M+H]<sup>+</sup>.

[0378] 步骤2: 3-(8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)丙基氨基甲酸叔丁基酯



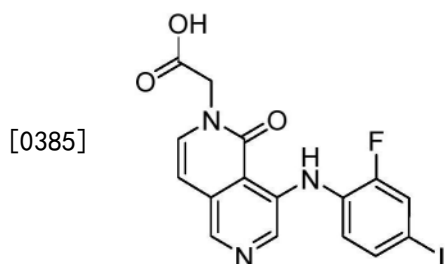
[0380] 将在-78℃下在N<sub>2</sub>中搅拌的2-氟-4-碘苯胺(680mg, 2.87mmol)的干燥THF(15mL)溶液用LiHMDS(1M于THF中, 4.23mL, 4.23mmol)处理(滴加)。将反应混合物在-78℃下搅拌15min, 然后加入3-(8-氟-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)丙基氨基甲酸叔丁基酯(970mg, 35%纯, 1.06mmol)在干燥THF(15mL)中的悬浮液。将反应混合物继续进一步在-7℃下搅拌, 然后温热至室温。1h后, 将反应混合物再冷却至-78℃并用另一份的LiHMDS(1M于THF中, 4.23mL, 4.23mmol)处理(滴加); 再一次重复该加入。将反应混合物继续搅拌1h, 然后温热至室温。然后0℃下将反应混合物用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液淬灭, 并用EtOAc萃取。将合并的有机相用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩, 得到粗材料, 其通过快速柱色谱(硅胶, 己烷中0-90%的EtOAc)纯化, 得到产物(73mg, 13%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min): rt 1.28min, m/z 539.0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δppm 10.57(s, 1H), 8.38(d, J=1.3Hz, 1H), 8.26(s, 1H), 7.52(dd, J=9.8, 2.0Hz, 1H), 7.46(dt, J=8.5, 1.5Hz, 1H), 7.31(t, J=8.3Hz, 1H), 7.16(d, J=7.3Hz, 1H), 6.52(d, J=7.3Hz, 1H), 5.01(br s, 1H), 4.03(t, J=6.7Hz, 2H), 3.18(q, J=6.3Hz, 2H), 1.96(p, J=6.6Hz, 2H), 1.44(s, 9H).

[0381] 步骤3: 2-(3-氨基丙基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮盐酸盐

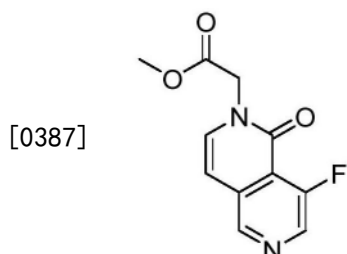


[0383] 将在室温下搅拌的3-(8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)丙基氨基甲酸叔丁基酯(73mg, 0.136mmol)的干燥二氧六环(1mL)溶液用HCl溶液(4N于二氧六环中, 50μl, 0.195mmol)处理。1.5h后, 加入另一份的HCl溶液(4N于二氧六环中, 2×50μl, 0.390mmol)并将反应混合物继续搅拌18h。然后将反应混合物真空浓缩, 得到黄色固体状产物(62mg, 97%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min): rt 0.85min, m/z 439.0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 10.83(s, 1H), 8.45(d, J=1.6Hz, 1H), 8.31(s, 1H), 7.89(br s, 3H), 7.77(dd, J=10.4, 1.9Hz, 1H), 7.72(d, J=7.7Hz, 1H), 7.58(dd, J=8.3, 2.0Hz, 1H), 7.50(t, J=8.5Hz, 1H), 6.81(dd, J=7.2, 1.3Hz, 1H), 4.07(t, J=6.9Hz, 2H), 2.84(q, J=7.2, 6.8Hz, 2H), 2.01(p, J=7.0Hz, 2H).

[0384] 实施例4: 2-(8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)乙酸

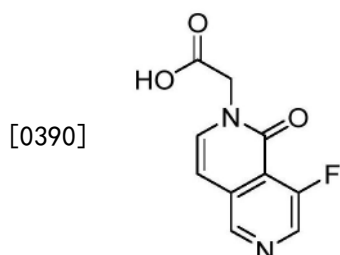


[0386] 步骤1:2-(8-氟-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)乙酸甲酯



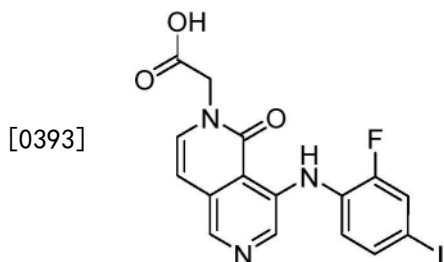
[0388] 将甘氨酸甲酯盐酸盐 (0.53g, 4.24mmol) 于 MeOH (5mL) 中的悬浮液用 Et<sub>3</sub>N (0.59mL, 4.24mmol) 处理并将所得溶液加入至 8-氟-1H-吡喃并[4,3-c]吡啶-1-酮盐酸盐 (0.50g, 2.48mmol) 的 MeOH 溶液 (17mL)。将反应混合物在 80°C 下加热 72h, 然后真空浓缩。将粗残余物用 EtOAc 处理多次并将收集的有机相用水、盐水洗涤, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并真空浓缩, 得到产物 (465mg, 80% 纯), 其不经进一步纯化直接用于下一步中。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 0.71min, m/z 237.1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δppm 8.75 (s, 1H), 8.48 (d, J=3.0Hz, 1H), 7.16 (d, J=7.4Hz, 1H), 6.59 (dd, J=7.3, 2.3Hz, 1H), 4.69 (s, 2H), 3.80 (s, 3H).

[0389] 步骤2:2-(8-氟-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)乙酸



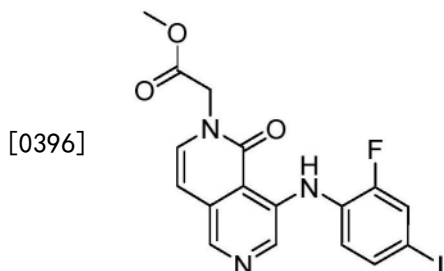
[0391] 将在 0°C 下搅拌的 2-(8-氟-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)乙酸甲酯 (465mg, 1.97mmol) 于 MeOH (12mL) 和 H<sub>2</sub>O (12mL) 中的溶液用 1M LiOH 水溶液 (3.9mL, 3.94mmol) 处理。将反应混合物搅拌 30min, 然后温热至室温。然后将反应混合物真空浓缩, 并将残余物用 EtOAc 萃取。将水相用柠檬酸水溶液 (pH 2) 酸化以达到 pH 3, 然后用 EtOAc 萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并真空浓缩, 得到灰白色固体状产物 (153mg, 50%)。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 0.17min, m/z 223.0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 13.09 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.55 (d, J=3.3Hz, 1H), 7.67 (d, J=7.3Hz, 1H), 6.80 (dd, J=7.4, 2.4Hz, 1H), 4.69 (s, 2H).

[0392] 步骤3:2-(8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)乙酸



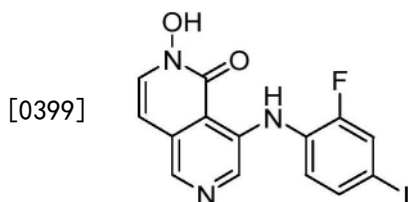
[0394] 将在 $-78^{\circ}\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 中搅拌的2-氟-4-碘苯胺(155mg, 0.655mmol)的干燥THF(2mL)溶液用LiHMDS(1M于THF中, 1.65mL, 1.65mmol)处理(滴加)。将反应混合物在 $-78^{\circ}\text{C}$ 下搅拌10min, 然后加入2-(8-氟-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)乙酸(153mg, 0.689mmol)于干燥THF(3mL)中的悬浮液。将反应混合物继续搅拌, 然后温热至室温。2.5h后, 将反应混合物再冷却至 $-78^{\circ}\text{C}$ 并用另一份的LiHMDS(1M于THF中,  $2 \times 0.8\text{mL}$ , 1.60mmol)处理(滴加)。将反应混合物继续搅拌18h, 然后温热至室温。然后 $0^{\circ}\text{C}$ 下将反应混合物用饱和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液淬灭, 并用EtOAc萃取。将水相用柠檬酸水溶液(pH 2)酸化以达到pH 3, 然后用EtOAc萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并真空浓缩, 得到粗材料, 其通过制备型HPLC纯化得到黄色固体状产物(32mg, 11%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min): rt 1.01min, m/z 440.1[M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$ ppm 13.16(s, 1H), 10.56(s, 1H), 8.39(s, 1H), 8.30(d, J=1.2Hz, 1H), 7.75(dd, J=10.4, 1.9Hz, 1H), 7.60(d, J=7.3Hz, 1H), 7.58-7.53(m, 1H), 7.49(t, J=8.5Hz, 1H), 6.73(d, J=7.3Hz, 1H), 4.70(s, 2H).

[0395] 实施例5: 2-(8-(2-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)乙酸甲酯

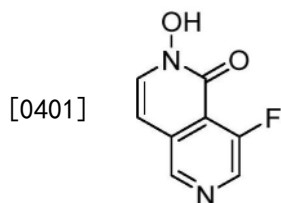


[0397] 将在 $0^{\circ}\text{C}$ 下搅拌的2-(8-(2-(2-氟-4-碘苯基氨基)-1-氧代-2,6-萘啶-2(1H)-基)乙酸(200mg, 0.46mmol)的MeOH(12mL)溶液用 $\text{SOCl}_2$ (0.12mL, 1.61mmol)处理(滴加)。将反应混合物搅拌18h, 然后温热至室温。将反应混合物真空浓缩, 得到粗材料, 其通过制备型HPLC纯化得到产物(11mg, 8%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min): rt 1.14min, m/z 454.0[M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$ ppm 10.46(s, 1H), 8.39(s, 1H), 8.30(d, J=1.3Hz, 1H), 7.75(dd, J=10.4, 1.9Hz, 1H), 7.61(d, J=7.3Hz, 1H), 7.59-7.53(m, 1H), 7.48(t, J=8.5Hz, 1H), 6.76(d, J=7.3Hz, 1H), 4.82(s, 2H), 3.71(s, 3H).

[0398] 实施例6: 8-(2-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2-羟基-2,6-萘啶-1(2H)-酮

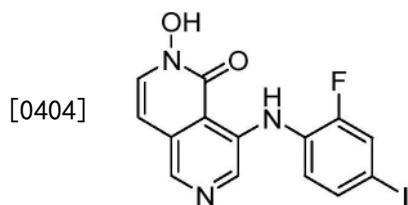


[0400] 步骤1: 8-氟-2-羟基-2,6-萘啶-1(2H)-酮



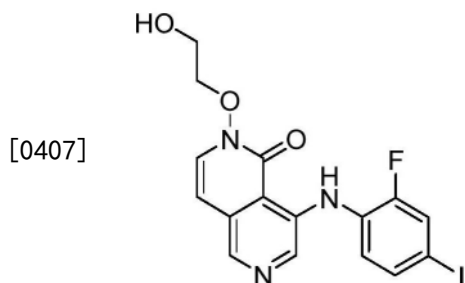
[0402] 将羟胺盐酸盐 (0.29g, 4.24mmol) 于 MeOH (5mL) 中的悬浮液用 Et<sub>3</sub>N (0.59mL, 4.24mmol) 处理并将所得溶液加入至加入了 4 Å 分子筛的 8-氟-1H-吡喃并[4,3-c]吡啶-1-酮盐酸盐 (0.50g, 2.48mmol) 的 MeOH 溶液 (17mL) 中。将反应混合物在 80°C 下加热 18h, 然后在室温下 72h。将反应混合物真空浓缩, 粗残余物用 EtOAc 处理, 并将收集的有机相真空浓缩得到产物 (0.26g, 58%), 其不经进一步纯化直接用于下一步中。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 0.17min, m/z 181.0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 10.75 (s, 1H), 8.52 (d, J=0.9Hz, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.42 (t, J=5.3Hz, 1H), 6.76 (t, J=5.2Hz, 1H).

[0403] 步骤2: 8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2-羟基-2,6-萘啶-1(2H)-酮



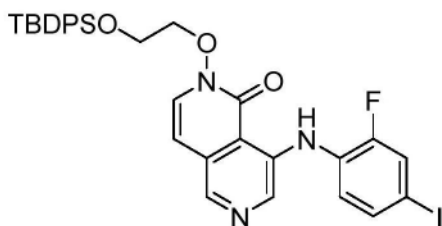
[0405] 将在 -78°C 下在 N<sub>2</sub> 中搅拌的 2-氟-4-碘苯胺 (95mg, 0.40mmol) 的干燥 THF (2mL) 溶液用 LiHMDS (1M 于 THF 中, 1.00mL, 1.00mmol) 处理 (滴加)。将反应混合物在 -78°C 下搅拌 10min, 然后加入 8-氟-2-羟基-2,6-萘啶-1(2H)-酮 (76mg, 0.42mmol) 于干燥 THF (1mL) 中的悬浮液。将反应混合物继续在 -78°C 下搅拌 15min, 然后温热至室温。30min 后, 将反应混合物再冷却至 -78°C 并用另一份的 LiHMDS (1M 于 THF 中, 2 × 1.00mL, 1.00mmol) 处理 (滴加)。将反应混合物继续搅拌, 并温热至室温, 然后将其在 0°C 下用饱和的 NH<sub>4</sub>Cl 水溶液淬灭。将水相用 EtOAc 萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并在室温下真空浓缩, 得到粗材料, 其通过制备型 HPLC 纯化得到黄色固体状产物 (9.5mg, 6%)。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 1.00min, m/z 398.0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 11.98 (br s, 1H), 10.70 (br s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.84 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.75 (dd, J=10.4, 1.9Hz, 1H), 7.59-7.46 (m, 2H), 6.72 (d, J=7.5Hz, 1H).

[0406] 实施例7: 8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2-(2-羟基乙氧基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮



[0408] 步骤1: 2-(2-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙氧基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮

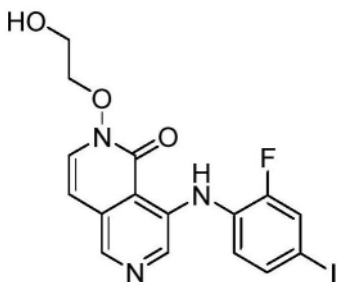
[0409]



[0410] 向于室温下搅拌15min的邻(2-(叔丁基-二苯基甲硅烷氧基)乙基)羟胺(0.70g, 2.22mmol)、Et<sub>3</sub>N(0.31mL, 2.22mmol)和HCl(4N于二氧六环中, 1.1mL, 4.44mmol)的二氧六环(5mL)溶液中加入3-(2-乙氧基乙烯基)-5-氟异烟酸甲酯(0.50g, 2.22mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌18h。将反应混合物冷却至室温,用LiHMDS(1M于THF中, 7.1mL, 7.10mmol)处理(滴加)并搅拌30min。然后将2-氟-4-碘苯胺(0.53g, 2.22mmol)加入至反应混合物,随后滴加LiHMDS(1M于THF中, 2.7mL, 2.66mmol)并将其继续在室温搅拌。45min后,加入另一份的LiHMDS(1M于THF中, 1.3mL, 1.33mmol)并将反应混合物搅拌30min。然后将反应混合物用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液淬灭,并用EtOAc萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩,得到粗材料,其通过快速柱色谱(硅胶,己烷中0-30%的EtOAc+1%Et<sub>3</sub>N)纯化,得到黄色玻璃状产物(250mg, 16%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min):rt 1.61min, m/z 680.2[M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):δppm 10.45(s, 1H), 8.42(s, 1H), 8.30(d, J=1.3Hz, 1H), 7.82(d, J=7.6Hz, 1H), 7.77(dd, J=10.4, 1.9Hz, 1H), 7.65-7.50(m, 5H), 7.50-7.33(m, 7H), 6.74(d, J=7.7Hz, 1H), 4.49-4.34(m, 2H), 3.97(t, J=4.3Hz, 2H), 0.93(s, 9H)。

[0411] 步骤2:8-(2-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2-(2-羟基乙氧基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮

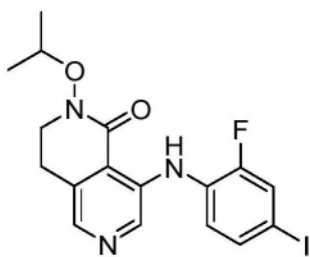
[0412]



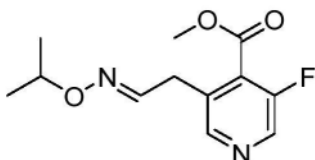
[0413] 向在下室温搅拌的2-(2-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙氧基)-8-(2-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮(250mg, 0.368mmol)的THF(5mL)溶液中加入TBAF(1M于THF中, 0.37mL, 0.368mmol)。30min后,反应完成并加入饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液。将混合物用EtOAc萃取2次,将有机相用H<sub>2</sub>O和盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。将粗材料的一半通过制备型HPLC纯化,随后SFC纯化,得到产物(30mg, 64%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min):rt 1.03min, m/z 442.0[M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):δppm 10.42(s, 1H), 8.42(s, 1H), 8.29(d, J=1.3Hz, 1H), 7.86(d, J=7.6Hz, 1H), 7.76(dd, J=10.4, 1.9Hz, 1H), 7.60-7.53(m, 1H), 7.49(t, J=8.5Hz, 1H), 6.74(d, J=7.7Hz, 1H), 4.97(t, J=5.5Hz, 1H), 4.28(dd, J=5.2, 4.1Hz, 2H), 3.68(q, J=5.1Hz, 2H)。

[0414] 实施例8:8-(2-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2-异丙氧基-3,4-羟基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮

[0415]

[0416] 步骤1:3-氟-5-(2-(异丙氧基亚氨基)乙基)异烟酸甲酯

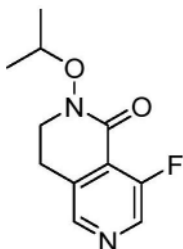
[0417]



[0418] 向置于压力管中的邻异丙基羟胺盐酸盐 (495mg, 4.44mmol)、Et<sub>3</sub>N (0.62mL, 4.44mmol) 和 HCl (4N 于二氧六环中, 1.1mL, 4.44mmol) 的二氧六环 (8mL) 溶液中加入 3-(2-乙氧基乙烯基)-5-氟异烟酸甲酯 (1.0g, 4.44mmol) 的二氧六环 (2mL) 溶液。将反应混合物密封并早 50°C 下搅拌 18h。注意: 反应混合物在此过程中以形成 NH<sub>4</sub>Cl 盐的稠密悬浮液形式存在, 应有效搅拌以获得最佳结果。然后将反应混合物真空浓缩。将粗材料干装载在硅藻土上并通过快速柱色谱 (40g 硅胶, 己烷中 0-15% 的 EtOAc, 被 1% Et<sub>3</sub>N 改性), 得到浅色油状产物 (795mg, 70%, 两种异构体的混合物)。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 1.07min, m/z 255.1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 8.66 (dd, J=4.0, 1.1Hz, 2H), 8.53 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.47 (t, J=5.4Hz, 1H), 6.84 (t, J=5.1Hz, 1H), 4.27 (p, J=6.2Hz, 1H), 4.15 (p, J=6.2Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.72 (d, J=5.1Hz, 2H), 3.68 (d, J=5.4Hz, 2H), 1.17 (d, J=6.2Hz, 6H), 1.11 (d, J=6.2Hz, 6H).

[0419] 步骤2:8-氟-2-异丙氧基-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮

[0420]



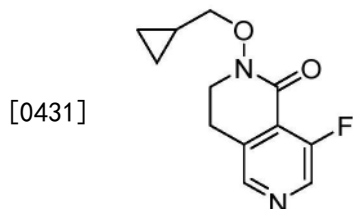
[0421] 向在室温下在 N<sub>2</sub> 流下搅拌的 3-氟-5-(2-(异丙氧基亚氨基)乙基)异烟酸甲酯 (400mg, 1.575mmol) 的 MeOH (4mL) 溶液中, 带有至含漂白液和 1M NaOH 的德雷克泽尔瓶 (Drechsel bottle) 的出口, 一次性加入 NaCNBH<sub>3</sub> (297mg, 4.724mmol), 随后滴加 1M HCl 水溶液 (1.57mL, 1.575mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 5 天。将反应用 H<sub>2</sub>O (50mL) 淬灭, 并用 EA (6x 25mL) 萃取。将有机相用盐水洗涤, 经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤并真空浓缩, 得到白色固体状产物 (275mg, 78%), 其不经进一步纯化用于下一步骤。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 0.78min, m/z 225.1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 8.56 (d, J=3.0Hz, 1H), 8.48 (s, 1H), 4.33 (p, J=6.2Hz, 1H), 3.82 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.19 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.22 (d, J=6.2Hz, 6H).

[0422] 步骤3:8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2-异丙氧基-3,4-羟基-2,6-萘啶-1(2H)-酮



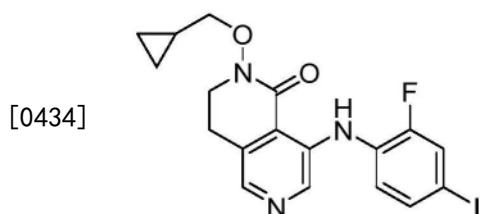
67%，两种异构体的混合物)。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 1.07min, m/z 267.1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 8.66 (dd, J=2.4, 1.0Hz, 2H), 8.54 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.52 (t, J=5.4Hz, 1H), 6.85 (t, J=5.2Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.86 (d, J=7.1Hz, 2H), 3.76 (d, J=5.2Hz, 2H), 3.72 (d, J=7.1Hz, 2H), 3.68 (d, J=5.4Hz, 2H), 1.14-0.91 (m, 2H), 0.57-0.38 (m, 4H), 0.23 (dt, J=6.1, 4.3Hz, 2H), 0.18 (dt, J=6.1, 4.3Hz, 2H).

[0430] 步骤2: 2-(环丙基甲氧基)-8-氟-3,4-羟基-2,6-萘啶-1(2H)-酮



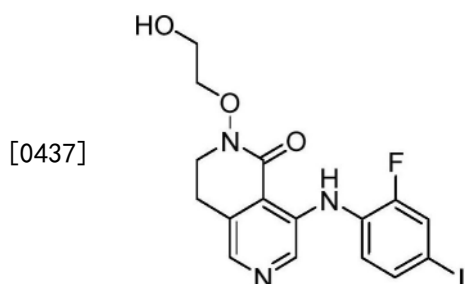
[0432] 向在室温下在N<sub>2</sub>流下搅拌的3-(2-(环丙基甲氧基亚氨基)乙基)-5-氟异烟酸甲酯(600mg, 2.253mmol)的MeOH(6mL)溶液中, 带有至含漂白液和1M NaOH的德雷克泽尔瓶(Drechsel bottle)的出口, 一次性加入NaCNBH<sub>3</sub>(425mg, 6.760mmol), 随后滴加1M HCl水溶液(2.25mL, 2.253mmol)。将反应混合物在室温下搅拌5天。将反应用H<sub>2</sub>O(50mL)淬灭, 并用EA(6x 25mL)萃取。将有机相用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩, 得到浅黄色油状产物(582mg, 96%), 其不经进一步纯化用于下一步骤。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 0.81min, m/z 237.1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 8.56 (d, J=2.9Hz, 1H), 8.47 (s, 1H), 3.90 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.82 (d, J=7.3Hz, 2H), 3.19 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.19-1.03 (m, 1H), 0.55 (dd, J=8.1, 1.9Hz, 2H), 0.30 (dd, J=4.7, 1.7Hz, 2H).

[0433] 步骤3: 2-(环丙基甲氧基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-3,4-羟基-2,6-萘啶-1(2H)-酮

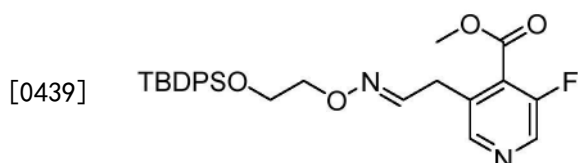


[0435] 将在-78℃下在N<sub>2</sub>中搅拌的2-氟-4-碘苯胺(201mg, 0.85mmol)的干燥THF(2mL)溶液用LiHMDS(2M于THF中, 0.85mL, 0.85mmol)处理(滴加), 将反应混合物搅拌15min。然后加入2-(环丙基甲氧基)-8-氟-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮(200mg, 0.85mmol)的干燥THF(1mL)溶液并将反应混合物进一步搅拌, 并温热至室温。18h后, 将反应混合物再冷却至-78℃并滴加LiHMDS(1M于THF中, 0.21mL, 0.21mmol)并将反应混合物进一步搅拌并温热至室温。18h后, 将反应混合物用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(20mL)淬灭, 并用EtOAc(3x15 mL)萃取。将合并的有机相用盐水(20mL)洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 并真空浓缩。粗材料通过快速柱色谱(硅胶, 己烷中0-60%的EtOAc)纯化, 得到橙黄色胶状产物(132mg, 34%)。UPLC-MS (酸性方法, 4min): rt 1.22min, m/z 454.1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 10.11 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.73 (dd, J=10.5, 1.9Hz, 1H), 7.53 (dt, J=8.3, 1.3Hz, 1H), 7.36 (t, J=8.6Hz, 1H), 3.90 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.84 (d, J=7.3Hz, 2H), 3.11 (t, J=6.7Hz, 2H), 1.20-1.09 (m, 1H), 0.64-0.50 (m, 2H), 0.41-0.23 (m, 2H).

[0436] 实施例10:8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2-(2-羟基乙氧基)-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮

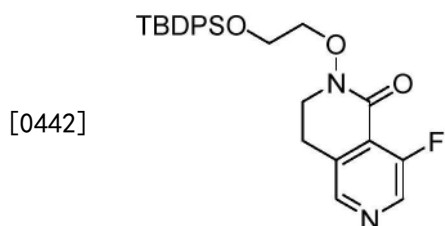


[0438] 步骤1:3-(9,9-二甲基-8,8-二苯基-4,7-二氧杂-3-氮杂-8-硅杂癸-2-烯基)-5-氟异烟酸甲酯



[0440] 将3-(2-乙氧基乙烯基)-5-氟异烟酸甲酯(1.0g, 4.44mmol)的二氧六环(10mL)溶液用HCl(4N于二氧六环中, 2.2mL, 8.88mmol)处理并在45°C下搅拌18h。然后将反应混合物冷却至室温并加入邻(2-(叔丁基-二苯基甲硅烷氧基)乙基)羟胺(1.75g, 5.55mmol)和Et<sub>3</sub>N(0.62mL, 4.44mmol)的二氧六环(2mL)溶液。将反应混合物在室温下搅拌3天。然后真空浓缩。将粗材料干装载在硅藻土上并通过快速柱色谱(80g硅胶, DCM中0-10%的MeOH), 得到浅黄色油状产物(760mg, 35%, 两种异构体的混合物)。UPLC-MS(酸性方法, 4min): rt 2.65, 2.67min(两种异构体1:1), m/z 495.2[M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 8.66(dd, J=2.4, 1.0Hz, 2H), 8.50(d, J=0.9Hz, 1H), 8.46(d, J=0.8Hz, 1H), 7.68-7.57(m, 8H), 7.54(t, J=5.5Hz, 1H), 7.49-7.33(m, 12H), 6.90(t, J=5.2Hz, 1H), 4.21-4.14(m, 2H), 4.06-4.00(m, 2H), 3.85(s, 3H), 3.88-3.84(m, 2H), 3.83(s, 3H), 3.81-3.77(m, 2H), 3.76(d, J=5.1Hz, 2H), 3.66(d, J=5.5Hz, 2H), 0.99(s, 9H), 0.96(s, 9H)。

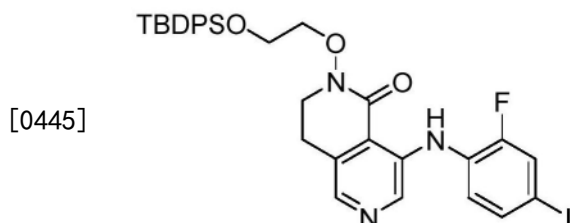
[0441] 步骤2:2-(2-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙氧基)-8-氟-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮



[0443] 向在室温下在N<sub>2</sub>流下搅拌的3-(9,9-二甲基-8,8-二苯基-4,7-二氧杂-3-氮杂-8-硅杂癸-2-烯基)-5-氟异烟酸甲酯(2.82g, 5.71mmol)的MeOH(28mL)溶液中, 带有至含漂白液和1M NaOH的德雷克泽尔瓶(Drechsel bottle)的出口, 一次性加入NaCNBH<sub>3</sub>(1.07g, 17.1mmol), 随后滴加1M HCl水溶液(2.86mL, 2.86mmol)。7h后, 加入另一份的1M HCl水溶液(1.43mL, 1.43mmol)并将反应混合物再搅拌3天。将反应用1M NaOH水溶液淬灭并用EtOAc萃取两次。将有机相用H<sub>2</sub>O(7mL)、盐水(7mL)洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩。粗材料通过快速柱色谱(硅胶, 庚烷中20-50%的EtOAc)纯化, 得到浅黄色固体状产物(1.90g, 72%)。

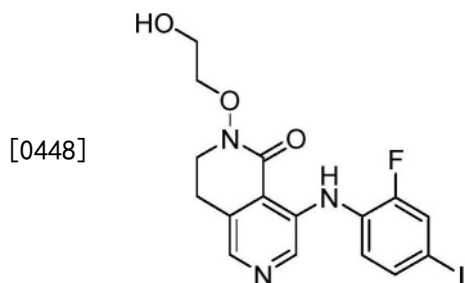
UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 1.37min, m/z 465.0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 8.56 (d, J=2.9Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 7.71-7.60 (m, 4H), 7.51-7.33 (m, 6H), 4.15 (dd, J=5.5, 4.0Hz, 2H), 3.93-3.83 (m, 4H), 3.16 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.00 (s, 9H).

[0444] 步骤3: 2-(2-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙氧基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮



[0446] 向室温下搅拌的2-氟-4-碘苯胺 (512mg, 2.16mmol) 的THF (2.5mL) 溶液中加入LiHMDS (1M于THF中, 2.6mL, 2.59mmol)。将混合物搅拌15min, 然后滴加至在室温下搅拌的2-(2-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙氧基)-8-氟-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮 (536mg, 1.08mmol) 的THF (2.5mL) 溶液中。将反应混合物在室温下搅拌18h。然后将反应用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液淬灭, 并用EtOAc萃取两次。将有机相用盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩。粗材料通过快速柱色谱 (硅胶, 庚烷中10-40%的EtOAc) 纯化, 得到产物 (316mg, 43%)。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 1.58min, m/z 682.0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 10.10 (s, 1H), 8.35 (d, J=1.4Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.73 (dd, J=10.4, 2.0Hz, 1H), 7.68-7.62 (m, 4H), 7.53 (ddd, J=8.4, 2.0, 0.9Hz, 1H), 7.49-7.39 (m, 6H), 7.35 (t, J=8.6Hz, 1H), 4.21-4.13 (m, 2H), 3.95-3.85 (m, 4H), 3.09 (t, J=6.7Hz, 2H), 1.00 (s, 9H).

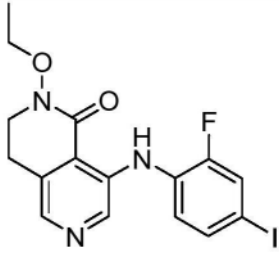
[0447] 步骤4: 8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-2-(2-羟基乙氧基)-2,6-萘啶-1(2H)-酮



[0449] 向在下室温搅拌的2-(2-(叔丁基二苯基甲硅烷氧基)乙氧基)-8-(2-氟-4-碘苯基氨基)-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮 (360mg, 0.530mmol) 的THF (4mL) 溶液中加入TBAF (1M于THF中, 0.53mL, 0.530mmol)。10min后, 反应完成并加入饱和的NaHCO<sub>3</sub>水溶液。将混合物用EtOAc萃取2次, 将有机相用H<sub>2</sub>O和盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩。将一半的粗材料 (200mg) 通过制备型HPLC纯化, 得到黄色固体状产物 (75.8mg, 64%)。UPLC-MS (酸性方法, 2min): rt 0.99min, m/z 444.0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δppm 10.07 (s, 1H), 8.34 (d, J=1.4Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.73 (dd, J=10.5, 2.0Hz, 1H), 7.54 (dt, J=8.4, 1.4Hz, 1H), 7.36 (t, J=8.6Hz, 1H), 4.80 (t, J=5.5Hz, 1H), 4.05 (dd, J=5.8, 3.9Hz, 2H), 3.90 (t, J=6.7Hz, 2H), 3.63 (q, J=5.1Hz, 2H), 3.12 (t, J=6.7Hz, 2H).

[0450] 实施例11: 2-乙氧基-8-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮

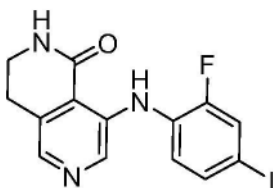
[0451] 化合物1.011可如实施例8中描述地制备, 将步骤1中的邻异丙基羟胺盐酸盐用市售可得或使用本领域普通技术人员已知的条件制备的适合的邻乙基羟胺替换。

化合物编号	结构
1.011	

[0452]

[0453] 实施例12:8-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮

[0454]



[0455] 将在室温下在 $N_2$ 中搅拌的2-乙氧基-8-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮(40mg, 93.6 $\mu$ mol)的干燥THF(1.1mL)溶液用 $SmI_2$ (0.1M于THF中, 3.74mL, 0.374mmol)处理(滴加)并将反应混合物搅拌5min。然后,将反应混合物用饱和 $Na_2S_2O_4$ 水溶液(10mL)淬灭,并用EtOAc(3x10 mL)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,并真空浓缩。粗材料(31.4mg)通过制备型HPLC纯化,得到黄色固体状产物(8.1mg, 23%)。

[0456] 或者,将在室温下在 $N_2$ 中搅拌的2-(环丙基甲氧基)-8-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-3,4-二氢-2,6-萘啶-1(2H)-酮(40mg, 88.2 $\mu$ mol)的干燥THF(1.1mL)溶液用 $SmI_2$ (0.1M于THF中, 3.74mL, 0.374mmol)处理(滴加)并将反应混合物搅拌5min。然后,将反应混合物用饱和 $Na_2S_2O_4$ 水溶液(10mL)淬灭,并用EtOAc(3x10 mL)萃取。将合并的有机相用盐水洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,并真空浓缩。粗材料(31.6mg)通过制备型HPLC纯化,得到黄色固体状产物(14.6mg, 43%)。

[0457] UPLC-MS(酸性方法, 2min):rt 1.00min, m/z 383.9[M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm 10.30(s, 1H), 8.50(br s, 1H), 8.40(s, 1H), 8.00(s, 1H), 7.71(dd, J=10.5, 2.0Hz, 1H), 7.51(dd, J=8.4, 1.7Hz, 1H), 7.37(t, J=8.6Hz, 1H), 3.41(td, J=6.6, 2.8Hz, 2H), 2.87(t, J=6.6Hz, 2H)。

[0458] 下述化合物可如实施例10中描述地制备,将步骤-3中的2-氟-4-碘苯胺用市售可得或使用本领域普通技术人员已知的条件制备的适合的苯胺替换。

[0459]

化合物编号	结构	化合物编号	结构

[0460]

化合物编号	结构	化合物编号	结构
1.019		1.020	

[0461] 下述化合物可如下制备:1) 如实施例10的步骤1所描述,将邻(2-(叔丁基-二苯基甲硅烷氧基)乙基)羟胺用市售可得或使用本领域普通技术人员已知的条件制备的适合的羟胺替换。2) 酯水解如实施例4的步骤2所描述;以及3) 与2-氟-4-碘苯胺的偶联反应如---实施例4的步骤3所描述。

[0462]

化合物编号	结构	化合物编号	结构
1.013		1.016	

[0463] 以下化合物可如实施例5中所述通过酯化来制备。

[0464]

化合物编号	结构	化合物编号	结构
1.014		1.017	

[0465] 下述化合物可从相应的酸(例如,化合物编号1.013和1.016与羟胺通过使用本领域普通技术人员已知的条件进行酰胺化来制备。

化合物编号	结构	化合物编号	结构
[0466] 1.015		1.018	

[0467] 下述化合物可如下制备:1) 如实施例10的步骤1所述,将邻(2-(叔丁基-二苯基甲基硅烷氧基)乙基)羟胺用市售可得或使用本领域普通技术人员已知的条件制备的适合的(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲胺替换。

化合物编号	结构	化合物编号	结构
[0468] 1.022		1.023	

[0469] 实施例13:MEK抑制分析-1

[0470] 以下方法可用于测定生化活性。用以下方法测试化合物的MEK1抑制活性。参见Anastassiadis T等的激酶催化活性的综合分析揭示了激酶抑制剂选择性特征(Comprehensive assay of kinase catalytic activity reveals features of kinase inhibitor selectivity)自然生物技术(Nat Biotechnol.),2011,29(11),1039-45。

[0471] 试剂:

[0472] 反应缓冲液:20mM HEPES(pH7.5)、10mM MgCl<sub>2</sub>、1mM EGTA、0.02%Brij35、0.02mg/ml BSA、0.1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>、2mM DTT、1%DMSO

[0473] 酶:MEK1,英杰(Invitrogen)Cat#PV3303

[0474] N-末端His标记的重组人全长蛋白,其在昆虫细胞中表达。在体外由RAF1激活。MW=49.2kDa,GenBank登录号NP\_002746。

[0475] 底物:5μM ERK2(K52R),

[0476] 激酶致死突变体(GenBank登录号NM\_0011949),带有N端His6标签的aa2-358,MW=43.63kDa,在大肠杆菌中表达。

[0477] 在新制反应缓冲液中制备底物。将激酶递送入底物溶液中并轻轻混合。通过声学

技术 (Echo550; 纳升范围) 将测试化合物在 100% DMSO 中递送到激酶反应混合物中, 并在室温下孵育 20 分钟。将  $^{33}\text{P}$ -ATP 递送至反应混合物中以引发反应。将反应混合物在室温下孵育 2 小时。用 P81 滤膜结合法检测激酶活性。

[0478] 实施例 14: MEK 抑制分析-2

[0479] 使用以下步骤测试化合物的 MEK1 抑制活性 (方案可在 [thermofisher.com/content/dam/LifeTech/migration/files/drug-discovery/pdfs.par.60256.file.dat/20130430%20ssbk%20customer%20protocol%20and%20assay%20conditions.pdf](http://thermofisher.com/content/dam/LifeTech/migration/files/drug-discovery/pdfs.par.60256.file.dat/20130430%20ssbk%20customer%20protocol%20and%20assay%20conditions.pdf) 获得)。Z'-LYTE 生化分析 (赛默飞世尔 (ThermoFisher)) 采用了基于荧光的偶联酶形式, 并且其基于磷酸化和非磷酸化肽对蛋白水解裂解的不同敏感性。

[0480] 在 100% DMSO 中的测试化合物在孔中以 1% DMSO (最终) 进行筛选。对于 10 点滴定, 从 30  $\mu\text{M}$  的起始浓度开始进行 3 倍连续稀释。

[0481] 将肽/激酶, MAP2K1 (MEK1) / 无活性 MAPK1 (ERK2) / Ser/Thr03, 混合物 (“肽/激酶混合物”) 在下述缓冲液 (“激酶缓冲液”) 中稀释至 2X 工作浓度: 50mM HEPES pH7.5、0.01% BRIJ-35、10mM  $\text{MgCl}_2$ 、1mM EGTA。最终 10  $\mu\text{L}$  激酶反应包括在 50mM HEPES pH7.5、0.01% BRIJ-35、10mM  $\text{MgCl}_2$ 、1mM EGTA 中的 0.06-0.25ng MAP2K1 (MEK1)、105ng 无活性 MAPK1 (ERK2) 和 2  $\mu\text{M}$  Ser/Thr 03。孵育 1 小时后, 加入 5  $\mu\text{L}$  1:1024 稀释的显影试剂 A (可购自英杰, 目录号 PV3295)。

[0482] 将 ATP 溶液在激酶缓冲液 (50mM HEPES pH7.5、0.01% BRIJ-35、10mM  $\text{MgCl}_2$ 、1mM EGTA) 中稀释至 4X 工作浓度。ATP  $K_m$  表观值在之前用 Z'-LYTE 分析法确定。将显影试剂在显影缓冲液 (可从英杰获得, 目录号 P3127) 中稀释。

[0483] 分析方案: 将 2.5  $\mu\text{L}$  的 4X 测试化合物或 100nL 的 100X 测试化合物加上 2.4  $\mu\text{L}$  的激酶缓冲液、5  $\mu\text{L}$  的 2X 肽/激酶混合物、2.5  $\mu\text{L}$  的 4X ATP 溶液加入到板中, 并放置在摇板上 30 秒。在加入 5  $\mu\text{L}$  显影试剂溶液之前, 激酶反应在室温下进行 60 分钟, 并将混合物在摇板上摇动 30 秒。将反应混合物在室温下孵育 60 分钟。用读板仪测定荧光, 并分析数据。

[0484] 最大发射比由 0% 磷酸化对照 (100% 抑制对照) 建立, 其不含 ATP 因此没有表现出激酶活性。该对照在显影反应中产生 100% 的裂解肽。设计由与肽底物序列相同的合成磷酸化肽组成的 100% 磷酸化对照以计算磷酸化百分比。该对照在显影反应中产生百分比非常低的裂解肽。0% 磷酸化和 100% 磷酸化对照允许计算在特定反应孔中获得的磷酸化百分比。对照孔不包括任何激酶抑制剂。

[0485] 以含活性激酶的 0% 抑制对照建立筛选中的最小发射比。该对照被设计为在激酶反应中产生 10-50% 的磷酸化肽。级联分析可产生高达 70% 磷酸化肽。

[0486] 在与激酶相同的板上为每个单独的激酶运行已知的抑制剂对照标准曲线 (10 点滴定), 以确保激酶在之前确定的预期的  $\text{IC}_{50}$  内范围被抑制。

[0487] 为分析的每种测试化合物的浓度制备下述对照。通过比较不含 ATP 的测试化合物对照孔与 0% 磷酸化对照 (其不含测试化合物) 建立显影反应干扰。无干扰化合物的预期值应为 100%。标记 90% 到 110% 以外的任何值。通过比较不含激酶/肽混合物的测试化合物对照孔 (零肽对照) 与 0% 抑制对照来确定测试化合物荧光干扰。无荧光化合物的预期值应为 0%。标记 > 20% 的任何值。

[0488] 计算表 A 中的数据。使用 IDBS 的 XL 拟合 (XLfit)。将剂量反应曲线拟合至 205 号模型

(S形的剂量反应模型)。如果曲线的底部在-20%和20%之间的抑制不拟合,则将其设置为0%抑制。如果曲线的顶部在70%和130%之间的抑制不拟合,则将其设置为100%抑制。

[0489] 表A.

	方程式
用于背景荧光的校正	$FI_{\text{样品}} - FI_{\text{TCFI对照}}$
发射率 (使用为背景荧光经校正的值)	$\frac{\text{香豆素发射}(445\text{nm})}{\text{荧光素发射}(445\text{nm})}$
%磷酸化 (%Phos)	$\left\{ 1 - \frac{( \text{发射率} \times F_{100\%}) - C_{100\%}}{(C_{0\%} - C_{100\%}) + [ \text{发射率} \times (F_{100\%} - F_{0\%})]} \right\} \times 100$
[0490] %抑制	$\left\{ 1 - \frac{\% \text{ Phos}_{\text{样品}}}{\% \text{ Phos}_{0\% \text{抑制对照}}} \right\} \times 100$
Z' (使用发射率值)	$1 - \frac{3 * \text{Stdev}_{0\% \text{Phos对照}} + 3 * \text{Stdev}_{0\% \text{抑制}}}{\text{平均值}_{0\% \text{Phos对照}} - \text{平均值}_{0\% \text{抑制}}}$
数据点之间差别 (仅单独点)	$ \% \text{抑制}_{\text{点}1} - \% \text{抑制}_{\text{点}2} $
显影反应干扰 (DRI) (无ATP对照)	$\frac{\text{发射率}_{\text{DRI对照}}}{\text{发射率}_{0\% \text{Phos对照}}}$
测试化合物荧光干扰 (TCFI) (检查香豆素和荧光素发射)	$\frac{FI_{\text{TCFI对照}}}{FI_{0\% \text{抑制剂对照}}}$

[0491] FI = 荧光强度

[0492]  $C_{100\%}$  = 100% Phos对照的平均香豆素发射信号

[0493]  $C_{0\%}$  = 0% Phos对照的平均香豆素发射信号

[0494]  $F_{100\%}$  = 100% Phos对照的平均荧光素发射信号

[0495]  $F_{0\%}$  = 0% Phos对照的平均荧光素发射信号

[0496] DRI = 显影反应干扰

[0497] TCFI = 测试化合物荧光干扰

[0498] 表3列出了所选化合物根据上述步骤的MEK1抑制分析结果。A表示 $IC_{50}$ 小于或等于150nM, B表示 $IC_{50}$ 大于150nM且小于或等于1.5 $\mu\text{M}$ , 以及C表示 $IC_{50}$ 大于1.5 $\mu\text{M}$ 。

[0499] 表3: MEK1抑制分析结果

化合物编号	对 MEK1 的 $IC_{50}$
<b>1.001</b>	A
<b>1.002</b>	A
[0500] <b>1.003</b>	B
<b>1.004</b>	C
<b>1.005</b>	C
<b>1.006</b>	B

化合物编号	对 MEK1 的 IC <sub>50</sub>
<b>1.007</b>	B
<b>1.008</b>	ND
[0501] <b>1.009</b>	ND
<b>1.010</b>	B
<b>1.011</b>	B
<b>1.012</b>	B

[0502] ND-未测试

[0503] 实施例15:基于细胞的分析-1

[0504] 用于在NF1相关细胞增殖分析中测试软MEK抑制剂的细胞系的制备可在Basu等,自然(Nature)356:713-715,1992;和DeClue等人,细胞(Cell)69:265-273,1992中找到。此外,确定本文所述的软MEK抑制剂的效力的示例性的体外和体内模型可在美国专利序列号8,211,875和8,487,004中找到,其全部内容通过引用并入。

[0505] 实施例16:基于细胞的分析-2

[0506] 或者,使用以下方法测定基于细胞的活性。将测试化合物溶解在DMSO中,作为10nM的母液。细胞滴度-GLO®(Cell Titer-GLO®)2.0发光细胞活力分析试剂购自普洛麦格(Promega)(麦迪逊,威斯康星州)。A375和HCT116细胞系购自美国菌种保藏中心(马纳萨斯,弗吉尼亚州)。对于A375细胞,细胞培养基为DMEM+10%FBS。细胞培养基列于下表。对于HCT116细胞,细胞培养基为McCoy's5A+10%FBS。所有培养基均添加100μg/mL青霉素和100μg/mL链霉素。保持在37°C,5%CO<sub>2</sub>和95%空气的加湿气氛中进行培养。

[0507] 测试化合物在DMSO溶液中稀释,从10mM开始在源板中进行10剂量和3倍稀释。通过Echo550将25nL的每种测试化合物从源板递送至384孔细胞培养板(T=最终)的每孔。将25μL含2000个A375或HCT116细胞的培养基一式两份地加入至细胞培养板(T=0和T=最终)的每个孔中。将25μL细胞滴度Glo2.0试剂加入到细胞培养板(T=0)的每个孔中。在定轨摇床上混合内容物2分钟,并在室温下孵育15分钟以稳定发光信号。用Envision 2104多标记读板器(珀金埃尔默,圣克拉拉,加利福尼亚州)记录发光。基于定量每个培养孔中存在的ATP确定培养基中活细胞的数量。将细胞培养板(T=最终)中的细胞与化合物在37°C,5%CO<sub>2</sub>一起孵育72小时。将25μL细胞滴度Glo2.0试剂加入到每个孔中。在定轨摇床上混合内容物2分钟,并在室温下孵育15分钟以稳定发光信号。用Envision 2104多标记读板器(珀金埃尔默,圣克拉拉,加利福尼亚州)记录发光。基于定量每个培养孔中存在的ATP确定培养基中活细胞的数量。用GraphPad Prism4程序基于S形剂量-反应方程 $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{-(\text{LogEC}_{50} - X) * \text{HillSlope}})$ 绘制GI<sub>50</sub>曲线。用GraphPad Prism 4程序计算了方程中的所有参数。GI<sub>50</sub>是根据 $[(T_i - T_z) / (C - T_z)] * 100 = 50$ 计算的化合物浓度,其中,T<sub>i</sub>是T=最终时含测试化合物的细胞行数据;T<sub>z</sub>为T=0h时不含化合物的细胞行数据;C是T=72h时含对照化合物星形孢菌素(西格玛奥德里奇)的细胞行数据。因此,GI<sub>50</sub>是10<sup>X</sup>的值,其中X是用Excel在Y=50时通过曲线拟合方程计算得出的。

[0508] 实施例17:S9稳定性分析

[0509] 可以通过评估化合物在人S9皮肤碎片中的消失率来评估化合物在人皮肤中的代谢稳定性。类似地,可以通过评估化合物在人S9肝脏部分中的消失率来评估化合物在人肝脏中的代谢稳定性。以下方案用于评估皮肤和肝脏代谢之间的差异。

[0510] 该分析在96孔微滴板上37℃下进行。反应混合物(25μL)含有在缓冲液(100mM磷酸钾,pH7.4缓冲液,含1mM EDTA和3mM MgCl<sub>2</sub>)中的最终浓度为1μm的测试化合物、2mg/mL的肝脏或皮肤蛋白和1mM NADPH。在每个时间点(0、15、30和60分钟),将150μL含内标物的淬灭溶液(100%乙腈,含0.1%甲酸)转移到每个孔中。除零分钟对照外,还制备含有除NADPH外的相同组分的混合物作为阴性对照。包括维拉帕米或睾酮作为阳性对照,以验证分析性能。将平板密封并在4℃下以4000rpm离心15分钟。将上清液转移到新板上进行LC/MS/MS分析。

[0511] 使用AB Sciex API 4000仪器,耦合至岛津LC-20AD LC泵系统对所有样品进行LC/MS/MS分析。用沃特世(Waters)Atlantis T3 dC18反相高效液相色谱柱(20mm x2.1mm)以0.5mL/min的流速分离分析样品。流动相包括0.1%甲酸的水溶液(溶剂A)和0.1%甲酸的100%乙腈溶液(溶剂B)。

[0512] 代谢的程度按照与0分钟对照反应孵育相比的测试化合物的消失计算。计算化合物浓度的初始速率并用于确定 $t_{1/2}$ 值,然后确定内在清除率, $CL_{int} = (0.693) (1/t_{1/2} (\text{min}))$  (mL孵育/mg的S9蛋白)。

[0513] 表4列出了上述肝S9稳定性分析的 $t_{1/2}$ 值。“A”表示半衰期大于50分钟且小于或等于200分钟,以及“B”表示半衰期小于或等于50分钟。

[0514] 表4:人肝S9部分稳定性结果

化合物编号	肝脏S9部分稳定性, $t_{1/2}$ (min)
1.007	A
1.010	A
1.012	B

[0516] 实施例18:微粒体稳定性分析

[0517] 可以用人肝微粒体来评估测试化合物的代谢稳定性,以预测内在清除率。人肝微粒体从康宁(Corning)Gentest获得。

[0518] 该分析在96孔微滴板上37℃下进行。反应混合物(25μL)含有在缓冲液(100mM磷酸钾,pH7.4缓冲液,含3mM MgCl<sub>2</sub>)中的最终浓度为1μm的测试化合物、0.5mg/mL的肝脏微粒体蛋白和1mM NADPH。在每个时间点(0、15、30和60分钟),将150μL含内标物的淬灭溶液(100%乙腈,含0.1%甲酸)转移到每个孔中。包括维拉帕米作为阳性对照,以验证分析性能。将平板密封并在4℃下以4000rpm离心15分钟。将上清液转移到新板上进行LC/MS/MS分析。

[0519] 使用AB Sciex API 4000仪器,耦合至岛津LC-20AD LC泵系统对所有样品进行LC/MS/MS分析。用沃特世(Waters)Atlantis T3 dC18反相HPLC柱(20mm x 2.1mm)以0.5mL/min的流速分离分析样品。流动相由0.1%甲酸的水溶液(溶剂A)和0.1%甲酸的100%乙腈溶液(溶剂B)组成。

[0520] 代谢的程度作为与0分钟时刻孵育相比的测试化合物的消失计算。初始速率用于计算化合物浓度,并用于确定 $t_{1/2}$ 值,然后确定内在清除率, $CL_{int} = (0.693) (1/t_{1/2} (\text{min}))$  (g肝/kg体重) (mL孵育/mg微粒体蛋白) (45mg微粒体蛋白/g肝重量)。

[0521] 实施例19:体内模型

[0522] 研究步骤:将本文所述化合物的局部制剂与载体的局部制剂一式两份地施用于裸鼠皮肤。以离散的时间间隔对皮肤进行活检,并将其一分为二,一半在液氮中冷冻,一半福尔马林固定并石蜡包埋。分离蛋白质用于蛋白质印迹分析以分析p-ERK水平。在FFPE切片上

进行p-ERK免疫染色,用于p-ERK水平的细胞特异性分析。其他分析包括H&E染色以调查皮肤完整性。

[0523] 在抑制p-ERK方面评估了化合物(小鼠皮肤中RAS/MAPK信号的下游生物标志物)。此外,还评估了小鼠皮肤的增殖、小鼠皮肤中凋亡和小鼠皮肤的组织学完整性。

[0524] 小鼠:在研究开始前,将从杰克逊(Jackson)实验室获得的8周龄129只小鼠剃毛。约21只小鼠被用于研究。将化合物施用于小鼠的无毛背侧皮肤,并以12小时为间隔,在治疗前、24小时、72小时和96小时用6mm穿孔活检获得皮肤活检。

[0525] 蛋白质印迹分析:对于免疫印迹,活检后立即将表皮皮肤在液氮中急冻。表皮在裂解缓冲液中裂解并在蛋白质印迹上运行。用于免疫印迹的抗体包括兔抗磷酸化-p44/42MAPK(1:3000,赛信通(Cell Signaling))和兔抗p44/42MAPK(1:3000,赛信通)、鼠抗肌动蛋白(1:5000,西格玛奥德里奇)、与辣根过氧化物酶结合的驴抗鼠IgG(HRP;1:40000,阿默沙姆生物科学公司(Amersham Biosciences))和结合HRP的山羊抗兔IgG(1:40000,杰克逊免疫研究(Jackson ImmunoResearch))。

[0526] 免疫组织化学在5 $\mu$ m石蜡切片上进行免疫组织化学。使用标准方案用通过酶处理(1:10 00)完成抗原修复。所用抗体为兔p-ERK(赛信通,4307S,1:100)。根据制造商的方案使用了键聚合物优化抗兔HRP检测(徕卡病理系统(Leica Biosystems))。然后切片用苏木精复染色,脱水,用TissueTek-Prisma和盖片机(樱花(Sakura))封片。

[0527] 组织学分析:在5 $\mu$ m石蜡切片上进行H&E,并检查组织以评估细胞毒性、炎症或小鼠皮肤完整性的其他变化。

[0528] 小鼠皮肤中外源性RAS激活:实验将在未经处理的小鼠皮肤上进行。另外,用TPA预处理皮肤以提高p-ERK水平。使用100 $\mu$ L丙酮中的12.5 $\mu$ g的TPA至裸鼠皮肤96小时以进行TPA诱导的RAS/MAPK激活。研究在TPA暴露后48小时进行。

[0529] 用T检验评估经局部MEK1抑制剂处理的样品中p-ERK和Ki-67与溶媒对照相比的差异。

[0530] 实施例20:小鼠体内模型

[0531] 在NF1小鼠模型(例如,NF1的基因修饰小鼠模型、人真皮神经纤维瘤异种移植到裸鼠的模型,或两者)中测试本文所述化合物。例如,使用Nf1<sub>flox/flox</sub>的方法;Jousma等人小儿科血液癌(Pediatr. Blood Cancer) 62:1709-1716描述的Dhh-Cre小鼠模型被用于该研究中。磁共振成像(MRI)和体积测量用于测量肿瘤体积。

[0532] 实施例21:人真皮神经纤维瘤外植体方案

[0533] 真皮神经纤维瘤(或皮肤神经纤维瘤)是在受1型神经纤维瘤病(NF1)影响的个体中发展的良性肿瘤,1型神经纤维瘤病(NF1)是由NF1基因突变导致RAS/MAPK通路的下游激活引起的罕见遗传疾病。最近的研究表明,在小鼠模型中,使用全身性MEK抑制剂抑制MEK1可以抑制神经纤维瘤和其他与NF-1相关的肿瘤。参见,例如,新英格兰医学杂志(New Engl J Med) 2016,375;26;临床研究杂志(J Clin Invest.) 2013,123(1),340-347;以及小儿科血液癌(Pediatr Blood Cancer) 2015,62(10),1709-1716。这项研究建立了体外神经纤维瘤外植体模型

[0534] 研究目的:主要目的是评估局部用配制的本文所述的化合物在抑制p-ERK(神经纤维瘤外植体中RAS/MAPK信号传导的下游生物标记物)方面的效力。次要目的是评估用本文

所述化合物治疗的神经纤维瘤外植体的渗透性(局部施用该化合物)。

[0535] 方案-1:

[0536] 样品收集和合格性:原发性真皮神经纤维瘤或皮肤神经纤维瘤获自临床或遗传学诊断为NF1的患者。使用批准的人类受试者规程(斯坦福IRB#18325)从斯坦福外科诊所获得丢弃的人类神经纤维瘤样品。在主要研究者的指导下鉴定标本,并将其置于细胞增殖培养基(含青霉素/链霉素(0.1%)的DMEM/F12;两性霉素B(40 $\mu$ g/mL);B27(不含维生素A)中。

[0537] 将具有以下数据的患者招收入该研究中:患者年龄大于18岁;患者活检时未进行化疗;并且患者基于存在以下中的两种而对NF1进行了临床和/或基因诊断

[0538] 1. 青春期前个体中有直径超过5mm且青春期后个体中最大直径超过15mm的六个或更多个咖啡牛奶斑。

[0539] 2. 任何类型的两个或多个神经纤维瘤或一个丛状神经纤维瘤。

[0540] 3. 在腋窝或腹股沟区的雀斑。

[0541] 4. 两个或多个利舍(Lisch)结节(虹膜错构瘤)。

[0542] 5. 视神经胶质瘤。

[0543] 6. 独特的骨性病変,如蝶骨发育不良或长骨皮质变薄,伴或不伴假关节。

[0544] 7. 按照上述标准的NF-1的一级亲属(父母、兄弟姐妹或后代)

[0545] 研究步骤:样本是原发性、未经治疗的神经纤维瘤,大小至少为6mm;通过剃刮、打孔活检或椭圆形切除术切离样品;样本进行真皮神经纤维瘤或皮肤神经纤维瘤的组织学诊断。在主要研究者的指导下鉴定标本。

[0546] 将样本切成2mm的碎片,并置于含有细胞增殖培养基(含有青霉素/链霉素(0.1%)的DMEM/F12;两性霉素B(40 $\mu$ g/mL);B27(不含维生素A))的24孔板中,并浸入含有药物的培养基中。对于局部凝胶应用,将样品置于96孔板中,表皮表面暴露于空气。

[0547] 蛋白质印迹分析:对于免疫印迹,将全皮肤活检在裂解缓冲液中裂解,并进行蛋白质印迹分析。用于免疫印迹的抗体包括兔抗磷酸-p44/42MAPK(1:3000,赛信通(Ce11 Signaling))和兔抗p44/42MAPK(1:3000,赛信通)、兔抗磷酸-Mek1/2(1:3000,赛信通)、鼠抗肌动蛋白(1:5000,西格玛奥德里奇)、与辣根过氧化物酶结合的驴抗鼠IgG(HRP;1:40000,阿默沙姆生物科学公司)和结合HRP的山羊抗兔IgG(1:40000,杰克逊免疫研究(Jackson Immunresearch))。

[0548] 免疫组织化学在5 $\mu$ m石蜡切片上进行免疫组织化学。使用标准方案用通过酶处理(1:10 00)完成抗原修复。所用抗体为兔p-ERK(赛信通,4307S,1:100)。根据制造商的方案使用了键聚合物优化抗兔HRP检测剂(徕卡病理系统(Leica Biosystems))。然后切片用苏木精复染色,脱水,用TissueTek-Prisma和盖片机(樱花(Sakura))封片。

[0549] 数据分析:半定量蛋白质印迹用于评估本文所述化合物处理的样品中p-ERK与溶媒对照相比的差异。

[0550] 研究管理:这项研究是在IRB的监督下进行的,并获得了患者的知情同意和HIPAA授权。

[0551] 方案-2:

[0552] 外植体方案:将人皮肤神经纤维瘤外植体样品收集在DMEM/F-12(赛默飞世尔,CAT#11320033)中,添加1 $\times$ B27补充剂(赛默飞世尔,CAT#17504044)、2.5 $\mu$ g/ml两性霉素B

(赛默飞世尔, CAT#15290018) 和50单位/ml青霉素-50 $\mu$ g/ml链霉素(赛默飞世尔, CAT#15070063)并在相同的培养基中孵育以供后续处理。将标本切成含有表皮和真皮的小立方体。组织部分浸没于384孔板的培养基中,表皮暴露于空气中。

[0553] 将组织完全浸没在48孔板的培养基中,将5 $\mu$ l溶解于DMSO的化合物加入至每个孔的200 $\mu$ L培养基中。37 $^{\circ}$ C和5%CO<sub>2</sub>下孵育4h后,收获组织,将一半标本在液氮中急冻进行蛋白质印迹分析。另一半标本在10%福尔马林中固定24h,然后转移到70%乙醇中进行蛋白质印迹分析。

[0554] 在冰上解冻皮肤样品并称重。然后向每个样品中加入10体积(每mg组织10 $\mu$ L)的裂解缓冲液(RIPA缓冲液+0.5mM EDTA+1 $\times$ 终止蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物)。将样品切成小块,在冰上用声波(asonicating)探针均质化。均质化的样品在4 $^{\circ}$ C下以12000rpm离心10分钟。将上清液转移至新试管中,-80 $^{\circ}$ C保存,直至进行蛋白质印迹分析。

[0555] 蛋白质印迹分析:将裂解产物在冰上解冻,用牛血清白蛋白(BSA)为标准通过BCA蛋白分析试剂盒测定蛋白浓度。所有样品用裂解缓冲液稀释以达到相同的终浓度。将10-20 $\mu$ g总蛋白装载到每个孔中,并在1 $\times$ NuPAGE MES SDS运行缓冲液(赛默飞世尔,cat#NP0002)中的NuPAGE 4-12%Bis-Tris凝胶(赛默飞世尔)上分离。然后将蛋白质转移到PVDF膜上。然后将膜在含5%脱脂牛奶(用于总ERK)或含5%BSA(用于磷酸ERK和 $\alpha$ -微管蛋白)的1 $\times$ TBST(Tris缓冲盐水+0.1%吐温20)中封闭1小时。使用下述一抗(在相同封闭溶液中稀释):1:3000的单克隆兔抗磷酸p44/42MAPK(Erk1/2)(Thr202/Tyr204)抗体(赛信通,Cat#4370L),1:3000的单克隆兔抗p44/42MAPK(Erk1/2)抗体(赛信通,Cat#4695S),1:3000-1:4000的单克隆鼠抗 $\alpha$ -微管蛋白(DM1A)抗体(赛信通,Cat#3873S)。将膜与一抗在4 $^{\circ}$ C一起孵育过夜,然后用1 $\times$ TBST洗涤三次。将二抗山羊抗兔IgG(H+L)、HRP(赛默飞世尔,Cat#31460)和过氧化物酶结合的亲和纯(affinipure)山羊抗鼠IgG(H+L)(杰克逊免疫研究(Jackson Immuno Research),Cat#115-035-062)以与一抗相同的浓度稀释在含2%的脱脂牛奶(用于总ERK)或含2%的BSA(用于磷酸ERK和 $\alpha$ -微管蛋白)的1 $\times$ TBST中,并在室温下孵育1-3小时。用1 $\times$ TBST洗涤三次后,用WesternBright ECL HRP底物(Advansta,cat#K12045-D50)显影印迹。

[0556] 免疫组织化学通过酶处理完成抗原修复。切片用10%正常山羊血清封闭,随后在以1:100稀释的磷酸化-p44/42MAPK(ERK1/2)兔单克隆抗体(赛信通)或鼠抗Ki-67(Pharmingen)中室温孵育60分钟。用过氧化物酶结合的抗兔系统(徕卡病理系统)进行检测。

[0557] 数据分析:半定量蛋白质印迹用于评估本文所述化合物处理的样品中p-ERK与溶媒对照相比的差异。

[0558] 尽管为了清楚理解的目的已经通过说明和实施例详细地描述了前述发明,但是本领域技术人员将理解,可以在所附权利要求的范围内实施某些改变和修改。另外,本文提供的每篇参考文献通过引用整体并入,其程度如同每篇参考文献通过引用单独并入。在本申请与本文提供的参考文献之间存在冲突的情况下,以本申请为准。

### 方案1

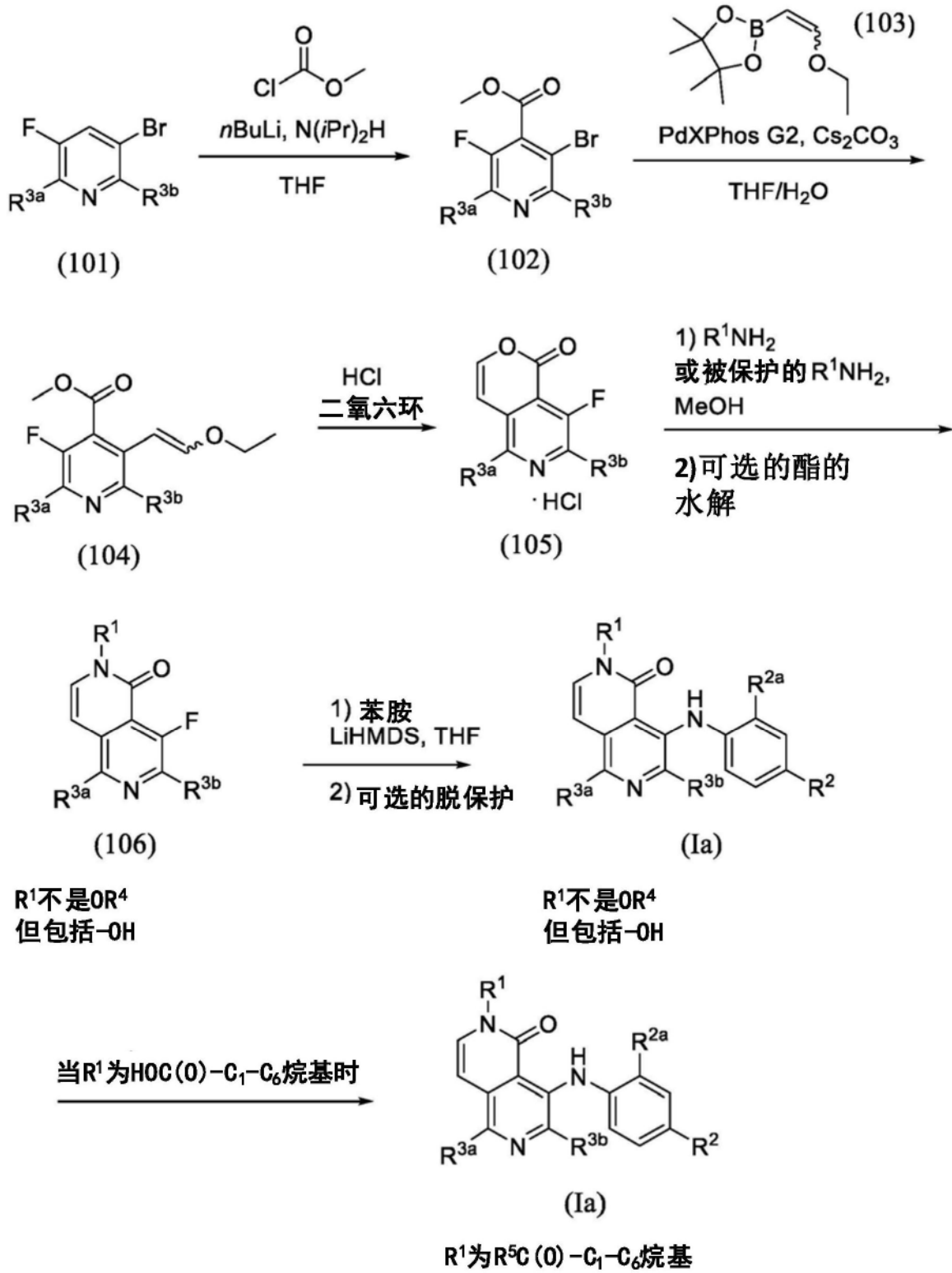


图1

## 方案2

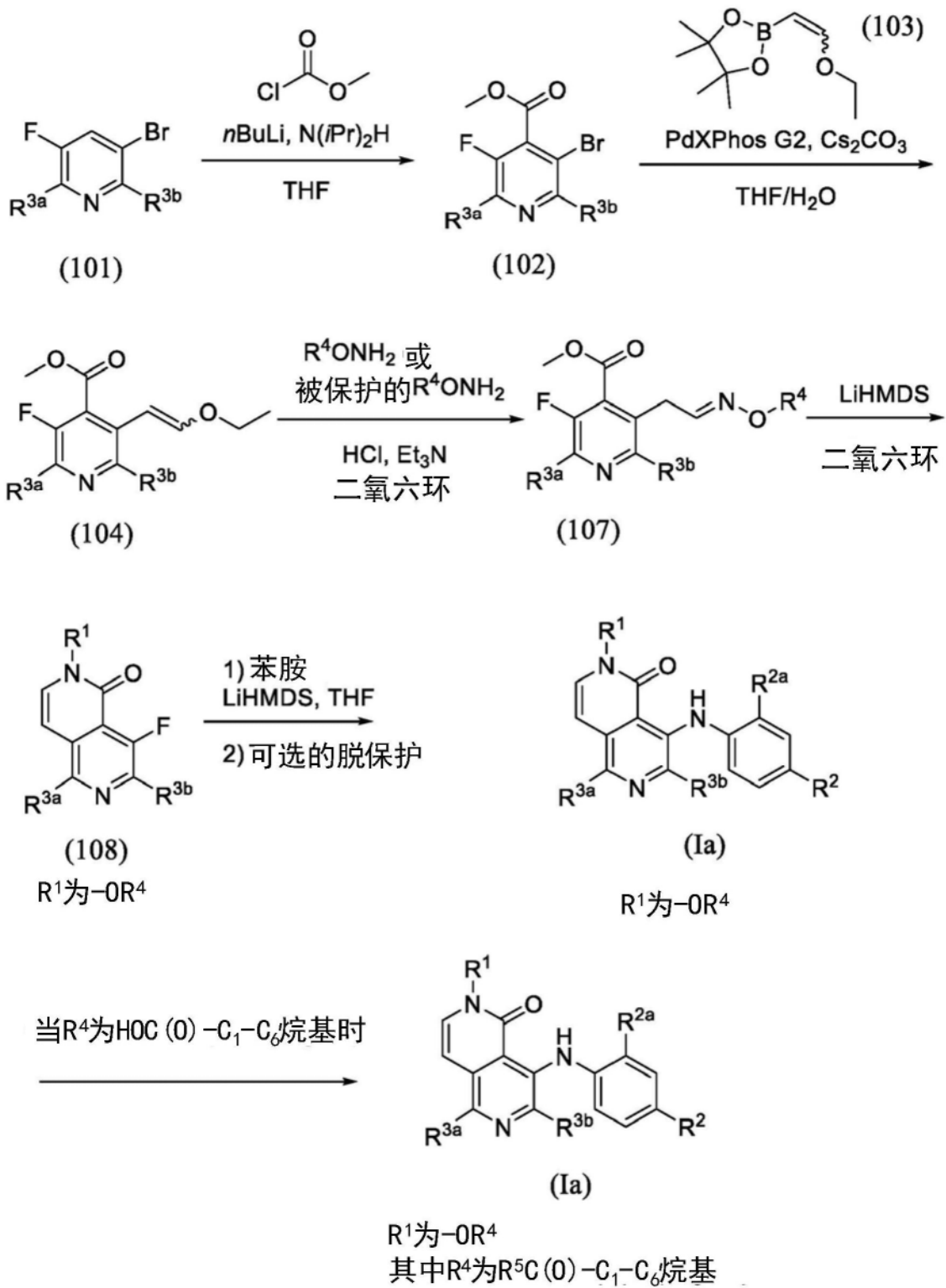


图2

## 方案3

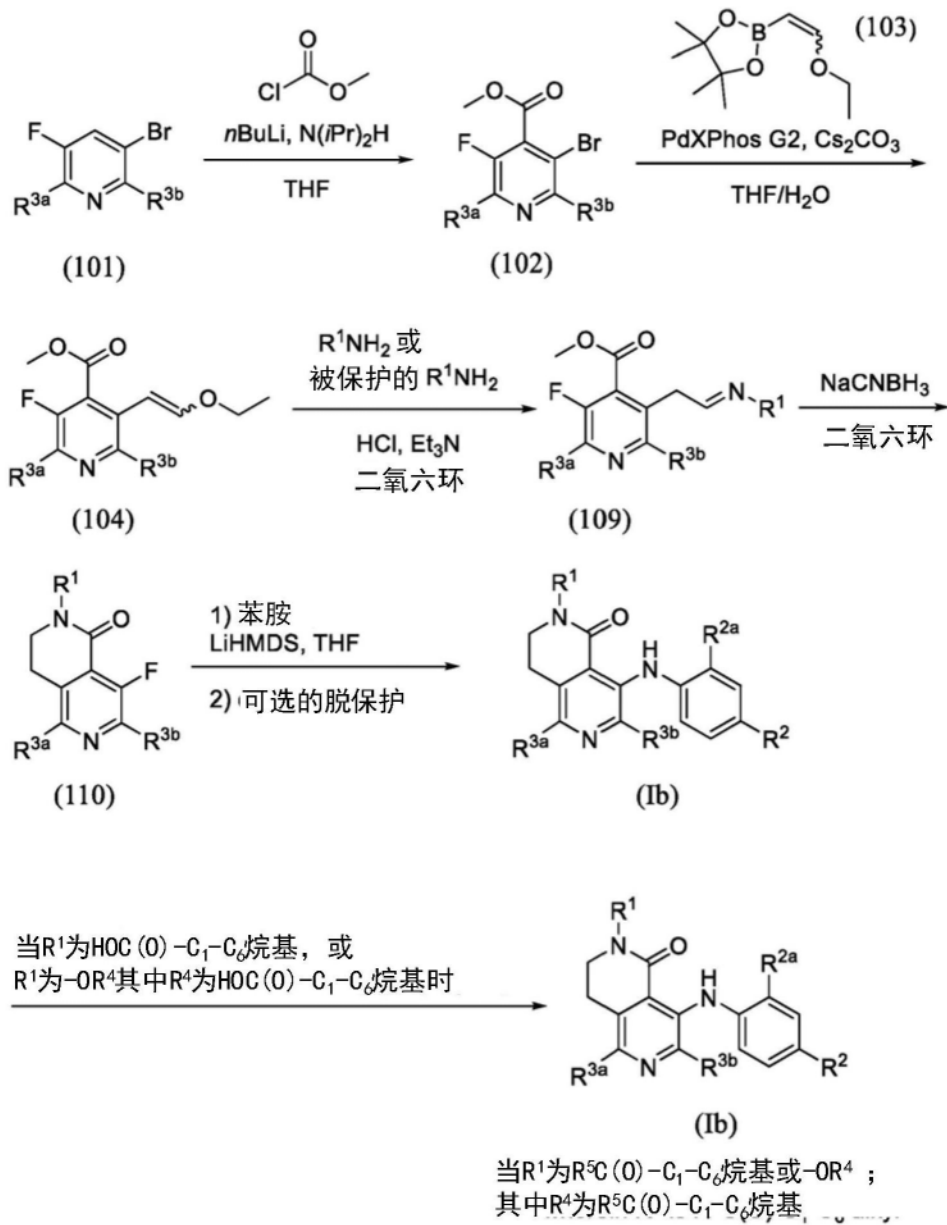


图3