



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119255994 A

(43) 申请公布日 2025. 01. 03

(21) 申请号 202380042074.9

(22) 申请日 2023.03.22

(30) 优先权数据

63/322,994 2022.03.23 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.11.21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/064825 2023.03.22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/183850 EN 2023.09.28

(71) 申请人 艾迪亚生物科学公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 P·A·巴尔桑 M·P·迪伦

F·A·贾普里 徐英姿 令狐欣

M·阿贝德

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 陈文平

(51) Int.Cl.

C07D 417/14 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/433 (2006.01)

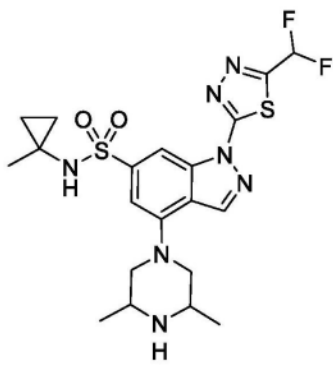
权利要求书2页 说明书36页 附图2页

(54) 发明名称

哌嗪取代的吡唑化合物作为PARG抑制剂

(57) 摘要

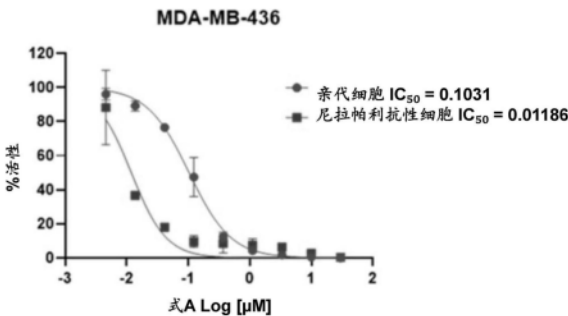
本发明提供了式(I)的化合物:



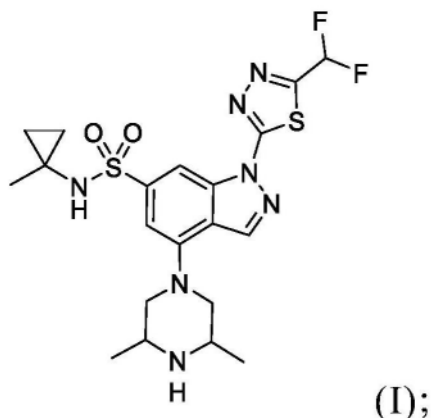
或其药学上可接

(I)

受的盐。所提供的化合物是有效的多聚ADP-核糖糖基水解酶 (PARG) 抑制剂。本文还描述了另外的用途和优点。

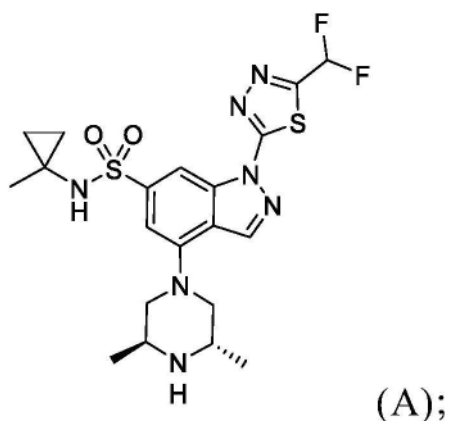


1. 一种式 (I) 的化合物:



或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其由式 (A) 表示:



或其药学上可接受的盐。

3. 根据权利要求1所述的化合物,其为游离碱形式。

4. 根据权利要求2所述的化合物,其为游离碱形式。

5. 根据权利要求2或4中任一项所述的化合物,其至少90%不含其它异构体。

6. 根据权利要求2或4中任一项所述的化合物,其至少95%不含其它异构体。

7. 根据权利要求2或4中任一项所述的化合物,其至少99%不含其它异构体。

8. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,和药学上可接受的赋形剂。

9. 一种治疗患者中涉及PARG活性的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中所述患者被识别为需要此类治疗。

11. 一种在有此需要的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物。

12. 根据权利要求11所述的方法,其中所述癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。

13. 根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要

求8所述的药物组合物,其用于治疗中。

14.根据权利要求13所述的化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其中所述治疗是癌症的治疗。

15.根据权利要求14所述的化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其中所述癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。

16.根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物在制备用于治疗的药物中的用途。

17.根据权利要求16所述的用途,其中所述治疗是癌症的治疗。

18.根据权利要求17所述的用途,其中所述癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。

19.一种在患者中体内抑制PARG的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物。

20.一种在体外或体内抑制细胞增殖的方法,所述方法包括将细胞与有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物接触。

21.一种在有此需要的患者中治疗对一种或多种铂类药物或一种或多种PARP抑制剂抗性的癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物。

22.一种治疗和/或预防患者的同源重组缺陷(HRD)癌症的方法,其包括向所述患者施用治疗有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物。

23.根据权利要求22所述的方法,其中所述患者被识别为需要此类治疗。

24.一种治疗和/或预防患者的癌症的方法,其中所述癌症特征在于BRCA1和/或BRCA2基因表达的减少或缺失、BRCA1和/或BRCA2基因的缺失或突变或者BRCA1和/或BRCA2蛋白的功能降低,该方法包括向所述患者施用治疗有效量的根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物。

25.根据权利要求24所述的方法,其中所述患者被识别为需要此类治疗。

26.一种用于癌症治疗的PARG抑制剂,其中所述PARG抑制剂是根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物。

27.一种PARG抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中所述PARG抑制剂是根据权利要求1至7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求8所述的药物组合物。

哌嗪取代的吡唑化合物作为PARG抑制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2022年3月23日提交的美国临时申请序列号63/322,994享有的35U.S.C§119(e)下的优先权,其公开内容通过引用整体并入本文。

[0003] 关于联邦政府资助的研究和开发活动中的发明权利的声明

[0004] 不适用

[0005] “序列表”、表格或在光盘上提交的计算机程序列表附录的引用

[0006] 不适用

背景技术

[0007] 癌症是由不受控制和不受调节的细胞增殖引起的。这种通常快速增殖的后果是肿瘤内高水平的氧化应激,这会损伤DNA并导致突变率大幅增加。因此,肿瘤细胞会启动并高度依赖DNA损伤修复机制。

[0008] 单链断裂(SSB)是细胞中产生的最常见的损伤类型,并且PARG(多聚ADP-核糖糖基水解酶)与PARP(多聚ADP-核糖聚合酶)以及许多其他蛋白质一起参与单链断裂修复(SSBR)和另一种称为碱基切除修复(BER)的修复机制。

[0009] 在单链DNA修复过程中,最早发生的事件之一是PARP(多聚ADP-核糖聚合酶)与断裂部位结合,并在PARP本身上迅速合成多聚ADP-核糖(PAR)。这种分子结构作为信号招募其他DNA修复蛋白,首先是XRCC1,它将继续修复断裂部位(Mortusewicz,Fouquerel等人2011)。由这些PAR链引发的信号是短暂的,因为它们会被酶PARG迅速降解。当PARP与PAR结合时,其催化活性降低,因此PARG活性有助于将PARP恢复为其催化活性形式(Curtin and Szabo2013)。

[0010] PARG来源于单个基因,具有位于细胞核、线粒体和细胞质中的同种型。另一种已知具有糖基水解酶活性的蛋白质是ARH3,它定位于线粒体(Mashimo,Kato等人2014)。尽管PARG主要因其在DNA修复中的直接作用而闻名,但它也影响PAR在剪接、转录和表观遗传通过中的信号转导(Ji and Tulin 2009)(Le May,Iltis等人2012)(Dahl,Maturi等人2014)(Guastafierro,Catizone等人2013)(Caiafa,Guastafierro等人2009)。

[0011] 当其他DNA修复机制功能失效时,癌细胞可能会依赖于特定的DNA修复途径。携带参与双链断裂修复的蛋白质的突变的肿瘤通常对SSBR的PARP抑制剂更敏感。已有一些证据表明,PARG缺失会抑制SSBR并降低BRCA2缺陷细胞的存活率(Fathers,Drayton等人2012)。然而,其他肿瘤突变可能导致双链DNA修复机制缺陷(所谓的“BRCA-ness”),从而使肿瘤细胞对PARG抑制敏感。

[0012] 已在多种小鼠和人类模型系统中研究了PARG缺失。PARG缺失(null)或缺失(depleted)的小鼠细胞对实验性和临床DNA损伤剂显示出增加的敏感性。然而,由于PARG缺陷并不对所有试剂(例如吉西他滨、喜树碱)敏感,这表明PARG功能在某些DNA损伤修复途径以及化疗和放疗中具有特异性(Fujihara,Ogino等人2009)(Shirai,Fujimori等人2013)(Zhou,Feng等人2010)(Zhou,Feng等人2011)。

[0013] 在人类中, PARP缺失使肺癌、宫颈癌和胰腺癌细胞对 γ -辐射或实验性DNA损伤剂(例如过氧化氢、甲磺酸甲酯)敏感(Ame, Fouquere1等人2009)(Nakadate, Kodera等人2013)(Shirai, Poetsch等人2013)。

[0014] PARP抑制剂目前正在接受多项临床试验, 其中正在探索合成致死性或化学增敏性的概念。已经描述了PARP抑制剂的临床耐药性(Drost and Jonkers 2014)(Barber, Sandhu等人2013), 因此, 需要找到靶向DNA损伤修复机制的其他替代性抑制剂。

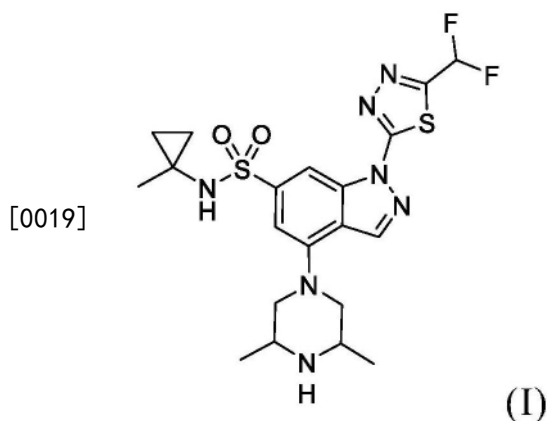
[0015] 尽管当前模型表明PARP缺失会对DNA修复产生PARP依赖性影响, 但最近的研究显示其与PARP抑制在机制上存在差异。与PARP缺失不同, PARP的基因毒性刺激缺失会导致NAD水平下降。这会导致肺癌细胞因能量衰竭而死亡(Erdelyi, Bai等人2009)。

[0016] 细胞渗透性PARP抑制剂仅限于例如单宁酸或没食子单宁酸等化合物, 这些化合物对PARP的特异性存疑且生物利用度有限(Sun, Zhang等人2012)(Fathers, Drayton等人2012)(Blenn, Wyrsch等人2011)。

[0017] 本发明的一个目的是提供细胞渗透性PARP抑制剂。

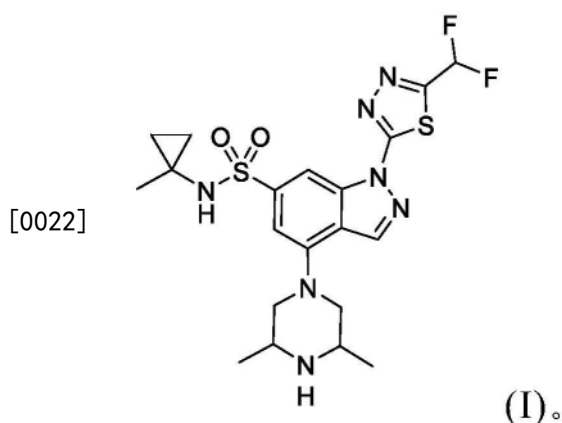
发明内容

[0018] 在一方面, 本文提供了一种式(I)化合物:



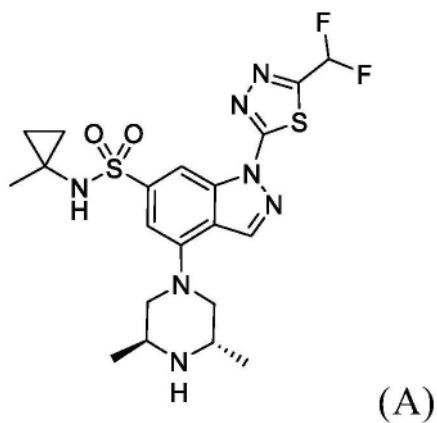
[0020] 或其药学上可接受的盐。

[0021] 在另一方面, 本文提供了一种式(I)化合物:



[0023] 在另一方面, 本文提供了一种式(A)化合物:

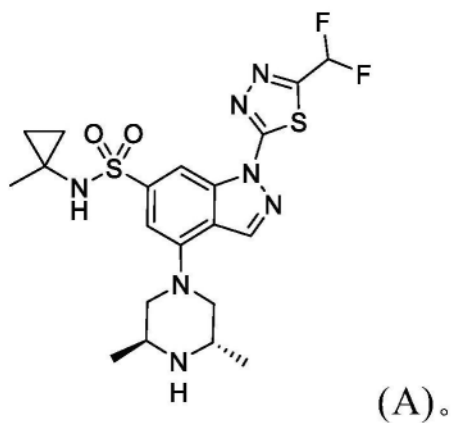
[0024]



[0025] 或其药学上可接受的盐。

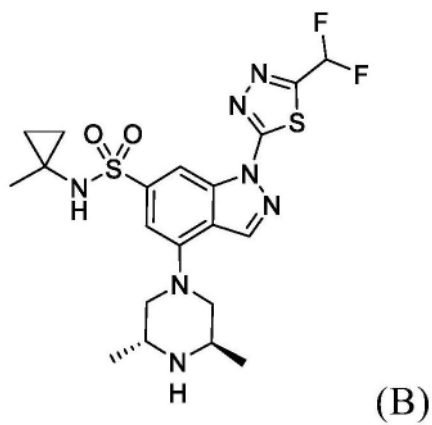
[0026] 在另一方面,本文提供了一种式 (A) 化合物:

[0027]



[0028] 在另一方面,本文提供了一种式 (B) 化合物:

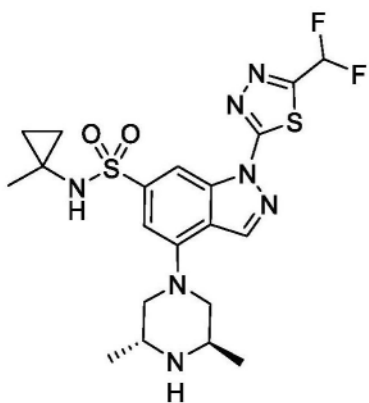
[0029]



[0030] 或其药学上可接受的盐。

[0031] 在另一方面,本文提供了一种式 (B) 化合物:

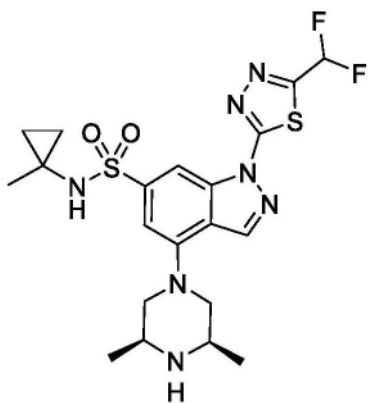
[0032]



(B)。

[0033] 在另一方面,本文提供了一种式 (C) 化合物:

[0034]

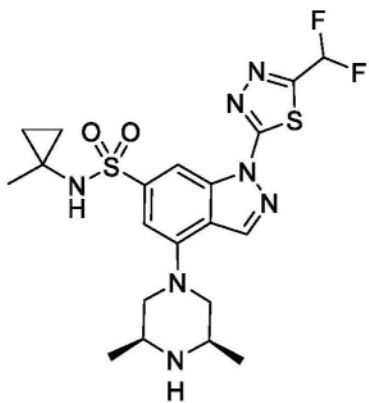


(C)

[0035] 或其药学上可接受的盐。

[0036] 在另一方面,本文提供了一种式 (C) 化合物:

[0037]



(C)。

[0038] 在另一方面,本文提供了一种药物组合物,其包含式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,和一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0039] 在另一方面,本发明提供式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物,其用于治疗中。

[0040] 在另一方面,本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物,其用于治疗癌症。在一个实施方案中,所述癌症为人类癌症。

[0041] 在另一方面,本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的

盐,或如本文所定义的药物组合物,其用于产生PARG抑制效果。

[0042] 在另一方面,本文提供了式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物,在制备用于治疗癌症的药物中的用途。合适地,所述药物用于治疗人类癌症。

[0043] 在另一方面,本文提供了式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物,在制备用于产生PARG抑制效果的药物中的用途。

[0044] 在另一方面,本文提供了一种在体外或体内抑制PARG的方法,所述方法包括将细胞与有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物接触。

[0045] 在另一方面,本文提供了一种在体外或体内抑制细胞增殖的方法,所述方法包括将细胞与有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物接触。

[0046] 在另一方面,本文提供了一种在需要此类治疗的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物。

[0047] 在另一方面,本文提供了一种在有此需要的患者中治疗对一种或多种铂类药物或一种或多种PARP抑制剂抗性的癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物。

[0048] 在另一方面,本文提供了一种在需要此类治疗的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物,其中所述患者之前已接受过铂类药物治疗癌症。

[0049] 在另一方面,本文提供了一种在需要此类治疗的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或如本文所定义的药物组合物,其中所述患者之前已接受过PARP抑制剂治疗癌症。

[0050] 在另一方面,本文提供了一种在PARG抑制活性的测试化合物中鉴定PARG活性的方法,所述方法包括(i)将测试化合物与分离的PARG酶、生物素化-PAR化的PARP底物接触以形成PARG反应预混合物;(ii)将PARG反应预混合物与检测抗体和链霉亲和素-钼接触以形成PARG反应混合物;以及(iii)测量PARG反应混合物的荧光强度,其中所述方法还包括使用由式(I)、式(A)、式(B)或式(C)的化合物或其药学上可接受的盐或本文定义的药物组合物代表的阳性对照样品执行步骤(i)-(iii)。在一些实施方案中,检测抗体是抗His单克隆抗体-ULight。在一些实施方案中,链霉亲和素-钼与生物素化-PAR化的PARP底物结合。在一些实施方案中,通过提供317nm的激发波长并测量620nm(链霉亲和素-钼发射)和665nm(ULight发射)处的发射来测量荧光。

[0051] 在另一方面,本文提供了合成式(I)、式(A)、式(B)或式(C)的化合物或其药学上可接受的盐的方法,如本文所定义。

[0052] 在另一方面,本文提供了一种式(I)、式(A)、式(B)或式(C)的化合物或其药学上可接受的盐,其可以通过本文所定义的合成方法获得或者由本文所定义的合成方法获得或者由本文所定义的合成方法直接获得。

[0053] 在另一方面,本文提供了如本文定义的新型中间体,它们适用于本文所述的任何

一种合成方法中。

[0054] 本发明的任一特定方面的优选、合适和任选特征也是任何其他方面的优选、合适和任选特征。

附图说明

[0055] 图1绘制了实施例4中所述的PARPi抗性MDA-MB-436细胞的百分比活性与式A对数浓度的函数关系。“亲代细胞IC₅₀”指细胞产生PARPi抗性前式A的IC₅₀，而“尼拉帕利(niraparib)抗性IC₅₀”指细胞产生PARPi抗性后式A的IC₅₀。

[0056] 图2绘制了实施例4中所述的PARPi抗性HCC1428细胞的百分比活性与式A对数浓度的函数关系。“亲代细胞IC₅₀”指细胞产生PARPi抗性前式A的IC₅₀，而“尼拉帕利抗性IC₅₀”指细胞产生PARPi抗性后式A的IC₅₀。

[0057] 图3绘制了实施例4中所述的来自携带BRCA1/2突变和顺铂抗性的卵巢组织的患者衍生细胞(PDC)的活性与式A浓度的函数关系。

[0058] 图4:显示了使用HBCx-34(式A)的患者来源异种移植物(PDX)研究。

具体实施方式

[0059] 在进一步描述本发明之前,需要理解的是,本发明不仅限于本文中提出的特定实施方案,而且还需要理解的是,本文中使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,并非旨在进行限制。

[0060] 在提供数值范围时,应该理解在所述范围的上下限之间的每个中间值(除非上下文另外清楚地指出,否则所述中间值达到下限单位的十分之一)和任何其它说明的或在所述说明范围中的中间值涵盖在本发明内。这些较小范围的上下限可独立地包括在较小范围中,并且还涵盖在本发明内,除了任何确切超出所说明范围之外的限值。在所说明范围包括所述限值之一或两者时,超出那些包括的限值的任一个或两者的范围也包括在本发明中。除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语和科学术语具有与通过本发明所属领域中的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0061] 本文所讨论的出版物仅为其在本申请的申请日之前的公开而提供。此外,所提供的出版日期可与实际出版日期不同,这可能需要独立证实。

[0062] 概述

[0063] 本文提供了用于抑制PARG的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)的化合物或其药学上可接受的盐,和包含它们的药物组合物。本文还提供了例如通过抑制PARG来治疗或预防疾病、病症或病况或其症状的方法。

[0064] 有利的是,本公开的化合物在细胞和体外试验中均为PARG的强效抑制剂。动力学溶解度研究还表明,这些化合物在pH 2.0和pH7.4下均高度可溶。总体而言,本文所述的化合物的综合参数使其成为靶向和抑制PARG活性的理想化合物。

[0065] 定义

[0066] 除非另有说明,否则以下术语旨在具有下文所述的含义。其他术语在本说明书的其他地方有定义。

[0067] 如本文所用,单数形式“一(a)”、“一个(an)”和“该(the)”包括复数对象,除非上下

文另有明确规定。进一步指出,权利要求可起草成排除任何任选元件。因此,本说明旨在用作使用与权利要求元件引用相关的如“仅有”、“仅仅”等此类排他术语或使用“否定”限制的先行词基础。

[0068] 术语“药学上可接受的盐”意味着包括式(I)、式(A)、式(B)或式(C)的化合物与相对无毒的酸或碱制备而成的盐,这取决于本文所述的化合物上存在的特定取代基。碱加成盐可以通过使此类化合物的中性形式与足够量的所需碱接触来获得,无论其是纯的还是存在于合适的惰性溶剂中。由药学上可接受的无机碱衍生的盐的示例包括铝、铵、钙、铜、三价铁、亚铁、锂、镁、高锰、亚锰、钾、钠、锌等。由药学上可接受的有机碱衍生的盐包括伯、仲和叔胺的盐,其包括取代胺、环状胺、天然存在的胺等,例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙氨基乙醇、2-二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、还原葡萄糖胺、葡萄糖胺、组氨酸、海巴明(hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、甲基葡萄糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨丁三醇等。酸加成盐可以通过使此类化合物的中性形式与足够量的所需酸接触来获得,无论其是纯的还是存在于合适的惰性溶剂中。药学上可接受的酸加成盐的示例包括由无机酸(例如盐酸、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)衍生的盐,以及由相对无毒的有机酸(例如乙酸、丙酸、异丁酸、苹果酸、苯甲酸、琥珀酸、癸二酸、富马酸、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)衍生的盐。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(Berge, S.M., 等人, “Pharmaceutical Salts”, Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19)。本发明的某些特定化合物含有碱性官能团和酸性官能团两者,这使得这些化合物能够转化为碱加成盐或酸加成盐。

[0069] 当显示立体化学描述时,它指其中一种异构体存在且基本上不含另一种异构体的化合物。“基本上不含”另一种异构体表示两种异构体的比例至少为80/20,更优选为90/10,或95/5或更高。在某些实施方案中,其中一种异构体以至少99%的量存在。

[0070] 式(I)、式(A)、式(B)或式(C)还可以在一个或多个构成该化合物的原子上含有原子同位素的非天然比例。同位素的非天然比例可定义为范围是从自然界中发现的量到由100%的相关原子组成的量。例如,化合物可引入放射性同位素,例如氘(^3H)、碘-125(^{125}I)或碳-14(^{14}C),或非放射性同位素,例如氘(^2H)或碳-13(^{13}C)。这种同位素变化可为本申请中其他地方描述的那些变化提供另外的用途。例如,本发明的化合物的同位素变体可发现另外的用途,包括但不限于作为诊断和/或成像试剂,或作为细胞毒性/放射毒性治疗剂。此外,式(I)、式(A)、式(B)或式(C)的同位素变体可以具有改变的药代动力学和药效学特性,这有助于在治疗期间提高安全性、耐受性或有效性。无论是否具有放射性,式(I)、式(A)、式(B)或式(C)的所有同位素变体均旨在包含在本发明的范围内。

[0071] 术语“患者”或“受试者”互换使用,指人类或非人类动物(例如,哺乳动物)。在一个实施方案中,患者或受试者是人类。

[0072] 术语“给药(administration)”、“施用(administer)”等在应用于例如患者、细胞、组织、器官或生物流体时,指例如PARG抑制剂、包含其的药物组合物或诊断试剂与患者、细胞、组织、器官或生物流体的接触。在细胞层面上,给药包括试剂与细胞的接触(例如,体外或离体),以及试剂与流体的接触,其中所述流体与细胞接触。

[0073] 术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”、“处理(treatment)”等指行动过程(例如,施用PARG抑制剂或包含其的药物组合物),该过程在诊断、观察到疾病、病症或病况,或其症状后启动,以暂时或永久地消除、减少、抑制、缓解或改善导致患者罹患疾病、病症或病况的至少一种潜在原因,或与疾病、病症或病况相关的至少一种症状。因此,治疗包括抑制(例如,阻止疾病、病症或病况或与之相关的临床症状的发展或进一步发展)活动性疾病。

[0074] 本文所用的术语“需要治疗”指由医生或其他护理人员作出的判断,即患者需要治疗或将从治疗中受益。该判断基于属于医生或护理人员专业领域的各种因素作出。

[0075] 术语“预防(prevent)”、“预防(preventing)”、“预防(prevention)”等指行动过程(例如,施用PARG抑制剂或包含其的药物组合物),该过程以某种方式启动(例如,在疾病、病症、病况或其症状出现之前),以暂时或永久地防止、阻止、抑制或减少患者发生疾病、病症或病况等的风险(例如,通过未出现临床症状来判定)或延迟其发病,通常在患者易患特定疾病、病症或病况的情况下进行。在某些情况下,这些术语还指减缓疾病、病症或病况的进展,或抑制其进展至有害或其他不希望的状态。

[0076] 本文所用的术语“需要预防”指由医生或其他护理人员作出的判断,即患者需要预防性护理或将从预防性护理中受益。该判断基于属于医生或护理人员专业领域的各种因素作出。

[0077] 术语“抑制”和“减少”,或与PARG相关的这些术语的任何变体,包括任何可测量的降低或完全抑制,以实现期望的结果。例如,与正常水平相比,PARG活性可减少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或更多。本文所用的“约”指在给定值的 $\pm 10\%$ 以内,优选为 $\pm 5\%$ 。

[0078] 短语“治疗有效量”指向患者施用一种药剂(无论是单独施用还是作为药物组合物的一部分,是以单剂量施用还是作为一系列剂量的一部分)时,能够对患者的疾病、病症或病况的任何症状、方面或特征产生任何可检测的、积极效果的量。治疗有效量可以通过测量相关的生理效果来确定,并可根据给药方案和对患者病情的诊断分析等进行调整。例如,在给药后的特定时间点测量PARG抑制剂(或其代谢产物等)的血清水平可以表明是否使用了治疗有效量。

[0079] 短语“铂类药物”或“铂基化疗”指一种含铂的化疗药物类别,用于治疗癌症。示例性铂类药物包括顺铂(cisplatin)、卡铂(carboplatin)、赛特铂(satraplatin)、庚铂(heptaplatin)、吡铂(picoplatin)、奈达铂(nedaplatin)、三核铂(triplatin)、顺铂脂质体(lipoplatin)或奥沙利铂(oxaliplatin)。

[0080] 如本文所用,“铂类药物抗性癌症”或“对一种或多种铂类药物抗性的癌症”指的是对铂类药物治疗无反应的癌症。无反应性可以通过肿瘤在施用该药物时仍持续生长、肿瘤在施用该药物时未缩小,或本领域已知的其他方法来评估。癌症的无反应性可以通过临床观察、由医学专业人员诊断、在实验室环境中对分离的细胞进行实验测试,或通过其他技术手段来确定。

[0081] 如本文所用,“多聚ADP核糖聚合酶(PARP)抑制剂”指的是抑制PARP活性的药物,包括PARP1和PARP2。PARP抑制剂的示例包括但不限于尼拉帕利、鲁卡帕尼(rucaparib)、奥拉帕利(olaparib)、他拉唑帕利(talazoparib)和维利帕尼(veliparib)。

[0082] 如本文所用,“对PARP抑制剂耐药的癌症”或“对一种或多种PARP抑制剂耐药的癌

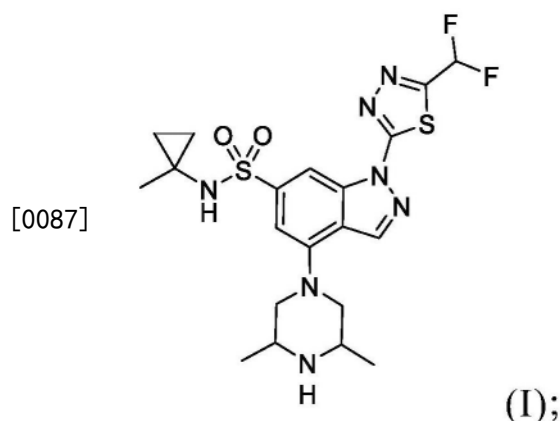
症”指的是对PARP抑制剂治疗无反应的癌症。无反应性可以通过肿瘤在施用该药物时仍持续生长、肿瘤在施用该药物时未缩小,或本领域已知的其他方法来评估。癌症的无反应性可以通过临床观察、由医学专业人员诊断、在实验室环境中对分离的细胞进行实验测试,或通过其他技术手段来确定。

[0083] 如本文所用,“同源重组”指的是遗传重组的细胞过程,其中核苷酸序列在两个相似或相同的DNA序列之间发生交换。

[0084] 如本文所用,“同源重组缺陷(HRD)癌症”指的是以HR修复通路功能降低或缺失为特征的癌症。HR缺陷可能来源于一个或多个与HR相关的基因的缺失或减少,或一个或多个与HR相关的基因中存在一个或多个突变。与HR相关的基因的示例包括BRCA1、BRCA2、RAD54、RAD51B、ATM、BARD1、CHECK1、CHECK2、CDK12、RAD51B、RAD54L、RAD51D、PPP22A、BRIP1、CtIP (CtBP相互作用蛋白)、PALB2 (BRCA2伴侣及定位蛋白)、XRCC2 (X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells,中国仓鼠细胞X-射线修复互补缺陷修复基因2)、RECQL4 (RecQ蛋白样4)、BLM (布卢姆综合征,RecQ解旋酶样)、WRN (布卢姆综合征,一个或多个HR相关基因之一)、Nbs1 (Nibrin),以及编码范科尼贫血 (Fanconi anemia, FA) 蛋白或FA样基因的基因,例如FANCA、FANCB、FANCC、FANCD1 (BRCA2)、FANCD2、FANCE、FANCF、FANG、FANCI、FANJ (BRIP1)、FANCL、FANCM、FANCN (PALB2)、FANCP (SLX4)、FANCS (BRCA1)、RAD51C和XPF。

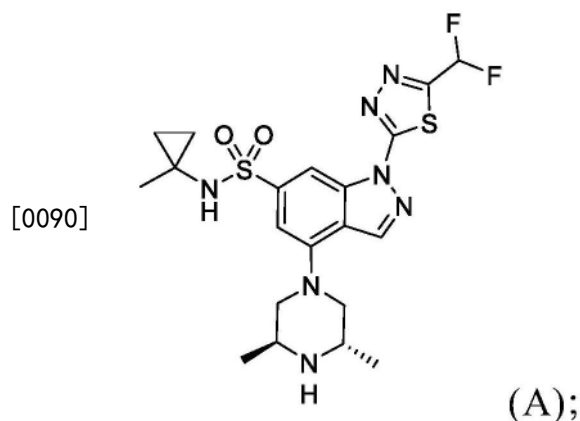
[0085] 化合物

[0086] 在一个方面,本文提供了式(I)化合物



[0088] 或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,式(I)为游离碱形式。

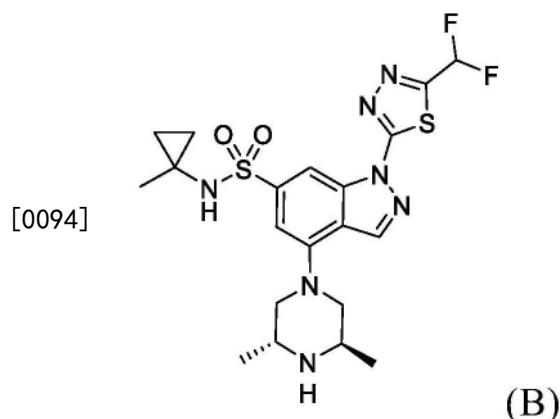
[0089] 在一个方面,本文提供了式(A)化合物



[0091] 或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,式(A)为游离碱形式。

[0092] 在一些实施方案中,式(A)至少70%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(A)至少75%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(A)至少80%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(A)至少85%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(A)至少90%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(A)至少95%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(A)至少99%不含其他异构体。

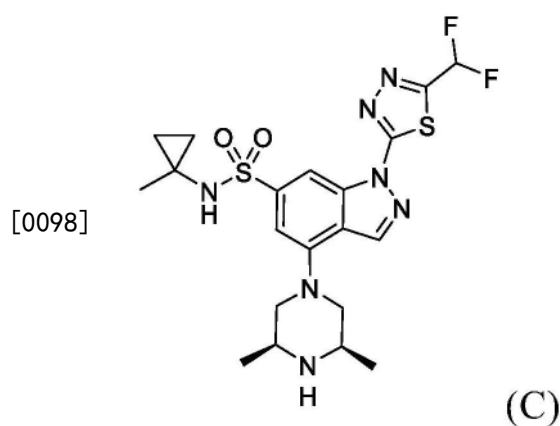
[0093] 在一个方面,本文提供了式(B)化合物



[0095] 或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,式(B)为游离碱形式。

[0096] 在一些实施方案中,式(B)至少70%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(B)至少75%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(B)至少80%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(B)至少85%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(B)至少90%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(B)至少95%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(B)至少99%不含其他异构体。

[0097] 在一个方面,本文提供了式(C)化合物



[0099] 或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,式(C)为游离碱形式。

[0100] 在一些实施方案中,式(C)至少70%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(C)至少75%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(C)至少80%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(C)至少85%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(C)至少90%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(C)至少95%不含其他异构体。在一些实施方案中,式(C)至少99%不含其他异构体。

[0101] 生物活性

[0102] 随附实施例部分中描述的PARG酶和细胞试验可用于测量本发明化合物的药理学效果。

[0103] 药物组合物

[0104] 本文还提供了药物组合物,其包含式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,与药学上可接受的稀释剂或载体相关联。

[0105] 组合物可以为适合口服使用(例如,片剂、含片、硬胶囊或软胶囊、水性或油性混悬液、乳剂、分散性粉末或颗粒、糖浆或酏剂)、外用使用(例如,乳膏、软膏、凝胶或水性或油性溶液或混悬液)、吸入给药(例如,细粉或液体气溶胶)、吹入给药(例如,细粉)或胃肠外给药(例如,用于静脉、皮下、肌肉、腹腔或肌肉给药的无菌水性或油性溶液,或用于直肠给药的栓剂)的形式。

[0106] 组合物可以通过使用本领域已知的常规药物赋形剂和常规程序获得。因此,用于口服使用的组合物可以包含,例如,一种或多种着色剂、甜味剂、调味剂和/或防腐剂。

[0107] 式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐用于治疗的有效量是足以治疗或预防本文提到的增生性疾病、减缓其进展和/或减少与疾病相关症状的量。

[0108] 式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物用于治疗或预防目的剂量大小将根据疾病的性质和严重程度、动物或患者的年龄和性别以及给药途径、根据医学领域的公知原则而有所不同。

[0109] 在将式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐用于治疗或预防目的时,通常施用该化合物,使得其总日剂量在例如0.01mg/kg至100mg/kg体重的范围内。口服给药也可能适合,特别是以片剂形式。

[0110] 在一些实施方案中,式(A)的组合物包含至少70%的显示异构体。在一些实施方案中,式(A)的组合物包含至少75%的显示异构体。在一些实施方案中,式(A)的组合物包含至少80%的显示异构体。在一些实施方案中,式(A)的组合物包含至少85%的显示异构体。在一些实施方案中,式(A)的组合物包含至少90%的显示异构体。在一些实施方案中,式(A)的组合物包含至少95%的显示异构体。在一些实施方案中,式(A)的组合物包含至少99%的显示异构体。

[0111] 在一些实施方案中,式(B)的组合物包含至少70%的显示异构体。在一些实施方案中,式(B)的组合物包含至少75%的显示异构体。在一些实施方案中,式(B)的组合物包含至少80%的显示异构体。在一些实施方案中,式(B)的组合物包含至少85%的显示异构体。在一些实施方案中,式(B)的组合物包含至少90%的显示异构体。在一些实施方案中,式(B)的组合物包含至少95%的显示异构体。在一些实施方案中,式(B)的组合物包含至少99%的显示异构体。

[0112] 在一些实施方案中,式(C)的组合物包含至少70%的显示异构体。在一些实施方案中,式(C)的组合物包含至少75%的显示异构体。在一些实施方案中,式(C)的组合物包含至少80%的显示异构体。在一些实施方案中,式(C)的组合物包含至少85%的显示异构体。在一些实施方案中,式(C)的组合物包含至少90%的显示异构体。在一些实施方案中,式(C)的组合物包含至少95%的显示异构体。在一些实施方案中,式(C)的组合物包含至少99%的显示异构体。

[0113] 治疗用途和应用

[0114] 本文提供了作为PARG抑制剂起作用的化合物。

[0115] 本发明因此提供了一种在体外或体内抑制PARG酶活性的方法,所述方法包括将细胞与有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物接触。

[0116] 本发明还提供了一种在需要此类治疗的患者中治疗与PARG活性相关的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物。在一个实施方案中,疾病或病症是晚期或转移性实体瘤。在一个实施方案中,疾病或病症是癌症。在一个实施方案中,癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。在一个实施方案中,癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。在一个实施方案中,癌症是前列腺癌。在一个实施方案中,癌症是同源重组缺陷(HRD)癌症。

[0117] 本文提供了一种在体外或体内抑制细胞增殖的方法,所述方法包括将细胞与有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物接触。

[0118] 本文提供了一种在需要此类治疗的患者中治疗增生性疾病的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物。在一个实施方案中,增生性疾病是实体瘤。在一个实施方案中,增生性疾病是转移性实体瘤。在一个实施方案中,增生性疾病是癌症。在一个实施方案中,癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。在一个实施方案中,癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。在一个实施方案中,癌症是前列腺癌。在一个实施方案中,癌症是同源重组缺陷(HRD)癌症。

[0119] 本文提供了一种在需要此类治疗的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物。在一个实施方案中,癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。在一个实施方案中,癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。在一个实施方案中,癌症是同源重组缺陷(HRD)癌症。

[0120] 本文提供了一种治疗和/或预防患者的同源重组缺陷(HRD)癌症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物。在一个实施方案中,患者被识别为需要此类治疗。在一个实施方案中,同源重组缺陷(HRD)癌症是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、前列腺癌、肺癌、宫颈癌或胰腺癌。

[0121] 本文提供了一种治疗和/或预防患者的癌症的方法,其中所述癌症特征在于是BRCA1和/或BRCA2基因表达减少或缺失、BRCA1和/或BRCA2基因的缺失或突变或者BRCA1和/或BRCA2蛋白功能降低,该方法包括向患者施用治疗有效量的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物。在一个实施方案中,癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。在一个实施方案中,癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。在一个实施方案中,癌症是前列腺癌。

[0122] 在一个实施方案中,癌症对PARP抑制剂抗性。在一些实施方案中,对PARP抑制剂抗性的癌症对尼拉帕利、奥拉帕利、鲁卡帕尼、他拉唑帕利、维利帕尼、AZD5305或AZD9574中的任意一种或多种抗性。在一些实施方案中,对PARP抑制剂抗性的癌症对尼拉帕利抗性。在一些实施方案中,对PARP抑制剂抗性的癌症对奥拉帕利抗性。在一些实施方案中,对PARP抑制剂抗性的癌症是卵巢癌、乳腺癌或胰腺癌。

[0123] 在一个实施方案中,癌症对铂类药物抗性。在一些实施方案中,对铂类药物抗性的

癌症对顺铂、卡铂、赛特铂、庚铂、吡铂、奈达铂、三核铂、顺铂脂质体或奥沙利铂中的任意一种或多种药物抗性。在一些实施方案中,对铂类药物抗性的癌症对顺铂抗性。在一些实施方案中,对铂类药物抗性的癌症对卡铂抗性。

[0124] 本文提供了一种在需要此类治疗的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,其中所述患者已被确定为对一种或多种PARP抑制剂抗性。在一些实施方案中,所述方法包括向患者施用治疗有效量的式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,其中所述患者已被诊断为对一种或多种PARP抑制剂抗性。

[0125] 本文提供了一种在需要此类治疗的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,其中所述患者已被确定为对铂基化疗抗性。在一些实施方案中,所述方法包括向患者施用治疗有效量的式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,其中所述患者已被诊断为对一种或多种铂基化疗抗性。

[0126] 本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,其用于治疗中。

[0127] 本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,其用于治疗增生性疾病。

[0128] 本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,其用于治疗癌症。在一个特定实施方案中,癌症是人类癌症。在一个实施方案中,癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。在一个实施方案中,癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。在一个实施方案中,癌症是前列腺癌。在一个实施方案中,癌症是同源重组缺陷 (HRD) 癌症。

[0129] 本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,其用于抑制PARG酶活性。

[0130] 本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,其用于治疗涉及PARG活性的疾病或病症。

[0131] 本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物在制备用于治疗增生性疾病的药物中的用途。

[0132] 本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。合适地,药物用于治疗人类癌症。在一个实施方案中,癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。在一个实施方案中,癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。在一个实施方案中,癌症是前列腺癌。在一个实施方案中,癌症是同源重组缺陷 (HRD) 癌症。

[0133] 本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物在制备用于抑制PARG酶活性的药物中的用途。

[0134] 本文提供了式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物在制备用于治疗涉及PARG活性的疾病或病症的药物中的用途。

[0135] 本公开还考虑将式 (I)、式 (A)、式 (B) 或式 (C) 化合物或其药学上可接受的盐,或本文定义的药物组合物,与本文所述的其他治疗活性剂或化合物联合使用,以治疗本公开所

考虑的疾病、病症和病况。

[0136] 术语“增生性疾病”和“增生性病症”在本文中可互换使用,指无论是在体外还是在体内不希望的或不受控制的过多或异常细胞的细胞增殖(例如,肿瘤性或增生性生长),该细胞增殖是不需要的。增生性疾病的示例包括但不限于癌前和恶性细胞增殖,包括但不限于恶性肿瘤和肿瘤、癌症、白血病、银屑病、骨病、纤维增生性疾病(例如结缔组织的增生性疾病)和动脉粥样硬化。任何类型的细胞均可治疗,包括但不限于肺、结肠、乳腺、卵巢、前列腺、胃、肝脏、胰腺、大脑和皮肤细胞。增生性疾病还包括例如晚期或转移性实体瘤。

[0137] 本文定义的式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物或其药学上可接受的盐,或药物组合物的抗增生效果在治疗人类癌症中具有特殊的应用(通过其对PARC酶活性的抑制作用)。

[0138] 抗癌作用可能通过一种或多种机制产生,包括但不限于调节细胞增殖、抑制血管生成(新血管的形成)、抑制转移(肿瘤从其原发部位扩散)、抑制侵袭(肿瘤细胞向邻近正常结构的扩散)或促进凋亡(程序性细胞死亡)。

[0139] 在本发明的一个特定实施方案中,要治疗的增生性疾病是癌症。

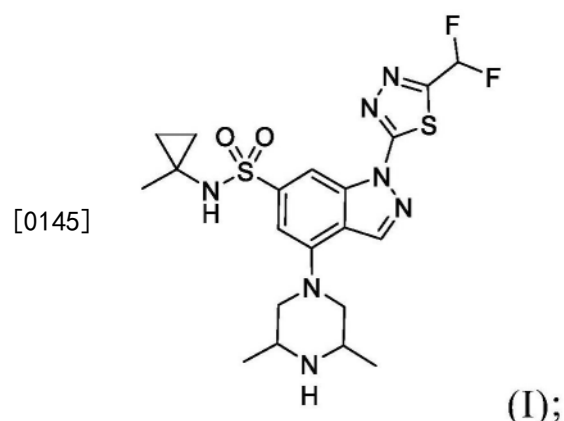
[0140] 给药途径

[0141] 式(I)、式(A)、式(B)或式(C)化合物,或其药学上可接受的盐,或包含该化合物的药物组合物,可通过任何便利的给药途径施用于患者,无论是全身性/外周性还是局部性(即在目标作用部位)。

[0142] 给药途径包括但不限于:口服(例如,通过吞服);口腔含化;舌下;透皮(包括例如通过贴片、敷料等);经黏膜(包括例如通过贴片、敷料等);鼻腔内(例如,通过鼻喷剂);眼部(例如,通过滴眼液);肺部(例如通过吸入或吹入治疗,例如通过气溶胶,例如经口或鼻);直肠(例如,通过栓剂或灌肠剂);阴道(例如,通过阴道栓剂);胃肠外,例如通过注射,包括皮下、皮内、肌肉内、静脉内、动脉内、心内、鞘内、脊髓内、囊内、囊下、眶内、腹腔内、气管内、表皮下、关节内、蛛网膜下和胸骨内注射;通过植入储库或缓释剂,例如皮下或肌肉内植入。本发明的一些实施方案考虑口服给药。

[0143] 实施方案

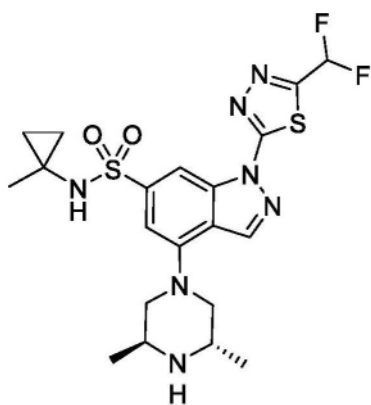
[0144] 实施方案1.一种式(I)的化合物:



[0146] 或其药学上可接受的盐。

[0147] 实施方案2.根据实施方案1所述的化合物,其由式(A)表示:

[0148]



(A);

[0149] 或其药学上可接受的盐。

[0150] 实施方案3.根据实施方案1所述的化合物,其为游离碱形式。实施方案3A.根据实施方案2所述的化合物,其为游离碱形式。

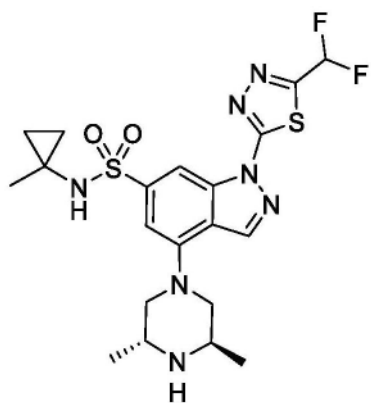
[0151] 实施方案4.根据实施方案2或3A所述的化合物,其至少90%不含其他异构体。

[0152] 实施方案5.根据实施方案2或3A所述的化合物,其至少95%不含其他异构体。

[0153] 实施方案6.根据实施方案2或3A所述的化合物,其至少99%不含其他异构体。

[0154] 实施方案7.根据实施方案1所述的化合物,其由式 (B) 表示:

[0155]



(B);

[0156] 或其药学上可接受的盐。

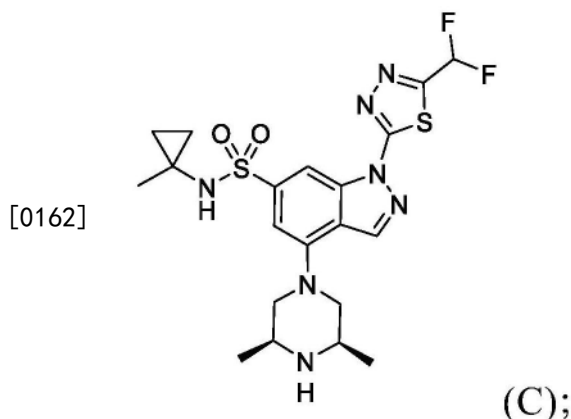
[0157] 实施方案8.根据实施方案7所述的化合物,其为游离碱形式。

[0158] 实施方案9.根据实施方案7或8所述的化合物,其至少90%不含其他异构体。

[0159] 实施方案10.根据实施方案7或8所述的化合物,其至少95%不含其他异构体。

[0160] 实施方案11.根据实施方案7或8所述的化合物,其至少99%不含其他异构体。

[0161] 实施方案12.根据实施方案1所述的化合物,其由式 (C) 表示:



[0163] 或其药学上可接受的盐。

[0164] 实施方案13.根据实施方案12所述的化合物,其为游离碱形式。

[0165] 实施方案14.根据实施方案12或13所述的化合物,其至少90%不含其他异构体。

[0166] 实施方案15.根据实施方案12或13所述的化合物,其至少95%不含其他异构体。

[0167] 实施方案16.根据实施方案12或13所述的化合物,其至少99%不含其他异构体。

[0168] 实施方案17.一种药物组合物,其包含根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,和药学上可接受的赋形剂。

[0169] 实施方案18.一种治疗患者中涉及PARG活性的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物。实施方案18A.根据实施方案18所述的方法,其中所述患者被识别为需要此类治疗并且所述疾病或病症是癌症。实施方案18B.根据实施方案18所述的方法,其中所述疾病或病症是癌症。实施方案18B.根据实施方案18A或18B所述的方法,其中所述癌症是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、肺癌、宫颈癌、前列腺癌或胰腺癌。

[0170] 实施方案19.一种治疗在有此需要的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物。

[0171] 实施方案20.根据实施方案19所述的方法,其中所述癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。实施方案20A.根据实施方案19所述的方法,其中所述癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。实施方案20B.根据实施方案19所述的方法,其中所述癌症是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、肺癌、宫颈癌、前列腺癌或胰腺癌。

[0172] 实施方案21.根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物,其用于治疗中。

[0173] 实施方案22.根据实施方案21所述的化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其中所述治疗是癌症的治疗。

[0174] 实施方案23.根据实施方案22所述的化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其中所述癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。实施方案23A.根据实施方案22所述的化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其中所述癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。实施方案23B.根据实施方案22所述的化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物,其中所述癌症是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、肺癌、宫颈癌、前列腺癌或胰腺癌。

[0175] 实施方案24.根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,

或根据实施方案17所述的药物组合物在制备用于治疗的药物中的用途。

[0176] 实施方案25.根据实施方案24所述的用途,其中所述治疗是癌症的治疗。

[0177] 实施方案26.根据实施方案25所述的用途,其中所述癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。实施方案26A.根据实施方案25所述的用途,其中所述癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。实施方案26B.根据实施方案25所述的用途,其中所述癌症是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、肺癌、宫颈癌、前列腺癌或胰腺癌。

[0178] 实施方案27.一种体内抑制PARG的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物。实施方案27A.根据实施方案27所述的方法,其中所述患者被识别为需要此类治疗。

[0179] 实施方案28.一种在体外或体内抑制细胞增殖的方法,所述方法包括将细胞与有效量的根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物接触。实施方案28A.一种在体外或体内抑制细胞增殖的方法,所述方法包括将样品与有效量的根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物接触。

[0180] 实施方案29.一种在有此需要的患者中治疗对一种或多种PARP抑制剂抗性的癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或实施方案17所述的药物组合物。实施方案29A.根据实施方案29所述的方法,其中所述患者被识别为需要此类治疗。实施方案29B.根据实施方案29所述的方法,其中所述患者被确定为对一种或多种PARP抑制剂抗性。实施方案29C.根据实施方案29所述的方法,其中所述患者被诊断为对一种或多种PARP抑制剂抗性。实施方案29D.根据实施方案29、29A、29B或29C中任一项所述的方法,其中所述一种或多种PARP抑制剂是他拉唑帕利、奥拉帕利、维利帕尼、鲁卡帕尼、尼拉帕利、AZD5303、AZD9574或其药学上可接受的盐。

[0181] 实施方案30.根据实施方案29、29A、29B、29C或29D中任一项所述的方法,其中所述癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。实施方案30A.根据实施方案29、29A、29B、29C或29D中任一项所述的方法,其中所述癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。实施方案30B.根据实施方案29、29A、29B、29C或29D中任一项所述的方法,其中所述癌症是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、肺癌、宫颈癌、前列腺癌或胰腺癌。

[0182] 实施方案31.一种在有此需要的患者中治疗对一种或多种铂类药物抗性的癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物。实施方案31A.根据实施方案31所述的方法,其中所述患者被识别为需要此类治疗。实施方案31B.根据实施方案31所述的方法,其中所述患者被确定为对一种或多种铂类药物抗性。实施方案31C.根据实施方案31所述的方法,其中所述患者被诊断为对一种或多种铂类药物抗性。实施方案31D.根据实施方案31、31A、31B或31C中任一项所述的方法,其中所述一种或多种铂类药物包括顺铂、卡铂、赛特铂、庚铂、吡铂、奈达铂、三核铂、顺铂脂质体或奥沙利铂,或其药学上可接受的盐。

[0183] 实施方案32.根据实施方案31、31A、31B、31C或31D所述方法,其中所述癌症是卵巢癌、胃癌或乳腺癌。实施方案32A.根据实施方案31、31A、31B、31C或31D所述的方法,其中所

述癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。实施方案32B.根据实施方案31、31A、31B、31C或31D所述的任一方法,其中所述癌症是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、肺癌、宫颈癌、前列腺癌或胰腺癌。

[0184] 实施方案33.一种治疗和/或预防同源重组缺陷(HRD)癌症的方法,其包括向患者施用治疗有效量的根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物。实施方案33A.根据实施方案33所述的方法,其中所述患者被识别为需要此类治疗。

[0185] 实施方案34.根据实施方案33或33A所述的方法,其中所述HRD癌症是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、前列腺癌或胰腺癌。实施方案34A.根据实施方案33或33A所述的方法,其中所述HRD癌症是乳腺癌、卵巢癌或胃癌。实施方案34B.根据实施方案33或33A所述的方法,其中所述HRD癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。

[0186] 实施方案35.一种治疗和/或预防患者的癌症的方法,其中所述癌症特征在于BRCA1和/或BRCA2基因表达的减少或缺失、BRCA1和/或BRCA2基因的缺失或突变或者BRCA1和/或BRCA2蛋白功能的降低,该方法包括向所述患者施用治疗有效量的根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物。实施方案35A.根据实施方案35所述的方法,其中所述患者被识别为需要此类治疗。

[0187] 实施方案36.根据实施方案35或35A所述的方法,其中所述癌症是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、前列腺癌或胰腺癌。实施方案36A.根据实施方案35或35A所述的方法,其中所述HRD癌症是乳腺癌、卵巢癌或胃癌。实施方案36B.根据实施方案35或35A所述的方法,其中所述HRD癌症是肺癌、宫颈癌或胰腺癌。

[0188] 实施方案37.一种用于癌症治疗的PARG抑制剂,其中所述PARG抑制剂是根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物。

[0189] 实施方案38.一种PARG抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中所述PARG抑制剂是根据实施方案1至16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,或根据实施方案17所述的药物组合物。

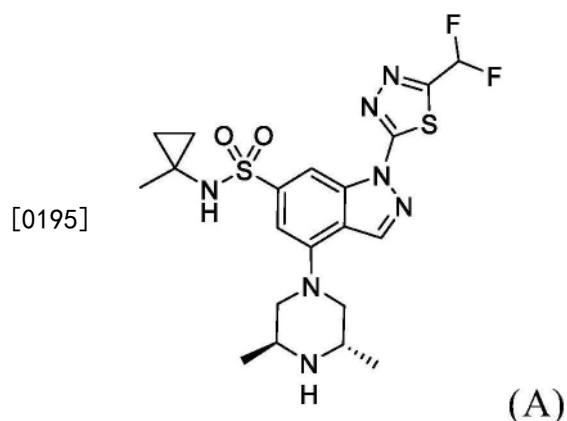
[0190] 应当理解,当某一实施方案从属于,例如,实施方案1至4时,其从属于实施方案1、2、3、3A和4。因此,当列出多个从属关系时,列出范围内的所有实施方案均包括在内(包括以“A”、“B”或其他字母结尾的实施方案)。

[0191] 实施例

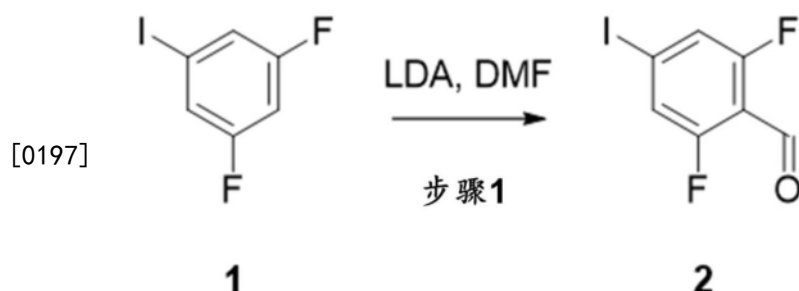
[0192] 以下实施例是为了向本领域普通技术人员提供关于如何制造和使用本发明的完整公开和描述而提出的,并非旨在限制本发明人视为其发明的范围,也非旨在表示进行了以下实验或它们是可以进行的所有实验。应理解,不必执行以现在时态书写的示例性描述,而是可以执行描述以生成其中所述性质的数据等。已尽力确保使用的数字(例如,数量、温度等)的准确性,但可能存在一些实验误差和偏差。

[0193] 合成实施例

[0194] 实施例1:式(A)化合物的制备

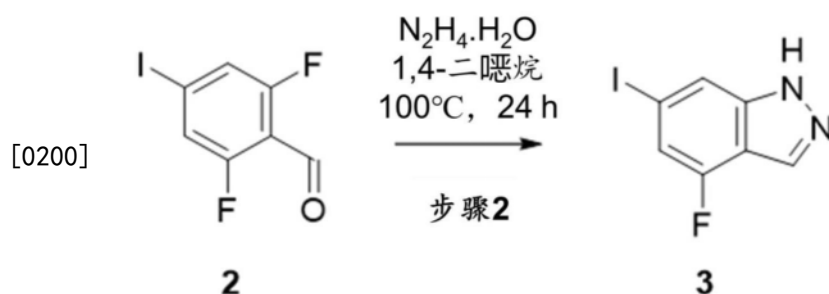


[0196] 步骤1:制备2,6-二氟-4-碘苯甲醛



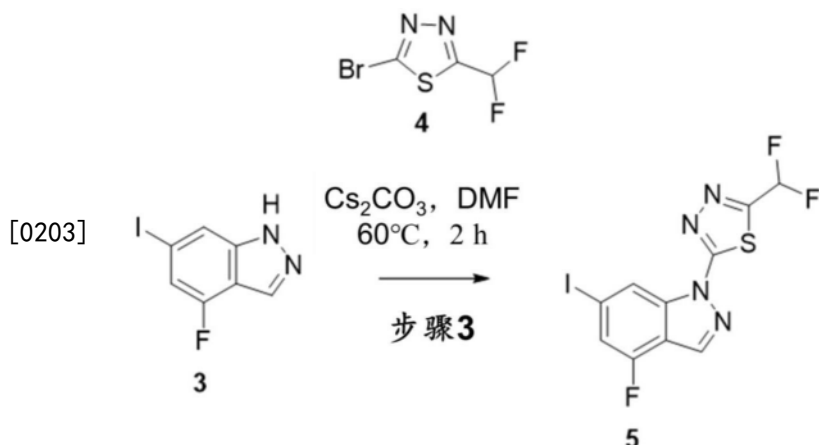
[0198] 在-78℃下,向1,3-二氟-5-碘苯(化合物1) (50g,208.3mmol,Oakwood Chemical, CAS2265-91-0,目录编号#024566)在THF (500mL)中的搅拌溶液加入LDA (80mL,625.0mmol)和DMF (48.3mL,625mmol),并在-78℃下搅拌2h。起始物完全反应后,用水 (500mL) 稀释反应混合物,并用EtOAc (2×300mL) 萃取,用盐水溶液 (200mL) 洗涤合并的有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩滤液,得到油状的粗产物。通过柱色谱用硅胶 (100-200) 纯化粗产物,并用20%EtOAc/正己烷梯度洗脱。用30%EtOAc/正己烷梯度洗脱产物。减压浓缩纯化级分,得到固体状的2,6-二氟-4-碘苯甲醛 (化合物2) (23g)。¹H NMR (500MHz,氯仿-d) δ:10.29 (s, 1H), 7.37-7.46 (m, 2H)。

[0199] 步骤2:制备4-氟-6-碘-1H-吡唑



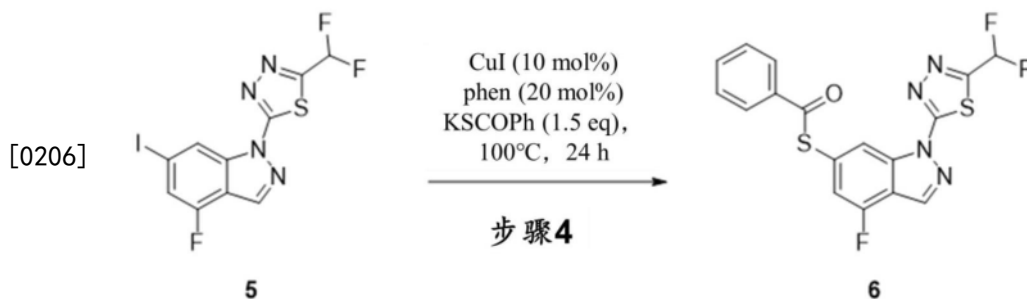
[0201] 在RT下向2,6-二氟-4-碘苯甲醛 (化合物2) (5g,18.6mmol)在1,4-二噁烷 (110mL)中的搅拌溶液加入肼水合物 (18.6mL,373.1mmol),并将所得混合物在100℃下搅拌24h。减压浓缩反应混合物,并加入冰水 (100mL)。搅拌混合物30min,在此期间固体析出。过滤混合物后。用水 (100mL) 和正戊烷 (50mL) 洗涤固体,并真空干燥,得到固体状的产物4-氟-6-碘-1H-吡唑 (化合物3) (2.3g)。MS ESI C₇H₄FIN₂[M+H]⁺计算值262.94.,实测值262.99。¹H NMR (CDCl₃,400MHz):10.12 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.15 (dd, J=9Hz, 1H)。

[0202] 步骤3:制备2-(二氟甲基)-5-(4-氟-6-碘-1H-吡唑-1-基)-1,3,4-噻二唑



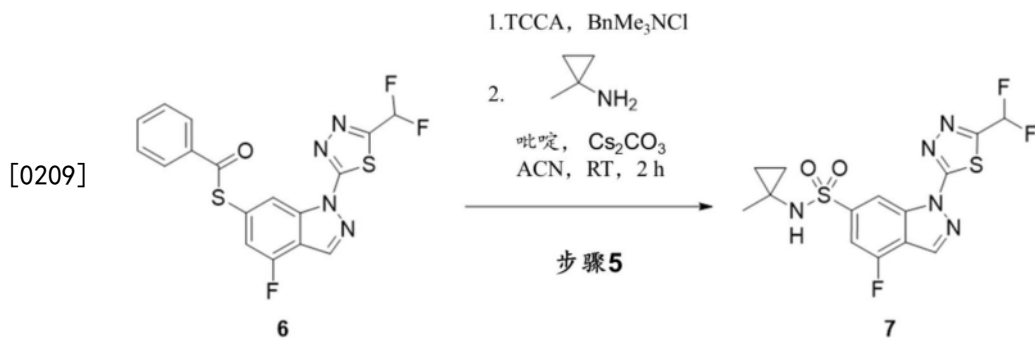
[0204] 向4-氟-6-碘-1H-吡唑 (化合物3) (5g, 19.0mmol) 在DMF (50mL) 中的搅拌溶液加入碳酸铯 (18.6g, 57.24mmol) 和2-溴-5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑 (化合物4) (3.8g, 18.1mmol, Enamine Stock Building Blocks, CAS1340313-49-6, 目录编号#EN300-108825)。在60℃搅拌所得混合物2h。通过TLC监控反应进程。用冰水 (50mL) 淬灭反应混合物, 并搅拌30min, 在此期间固体析出。过滤混合物。用水 (100mL) 和随后的正戊烷 (100mL) 洗涤收集的固体, 并真空干燥, 得到固体状的产物2-(二氟甲基)-5-(4-氟-6-碘-1H-吡唑-1-基)-1,3,4-噻二唑 (化合物5) (4.2g)。MS ESI $\text{C}_{10}\text{H}_4\text{F}_3\text{IN}_4\text{S}[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值396.92., 实测值396.91. ^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz): 8.87 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.40 (dd, $J=17\text{Hz}$, 1H), 7.0 (t, $J=53.5\text{Hz}$, 1H) .。

[0205] 步骤4: 制备S-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-氟-1H-吡唑-6-基) 硫代苯甲酸酯



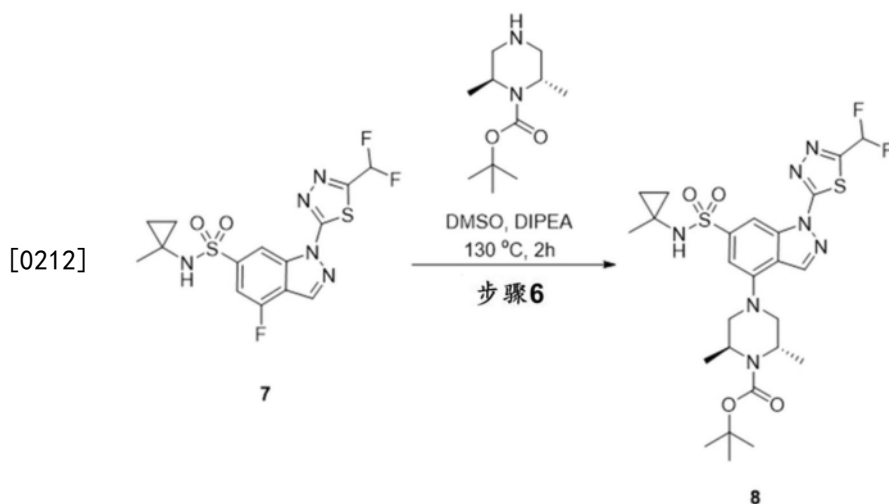
[0207] 在室温下向脱气5min的2-(二氟甲基)-5-(4-氟-6-碘-1H-吡唑-1-基)-1,3,4-噻二唑 (化合物5) (100mg, 0.25mmol) 在甲苯 (1mL) 中的搅拌溶液加入CuI (5mg, 0.025mmol)、1,10-菲咯啉 (11mg, 0.05mmol) 和硫代苯甲酸钾 (67mg, 0.378mmol)。在100℃下搅拌所得混合物16h。通过LCMS监控反应进程。通过柱色谱用硅胶 (100-200) 纯化粗混合物, 并用10% EtOAc/正己烷梯度洗脱。收集纯化级分, 并减压浓缩, 得到固体状的S-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-氟-1H-吡唑-6-基) 硫代苯甲酸酯 (化合物6) (55mg)。MS ESI $\text{C}_{17}\text{H}_9\text{F}_3\text{N}_4\text{OS}_2[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值407.02., 实测值407.01. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): 8.68 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.03 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.64 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.53 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.27 (s, 1H), 6.99 (t, $J=53.2\text{Hz}$, 1H) .。

[0208] 步骤5: 制备N-(1-氰基环丙基)-1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-氟-1H-吡唑-6-磺酰胺



[0210] 在0℃下,向S-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-氟-1H-吡唑-6-基)硫代苯甲酸酯(化合物6)(500mg,1.23mmol)在乙腈(10mL)中的搅拌溶液加入BnMe₃NCl(682mg,3.69mmol)和TCCA(三氯异氰尿酸)(370mg,1.59mmol)的乙腈(40mL)溶液。搅拌反应混合物20min。然后在0℃下向反应混合物中加入1-甲基环丙-1-胺(1.71g,7.38mmol,Combi-Blocks,CAS22936-83-0,目录编号#QH-3639)的吡啶(2.5mL)溶液和碳酸铯(198mg,0.61mmol),并在室温下搅拌2h。通过LCMS监控反应进展。LCMS显示起始材料(S-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-氟-1H-吡唑-6-基)硫代苯甲酸酯)(化合物6)完全消耗。用水(50mL)稀释反应混合物,并用EtOAc(2×30mL)萃取。用盐水(20mL)洗涤合并的有机层,并用无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩滤液,得到粗产物。通过柱色谱用硅胶(100-200)纯化粗产物,用5%至50%EtOAc/正己烷梯度洗脱。用20%EtOAc/正己烷梯度洗脱产物。收集纯化级分并减压浓缩,得到1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-氟-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(化合物7)(90mg)。MS ESI C₁₄H₉F₃N₆O₂S₂[M+H]⁺计算值404.04.,实测值404.18。¹H NMR(CDCl₃,400MHz):9.00(s,1H),8.80(s,1H),8.54(s,1H),7.63(t,J=48.8Hz,2H),1.10(s,3H),0.65(s,2H),0.44(s,2H)。

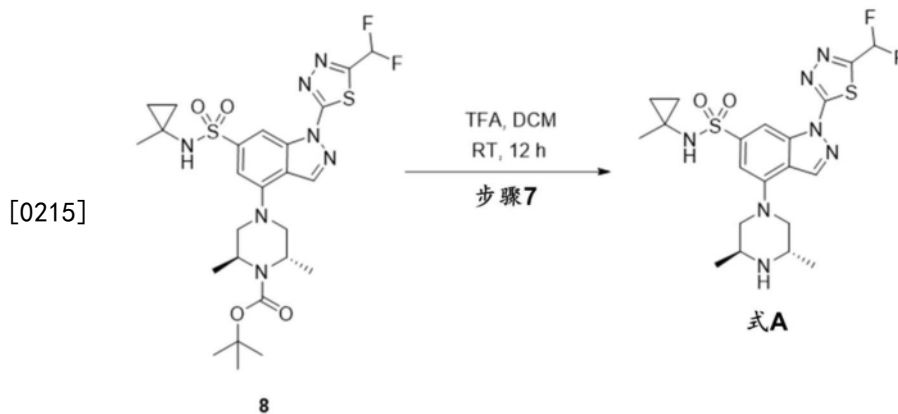
[0211] 步骤6:制备(2S,6S)-4-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-6-(N-(1-甲基环丙基)氨基磺酰基)-1H-吡唑-4-基)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯



[0213] 向1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-氟-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(化合物7)(80mg,0.19mmol)在DMSO(2mL)中的搅拌溶液加入(2S,6S)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(85mg,0.39mmol,BLD Pharmatech,CAS 574007-66-2,目录编号#BD233798)和DIPEA(N,N-二异丙基乙胺)(0.1mL,0.59mmol),并将反应混合物在130℃下搅拌2h。用冰水(20mL)淬灭反应混合物,并搅拌30min。过滤所得固体,用水(10mL)洗涤,真空

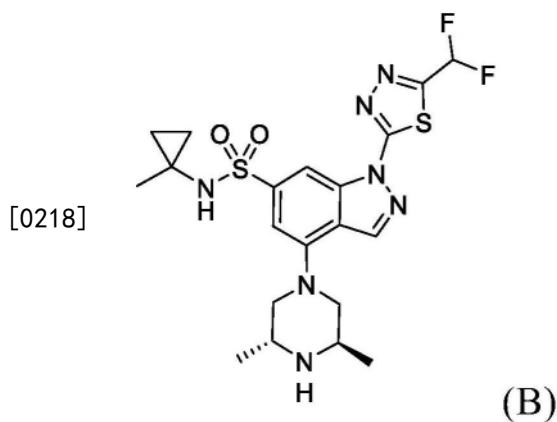
干燥,并通过柱色谱在硅胶(100-200)上纯化,用50%EtOAc/正己烷梯度洗脱,减压浓缩纯化级分,得到固体状的(2S,6S)-4-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-6-(N-(1-甲基环丙基)氨基磺酰基)-1H-吡唑-4-基)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(化合物8)(110mg,产率:92%)。MS ESI $C_{25}H_{33}F_2N_7O_4S_2$ $[M+H]^+$ 计算值598.20,实测值598.26。

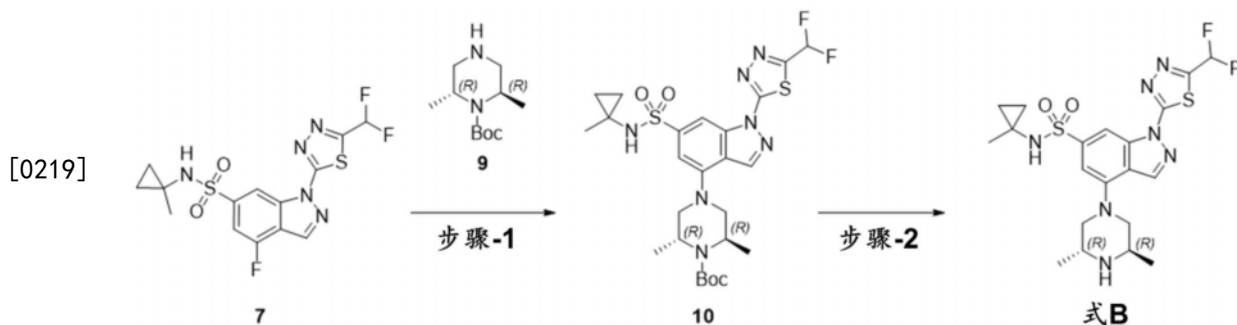
[0214] 步骤7:制备1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-((3S,5S)-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(式A)



[0216] 在0℃下向(2S,6S)-4-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-6-(N-(1-甲基环丙基)氨基磺酰基)-1H-吡唑-4-基)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(化合物8)(100mg,0.16mmol)在DCM(3mL)中的搅拌溶液加入三氟乙酸(0.07mL,0.98mmol),并将反应混合物在室温下搅拌12h。减压浓缩反应混合物,通过Prep HPLC纯化(Prep HPLC条件:流动相—10mM碳酸氢铵的H₂O:MeCN溶液;柱—Inertsil ODS(20X250)mm 5u;流速:18mL/min;梯度方法:0/50,9.5/82,9.55/99,11.5/99,11.55/50,14.5/50;溶解性:可溶;级分体积:100mL)进行纯化,得到固体状的1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-((3S,5S)-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(式A)(18mg,产率:21%)。MS ESI $C_{20}H_{25}F_2N_7O_2S_2$ $[M+H]^+$ 计算值498.15,实测值498.34。¹H NMR(DMSO-d₆,400MHz): δ (ppm) 8.75(s,1H),8.40(s,1H),8.31(s,1H),7.59(t,J=52.8Hz,1H),7.10(d,J=1.0Hz,1H),3.37(br dd,J=11.5,2.9Hz,2H),3.22-3.30(m,2H),3.08(br dd,J=11.7,6.1Hz,2H),1.17(d,J=6.4Hz,6H),1.08(s,3H),0.58-0.76(m,2H),0.29-0.49(m,2H)。

[0217] 实施例2:式(B)化合物的制备





[0220] 步骤1:制备(2R,6R)-4-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-6-(N-(1-甲基环丙基)氨基磺酰基)-1H-吡唑-4-基)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯

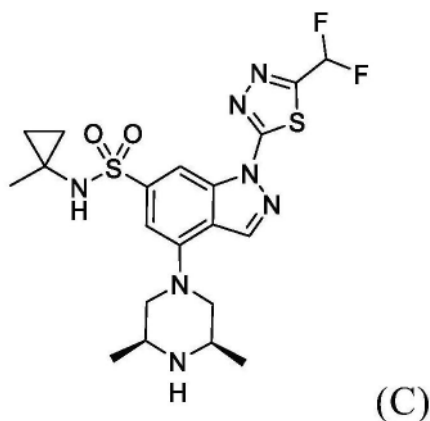
[0221] 在室温下,向1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-氟-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(化合物7)(0.25g,0.62mmol)在DMSO(2mL)中的搅拌溶液加入DIPEA(0.31mL,1.859mmol)和(2R,6R)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(化合物9)(0.266g,1.239mmol,Pharmablock,CAS 574007-62-8,产品型号:PB05909)。反应混合物在110℃下搅拌16h。用水(50mL)淬灭反应混合物,并用EtOAc(2×50mL)萃取。用硫酸钠干燥合并的有机层,过滤并减压浓缩。通过快速色谱(条件:流动相(A):正己烷;流动相(B):EtOAc;柱:硅胶(40g);方法:梯度)纯化粗化合物。减压浓缩纯化级分,得到灰白色固体状的(2R,6R)-4-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-6-(N-(1-甲基环丙基)氨基磺酰基)-1H-吡唑-4-基)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(化合物10)(0.21g,产率:57%)。MS ESI $C_{25}H_{33}F_2N_7O_4S_2$ $[M-H]^+$ 计算值596.20,实测值596.62。

[0222] 步骤2:制备1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-((3R,5R)-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(式B)

[0223] 在0℃下向(2R,6R)-4-(1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-6-(N-(1-甲基环丙基)氨基磺酰基)-1H-吡唑-4-基)-2,6-二甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯(化合物10)(0.2g,0.335mmol)在DCM(5mL)中的搅拌溶液加入三氟乙酸(0.1mL,1.338mmol)。反应混合物在室温下搅拌3h。用饱和碳酸氢钠溶液(50mL)淬灭反应,并用EtOAc(2×50mL)萃取。用硫酸钠干燥合并的有机层,过滤并减压浓缩,得到浅黄色固体状的1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-((3R,5R)-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(式B)(130mg,产率:89.2%)。MS ESI $C_{20}H_{25}F_2N_7O_2S_2$ $[M+H]^+$ 计算值498.15,实测值498.30。 ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6): δ (ppm)8.75(s,1H),8.40(s,1H),8.31(s,1H),7.60(t,J=53.0Hz,1H),7.11(s,1H),3.30-3.42(m,4H),3.05-3.15(m,2H),1.15-1.28(m,7H),1.07(s,3H),0.60-0.70(m,2H),0.38(s,2H)。

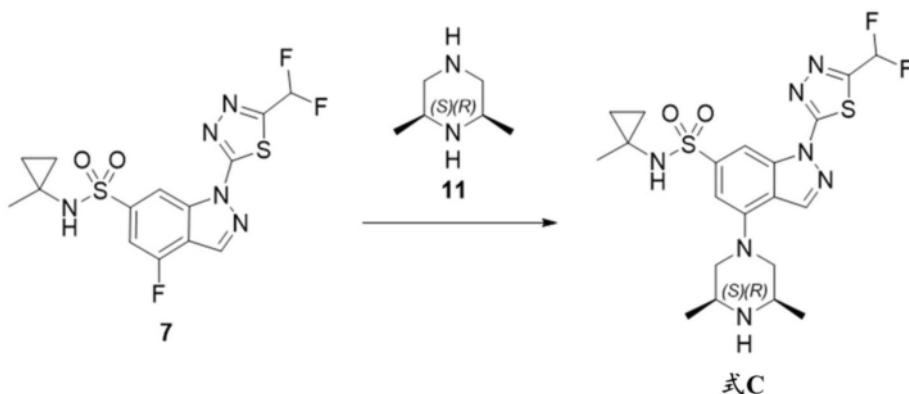
[0224] 实施例3:式(C)化合物的制备

[0225]



[0226] 制备1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-((3S,5R)-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(式(C))

[0227]



[0228] 将1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-氟-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(化合物7)(12.0g, 29.7mmol)和顺式-2,6-二甲基哌嗪(化合物11)(8.49g, 74.4mmol)(Combi-Blocks, CAS21655-48-1, 目录编号:0R-0130)的NMP(120mL)溶液在 N_2 保护下于50℃搅拌18h。将反应混合物冷却至RT(25℃), 并将其与另一批使用1.0g化合物7的反应混合物合并。在25℃以下向合并的反应混合物中缓慢加入水(260mL), 并搅拌2h。过滤反应混合物, 并用水(26mL)洗涤固体, 得到浅黄色固体状的1-(5-(二氟甲基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-4-((3S,5R)-3,5-二甲基哌嗪-1-基)-N-(1-甲基环丙基)-1H-吡唑-6-磺酰胺(式C)(15.6g)。MS ESI $C_{20}H_{25}F_2N_7O_2S_2$ $[M+H]^+$ 计算值498.15, 实测值498.04。 ^1H NMR(DMSO- d_6 , 400MHz): δ (ppm) 8.89(d, $J=0.7$ Hz, 1H), 8.42(s, 1H), 8.31(s, 1H), 7.59(t, $J=53.2$ Hz, 1H), 7.12(d, $J=1.2$ Hz, 1H), 3.66(br d, $J=10.0$ Hz, 2H), 2.94-3.11(m, 2H), 2.43-2.49(m, 2H), 2.23-2.30(m, 1H), 1.07(d, $J=5.4$ Hz, 9H), 0.61-0.71(m, 2H), 0.35-0.44(m, 2H)。

[0229] 生物学实施例

[0230] 实施例1: PARG酶抑制试验(TR-FRET)

[0231] 酶 EC_{50} 试验

[0232] 在微量滴定板中, 将PARG酶与化合物或溶剂(DMSO)和生物素化的PAR化PARP-1底物一起孵育。加入检测抗体和链霉亲和素-铑后继续孵育, 读取板的荧光强度。低对照(DMSO)具有低荧光强度, 代表无酶活性抑制; 而高对照(无酶)具有高荧光强度, 代表酶活性完全抑制。

[0233] 材料:

- [0234] 酶:
- [0235] • PARG
- [0236] ohPARG:250pM,1-976,His标记,Proteos,2.0mg/mL (17.9 μ M)
- [0237] o底物:30nM
- [0238] o测试化合物/酶预孵育时间:1hr
- [0239] o酶/底物反应时间:10分钟底物:hPARP1,His6-TEV标记,1.2mg/mL (10.3 μ M)
- [0240] 检测抗体:抗-His单克隆抗体-ULight,Perkin Elmer目录编号#TRF0134-M
- [0241] 链霉亲和素-铂:Perkin Elmer目录编号#AD0062
- [0242] 试验缓冲液:50mM Tris-HCL pH 7.4,50mM KCL,3mM EDTA,0.4mM EGTA,1mM DTT,0.01% Tween 20,0.01% BSA
- [0243] 温度:23 $^{\circ}$ C
- [0244] 总反应体积:20 μ L
- [0245] 对照:
- [0246] • 0%抑制:DMSO
- [0247] • 100%抑制:无酶
- [0248] 酶反应与检测:
- [0249] 1.将200nL的100 $\times$ 化合物或DMSO转移至384孔白色聚苯乙烯微量滴定板的合适孔(Corning目录编号#3574)。
- [0250] 2.将10 μ L 2 $\times$ 终浓度酶的试验缓冲液溶液或仅试验缓冲液转移至合适孔。
- [0251] 3.将板在1000rpm下离心30秒。
- [0252] 4.在室温下孵育板1小时。
- [0253] 5.将10 μ L 2 $\times$ 底物的试验缓冲液溶液加入所有测试孔。
- [0254] 6.在室温下孵育10分钟。
- [0255] 7.将10 μ L 3 $\times$ 42nM检测抗体和2.25nM链霉亲和素-铂的混合物的50mM Tris-HCL溶液(pH7.4)转移至所有测试孔。
- [0256] 8.在室温下孵育板1小时。
- [0257] 9.在读板仪(Envision)上读取。
- [0258] 激发波长:317nm
- [0259] 发射波长:620nm
- [0260] 发射波长:665nm
- [0261] 数据分析:
- [0262] 在Collaborative Drug Discovery Vault(CDD)中计算EC₅₀值。曲线由CDD根据响应(%)与化合物浓度(μ M)的关系,通过使用公式1的4-参数抑制模型进行拟合。
- [0263] 公式1:
- [0264]
$$\text{Fit} = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$$
- [0265]
$$\text{Res} = (y - \text{fit})$$
- [0266] 下面的表1提供了式(A)、式(B)、式(C)和一些比较化合物的TR-FRET EC₅₀值。
- [0267] 实施例2
- [0268] 细胞活性试验

[0269] 在以下两种细胞系中确定了本文公开的化合物抑制PARG的能力:RMUGS-NucLight Red和SNU601-NucLight Red。RMUGS-NucLight Red和SNU601-NucLight Red细胞是用Incucyte® NucLight Red慢病毒(Sartorius,目录编号:4476)稳定转导亲代细胞(RMUGS-JCRB Cell Bank,目录编号:IF050320;SNU601-Korean Cell Line Bank,目录编号:00601)而产生的。下面描述了这两种细胞系的实验步骤。

[0270] SNU601-NucLight Red:

[0271] 将细胞以200个细胞/孔接种于具有透明平底384孔黑板中。24小时后,使用Incucyte® S3活细胞分析系统对板进行成像,对每孔活细胞数(Day 0)进行计数。使用Tecan数字分液器加入测试化合物,生成具有3倍稀释梯度、最高浓度为10 μ M的9点剂量曲线。所有处理均以三个重复进行。孵育7天后,使用Incucyte® S3系统对板进行成像,对每孔活细胞数(Day 7)进行计数。对板中的每个孔,将第7天的活细胞数标准化至第0天的细胞数(Day 7/Day 0)。计算板内DMSO处理孔的平均值。将所有数据点标准化至DMSO平均值。将每个样品的对照%与DMSO处理的对照样品进行比较。在Collaborative Drug Discovery vault (CDD)中计算EC₅₀值。曲线由CDD根据对照%与log[化合物浓度]关系,使用四参数抑制模型(Levenberg-Marquardt算法)进行拟合:

[0272]
$$\text{Fit} = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$$

[0273]
$$\text{Res} = (y - \text{fit})$$

[0274] 当从结果数据中观察到明显的双相行为时,在GraphPad Prism软件中使用以下公式计算主要响应部分的EC₅₀:

[0275]
$$\text{Span} = \text{Top} - \text{Bottom}$$

[0276]
$$\text{Section1} = \text{Span} * \text{Frac} / (1 + 10^{((\text{LogEC50}_1 - X) * nH1)})$$

[0277]
$$\text{Section2} = \text{Span} * (1 - \text{Frac}) / (1 + 10^{((\text{LogEC50}_2 - X) * nH2)})$$

[0278]
$$Y = \text{Bottom} + \text{Section1} + \text{Section2}$$

[0279] Frac=标准化曲线中,从顶部(top,100)到底部(bottom,0)之间更高效反应的分数

[0280] EC_{50_1}, EC_{50_2}=各部分各自的响应曲线1和2的EC₅₀

[0281] nH1, nH2=各部分各自响应曲线1和2的标准化Hill斜率

[0282]
$$X = \log(\text{浓度})$$

[0283] RMUGS-NucLight Red:

[0284] 将细胞以1000个细胞/孔接种于具有透明平底96孔黑板中。24h后,使用Incucyte® S3活细胞分析系统对板进行成像,对每孔活细胞数(Day 0)进行计数。使用Tecan数字分液器加入测试化合物,生成具有3倍稀释梯度、最高浓度为10 μ M的9点剂量曲线。所有处理均以两个重复进行。孵育7天后,使用Incucyte® S3系统对板进行成像,对每孔活细胞数(Day 7)进行计数。对板中的每个孔,将第7天的活细胞数标准化至第0天的活细胞数(Day 7/Day 0)。计算板内DMSO处理孔的平均值。将所有数据点标准化至DMSO平均值。将每个样品的对照%与DMSO处理的对照样品进行比较。在Collaborative Drug Discovery vault (CDD)中计算EC₅₀值。曲线由CDD根据对照%与log[化合物浓度]关系,使用四参数抑制模型(Levenberg-Marquardt算法)进行拟合:

[0285] $\text{Fit} = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$

[0286] $\text{Res} = (y - \text{fit})$

[0287] 下面的表1提供了式(A)、式(B)、式(C)和一些比较化合物在SNU601-NucLight Red和RMUGS-NucLight Red中的结果。

[0288] 实施例3

[0289] 在PBS pH 2.0和pH 7.4中的动力学溶解度测定

[0290] 动力学溶解度试验

[0291] 材料

[0292] 酶:

[0293] • 对照化合物双氯芬酸钠(批号#BCBW9128),购自Sigma Chemical Co.

[0294] • 1.5mL玻璃平底小瓶(BioTech Solutions)

[0295] • 模压PTFE/SIL塞子(BioTech Solutions)

[0296] • PTFE包覆的搅拌棒(V&P Scientific)

[0297] • MultiScreenHTS HV (0.45 μ m) 96孔板(Millipore, MSHVN4510或MSHVN4550)

[0298] • Eppendorf Thermomixer Comfort

[0299] • 真空歧管ORVMN96

[0300] • 在实验室中制备的PBS (pH 2.0和pH 7.4)

[0301] 对照:

[0302] • 双氯芬酸钠(批号#BCBW9128),Sigma Chemical Co.

[0303] 动力学溶解度实验步骤:

[0304] 1. 制备储备溶液:在DMSO中配制测试化合物和对照化合物双氯芬酸钠的储备溶液,浓度分别为30mM和10mM。

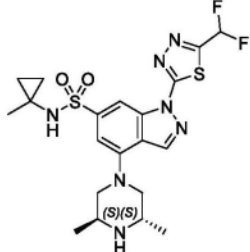
[0305] 2. 溶解度测定步骤:将10 μ L测试化合物的储备液(30mM)按顺序置于各自的适当96孔板架中,向每个无盖溶解度样品板的小瓶中加入20 μ L DMSO和970 μ L pH 2.0或pH 7.4的PBS;将30 μ L对照化合物的储备液(10mM)按顺序置于各自的适当96孔板架中,向每个无盖溶解度样品板的小瓶中加入970 μ L pH 2.0或pH 7.4的PBS。实验以两个重复进行。向每个小瓶中加入一根搅拌棒,并使用模压PTFE/硅胶塞密封。然后,将溶解度样品板转移至Eppendorf Thermomixer Comfort板式摇床,在25 $^{\circ}$ C下以1100RPM振荡24h。完成24h后,取下塞子,使用大磁铁移出搅拌棒,将溶解度样品板中的样品转移到过滤板。使用真空歧管对所有样品进行过滤。从滤液中取出10 μ L等份,随后加入990 μ L的H₂O和乙腈混合物(体积比1:1)。将200 μ L稀释液转移到新的96孔板中,进行LC-MS/MS分析。根据溶解度值和LC-MS信号响应调整稀释倍数。

[0306] 3. 制备3 μ M标准溶液(STD):从10mM或30mM DMSO STD板中转移15 μ L或5 μ L至剩余空板中,然后加入485 μ L或495 μ L DMSO,制备浓度为300 μ M的STD。从300 μ M DMSO STD板中转移5 μ L至剩余空板中,加入495 μ L的H₂O和乙腈混合物(体积比1:1),制备终浓度为3 μ M的STD。转移200 μ L稀释液至新的96孔板,进行LC-MS/MS分析。根据LC-MS信号响应对标准样品浓度进行调整。

[0307] 4. 样品分析步骤:将板放入孔板自动进样器中。通过LC-MS/MS分析对样品进行评估。

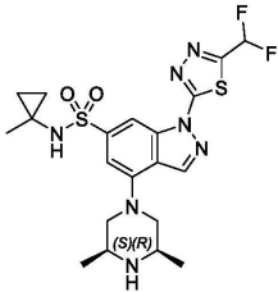
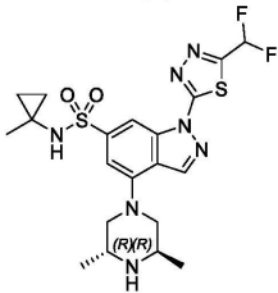
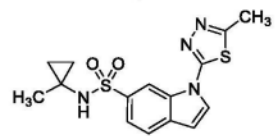
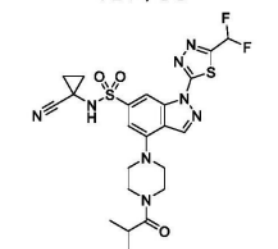
[0308] 下面的表1提供了式(A)、式(B)、式(C)和一些比较化合物的溶解度值:

[0309] 表1

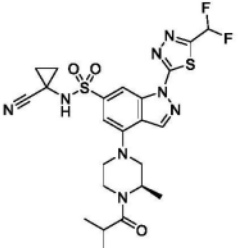
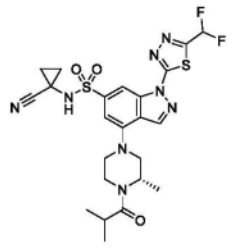
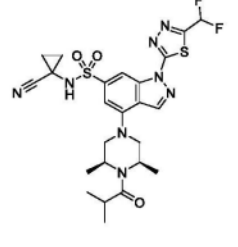
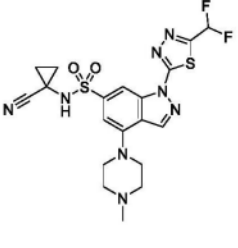
化合物	TR-FRET EC ₅₀ (nM)	细胞活性 SNU601 EC ₅₀ (nM)	细胞活性 RMUGS EC ₅₀ (nM)	溶解度 pH 2.0 (μM)	动力学溶 解度 pH 7.4 (μM)
式(A) 	1.9	11	4.2	282 (n = 2)	42 (n = 1)

[0310]

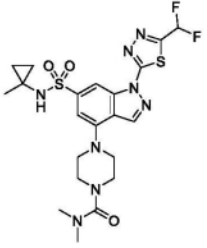
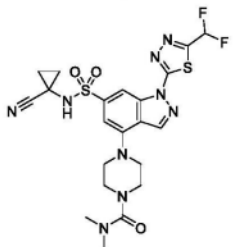
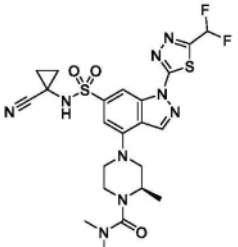
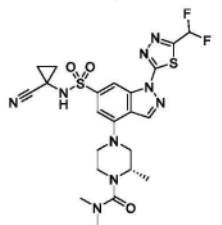
[0311]

化合物	TR-FRET EC ₅₀ (nM)	细胞活性 SNU601 EC ₅₀ (nM)	细胞活性 RMUGS EC ₅₀ (nM)	溶解度 pH 2.0 (μM)	动力学溶 解度 pH 7.4 (μM)
式(C) 	15	27	11	271 (n = 1)	31 (n = 1)
式(B) 	51	89	32	261* (n = 1)	41* (n = 1)
WO2016/097749 的实 施例 115 	> 10000	> 10000	> 10000	29* (n = 1)	24* (n = 1)
WO2021/055744 的实 施例 38 	19	104	64	1.1* (n = 2)	2.1* (n = 2)

[0312]

化合物	TR-FRET EC ₅₀ (nM)	细胞活性 SNU601 EC ₅₀ (nM)	细胞活性 RMUGS EC ₅₀ (nM)	溶解度 pH 2.0 (μM)	动力学溶 解度 pH 7.4 (μM)
WO2021/055744 的实 施例 82 	39	146	75	2.1* (n = 2)	5.6* (n = 2)
WO2021/055744 的实 施例 88 	76	184	137	3.4* (n = 1)	8.0* (n = 1)
WO2021/055744 的实 施例 89 	79	178	101	< 0.03* (n = 1)	< 0.03* (n = 1)
WO2021/055744 的实 施例 102 	201	1577	439	289* (n = 2)	2.7* (n = 2)

[0313]

化合物	TR-FRET EC ₅₀ (nM)	细胞活性 SNU601 EC ₅₀ (nM)	细胞活性 RMUGS EC ₅₀ (nM)	溶解度 pH 2.0 (μM)	动力学溶 解度 pH 7.4 (μM)
WO2021/055744 的实 施例 24 	7.3	36	8.3	0.2* (n = 1)	0.3* (n = 1)
WO2021/055744 的实 施例 43 	6.6	81	49	1.00* (n = 2)	1.4* (n = 2)
WO2021/055744 的实 施例 35 	9.9	84	60	7.2* (n = 1)	14* (n = 1)
WO2021/055744 的实 施例 83 	14	110	77	7.8* (n = 1)	14* (n = 1)

[0314] 数据说明:几何平均值(完整数据集);*n<3(“n”为运行次数)实施例4

[0315] PARP抑制剂抗性和铂类药物抗性细胞系中的PARG抑制材料与方法

[0316] PARP抑制剂(PARPi)获得性耐药细胞系的生成

[0317] 使用了两种细胞系来产生PARPi耐药细胞系:HCC1428和MDA-MB-436。所有细胞系均在制造商建议的培养基中、在37℃和5%CO₂下培养。为了生成抗性细胞系,在每种细胞系中加入IC₅₀浓度的尼拉帕利(PARP抑制剂),并在3-4个月内逐步小幅增加至IC₉₀浓度,直至细胞系适应,形成抗性,并在高剂量尼拉帕利存在下开始增殖。这些细胞系用于图1和图2中公开的研究。

[0318] 细胞增殖试验

[0319] 对一组对PARP抑制剂显示出固有抗性的细胞系(如表2所示)进行鉴定,并利用两种获得性抗性细胞系(PARPi抗性细胞系:HCC1428和MDA-MB-436)中的细胞增殖试验测定式(A)的效果。在增殖试验中,细胞系被铺板至96孔板(Corning#3904),密度为1000个细胞/孔。使用TECAN液体分配器加入溶解于DMSO的化合物,生成3倍稀释,起始最高浓度为10μM的9点剂量曲线。经过5次群体倍增后,用5μM的Vybrant DyeCycle Green(Life Technologies#V35004)处理细胞,并孵育60min。随后用Incucyte®S3系统对DMSO和化合物处理的孔进行成像以确定核的数量。计数结果标准化至DMSO处理孔,使用GraphPad Prism软件中的标准四参数剂量响应方程确定IC₅₀值。

[0320] 在细胞活性试验中测试的患者来源细胞

[0321] 患者来源细胞(PDC)来自于具有BRCA1/2突变和顺铂抗性的患者的卵巢组织。这些细胞来源于手术/切除后得到的实体肿瘤样本,并在选择性培养基中进行2-D培养。对于每种PDC,当达到试验要求的细胞数量时,使用TrypLE解离细胞并计数。在铺板前将Draq7染料加入细胞中以识别死亡细胞。细胞被铺板至96孔板(Greiner#655090)中,并在37℃和5%CO₂下孵育16-24h。使用Tecan HP D300数字分液器以9点剂量曲线和3倍梯度稀释、30μM的起始浓度分配式(A)。在用化合物孵育7天后,用2%甲醛固定细胞并用Hoechst染色。使用Nexcelom Celigo高通量筛选对板进行扫描,并通过Hoechst标记分析总细胞数,并使用Draq7荧光分析细胞死亡情况。对于所有PDC,将细胞核计数标准化至DMSO处理的孔,并使用GraphPad Prism软件中的标准四参数剂量反应方程确定IC₅₀。如图3所公开,产生的细胞被用于本研究。

[0322] 结果:

[0323] PARPi固有和获得性抗性细胞系对式A敏感

[0324] 使用式A测试了PARG抑制对一组对PARP抑制剂具有固有抗性的癌细胞系的抗增殖作用。多种携带BRCA1/2功能丧失突变且对尼拉帕利耐药的细胞系对式A显示出敏感性(表2)。此外,在增殖试验中还测试了两种具有获得性PARPi抗性的乳腺癌细胞系MDA-MB-436和HCC1428。在MDA-MB-436中,式A在尼拉帕利抗性细胞系(11.8nM)中的效力是其在亲代细胞系(103nM)中的9倍(图1)。HCC1428 PARPi抗性细胞系保持了对式A的敏感性,IC₅₀为8nM(图2)。还在具有BRCA1突变和顺铂抗性的卵巢患者来源细胞(PDC)模型中对式A进行了测试。式A在该细胞系上具有抗增殖作用,IC₅₀值为260nM(图3)。

[0325] 表2

[0326]	PARPi抗性细胞系对式(A)的敏感性	谱系	BRCA1/2突变	式A IC ₅₀ (μM)	尼拉帕利IC ₅₀ (μM)

[0327]	细胞系				
	RMUG-S	卵巢	BRCA1/2	0.008	2.7
	Kuramochi	卵巢	BRCA2	0.009	1.3
	OVISe	卵巢	BRCA2	0.05	0.68
	OVMANA	卵巢	BRCA2	0.12	0.92
	HCC1569	乳腺	BRCA2	0.08	0.57
	CAL851	乳腺	BRCA2	0.1	0.89
	HCC1937	乳腺	BRCA1	0.22	2.27
	HCC1954	乳腺	BRCA1	0.37	17.6

[0328] 实施例5

[0329] 患者来源异种移植物(PDX)研究

[0330] 根据表3中所列的组,将HBCx-34肿瘤体积生长达到108至288mm³的雌性Athymic Nude-Foxn1^{nu}小鼠随机分为两个处理组,每组8只,带瘤小鼠从肿瘤植入之日起至研究结束,接受含有经稀释的雌激素的饮用水(β -雌二醇,8.5mg/L)。在表3中,缩写“p.o.”指口服给药,缩写“QD”指每日一次给药。

[0331] 表3:HBCx-34肿瘤模型研究组

[0332]	组别	处理	剂量方案	剂量体积 (mL/kg)
	1	载体	p.o., QD $\times$ 45	10
	2	式A	100mg/kg, p.o., QD $\times$ 45	10

[0333] 在实验期间,每周两次测量肿瘤并对小鼠称重。施用以下公式估算肿瘤体积(mm³):肿瘤体积(TV)= $a \times b^2/2$,其中“a”和“b”分别为肿瘤的长径和短径。通过TV使用以下公式计算肿瘤生长抑制(TGI,抗肿瘤活性的指标): $TGI\% : (1 - \{T/T_0/C_t/C_0\} / 1 - \{C_0/C_t\}) \times 100$,其中T_t=在时间t时治疗组肿瘤的中位体积;T₀=在时间0时治疗组肿瘤的中位体积;C_t=在时间t时对照组肿瘤的中位体积和C₀=在时间0时对照组肿瘤的中位体积。以100mg/kg给药的式A产生了强烈且具有统计学显著性的抗肿瘤反应,所有小鼠均实现了部分肿瘤消退。研究结果的总结见表4(图4)。肿瘤消退指肿瘤体积小于D0时的初始体积。

[0334] 表4:在第45天,与溶剂组相比的肿瘤生长抑制

[0335]	式A 剂量	TGI (%) D45	p 值, 治疗组与对照组相比
	100 mg/kg QD	110	p<0.0001

[0336] 参考文献

[0337] [1]Ame, J.C., E.Fouquerel, L.R.Gauthier, D.Biard, F.D.Boussin, F.Dantzer, G.de Murcia and V.Schreiber(2009). "Radiation-induced mitotic catastrophe in PARC-deficient cells." J Cell Sci 122(Pt 12):1990-2002.

[0338] [2]Barber, L.J., S.Sandhu, L.Chen, J.Campbell, I.Kozarewa, K.Fenwick, I.Assiotis, D.N.Rodrigues, J.S.Reis Filho, V.Moreno, J.Mateo, L.R.Molife, J.De Bono, S.Kaye, C.J.Lord and A.Ashworth(2013). "Secondary mutations in BRCA2 associated with clinical resistance to a PARP inhibitor." J Pathol 229(3):422-

429.

[0339] [3]Blenn,C.,P.Wyrsch and F.R.Althaus(2011). "The ups and downs of tannins as inhibitors of poly(ADP-ribose)glycohydrolase."Molecules 16(2): 1854-1877.

[0340] [4]Caiafa,P.,T.Guastafierro and M.Zampieri(2009). "Epigenetics:poly(ADP-ribosyl)ation of PARP-1regulates genomic methylation patterns."FASEB J 23(3):672-678.

[0341] [5]Curtin,N.J.and C.Szabo(2013). "Therapeutic applications of PARP inhibitors:anticancer therapy and beyond."Mol Aspects Med 34(6):1217-1256.

[0342] [6]Dahl,M.,V.Maturi,P.Lonn,P.Papoutsoglou,A.Zieba,M.Vanlandewijck, L.P.van der Heide,Y.Watanabe,O.Soderberg,M.O.Hottiger,C.H.Heldin and A.Moustakas(2014). "Fine-tuning of Smad protein function by poly(ADP-ribose) polymerases and poly(ADP-ribose)glycohydrolase during transforming growth factor beta signaling."PLoS One 9(8):e103651.

[0343] [7]Drost,R.and J.Jonkers(2014). "Opportunities and hurdles in the treatment of BRCA1-related breast cancer."Oncogene 33(29):3753-3763.

[0344] [8]Erdelyi,K.,P.Bai,I.Kovacs,E.Szabo,G.Mocsar,A.Kakuk,C.Szabo, P.Gergely and L.Virag(2009). "Dual role of poly(ADP-ribose)glycohydrolase in the regulation of cell death in oxidatively stressed A549 cells."FASEB J 23(10):3553-3563.

[0345] [9]Fathers,C.,R.M.Drayton,S.Solovieva and H.E.Bryant(2012). "Inhibition of poly(ADP-ribose)glycohydrolase (PARG) specifically kills BRCA2-deficient tumor cells."Cell Cycle 11(5):990-997.

[0346] [10]Fisher,A.E.,H.Hochegger,S.Takeda and K.W.Caldecott(2007). "Poly(ADP-ribose)polymerase laccelerates single-strand break repair in concert with poly(ADP-ribose)glycohydrolase."Mol Cell Biol 27(15):5597-5605.

[0347] [11]Frizzell,K.M.,M.J.Gamble,J.G.Berrocal,T.Zhang,R.Krishnakumar, Y.Cen,A.A.Sauve and W.L.Kraus(2009). "Global analysis of transcriptional regulation by poly(ADP-ribose)polymerase-1 and poly(ADP-ribose)glycohydrolase in MCF-7 human breast cancer cells."J Biol Chem 284(49):33926-33938.

[0348] [12]Fujihara,H.,H.Ogino,D.Maeda,H.Shirai,T.Nozaki,N.Kamada,K.Jishage, S.Tanuma,T.Takato,T.Ochiya,T.Sugimura and M.Masutani(2009). "Poly(ADP-ribose) Glycohydrolase deficiency sensitizes mouse ES cells to DNA damaging agents." Curr Cancer Drug Targets 9(8):953-962.

[0349] [13]Guastafierro,T.,A.Catizone,R.Calabrese,M.Zampieri,O.Martella, M.G.Bacalini,A.Reale,M.Di Girolamo,M.Miccheli,D.Farrar,E.Klenova,F.Ciccarone and P.Caiafa(2013). "ADP-ribose polymer depletion leads to nuclear Ctfc re-localization and chromatin rearrangement(1)."Biochem J 449(3):623-630.

[0350] [14]Ji,Y.and A.V.Tulin(2009). "Poly(ADP-ribosyl)ation of heterogeneous

nuclear ribonucleoproteins modulates splicing."Nucleic Acids Res 37(11):3501-3513.

[0351] [15]Le May,N.,I.Iltis,J.C.Ame,A.Zhovmer,D.Biard,J.M.Egly,V.Schreiber and F.Coin(2012). "Poly (ADP-ribose)glycohydrolase regulates retinoic acid receptor-mediated gene expression."Mol Cell 48(5):785-798.

[0352] [16]Mashimo,M.,J.Kato and J.Moss(2014). "Structure and function of the ARH family of ADP-ribosyl-acceptor hydrolases."DNA Repair(Amst).

[0353] [17]Mortusewicz,O.,E.Fouquerel,J.C.Ame,H.Leonhardt and V.Schreiber (2011). "PARG is recruited to DNA damage sites through poly (ADP-ribose) -and PCNA-dependent mechanisms."Nucleic Acids Res 39(12):5045-5056.

[0354] [18]Nakadate,Y.,Y.Kodera,Y.Kitamura,T.Tachibana,T.Tamura and F.Koizumi(2013). "Silencing of poly (ADP-ribose)glycohydrolase sensitizes lung cancer cells to radiation through the abrogation of DNA damage checkpoint." Biochem Biophys Res Commun 441(4):793-798. [19]Shirai,H.,H.Fujimori,A.Gunji, D.Maeda,T.Hirai,A.R.Poetsch,H.Harada,T.Yoshida,K.Sasai,R.Okayasu and M.Masutani(2013). "Parg deficiency confers radio-sensitization through enhanced cell death in mouse ES cells exposed to various forms of ionizing radiation."Biochem Biophys Res Commun 435(1):100-106.

[0355] [20]Shirai,H.,A.R.Poetsch,A.Gunji,D.Maeda,H.Fujimori,H.Fujihara, T.Yoshida,H.Ogino and M.Masutani(2013). "PARG dysfunction enhances DNA double strand break formation in S-phase after alkylation DNA damage and augments different cell death pathways."Cell Death Dis 4:e656.

[0356] [21]Sun,Y.,T.Zhang,B.Wang,H.Li and P.Li(2012). "Tannic acid,an inhibitor of poly (ADP-ribose)glycohydrolase,sensitizes ovarian carcinoma cells to cisplatin."Anticancer Drugs 23(9):979-990.

[0357] [22]Zhou,Y.,X.Feng and D.W.Koh(2010). "Enhanced DNA accessibility and increased DNA damage induced by the absence of poly (ADP-ribose)hydrolysis." Biochemistry 49(34):7360-7366.

[0358] [23]Zhou,Y.,X.Feng and D.W.Koh(2011). "Synergistic cytotoxicity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and absence of poly (ADP-ribose) glycohydrolase involves chromatin decondensation."Int J Oncol 39(1):121-127.

[0359] [24]Milbury CA,Creeden J,Yip WK,Smith DL,Pattani V,Maxwell K,Sawchyn B,Gjoerup O,Meng W,Skoletsky J,Concepcion AD,Tang Y,Bai X,Dewal N,Ma P,Bailey ST,Thornton J,Pavlick DC,Frampton GN,Lieber D,White J,Burns C,Vietz C(2022) "Clinical and analytical validation of **FoundationOne**[®] CDx,a comprehensive genomic profiling assay for solid tumors."PLOS ONE 17(3):e0264138.<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264138>

[0360] 尽管已通过说明和实施例的方式对上述发明进行了较为详细的描述,以便清晰地理解,但本领域技术人员将认识到,在随附权利要求的范围内,可进行某些改变和修改。此

外,本文提供的每篇参考文献均通过引用整体并入本文,其效力等同于单独将每篇参考文献通过引用并入本文。若本申请与本文提供的参考文献之间存在冲突,应以本申请为准。

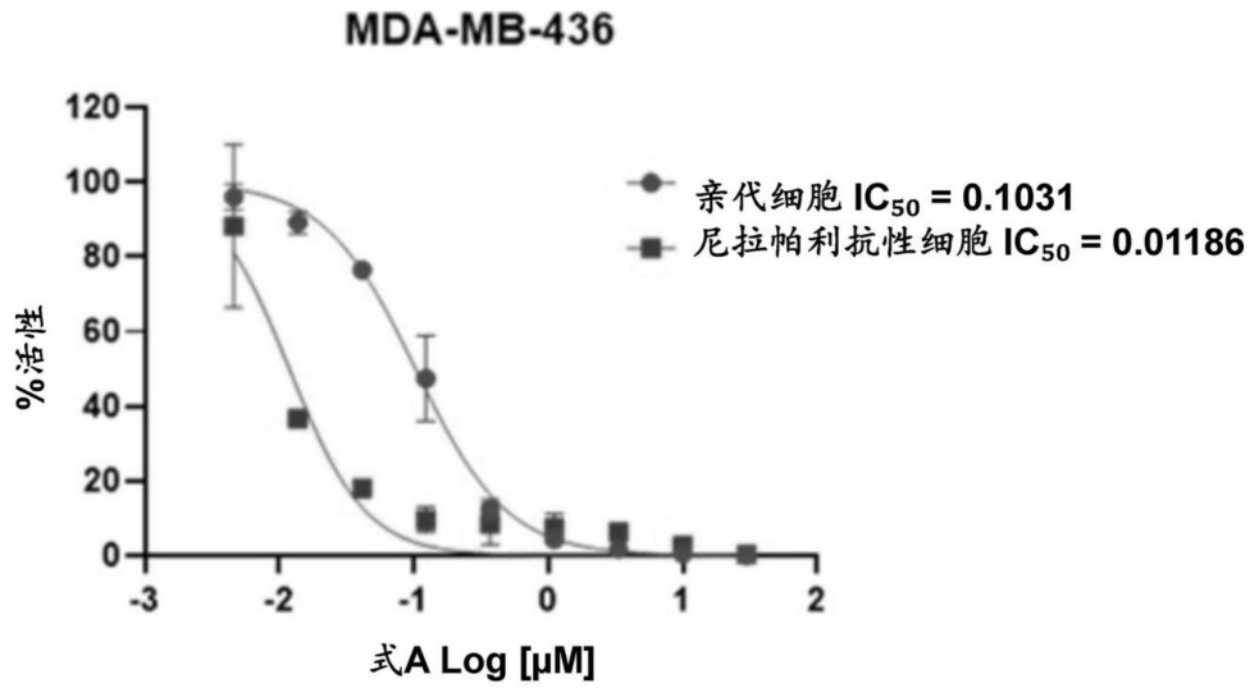


图1

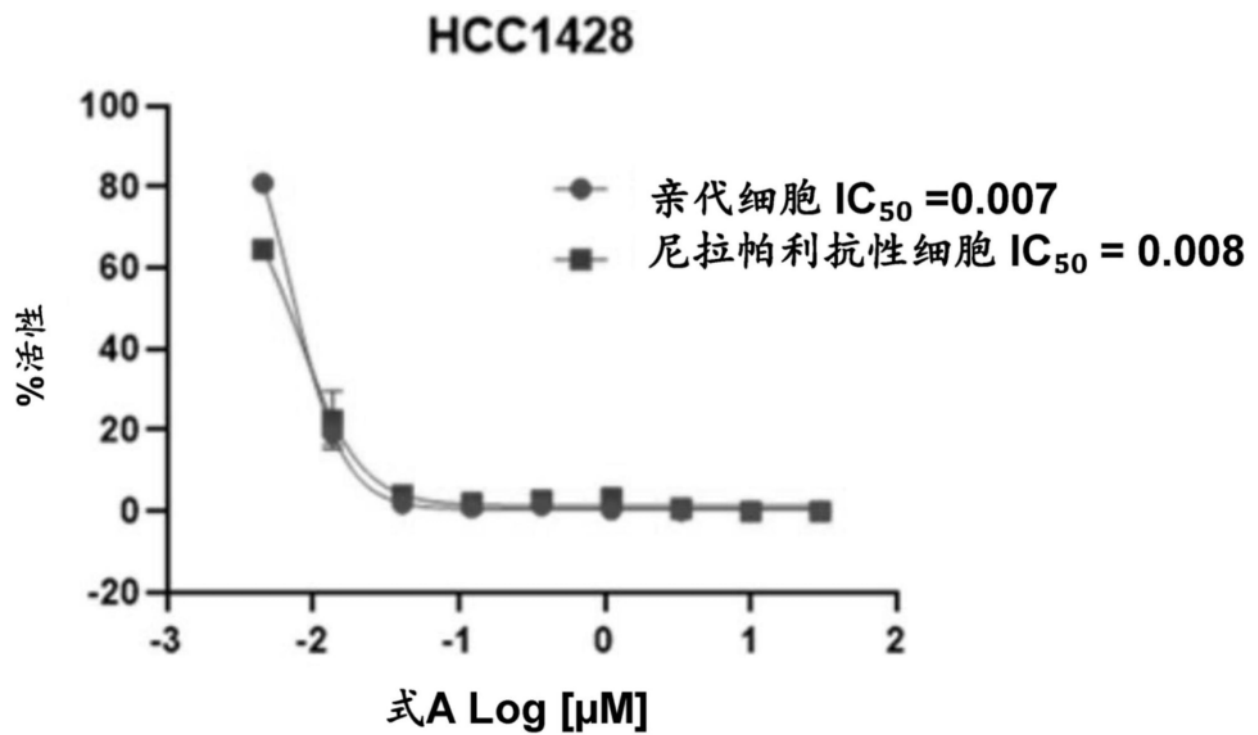


图2

PDC 模型-PTX-0418

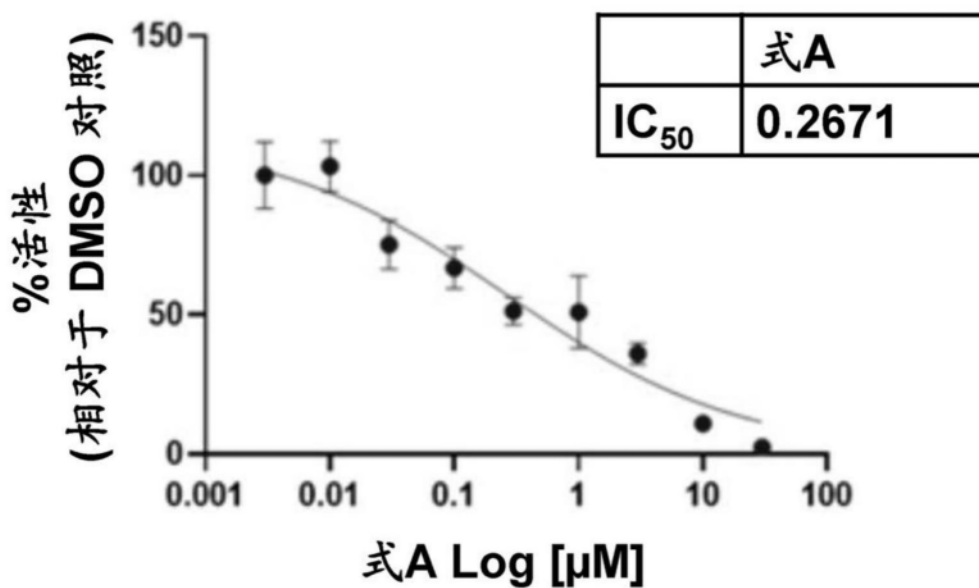


图3

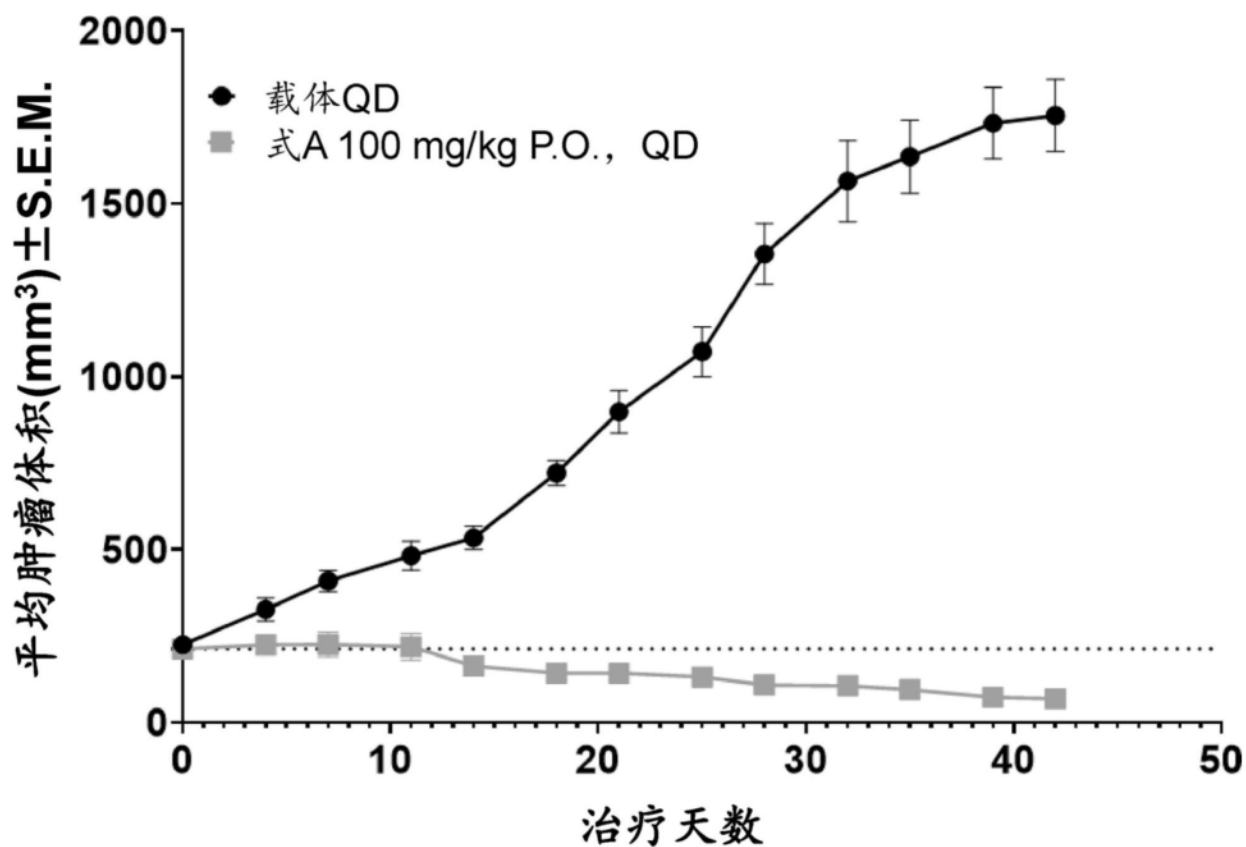


图4