



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111494378 A

(43)申请公布日 2020.08.07

(21)申请号 202010227563.X

(22)申请日 2015.09.04

(30)优先权数据

62/046502 2014.09.05 US

62/082236 2014.11.20 US

(62)分案原申请数据

201580060093.X 2015.09.04

(71)申请人 艾科尔公司

地址 美国麻萨诸塞州

(72)发明人 D.T.德兰斯菲尔德 S.伊蒂拉

J-M.拉皮埃尔 B.施瓦茨 余毅

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 黄登高

(51)Int.Cl.

A61K 31/444(2006.01)

A61K 31/5377(2006.01)

A61K 31/4545(2006.01)

A61K 31/517(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

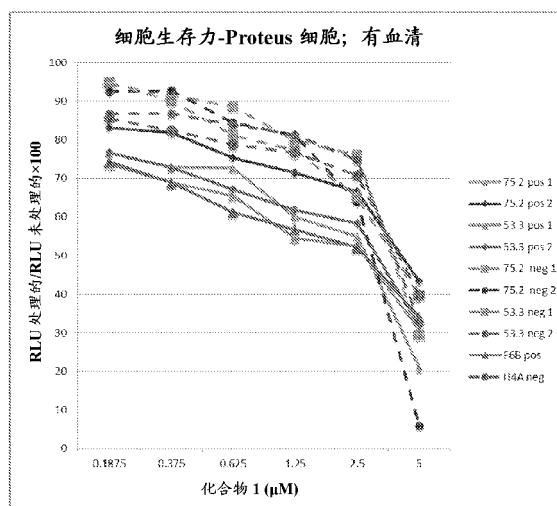
权利要求书3页 说明书54页 附图18页

(54)发明名称

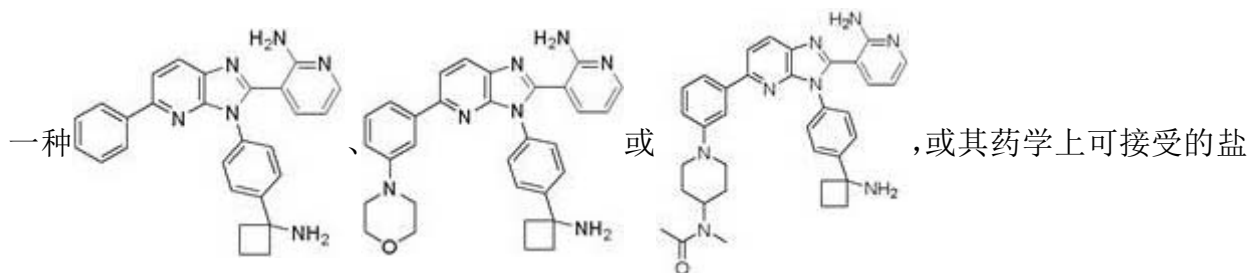
用于治疗增生性病症的组合物和方法

(57)摘要

本发明涉及通过利用3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-5-苯基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)吡啶-2-胺或3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-5-(3-吗啉代苯基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)吡啶-2-胺或N-(1-(3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-2-(2-氨基吡啶-3-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-5-基)苯基)哌啶-4-基)-N-甲基乙酰胺治疗细胞增生性病症,例如癌症或Proteus综合征的方法。本发明方法也可涉及通过利用上述化合物联合((R)-6-(2-氟苯基)-N-(3-(2-((2-甲氧乙基)氨基)乙基)苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-胺)治疗细胞增生性病症,例如癌症或Proteus综合征的方法。



1. 一种治疗细胞增生性病征的方法,包括给予有需要的受试者治疗有效量的包含至少



的组合物,其中所述受试者具有PIK3CA突变,并且其中所述细胞增生性病征得到治疗。

2. 权利要求1的方法,其中所述细胞增生性病征为癌前病况。

3. 权利要求1的方法,其中所述细胞增生性病征为癌症。

4. 权利要求1的方法,其中所述细胞增生性病征为血液肿瘤或恶性肿瘤。

5. 权利要求1的方法,其中所述细胞增生性病征为实体瘤。

6. 权利要求3的方法,其中所述癌症为肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、结肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、肛门癌、肾癌、宫颈癌、脑癌、胃部/胃癌、头颈癌、甲状腺癌、膀胱癌、子宫内膜癌、子宫癌、肠癌、肝癌、白血病、淋巴瘤、T细胞淋巴母细胞性白血病、原发性渗出性淋巴瘤、慢性髓性白血病、黑色素瘤、默克尔细胞癌、卵巢癌、腺泡状软组织肉瘤(ASPS)、透明细胞肉瘤(CCS)、佩吉特氏病、横纹肌肉瘤、血管肉瘤、胆管癌或肝细胞癌。

7. 权利要求3的方法,其中所述癌症为转移癌。

8. 权利要求1的方法,其中所述受试者为人。

9. 权利要求3的方法,其中所述治疗癌症包括减少肿瘤尺寸、抑制转移癌细胞侵袭或二者。

10. 权利要求1的方法,其中所述组合物静脉内、口服或腹膜内给予。

11. 权利要求1的方法,其中所述组合物进一步包含一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

12. 权利要求1的方法,其中所述组合物每天给予。

13. 权利要求12的方法,其中所述组合物以每天50 mg-100 mg给予。

14. 权利要求13的方法,其中所述组合物以每天60 mg给予。

15. 权利要求1的方法,其中所述组合物以间歇给剂方案给予,其中所述组合物在24小时内给予至少一次,持续至少6天不给予,并且在至少6天之后的24小时中给予至少一次。

16. 权利要求15的方法,其中所述组合物一周给予一次。

17. 权利要求15的方法,其中所述组合物以250 mg-350 mg给予一次。

18. 权利要求15的方法,其中所述组合物以每天200 mg给予。

19. 权利要求17的方法,其中所述组合物以300 mg给予一次。

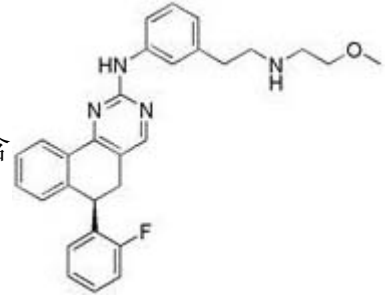
20. 权利要求1的方法,其中所述组合物以间歇给剂方案给予,其中所述组合物每天给予至少一次,持续至少一周,持续至少第二周不给予,并在第二周之后的至少第三周每天给予。

21. 权利要求20的方法,其中所述组合物以每天150 mg-250 mg给予。

22. 权利要求1的方法,进一步包括给予治疗有效量的额外的抗增殖剂、给予放射治疗或二者。

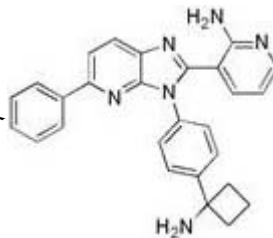
23. 权利要求22的方法,其中所述额外的抗增殖剂为激酶抑制剂、烷化剂、抗生素、抗代谢物、解毒剂、干扰素、多克隆或单克隆抗体、HER2抑制剂、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂、激素、有丝分裂抑制剂、MTOR抑制剂、紫杉烷或紫杉烷衍生物、芳香化酶抑制剂、蒽环类、微管靶向药物、拓扑异构酶毒性药物或胞苷类似物药物。

24. 权利要求22的方法,其中所述额外的抗增殖剂为成纤维细胞生长因子受体抑制剂。



25. 权利要求22的方法,其中所述额外的抗增殖剂为包含

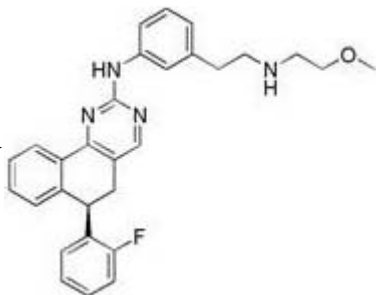
或其药学上可接受的盐的组合物。



26. 权利要求25的方法,其中包含

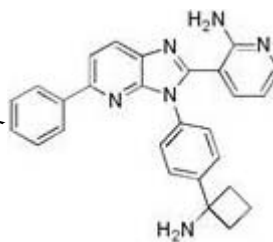
,或其药学上可接受的盐的组合物

物与包含



,或其药学上可接受的盐的组合物同时,在给予其之

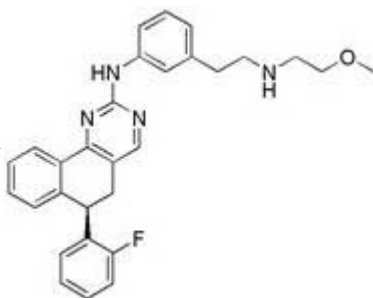
前或在给予其之后给予。



27. 权利要求25的方法,其中包含

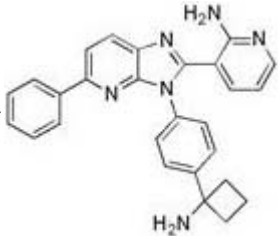
,或药学上可接受的盐的组合物

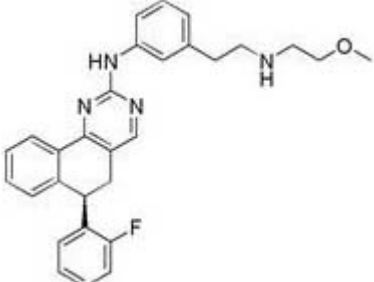
在给予包含



,或其药学上可接受的盐的组合物在24小时内给

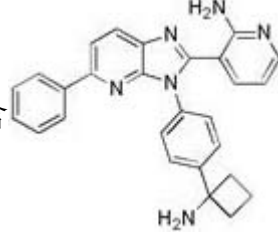
予。

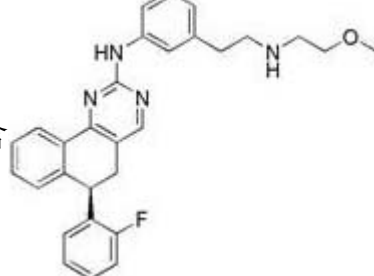
28. 一种药物组合物, 包含治疗有效量的 , 或其药学上可接受的盐,

和治疗有效量的 , 或其药学上可接受的盐, 和一种或多种药学上

可接受的载体或赋形剂, 用于治疗有需要的受试者的细胞增生性病征, 其中所述受试者具有PIK3CA突变。

29. 用于在有需要的受试者中治疗细胞增生性病征的药盒, 所述药盒包含至少两个单

独的小瓶, 第一个小瓶包含治疗有效量的包含 , 或其药学上可接受的盐

的组合物, 和第二个小瓶包含治疗有效量的包含 , 或其药学上可

接受的盐的组合物, 以及用于给予第一个小瓶中的组合物和第二个小瓶中的组合物的说明书, 其中所述受试者具有PIK3CA突变。

用于治疗增生性病症的组合物和方法

[0001] 本申请是申请日为2015年9月4日,申请号为201580060093.X,发明名称为“用于治疗增生性病症的组合物和方法”的发明专利的分案申请。

[0002] 与相关申请的交叉引用

本申请要求于2014年9月5日提交的U.S.S.N. 62/046,502和于2014年11月20日提交的U.S.S.N. 62/082,236的优先权和权益。这些申请每一的内容以其整体结合。

[0003] 发明背景

在美国,癌症是死亡的第二大原因,仅次于心脏病。(Cancer Facts and Figures 2004, American Cancer Society, Inc.)。尽管近年来癌症诊断和治疗的发展,如果癌症在早期发现手术和放疗可有疗效,但当前用于转移性疾病的药物治疗大多为缓解性的,很少提供长期治愈。即使有进入市场的新型化疗,但仍继续需要在单一治疗中或与作为一线治疗和作为二线和三线治疗的现有剂联合在治疗抗性肿瘤中有效的新药。

[0004] 癌细胞按照定义为异质的。例如,在单一组织或细胞类型内,多个突变“机制”可导致发展癌症。正因如此,从源自不同个体的相同组织和相同类型的肿瘤获取的癌细胞之间常常存在异质性。经常观察到的与一些癌症相关的突变“机制”在一个组织类型与另一个之间可不同(例如,经常观察到的导致结肠癌的突变“机制”可与经常观察到的导致白血病的“机制”不同)。因此常常难以预测特定癌症是否会响应特定的化疗剂(Cancer Medicine, 第5版, Bast等人, B. C. Decker Inc., Hamilton, Ontario)。

[0005] 当失调时,调节正常细胞的生长和分化的细胞信号转导通路的组分可导致发展细胞增生性病症和癌症。细胞信号传导蛋白的突变可导致这些蛋白变得以不适当的水平或在细胞周期期间的不适当时间表达或活化,这继而可引起不受控的细胞生长或细胞-细胞粘附性质的变化。例如,受体酪氨酸激酶通过突变、基因重排、基因扩增以及受体和配体二者的过表达失调已经牵涉入人类癌症的发展和进展。

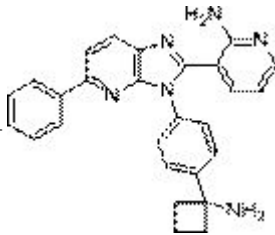
[0006] AKT蛋白家族在哺乳动物细胞信号传导中发挥重要作用,其成员也称为蛋白激酶B (PKB)。在人中,AKT家族存在三个基因: Akt1、Akt2和Akt3。这些基因编码的酶为丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白激酶家族成员。Akt1通过抑制凋亡过程牵涉入细胞存活通路。Akt1还能够诱导蛋白合成通路,因此是导致骨骼肌肥大和一般组织生长的细胞通路中的关键信号传导蛋白。Akt2为胰岛素信号传导通路中的重要信号传导分子,并且为诱导葡萄糖转运所需。Akt3的作用不太清楚,尽管其似乎主要在脑部表达。

[0007] AKT家族通过结合和调节许多下游效应器,例如,核因子- κ B、Bcl-2家族蛋白和鼠双微体2 (MDM2) 调节细胞存活和代谢。已知Akt1在细胞周期中发挥作用。此外,活化的Akt1可使已经承受潜在诱变的影响的细胞能够增殖和存活,并因此可促成在其它基因中获得突变。Akt1还牵涉血管发生和肿瘤发展。研究已经显示Akt1缺陷增强皮肤和血管中与基质异常有关的病理血管发生和肿瘤生长。由于其可阻断凋亡,并从而促进细胞存活,Akt1为许多类型癌症中的主要因素。

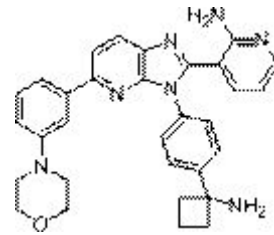
[0008] 因此,本领域存在对用于调节不同基因和信号传导通路的新化合物和方法,以及用于治疗增生性病症包括癌症的方法的需求。本发明满足这些需求。

[0009] 发明概述

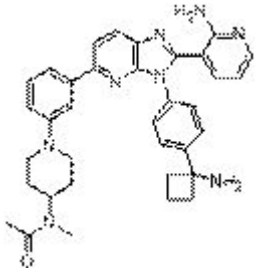
本发明提供治疗细胞增生性病况的方法,所述方法包括给予有需要的受试者治疗有效量的包含至少一种化合物1



、化合物2



或化合物3



,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药的组合物,其中所述

细胞增生性病况得到治疗。

[0010] 细胞增生性病况可为至少一个AKT、PIK3CA或PTEN的突变的结果。细胞增生性病况可为癌症。癌症可为肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、结肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、肛门癌、肾癌、宫颈癌、脑癌、胃部/胃癌、头颈癌、甲状腺癌、膀胱癌、子宫内膜癌、子宫癌、肠癌、肝癌、白血病、淋巴瘤、T细胞淋巴瘤母细胞性白血病、原发性渗出性淋巴瘤、慢性髓性白血病、黑色素瘤、默克尔细胞癌、卵巢癌、腺泡状软组织肉瘤(ASPS)、透明细胞肉瘤(CCS)、佩吉特氏病、横纹肌肉瘤、血管肉瘤、胆管癌或肝细胞癌。癌症可为子宫内膜癌、卵巢癌、原发性渗出性淋巴瘤、T细胞淋巴瘤母细胞性白血病、横纹肌肉瘤、佩吉特氏病、血管肉瘤、胰腺内分泌肿瘤、肛门鳞状细胞癌、默克尔细胞癌、激素受体阳性乳腺癌或管腔乳腺癌、头颈部鳞状细胞癌、肺鳞状细胞癌、胃部/胃癌或甲状腺癌。

[0011] 细胞增生性病况可为非癌病况、疾病或病症。非癌病况、疾病或病症可为垂体腺瘤、利什曼病、皮肤相关过度增生性病况、银屑病、湿疹、色素沉着过度病症、眼相关的过度增生性病况、年龄相关性黄斑变性、单纯疱疹病毒、Proteus综合征(Wiedemann综合征)、巨指综合征、丑角样鱼鳞病、CLOVES综合征、特应性皮炎、LEOPARD综合征、系统性硬化病、脊髓小脑性共济失调1型、纤维脂肪性增生、偏侧增生-多发性脂肪过多综合征、巨脑、罕见低血糖症、Klippel-Trenaunay综合征、错构瘤、Cowden综合征或过度生长-高血糖症。细胞增生性病况可为垂体腺瘤、Proteus综合征、纤维脂肪性增生、CLOVES综合征、巨指综合征、丑角样鱼鳞病、LEOPARD综合征、单纯疱疹病毒、利什曼病、银屑病、特应性皮炎、脊髓小脑性共济失调1型或系统性硬化病。

[0012] 除非另外定义,本文使用的所有技术和科学术语具有如本发明所属领域普通技术人员所通常理解的含义。在说明书中,单数形式也包括复数,除非上下文另有清楚规定。尽管在本发明的实践或检验中可使用与本文描述那些相似或相等的方法和材料,但下面描述了合适的方法和材料。本文提及的所有出版、专利申请、专利和其它参考通过引用结合。本文引用的参考不承认是所要求发明的现有技术。如果矛盾,将以本说明书,包括定义为准。另外,材料、方法和实施例仅为说明性的,并且不意在限制。

[0013] 本发明其它特征和优点将会从下列详述和权利要求显而易见。

[0014] 附图简述

图1为显示处理72小时后在血清和不同剂量化合物1存在下Proteus细胞的生存力的图。

[0015] 图2为显示血清饥饿24小时和处理72小时后在血清和不同剂量化合物1存在下Proteus细胞的生存力的图。

[0016] 图3为显示处理72小时后在血清和不同剂量化合物1存在下PIK3CA细胞的生存力的图。

[0017] 图4为显示血清饥饿24小时和处理72小时后在血清和不同剂量化合物1存在下PIK3CA细胞的生存力的图。

[0018] 图5A和5B为显示血清饥饿24小时和处理72小时后在血清存在或不存在下和在不同剂量化合物1 (图5A) 或依维莫司 (图5B) 存在下Proteus单细胞克隆的生存力的一系列图。

[0019] 图6为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在或不存在下和在不同剂量化合物1存在下Proteus单细胞克隆中AKT1的磷酸化状态的图。

[0020] 图7A和7B为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在 (图7B) 或不存在 (图7A) 下和在不同剂量化合物1存在下Proteus单细胞克隆中S6的磷酸化状态的一系列图。

[0021] 图8A和8B为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在 (图8A) 或不存在 (图8B) 下和在不同剂量化合物1存在下来自具有不同AKT1 p.E17K的单个患者的四个不同的Proteus细胞系中AKT1的磷酸化状态的一系列图。

[0022] 图9A和9B为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在 (图9B) 或不存在 (图9A) 下和在不同剂量化合物1存在下来自具有不同AKT1 p.E17K的单个患者的四个不同的Proteus细胞系中S6的磷酸化状态的一系列图。

[0023] 图10为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在或不存在下和在不同剂量化合物1存在下获自具有PIK3CA p.H1047R突变的患者的细胞 (PS109.3) 或对照细胞 (PS95.2) 中AKT1的磷酸化状态的图。

[0024] 图11A和11B为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在 (图11B) 或不存在 (图11A) 下和在不同剂量化合物1存在下获自具有PIK3CA p.H1047R突变的患者的细胞 (PS109.3) 或对照细胞 (PS95.2) 中S6的磷酸化状态的一系列图。

[0025] 图12为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在或不存在下和在不同剂量化合物1存在下获自具有PIK3CA p.H1047L突变的患者的细胞 (PS129.3, G5A) 或对照细胞 (PS75.1) 中AKT1的磷酸化状态的图。

[0026] 图13A和13B为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在 (图13B) 或不存在 (图13A) 下和在不同剂量化合物1存在下获自具有PIK3CA p.H1047L突变的患者的细胞 (PS129.3, G5A) 或对照细胞 (PS75.1) 中AKT1的磷酸化状态的一系列图。

[0027] 图14A、14B、14C和14D为显示血清饥饿24小时后在不同的处理时间点在血清存在 (图14C和14D) 或不存在 (图14A和14B) 下和在125 nM化合物1存在下Proteus单细胞克隆中AKT1的磷酸化状态的一系列图。

[0028] 图15为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在或不存在下和在不同剂量依维莫司存在下Proteus单细胞克隆中AKT1的磷酸化状态的图。

[0029] 图16A和16B为显示血清饥饿24小时和处理24小时后在血清存在(图16B)或不存在(图16A)下和在不同剂量依维莫司存在下Proteus单细胞克隆中S6的磷酸化状态的一系列图。

[0030] 图17为显示处理两小时后不同剂量时化合物1对KU-19-19和AN3CA细胞中pAKT和pPRAS40的作用的一系列照片。

[0031] 图18为显示处理两小时后不同剂量时化合物1、MK-2206和GDC0068对KU-19-19细胞中pAKT和pPRAS40的作用的一系列照片。

[0032] 发明详述

1. 治疗的方法

本发明提供用于通过给予需要这样的治疗的受试者治疗有效量的包含至少一种化合物1、化合物2或化合物3,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药的组合物,在有需要的受试者中治疗细胞增生性病况的方法,其中所述细胞增生性病况得到治疗。细胞增生性病况可为癌症、癌前病况或非癌病况、疾病或病症。本发明进一步提供本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,用于制备可用于治疗细胞增生性病况的药剂的用途。

[0033] 本发明还提供通过给予需要这样的治疗的受试者治疗有效量的包含至少一种化合物1、化合物2或化合物3,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药的组合物,保护有需要的受试者免于细胞增生性病况的方法,其中所述细胞增生性病况得到治疗。细胞增生性病况可为癌症、癌前病况或非癌病况、疾病或病症。本发明还提供本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,用于制备可用于预防细胞增生性病况的药剂的用途。

[0034] 如本文所使用的,“有需要的受试者”为具有细胞增生性病况的受试者,或相对于一般群体具有增加的发展细胞增生性病况的风险的受试者。有需要的受试者可具有癌前病况。优选地,有需要的受试者具有癌症。“受试者”包括哺乳动物。哺乳动物可为例如,任何哺乳动物,例如,人、灵长类、鸟、小鼠、大鼠、家禽、狗、猫、奶牛、马、山羊、兔、骆驼、绵羊或猪。优选地,所述哺乳动物为人。

[0035] 如本文所使用的,术语“细胞增生性病况”指其中细胞的不受调节或异常生长,或二者,可导致发展不需要的病况或疾病的病况,其可为或可不为癌性的。本发明的示例性细胞增生性病况包括其中细胞分裂解除调控的各种病况。示例性的细胞增生性病况包括,但不限于,赘生物、良性肿瘤、恶性肿瘤、癌前病况、原位肿瘤、包膜肿瘤、转移性肿瘤、液体瘤、实体瘤、免疫肿瘤、血液肿瘤、癌症、癌、白血病、淋巴瘤、肉瘤和快速分裂的细胞。如本文所使用的术语“快速分裂的细胞”定义为以超过或大于在同一组织的相邻或并列细胞中观察到或预期的速率分裂的任何细胞。细胞增生性病况包括癌前期或癌前病况。细胞增生性病况包括癌症。细胞增生性病况包括非癌病况或病症。优选地,本文提供的方法用于治疗或减轻癌症的症状。术语“癌症”包括实体瘤,以及血液肿瘤和/或恶性肿瘤。“癌前期细胞”或“癌前细胞”为显现癌前期或癌前病况的细胞增生性病况的细胞。“癌症细胞”或“癌细胞”为显现为癌症的细胞增生性病况的细胞。可使用任何可重现的测量方法鉴定癌细胞或癌前细胞。癌细胞或癌前细胞可通过组织样品(例如,活组织检查样品)的组织学分型或分级鉴定。癌细胞或癌前细胞可通过使用适当的分子标志鉴定。

[0036] 示例性的非癌病况或病症包括,但不限于,类风湿性关节炎、炎症、自身免疫疾病、淋巴组织增生性病况、肢端肥大症、类风湿性脊柱炎、骨关节炎、痛风、其它关节炎病况、脓毒症、脓毒性休克、内毒素性休克、革兰氏阴性脓毒症、中毒性休克综合征、哮喘症、成人呼吸窘迫综合征、慢性阻塞性肺病、慢性肺部炎症、炎症性肠病、克罗恩病、皮肤相关过度增生性病况、银屑病、湿疹、特应性皮炎、色素沉着过度病症、眼相关的过度增生性病况、年龄相关性黄斑变性、溃疡性结肠炎、胰腺纤维化、肝纤维化、急性和慢性肾脏疾病、肠易激综合征、热病(pyresis)、再狭窄、脑型疟疾、中风和缺血性损伤、神经创伤、阿尔兹海默氏病、亨廷顿氏病、帕金森氏病、急性和慢性疼痛、过敏性鼻炎、过敏性结膜炎、慢性心力衰竭、急性冠脉综合征、恶病质、疟疾、麻风病、利什曼病、莱姆病、赖特综合征、急性滑膜炎、肌肉变性、滑囊炎、腱炎、腱鞘炎、椎间盘突出、破裂或脱垂综合征、骨硬化病、血栓形成、再狭窄、矽肺、肺肉瘤病、骨吸收病例如骨质疏松、移植物抗宿主反应、纤维脂肪性增生、脊髓小脑性共济失调1型、CLOVES综合征、丑角样鱼鳞病、巨指综合征、Proteus综合征(Wiedemann综合征)、LEOPARD综合征、系统性硬化病、多发性硬化、狼疮、纤维肌痛、AIDS和其它病毒疾病例如带状疱疹、单纯疱疹I或II、流感病毒和巨细胞病毒、糖尿病、偏侧增生-多发性脂肪过多综合征、巨脑、罕见低血糖症、Klippel-Trenaunay综合征、错构瘤、Cowden综合征或过度生长-高血糖症。

[0037] 示例性的癌症包括,但不限于,肾上腺皮质癌、AIDS相关癌症、AIDS相关淋巴瘤、肛门癌、肛管直肠癌、肛管癌、肛门鳞状细胞癌、血管肉瘤、阑尾癌、儿童小脑星形细胞瘤、儿童大脑星形细胞瘤、基底细胞癌、皮肤癌(非黑色素瘤)、胆管癌、肝外胆管癌、肝内胆管癌、膀胱癌、泌尿膀胱癌(urinary bladder cancer)、骨和关节癌、骨肉瘤和恶性纤维组织细胞瘤、脑癌、脑瘤、脑干神经胶质瘤、小脑星形细胞瘤、大脑星形细胞瘤/恶性神经胶质瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤、幕上原发神经外胚层肿瘤(supratentorial primitive neuroectodermal tumor)、视路和下丘脑神经胶质瘤、乳腺癌、支气管腺瘤/类癌、类癌瘤、胃肠道、神经系统癌、神经系统淋巴瘤、中枢神经系统癌、中枢神经系统淋巴瘤、宫颈癌、儿童癌症、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓性白血病、慢性骨髓增生病症、结肠癌、结肠直肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、淋巴瘤、蕈样真菌病、Sezary综合征、子宫内膜癌、食道癌、颅外生殖细胞瘤、性腺外生殖细胞瘤、肝外胆管癌、眼癌、眼内黑色素瘤、视网膜母细胞瘤、胆囊癌、胃部(胃)癌、胃肠道类癌瘤、胃肠道间质瘤(GIST)、生殖细胞瘤、卵巢生殖细胞瘤、妊娠滋养细胞肿瘤神经胶质瘤、头颈癌、头颈部鳞状细胞癌、肝细胞(肝脏)癌、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、眼内黑色素瘤、眼癌(ocular cancer)、胰岛细胞瘤(内分泌胰腺)、卡波西肉瘤、肾癌(kidney cancer)、肾脏癌(renal cancer)、肾癌(kidney cancer)、喉癌、急性淋巴母细胞白血病、T细胞淋巴母细胞性白血病、急性髓系白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓性白血病、毛细胞白血病、唇和口腔癌、肝癌、肺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肺鳞状细胞癌、AIDS相关淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、Waldenström巨球蛋白血症、髓母细胞瘤、黑色素瘤、眼内(眼)黑色素瘤、梅克尔细胞癌、恶性间皮瘤、间皮瘤、转移性鳞状颈部癌、口癌、舌癌、多发性内分泌瘤综合征、蕈样真菌病、脊髓发育不良综合征、脊髓发育不良/骨髓增生疾病、慢性髓性白血病、急性髓系白血病、多发性骨髓瘤、慢性骨髓增生病症、鼻咽癌、神经母细胞瘤、口部癌症、口腔癌、口咽癌、卵巢癌、卵巢上皮癌、卵巢低恶性潜能肿瘤、胰腺癌、胰岛细胞胰腺癌、胰腺内分泌肿瘤、

鼻旁窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌、胆管癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、松果体母细胞瘤和幕上原始神经外胚层肿瘤、垂体瘤、垂体腺瘤、浆细胞肿瘤/多发性骨髓瘤、胸膜肺母细胞瘤、前列腺癌、直肠癌、肾盂和输尿管、移行细胞癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、唾腺癌、Ewing肉瘤肿瘤家族、卡波西肉瘤、软组织肉瘤、子宫癌、子宫肉瘤、皮肤癌(非黑色素瘤)、皮肤癌(黑色素瘤)、梅克尔细胞皮肤癌、小肠癌、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、胃(胃部)癌、幕上原始神经外胚层肿瘤、睾丸癌、喉癌、胸腺瘤、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、肾盂和输尿管以及其它泌尿器官的移行细胞癌、妊娠滋养细胞肿瘤、尿道癌、子宫内膜癌、子宫肉瘤、子宫体癌、阴道癌、外阴癌和Wilm's瘤。

[0038] “血液系统的细胞增生性病症”为涉及血液系统的细胞的细胞增生性病症。血液系统的细胞增生性病症可包括淋巴瘤、白血病、髓系赘生物、肥大细胞赘生物、脊髓发育不良、良性单克隆丙种球蛋白病、淋巴瘤样肉芽肿病、淋巴瘤样丘疹病、真性红细胞增多症、慢性粒细胞白血病、特发性髓系化生和原发性血小板增多症。血液系统的细胞增生性病症可包括血液系统细胞的增生、发育不良和化生。优选地,本发明组合物可用于治疗选自本发明血液癌症或本发明血液细胞增生性病症的癌症。本发明血液癌症可包括多发性骨髓瘤、淋巴瘤(包括霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、儿童淋巴瘤以及淋巴细胞和皮肤源的淋巴瘤)、白血病(包括儿童白血病、毛细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、急性粒细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性粒细胞白血病、慢性髓性白血病和肥大细胞白血病)、髓系赘生物和肥大细胞赘生物。

[0039] “肺的细胞增生性病症”为涉及肺细胞的细胞增生性病。肺的细胞增生性病症可包括影响肺细胞的所有形式的细胞增生性病症。肺的细胞增生性病症可包括肺癌、肺的癌前期或癌前病况、肺的良性生长或病灶、肺的恶性生长或病灶和体内除肺之外的组织及器官中的转移性病灶。优选地,本发明组合物可用于治疗肺癌或肺的细胞增生性病症。肺癌可包括肺的所有形式的癌症。肺癌可包括恶性肺赘生物、原位癌、典型类癌瘤和非典型类癌瘤。肺癌可包括小细胞肺癌(“SCLC”)、非小细胞肺癌(“NSCLC”)、鳞状细胞癌、腺癌、小细胞癌、大细胞癌、腺鳞癌和间皮瘤。肺癌可包括“瘢痕癌”、支气管肺泡癌、巨细胞癌、梭形细胞癌和大细胞神经内分泌癌。肺癌可包括具有组织学和超微结构异质性(例如,混合的细胞类型)的肺赘生物。

[0040] 肺的细胞增生性病症可包括影响肺细胞的所有形式的细胞增生性病症。肺的细胞增生性病症可包括肺癌、肺的癌前病况。肺的细胞增生性病症可包括肺增生、化生和发育不良。肺的细胞增生性病症可包括石棉诱导的增生、鳞状化生和良性反应性间皮化生。肺的细胞增生性病症可包括复层鳞状上皮替换柱状上皮和粘膜发育不良。暴露于吸入有害环境剂,例如吸烟和石棉的个体可处于增加的发展肺细胞增生性病症的风险中。可使个体倾向于发展肺的细胞增生性病症的先前的肺病可包括慢性间质性肺病、坏死性肺病、硬皮病、类风湿病、结节病、间质性肺炎、肺结核、反复肺炎、特发性肺纤维化、肉芽肿、石棉肺、纤维化肺泡炎和霍奇金病。

[0041] “结肠的细胞增生性病症”为涉及结肠细胞的细胞增生性病症。优选地,结肠的细胞增生性病症为结肠癌。优选地,本发明组合物可用于治疗结肠癌或结肠的细胞增生性病症。结肠癌可包括结肠的所有形式的癌症。结肠癌可包括散发性和遗传性结肠癌。结肠癌可包括恶性结肠赘生物、原位癌、典型类癌瘤和非典型类癌瘤。结肠癌可包括腺癌、鳞状细胞

癌和腺鳞癌。结肠癌可与选自遗传性非息肉病性结肠直肠癌、家族腺瘤性息肉病、Gardner's综合征、Peutz-Jeghers综合征、Turcot's综合征和幼年性息肉病的遗传性综合征有关。结肠癌可由选自遗传性非息肉病性结肠直肠癌、家族腺瘤性息肉病、Gardner's综合征、Peutz-Jeghers综合征、Turcot's综合征和幼年性息肉病的遗传性综合征引起。

[0042] 结肠的细胞增生性病症可包括影响结肠细胞的所有形式的细胞增生性病症。结肠的细胞增生性病症可包括结肠癌、结肠的癌前期或癌前病况、结肠的腺瘤性息肉和结肠的异时病灶。结肠的细胞增生性病症可包括腺瘤。结肠的细胞增生性病症可以以结肠的增生、化生和发育不良为特征。可使个体倾向于发展结肠的细胞增生性病症的先前的结肠病包括先前的结肠癌。可使个体倾向于发展结肠的细胞增生性病症的当前疾病包括克罗恩病和溃疡性结肠炎。结肠的细胞增生性病症可与选自p53、*ras*、*FAP*和*DCC*的基因中的突变有关。由于选自p53、*ras*、*FAP*和*DCC*的基因中存在突变,个体可具有提高的发展结肠的细胞增生性病症的风险。

[0043] “胰腺的细胞增生性病症”为涉及胰腺细胞的细胞增生性病症。胰腺的细胞增生性病症可包括影响胰腺细胞的所有形式的细胞增生性病症。胰腺的细胞增生性病症可包括胰腺癌、胰腺的癌前期或癌前病况、胰腺增生和胰腺发育不良、胰腺的良性生长或病灶和胰腺的恶性生长或病灶,以及体内除胰腺以外的组织和器官的转移性病灶。胰腺癌包括胰腺的所有形式的癌症。胰腺癌可包括导管腺癌、腺鳞癌、多形性巨细胞癌、粘液腺癌、破骨细胞样巨细胞癌、粘液囊腺癌、腺泡癌、未分类大细胞癌、小细胞癌、胰母细胞瘤、乳头状肿瘤、粘液囊腺瘤、乳头状囊性肿瘤和浆液囊腺瘤。胰腺癌还可包括具有组织学和超微结构异质性(例如,混合细胞类型)的胰腺赘生物。

[0044] “前列腺的细胞增生性病症”为涉及前列腺细胞的细胞增生性病症。前列腺的细胞增生性病症可包括影响前列腺细胞的所有形式的细胞增生性病症。前列腺的细胞增生性病症可包括前列腺癌、前列腺的癌前期或癌前病况、前列腺的良性生长或病灶和前列腺的恶性生长或病灶,以及体内除前列腺之外的组织和器官中的转移性病灶。前列腺的细胞增生性病症可包括前列腺增生、化生和发育不良。

[0045] “皮肤的细胞增生性病症”为涉及皮肤细胞的细胞增生性病症。皮肤的细胞增生性病症可包括影响皮肤细胞的所有形式的细胞增生性病症。皮肤的细胞增生性病症可包括皮肤的癌前期或癌前病况、皮肤的良性生长或病灶、黑色素瘤、恶性黑色素瘤和其它皮肤恶性生长或病灶,以及体内除皮肤之外的组织和器官的转移性病灶。皮肤的细胞增生性病症可包括增生、化生和发育不良。

[0046] “卵巢的细胞增生性病症”为涉及卵巢细胞的细胞增生性病症。卵巢的细胞增生性病症包括影响卵巢细胞的所有形式的细胞增生性病症。卵巢的细胞增生性病症可包括卵巢的癌前期或癌前病况、卵巢的良性生长或病灶、卵巢癌、卵巢的恶性生长或病灶以及体内除卵巢之外的组织和器官中的转移性病灶。卵巢的细胞增生性病症可包括卵巢细胞增生、化生和发育不良。

[0047] “乳腺的细胞增生性病症”为涉及乳腺细胞的细胞增生性病症。乳腺的细胞增生性病症可包括影响乳腺细胞的所有形式的细胞增生性病症。乳腺的细胞增生性病症可包括乳腺癌、乳腺的癌前期或癌前病况、乳腺的良性生长或病灶和乳腺的恶性生长或病灶,以及体内除乳腺之外的组织和器官中的转移性病灶。乳腺的细胞增生性病症可包括乳腺增生、化

生和发育不良。

[0048] 乳腺的细胞增生性病况可为乳腺的癌前病况。本发明组合物可用于治疗乳腺的癌前病况。乳腺的癌前病况可包括乳腺的非典型增生、原位导管癌 (DCIS)、导管内癌、原位小叶癌 (LCIS)、小叶癌形成, 和0阶段或0级乳腺生长或病灶 (例如, 0阶段或0级乳腺癌或原位癌)。乳腺的癌前病况可根据美国癌症联合会 (American Joint Committee on Cancer) (AJCC) 公认的TNM分类方案分阶段, 其中原发性肿瘤 (T) 被指定为阶段T0或Tis; 并且其中局部淋巴结 (N) 被指定为阶段N0; 并且其中远端转移 (M) 被指定为阶段M0。

[0049] 乳腺的细胞增生性病况可为乳腺癌。优选地, 本发明组合物可用于治疗乳腺癌。乳腺癌包括乳腺的所有形式的癌症。乳腺癌可包括原发性上皮乳腺癌。乳腺癌可包括其中乳腺通过其它肿瘤例如淋巴瘤、肉瘤或黑色素瘤牵涉在内的癌症。乳腺癌可包括乳腺的癌、乳腺的导管癌、乳腺的小叶癌、乳腺的未分化癌、乳腺的叶状囊性肉瘤、乳腺的血管肉瘤和乳腺的原发性淋巴瘤。乳腺癌可包括阶段I、II、IIIA、IIIB、IIIC和IV乳腺癌。乳腺的导管癌可包括侵袭性癌、管内组分占优势的侵袭性原位癌、炎症性乳腺癌和具有选自粉刺、粘液 (胶体)、髓质、具有淋巴浸润的髓质、乳突、硬癌和管状的组织学类型的乳腺导管癌。乳腺的小叶癌可包括原位组分占优势的侵袭性小叶癌、侵袭性小叶癌和浸润性小叶癌。乳腺癌可包括佩吉特氏病、乳房外佩吉特氏病、具有导管内癌的佩吉特氏病和具有侵袭性导管癌的佩吉特氏病。乳腺癌可包括具有组织学和超微结构异质性 (例如, 混合的细胞类型) 的乳腺赘生物。乳腺癌可分类为基底样、腔A、腔B、ERBB2/Her2+或正常乳腺样分子亚型。

[0050] 优选地, 本发明化合物, 或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物可用于治疗乳腺癌。待治疗的乳腺癌可包括家族乳腺癌。待治疗的乳腺癌可包括散发性乳腺癌。待治疗的乳腺癌可在男性受试者中出现。待治疗的乳腺癌可在女性受试者中出现。待治疗的乳腺癌可在绝经前的女性受试者或绝经后的女性受试者中出现。待治疗的乳腺癌可在等于或大于30岁的受试者, 或小于30岁的受试者中出现。待治疗的乳腺癌可在等于或大于50岁的受试者, 或小于50岁的受试者中出现。待治疗的乳腺癌可在等于或大于70岁的受试者, 或小于70岁的受试者中出现。

[0051] 可将待治疗的乳腺癌分型以鉴定BRCA1、BRCA2或p53中的家族或自发突变。待治疗的乳腺癌可分型为具有HER2/neu基因扩增、过表达HER2/neu或具有低、中间或高水平HER2/neu表达。待治疗的乳腺癌可对于选自雌激素受体 (ER)、孕酮受体 (PR)、人表皮生长因子受体-2、Ki-67、CA15-3、CA 27-29和c-Met的标志分型。待治疗的乳腺癌可分型为ER未知、富含ER或缺乏ER。待治疗的乳腺癌可分型为ER阴性或ER阳性。乳腺癌的ER分型可通过任何可重现的方法进行。乳腺癌的ER分型可如Onkologie 27: 175-179 (2004) 中所阐述的进行。待治疗的乳腺癌可分型为PR未知、富含PR或缺乏PR。待治疗的乳腺癌可分型为PR阴性或PR阳性。待治疗的乳腺癌可分型为受体阳性或受体阴性。待治疗的乳腺癌可分型为与提高的血液CA 15-3或CA 27-29水平或二者有关。

[0052] 待治疗的乳腺癌可包括局部乳腺肿瘤。待治疗的乳腺癌可包括与阴性前哨淋巴结 (SLN) 活组织检查有关的乳腺肿瘤。待治疗的乳腺癌可包括与阳性前哨淋巴结 (SLN) 活组织检查有关的乳腺肿瘤。待治疗的乳腺癌可包括与一个或多个阳性腋淋巴结有关的乳腺肿瘤, 其中腋淋巴结已经通过任何适用的方法分阶段。待治疗的乳腺癌可包括已经分型为具有结节阴性状态 (例如结-阴性) 或结节阳性状态 (例如, 结-阳性) 的乳腺肿瘤。待治疗的乳

腺癌可包括已经转移至体内其它部位的乳腺肿瘤。待治疗的乳腺癌可分类为已经转移至选自骨、肺、肝或脑的部位。待治疗的乳腺癌可根据选自转移性、局限性、区域、局部区域、局部晚期、远端、多中心、双向、同侧、对侧、最新诊断的、复发和不宜手术的特征分类。

[0053] 本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,可用于在相对于一般群体具有增加的发展乳腺癌风险的受试者中治疗或预防乳腺的细胞增生性疾病,或治疗或预防乳腺癌。相对于一般群体具有增加的发展乳腺癌风险的受试者为具有乳腺癌家族史或个人历史的女性受试者。相对于一般群体具有增加的发展乳腺癌风险的受试者为在BRCA1或BRCA2或二者中具有种系或自发突变的女性受试者。相对于一般群体具有增加的发展乳腺癌风险的受试者为具有乳腺癌家族史和在BRCA1或BRCA2或二者中具有种系或自发突变的女性受试者。相对于一般群体具有增加的发展乳腺癌风险的受试者为大于30岁、大于40岁、大于50岁、大于60岁、大于70岁、大于80岁或大于90岁的女性。相对于一般群体具有增加的发展乳腺癌风险的受试者为具有非典型乳腺增生、原位导管癌(DCIS)、导管内癌、原位小叶癌(LCIS)、小叶瘤形成或0阶段乳腺生长或病灶(例如,0阶段或0级乳腺癌或原位癌)的受试者。

[0054] 待治疗的乳腺癌可根据Scarff-Bloom-Richardson系统组织学分级,其中乳腺肿瘤被指定为有丝分裂计数分数1、2或3,核多态性分数1、2或3,小管形成分数1、2或3,和总的Scarff-Bloom-Richardson分数3-9。待治疗的乳腺癌可根据乳腺癌治疗国际共识小组(International Consensus Panel on the Treatment of Breast Cancer)指定一个选自1级、1-2级、2级、2-3级或3级的肿瘤等级。

[0055] 待治疗的癌症可根据美国癌症联合会(AJCC) TNM分类系统分阶段,其中将肿瘤(T)指定为阶段TX、T1、T1mic、T1a、T1b、T1c、T2、T3、T4、T4a、T4b、T4c或T4d;并且其中将区域淋巴结(N)指定为阶段NX、N0、N1、N2、N2a、N2b、N3、N3a、N3b或N3c;并且其中将远端转移(M)可指定为阶段MX、M0或M1。待治疗的癌症可根据美国癌症联合会(AJCC)分类分阶段为阶段I、阶段IIA、阶段IIB、阶段IIIA、阶段IIIB、阶段IIIC或阶段IV。待治疗的癌症可根据AJCC分类指定等级为等级GX(例如,不能评估的等级)、等级1、等级2、等级3或等级4。待治疗的癌症可根据AJCC病理学分类(pN)分阶段为pNX、pN0、PN0(I-)、PN0(I+)、PN0(mol-)、PN0(mol+)、PN1、PN1(mi)、PN1a、PN1b、PN1c、pN2、pN2a、pN2b、pN3、pN3a、pN3b或pN3c。

[0056] 待治疗的癌症可包括经测定直径小于或等于约2厘米的肿瘤。待治疗的癌症可包括经测定直径约2-约5厘米的肿瘤。待治疗的癌症可包括经测定直径大于或等于约3厘米的肿瘤。待治疗的癌症可包括经测定直径大于5厘米的肿瘤。待治疗的癌症可通过显微形貌分类为分化良好的、中度分化的、低分化的或未分化的。待治疗的癌症可通过关于有丝分裂计数(例如,细胞分裂的量)或核多态性(例如,细胞变化)的显微形貌分类。待治疗的癌症可通过显微形貌分类为与坏死区(例如,濒死或变性细胞区)有关。待治疗的癌症可分类为具有异常核型、具有异常染色体数目或具有一个或多个外观异常的染色体。待治疗的癌症可分类为非整倍体、三倍体、四倍体,或具有改变的倍数性。待治疗的癌症可分类为具有染色体易位,或整个染色体缺失或重复,或染色体部分缺失、重复或扩增。

[0057] 待治疗的癌症可通过DNA细胞计量术、流式细胞计量术或图像细胞计量术评估。待治疗的癌症可分型为具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的细胞在细胞分裂的合成阶段(例如,在细胞分裂的S期)。待治疗的癌症可分型为具有低S期分数或高S期分数。

[0058] 如本文所使用的,“正常细胞”为不能被分类为“细胞增生性病征”部分的细胞。正常细胞无可导致发展不必要的病况或疾病的未经调节的或异常的生长,或二者。优选地,正常细胞具有正常行使功能的细胞周期检查点控制机制。

[0059] 如本文所使用的,“接触细胞”指其中化合物或其它物质组合物与细胞直接接触,或足够接近以在细胞中诱导期需的生物学效果的情况。

[0060] 如本文所使用的,“候选化合物”指已经或将会在一个或多个体外或体内生物学测定中检验,以测定该化合物是否可能在研究者或临床医生探索的细胞、组织、系统、动物或人中引发期需生物学或医学反应的本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物。候选化合物为本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物。所述生物学或医学反应可为癌症的治疗。生物学或医学反应可为细胞增生性病征的治疗或预防。体外或体内生物学测定可包括,但不限于,酶活性测定、电泳迁移改变测定、报告基因测定、体外细胞存活测定和本文所描述的测定。

[0061] 如本文所使用的,“单一治疗”指给予有需要的受试者单一活性或治疗性的化合物。优选地,单一治疗将会涉及给予治疗有效量的活性化合物。例如,用一种本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物对需要治疗癌症的受试者的癌症单一治疗。单一治疗可与联合治疗相比,在联合治疗中给予多个活性化合物的组合,优选组合的每一组分以治疗有效量存在。在一个方面,在诱导期需的生物学效果中,用本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物单一治疗比联合治疗更有效。

[0062] 如本文所使用的,治疗(“treating”或“treat”)描述为了对抗疾病、病况或病症的目的对患者的管理和照顾,并且包括给予本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,以减轻疾病、病况或病症的症状或并发症,或消除疾病、病况或病症。

[0063] 本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,也可用于预防疾病、病况或病症、如本文所使用的,预防(“preventing”或“prevent”)描述减少或消除疾病、病况或病症的症状或并发症的开始。

[0064] 如本文所使用的,术语“减轻”意在描述病症的迹象或症状的严重性降低的过程。重要地,迹象或症状可减轻而不消除。在优选的实施方案中,给予本发明药物组合物导致消除迹象或症状,然而,消除是不需要的。有效的剂量预期降低迹象或症状的严重性。例如,如果癌症的严重性在多部位的至少一个中降低,病症例如癌症(可发生在多个部位)的迹象或症状减轻。

[0065] 如本文所使用的,术语“严重性”意在描述癌症从癌前或良性状态转变为恶性状态的潜能。或者,或另外,严重性意在描述,例如,根据TNM系统(国际防癌联盟(UICC)和美国癌症联合会(AJCC)公认的)或其它领域公认的方法的癌症阶段。癌症阶段指癌症的程度或严重性,基于因素例如原发肿瘤的部位、肿瘤尺寸、肿瘤数目和淋巴结受累(癌症扩散入淋巴结)。或者,或另外,严重性意在描述通过领域公认方法(参见,National Cancer Institute(国家癌症研究所),www.cancer.gov)的肿瘤等级。肿瘤等级为用于依据其在显微镜下看起来如何异常和肿瘤可能生长和散布的如何迅速分类癌细胞的系统。当测定肿瘤等级时考虑许多因素,包括细胞的结构和生长模式。用于测定肿瘤等级的具体因素随每一类型的癌症而不同。严重性还描述组织学等级,也称为分化,其指肿瘤细胞与同一组织类型的正常细

胞如何相似(参见,National Cancer Institute (国家癌症研究所),www.cancer.gov)。此外,严重性描述核等级,其指肿瘤细胞中核的尺寸和性状以及分裂中的肿瘤细胞的百分数(参见,National Cancer Institute (国家癌症研究所),www.cancer.gov)。

[0066] 在本发明另一个方面,严重性描述肿瘤分泌生长因子、降解胞外基质、变得血管化、丧失对并列组织的粘附或转移的程度。此外,严重性描述原发性肿瘤已经转移的部位数。最后,严重性包括治疗各种类型和部位的肿瘤的难度。例如,不宜手术的肿瘤,更多进入多个身体系统的那些癌症(血液和免疫肿瘤),和最耐受传统治疗的那些认为是最严重的。在这些情况下,延长受试者的预期寿命和/或减少疼痛、降低癌细胞的比例或将细胞限制在一个系统和改善癌症阶段/肿瘤等级/组织学等级/核等级被认为是减轻癌症的迹象或症状。

[0067] 如本文所使用的术语“症状”定义为疾病、病、损伤或体内有一些不对的指示。症状由经历症状的个体感觉或注意到,但可能不容易被其他人注意到。其他人定义为非健康护理专业人员。

[0068] 如本文所使用的术语“迹象”也定义为体内有一些不对的指示。但迹象定义为医生、护士或其他健康护理专业人员可观察到东西。

[0069] 癌症为可引起几乎任何迹象或症状的一组疾病。迹象和症状将会取决于癌症在何处、癌症的尺寸和其影响附近器官或结构的程度。如果癌症散布(转移),那么症状可出现在身体的不同部分。

[0070] 随着癌症生长,其开始推动附近的器官、血管和神经。该压力产生一些癌症迹象和症状。如果癌症在关键区域,例如脑的某些部分,即使最小的肿瘤也可引起早期症状。

[0071] 但有时癌症在其不引起任何症状的位置开始,直至癌症已经生长得相当大。例如,胰腺癌通常不生长得足够大以致从体外感觉到。一些胰腺癌不引起症状,直至其开始在附近神经周围生长(这引起背痛)。其它在胆管周围生长,阻断胆汁流动并导致皮肤变黄(称为黄疸)。到胰腺癌引起这些迹象或症状时,其通常已经达到晚期。

[0072] 癌症也可引起诸如发烧、疲劳或体重减轻等症状。这可能是由于癌细胞使用大量的身体能量供应或释放改变身体代谢的物质。或癌症可引起免疫系统以产生这些症状的方式反应。

[0073] 有时,癌细胞向血流中释放物质,其引起通常不认为是由癌症导致的症状。例如,一些胰腺癌症可释放引起在腿静脉中发展血液凝固的物质。一些肺癌制造影响血液钙水平、影响神经和肌肉以及引起虚弱和眩晕的激素样物质。

[0074] 癌症呈现数个当存在多种癌细胞亚型时发生的一般迹象或症状。多数具有癌症的人群将会在其疾病内的一些时间体重减轻。一个未解释的(无意识的) 10磅或更多的体重减轻可能是癌症的第一个迹象,特别是胰腺癌、胃癌、食道癌或肺癌。

[0075] 发烧对于癌症非常常见,但更常在晚期疾病中见到。几乎所有癌症患者都将会在某些时间具有发烧,特别是如果癌症或其治疗影响免疫系统并使身体更难以对抗感染。不经常地,发烧可为癌症的早期迹象,例如白血病或淋巴瘤。

[0076] 随着癌症进展,疲劳可为重要的症状。尽管其可在癌症例如白血病中,或如果癌症引起血液不断流失,如在一些结肠或胃癌中,早期发生。

[0077] 疼痛可为一些癌症的早期症状,例如骨癌或睾丸癌。但疼痛最经常为晚期疾病的

症状。

[0078] 连同皮肤癌(参见下一段),一些内部癌症可引起可观察到的皮肤迹象。这些变化包括皮肤看起来较暗(色素沉着过多)、黄(黄疸)或红(红斑),瘙痒,或过度的毛发生长。

[0079] 或者,或另外,癌症亚型呈现特定的迹象或症状。肠排便习惯或膀胱功能的变化可指示癌症。长期便秘、腹泻或粪便尺寸变化可为结肠癌的迹象。排尿疼痛、尿血或膀胱功能变化(例如更频繁或不太频繁的排尿)可与膀胱癌或前列腺癌有关。

[0080] 皮肤状况变化或新皮肤状况的出现可指示癌症。皮肤癌可出血或像不愈合的溃疡。口中长期持续的溃疡可为口部癌症,特别是在抽烟、咀嚼烟草或频繁饮酒的患者中。阴茎或阴道上的溃疡可为感染或早期癌症的迹象。

[0081] 不常见的出血或排放可指示癌症。不常见的出血可在早期或晚期癌症中发生。痰(sputum, phlegm)中的血液可为肺癌的迹象。粪便中的血液(或深色或黑色大便)可为结肠或直肠癌的迹象。宫颈癌或子宫内膜(子宫的衬里)癌可引起阴道出血。尿血可为膀胱癌或肾癌的迹象。来自乳头的血性排出物可为乳腺癌的迹象。

[0082] 乳腺或身体其它部分中的变厚或肿块可指示存在癌症。许多癌症可通过皮肤感知,主要在乳腺、睾丸、淋巴结(腺)或身体的软组织中。肿块或变厚可为癌症的早期或晚期症状。肿块或变厚可指示癌症,特别是如果该形成物为新的或尺寸上已经生长。

[0083] 消化不良或吞咽困难可指示癌症。尽管这些症状通常具有其它原因,但消化不良或吞咽问题可为食道癌、胃癌或咽(喉咙)癌的迹象。

[0084] 疣或痣的新近变化可指示癌症。颜色、尺寸或形状改变,或丧失其明确边界的任何疣、痣或斑点指示潜在的癌症发展。例如,皮肤病灶可为黑色素瘤。

[0085] 持续的咳嗽或嘶哑可指示癌症。不离开咳嗽可为肺癌的迹象。嘶哑可为喉(喉头)癌或甲状腺癌的迹象。

[0086] 尽管以上列出的迹象和症状为随癌症见到的较常见的迹象和症状,但仍存在许多不太常见并且本文未列出的其它迹象和症状。然而,本发明考虑和包括所有本领域公认的癌症迹象和症状。

[0087] 治疗癌症可导致肿瘤尺寸的减小。肿瘤尺寸的减少可称为“肿瘤消退”。优选地,治疗后,相对于其治疗前的尺寸,肿瘤尺寸减少5%或更多;更优选地,肿瘤尺寸减少10%或更多;更优选地,减少20%或更多;更优选地,减少30%或更多;更优选地,减少40%或更多;甚至更优选地,减少50%或更多;和最优选地,减少75%或更多。肿瘤尺寸可通过任何可重复的测量方法测量。肿瘤尺寸可作为肿瘤的直径测量。

[0088] 治疗癌症可导致肿瘤体积的减小。优选地,治疗后,相对于其治疗前的尺寸,肿瘤体积减小5%或更多;更优选地,肿瘤体积减小10%或更多;更优选地,减小20%或更多;更优选地,减小30%或更多;更优选地,减小40%或更多;甚至更优选地,减小50%或更多;和最优选地,减小75%或更多。肿瘤体积可通过任何可重复的测量方法测量。

[0089] 治疗癌症导致肿瘤数目的减少。优选地,治疗后,相对于治疗前的数目,肿瘤数目减少5%或更多;更优选地,肿瘤数目减少10%或更多;更优选地,减少20%或更多;更优选地,减少30%或更多;更优选地,减少40%或更多;甚至更优选地,减少50%或更多;和最优选地,减少75%或更多。肿瘤数目可通过任何可重复的测量方法测量。肿瘤数目可通过计数肉眼可见的或以指定的放大率可见的肿瘤测量。优选地,指定的放大率为2x、3x、4x、5x、10x或50x。

[0090] 治疗癌症可导致远离原发肿瘤位点的其它组织或器官中转移性病灶数目的减少。优选地,治疗后,相对于治疗前的数目,转移性病灶的数目减少5%或更多;更优选地,转移性病灶的数目减少10%或更多;更优选地,减少20%或更多;更优选地,减少30%或更多;更优选地,减少40%或更多;甚至更优选地,减少50%或更多;和最优选地,减少75%或更多。转移性病灶的数目可通过任何可重复的测量方法测量。转移性病灶的数目可通过计数肉眼可见的或以指定的放大率可见的转移性病灶测量。优选地,指定的放大率为2x、3x、4x、5x、10x或50x。

[0091] 治疗癌症可导致与仅接受载体的群体相比,治疗的受试者群的平均存活时间增加。优选地,平均存活时间增加超过30天;更优选地,超过60天;更优选地,超过90天;和最优选地,超过120天。群体平均存活时间的增加可通过任何可重复的方法测量。群体平均存活时间的增加可,例如,通过计算开始用活性化合物治疗之后群体的平均存活长度测量。群体平均存活时间的增加也可,例如,通过计算完成第一轮用活性化合物治疗之后群体的平均存活长度测量。

[0092] 治疗癌症可导致与未治疗的受试者群相比,治疗的受试者群的平均存活时间增加。优选地,平均存活时间增加超过30天;更优选地,超过60天;更优选地,超过90天;和最优选地,超过120天。群体平均存活时间的增加可通过任何可重复的方法测量。群体平均存活时间的增加可,例如,通过计算开始用活性化合物治疗之后群体的平均存活长度测量。群体平均存活时间的增加也可,例如,通过计算完成第一轮用活性化合物治疗之后群体的平均存活长度测量。

[0093] 治疗癌症可导致与接受用非本发明化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物的药物单一治疗的群体相比,治疗的受试者群的平均存活时间增加。优选地,平均存活时间增加超过30天;更优选地,超过60天;更优选地,超过90天;和最优选地,超过120天。群体平均存活时间的增加可通过任何可重复的方法测量。群体平均存活时间的增加可,例如,通过计算开始用活性化合物治疗之后群体的平均存活长度测量。群体平均存活时间的增加也可,例如,通过计算完成第一轮用活性化合物治疗之后群体的平均存活长度测量。

[0094] 治疗癌症可导致与仅接受载体的群体相比,治疗的受试者群的死亡率降低。治疗癌症可导致与未治疗的群体相比,治疗的受试者群的死亡率降低。治疗癌症可导致与接受用非本发明化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物的药物单一治疗的群体相比,治疗的受试者群的死亡率降低。优选地,死亡率降低超过2%;更优选地,超过5%;更优选地,超过10%;和最优选地,超过25%。治疗的患者群死亡率的降低可通过任何可重复的方法测量。群体死亡率的降低可,例如,通过计算开始用活性化合物治疗之后群体每单位时间疾病相关死亡的平均数目测量。群体死亡率的降低也可,例如,通过计算完成第一轮用活性化合物治疗之后群体每单位时间疾病相关死亡的平均数目测量。

[0095] 治疗癌症可导致肿瘤生长速率的降低。优选地,治疗后,相对于治疗前的数字,肿瘤生长速率减少至少5%;更优选地,肿瘤生长速率减少至少10%;更优选地,减少至少20%;更优选地,减少至少30%;更优选地,减少至少40%;更优选地,减少至少50%;甚至更优选地,减少至少50%;和最优选地,减少至少75%。肿瘤生长速率可通过任何可重复的测量方法测量。肿瘤生长速率可根据每单位时间肿瘤直径的变化测量。

[0096] 治疗癌症可导致肿瘤再生长的减少。优选地,治疗后,肿瘤再生长小于5%;更优选

地,肿瘤再生长小于10%;更优选地,小于20%;更优选地,小于30%;更优选地,小于40%;更优选地,小于50%;甚至更优选地,小于50%;和最优选地,小于75%。肿瘤再生长可通过任何可重复的测量方法测量。肿瘤再生长,例如,通过测量治疗之后先前的肿瘤缩小后肿瘤直径的增加测量。肿瘤再生长的减少通过治疗停止后肿瘤重新出现失败指示。

[0097] 治疗或预防细胞增生性病征可导致细胞增殖速率的降低。优选地,治疗后,细胞增殖的速率减少至少5%;更优选地,至少10%;更优选地,至少20%;更优选地,至少30%;更优选地,至少40%;更优选地,至少50%;甚至更优选地,至少50%;和最优选地,至少75%。细胞增殖的速率可通过任何可重复的测量方法测量。细胞增殖的速率,例如,通过测量每单位时间组织样品中分裂的细胞的数目测量。

[0098] 治疗或预防细胞增生性病征可导致增殖细胞的比例减少。优选地,治疗后,增殖细胞的比例减少至少5%;更优选地,至少10%;更优选地,至少20%;更优选地,至少30%;更优选地,至少40%;更优选地,至少50%;甚至更优选地,至少50%;和最优选地,至少75%。增殖细胞的比例可通过任何可重复的测量方法测量。优选地,增殖细胞的比例,例如,通过相对于组织样品中非分裂细胞的数目定量分裂细胞的数目测量。增殖细胞的比例可等价于有丝分裂指数。

[0099] 治疗或预防细胞增生性病征可导致细胞增殖区或带的尺寸减少。优选地,治疗后,相对于其治疗前的尺寸,细胞增殖区或带的尺寸减少至少5%;更优选地,减少至少10%;更优选地,减少至少20%;更优选地,减少至少30%;更优选地,减少至少40%;更优选地,减少至少50%;甚至更优选地,减少至少50%;和最优选地,减少至少75%。细胞增殖区或带的尺寸可通过任何可重复的测量方法测量。细胞增殖区或带的尺寸可作为细胞增殖区或带的直径或宽度测量。

[0100] 治疗或预防细胞增生性病征可导致具有异常外观或形态学的细胞的数目或比例降低。优选地,治疗后,相对于其治疗前的尺寸,具有异常形态学的细胞的数目减少至少5%;更优选地,减少至少10%;更优选地,减少至少20%;更优选地,减少至少30%;更优选地,减少至少40%;更优选地,减少至少50%;甚至更优选地,减少至少50%;和最优选地,减少至少75%。异常细胞外观或形态学可通过任何可重复的测量方法测量。异常细胞形态学可通过显微术,例如,使用倒置组织培养显微镜测量。异常细胞形态学可采取核多态性的形式。

[0101] 如本文所使用的,术语“有选择地”意指倾向于以在一个群体中比另一个群体更高的频率发生。比较的群体可为细胞群。优选地,本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,有选择地作用于癌症或癌前细胞,但不作用于正常细胞。优选地,本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,有选择地作用以调节一个分子靶(例如,靶激酶),但不显著调节另一个分子靶(例如,非靶激酶)。本发明还提供用于有选择地抑制酶,例如激酶的活性的方法。优选地,如果与群体B相比事件在群体A中两倍以上更频繁地发生,那么相对于群体B其有选择地在群体A中发生。如果事件在群体A中五倍以上更频繁地发生,那么其有选择地发生。如果事件在群体A中十倍以上更频繁地发生,更优选地,50倍以上,甚至更优选地,100倍以上,和最优选地,与群体B相比在群体A中1000倍以上更频繁,那么其有选择地发生。例如,如果与正常细胞相比细胞死亡在癌细胞中两倍以上更频繁地发生,那么其将会称为有选择地在癌细胞中发生。

[0102] 本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,可调节

分子靶(例如,靶激酶)的活性。调节指刺激或抑制分子靶的活性。优选地,如果相对于相同条件但仅缺乏所述化合物存在下分子靶的活性,其刺激或抑制分子靶的活性至少2倍,那么本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,调节分子靶的活性。更优选地,如果相对于相同条件但仅缺乏所述化合物存在下分子靶的活性,其刺激或抑制分子靶的活性至少5倍、至少10倍、至少20倍、至少50倍、至少100倍,那么本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,调节分子靶的活性。分子靶的活性可通过任何可重复的方法测量。分子靶的活性可体外或体内测量。例如,分子靶的活性可通过酶活性测定或DNA结合测定体外测量,或分子靶的活性可通过测定报告基因的表达体内测量。

[0103] 如果相对于相同条件但仅缺乏所述化合物存在下分子靶的活性,加入化合物不刺激或抑制分子靶的活性大于10%,本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,不显著调节分子靶的活性。

[0104] 如本文所使用的,术语“同工酶选择性”意指与酶的第二个同种型相比优选抑制或刺激酶的第一个同种型(例如,与激酶同种型 β 相比优选抑制或刺激激酶同种型 α)。优选地,本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,显示在达到生物学效果所需的剂量中最小4倍的差异,优选地10倍差异,更优选地50倍差异。优选地,本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,在抑制的范围上显示该差异,并且该差异在对目的靶分子的 IC_{50} ,即50%处例示。

[0105] 给予有需要的细胞或受试者本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物可导致调节(即,刺激或抑制)目的激酶的活性。

[0106] 本发明提供评估本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物的生物学活性的方法。在一个方法中,可利用基于酶活性的测定。在一个具体的酶活性测定中,酶活性来自激酶。如本文所使用的,“激酶”指催化 γ -磷酸从ATP向蛋白质和肽中Ser/Thr或Tyr的侧链上的羟基转移并且密切涉及多种重要细胞功能(可能最值得注意地:信号转导、分化和增殖)的控制的一大类酶。据估计人体中存在约2,000种不同的蛋白激酶,尽管这些的每一磷酸化特定的蛋白/肽底物,但其均在高度保守的口袋中结合相同的第二个底物ATP。约50%已知的癌基因产物为蛋白酪氨酸激酶(PTK),并且其激酶活性已经显示引起细胞转化。优选地,测定的激酶为酪氨酸激酶。

[0107] 本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物引起的酶活性变化可在公开的测定中测量。酶活性变化可通过某些底物磷酸化程度的变化表征。如本文所使用的,“磷酸化”指向底物,包括蛋白质和有机分子添加磷酸基团,并且,在调节蛋白质的生物学活性中发挥重要作用。优选地,测定和测量的磷酸化涉及向酪氨酸残基添加磷酸基团。底物可为肽或蛋白质。

[0108] 在一些测定中,使用免疫试剂,例如,抗体和抗原。在一些测定中酶活性测量可利用荧光。如本文所使用的,“荧光”指由于分子吸收入射的更高能量的光子同一分子发射光子的过程。用于评估公开化合物的生物学活性的具体方法在实施例中描述。

[0109] 给予有需要的细胞或受试者本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物导致调节(即,刺激或抑制)细胞内靶(例如,底物)的活性。数种分子内靶可用本发明化合物调节,包括,但不限于,接头蛋白例如Gab-1、Grb-2、Shc、FRS2、SHP2

和c-Cbl,和信号转导物例如Ras、Src、PI3K、PLC- γ 、STATs、ERK1和2以及FAK。

[0110] 活化指将物质组合物(例如,蛋白质或核酸)放置在适合进行期需生物学功能的状态。能够活化的物质组合物也具有未活化的状态。活化的物质组合物可具有抑制性或刺激性生物学功能,或二者。

[0111] 提高指物质组合物(例如,蛋白质或核酸)的期需生物学活性的增加。提高可通过物质组合物的浓度增加发生。

[0112] 如本文所使用的,“细胞周期检查点通路”指调整细胞周期检查点中涉及的生化通路。细胞周期检查点通路可对包含细胞周期检查点的一个或多个功能具有刺激性或抑制性效果,或二者。细胞周期检查点通路由至少两个物质组合物(优选地蛋白质)组成,其二者均有助于调节细胞周期检查点。细胞周期检查点通路可通过活化细胞周期检查点通路的一个或多个成员活化。优选地,细胞周期检查点通路为生化信号传导通路。

[0113] 如本文所使用的,“细胞周期检查点调节物”指可,至少部分上,发挥功能以调节细胞周期检查点的物质组合物。细胞周期检查点调节物可对包含细胞周期检查点的一个或多个功能具有刺激性或抑制性效果,或二者。细胞周期检查点调节物可为蛋白质或不是蛋白质。

[0114] 治疗癌症或细胞增生性病征可导致细胞死亡,并且优选地,细胞死亡导致群体中细胞数目减少至少10%。更优选地,细胞死亡意指减少至少20%;更优选地,减少至少30%;更优选地,减少至少40%;更优选地,减少至少50%;最优选地,减少至少75%。群体中细胞的数目可通过任何可重复的方法测量。群体中细胞的数目可通过荧光激活的细胞分选(FACS)、免疫荧光显微术和光显微术测量。测量细胞死亡的方法在Li等人, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100(5): 2674-8, 2003中显示。在一个方面,细胞死亡通过凋亡发生。

[0115] 优选地,有效量的本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物对正常细胞无显著细胞毒性。如果给予治疗有效量的化合物不在大于10%的正常细胞中诱导细胞死亡,那么治疗有效量的化合物对正常细胞无显著细胞毒性。如果给予治疗有效量的化合物不在大于10%的正常细胞中诱导细胞死亡,那么治疗有效量的化合物不显著影响正常细胞的活力。在一个方面,细胞死亡通过凋亡发生。

[0116] 使细胞与本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物接触可有选择地在癌细胞中诱导或激活细胞死亡。给予有需要的受试者本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物可有选择地在癌细胞中诱导或激活细胞死亡。使细胞与本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物接触可有选择地在受细胞增生性病征影响的一个或多个细胞中诱导细胞死亡。优选地,给予有需要的受试者本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物有选择地在受细胞增生性病征影响的一个或多个细胞中诱导细胞死亡。

[0117] 本发明涉及通过给予有需要的受试者本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物治疗或预防癌症的方法,其中给予本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物导致下列一个或多个:细胞在细胞周期的G1和/或S期累积,在癌细胞中经由细胞死亡的细胞毒性而在正常细胞中无显著量的细胞死亡,动物中治疗指数至少2的抗肿瘤活性,和细胞周期检查点的激活。如本文所使用的,“治疗指数”为最大耐受剂量除以有效剂量。

[0118] 对于本文所讨论的已知技术或相等技术的详细描述,本领域技术人员可参考一般参考文本。这些文本包括Ausubel等人, *Current Protocols in Molecular Biology* (分子生物学现有方案), John Wiley和Sons, Inc. (2005); Sambrook等人, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (分子克隆,实验手册)(第3版), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York (2000); Coligan等人, *Current Protocols in Immunology* (免疫学现有方案), John Wiley & Sons, N.Y.; Enna等人, *Current Protocols in Pharmacology* (药理学现有方案), John Wiley & Sons, N.Y.; Fingl等人, *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (治疗学的药理学基础) (1975), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA, 第18版(1990),当然,这些文本也可在制造或使用本发明的方面时参考。

[0119] 如本文所使用的,“联合治疗”或“共治疗”包括给予至少两种本发明化合物,或其或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,作为具体治疗方案的部分,意在从这些至少两种本发明化合物的共-作用提供有益效果。联合的有益效果包括,但不限于,这些至少两种本发明化合物的联合导致的药代动力学或药效学共-作用。联合给予这些至少两种本发明化合物通常在界定的时间段(通常数分钟、数小时、数天或数周,取决于所选择的联合)内进行。“联合治疗”可,但一般不,意在包括作为偶然或任意地导致本发明的联合的单独的单一治疗方案的部分给予两种或更多种这些本发明化合物。

[0120] “联合治疗”意在包含以顺序方式给予这些治疗剂,其中每一治疗剂在不同的时间给予,以及以基本上同时的方式给予这些治疗剂,或至少两种治疗剂。如本文所使用的基本上同时的方式为在彼此的1小时内给予至少两种治疗剂。基本上同时给予可,例如,通过给予受试者具有固定比率的每一治疗剂的单一组合物或在每一治疗剂单独的胶囊中给予。如本文所使用的顺序的方式为至少两种治疗剂的一种在至少两种治疗剂的另一种之后一个小时以上给予。优选地,对于顺序给予,至少两种治疗剂的一种在给予另一种治疗剂后至少12小时、至少24小时、至少48小时、至少96小时或至少1周给予。顺序或基本上同时给予每一治疗剂可通过适当的途径实现,包括,但不限于,口服途径、静脉内途径、肌肉内途径和通过粘膜组织直接吸收。治疗剂可通过相同途径或通过不同途径给予。例如,所选择的联合的第一种治疗剂可通过静脉内注射给予,而联合的其它治疗剂可口服给予。或者,例如,所有治疗剂可口服给予,或所有治疗剂可通过静脉内注射给予。治疗剂给予的顺序不是严格关键性的。

[0121] “联合治疗”还包含与其它生物学活性成分或非药物治疗(例如,手术或放射治疗)进一步联合如上所述给予至少两种本发明化合物。在联合治疗进一步包括非药物治疗时,非药物治疗可以在任何合适的时间进行,只要达到治疗剂与非药物治疗联合的共-作用的有益效果。例如,在适当的情况下,当从给予治疗剂临时移除非药物治疗,可能数天或甚至数周时,有益效果仍然达到。

[0122] 本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,或至少两种本发明化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物的联合可进一步与额外的化疗剂联合给予。额外的化疗剂(也称为抗肿瘤剂或抗增殖剂)可为烷化剂、抗生素、抗代谢物、解毒剂、干扰素、多克隆或单克隆抗体、EGFR抑制剂、FGFR抑制剂、HER2抑制剂、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂、激素、有丝分裂抑制剂、MTOR抑制剂、多重激酶抑制剂、丝氨

酸/苏氨酸激酶抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、VEGF/VEGFR抑制剂、紫杉烷或紫杉烷衍生物、芳香化酶抑制剂、葱环类、微管靶向药物、拓扑异构酶毒性药物、靶分子或酶抑制剂(例如,激酶抑制剂)、胞苷类似物药物或www.cancer.org/docroot/cdg/cdg_0.asp中列出的任何化疗、抗肿瘤或抗增殖剂。

[0123] 示例性的烷化剂包括,但不限于,环磷酰胺(Cytoxan、Neosar)、苯丁酸氮芥(Leukeran)、美法仑(Alkeran)、卡莫司汀(BiCNU)、白消安(Busulfex)、罗氮芥(CeeNU)、达卡巴嗪(DTIC-Dome)、奥沙利铂(Eloxatin)、卡莫司汀(Gliadel)、异环磷酰胺>Ifex)、氮芥(Mustargen)、白消安(Myleran)、卡铂(Paraplatin)、顺铂(CDDP、Platinol)、替莫唑胺(Temodar)、塞替派(Thioplex)、苯达莫司汀(Treanda)或链脲佐菌素(Zanosar)。

[0124] 示例性的抗生素包括,但不限于,多柔比星(Adriamycin)、多柔比星脂质体(Doxil)、米托蒽醌(Novantrone)、博来霉素(Blenoxane)、柔红霉素(Cerubidine)、柔红霉素脂质体(DaunoXome)、更生霉素(Cosmegen)、表柔比星(Ellence)、伊达比星(Idamycin)、普利霉素(Mithracin)、丝裂霉素(Mutamycin)、喷司他丁(Nipent)或戊柔比星(Valstar)。

[0125] 示例性的抗代谢物包括,但不限于,氟尿嘧啶(Arucil)、卡培他滨(Xeloda)、羟基脲(Hydrea)、巯嘌呤(Purinethol)、培美曲塞(Alimta)、氟达拉滨(Fludara)、奈拉滨(Arranon)、克拉屈滨(Cladribine Novaplus)、氯法拉滨(Clolar)、阿糖胞苷(Cytosar-U)、地西他滨(Dacogen)、阿糖胞苷脂质体(DepoCyt)、羟基脲(Droxia)、普拉曲沙(Folotylin)、氟脲苷(FUDR)、吉西他滨(Gemzar)、克拉屈滨(Leustatin)、氟达拉滨(Oforta)、甲氨蝶呤(MTX、Rheumatrex)、甲氨蝶呤(Trexall)、硫鸟嘌呤(Tabloid)、TS-1或阿糖胞苷(Tarabine PFS)。

[0126] 示例性的解毒剂包括,但不限于,氨磷汀(Ethyol)或美司钠(Mesnex)。

[0127] 示例性的干扰素包括,但不限于,干扰素 α -2b (Intron A)或干扰素 α -2a (Roferon-A)。

[0128] 示例性的多克隆或单克隆抗体包括,但不限于,曲妥珠单抗(trastuzumab)(Herceptin)、奥法木单抗(ofatumumab)(Arzerra)、贝伐单抗(bevacizumab)(Avastin)、利妥昔单抗(rituximab)(Rituxan)、西妥昔单抗(cetuximab)(Erbix)、帕木单抗(panitumumab)(Vectibix)、托西莫单抗(tositumomab)/碘¹³¹托西莫单抗(Bexxar)、阿仑单抗(alemtuzumab)(Campath)、替伊莫单抗(ibritumomab)(Zevalin、In-111、Y-90 Zevalin)、吉妥珠单抗(gemtuzumab)(Mylotarg)、依库珠单抗(eculizumab)(Soliris)、ordenosumab、nivolumab(Opdivo)、pembrolizumab(Keytruda)、伊匹木单抗(ipilimumab)(Yervoy)、pidilizumab、atezolizumab。

[0129] 示例性的EGFR抑制剂包括,但不限于,吉非替尼(Iressa)、拉帕替尼(Tykerb)、西妥昔单抗(Erbix)、埃罗替尼(Tarceva)、帕木单抗(Vectibix)、PKI-166、卡组替尼(CI-1033)、马妥珠单抗(matuzumab)(Emd7200)或EKB-569。

[0130] 示例性的HER2抑制剂包括,但不限于,曲妥珠单抗(Herceptin)、拉帕替尼(Tykerb)或AC-480。

[0131] 组蛋白脱乙酰基酶抑制剂包括,但不限于,伏立诺他(vorinostat)(Zolinza)。

[0132] 示例性的激素包括,但不限于,他莫昔芬(Soltamox、Nolvadex)、雷洛昔芬(Evista)、甲地孕酮(Megace)、亮丙瑞林(Lupron、Lupron Depot、Eligard、Viadur)、氟维司

群 (Faslodex)、来曲唑 (Femara)、曲普瑞林 (Trelstar LA、Trelstar Depot)、依西美坦 (Aromasin)、戈舍瑞林 (Zoladex)、比卡鲁胺 (Casodex)、阿那曲唑 (Arimidex)、氟甲睾酮 (Androxy、Halotestin)、甲羟孕酮 (Provera、Depo-Provera)、雌莫司汀 (Emcyt)、氟他胺 (Eulexin)、托瑞米芬 (Fareston)、地加瑞克 (Firmagon)、尼鲁米特 (Nilandron)、阿巴瑞克 (Plenaxis) 或睾内酯 (Teslac)。

[0133] 示例性的有丝分裂抑制剂包括,但不限于,紫杉醇 (Taxol、Onxol、Abraxane)、多西紫杉醇 (Taxotere)、长春新碱 (Oncovin、Vincasar PFS)、长春碱 (Velban)、依托泊苷 (Toposar、Etopophos、VePesid)、替尼泊苷 (Vumon)、伊沙匹隆 (Ixempra)、诺考达唑、埃博霉素、长春瑞滨 (Navelbine)、喜树碱 (CPT)、伊立替康 (Camptosar)、拓扑替康 (Hycamtin)、安吡啶或片螺素D (LAM-D)。

[0134] 示例性的MTOR抑制剂包括,但不限于,依维莫司 (Afinitor) 或西罗莫司 (Torisel)、雷帕霉素、地磷莫司 (ridaforolimus) 或AP23573。

[0135] 示例性的多重激酶抑制剂包括,但不限于,索拉非尼 (Nexavar)、舒尼替尼 (Sutent)、BIBW 2992、E7080、Zd6474、PKC-412、莫替沙尼 (motesanib) 或AP24534。

[0136] 示例性的丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂包括,但不限于,芦布妥林 (ruboxistaurin)、eril/easudil 盐酸盐、黄酮吡多 (flavopiridol)、塞利西利 (seliciclib) (CYC202、Roscovitrine)、SNS-032 (BMS-387032)、Pkc412、苔藓抑素、KAI-9803、SF1126、VX-680、Azd1152、Arry-142886 (AZD-6244)、SCIO-469、GW681323、CC-401、CEP-1347或PD 332991。

[0137] 示例性的酪氨酸激酶抑制剂包括,但不限于,埃罗替尼 (Tarceva)、吉非替尼 (Iressa)、伊马替尼 (Gleevec)、索拉非尼 (Nexavar)、舒尼替尼 (Sutent)、曲妥珠单抗 (Herceptin)、贝伐单抗 (Avastin)、利妥昔单抗 (Rituxan)、拉帕替尼 (Tykerb)、西妥昔单抗 (Erbix)、帕木单抗 (Vectibix)、依维莫司 (Afinitor)、阿仑单抗 (Campath)、吉妥珠单抗 (Mylotarg)、西罗莫司 (Torisel)、帕唑帕尼 (Votrient)、达沙替尼 (Sprycel)、尼洛替尼 (Tasigna)、伐他替尼 (Ptk787、ZK222584)、CEP-701、SU5614、MLN518、XL999、VX-322、Azd0530、BMS-354825、SKI-606 CP-690、AG-490、WHI-P154、WHI-P131、AC-220或AMG888。

[0138] 示例性的VEGF/VEGFR抑制剂包括,但不限于,贝伐单抗 (Avastin)、索拉非尼 (Nexavar)、舒尼替尼 (Sutent)、雷珠单抗 (ranibizumab)、培加他尼或凡德他尼 (vandetinib)。

[0139] 示例性的微管靶向药物包括,但不限于,紫杉醇、多西紫杉醇、长春新碱、长春碱、诺考达唑、埃博霉素和诺维本 (navelbine)。

[0140] 示例性的拓扑异构酶毒性药物包括,但不限于,替尼泊苷、依托泊苷、阿霉素、喜树碱、柔红霉素、更生霉素、米托蒽醌、安吡啶、表柔比星和伊达比星

示例性的紫杉烷或紫杉烷衍生物包括,但不限于,紫杉醇和多西紫杉醇。

[0141] 示例性的一般化疗剂、抗肿瘤剂、抗增殖剂包括,但不限于,六甲蜜胺 (Hexalen)、异维甲酸 (Accutane、Amnesteem、Claravis、Sotret)、维甲酸 (Vesanoid)、阿扎胞苷 (Vidaza)、硼替佐米 (Velcade)、门冬酰胺酶 (Elspar)、左旋咪唑 (Ergamisol)、米托坦 (Lysodren)、丙卡巴肼 (Matulane)、培门冬酶 (Oncaspar)、地尼白介素 (denileukin diftitox) (Ontak)、卟菲尔钠 (Photofrin)、阿地白介素 (Proleukin)、来那度胺 (Revlimid)、贝沙罗汀 (Targretin)、沙利度胺 (Thalomid)、西罗莫司 (Torisel)、三氧化二

砷(Trisenox)、维替泊芬(Visudyne)、含羞草氨酸(Leucenol)、(1M 喃氟啶 - 0.4 M 5-氟-2,4-二羟基嘧啶 - 1 M 氧嗪酸钾)或洛伐他汀。

[0142] 在另一个方面,额外的化疗剂可为细胞因子例如G-CSF (粒细胞集落刺激因子)。在另一个方面,本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,可与放射治疗联合给予。放射治疗也可与本发明化合物和本文中作为多重剂治疗的部分所描述的另一种化疗剂联合给予。在又一个方面,本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,可与标准化疗联合给予,例如,但不限于,CMF (环磷酰胺、甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶)、CAF (环磷酰胺、阿霉素和5-氟尿嘧啶)、AC (阿霉素和环磷酰胺)、FEC (5-氟尿嘧啶、表柔比星和环磷酰胺)、ACT或ATC (阿霉素、环磷酰胺和紫杉醇)、利妥昔单抗、Xeloda (卡培他滨)、顺铂(CDDP)、卡铂、TS-1 (喃氟啶、吉美嘧啶和otastat钾以摩尔比1:0.4:1)、喜树碱-11 (CPT-11、伊立替康或Camptosar™)或CMFP (环磷酰胺、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶和泼尼松)。

[0143] 在优选的实施方案中,本发明化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、多晶型或溶剂合物,可与酶,例如受体或非受体激酶的抑制剂一起给予。本发明的受体和非受体激酶为,例如,酪氨酸激酶或丝氨酸/苏氨酸激酶。本发明的激酶抑制剂为小分子、多核酸、多肽或抗体。

[0144] 示例性的激酶抑制剂包括,但不限于,BIBW 2992 (靶向EGFR和Erb2)、西妥昔单抗/Erbix (靶向Erb1)、伊马替尼/Gleevec (靶向Bcr-Abl)、曲妥珠单抗(靶向Erb2)、吉非替尼/Iressa (靶向EGFR)、雷珠单抗 (靶向VEGF)、培加他尼(靶向VEGF)、埃罗替尼/Tarceva (靶向Erb1)、尼洛替尼(靶向Bcr-Abl)、拉帕替尼(靶向Erb1和Erb2/Her2)、GW-572016/拉帕替尼二对甲苯磺酸酯(靶向HER2/Erb2)、帕木单抗/Vectibix (靶向EGFR)、凡德他尼(靶向RET/VEGFR)、E7080 (多重靶向,包括RET和VEGFR)、Herceptin (靶向HER2/Erb2)、PKI-166 (靶向EGFR)、卡纽替尼/CI-1033 (靶向EGFR)、舒尼替尼/SU-11464/Sutent (靶向EGFR和FLT3)、马妥珠单抗/Emd7200 (靶向EGFR)、EKB-569 (靶向EGFR)、Zd6474 (靶向EGFR和VEGFR)、PKC-412 (靶向VEGR和FLT3)、伐他拉尼/Ptk787/ZK222584 (靶向VEGR)、CEP-701 (靶向FLT3)、SU5614 (靶向FLT3)、MLN518 (靶向FLT3)、XL999 (靶向FLT3)、VX-322 (靶向FLT3)、Azd0530 (靶向SRC)、BMS-354825 (靶向SRC)、SKI-606 (靶向SRC)、CP-690 (靶向JAK)、AG-490 (靶向JAK)、WHI-P154 (靶向JAK)、WHI-P131 (靶向JAK)、索拉非尼/Nexavar (靶向RAF激酶、VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3、PDGFR-β、KIT、FLT-3和RET)、达沙替尼/Sprycel (BCR/ABL和Src)、AC-220 (靶向Flt3)、AC-480 (靶向所有HER蛋白、“panHER”)、莫替沙尼二磷酸盐(靶向VEGF1-3、PDGFR,和c-kit)、地舒单抗(靶向RANKL、抑制SRC)、AMG888 (靶向HER3)和AP24534 (多重靶向,包括Flt3)。

[0145] 示例性的丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂包括,但不限于,雷帕霉素(靶向mTOR/FRAP1)、地磷莫司(靶向mTOR)、Certican/依维莫司(靶向mTOR/FRAP1)、AP23573 (靶向mTOR/FRAP1)、Erl/Fasudil盐酸盐(靶向RHO)、黄酮吡多(靶向CDK)、塞利西利/CYC202/Roscovitrine (靶向CDK)、SNS-032/BMS-387032 (靶向CDK)、芦布妥林(靶向PKC)、Pkc412 (靶向PKC)、苔藓抑素(靶向PKC)、KAI-9803 (靶向PKC)、SF1126 (靶向PI3K)、VX-680 (靶向极光激酶)、Azd1152 (靶向极光激酶)、Arry-142886/AZD-6244 (靶向MAP/MEK)、SCIO-469 (靶向MAP/MEK)、GW681323 (靶向MAP/MEK)、CC-401 (靶向JNK)、CEP-1347 (靶向JNK)和PD

332991 (靶向CDK)。

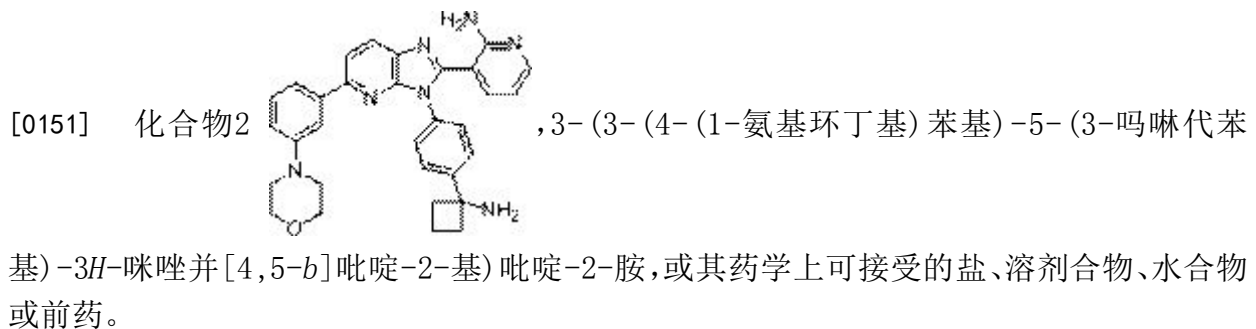
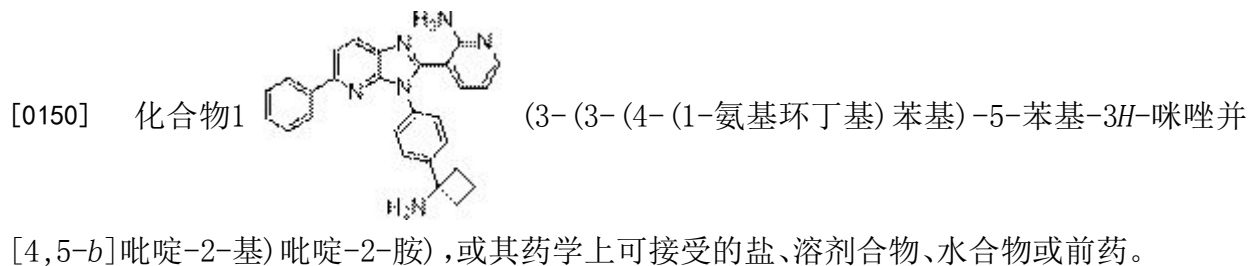
[0146] 在具体的实施方案中,本发明化合物(化合物1、2或3,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药)可与FGFR或FGFR2抑制剂联合治疗细胞增生性病征。在一些实施方案中,所述FGFR或FGFR2抑制剂为化合物4,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药。在一些实施方案中,化合物1或3,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药可与化合物4,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药联合。在一些实施方案中,化合物1,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药可与化合物4,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药联合。在一些实施方案中,化合物3,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药可与化合物4,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药联合。在一些实施方案中,化合物2,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药可与化合物4,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药联合。

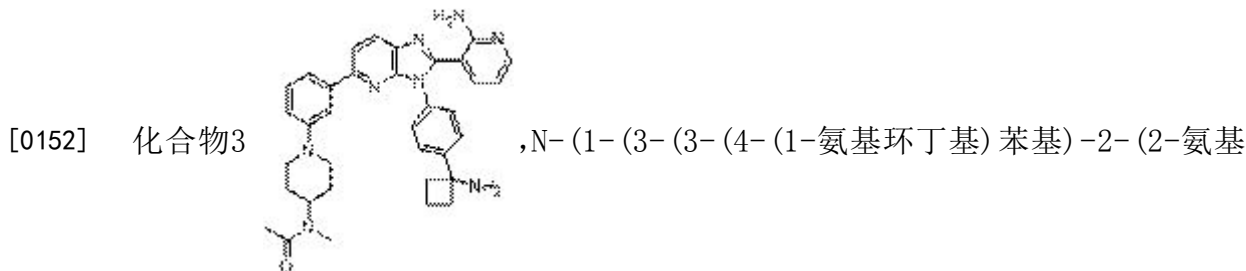
[0147] FGFR2为成纤维细胞生长因子受体家族的成员,其中氨基酸序列在成员之间和在进化过程中高度保守。FGFR家族成员彼此之间的配体亲和力和组织分布不同。全长的代表性蛋白由胞外域(由三个免疫球蛋白样结构域组成)、单个疏水跨膜段和细胞质酪氨酸激酶结构域组成。蛋白的胞外部分与成纤维细胞生长因子相互作用,调整下游信号,最终影响有丝分裂和分化。

[0148] FGFR2基因的活性(表达)的改变与某些癌症有关。改变的基因表达可增强数个癌症相关事件,例如细胞增殖、细胞运动和滋养生长的肿瘤的新血管的发展。FGFR2基因在某些类型的胃癌中异常活跃(过表达),并且该扩增与较差的预后和对标准临床方法的响应有关。FGFR2的异常表达也在前列腺癌患者中存在。在美国超过60%的具有乳腺癌的妇女在该基因中携带至少一个单突变。

[0149] 2. 本发明化合物

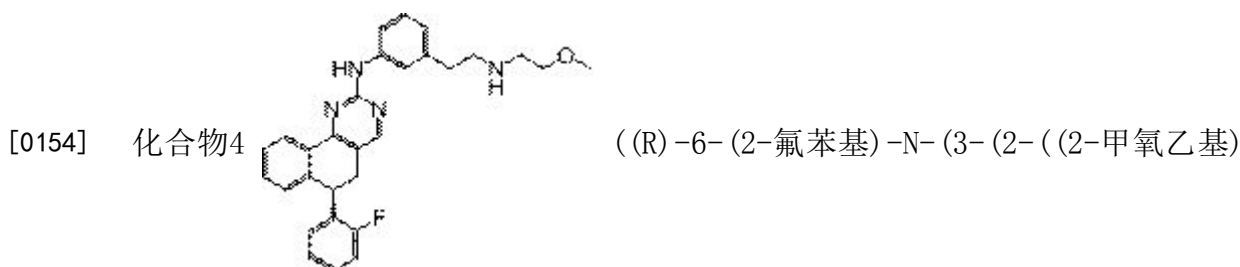
本发明提供化合物1、化合物2和化合物3,用于制造这些化合物的合成方法,包含至少一种这些化合物的药物组合物和所述化合物的各种用途。





吡啶-3-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-5-基)苯基)哌啶-4-基)-N-甲基乙酰胺,或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药。

[0153] 本发明还提供化合物4,用于制造该化合物的合成方法,包含该化合物的药物组合物和该化合物的各种用途。



氨基)乙基)苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-胺),或其药学上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药。

[0155] 3. 定义

如本文所使用的,“烷基”、“C₁、C₂、C₃、C₄、C₅或C₆烷基”或“C₁-C₆烷基”意在包括C₁、C₂、C₃、C₄、C₅或C₆直链(线性)饱和脂肪烃基团和C₃、C₄、C₅或C₆分支饱和脂肪烃基团。例如,C₁-C₆烷基意在包括C₁、C₂、C₃、C₄、C₅和C₆烷基。烷基的实例包括,具有1-6个碳原子的部分,例如,但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、仲戊基或正己基。

[0156] 在某些实施方案中,直链或分支烷基具有6个或更少的碳原子(例如,对于直链C₁-C₆,对于支链C₃-C₆),并且在另一个实施方案中,直链或分支烷基具有4个或更少的碳原子。

[0157] “杂烷基”基团为具有氧、氮、硫或磷原子置换一个或多个烃主链碳原子的如上所定义的烷基。

[0158] 如本文所使用的,术语“环烷基”、“C₃、C₄、C₅、C₆、C₇或C₈环烷基”或“C₃-C₈环烷基”意在包括在其环结构中具有3-8个碳原子的烃环。在一个实施方案中,环烷基在环结构中具有5-6个碳。

[0159] 术语“取代的烷基”指具有取代基置换烃主链的一个或多个碳上的一个或多个氢原子的烷基部分。这样的取代基可包括,例如,烷基、烯基、炔基、卤素、羟基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸基(carboxylate)、烷基羰基、芳基羰基、烷氧羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸基(phosphate)、膦酸基、次膦酸基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰胺基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷硫基、芳硫基、硫代羧酸基、硫酸酯(sulfate)、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨基磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳香或芳香杂环部分。环烷基可,例如用上述取代基进一步取代。“烷基芳基”或“芳烷基”部分为用芳基取代的

烷基(例如,苯基甲基(苄基))。

[0160] 除非碳的数目另有规定,“低级烷基”包括在其主链结构中具有1-6或在另一个实施方案中1-4个碳原子的如上定义的烷基。“低级烯基”或“低级炔基”具有例如2到6或2到4个碳原子的链长。

[0161] 如本文所使用的,“烷基接头”意在包括 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 或 C_6 直链(线性)饱和脂肪烃基团和 C_3 、 C_4 、 C_5 或 C_6 分支饱和脂肪烃基团。例如, C_1 - C_6 烷基接头意在包括 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 和 C_6 烷基接头。烷基接头的实例包括具有1-6个碳原子的部分,例如,但不限于,甲基(-CH₂-)、乙基(-CH₂CH₂-)、正丙基(-CH₂CH₂CH₂-)、异丙基(-CH(CH₃)CH₂-)、正丁基(-CH₂CH₂CH₂CH₂-)、仲丁基(-CH(CH₃)CH₂CH₂-)、异丁基(-C(CH₃)₂CH₂-)、正戊基(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-)、仲戊基(-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂-)或正己基(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-)。

[0162] “烯基”包括在长度和可能的取代上与上述烷基类似的不饱和脂肪族基团,但其包含至少一个双键。例如,术语“烯基”包括直链的烯基(例如,乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基、庚烯基、辛烯基、壬烯基、癸烯基)、分支烯基、环烯基(例如脂环族)基团(例如,环丙烯基、环戊烯基、环己烯基、环庚烯基、环辛烯基)、烷基或烯基取代的环烯基和环烷基或环烯基取代的烯基。在某些实施方案中,直链或分支烯基在其主链中具有6个或更少的碳原子(例如,对于直链 C_2 - C_6 、对于支链 C_3 - C_6)。同样地,环烯基可在其环结构中具有5-8个碳原子,并且在一个实施方案中,环烯基在环结构中具有5-6个碳。术语“ C_2 - C_6 ”包括包含2-6个碳原子的烯基。术语“ C_3 - C_6 ”包括包含3-6个碳原子的烯基。

[0163] “杂烯基”包括具有氧、氮、硫或磷原子置换一个或多个烃主链碳的如本文定义的烯基。

[0164] 术语“取代的烯基”指具有取代基置换一个或多个烃主链碳原子上一个或多个氢原子的烯基部分。这样的取代基可包括,例如,烷基、烯基、炔基、卤素、羟基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸基、膦酸基、次磷酸基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰胺基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷硫基、芳硫基、硫代羧酸基、硫酸基、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨基磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、杂环基、烷基芳基或芳香或芳香杂环部分。

[0165] “炔基”包括在长度和可能的取代上与上述烷基类似的不饱和脂肪族基团,但其包含至少一个三键。例如,“炔基”包括直链炔基(例如,乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、庚炔基、辛炔基、壬炔基、癸炔基)、分支炔基和环烷基或环烯基取代的炔基。在某些实施方案中,直链或分支炔基在其主链中具有6个或更少的碳原子(例如,对于直链 C_2 - C_6 、对于支链 C_3 - C_6)。术语“ C_2 - C_6 ”包括包含2-6个碳原子的炔基。术语“ C_3 - C_6 ”包括包含3-6个碳原子的炔基。

[0166] “杂炔基”包括具有氧、氮、硫或磷原子置换一个或多个烃主链碳的如本文定义的炔基。

[0167] 术语“取代的炔基”指具有取代基置换一个或多个烃主链碳原子上一个或多个氢原子的炔基部分。这样的取代基可包括,例如,烷基、烯基、炔基、卤素、羟基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧

羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸基、膦酸基、次磷酸基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰胺基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷硫基、芳硫基、硫代羧酸基、硫酸基、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨基磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳香或芳香杂环部分。

[0168] “芳基”包括有芳香性的基团,包括“共轭的”或多旋回的,有至少一个芳香环的体系。实例包括苯基、苄基等。

[0169] “杂芳基”为在环结构中具有1-4个杂原子的如上所定义的芳基,并且也可称作“芳基杂环”或“芳香杂环”。如本文所使用的,术语“杂芳基”意在包括稳定的5-、6-或7-元单环的或7-、8-、9-、10-、11-或12-元双环的芳香杂环,其由碳原子和一个或多个杂原子,例如1或1-2或1-3或1-4或1-5或1-6个独立地选自氮、氧和硫的杂原子组成。氮原子可为取代的或未取代的(即,N或NR,其中R为H或其它取代基,如所定义的)。氮和硫杂原子可任选被氧化(即 $N \rightarrow O$ 和 $S(0)_p$,其中 $p = 1$ 或 2)。应注意的是在芳香杂环中S和O原子的总数不大于1。

[0170] 杂芳基的实例包括吡咯、呋喃、噁吩、噻唑、异噻唑、咪唑、三唑、四唑、吡唑、噁唑、异噁唑、吡啶、吡嗪、哒嗪、嘧啶等。

[0171] 此外,术语“芳基”和“杂芳基”包括多旋回的芳基和杂芳基,例如,三环的、二环的,例如,萘、苯并噁唑、苯并二噁唑、苯并噻唑、苯并咪唑、苯并噻吩、亚甲二氧基苯基、喹啉、异喹啉、茶啉、吲哚、苯并呋喃、嘌呤、苯并呋喃、氮杂嘌呤、中氮茛。

[0172] 在多旋回芳香环的情况下,仅一个环需要为芳香的(例如,2,3-二氢吲哚),尽管所有的环可均为芳香的(例如,喹啉)。第二个环也可为融合或桥接的。

[0173] 芳基或杂芳基芳香环可在一个或多个环位置用如上所述的取代基取代,例如,烷基、烯基、炔基、卤素、羟基、烷氧基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸基、烷基羰基、烷基氨基羰基、芳烷基氨基羰基、烯基氨基羰基、烷基羰基、芳基羰基、芳烷基羰基、烯基羰基、烷氧羰基、氨基羰基、烷基硫代羰基、磷酸基、膦酸基、次磷酸基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰胺基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷硫基、芳硫基、硫代羧酸基、硫酸基、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨基磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳香或芳香杂环部分。芳基也可与非芳香环的脂环或杂环融合或桥接,以便形成多旋回系统(例如,四氢化萘、亚甲二氧基苯基)。

[0174] 如本文所使用的,“碳环(carbocycle或carbocyclic ring)”意在包括具有指定数目的碳的任何稳定的单环、二环或三环,其任何可为饱和的、不饱和的或芳香的。例如 C_3 - C_{14} 碳环意在包括具有3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个碳原子的单环、二环或三环。碳环的实例包括,但不限于,环丙基、环丁基、环丁烯基、环戊基、环戊烯基、环己基、环庚烯基、环庚基、环庚烯基、金刚烷基、环辛基、环辛烯基、环辛二烯基、茛基、苯基、萘基、茛满基、金刚烷基和四氢萘基。桥接的环也包含在碳环的定义内,包括,例如,[3.3.0]二环辛烷、[4.3.0]二环壬烷、[4.4.0]二环癸烷和[2.2.2]二环辛烷。桥接的环在一个或多个碳原子连接两个非邻近的碳原子时发生。在一个实施方案中,桥接的环为一个或两个碳原子。应注意的是桥常常将单环转化为三环。当环桥接时,对于环所叙述的取代基也可在桥上存在。融合的(例如,萘基、四氢萘基)和螺旋的环也包括在内。

氢原子被,例如,烷基、炔基、卤素、羟基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸基、膦酸基、次磷酸基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰胺基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷硫基、芳硫基、硫代羧酸基、硫酸基、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨基磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳香或芳香杂环部分置换的酰基。

[0184] “芳酰基”包括具有与羰基结合的芳基或芳香杂环部分的部分。芳酰基的实例包括苯基羧基、萘基羧基等

“烷氧基烷基”、“烷基氨基烷基”和“硫代烷氧基烷基”包括其中氧、氮或硫原子置换一个或多个烃主链碳原子的如上所述的烷基。

[0185] 术语“烷氧基(alkoxy或alkoxyl)”包括与氧原子共价连接的取代的或未取代的烷基、烯基和炔基。烷氧基(alkoxy groups或alkoxyl radicals)的实例包括,但不限于,甲氧基、乙氧基、异丙氧基、丙氧基、丁氧基和戊氧基。烷氧基可用基团例如烯基、炔基、卤素、羟基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧酸基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、磷酸基、膦酸基、次磷酸基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰胺基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷硫基、芳硫基、硫代羧酸基、硫酸基、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨基磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基或芳香或芳香杂环部分取代。卤素取代的烷氧基的实例包括,但不限于,氟代甲氧基、二氟代甲氧基、三氟代甲氧基、氯代甲氧基、二氯代甲氧基和三氯代甲氧基。

[0186] 术语“醚”或“烷氧基”包括包含与两个碳原子或杂原子结合的氧的化合物或部分。例如,该术语包括“烷氧基烷基”,其指烷基、烯基或炔基与共价结合至烷基的氧原子共价结合。

[0187] 术语“酯”包括包含与结合至羰基的碳的氧原子结合的碳或杂原子的化合物或部分。术语“酯”包括烷氧基羧基甲氧羰基、乙氧羰基、丙氧羰基、丁氧羰基、戊氧羰基等。

[0188] 术语“硫代烷基”包括包含与硫原子连接的烷基的化合物或部分。硫代烷基可用基团例如烷基、烯基、炔基、卤素、羟基、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、芳氧基羰基氧基、羧基、羧酸基、烷基羰基、芳基羰基、烷氧羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基硫代羰基、烷氧基、氨基(包括烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基和烷基芳基氨基)、酰胺基(包括烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基)、脒基、亚氨基、巯基、烷硫基、芳硫基、硫代羧酸基、硫酸基、烷基亚磺酰基、磺酸基、氨基磺酰基、亚磺酰氨基、硝基、三氟甲基、氰基、叠氮基、杂环基、烷基芳基、或芳香或芳香杂环部分取代。

[0189] 术语“硫代羰基”或“硫代羧基”包括包含用双键与硫原子连接的碳的化合物和部分。

[0190] 术语“硫醚”包括包含与两个碳原子或杂原子结合的硫原子的部分。硫醚的实例包括,但不限于烷基硫代烷基(alkthioalkyls)、烷基硫代烯基(alkthioalkenyls)和烷基硫

代炔基(alkthioalkynyls)。术语“烷基硫代烷基”包括具有与结合至烷基的硫原子结合的烷基、烯基或炔基的部分。相似地,术语“烷基硫代烯基”指其中烷基、烯基或炔基与共价结合至烯基的硫原子结合的部分;“烷基硫代炔基”指其中烷基、烯基或炔基与共价结合至炔基的硫原子结合的部分。

[0191] 如本文所使用的,“胺”或“氨基”包括其中氮原子与至少一个碳或杂原子共价结合的氮原子的部分。“烷基氨基”包括其中氮与至少一个烷基结合的化合物基团。烷基氨基的实例包括苄基氨基、甲基氨基、乙基氨基、苯乙基氨基等,“二烷基氨基”包括其中氮原子与至少两个额外的烷基结合的基团。二烷基氨基的实例包括,但不限于,二甲基氨基和二乙基氨基。“芳基氨基”和“二芳基氨基”包括其中氮分别与至少一个或两个芳基结合的基团,“烷基芳基氨基”、“烷基氨基芳基”或“芳基氨基烷基”指与至少一个烷基和至少一个芳基结合的氨基。“烷基氨基烷基(Alkaminoalkyl)”指结合至还与烷基结合的氮原子的烷基、烯基或炔基。“酰胺基”包括其中氮与酰基结合的基团。酰胺基的实例包括,但不限于,烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、氨基甲酰基和脲基。

[0192] 术语“酰胺”或“氨基羧基”包括包含与羰基或硫代羰基的碳结合的氮原子的化合物或部分。该术语包括包含与结合至羰基或硫代羰基的碳的氨基结合的烷基、烯基或炔基的“烷基氨基羧基(alkaminocarboxy)”。其还包括包含与结合至羰基或硫代羰基的碳的氨基结合的芳基或杂芳基部分的“芳基氨基羧基”。术语“烷基氨基羧基”、“烯基氨基羧基”、“炔基氨基羧基”和“芳基氨基羧基”包括其中烷基、烯基、炔基和芳基部分分别与氮原子结合,氮原子继而与羰基的碳结合的部分。酰胺可用取代基例如直链烷基、分支烷基、环烷基、芳基、杂芳基或杂环取代。酰胺基上的取代基可被进一步取代。

[0193] 包含氮的本发明化合物可通过用氧化剂(例如,3-氯过氧苯甲酸(*m*-CPBA)和/或过氧化氢)处理转化为氮氧化物以提供其它本发明化合物。因此,当化合价和结构允许时,考虑所有显示和要求的含氮化合物包括所示化合物和其氮氧化物衍生物(可指定为 $N \rightarrow O$ 或 $N^+ - O^-$)二者。此外,在其它情况下,本发明化合物中的氮可转化为 N -羟基或 N -烷氧基化合物。例如, N -羟基化合物可通过用氧化剂例如 m -CPBA氧化母体胺制备。当化合价和结构允许时,也考虑所有显示和要求的含氮化合物涵盖所示化合物及其 N -羟基(即, $N-OH$)和 N -烷氧基(即, $N-OR$,其中 R 为取代的或未取代的 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烯基、 C_1-C_6 炔基、3-14-元碳环或3-14-元杂环)衍生物二者。

[0194] 在本说明书中,在一些情况下为方便起见化合物的结构式代表某一异构体,但本发明包括所有异构体,例如几何异构体、基于不对称碳的光学异构体、立体异构体、互变异构体等。另外,对于式所代表的化合物可存在晶体多态性。应注意的是其任何晶形、晶形混合物或无水物或水合物均包含在本发明的范围内。此外,通过体内降解本化合物产生的所谓的代谢物包含在本发明的范围内。

[0195] “同分异构”意指具有相同的分子式但其原子结合的顺序或其原子的空间排列不同的化合物。其原子空间排列不同的异构体称为“立体异构体”。互相不为镜像的立体异构体称为“非对映异构体”,互相为非重叠镜像的立体异构体称为“对映异构体”或有时光学异构体。包含等量相反手性的个体对映异构体形式的混合物称为“外消旋混合物”。

[0196] 与四个不相同的取代基结合的碳原子称为“手性中心”。

[0197] “手性异构体”意指具有至少一个手性中心的化合物。具有一个以上手性中心的化

合物可作为个体非对映异构体或作为非对映异构体的混合物(称为“非对映异构混合物”)存在。当存在一个手性中心时,立体异构体可通过该手性中心的绝对构型(R或S)表征。绝对构型指连接至手性中心的取代基的空间排列。连接至考虑的手性中心的取代基按照Cahn, Ingold和Prelog的顺序规则排列(Cahn等人, *Angew. Chem. Inter. Edit.* 1966, 5, 385; errata 511; Cahn等人, *Angew. Chem.* 1966, 78, 413; Cahn和Ingold, *J. Chem. Soc.* 1951 (London), 612; Cahn等人, *Experientia* 1956, 12, 81; Cahn, *J. Chem. Educ.* 1964, 41, 116)。

[0198] “几何异构体”意指将其存在归于妨碍绕双键旋转的非对映异构体。这些构型通过前缀顺和反,或Z和E在其名字上区分,前缀指示按照Cahn-Ingold-Prelog法则基团在分子中双键的相同或相对侧。

[0199] 此外,本发明中讨论的结构和其它化合物包括其所有阿托异构体(atropic isomers)。“阿托异构体”为其中两个异构体的原子在空间上不同排列的立体异构体类型。阿托异构体将其存在归于妨碍大基团绕中心键旋转引起的受限旋转。这样的阿托异构体通常作为混合物存在,然而由于色谱技术的新近进展,在特定情况下分离两种阿托异构体的混合物是可能的。

[0200] “互变异构体”为平衡存在并且容易地从一个异构形式转化至另一个的两个或多个结构异构体之一。该转化导致氢原子正式迁移伴随邻近连接的双键的开关。互变异构体在溶液中作为互变异构组的混合物存在。在固体形式中,通常一个互变异构体占优势。在其中互变异构化可能的溶液中,将会达到互变异构体的化学平衡。互变异构体的精确比率取决于几个因素,包括温度、溶剂和pH。通过互变异构化可相互转化的互变异构体的概念称为互变异构。

[0201] 在可能的各种类型的互变异构中,两种是通常所观察到的。在酮-烯醇互变异构中电子和氢原子的同时移动发生。环-链互变异构由于糖链分子中的醛基(-CHO)与同一分子中的一个羟基(-OH)反应以给予其环状(环形)形式出现,如葡萄糖所呈现的。

[0202] 常见的互变异构对为:酮-烯醇、酰胺-腈、内酰胺-内酰亚胺、杂环中的酰胺-亚胺酸互变异构(例如,在核酸碱基例如鸟嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶中)、胺-烯胺和烯胺-烯胺。

[0203] 应理解的是本发明化合物可作为不同的互变异构体描绘。也应理解当化合物具有互变异构形式时,所有互变异构形式均意在包括在本发明的范围内,并且化合物的命名不排除任何互变异构体形式。

[0204] 术语“晶体多态性”、“多晶型”或“晶形”意指化合物(或其盐或溶剂合物)可以以不同晶体堆积排列结晶的晶体结构,其所有均具有相同的元素组成。不同的晶形通常具有不同的X-射线衍射模式、红外光谱、熔点、密度硬度、晶体形状、光学和电学性质、稳定性和溶解性。重结晶溶剂、结晶速率、储存温度和其它因素可引起一种晶形支配。化合物的晶体多态性可通过在不同条件下结晶制备。

[0205] 另外,本发明化合物,例如,化合物的盐,可以以水合或未水合(无水)形式或作为与其它溶剂分子的溶剂合物存在。水合物的非限制性实例包括一水合物、二水合物等。溶剂合物的非限制性实例包括乙醇溶剂合物、丙酮溶剂合物等。

[0206] “溶剂合物”意指包含化学计量或非化学计量的量的溶剂的溶剂添加形式。一些化合物具有在结晶固体状态捕获固定摩尔比的溶剂分子的趋势,因此形成溶剂合物。如果溶

剂为水,形成的溶剂合物为水合物;如果溶剂为醇,形成的溶剂合物为醇合物。水合物通过一个或多个水分子与一个物质分子组合形成,其中水保持其分子状态为H₂O。

[0207] 如本文所使用的,术语“类似物”指与另一个结构相似但组成上轻微不同(如一个原子被不同元素的原子置换或存在特定官能团,或一个官能团被另一个官能团置换)的化合物。因此,类似物为与参考化合物功能和外观相似或相当但结构或源不同的化合物。

[0208] 如本文所定义的,术语“衍生物”指具有共同的核心结构并且用如本文所描述的不同基团取代的化合物。

[0209] 术语“生物电子等排体”指原子或原子基团与另一个广泛相似的原子或原子基团交换引起的化合物。生物电子等排置换的目的为创建具有与母体化合物相似的生物学性质的新化合物。生物电子等排置换可基于物理化学或拓扑学。羧酸生物电子等排体的实例包括,但不限于,酰基磺酰胺、四唑、磺酸酯和磷酸酯。参见,例如,Patani和LaVoie, *Chem. Rev.* 96, 3147-3176, 1996。

[0210] 本发明意在包括本化合物中存在的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子序数但不同质量数的那些原子。通过一般举例并且无限制的方式,氢的同位素包括氘和氚,碳的同位素包括C-13和C-14。

[0211] 4. 本发明化合物的合成

本发明化合物可使用市售可得的原材料、文献中已知的化合物或从容易制备的中间体,通过利用本领域技术人员已知的或根据本文教导将会对技术人员显而易见的标准合成方法或程序以多种方式制备。用于有机分子制备和官能团转换和处理的标准合成方法和程序可从相关科学文献或从本领域的标准教科书获得。尽管不受任何一种或几种源限制,经典文本例如Smith, M. B., March, J., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure* (March高等有机化学:反应、机制和结构), 第五版, John Wiley & Sons: New York, 2001; 和Greene, T.W., Wuts, P.G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis* (有机合成中的保护基), 第三版, John Wiley & Sons: New York, 1999 (通过引用结合到本文中),为本领域人员已知的有用的和公认的有机合成参考教科书。下列合成方法的描述意在说明,而非限制,用于制备本发明化合物的通用程序。

[0212] 在说明书全文中,在组合物描述为具有、包括或包含特定组分处,考虑组合物也基本上由叙述的组分组成,或由叙述的组分组成。相似地,在方法或过程描述为具有、包括或包含具体的处理步骤处,所述过程也基本上由叙述的处理步骤组成,或由叙述的处理步骤组成。此外,应理解的是步骤的次序或进行某些动作的次序不重要,只要本发明仍然可操作。此外,两个或多个步骤或动作可同时进行。

[0213] 本发明的合成过程可耐受广泛不同的官能团,因此可使用各种取代的原材料。所述过程一般在全部过程结束或将近结束时提供期需的终化合物,尽管在某些情况下将化合物进一步转化为其药学上可接受的盐、酯或前药可为期需的。

[0214] 本发明提供用于合成化合物1、化合物2和化合物3的方法。本发明还提供用于按照下列方案和如实施例中所示合成化合物1、化合物2和化合物3的详细方法。

[0215] 化合物1可根据下列程序从市售可得的原材料或可使用文献程序制备的原材料制备。这些程序显示化合物1、2和3的制备。

[0216] 通用程序A

一个用于咪唑并吡啶形成的通用程序在以下方案1-1中描述：咪唑并吡啶形成

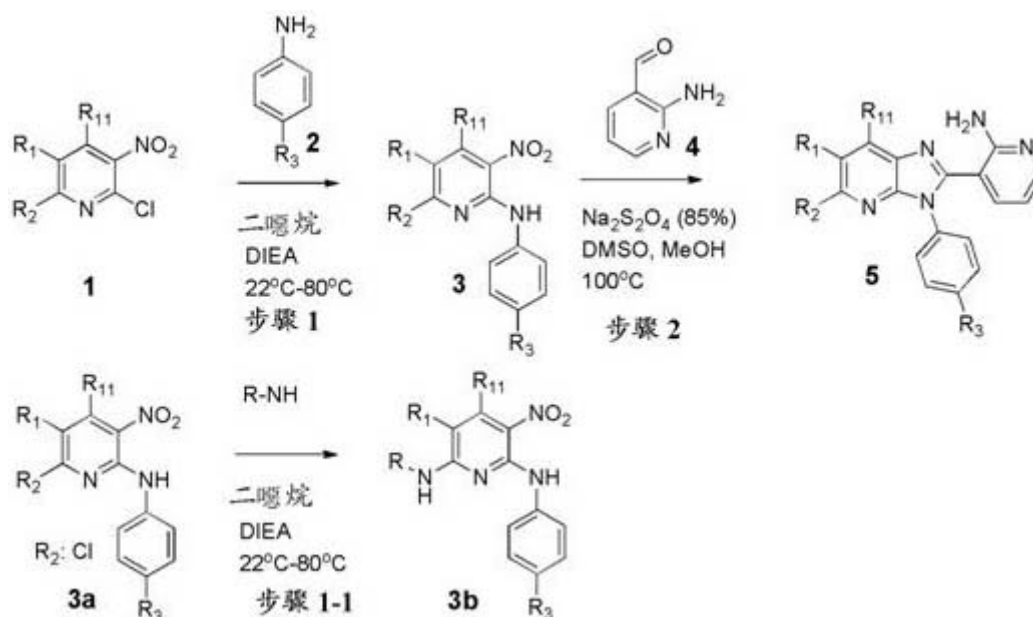


步骤1. 3-硝基-N-苯基吡啶-2-胺(如方案1-1中所示的结构3)的合成。在圆底烧瓶中将2-氯-3-硝基吡啶1溶解在二噁烷(10 mL/ mmol)中。加入苯胺(如方案1-1中所示的结构2) (1.1 eq.)和二异丙基乙胺 (3 eq.)。将反应混合物加热至适当的温度,持续4-36小时。冷却至室温后,将溶剂减压去除。将残余物溶解在乙酸乙酯(20 mL/ mmol)中并用水和卤水(各20 mL/ mmol)洗涤。将有机相分离并经Na₂SO₄干燥。过滤后将溶剂减压去除。粗产物(红色至褐色固体)不经进一步的纯化进行下一步骤。

[0217] 步骤2. 3-(3-苯基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)吡啶-2-胺(如方案1-1中所示的结构5)的合成。在圆底烧瓶中将3-硝基-N-苯基吡啶-2-胺(如方案1-1中所示的结构3)溶解在二甲基亚砷(8 mL/ mmol)和甲醇(1.5 mL/ mmol)中。加入2-氨基烟碱醛(如方案1-1中所示的结构4) (1.1 eq.)和Na₂S₂O₄ (85%, 2.5 eq.)。将反应混合物加热至100°C持续15-36小时。冷却至室温后,将反应混合物用二氯甲烷(20 mL/ mmol)稀释并用水和卤水洗涤。将有机相分离并经Na₂SO₄干燥。过滤后将溶剂减压去除。粗产物通过硅胶色谱(二氯甲烷/甲醇;在60 min内0-20%甲醇)纯化以产生黄色至褐色固体。

[0218] 通用程序A-1

一个用于形成R₂-氨基-取代的咪唑并吡啶的通用程序在以下方案1-2中描述：用吡啶上的氨基取代形成咪唑并吡啶



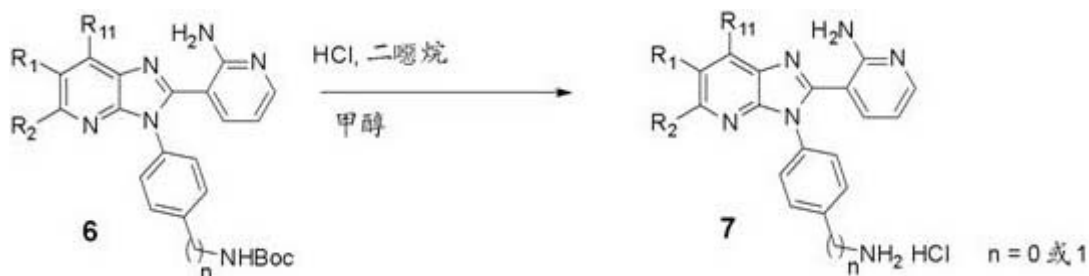
步骤1. 3-硝基-N-苯基吡啶-2-胺(如方案1-2中所示的结构3)的合成。在圆底烧瓶中将2-氯-3-硝基吡啶(如方案1-2中所示的结构1)溶解在二噁烷(10 mL/ mmol)中。加入苯胺(如方案1-2所示的结构2) (1.1 eq.)和二异丙基乙胺(3 eq.)。将反应混合物加热至适当的温度,持续4-36小时。冷却至室温后将溶剂减压去除。将残余物溶解在乙酸乙酯(20 mL/ mmol)中并用水和卤水(各20 mL/ mmol)洗涤。将有机相分离并经Na₂SO₄干燥。过滤后将溶剂减压去除。粗产物(红色至褐色固体)不经进一步的纯化进行下一步骤。

[0219] 步骤1-1. N¹-烷基/芳基3-硝基-N²-苯基吡啶-2,6-二胺(如方案1-2中所示的结构3b)的合成。在圆底烧瓶将中间体(如方案1-2中所示的结构3a) (1 eq.)溶解在二噁烷(5 mL/ mmol)中。加入烷基/芳基胺(2 eq.)和二异丙基胺(2.5 eq.)。将反应混合物在油浴中加热至80℃持续24 h。冷却至室温后将溶剂减压去除。将残余物溶解在乙酸乙酯(10 mL/ mmol)中并用水和卤水(各5 mL/ mmol)洗涤。将有机相分离并经Na₂SO₄干燥。过滤后将溶剂减压去除。粗产物(如方案1-2中所示的结构3b)不经进一步的纯化进行下一步骤。

[0220] 步骤2. 3-(3-苯基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)吡啶-2-胺(如方案1-2中所示的结构5)的合成。在圆底烧瓶中将3-硝基-N-苯基吡啶-2-胺(如方案1-2中所示的结构3)溶解在二甲基亚砜(8 mL/ mmol)和甲醇(1.5 mL/ mmol)中。加入2-氨基烟碱醛4 (1.1 eq.)和Na₂S₂O₄ (85%, 2.5 eq.)。将反应混合物加热至100℃持续15-36小时。冷却至室温后,将反应混合物用二氯甲烷(20 mL/ mmol)稀释并用水和卤水洗涤。将有机相分离并经Na₂SO₄干燥。过滤后将溶剂减压去除。粗产物通过硅胶色谱(二氯甲烷/甲醇;在60 min内0-20%甲醇)纯化以产生黄色至褐色固体。

[0221] 通用程序B

一个用于BOC基团脱保护的通用程序在以下方案2中描述:BOC-基团的脱保护

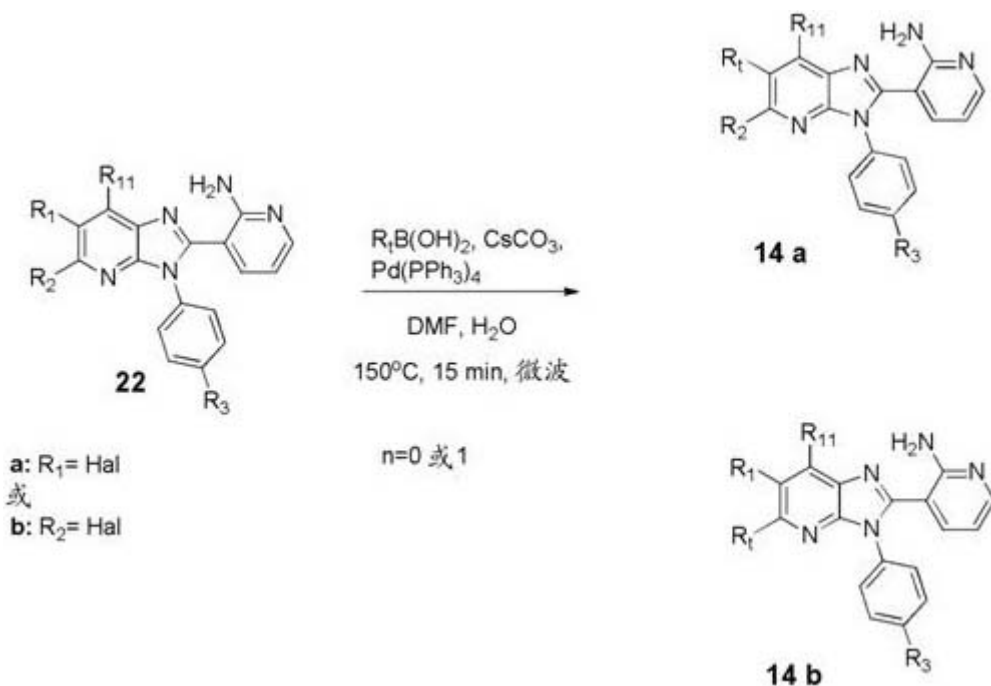


将氨基甲酸酯(如方案2中所示的结构6) (1 eq.)溶解在甲醇中。加入HCl (20 eq., 在二噁烷中4 M)并室温搅拌2-4小时。将溶液减压浓缩产生作为盐酸盐的脱保护的胺(如方案2中所示的结构7),其不经进一步的纯化用于下一步骤。

[0222] 通用程序C

用于Suzuki偶联的一般程序在以下方案8和方案9中描述。

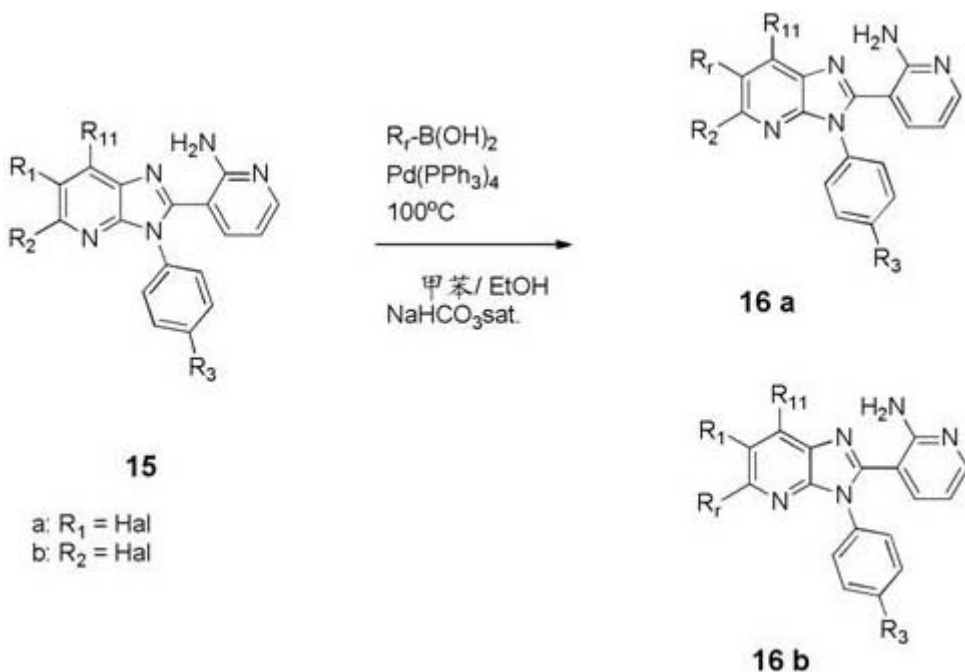
[0223] 方案8:Suzuki偶联



将有机卤化物(如方案8中所示的结构22) (1 eq.)、CsCO₃ (1 eq.)、Pd(PPh₃)₄ (0.1 eq.)和芳基硼酸(2 eq.)溶解在DMF中。用氮脱气10 min后,将反应混合物微波加热15 min至150°C。将反应混合物过滤通过Bakerbound过滤柱并通过反相制备型HPLC(水0.05 M TFA / ACN 0.05M TFA 0-100 % ACN)纯化而不事先去除溶剂,或将溶剂减压去除,粗产物(如方案8中所示的结构14)通过硅胶色谱(0-20 %甲醇/二氯甲烷)纯化。

[0224] 通用程序D

方案9: Suzuki偶联

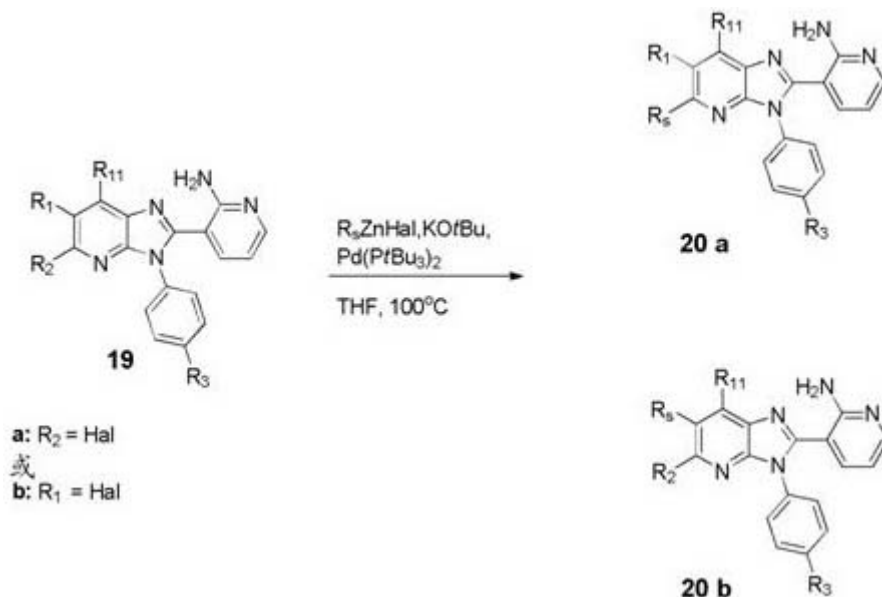


将有机卤化物(如方案9中所示的结构15) (1 eq.)悬浮在乙醇和甲苯(各10 mL/mmol)的混合物中。加入NaHCO₃ sat.溶液(3 mL/mmol)。反应混合物用氮脱气30 min。随后在氮气氛下将其加热至100°C过夜。冷却至室温后将其用二氯甲烷(20 mL/mmol)和水(10

mL/ mmol) 稀释。将有机相分离,用卤水(10 mL/ mmol)洗涤并经Na₂SO₄干燥。过滤后将溶剂真空去除。粗残余物(如方案9中所示的结构16)通过硅胶色谱(3-20%甲醇/乙酸乙酯)纯化。

[0225] 通用程序E

方案11:Negishi偶联



将中间体(如方案11中所示的结构19)(1 eq.)溶解在四氢呋喃(10 mL/ mmol)中。在惰性气氛条件下,加入烷基/芳基卤化锌(1.5 eq.)、Pd(PtBu₃)₂(0.1 eq.)和叔丁醇钾(1 eq.)。反应混合物用氮脱气30 min。随后将其微波加热至100°C持续15 min。冷却至室温后将反应混合物过滤通过硅藻土。将其用二氯甲烷(20 mL/ mmol)和水(20 mL/ mmol)稀释。加入乙二胺四乙酸(EDTA)(1 eq.)。将有机相分离,用卤水(10 mL/ mmol)洗涤并经Na₂SO₄干燥。过滤后将溶剂减压去除。粗残余物20通过硅胶色谱(3-20%甲醇/乙酸乙酯)纯化。

[0226] 取代的5,6-二氢-6-苯基苯并[f]异喹啉-2-胺化合物的合成

本发明提供用于合成化合物4的方法。本发明还提供用于如实施例中所示按照下列方案合成化合物4的详细方法。

[0227] 化合物4可按照下列程序从市售可得的原材料或可使用文献程序制备的原材料制备。这些程序显示化合物4的制备。

[0228] 通用程序1



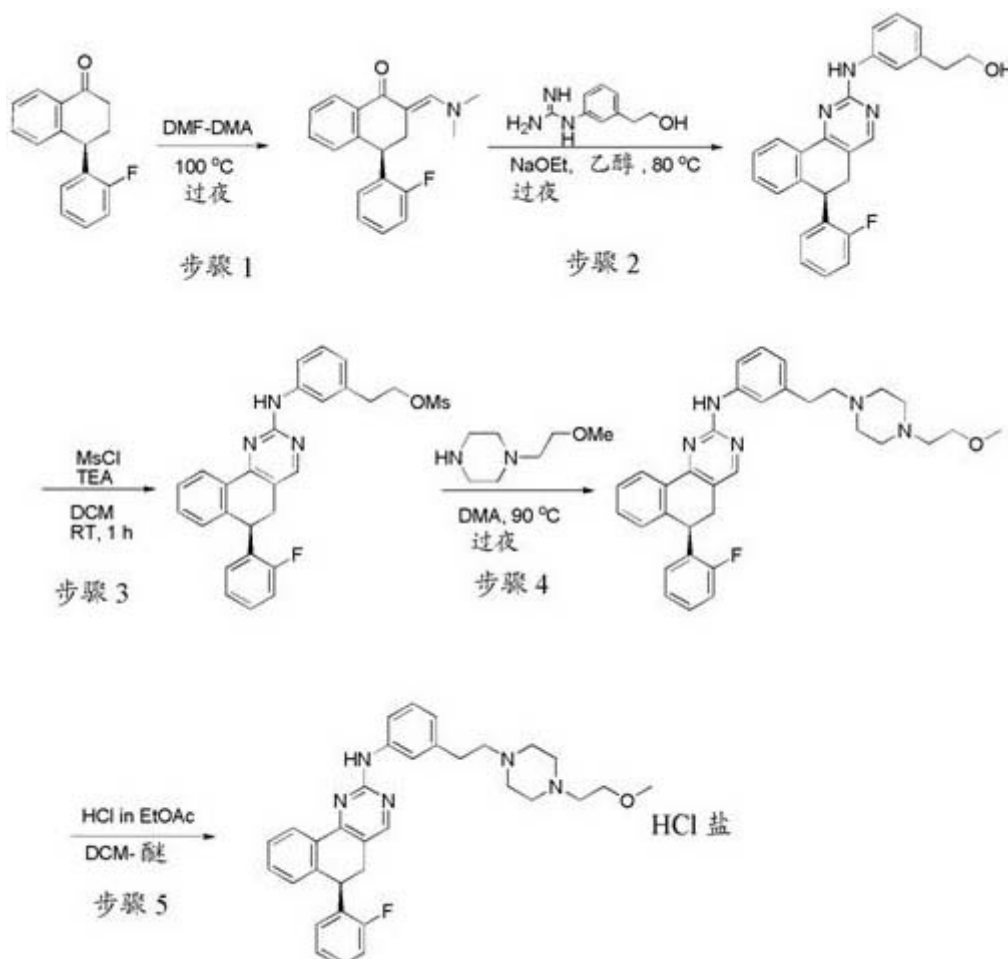
步骤1. 胍形成。制备DIPEA在无水DMF中的1 M溶液(溶液A)。使用溶液A制备0.5 M的1-H-吡唑-1-甲脒盐酸盐溶液。还制备胺在无水DMF中的0.25 M溶液。将800 μL(200 μmol, 1.0 eq)胺溶液分配至2-打兰小瓶中。将400 μL(200 μmol, 1.0 eq) 1-H-吡唑-1-甲脒盐酸盐溶液分配至小瓶中。分配未掺水的80 μL(2.3 eq) DIPEA。盖帽并涡旋小瓶。100°C振

摇12-24小时。观察起始胺的消失。如果胺仍存在,继续加热。蒸发溶剂直至干燥/油状。任何剩余的水分通过与干丙酮(1 mL)共沸然后再次蒸发去除。

[0229] 步骤2. 环化(嘧啶形成)。制备(E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-苯基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮或(E)-4-(3,4-二氯苯基)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3,4-二氢萘-1(2H)酮在200 proof EtOH中的0.1 M溶液。将2000 μ L EtOH分配至前面步骤的残余物。将2000 μ L (200 μ mol, 1.0 eq) (E)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-苯基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮或(E)-4-(3,4-二氯苯基)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-3,4-二氢萘-1(2H)-酮分配至步骤1的残余物。将乙醇钠/乙醇溶液(Aldrich, 21%,按重量计)分配至每一小瓶75 μ L, 200 μ mol。80 $^{\circ}$ C振摇72小时。蒸发溶剂直至干燥/油状。分配2000 μ L水和2000 μ L乙酸乙酯。70 $^{\circ}$ C振摇1小时以溶解。转移1200 μ L顶部有机层至新的小瓶。分配2000 μ L乙酸乙酯。转移2300 μ L顶部有机层至新的小瓶。蒸发合并的有机物至干燥,样品通过反相色谱在制备型LC/UV/MS系统上使用质量触发的分馏纯化。化合物使用1% TFA作为改性剂用乙腈/水梯度以88 ml/min从HPLC柱(Maccel 120-10-C18 SH 10 μ m 20mmID x 50mm)洗脱。

[0230] 通用程序2

本发明化合物也可通过下面所示的通用程序方便地制备。



[0231] 步骤1: (R)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-(2-氟苯基)-3,4-二氢萘-1(2H)-酮。将(R)-4-(2-氟苯基)-3,4-二氢萘-1(2H)-酮(8.0 g, 33.33 mmol)在*N,N*-二甲基甲酰胺二甲基缩醛(80 mL)中的溶液在100 $^{\circ}$ C加热40 h。反应混合物冷却至室温后,加入己烷(50

mL)。产物通过过滤收集并在高真空下干燥过夜以产生作为黄色针的标题化合物(6.95 g, 70%产率)。¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ 7.92 (dd, *J* = 7.2和1.6 Hz, 1 H), 7.57 (s, 1 H), 7.42-7.34 (m, 2 H), 7.31-7.21 (m, 2 H), 7.09 (t, 1 H), 6.91-6.88 (m, 2 H), 4.48 (t, *J* = 7.2 Hz, 1 H), 3.25-3.13 (m, 2 H), 3.02 (s, 6 H)。LCMS *m/e* 296 [M+H]。

[0232] 步骤2: (*R*)-2-(3-(6-(2-氟苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-基氨基)苯基)乙醇。向(*R*)-2-((二甲基氨基)亚甲基)-4-(2-氟苯基)-3,4-二氢萘-1(2H)-酮(4.20 g, 14.24 mmol)和1-(3-(2-羟基乙基)苯基)胍盐酸盐(6.17 g, 28.47 mmol)在乙醇(40 mL)中的混合物加入乙醇钠(21 % w/w, 在乙醇中)(9.60 mL, 25.62 mmol)。将混合物在80°C加热24 h并在其仍热时过滤。将固体用丙酮(50 mL)洗涤。将滤液浓缩至干燥以产生粗产物。将粗产物在80°C溶解在乙醇(20 mL)中。产物在2小时内冷却至室温后沉淀。将固体通过过滤收集,然后溶解在另一个烧瓶中的丙酮(30 mL)中。向该丙酮溶液中缓慢加入120 mL水,将所得悬浮液在室温搅拌30 min并过滤。将固体在50°C高真空干燥24小时以产生作为黄色固体的标题化合物(3.78 g, 65%产率)。¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ 9.52 (s, 1 H), 8.38-8.36 (dd, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 7.74 (s, 1 H), 7.68 (d, *J* = 9.2 Hz, 1 H), 7.54-7.45 (m, 2 H), 7.32-7.20 (m, 3 H), 7.07-7.02 (m, 2 H), 6.83-6.78 (m, 2 H), 4.72-4.65 (m, 2 H), 3.68-3.63 (m, 2 H), 3.22-3.07 (m, 2 H), 2.73 (t, *J* = 7.6 Hz, 2 H)。LCMS *m/e* 412 [M+H]。

[0233] 步骤3: (*R*)-3-(6-(2-氟苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-基氨基)苯乙基甲磺酸酯。向(*R*)-2-(3-(6-(2-氟苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-基氨基)苯基)乙醇(4.59 g, 11.17 mmol)在二氯甲烷(50 mL)的溶液中加入三乙胺(2.33 mL, 16.75 mmol)和甲磺酰氯(0.95 mL, 12.28 mmol)。将混合物室温搅拌1 h,用水洗涤(60 mL x 3),经硫酸钠干燥并浓缩以产生作为黄色固体的标题化合物(5.37 g, 98%产率)。¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ 9.59 (s, 1 H), 8.37-8.35 (dd, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 7.80 (s, 1 H), 7.71 (d, *J* = 10.4 Hz, 1 H), 7.54-7.45 (m, 2 H), 7.29-7.22 (m, 3 H), 7.07-7.02 (m, 2 H), 6.82-6.78 (m, 2 H), 4.67 (t, *J* = 6.8 Hz, 1 H), 4.45 (t, *J* = 6.8 Hz, 2 H), 3.22-3.08 (m, 2 H), 3.13 (s, 3 H), 3.01 (t, *J* = 6.4 Hz, 2 H)。LCMS *m/e* 490 [M+H]。

[0234] 步骤4: (*R*)-6-(2-氟苯基)-*N*-(3-(2-(4-(2-甲氧乙基)哌嗪-1-基)乙基)苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-胺。将(*R*)-3-(6-(2-氟苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-基氨基)苯乙基甲磺酸酯(5.37 g, 11.00 mmol)、1-(2-甲氧乙基)哌嗪(3.32 mL, 22.34 mmol)和三乙胺(1.5 mL, 11.17 mmol)在*N,N*-二甲基乙酰胺(30 mL)中的溶液在90°C加热20 h。冷却至室温后,加入水(200 mL)同时搅拌。将悬浮液搅拌15 min并过滤。将固体置于二氯甲烷(200 mL)中,经硫酸钠干燥并浓缩。将产物通过快速柱色谱在硅胶上(120 g硅胶柱, 0-10% 7N NH₃/甲醇-二氯甲烷,在80 min内)纯化以提供作为黄色固体的标题化合物(5.50 g, 93%产率)。¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 9.53 (s, 1 H), 8.37-8.34 (m, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 7.81 (s, 1 H), 7.62-7.60 (m, 1 H), 7.51-7.46 (m, 2 H), 7.30-7.19 (m, 3 H), 7.08-7.02 (m, 2 H), 6.82-6.79 (m, 2 H), 4.67 (t, *J* = 7.2 Hz, 1 H), 3.41 (t, *J* = 5.6 Hz, 2 H), 3.22-3.08 (m, 2 H), 3.33 (s, 3 H), 2.74-2.70 (m, 2 H), 2.59-

2.42 (m, 12 H). LCMS m/e 539 [M+H].

[0235] 步骤5: (R)-6-(2-氟苯基)-N-(3-(2-(4-(2-甲氧乙基)哌嗪-1-基)乙基)苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-胺盐酸盐。将(R)-6-(2-氟苯基)-N-(3-(2-(4-(2-甲氧乙基)哌嗪-1-基)乙基)苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-胺(5.5 g, 10.22 mmol)溶液溶解在二氯甲烷(30 mL)和乙酸乙酯(20 mL)的混合溶剂中。向该溶液缓慢加入2.5 M HCl/乙酸乙酯(30 mL)同时搅拌。加入后,将悬浮液室温搅拌10 min,然后加入二乙醚(300 mL)。将产物通过过滤收集并在60°C干燥24小时以提供6.2 g (~93%)作为黄色固体的终产物。该盐的纯度经发现在UV 254 nm通过HPLC短方法(2.5 min运行)为100%,在UV254通过HPLC长方法(20 min运行)为92%。将盐如本文公开的实施例中所示进一步纯化。

[0236] 5. 药物组合物

本发明还提供包含至少一种本文所述的化合物与至少一种药学上可接受的赋形剂或载体组合的药物组合物。

[0237] “药物组合物”为包含适合给予受试者的形式的本发明化合物的制剂。在一个实施方案中,药物组合物为散装或单位剂量形式。单位剂量形式为各种形式的任一,包括,例如,胶囊、IV袋、片剂、单泵气雾吸入器或小瓶。单位剂量组合物中活性成分(例如,所公开化合物或其盐、水合物、溶剂合物或异构体的制剂)的量为有效量,并且根据涉及的具体治疗而不同。本领域技术人员将会理解,有时需要根据病人的年龄和病况对剂量做出常规改变。剂量将会还依赖给予途径。考虑多种不同的途径,包括口服、经肺、经直肠、胃肠外、透皮、皮下、静脉内、肌肉内、腹膜内、吸入、含服、舌下、胸膜内、鞘内、鼻内等。用于局部或透皮给予本发明化合物的剂型包括粉剂、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏剂、洗剂、凝胶、溶液、贴剂和吸入剂。在一个实施方案中,将活性化合物在无菌条件下与药学上可接受的载体,以及与任何需要的防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。

[0238] 如本文所使用的,短语“药学上可接受的”指在合理的医疗判断范围内,适合用于接触人类或动物的组织而无过度毒性、刺激性、过敏反应或其它问题或并发症,并且具有合理利益/风险比的化合物、物质、组合物、载体和/或剂型。

[0239] “药学上可接受的赋形剂”意指可用于制备一般安全、无毒性并且既不在生物学上也不在其它方面不期需的药物组合物的赋形剂,包括对于兽医用途以及人药物用途可接受的赋形剂。如说明书和权利要求中使用的“药学上可接受的赋形剂”包括一种和一种以上这样的赋形剂二者。

[0240] 本发明药物组合物配制为与其预期的给予途径相容。给予途径的实例包括胃肠外,例如,静脉内、真皮内、皮下、口服(例如,吸入)、透皮(局部)和透粘膜给予。用于胃肠外、真皮内或皮下施用的溶液或悬浮液可包括下列组分:无菌稀释剂例如注射用水、盐水溶液、不挥发油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂;抗细菌剂例如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂例如乙二胺四乙酸;缓冲剂例如醋酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,和用于调节张力的剂例如氯化钠或葡萄糖。pH可用酸或碱调节,例如盐酸或氢氧化钠。胃肠外制备物可包封在玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0241] 本发明化合物或药物组合物可以以许多当前用于化疗处理的众所周知的方法给予受试者。例如,对于癌症治疗,本发明化合物可直接注射入肿瘤、注射入血流或体腔,或采

用口服或用贴剂通过皮肤施用。剂量选择应足以组成有效治疗但不高至引起不可接受的副作用。疾病病况的状态(例如,癌症、癌前期等)和患者的健康应优选在治疗期间密切监测,并在治疗后持续合理的时期。

[0242] 如本文所使用的,术语“治疗上有效量”指治疗、改善或预防鉴定的疾病或病况,或显示可检测的治疗性或抑制性效果的药剂的量。所述效果可通过本领域已知的任何测定方法检测。用于受试者的精确的有效量将会取决于受试者的体重、尺寸和健康,病况的性质和程度,以及所选择的用于给予的治疗剂或治疗剂组合。对于给定的情况,治疗有效量可通过在临床医生的技术和判断内的常规实验测定。在优选的方面,待治疗的疾病或病况为癌症。在另一个方面,待治疗的疾病或病况为细胞增生性病况。

[0243] 对于任何化合物,治疗有效量可最初在细胞培养测定(例如,赘生性细胞)或在动物模型(通常大鼠、小鼠、兔、狗或猪)中估计。动物模型也可用于测定适当的浓度范围和给予途径。这样的信息可然后用于确定用于给予人类的可用剂量和途径。治疗/预防功效和毒性可通过标准药物程序在细胞培养物或实验动物中测定,例如,ED₅₀(在50%的群体中治疗有效的剂量)和LD₅₀(对50%的群体致死的剂量)。毒性和治疗效果之间的剂量比为治疗指数,其可表述为比率,LD₅₀/ED₅₀。显示大治疗指数的药物组合物为优选的。剂量可在该范围内根据利用的剂型、患者敏感性和给予途径改变。

[0244] 调整剂量和给予以提供足够的活性剂水平来维持期需效果。可考虑的因素包括疾病状态的严重性、患者的一般健康、年龄、体重和患者性别、饮食、给予时间和频率、药物联合、反应灵敏度和对治疗的耐受/响应。长效药物组合物可每3-4天、每周或每两周一次给予,取决于具体制剂的半衰期和清除率。

[0245] 包含本发明活性化合物的药物组合物可以以众所周知的方式制造,例如,通过常规混合、溶解、粒化、制糖衣、水飞、乳化、包封、包埋或冻干过程的手段。药物组合物可以以常规方式使用一种或两种药学上可接受的载体(包括赋形剂)和/或促进将活性化合物加工为可药学上使用的制备物的辅助剂配制。当然,适当的制剂取决于所选的给予途径。

[0246] 适于可注射的用途的药物组合物包括无菌水溶液(水溶性的)或分散剂和用于临时制备无菌可注射溶液或分散剂的无菌粉末。对于静脉内给予,合适的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™(BASF, Parsippany, N.J.)或磷酸缓冲盐水(PBS)。在所有情况下,组合物均必须为无菌的并且应能流动至易于注射的程度。其必须在制造和储存条件下稳定并且必须保存其免于微生物例如细菌和真菌的污染活动。载体可为溶剂或分散介质,包括,例如,水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)及其适当混合物。适当的流动性可,例如,通过使用包衣例如卵磷脂,在分散剂的情况下通过保持所需的颗粒尺寸和通过使用表面活性剂维持。预防微生物活动可通过不同的抗细菌和抗真菌剂达到,例如,对羟基苯甲酸、氯丁醇、酚、抗坏血酸、硫柳汞等。在许多情况下,将会优选在组合物中包含等渗剂,例如,糖、多元醇例如甘露醇、山梨醇、氯化钠。可注射组合物的延长吸收可通过在组合物中包含延迟吸收的剂,例如单硬脂酸铝和明胶造成。

[0247] 无菌可注射溶液可通过将所需量的活性化合物掺入按照需要具有一种以上列举的成分或以上列举的成分的适当的溶剂中,接着过滤灭菌制备。一般地,分散剂通过将活性化合物掺入包含基本分散介质和所需的来自以上列举的那些的其它成分的无菌载体中制备。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,制备方法为真空干燥和冷冻干燥,

从其先前的无菌过滤的溶液产生活性成分加任何额外的期需成分的粉末。

[0248] 口服组合物一般包括惰性稀释剂或可食用的药学上可接受的载体。其可包封在明胶胶囊内或压缩成片剂。对于口服治疗给予的目的,可将活性化合物与赋形剂掺合并以片剂、锭剂或胶囊形式使用。口服组合物也可使用流体载体制备,用于用作漱口剂,其中流体载体中的化合物口服施用、发出嗖嗖声(swished)并吐出或吞咽。药学上相容的结合剂和/或辅料可作为组合物的部分包含。片剂、丸剂、胶囊、锭剂等可包含任何下列成分或相似性质化合物:结合剂例如微晶纤维素、黄芪胶、或明胶,赋形剂例如淀粉或乳糖,崩解剂例如海藻酸、Primogel或玉米淀粉,润滑剂例如硬脂酸镁或Sterotes,助流剂例如胶体二氧化硅,甜味剂例如蔗糖或糖精,或橙香精。

[0249] 对于通过吸入给予,化合物以气雾喷雾的形式从压力容器或分配器或雾化器递送,压力容器或分配器包含合适的推进剂,例如,气体例如二氧化碳。

[0250] 全身给予也可通过透粘膜或透皮方法。对于透粘膜或透皮给予,在制剂中使用适合待透过的障碍的渗透剂。这样的渗透剂广泛为本领域所知,并且包括,例如,用于透粘膜给予,洗涤剂、胆盐和梭链孢酸。透粘膜给予可通过使用鼻喷剂或栓剂完成。对于透皮给予,将活性化合物配制为软膏、药膏、凝胶或乳膏剂,如广泛为本领域所知的。

[0251] 活性化合物可用将会保护化合物免于快速从身体消除的药学上可接受的载体制备,例如缓释剂,包括埋植剂和微型胶囊递送系统。可使用生物可降解的、生物相容的聚合物,例如乙烯醋酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。用于制备这样的制剂的方法将会对本领域技术人员显而易见。材料可从Alza Corporation和Nova Pharmaceuticals, Inc.市售获得。脂质体悬浮液(包括用病毒抗原的单克隆抗体靶向感染细胞的脂质体)也可用作药学上可接受的载体。这些可根据本领域技术人员已知的方法制备,例如,如美国专利号4,522,811中所描述的。

[0252] 配制剂量单位形式的口服或胃肠外组合物对于给予的容易性和剂量的均一性特别有利。如本文所使用的剂量单位指适合作为用于待治疗的受试者的单元剂量的物理上分散的单位;每一单位包含经计算产生期需治疗效果的预定量的活性化合物与需要的药物载体联合。本发明剂量单位形式的规格由活性化合物的独特性质和待达到的具体治疗效果指示并直接依赖于活性化合物的独特性质和待达到的具体治疗效果。

[0253] 在治疗应用中,在其它影响所选剂量的因素中,根据本发明使用的药学组合物的剂量根据剂、接受的患者的年龄、体重和临床病况以及给予治疗的临床医生或行医者的经验和判断而不同。一般地,剂量应足以导致减缓肿瘤生长,并优选地使肿瘤生长消退,以及优选地引起癌症完全消退。剂量可为约0.01 mg/kg每天-约5000 mg/kg每天。在优选的方面,剂量可为约1 mg/kg每天-约1000 mg/kg每天。在一个方面,剂量将会在约0.1 mg/天-约50 g/天、约0.1 mg/天-约25 g/天、约0.1 mg/天-约10 g/天、约0.1 mg-约3 g/天或约0.1 mg-约1 g/天的范围内,以单一的、分开的或连续的剂量(该剂量可对于患者的体重(kg)、体表面积(m²)和年龄(岁)调整)。药剂的有效量为提供如临床医生或其他合格的观察者所注意到的客观可识别的改善的量。例如,患者中肿瘤的消退可参考肿瘤的直径测量。肿瘤直径的减小指示消退。消退还通过治疗停止后肿瘤重新出现失败指示。如本文所使用的,术语“剂量有效方式”指在受试者或细胞中产生期需生物学效果的活性化合物的量。

[0254] 所述药物组合物可连同给予说明书一起包含在容器、包装或分配器中。

[0255] 本发明化合物能够进一步形成盐。所有这些形式也考虑在所要求的本发明的范围内。

[0256] 如本文所使用的，“药学上可接受的盐”指本发明化合物的衍生物，其中母体化合物通过制成其酸式盐或碱式盐改性。药学上可接受的盐的实例包括，但不限于，碱性残基例如胺的无机酸盐或有机酸盐、酸性残基例如羧酸的碱金属盐或有机盐等。药学上可接受的盐包括，例如，从无毒无机或有机酸形成的母体化合物的常规无毒盐或季铵盐。例如，这样的常规无毒盐包括，但不限于，从选自下列的无机或有机酸衍生的那些：2-乙酰氧基苯甲酸、2-羟基乙烷磺酸、乙酸、抗坏血酸、苯磺酸、苯甲酸、重碳酸、碳酸、柠檬酸、依地酸、乙二磺酸、1,2-乙磺酸、反式丁烯二酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、乙醇酐对氨基苯基脯氨酸(glycollyarsanilic acid)、己基间苯二酸、hydrabamic、氢溴酸、盐酸、氢碘酸、羟基顺式丁烯二酸、羟基萘甲酸、羟乙磺酸、乳酸、乳糖酸、十二烷基磺酸、顺式丁烯二酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、萘磺酸(napsylic acid)、硝酸、草酸、双羟萘酸、泛酸、苯乙酸、磷酸、聚半乳糖醛酸、丙酸、水杨酸、硬脂酸、碱式乙酸、琥珀酸、氨基磺酸、对氨基苯磺酸、硫酸、鞣酸、酒石酸、甲苯磺酸，和普遍存在的氨基酸，例如，甘氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、精氨酸等。

[0257] 药学上可接受的盐的其它实例包括己酸、环戊烷丙酸、丙酮酸、丙二酸、3-(4-羟基苯甲酰)苯甲酸、肉桂酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑磺酸、4-甲基双环-[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、粘康酸等。本发明还包括当母体化合物中存在的酸性质子被金属离子例如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子置换，或与有机碱例如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇、N-甲基葡糖胺等配合形成的盐

应理解的是，所有对药学上可接受的盐的提及均包括同一盐的如本文所定义的溶剂添加形式(溶剂合物)或晶形(多晶型)。

[0258] 本发明化合物也可制备为酯，例如药学上可接受的酯。例如，可将化合物中的羧酸官能团转化为其相应的酯，例如，甲酯、乙酯或其它酯。同样，可将化合物中的醇基团转换为其相应的酯，例如乙酸酯、丙酸酯或其它酯。

[0259] 本发明化合物也可制备为前药，例如，药学上可接受的前药。术语“前药(pro-drug或prodrug)”在本文中可互换使用，指在体内释放活性母体药物的任何化合物。由于已知前药增强药物的许多期需性质(例如，溶解度、生物可利用率、制造，等)，本发明化合物可以以前药形式递送。因此，本发明意在涵盖所要求的化合物的前药、递送前药的方法和包含前药的组合物。“前药”意在包括任何共价结合的载体，当这样的前药给予受试者时，其在体内释放本发明的活性母体药物。在本发明中前药通过改性化合物中存在的官能团制备，改性以这样的方式进行以致修饰可以以常规操作或体内从母体化合物切割。前药包括其中羟基、氨基、巯基、羧基或羰基结合至可体内切割以分别形成游离羟基、游离氨基、游离巯基、游离羧基或游离羰基的任何基团的本发明化合物。

[0260] 前药的实例包括，但不限于，本发明化合物中羟基官能团的酯(例如，乙酸酯、二烷基氨基乙酸酯、甲酸酯、磷酸酯、硫酸酯和苯甲酸酯衍生物)和氨基甲酸酯(例如，N,N-二甲基氨基羰基)，羧基官能团的酯(例如，乙酯、吗啉代乙醇酯)、氨基官能团的N-酰基衍生物(例如，N-乙酰基) N-Mannich碱、Schiff碱和烯胺酮，酮和醛官能团的肟、缩醛、缩酮和烯醇酯，等，参见Bundegaard, H., *Design of Prodrugs* (前药的设计), p1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985)。

[0261] 所述化合物,或其药学上可接受的盐、酯或前药口服、经鼻、透皮、经肺、吸入、含服、舌下、腹膜内、皮下、肌肉内、静脉内、经直肠、胸膜内、鞘内和胃肠外给予。在一个实施方案中,所述化合物口服给予。本领域技术人员将认识到某些给予途径的优点。

[0262] 利用化合物的给剂方案根据多个因素选择,包括患者的类型、种族、年龄、体重、性别和医学病况,待治疗病况的严重性,给予途径,患者的肾和肝功能,以及使用的具体化合物或其盐。普通技术医师或兽医可容易地确定和建议预防、对抗或制止病况进展所需的药物有效量。

[0263] 给剂方案可为每天给予(例如每24小时)本发明化合物。给剂方案可为每天给予,持续连续的数天,例如,至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个或至少7个连续日。给剂可为每天超过1次,例如,每天2次、3次或4次(每24小时的时期)。给剂方案可为每天给予接着至少1天、至少2天、至少3天、至少4天、至少5天或至少6天不给予。例如,本发明化合物在24小时期间给予至少1次,然后持续至少6天不给予本发明化合物,然后给予有需要的受试者本发明化合物。

[0264] 给剂方案可包括每天给予,持续至少1周、至少2周或至少3周。优选地,给剂方案可包括每天给予约50 mg-约100 mg。更优选地,给剂方案可包括每天给予约60 mg。

[0265] 给剂方案可包括每周给予1次。具体地,在一周期间给予1次。更具体地,组合物在24小时内给予至少1次,持续至少6天不给予,并在至少6天之后的24小时内给予至少一次。优选地,给剂方案可包括每周一天给予约250 mg-约250 mg。更优选地,给剂方案可包括每周一天给予约300 mg。

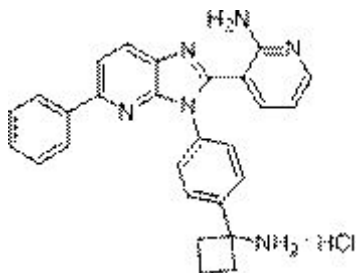
[0266] 给剂方案可包括每天给予持续至少1周,中断给予持续至少1周,然后每天给予持续至少另一个周。例如,将本发明化合物每天给予持续至少一周,持续第二周不给予本发明化合物,然后每天给予苯胺化合物持续至少第三周。优选地,给剂方案可包括每天给予约150 mg-约250 mg。更优选地,给剂方案可包括每天给予约200 mg。

[0267] 用于配制和给予公开的本发明化合物的技术可存在于*Remington: the Science and Practice of Pharmacy* (雷明顿:药学科学与实践),第19版, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995)。在一个实施方案中,本文所述的化合物,及其药学上可接受的盐,与药学上可接受的载体或稀释剂组合用于药物制备。合适的药学上可接受的载体包括惰性固体填充剂或稀释剂和无菌水溶液或有机溶液。化合物将会在这样的药物组合物中以足以提供在本文所述范围内的所需剂量的量存在。

[0268] 除非另有说明,否则本文使用的所有百分数和比率为按重量计。本发明的其它特征和优点将从不同的实施例显而易见。所提供的实施例说明可用于实践本发明的不同组分和方法学。实施例不限制所要求的发明。基于本公开内容技术人员可鉴定和利用可用于实践本发明的其它组分和方法学。

[0269] 6. 实施例

实施例1:3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-5-苯基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)吡啶-2-胺(化合物1)盐酸盐的合成



3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-5-苯基-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-2-基)吡啶-2-胺盐酸盐按照通用程序A接着通用程序D和B合成。

[0270] 步骤1:叔丁基(1-(4-((6-氯-3-硝基吡啶-2-基)氨基)苯基)环丁基)氨基甲酸酯

在20分钟的过程内,向冷至0°C的2,6-二氯-3-硝基吡啶(5.11 g)在DMA (50 ml)和三乙胺(5 ml)的溶液中逐滴加入叔丁基(1-(4-氨基苯基)环丁基)氨基甲酸酯(6.3 g)/DMA (25 ml)溶液。将反应物在0°C搅拌1小时,然后缓慢温暖至室温并反应过夜。完成时,将反应物用水(250 mL)稀释并用乙酸乙酯(2 x 200 ml)萃取。将有机物合并,用饱和碳酸氢钠溶液(1 x 200 ml)、水(1 x 200 ml)和卤水(1x 100 ml)洗涤。将有机物经硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱(15%乙酸乙酯/己烷)纯化产生作为橙色固体的产物(5.05 g, 50%)。400 MHz ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ: 10.05 (s, 1H), 8.52 (d, *J* = 8.8Hz, 1H), 7.56 - 7.52 (m, 2H), 7.42 - 7.37 (m, 3H), 6.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.47 - 2.34 (m, 4H), 2.04 - 1.96 (m, 1H), 1.84 - 1.74 (m, 1H), 1.30 (bs, 9H); LCMS: 419 [M+H]。

[0271] 步骤2:叔丁基(1-(4-(2-(2-氨基吡啶-3-基)-5-氯-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-3-基)苯基)环丁基)氨基甲酸酯

向叔丁基(1-(4-((6-氯-3-硝基吡啶-2-基)氨基)苯基)环丁基)氨基甲酸酯(5.0 g)在无水DMSO (60 ml)和无水甲醇(10 ml)中的溶液中加入2-氨基烟碱醛(1.53 g)接着Na₂S₂O₄ (6.25 g)。将反应混合物加热至100°C持续2天。反应完成时,加入水(250 ml)并将反应物室温搅拌1天。反应物用二氯甲烷(2 x 200 ml)萃取。第二次萃取时,大量黄色固体从水层和有机层沉淀。将固体滤出,发现其为产物。将产物与有机层合并并减压干燥,产生作为黄色固体的产物(3.1 g, 52%)。400 MHz ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 8.26 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.00 - 7.96 (m, 1H), 7.69 (bs, 1H), 7.54 - 7.35 (m, 5H), 7.24 - 7.08 (m, 1H), 7.04 - 6.96 (m, 2H), 6.32 - 6.28 (m, 1H), 2.48 - 2.35 (m, 4H), 2.06 - 1.96 (m, 1H), 1.86 - 1.76 (m, 1H), 1.40 - 1.06 (m, 9H); LCMS: 491 [M+H]。

[0272] 步骤3:叔丁基(1-(4-(2-(2-氨基吡啶-3-基)-5-苯基-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-3-基)苯基)环丁基)氨基甲酸酯

向叔丁基(1-(4-(2-(2-氨基吡啶-3-基)-5-氯-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-3-基)苯基)环丁基)氨基甲酸酯(20 g)在甲苯(200 mL)和乙醇(200 mL)中的悬浮液中加入饱和水性碳酸氢钠(150 mL)和苯基硼酸(9.9 g)。将反应物脱气5分钟,并加入Pd (PPh₃)₄ (1.0 g)。将反应物再次脱气5分钟,然后加热至100°C持续2天或直至通过LCMC检测反应完成。将反应混合物冷却至室温,并将二氯甲烷(250 ml x 3)和水(100 mL)加入反应物中。将有机物用饱和碳酸氢钠(1 x 250 mL)和水(1 x 250 mL)洗涤,经硫酸钠干燥并浓缩。通过柱色谱(10-100%乙酸乙酯/己烷)纯化产生具有一些杂质的产物。将固体用乙酸乙酯重结晶,提供灰白色固体(7.2 g)。400 MHz ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 8.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.04 -

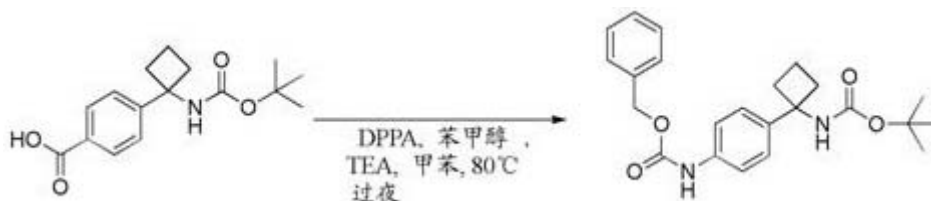
7.98 (m, 3H), 7.94 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.46 - 7.35 (m, 6H), 7.18 - 7.14 (m, 1H), 6.90 (bs, 1H), 6.33 (dd, $J = 7.6$ Hz和4.4 Hz, 1H), 2.48 - 2.40 (m, 4H), 2.09 - 2.00 (m, 1H), 1.89 - 1.79 (m, 1H), 1.30 (m, 9H); LCMS: 533 [M+H]。

[0273] 步骤4:3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-5-苯基-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-2-基)吡啶-2-胺盐酸盐

向叔丁基(1-(4-(2-(2-氨基吡啶-3-基)-5-苯基-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-3-基)苯基)环丁基)氨基甲酸酯(4.1 g)/二氯甲烷(100 mL)溶液中缓慢加入4.0 M HCl/二噁烷(20 mL)。将反应物室温搅拌2.5小时。反应完成时,向悬浮液中加入醚(50 mL),将固体过滤得到作为白色固体的产物(4.032 g)。¹H NMR (DMSO-*d*₆) 400 MHz δ : 8.94 (s, 3H), 8.47 (bs, 1H) 8.38 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.19 - 8.15 (m, 1H), 8.10 - 8.03 (m, 3H), 7.93 - 7.88 (m, 1H), 7.76 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.52 - 7.40 (m, 3H), 6.92 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 2.70 - 2.57 (m, 4H), 2.29 - 2.20 (m, 1H), 1.90 - 1.80 (m, 1H); LCMS: 433 [M+H]。计算为C₂₉H₂₇ON₇ · 3.06盐酸 · 0.01二噁烷 · 0.03二乙醚: C 59.61, H 5.28, N 15.36; 发现C 59.62, H 5.05, N 15.36。

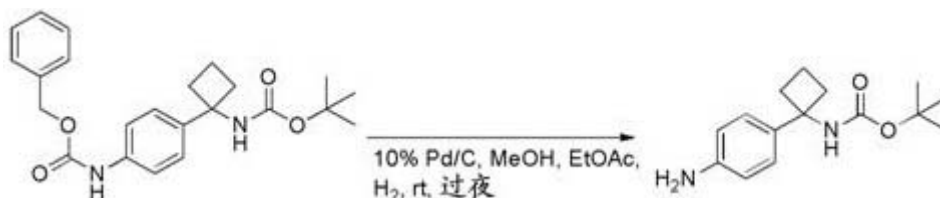
[0274] 叔丁基(1-(4-氨基苯基)环丁基)氨基甲酸酯的合成,实施例21通用程序A的结构模块:

步骤1: (1-(4-((苯甲氧基)羰基)氨基)苯基)环丁基)氨基甲酸的Cbz保护



向4-(1-((叔丁氧羰基)氨基)环丁基)苯甲酸(15 g)在甲苯(75 mL)和三乙胺(14.36 mL, 2 eq.)的溶液中加入二苯基磷酰基叠氮化物(12.22 mL, 1.1 eq.)。将反应物加热至100°C并让其反应2小时,或直至剧烈的鼓泡停止。加入苯甲醇(26.6 mL, 5 eq.)并让反应在100°C进行2小时。将反应物冷却至室温并放置在冰浴上冷却。从反应物沉淀出白色固体之后将反应物温暖至室温并搅拌过夜。向反应物中加入醚(200 mL)并将产物过滤,产生13.1 g白色固体。400 MHz ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 9.55 (s, 1H), 7.44-7.24 (m, 10H), 5.14 (s, 2H), 2.4 - 2.28 (m, 4H), 2.00-1.90 (m, 1H), 1.79-1.69 (m, 1H), 1.28 (bs, 9H); LCMS: 397 [M+H]。

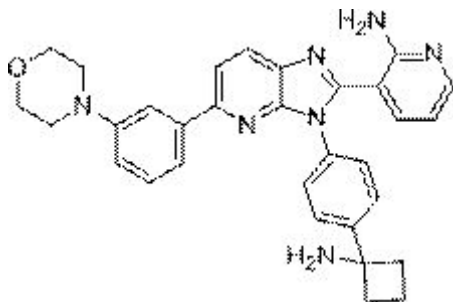
[0275] 步骤2:叔丁基(1-(4-氨基苯基)环丁基)氨基甲酸酯;通用程序A的中间体2



将cbz保护的4-(1-((叔丁氧羰基)氨基)环丁基)苯甲酸(9.545 g)在乙酸乙酯(125 mL)和甲醇(125 mL)中的悬浮液加热直至成为溶液。将溶液冷却至室温并加入10% Pd/C(1.1 g)。将烧瓶充入氢气,并让其室温反应过夜。完成时,将反应物过滤通过硅藻土垫,并

将硅藻土用甲醇 (2 x 100 mL) 洗涤。将有机物减压浓缩, 产生作为无色油的产物 (6.3 g, 100%), 其不经进一步的纯化使用。LCMS: 263 [M+H]。

[0276] 实施例2: 3-(3-(4-(1-氨基环丁基) 苯基)-5-(3-吗啉代苯基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基) 吡啶-2-胺的合成



步骤1: 叔丁基 (1-(4-((6-氯-3-硝基吡啶-2-基) 氨基) 苯基) 环丁基) 氨基甲酸酯

在20分钟的过程内, 向冷至0°C的2,6-二氯-3-硝基吡啶 (5.11 g) 在DMA (50 mL) 和三乙胺 (5 mL) 的溶液中逐滴加入叔丁基 (1-(4-氨基苯基) 环丁基) 氨基甲酸酯 (6.3 g) /DMA (25 mL) 溶液。将反应物在0°C搅拌1小时, 然后缓慢温暖至室温并反应过夜。完成时, 将反应物用水 (250 mL) 稀释并用乙酸乙酯 (2 x 200 mL) 萃取。将有机物合并, 用饱和碳酸氢钠溶液 (1 x 200 mL)、水 (1 x 200 mL) 和卤水 (1 x 100 mL) 洗涤。将有机物经硫酸钠干燥并减压浓缩。通过柱色谱 (15% 乙酸乙酯/己烷) 纯化产生作为橙色固体的产物 (5.05 g, 50%)。400 MHz ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ: 10.05 (s, 1H), 8.52 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.56 - 7.52 (m, 2H), 7.42 - 7.37 (m, 3H), 6.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.47 - 2.34 (m, 4H), 2.04 - 1.96 (m, 1H), 1.84 - 1.74 (m, 1H), 1.30 (bs, 9H); LCMS: 419 [M+H]。

[0277] 步骤2: 叔丁基 (1-(4-(2-(2-氨基吡啶-3-基)-5-氯-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基) 苯基) 环丁基) 氨基甲酸酯

向叔丁基 (1-(4-((6-氯-3-硝基吡啶-2-基) 氨基) 苯基) 环丁基) 氨基甲酸酯 (5.0 g) 在无水DMSO (60 mL) 和无水甲醇 (10 mL) 中的溶液中加入2-氨基烟碱醛 (1.53 g) 接着Na₂S₂O₄ (6.25 g)。将反应混合物加热至100°C持续2天。反应完成时, 加入水 (250 mL) 并将反应物室温搅拌1天。反应物用二氯甲烷 (2 x 200 mL) 萃取。第二次萃取时, 大量黄色固体从水层和有机层沉淀。将固体滤出, 发现其为产物。将产物与有机层合并并减压干燥, 产生作为黄色固体的产物 (3.1 g, 52%)。400 MHz ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 8.26 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.00 - 7.96 (m, 1H), 7.69 (bs, 1H), 7.54 - 7.35 (m, 5H), 7.24 - 7.08 (m, 1H), 7.04 - 6.96 (m, 2H), 6.32 - 6.28 (m, 1H), 2.48 - 2.35 (m, 4H), 2.06 - 1.96 (m, 1H), 1.86 - 1.76 (m, 1H), 1.40 - 1.06 (m, 9H); LCMS: 491 [M+H]。

[0278] 步骤3: 叔丁基 (1-(4-(2-(2-氨基吡啶-3-基)-5-(3-吗啉代苯基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基) 苯基) 环丁基) 氨基甲酸酯

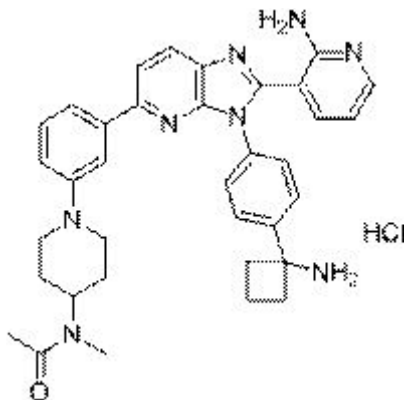
将叔丁基 (1-(4-(2-(2-氨基吡啶-3-基)-5-氯-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基) 苯基) 环丁基) 氨基甲酸酯 (1 eq.) 悬浮在乙醇和甲苯 (各10 mL/ mmol) 的混合物中。加入NaHCO₃ sat. 溶液 (3 mL/ mmol)。将反应物用氮脱气30 min。将Pd(PPh₃)₄ (0.05 eq.) 和硼酸 (1.1 eq.) 加入反应混合物中。随后将其在氮气氛围中加热至100°C过夜。冷却至室温后将其用二氯甲烷 (20 mL/ mmol) 和水 (10 mL/ mmol) 稀释。将有机相分离, 用卤水 (10 mL/ mmol) 洗涤并经Na₂SO₄干燥。过滤后将溶剂真空去除。将粗残余物通过硅胶色谱 (3-20% 甲醇/乙酸乙

酯) 纯化。

[0279] 步骤4: 3-{3-[4-(1-氨基环丁基) 苯基]-5-(3-吗啉-4-基苯基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基}吡啶-2-胺

将氨基甲酸酯(1 eq.) 溶解在甲醇中。加入HCl (20 eq., 4 M, 在二噁烷中) 并室温搅拌2-4小时。减压浓缩溶液产生作为盐酸盐的脱保护的胺(如方案2中所示的结构7), 其不经进一步的纯化用于下一步骤。 $400\text{ MHz } ^1\text{H-NMR (DMSO-}d_6)$ δ : 8.97 - 8.78 (m, 1H), 8.87 (br s, 2H), 8.67 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 8.3\text{ Hz}$, 1H), 8.41 (d, $J = 8.3\text{ Hz}$, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.31 - 8.02 (m, 1H), 8.16 (dd, $J = 6.0\text{ Hz}$ 和 1.8 Hz , 1H), 7.87 - 7.80 (m, 1H), 7.77 (d, $J = 8.3\text{ Hz}$, 2H), 7.69 (d, $J = 8.3\text{ Hz}$, 2H), 6.90 - 6.80 (m, 1H), 3.81 - 3.74 (m, 4H), 3.71 - 3.63 (m, 4H), 2.73 - 2.56 (m, 4H), 2.31 - 2.17 (m, 1H), 1.94 - 1.79 (m, 1H); LCMS: 520 [M+H]。

[0280] 实施例3: N-[1-(3-{3-[4-(1-氨基环丁基) 苯基]-2-(2-氨基吡啶-3-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-5-基} 苯基) 哌啶-4-基]-N-甲基乙酰胺三盐酸化物(化合物3) 的合成



步骤1: N-甲基-N-{1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基) 苯基] 哌啶-4-基} 乙酰胺的合成

将N-[1-(3-溴苯基) 哌啶-4-基]-N-甲基乙酰胺(68 mg, 0.217 mmol)、联硼酸频哪醇酯(66 mg, 0.260 mmol)、Pd(dppf)Cl₂·DCM (9 mg, 0.0109 mmol) 和醋酸钾(64 mg, 0.651 mmol) 在二噁烷(3 mL) 中的混合物在氮气氛围中在80°C 加热13小时。冷却至室温后, 将混合物用EtOAc 稀释并过滤通过硅藻土垫。将合并的滤液和洗涤液浓缩。将残余物通过硅胶柱层析(乙烷/AcOEt = 35:65→0:100) 纯化以提供作为白色固体的N-甲基-N-(1-(3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基) 苯基) 哌啶-4-基) 乙酰胺(61 mg, 78%)。

[0281] $500\text{ MHz } ^1\text{H-NMR (CDCl}_3)$ δ : 7.41-7.38 (m, 1H), 7.35-7.28 (m, 2H), 7.06-7.03 (m, 1H), 4.68-4.61 (m, 1H), 3.84-3.76 (m, 2H), 2.88 (s, 2H), 2.85 (s, 1H), 2.83-2.76 (m, 2H), 2.16 (s, 1H), 2.11 (s, 2H), 2.02-1.92 (m, 1H), 1.83-1.76 (m, 2H), 1.72-1.69 (m, 1H), 1.34-1.34 (m, 12H); LCMS: 359 [M+H]。

步骤2: 偶联

将叔丁基(1-{4-[2-(2-氨基吡啶-3-基)-5-氯-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基] 苯基} 环丁基) 氨基甲酸酯(56 mg, 0.113 mmol)、N-甲基-N-{1-[3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基) 苯基] 哌啶-4-基} 乙酰胺(61 mg, 0.170 mmol)、双(二叔丁基(4-二甲基氨基苯基) 膦) 二氯化钯(II) (8 mg, 0.0113 mmol) 和2M Na₂CO₃ aq. (0.062 mL, 0.124 mmol) 在

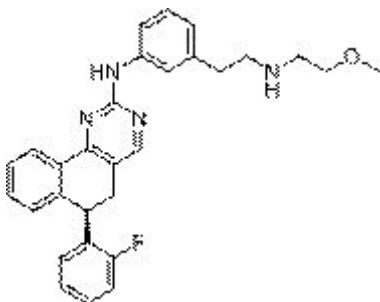
DMF (2.5 mL) 中的混合物用微波处理 (160°C 持续1小时)。将混合物用AcOEt稀释, 然后用水 ($\times 3$)、卤水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 然后过滤。将滤液浓缩, 将残余物通过制备型薄层色谱 (AcOEt/MeOH = 20:1) 纯化, 并通过制备型薄层色谱 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20:1 \times 2$) 进一步纯化, 以提供作为黄色固体的叔丁基 (1-(4-(2-(2-氨基吡啶-3-基))-5-(3-(4-(N-甲基乙酰胺基)哌啶-1-基)苯基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)苯基)环丁基)氨基甲酸酯 (14 mg, 18%)。

[0282] 步骤3: 脱保护

向叔丁基 (1-(4-(2-(2-氨基吡啶-3-基))-5-(3-(4-(N-甲基乙酰胺基)哌啶-1-基)苯基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)苯基)环丁基)氨基甲酸酯 (14mg, 0.0204 mmol) / MeOH (1 mL) 中加入4N HCl-二噁烷 (3 mL) 并室温搅拌14小时。将混合物浓缩以提供作为浅黄色固体的N-[1-(3-{3-[4-(1-氨基环丁基)苯基]-2-(2-氨基吡啶-3-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-5-基}苯基)哌啶-4-基]-N-甲基乙酰胺三盐酸化物 (19 mg, quant)。

[0283] 500 MHz $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ : 8.86-8.82 (m, 2H), 8.41-8.37 (m, 1H), 8.36-8.23 (m, 2H), 8.27 (dd, $J = 10.0$ Hz和5.0 Hz, 1H), 8.15 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 7.89-7.87 (m, 1H), 7.75 (dd, $J = 8.6$ Hz和2.9 Hz, 2H), 7.69 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.51-7.36 (m, 2H), 6.88 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.74-3.64 (m, 2H), 3.50-3.45 (m, 3H), 2.85 (s, 2H), 2.70 (s, 1H), 2.68-2.57 (m, 4H), 2.26-2.18 (m, 2H), 2.10 (s, 1H), 2.02 (s, 2H), 1.90-1.82 (m, 2H), 1.82-1.80 (m, 1H), 1.67-1.60 (m, 2H); LCMS: 587 [M+H]。

[0284] 实施例4: (R)-6-(2-氟苯基)-N-(3-(2-(2-甲氧乙基氨基)乙基)苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-胺(化合物4) 盐酸盐



该化合物通过使用(R)-4-(6-(2-氟苯基)-5,6-二氢苯并[h]喹唑啉-2-基氨基)苯乙基甲磺酸酯、2-甲氧基乙胺和三乙胺如通用程序6中所描述的合成以提供期需产物。M.p. = 173-175 °C. $^1\text{H NMR}$ 400 MHz ($\text{DMSO-}d_6$) δ 9.68 (s, 1 H), 8.99 (bs, 2 H), 8.33-8.31 (m, 2 H), 7.73-7.69 (m, 2 H), 7.54-7.44 (m, 2 H), 7.29-7.24 (m, 3 H), 7.06-7.00 (m, 2 H), 6.85-6.78 (m, 2 H), 5.55 (bs, 2 H), 4.65 (t, $J = 7.2$ Hz, 1 H), 3.61 (t, $J = 5.2$ Hz, 2 H), 3.29 (s, 3 H), 3.20-3.08 (m, 6 H), 2.98-2.94 (m, 2 H). LCMS m/e 469 (M+H)。

[0285] 实施例5: 无活性AKT Alpha Screen测定

AKT1活性使用GSK3衍生的生物素化的肽底物、crosstide (生物素-GRPTSSFAEG) 和 AlphaScreen™ (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay (放大的发光接近均相测定)) 技术测定。AKT1活化通过加入活化激酶PDK1和MAPKAPK2、脂囊泡和ATP达到。肽磷酸化的程度使用磷酸-AKT底物抗体和缀合蛋白A的受体珠以及缀合与肽上的生物素结

合的链霉亲和素的供体珠测定。供体珠的激发将周围氧气转化为激发的单态氧,当与受体珠极为接近时,单态氧与受体珠反应,导致信号放大。

[0286] 将检验抑制剂和对照((S)-1-((5-(3-甲基-1*H*-吡唑-5-基)吡啶-3-基)氧)-3-苯基丙-2-胺,1-(1-(4-(7-苯基-1*H*-咪唑并[4,5-*g*]喹喔啉-6-基)苄基)哌啶-4-基)-1*H*-苯并[*d*]咪唑并1-2(3*H*)-酮和8-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-9-苯基-[1,2,4]三唑[3,4-*f*][1,6]萘啶-3(2*H*)-酮)在10% DMSO中以所需终浓度的10倍制备,并以体积2.5 μ L加入反应板(Corning 96孔半面固体白色未结合表面板(96-well half-area solid white nonbinding surface plate))的每一孔中。将全长无活性AKT1在测定缓冲液(50 mM Tris, pH 8.0, 0.02 mg/mL BSA, 10 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 10%甘油, 0.2 mM Na₃VO₄, 1 mM DTT, 0.1 mM β -甘油磷酸酯和0.2 mM NaF)中稀释,并向每一孔中加入17.5 μ L体积,用于在25 μ L反应中获得终浓度8 nM (AKT1)。室温预孵育20分钟后,激酶反应通过加入5 μ L活化混合物起始,活化混合物包含生物素化的crosstide、PDK1、MAPKAPK2、DOPS/DOPC、PtdIns(3,4,5)P3和ATP,在测定缓冲液中稀释以达到终浓度60 nM 生物素化的crosstide、0.1 nM PDK1、0.7 nM MK2、5.5 μ M DOPS、5.5 μ M DOPC、0.5 μ M PtdIns(3,4,5)P3和50 μ M ATP。将板在室温孵育30分钟,然后通过加入10 μ L终止/检测混合物在黑暗中终止,终止/检测混合物包含EDTA、AlphaScreen™ 链霉亲和素供体和蛋白A受体珠,以及磷酸-AKT底物抗体,在测定缓冲液中制备以达到终浓度10 mM EDTA、500 ng/孔AlphaScreen™ 链霉亲和素供体珠和蛋白A受体珠二者,以及最终1:350稀释的磷酸-AKT底物抗体。将测定板在黑暗中室温孵育90分钟,并在Perkin Elmer Envision Multilabel酶标仪(激发波长:640 nm,发射波长:570 nm)上读板。

[0287] 反应:

2.5 μ L在10% DMSO中的10X AKT抑制剂

17.5 μ L无活性AKT或对于空白,缓冲液

室温20分钟预孵育

5 μ L反应混合物(5X ATP、5X底物、5X PDK1、5X MK2和5X脂囊泡混合物)

室温30分钟孵育

10 μ L检测缓冲液

室温90分钟孵育

检测(激发:640 nm,发射:570 nm)

Envision仪器设置:

仪器:Perkin Elmer Envision

板:96孔

程序名:

激发:Ex Top

反射镜:General Dual - Slot 2

激发滤光片:CFP430 Ex. Slot 2

发射滤光片:Emission 579 - Em slot 2

第二个发射滤光片:无

测量高度(mm):3.8

激发光 (%) : 1
 检测器增益 : 1
 第二个检测器增益 : 0
 #闪光 : 10
 #闪光/AD : 1
 参考信号 : 383722
 AD增益 : 4
 参考激发 (%) : 100

实施例6: 无活性AKT HTRF测定

AKT1活性使用CisBio KinEASE™ HTRF测定技术测定。该技术利用专有的生物素化肽底物(STKS3)、链霉亲和素标记的XL665抗体和STK抗体-Eu³⁺-穴状化合物。AKT1活化通过加入活化激酶PDK1和MAPKAPK2、脂囊泡和ATP达到。STKS3生物素化肽磷酸化的程度使用磷酸-STK抗体-Eu³⁺-穴状化合物和链霉亲和素标记的XL665抗体测定。XL665受Eu³⁺-穴状化合物刺激,导致与SKS3磷酸化水平成比例的TR-FRET信号。

[0288] 将检验抑制剂和化合物((S)-1-((5-(3-甲基-1*H*-吡啶-5-基)吡啶-3-基)氧)-3-苯基丙-2-胺,1-(1-(4-(7-苯基-1*H*-咪唑并[4,5-*g*]喹啉-6-基)苄基)哌啶-4-基)-1*H*-苯并[*d*]咪唑并1-2(3*H*)-酮和8-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-9-苯基-[1,2,4]三唑[3,4-*f*][1,6]萘啶-3(2*H*)-酮)在10% DMSO中以所需终浓度的10倍制备,并以体积2.5 μL加入反应板(Corning 96孔半面固体黑色未结合表面板)的每一孔中。将全长无活性AKT1、AKT2和AKT3在测定缓冲液(50 mM Tris, pH 8.0, 0.02 mg/ml BSA, 10 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 10% 甘油, 0.2 mM Na₃VO₄, 和1 mM DTT)中稀释,并向每一孔中加入17.5 μL体积,用于在25 μL反应中达到终浓度8 nM (AKT1)、20 nM (AKT2)或3 nM (AKT3)。室温预孵育20分钟后,激酶反应通过加入5 μL活化混合物起始,活化混合物包含生物素化的STKS3、PDK1、MAPKAPK2、DOPS/DOPC、PtdIns (3,4,5) P3和ATP,在测定缓冲液中稀释以达到终浓度150 nM 生物素化的STKS3、1 nM (AKT1)、2.5 nM (AKT2),或0.4 nM (AKT3) PDK1、0.8 nM (AKT1)、2 nM (AKT2),或0.3 nM (AKT3) MK2、5.5 μM DOPS、5.5 μM DOPC、0.5 μM PtdIns (3,4,5) P3和50 μM ATP。将板在室温孵育30分钟,然后通过加入25 μL HTRF检测缓冲液终止,HTRF检测缓冲液包含磷酸-STK抗体-Eu³⁺-穴状化合物和链霉亲和素标记的XL665抗体,分别1:192和1:500稀释。磷酸-STK抗体-Eu³⁺-穴状化合物和链霉亲和素标记的XL665抗体的最终测定稀释度分别为1:384和1:1,000。将测定板在室温孵育60分钟,并在Perkin Elmer Envision Multilabel酶标仪(激发:320 nm,发射I:665 nm,发射II:615 nm)上读板。

[0289] 反应:

2.5 μl 在10% DMSO中的10X AKT抑制剂
 17.5 μl 无活性AKT或对于空白,缓冲液
 室温20分钟预孵育
 5 μl 反应混合物(5X ATP, 5X底物, 5X PDK1, 5X MK2和5X 脂囊泡混合物)
 室温30分钟孵育
 25 μl 检测缓冲液
 室温60分钟孵育

检测(激发:320 nm,发射I:665 nm,发射II:615 nm)

实施例7:MTS测定

细胞增殖分析。细胞存活通过MTS测定确定。简言之,将细胞以每孔2,000-15,000细胞铺板在96孔板中,在完全生长培养基中培养24小时,然后用不同的药物和药物组合处理72小时。加入MTS和PMS试剂并孵育4小时,接着使用酶标仪在490 nm评估细胞生存力。数据用Microsoft Excel对未处理对照归一化并分析。

[0290] 表1显示化合物1、化合物2和化合物3的物理性质。

[0291] 表1

化合物	化学名	[M+H]
1	3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-5-苯基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)吡啶-2-胺	433
2	3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-5-(3-吗啉代苯基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)吡啶-2-胺	518
3	N-(1-(3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-2-(2-氨基吡啶-3-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-5-基)苯基)哌啶-4-基)-N-甲基乙酰胺	587

表2显示化合物1、化合物2和化合物3的AKT激酶抑制活性。

[0292] 表2

化合物	化学名	AKT1 IC ₅₀ , (AlphaScreen) (μ M)
1	3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-5-苯基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)吡啶-2-胺	0.0032
2	3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-5-(3-吗啉代苯基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)吡啶-2-胺	0.0022
3	N-(1-(3-(3-(4-(1-氨基环丁基)苯基)-2-(2-氨基吡啶-3-基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-5-基)苯基)哌啶-4-基)-N-甲基乙酰胺	0.0020

表3显示化合物1的MTS活性。

[0293] 表3

[CELL], IC50, MTS (72 小时;10%;FBS) (μ M)的平均值					
A2780	AN3CA	BT474	LnCap	IGROV	Zr75-1
0.72	0.62	1.3	2.1	1.7	4.2

对于联合研究,将细胞以每孔最佳数目的细胞接种在96孔组织培养板中过夜,随后用连续稀释的化合物1和连续稀释的化合物4处理。两种剂的起始浓度基于单个剂的GI₅₀确定。将处理的细胞在37°C在5% CO₂中孵育72 hrs。

[0294] 将30 μ l 20:1比率的MTS (3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H四唑))试剂(18.4 mg/ml)和PMS (吩嗪硫酸甲酯) (0.92 mg/ml)的混合物加入每一孔,并将板在37°C在5% CO₂中孵育4 hrs。吸光度在490 nm处使用酶标仪测量。

[0295] 对于联合研究,联合指数(CI)使用Chou-Talalay方法测定。协同:CI \leq 0.85;相加:CI \geq 0.85且 \leq 1.2;和拮抗:CI \geq 1.2。

[0296] 对于化合物1和化合物4的联合,检验代表13个癌症类型的45个细胞系:卵巢、子宫内膜、CRC、膀胱、三阴性乳腺癌、CNS、淋巴瘤/白血病、肺和前列腺。化合物1和化合物4可联合,显示24% (11/45)协同;62% (28/45)相加和仅13% (6/45)拮抗。卵巢癌和子宫内膜癌具有较高的协同率,分别为50% (3/6)和67% (4/6)。此外,在三阴性乳腺癌细胞系中存在33% (2/6)协同。

[0297] 结果在表4中示出。

[0298] 表4

细胞	类型	组合		GI ₅₀ (mM)	
		CI (N)	效果	化合物 1	化合物 4
IGROV-1	卵巢	0.59±0.21(5)	协同	0.27±0.26(10)	1.26±0.57(10)
SKOV-3	卵巢	0.80±0.12(6)	协同	4.22±1.50(11)	4.41±0.76(11)
CaoV-3	卵巢	0.98±0.08(3)	相加	6.66±1.57(7)	3.12±0.68(7)
OVCAR3	卵巢	0.82±0.08(5)	协同	0.40±0.19(5)	4.17±0.68(5)
TOV21G	卵巢	0.92±0.11(3)	相加	8.62±4.07(2)	3.69±1.17(2)
MCAS	卵巢	0.92±0.05(2)	相加	6.37±2.45(4)	6.96±3.00(4)
OVMANA	卵巢	1.01±0.06(2)	相加	4.21±0.93(2)	4.26±0.11(2)
OVISE	卵巢	1.34±0.12(3)	拮抗	2.20±0.81(3)	6.24±1.45(3)
AN3CA	子宫内膜	0.48±0.20(4)	协同	0.75±0.24(10)	1.03±0.25(8)
MFE296	子宫内膜	0.43±0.16(4)	协同	0.82±0.38(8)	3.22±0.42(8)
RL95-2	子宫内膜	1.00±0.00(2)	相加	2.06±0.47(3)	2.53±0.64(3)
MFE-280	子宫内膜	0.70±0.10(4)	协同	0.11±0.08(7)	1.17±0.32(7)
HEC-1B	子宫内膜	0.95±0.15(2)	相加	4.09±0.77(4)	5.27±2.74(4)
EN	子宫内膜	0.67±0.13(3)	协同	1.33±0.57(4)	2.08±0.78(6)
Ishikawa	子宫内膜	0.91±0.06(3)	相加	5.40±0.36(2)	3.49±0.40(2)
HEC-251	子宫内膜	0.96±0.06(3)	相加	15.2±0.24(3)	10.3±0.98(3)
SNG-II	子宫内膜	0.90±0.12(4)	相加	5.85±0.83(3)	3.71±0.40(3)

C-33A	宫颈	1.24±0.18(3)	拮抗	4.78±0.62(2)	4.28±0.19(2)
Ca Ski	宫颈	1.27±0.05(3)	拮抗	5.82±0.68(2)	6.38±1.80(2)
ME-180	宫颈	1.07±0.13(3)	相加	1.00±0.48(3)	4.10±0.25(3)
SW962	外阴	1.03±0.04(2)	相加	4.41±0.17(3)	3.15±0.52(3)
HCT116	CRC	0.90±0.17(4)	相加	7.56±1.64(6)	4.82±0.08(6)
DLD1	CRC	0.97±0.13(4)	相加	13.4±1.31(6)	4.50±0.36(6)
HT-1197	膀胱	1.01±0.16(2)	相加	1.04±0.34(3)	1.78±0.23(3)
639-V	膀胱	0.92±0.07(2)	相加	4.58±0.05(3)	2.30±0.34(3)
TCCSUP	膀胱	0.78±0.08(5)	协同	1.62±0.31(3)	3.36±0.92(4)
MDA-MB-468	乳腺	1.08±0.09(3)	相加	1.34±0.41(3)	3.76±0.12(3)
MDA-MB-231	乳腺	0.93±0.11(3)	相加	8.33±1.94(4)	4.05±0.31(4)
BT549	乳腺	0.89±0.00(2)	相加	3.10±0.56(3)	3.26±0.54(3)
BT20	乳腺	0.83±0.10(4)	协同	5.75±2.77(7)	3.92±0.27(7)
Cal-51	乳腺	0.60±0.09(4)	协同	3.85±0.63(3)	1.40±0.62(4)
MDA-MB-453	乳腺	1.05±0.11(4)	相加	1.23±0.65(4)	2.71±0.98(4)
REC-1	淋巴瘤	1.06±0.06(2)	相加	9.03±1.15(3)	3.97±0.34(3)
Jurkat	白血病	1.17±0.14(4)	相加	0.21±0.14(3)	1.35±0.11(3)
NCI-H460	肺	0.96±0.06(4)	相加	12.53±8.84(4)	3.21±1.78(4)
NCI-H596	肺	0.64±0.14(3)	协同	6.87±0.22(2)	9.02±1.03(2)
22Rv1	前列腺	1.44±0.11(4)	拮抗	0.98±0.36(7)	5.08±1.55(3)
A-172	CNS	1.03±0.1(3)	相加	6.79±1.48(7)	2.68±0.43(7)
U87MG	CNS	0.88±0.22(4)	相加	11.35±2.49(4)	3.90±0.47(4)
IMR-32	CNS	1.21±0.24(2)	相加	4.79±0.42(2)	2.74±1.08(2)
SK-N-AS	CNS	0.86±0.07(3)	相加	11.3±2.30(4)	5.78±0.99(4)
SK-N-SH	CNS	1.11±0.09(2)	相加	4.52±0.03(1)	2.81±0.41(1)
SCC-25	头和颈	1.25(1)	拮抗	1.34±0.85(2)	3.38±0.39(2)
SCC-9	头和颈	1.08±0.10(2)	相加	5.37±0.80(2)	3.82±0.69(2)
Fadu	头和颈	1.05±0.09(3)	相加	8.95±1.75(4)	4.15±0.17(4)

实施例8:Proteus综合征

本发明化合物,单独或联合,可用于治疗Proteus综合征。

[0299] 图1显示在血清和不同剂量的化合物1存在下Proteus细胞的生存力。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞用包含化合物1的正常培养基重新饲养,然后72小时后收获。突变阳性和突变阴性细胞系(在图1中称为75.2 pos 1, pos 2, neg 1, neg 2; 53.3 pos 1, pos 2, neg 1, neg 2)来自Proteus综合征患者。1和2指实验(同一细胞系检验两次)。F6B pos和H4A neg为来自患者134.3细胞系的单细胞克隆。生存力使用来自Promega的CellTiterGlo细胞生存力测定测量。每一数据点为3个孔(技术重复)的平均值,每一线为一个生物学重复。所有突变阴性细胞均具有更高的生存力,直至2.5 uM。

[0300] 图2显示在低血清和不同剂量化合物1存在下Proteus细胞的生存力。将细胞铺板

并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基重新饲养,72小时后收获。

[0301] 图3显示在血清和不同剂量化合物1存在下PIK3CA细胞的生存力。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞用包含化合物1的正常培养基重新饲养,然后72小时后收获。突变阳性细胞系(在图3中称为109.3 pos和110.3 pos)来自PIK3CA患者,突变阴性细胞系(在图3中称为95.1 neg和95.2 neg)来自非-0G对照个体。突变阳性细胞更敏感,下至1.25 μ M。

[0302] 图4显示在低血清和不同剂量化合物1存在下PIK3CA细胞的生存力。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基重新饲养,72小时后收获。结果表明突变阳性细胞比对照细胞更敏感。

[0303] 图5A和5B显示在血清存在或不存在下和在不同剂量化合物1 (图5A)或依维莫司(图5B)存在下Proteus单细胞克隆(A6B AKT1 p.E17K阳性和E8F9A 突变阴性细胞)的生存力。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1或依维莫司的0.5%培养基或正常培养基重新饲养,72小时后收获。结果表明突变阳性细胞比对照细胞更敏感。

[0304] 图6显示在血清存在或不存在下和在不同剂量化合物1存在下Proteus单细胞克隆(A6B AKT1 p.E17K阳性和E8F9A突变阴性细胞)中AKT1的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基或正常培养基重新饲养24小时。然后分析细胞裂解物的AKT1磷酸化状态。结果显示随着剂量增加磷酸化降低;然而野生型细胞在最初血清不存在时具有最小的pAKT信号。

[0305] 图7A和7B显示在血清存在(图7B)或不存在(图7A)下和在不同剂量化合物1存在下Proteus单细胞克隆(A6B AKT1 p.E17K阳性和E8F9A突变阴性细胞)中S6的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基或正常培养基重新饲养24小时。然后分析细胞裂解物的S6磷酸化状态。结果显示化合物1似乎对在无血清培养基中生长的细胞的pS6水平无作用,并且仅对在正常培养基中生长的细胞具有轻微影响。

[0306] 图8A和8B显示在血清存在(图8A)或不存在(图8B)下和在不同剂量化合物1存在下来自具有不同AKT1 p.E17K的单个患者的四个不同的Proteus细胞系中AKT1的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基或正常培养基重新饲养24小时。然后分析细胞裂解物的AKT1磷酸化状态。结果显示随着剂量增加磷酸化降低,这在具有高水平AKT1 p.E17K的细胞系中尤其明显。

[0307] 图9A和9B显示在血清存在(图9B)或不存在(图9A)下和在不同剂量化合物1存在下来自具有不同AKT1 p.E17K的单个患者的四个不同的Proteus细胞系中S6的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基或正常培养基重新饲养24小时。然后分析细胞裂解物的S6磷酸化状态。结果表明化合物1对这些细胞系中的pS6无特别作用。

[0308] 图10显示在血清存在或不存在下和在不同剂量化合物1存在下获自具有PIK3CA

p.H1047R突变的患者的细胞(PS109.3)或对照细胞(PS95.2)中AKT1的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基或正常培养基重新饲养24小时。然后分析细胞裂解物的AKT1磷酸化状态。结果显示随着剂量增加磷酸化降低。

[0309] 图11A和11B显示在血清存在(图11B)或不存在(图11A)下和在不同剂量化合物1存在下获自具有PIK3CA p.H1047R突变的患者的细胞(PS109.3)或对照细胞(PS95.2)中S6的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基或正常培养基重新饲养24小时。然后分析细胞裂解物的S6磷酸化状态。结果显示有或无血清时化合物1均对突变阳性细胞具有中等影响。

[0310] 图12显示在血清存在或不存在下和在不同剂量化合物1存在下获自具有PIK3CA p.H1047L突变的患者的细胞(PS129.3, G5A)或对照细胞(PS75.1)中AKT1的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基或正常培养基重新饲养24小时。然后分析细胞裂解物的AKT1磷酸化状态。结果显示与p.H105R突变细胞相同的概况。

[0311] 图13A和13B显示在血清存在(图13B)或不存在(图13A)下和在不同剂量化合物1存在下获自具有PIK3CA p.H1047L突变的患者的细胞(PS129.3, G5A)或对照细胞(PS75.1)中S6的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含化合物1的0.5%培养基或正常培养基重新饲养24小时。然后分析细胞裂解物的S6磷酸化状态。结果显示有或无血清时化合物1均对突变阳性细胞具有中等影响。

[0312] 图14A、14B、14C和14D显示在血清存在(图14C和14D)或不存在(图14A和14B)下和在125 nM化合物1存在下Proteus单细胞克隆(F6B AKT1 p.E17K阳性和H4A突变阴性细胞)中AKT1的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含125 nM化合物1的0.5%血清培养基或正常培养基重新饲养。细胞在标明的时间收获,并分析裂解物的AKT1磷酸化状态。

[0313] 图15显示在血清存在或不存在下和在不同剂量依维莫司存在下Proteus单细胞克隆(F6B AKT1 p.E17K阳性和H4A突变阴性细胞)中AKT1的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含不同剂量依维莫司的0.5%血清培养基或正常培养基重新饲养。分析细胞裂解物的AKT1磷酸化状态。结果显示依维莫司在无血清条件下降低突变细胞中的pAKT/AKT比,但在有血清条件生长的突变阴性细胞或突变细胞中无作用或增加该比率。

[0314] 图16A和16B显示在血清存在(图16B)或不存在(图16A)下和在不同剂量依维莫司存在下Proteus单细胞克隆(F6B AKT1 p.E17K阳性和H4A突变阴性细胞)中S6的磷酸化状态。将细胞铺板并允许其贴附过夜。将细胞洗涤并用0.5%血清培养基重新饲养24小时。然后将细胞洗涤并用包含不同剂量依维莫司的0.5%血清培养基或正常培养基重新饲养。分析细胞裂解物的S6磷酸化状态。结果显示依维莫司大大降低突变阳性和突变阴性Proteus单细胞克隆二者中的pS6水平。

[0315] 图17显示用不同剂量化合物1处理之后KU-19-19 (E17K)突变的膀胱癌细胞和

AN3CA子宫内膜癌细胞中AKT的磷酸化。具体地,将细胞用包含不同剂量化合物1的正常培养基饲养2小时。蛋白质用下列抗体检测:pAKT (T473) (CST#4060)、pAKT (S308) (CST#2965)、AKT1 (CST#2967)、AKT (pan) (CST#2920)、pPRAS40 (T246) (CST#2997)。结果显示化合物1在KU-19-19和AN3CA细胞中抑制pAKT和pPRAS40 (40 kDa的磷酸化的富脯氨酸AKT底物)。

[0316] 图18显示用不同剂量化合物1、MK-2206 (变构性AKT抑制剂)和GDC0068 (选择的ATP竞争性泛AKT抑制剂)处理之后KU-19-19 (E17K)突变的膀胱癌细胞中AKT的磷酸化。具体地,将细胞用包含不同剂量化合物1的正常培养基饲养2小时。蛋白质用下列抗体检测:pAKT (T473) (CST#4060)、AKT (pan) (CST#2920)、pPRAS40 (T246) (CST#2997)、pERK (T202/Y204) (CST#4370)。结果显示化合物1和MK-2206,而非GDC0068,在KU-19-19细胞中抑制pAKT和pPRAS40。

[0317] 实施例9:剂量-升高研究

在剂量-升高研究中,将82个具有晚期实体瘤或复发的恶性淋巴瘤的受试者用化合物1治疗。观察到单一剂对晚期肿瘤的活性的初步信号,包括在既往多次治疗的淋巴瘤患者中的一例部分响应。总体疾病控制率,包括部分响应、轻微响应和稳定疾病,为34.1%。治疗之后注意到相关生物标志表达水平的减少。

[0318] 定义癌症患者中可管理的安全概况,与临床前模型和其它AKT抑制剂一致。患者的药物暴露显示以剂量依赖的方式增加。对于连续(每天60 mg)、间歇(每隔一周每天200 mg)和周给剂(每周一次,300 mg)计划表,建立了最大耐受剂量(MTD)和推荐的2期剂量。

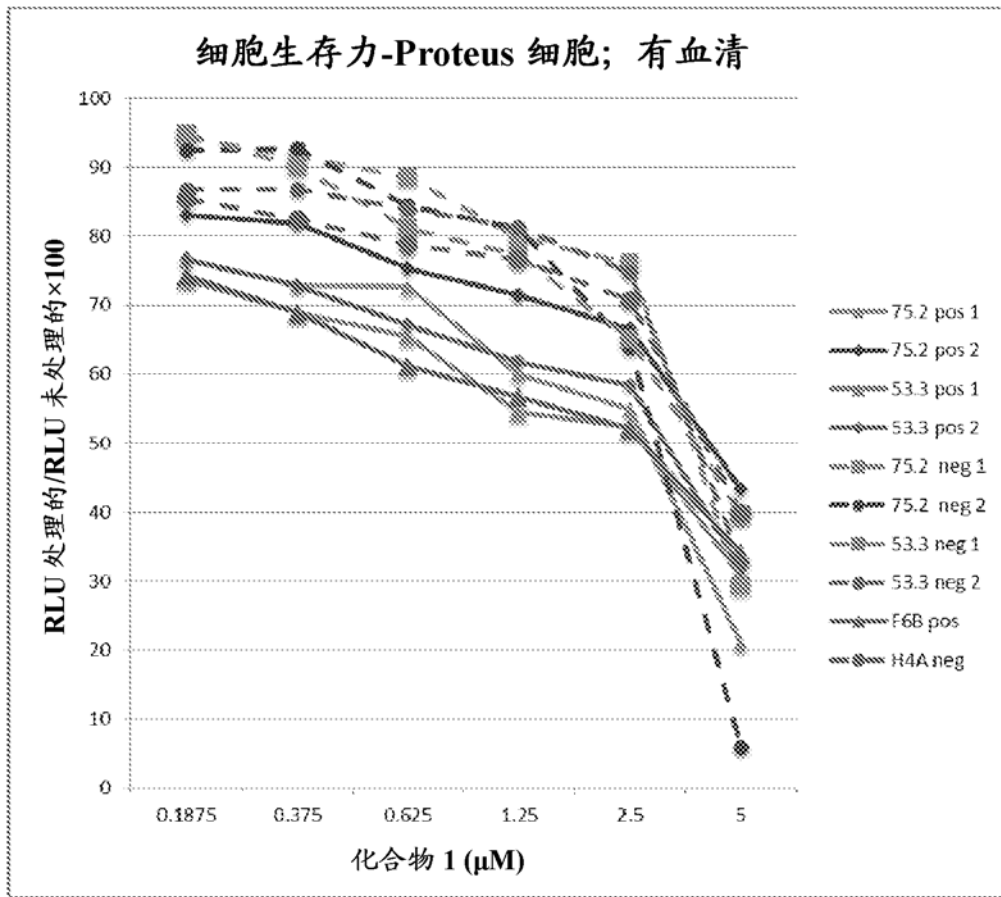


图 1

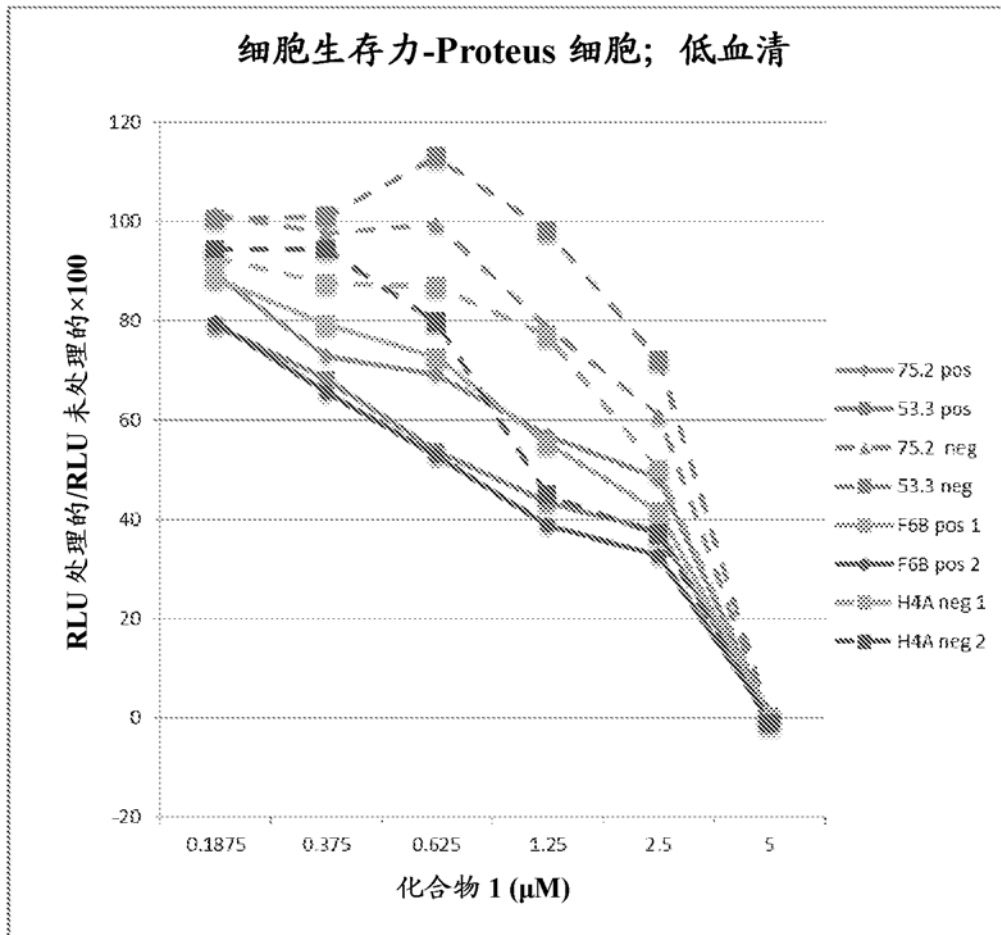


图 2

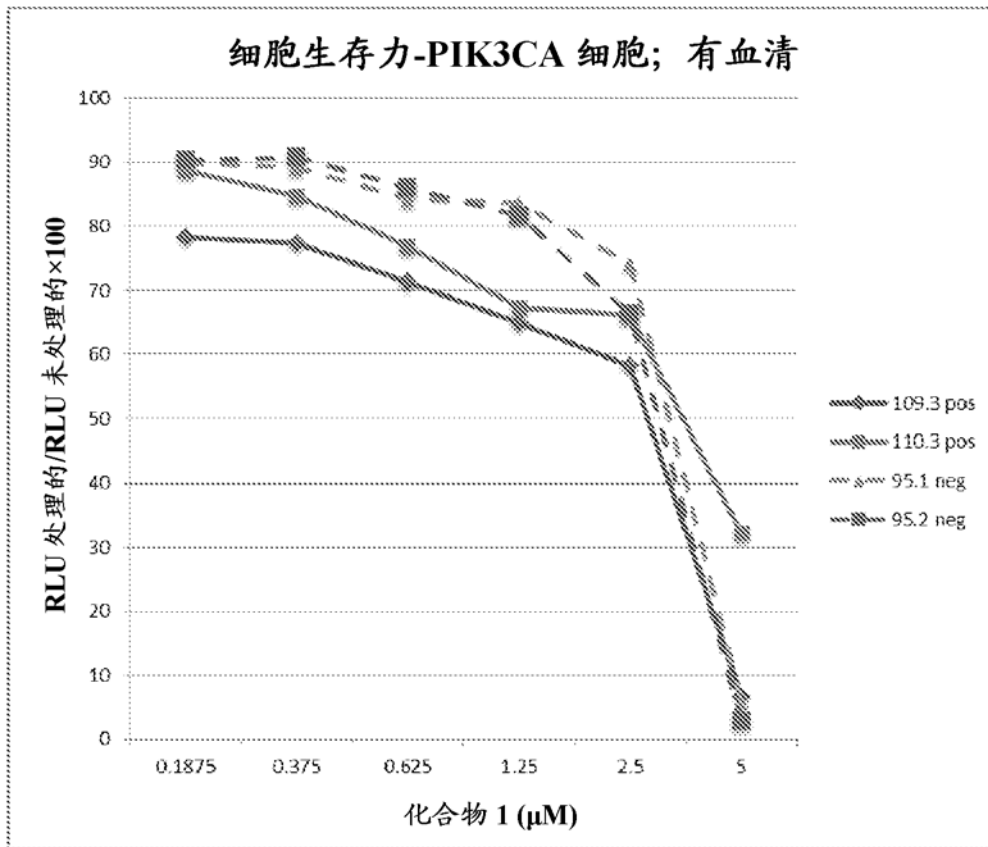


图 3

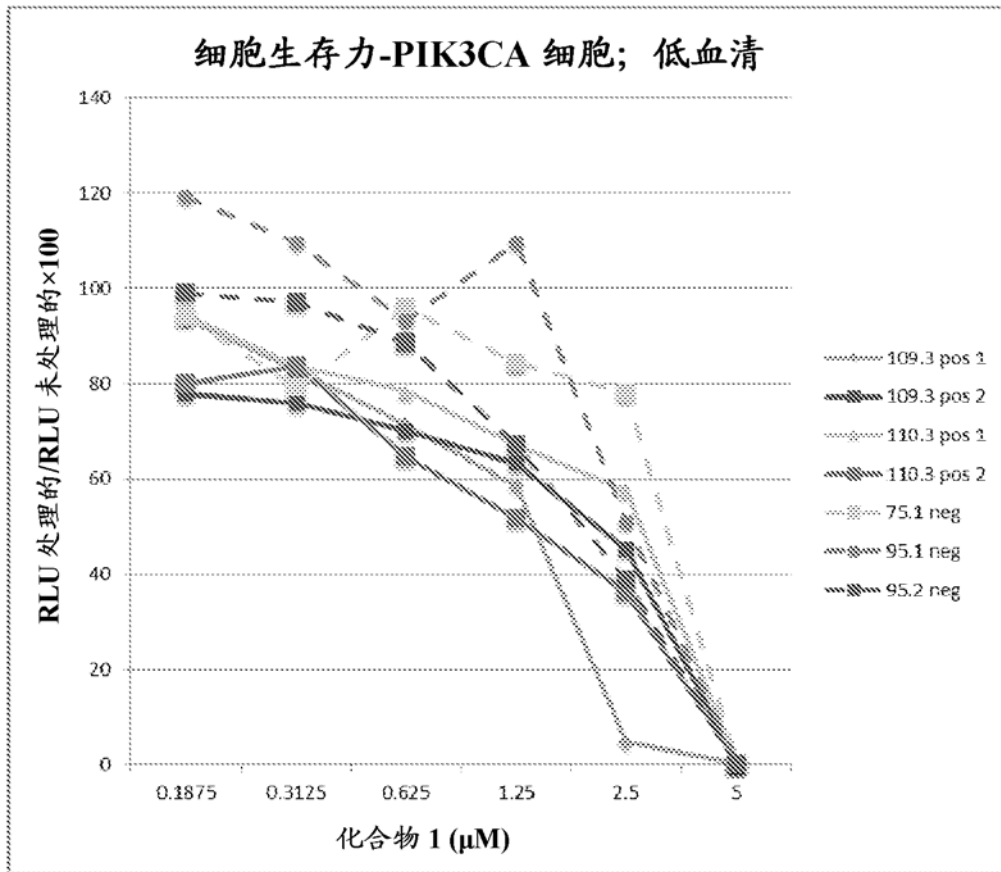


图 4

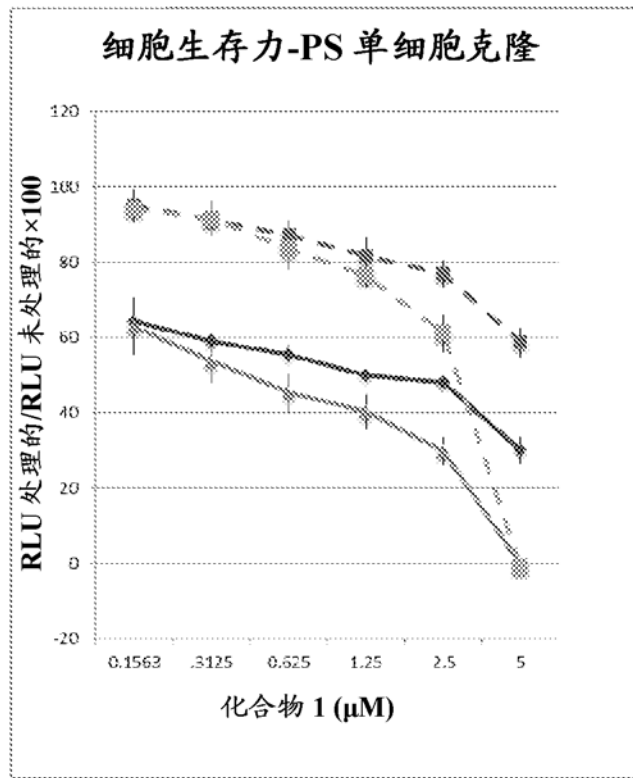


图 5A

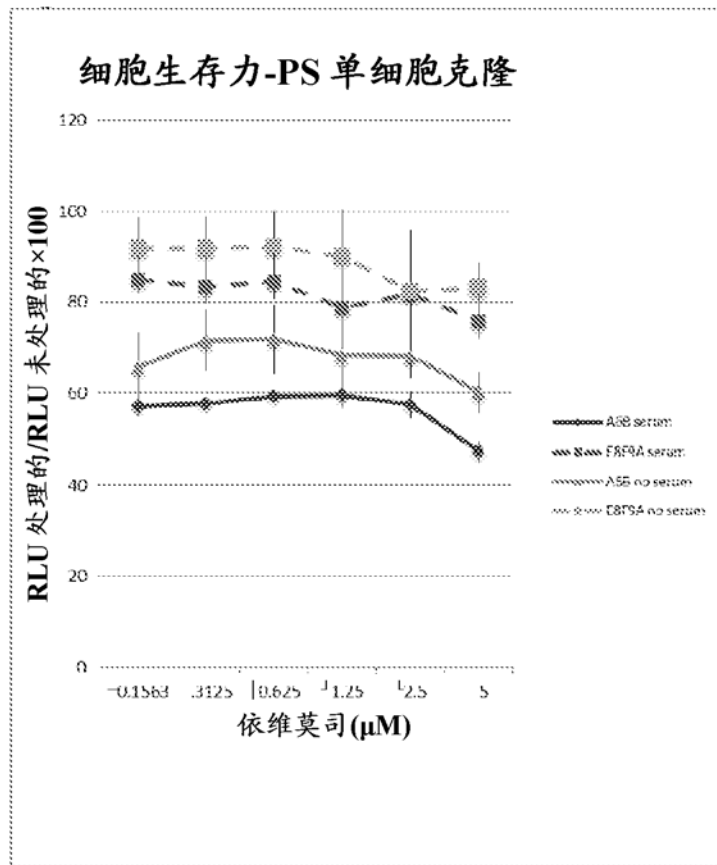


图 5B

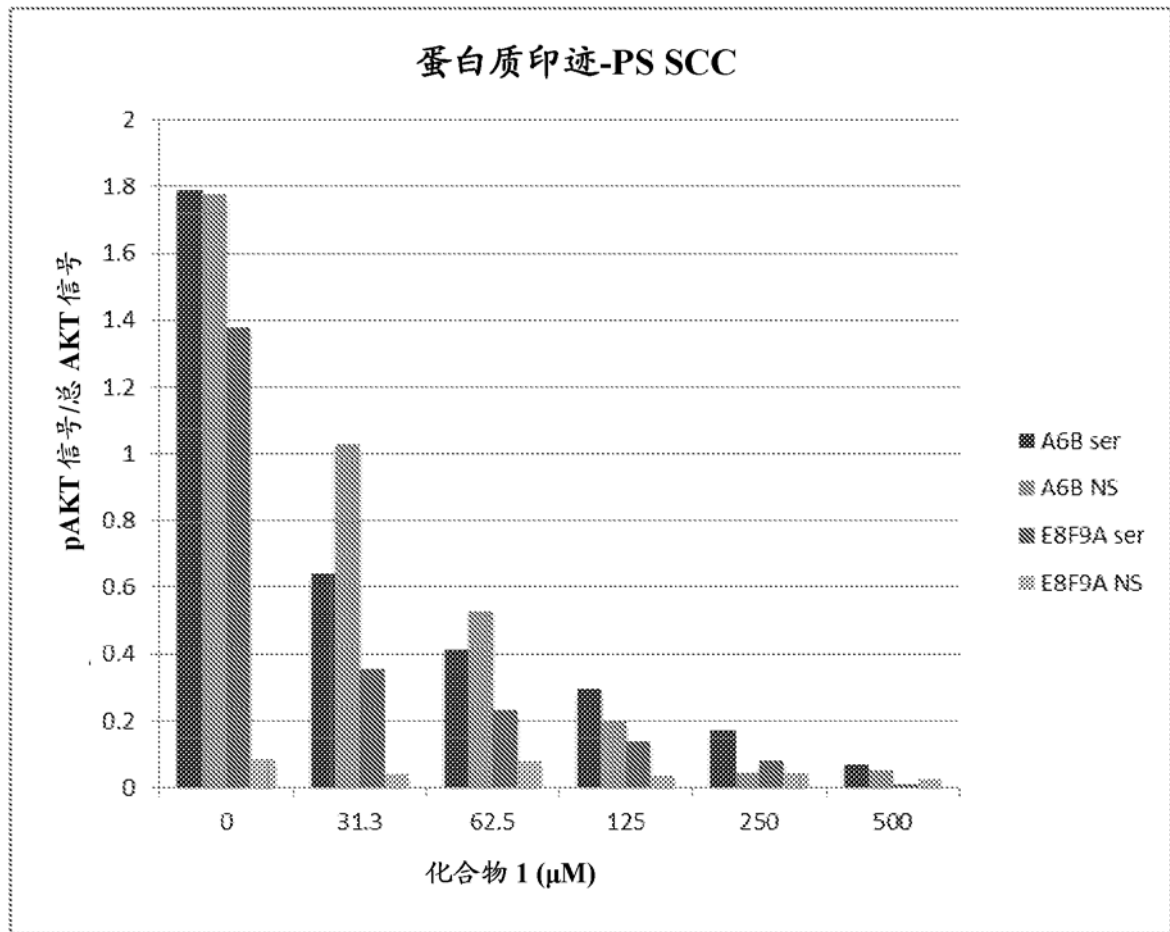


图 6

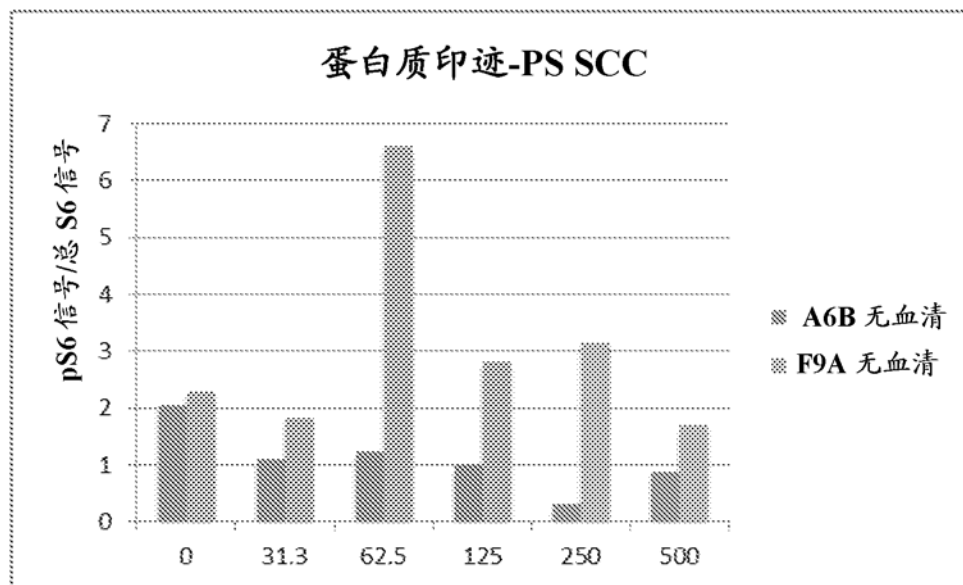


图 7A

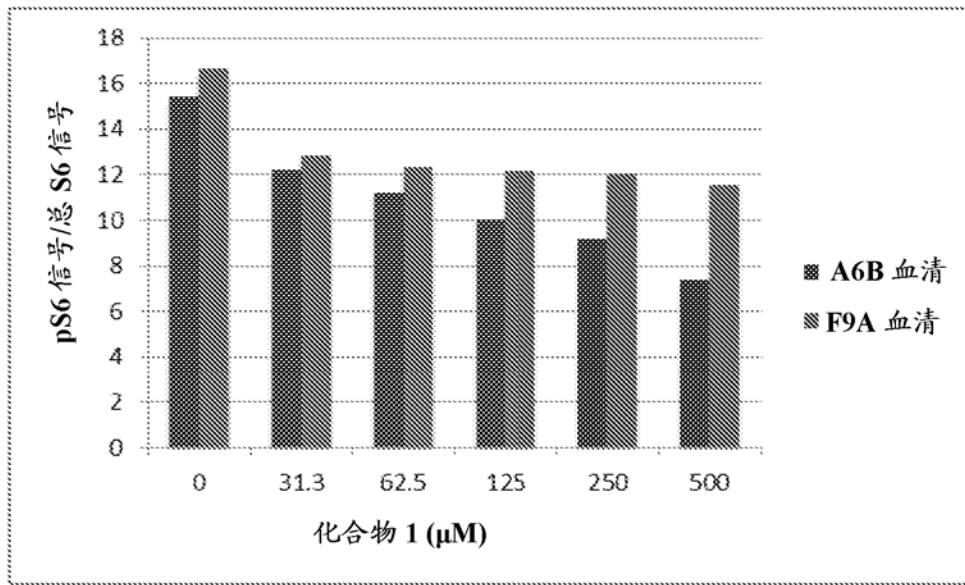


图 7B

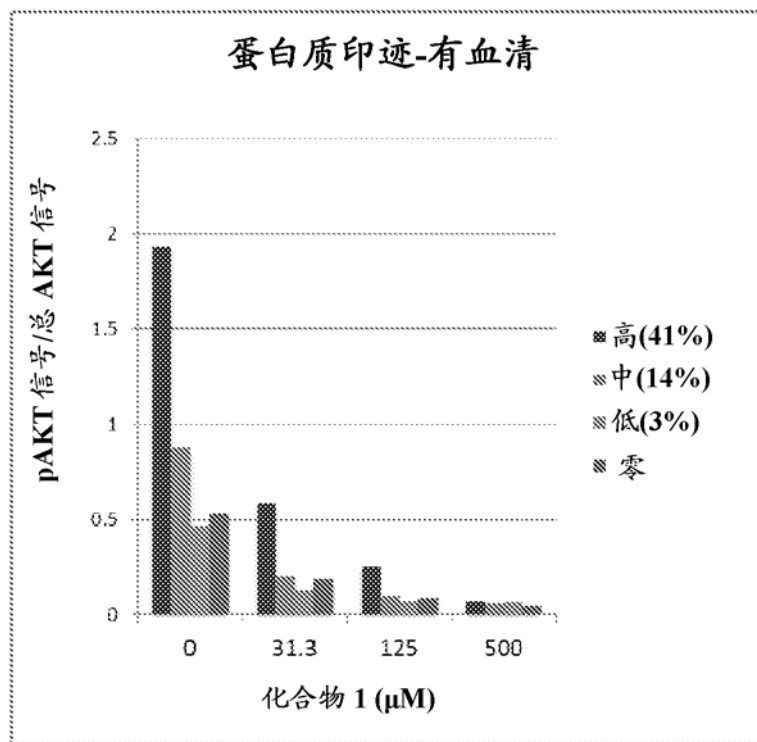


图 8A

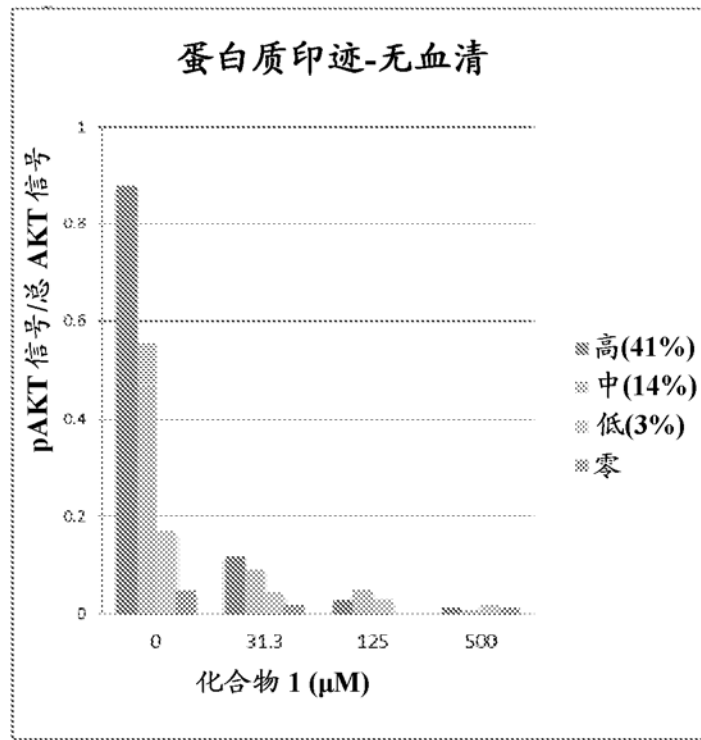


图 8B

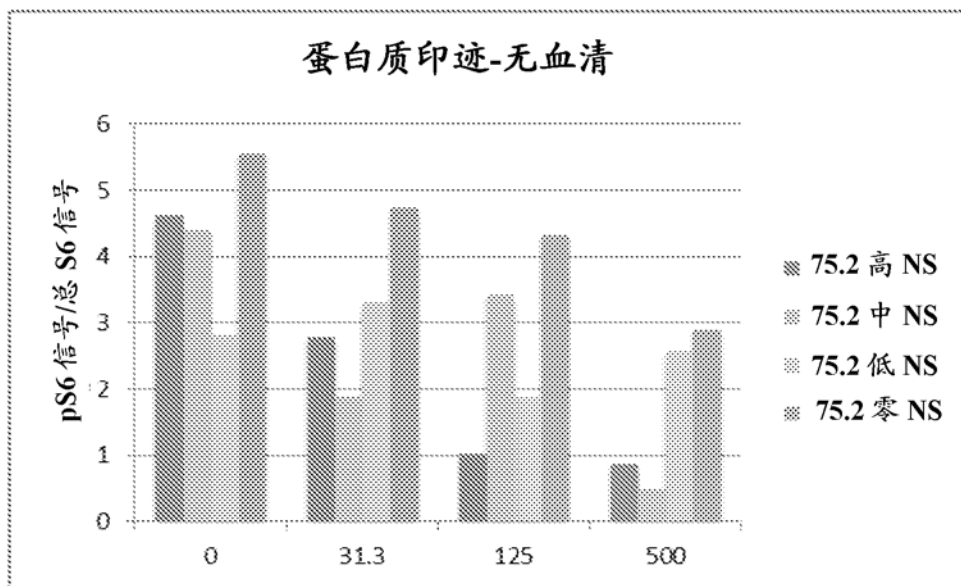


图 9A

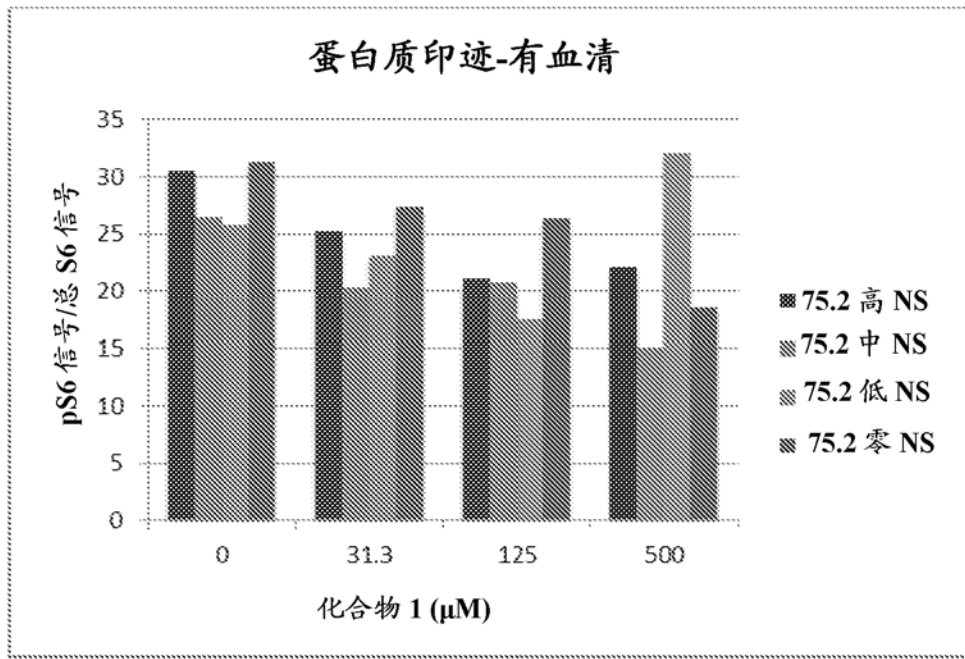


图 9B

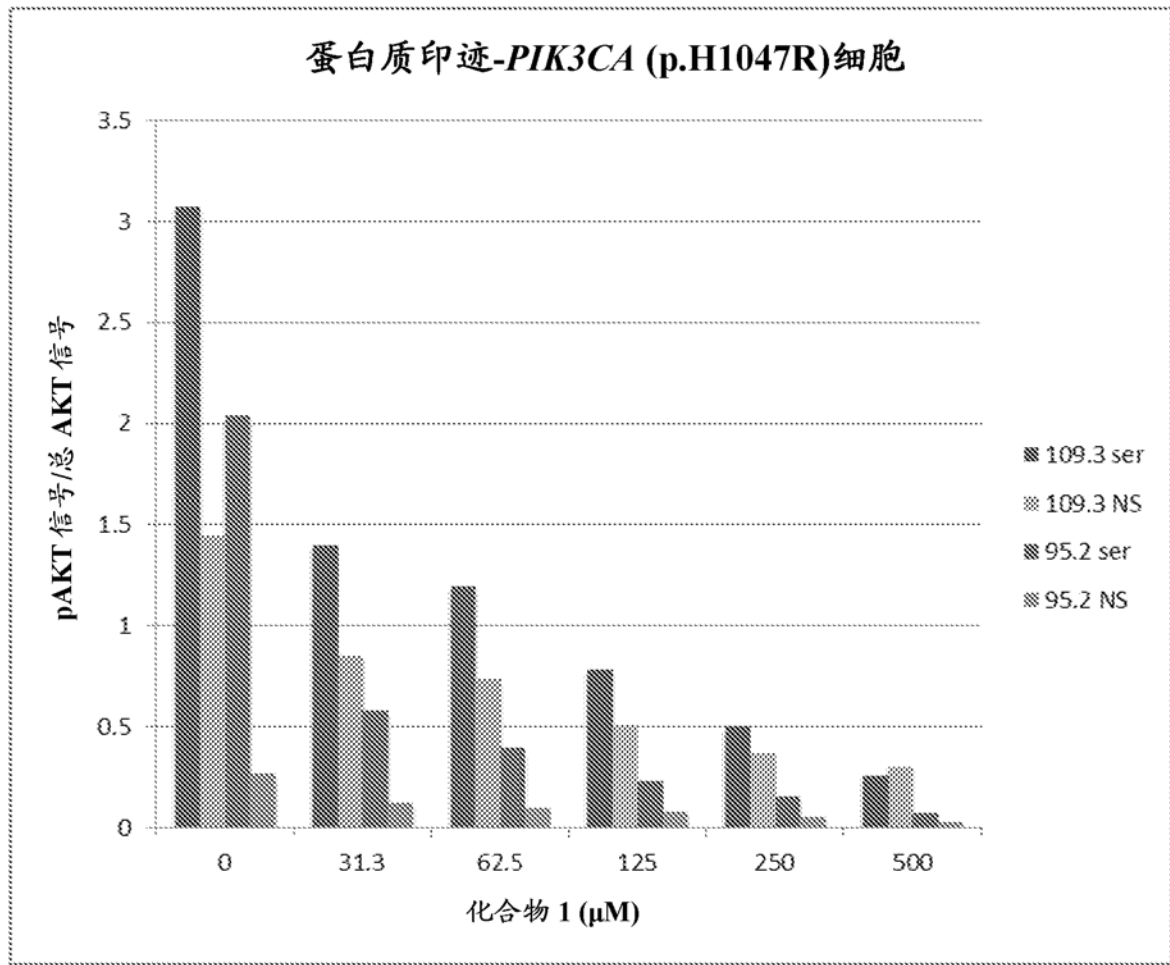


图 10

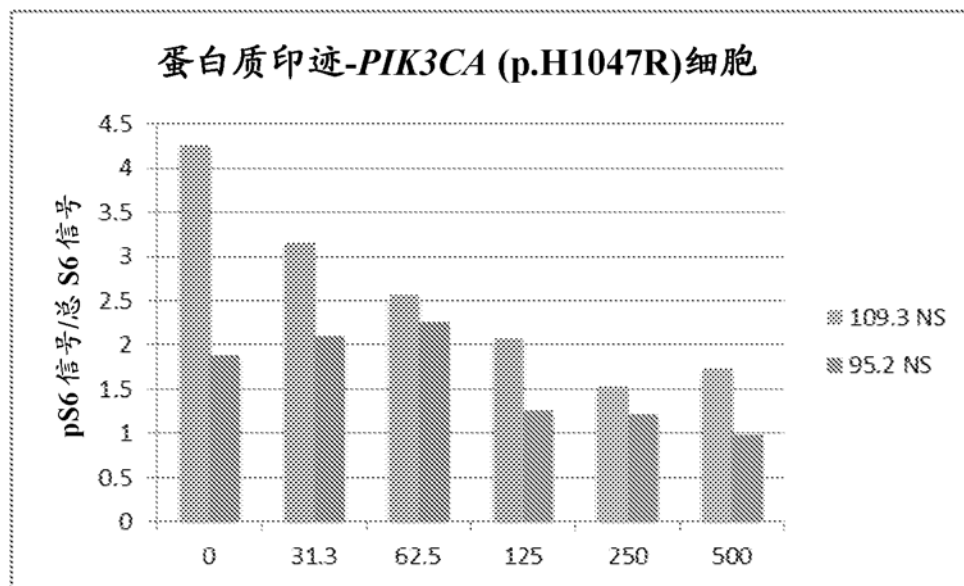


图 11A

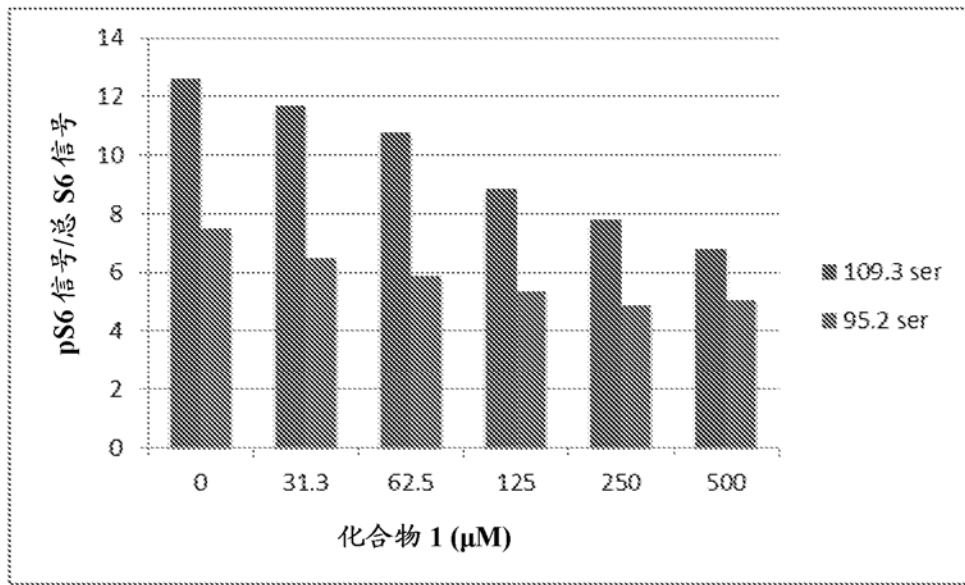


图 11B

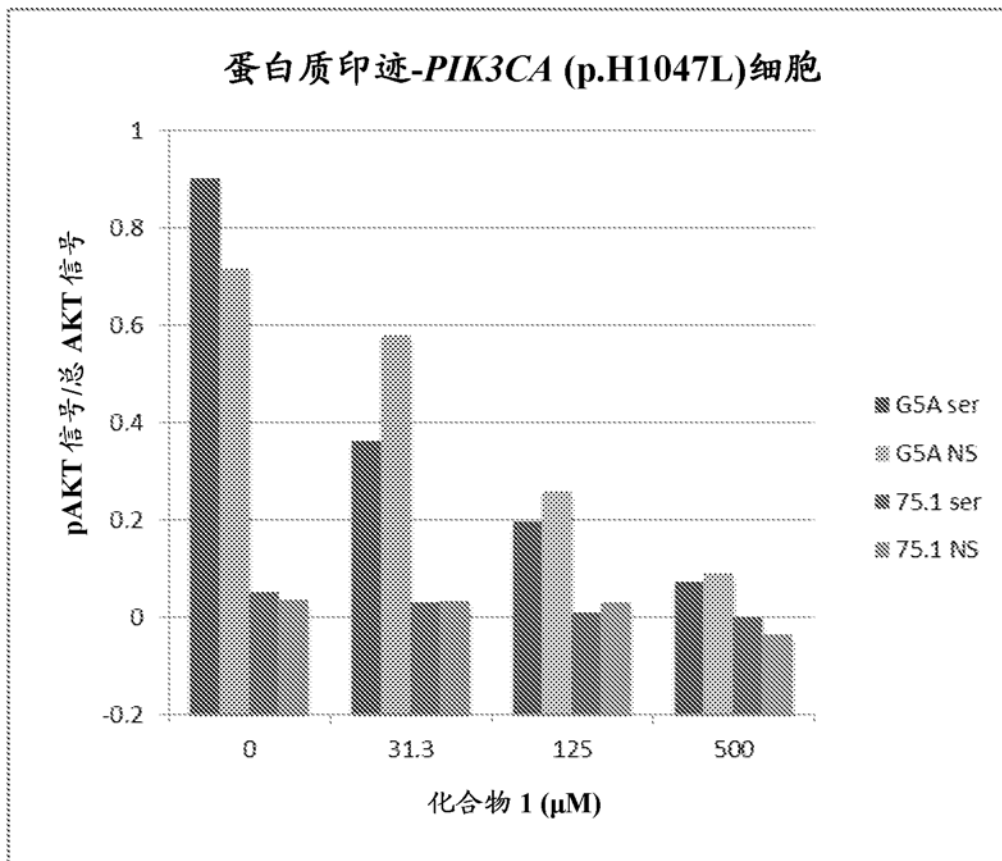


图 12

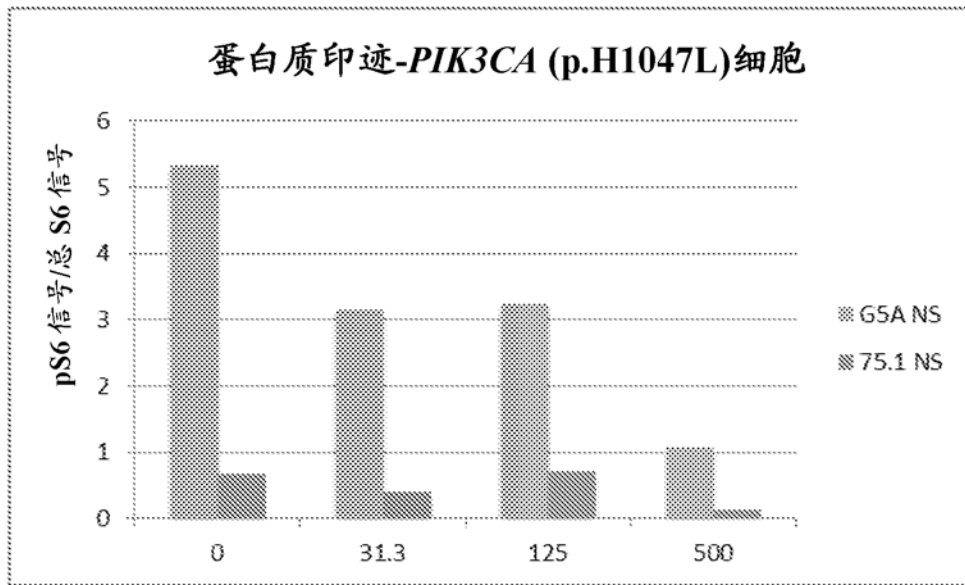


图 13A

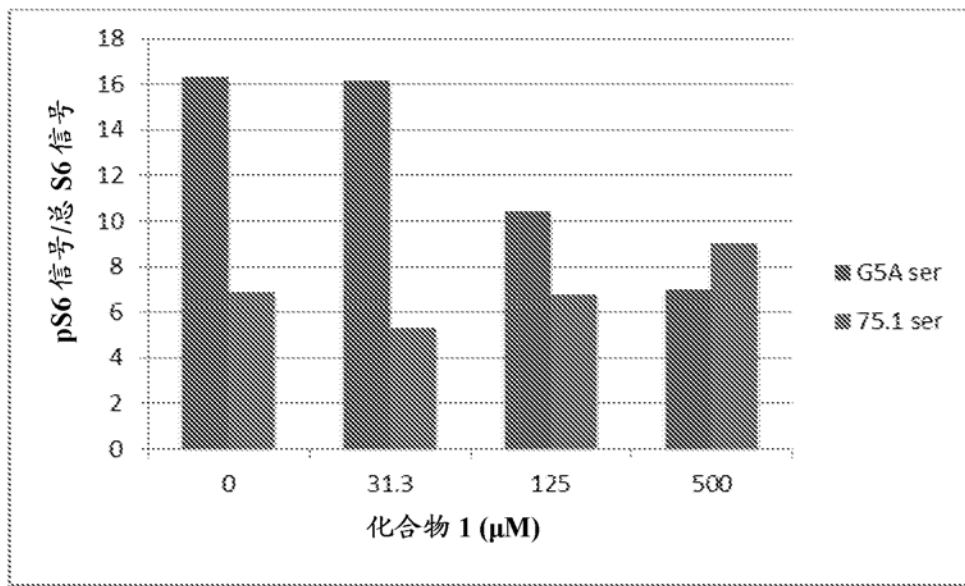


图 13B

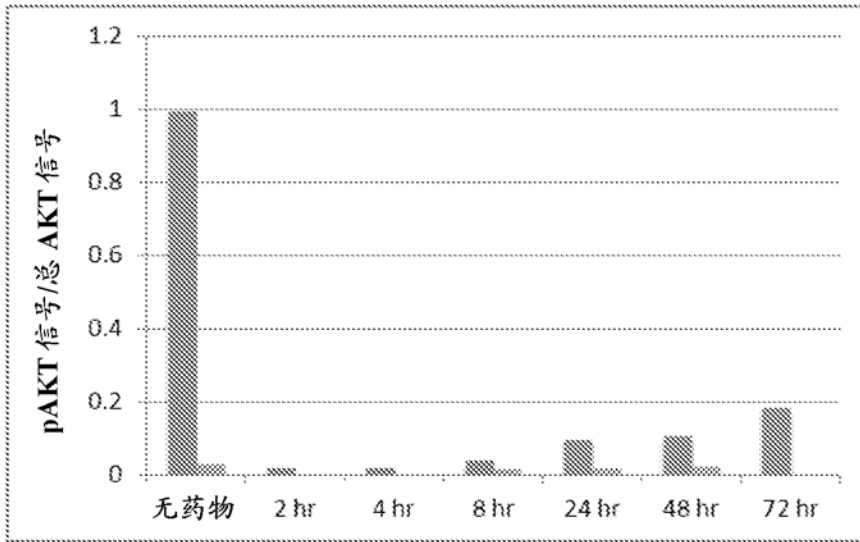


图 14A

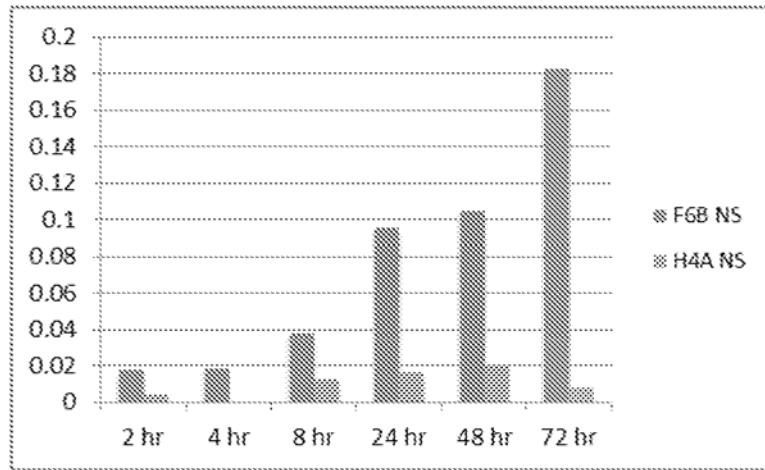


图 14B

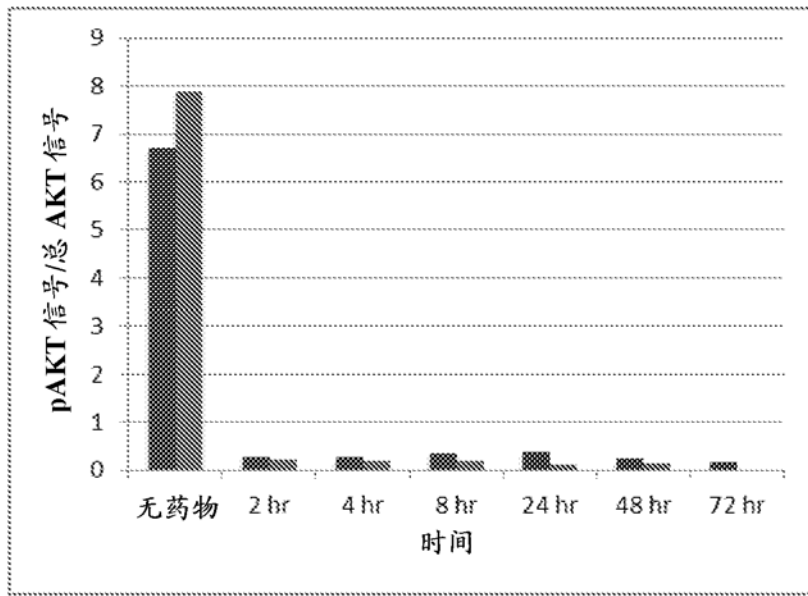


图 14C

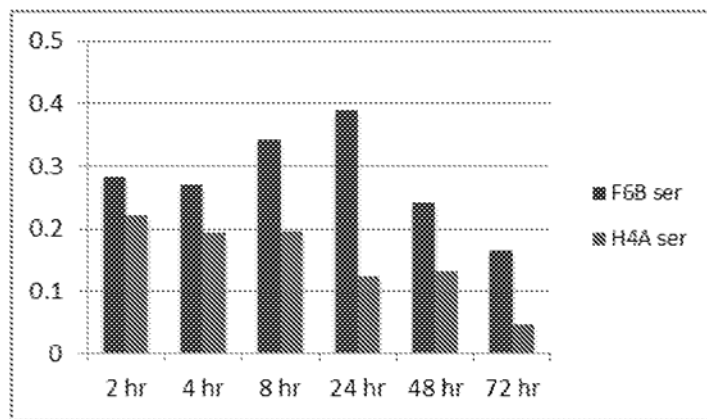


图 14D

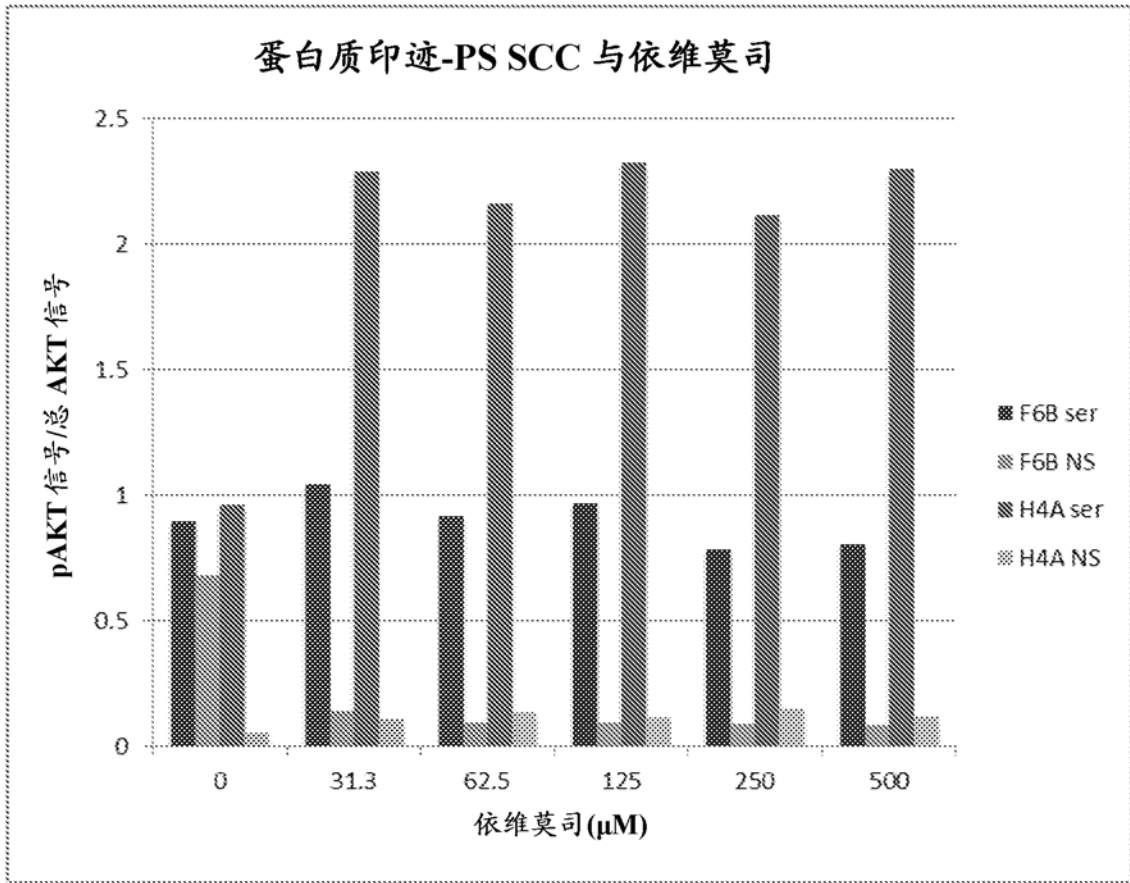


图 15

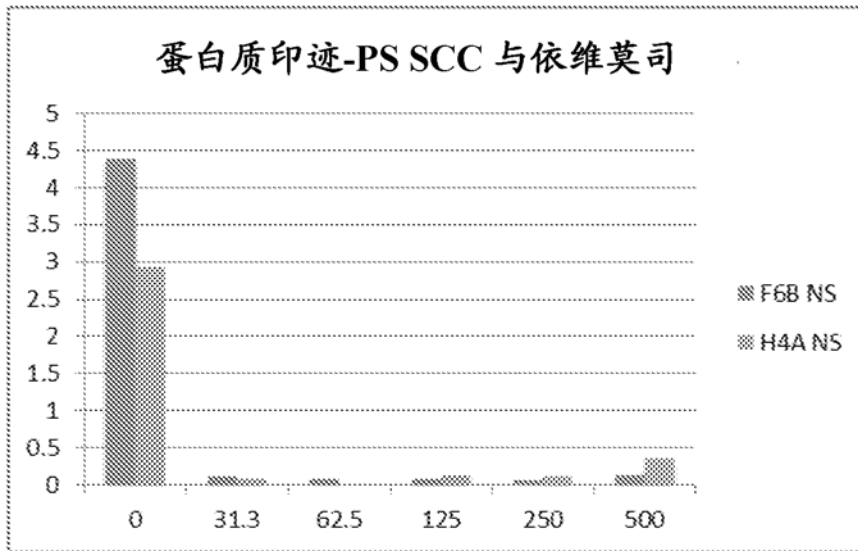


图 16A

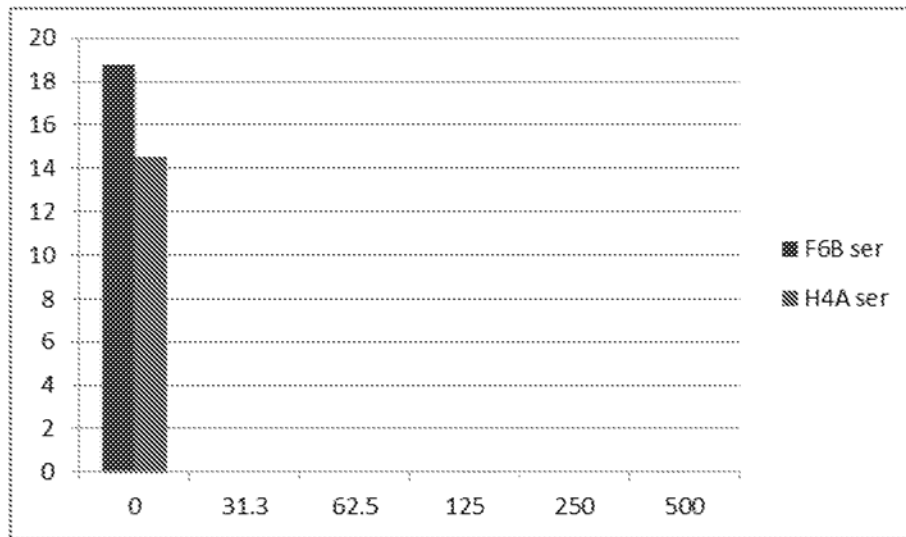


图 16B

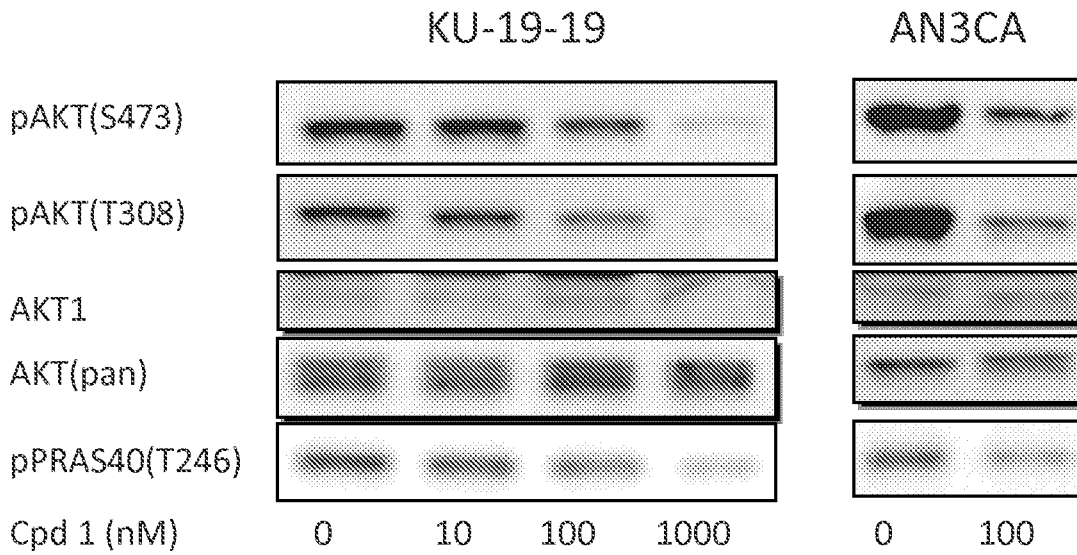


图 17

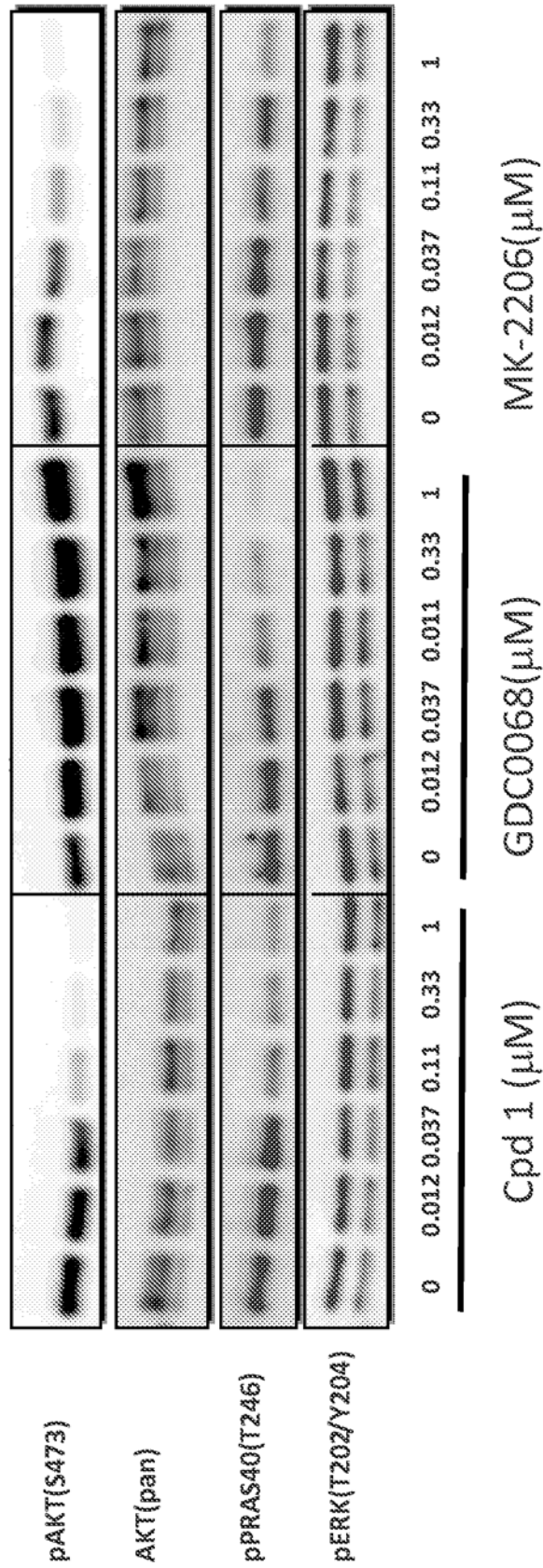


图 18