



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114340636 A

(43) 申请公布日 2022.04.12

(21) 申请号 202080062144.3

(22) 申请日 2020.09.03

(30) 优先权数据

62/895,476 2019.09.03 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.03.03

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/049248 2020.09.03

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/046250 EN 2021.03.11

(71) 申请人 细胞内治疗公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 李鹏 R·戴维斯

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 陈润杰 黄革生

(51) Int.Cl.

A61K 31/519 (2006.01)

权利要求书12页 说明书26页 附图1页

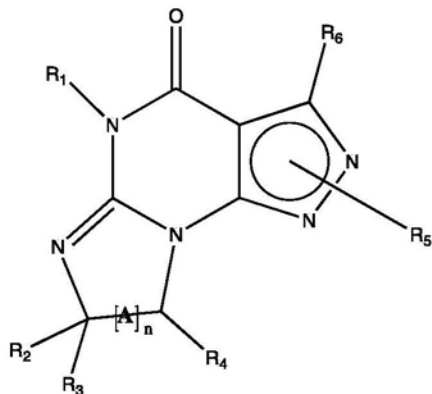
(54) 发明名称

治疗方法

(57) 摘要

本公开涉及用于治疗某些癌症或肿瘤如结肠癌的磷酸二酯酶1 (PDE1) 的抑制剂的组合。在另一个实施方案中,本公开涉及PDE1抑制剂和任选的抗肿瘤剂在治疗某些癌症或肿瘤中的用途。

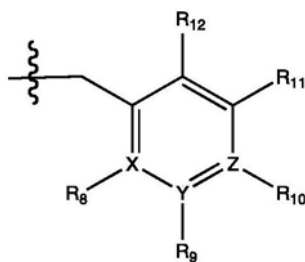
1. 治疗结肠癌的方法,包括对有此需要的受试者施用药学有效量的PDE1抑制剂。
2. 权利要求1的方法,其中所述结肠癌为结直肠癌。
3. 抑制结肠中癌细胞或肿瘤细胞增殖、迁移和/或侵入的方法,包括对有此需要的受试者施用药学有效量的PDE1抑制剂。
4. 权利要求3的方法,其中所述受试者患有结肠癌。
5. 权利要求3或4的方法,其中所述受试者患有结直肠癌。
6. 上述权利要求任一项的方法,其中PDE1抑制剂为选自如下的化合物:(A)式I:



式 I

其中

- (i)  $R_1$ 为H或 $C_{1-4}$ 烷基(例如甲基);
- (ii)  $R_4$ 为H或 $C_{1-4}$ 烷基且 $R_2$ 和 $R_3$ 独立地为H或 $C_{1-4}$ 烷基(例如 $R_2$ 和 $R_3$ 均为甲基,或 $R_2$ 为H且 $R_3$ 为异丙基)、芳基、杂芳基、(任选地杂)芳基烷基或(任选地杂)芳基烷基;或  
 $R_2$ 为H且 $R_3$ 和 $R_4$ 一起形成二-、三-或四甲基桥(优选其中 $R_3$ 和 $R_4$ 一起具有顺式构型,例如其中携带 $R_3$ 和 $R_4$ 的碳分别具有R和S构型);
- (iii)  $R_5$ 为取代的杂芳基烷基,例如被卤代烷基取代;  
 或 $R_5$ 连接至式I的吡啶并部分上的氮之一,  
 并且为式A的部分



式 A

其中X、Y和Z独立地为N或C,且 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 和 $R_{12}$ 独立地为H或卤素(例如Cl或F),且 $R_{10}$ 为卤素、烷基、环烷基、卤代烷基(例如三氟甲基)、芳基(例如苯基)、杂芳基(例如吡啶基(例如吡啶-2-基)),任选地被卤素取代,或噻二唑基(例如1,2,3-噻二唑-4-基)、二唑基、三唑基、四唑基、芳基羰基(例如苯甲酰基)、烷基磺酰基(例如甲基磺酰基)、杂芳基羰基,或烷氧基羰基;条件是当X、Y或Z为氮时, $R_8$ 、 $R_9$ 或 $R_{10}$ 相应地不存在;且

(iv)  $R_6$ 为H、烷基、芳基、杂芳基、芳基烷基(例如苄基)、芳基氨基(例如苯基氨基)、杂芳基氨基、N,N-二烷基氨基、N,N-二芳基氨基,或N-芳基-N-(芳基烷基)氨基(例如N-苯基-N-(1,1'-联苯-4-基甲基)氨基);且

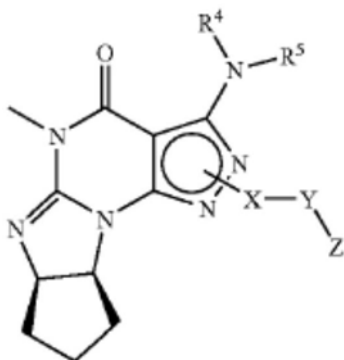
(v)  $n=0$ 或1;

(vi) 当 $n=1$ 时,A为 $-C(R_{13}R_{14})-$ ,

其中 $R_{13}$ 和 $R_{14}$ 独立地为H或 $C_{1-4}$ 烷基、芳基、杂芳基、(任选地杂)芳基烷氧基或(任选地杂)芳基烷基;

该化合物为游离、盐或前药形式,包括其对映体、非对映异构体和外消旋体;

(B) 式II:



式 II

其中

(i) X为 $C_{1-6}$ 亚烷基(例如亚甲基、亚乙基或亚丙-2-炔-1-基);

(ii) Y为单键、亚炔基(例如 $-C\equiv C-$ )、亚芳基(例如亚苯基)或亚杂芳基(例如亚吡啶基);

(iii) Z为H、芳基(例如苯基)、杂芳基(例如吡啶基,例如吡啶-2-基)、卤素(例如F、Br、Cl)、卤代 $C_{1-6}$ 烷基(例如三氟甲基)、 $-C(O)-R^1$ 、 $-N(R^2)$  ( $R^3$ ),或任选地包含至少一个选自N或O的原子的 $C_{3-7}$ 环烷基(例如环戊基、环己基、四氢-2H-吡喃-4-基或吗啉基);

(iv)  $R^1$ 为 $C_{1-6}$ 烷基、卤代 $C_{1-6}$ 烷基、 $-OH$ 或 $-OC_{1-6}$ 烷基(例如 $-OCH_3$ );

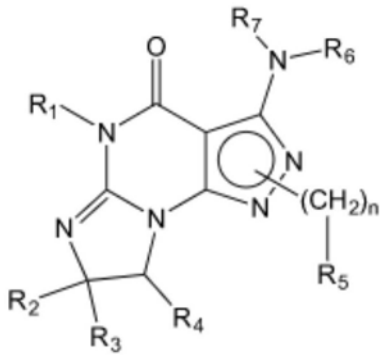
(v)  $R^2$ 和 $R^3$ 独立地为H或 $C_{1-6}$ 烷基;

(vi)  $R^4$ 和 $R^5$ 独立地为H、 $C_{1-6}$ 烷基或芳基(例如苯基),任选地被一个或多个卤素(例如氟苯基、例如4-氟苯基)、羟基(例如羟基苯基、例如4-羟基苯基或2-羟基苯基)或 $C_{1-6}$ 烷氧基取代;

(vii) 其中X、Y和Z独立地和任选地被一个或多个卤素(例如F、Cl或Br)、 $C_{1-6}$ 烷基(例如甲基)、卤代 $C_{1-6}$ 烷基(例如三氟甲基)取代,例如,Z为杂芳基,例如吡啶基,被一个或多个卤素(例如6-氟吡啶-2-基、5-氟吡啶-2-基、6-氟吡啶-2-基、3-氟吡啶-2-基、4-氟吡啶-2-基、4,6-二氯吡啶-2-基)、卤代 $C_{1-6}$ 烷基(例如5-三氟甲基吡啶-2-基)或 $C_{1-6}$ 烷基(例如5-甲基吡啶-2-基)取代,或Z为芳基,例如苯基,其被一个或多个卤素取代(例如4-氟苯基),

该化合物为游离、盐或前药形式;

(C) 式III:



式 III

其中

(i) R<sub>1</sub>为H或C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基或乙基)；

(ii) R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>独立地为H或C<sub>1-6</sub>烷基(例如甲基或乙基)；

(iii) R<sub>4</sub>为H或C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基或乙基)；

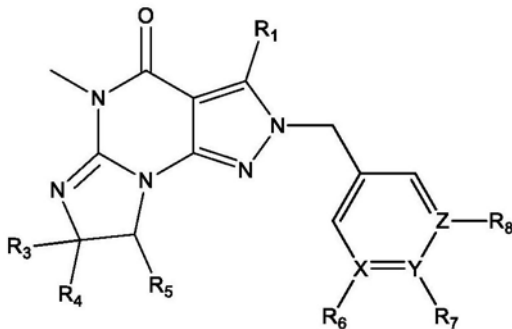
(iv) R<sub>5</sub>为芳基(例如苯基),其任选地被一个或多个基团取代,所述基团独立地选自-C(=O)-C<sub>1-6</sub>烷基(例如-C(=O)-CH<sub>3</sub>)和C<sub>1-6</sub>-羟基烷基(例如1-羟基乙基)；

(v) R<sub>6</sub>和R<sub>7</sub>独立地为H或芳基(例如苯基),其任选地被一个或多个基团取代,所述基团独立地选自C<sub>1-6</sub>烷基(例如甲基或乙基)和卤素(例如F或Cl),例如未取代的苯基或被一个或多个卤素(例如F)取代的苯基或被一个或多个C<sub>1-6</sub>烷基和一个或多个卤素取代的苯基或被一个C<sub>1-6</sub>烷基和一个卤素取代的苯基,例如4-氟苯基或3,4-二氟苯基或4-氟-3-甲基苯基；且

(vi) n为1、2、3或4,

该化合物为游离或盐形式；

(D) 式IV



式 IV

其为游离或盐形式,其中

(iv) R<sub>1</sub>为C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基或乙基)或-NH(R<sub>2</sub>),其中R<sub>2</sub>为任选地被卤素(例如氟)取代的苯基,例如4-氟苯基；

(v) X、Y和Z独立地为N或C；

(vi) R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>独立地为H或C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基)；或R<sub>3</sub>为H且R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>一起形成三-亚甲基桥(优选其中R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>一起具有顺式构型,例如其中携带R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>的碳分别具有R和S构型),

(vii) R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>和R<sub>8</sub>独立地为：

H,

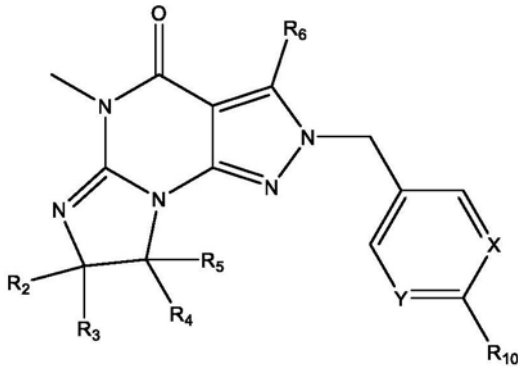
C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基),

被羟基取代的吡啶-2-基,或

-S(O)<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>;

条件是当X、Y和/或Z为N时,R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>和/或R<sub>8</sub>相应地不存在;且当X、Y和Z均为C时,R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>或R<sub>8</sub>的至少一个为-S(O)<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>或被羟基取代的吡啶-2-基,该化合物为游离或盐形式;和

(E) 式1a:



式 1a

其中

(iv) R<sub>2</sub>和R<sub>5</sub>独立地为H或羟基,且R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>一起形成三-或四-亚甲基桥[优选其中携带R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>的碳分别具有R和S构型];或R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>各自为甲基且R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>各自为H;或R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>为H且R<sub>3</sub>为异丙基[优选携带R<sub>3</sub>的碳具有R构型];

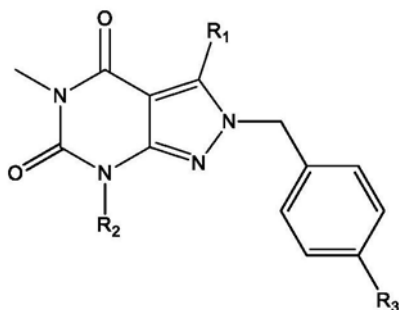
(v) R<sub>6</sub>为(任选卤代的)苯基氨基、(任选卤代的)苄基氨基、C<sub>1-4</sub>烷基或C<sub>1-4</sub>烷硫基;例如苯基氨基或4-氟苯基氨基;

(vi) R<sub>10</sub>为C<sub>1-4</sub>烷基、甲基羰基、羟基乙基、羧酸、磺酰胺、(任选卤代或羟基-取代的)苯基、(任选卤代或羟基-取代的)吡啶基(例如6-氟吡啶-2-基)或噻二唑基(例如1,2,3-噻二唑-4-基);且

X和Y独立地为C或N,

该化合物为游离、药学上可接受的盐或前药形式,包括其对映体、非对映异构体和外消旋体;

(F) 式V



式 V

其中

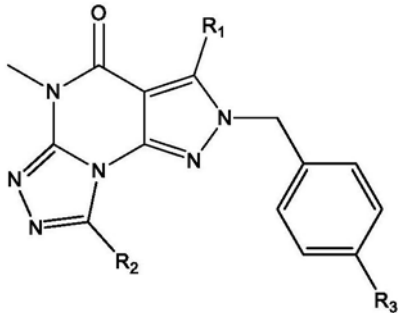
(iv) R<sub>1</sub>为-NH(R<sub>4</sub>),其中R<sub>4</sub>为任选地被卤素(例如氟)取代的苯基,例如4-氟苯基;

(v)  $R_2$ 为H或 $C_{1-6}$ 烷基(例如甲基、异丁基或新戊基);

(vi)  $R_3$ 为 $-SO_2NH_2$ 或 $-COOH$ ;

该化合物为游离、药学上可接受的盐或前药形式,包括其对映体、非对映异构体和外消旋体;和/或

(G) 式VI



式 VI

其中

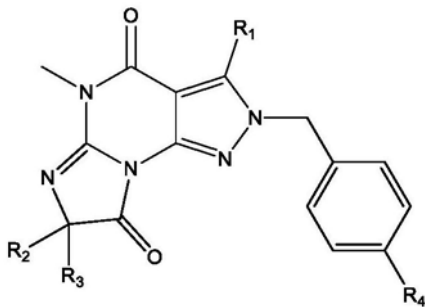
(iv)  $R_1$ 为 $-NH(R_4)$ ,其中 $R_4$ 为任选地被卤素(例如氟)取代的苯基,例如4-氟苯基;

(v)  $R_2$ 为H或 $C_{1-6}$ 烷基(例如甲基或乙基);

(vi)  $R_3$ 为H、卤素(例如溴)、 $C_{1-6}$ 烷基(例如甲基)、任选地被卤素取代的芳基(例如4-氟苯基)、任选地被卤素取代的杂芳基(例如6-氟吡啶-2-基或吡啶-2-基),或酰基(例如乙酰基),

该化合物为游离、药学上可接受的盐或前药形式,包括其对映体、非对映异构体和外消旋体;或

(H) 式VII:



式 VII

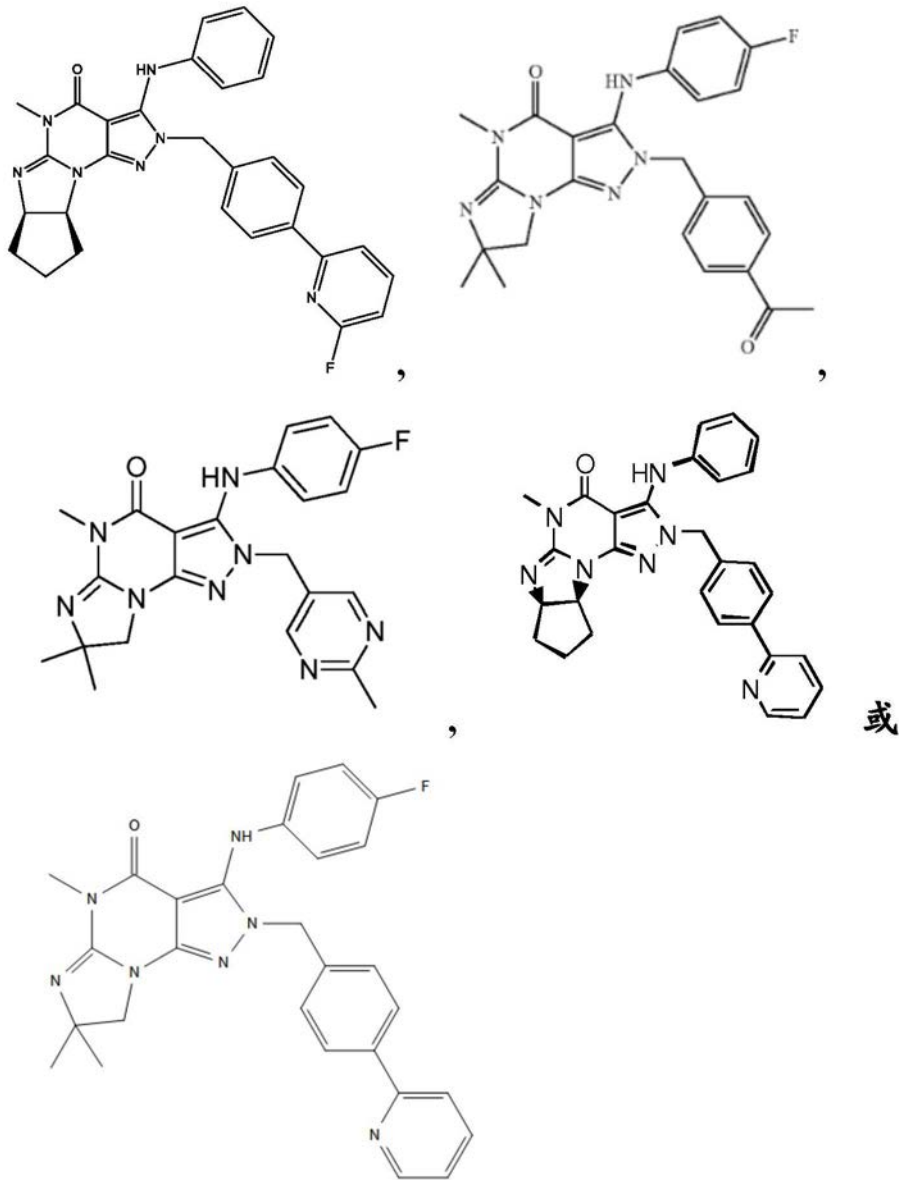
(viii)  $R_1$ 为 $-NH(R_5)$ ,其中 $R_5$ 为任选地被卤素(例如氟)取代的苯基,例如4-氟苯基;

(ix)  $R_2$ 和 $R_3$ 各自独立地为H或 $C_{1-6}$ 烷基(例如甲基或乙基);

(x)  $R_4$ 为任选地被卤素取代的芳基(例如4-氟苯基)或任选地被卤素取代的杂芳基(例如6-氟吡啶-2-基),

该化合物为游离、药学上可接受的盐或前药形式,包括其对映体、非对映异构体和外消旋体。

7. 上述权利要求任一项的方法,其中PDE1抑制剂选自如下的任一种:



其为游离或药学上可接受的盐形式。

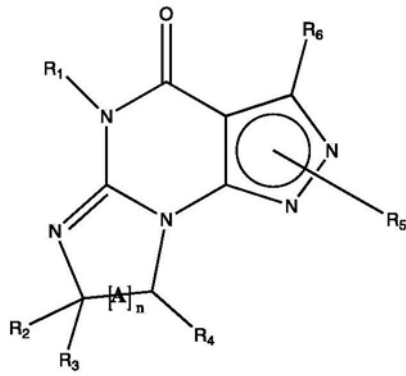
8. 上述权利要求任一项的方法，其中PDE1抑制剂与抗肿瘤剂联合施用。

9. 治疗选自癌症或肿瘤性癌症的病征的方法，包括对有此需要的受试者施用有效量的PDE1抑制剂（即式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII的PDE1抑制剂）和检查点抑制剂。

10. 权利要求9的方法，其中所述癌症为结肠癌。

11. 权利要求10的方法，其中所述癌症为结直肠癌。

12. 权利要求9-11任一项的方法，其中PDE1抑制剂为选自如下的化合物：(A) 式I：



式 I

其中

(i)  $R_1$  为 H 或  $C_{1-4}$  烷基 (例如甲基) ;

(ii)  $R_4$  为 H 或  $C_{1-4}$  烷基且  $R_2$  和  $R_3$  独立地为 H 或  $C_{1-4}$  烷基

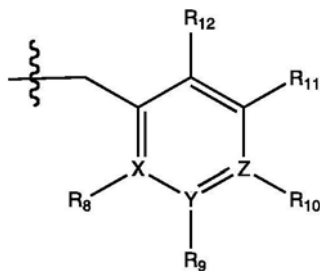
(例如  $R_2$  和  $R_3$  均为甲基, 或  $R_2$  为 H 且  $R_3$  为异丙基)、芳基、杂芳基、(任选地杂) 芳基烷氧基或 (任选地杂) 芳基烷基; 或

$R_2$  为 H 且  $R_3$  和  $R_4$  一起形成二-、三-或四甲基桥

(优选其中  $R_3$  和  $R_4$  一起具有顺式构型, 例如其中携带  $R_3$  和  $R_4$  的碳分别具有 R 和 S 构型) ;

(iii)  $R_5$  为取代的杂芳基烷基, 例如被卤代烷基取代;

或  $R_5$  连接至式 I 的吡唑并部分上的氮之一且为式 A 的部分



式 A

其中 X、Y 和 Z 独立地为 N 或 C, 且  $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$  和  $R_{12}$  独立地为 H 或卤素 (例如 Cl 或 F), 且  $R_{10}$  为卤素、烷基、环烷基、卤代烷基 (例如三氟甲基)、芳基 (例如苯基)、杂芳基 (例如吡啶基 (例如吡啶-2-基), 任选地被卤素取代, 或噻二唑基 (例如 1,2,3-噻二唑-4-基))、二唑基、三唑基、四唑基、芳基羰基 (例如苯甲酰基)、烷基磺酰基 (例如甲基磺酰基)、杂芳基羰基, 或烷氧基羰基; 条件是当 X、Y 或 Z 为氮时,  $R_8$ 、 $R_9$  或  $R_{10}$  相应地不存在; 且

(iv)  $R_6$  为 H、烷基、芳基、杂芳基、芳基烷基 (例如苄基)、芳基氨基 (例如苯基氨基)、杂芳基氨基、N,N-二烷基氨基、N,N-二芳基氨基或 N-芳基-N-(芳基烷基) 氨基 (例如 N-苯基-N-(1,1'-联苯-4-基甲基) 氨基); 且

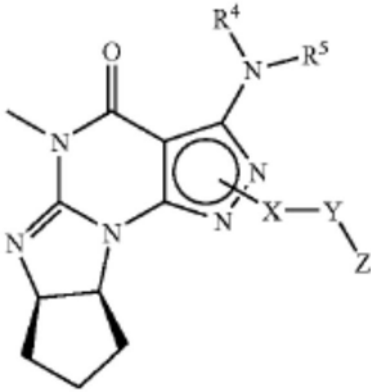
(v)  $n=0$  或 1;

(vi) 当  $n=1$  时, A 为  $-C(R_{13}R_{14})-$ ,

其中  $R_{13}$  和  $R_{14}$  独立地为 H 或  $C_{1-4}$  烷基、芳基、杂芳基、(任选地杂) 芳基烷氧基或 (任选地杂) 芳基烷基;

该化合物为游离、盐或前药形式, 包括其对映体、非对映异构体和外消旋体;

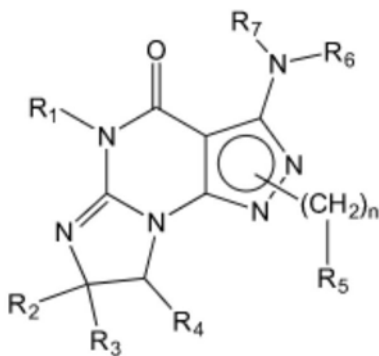
(B) 式II:



式 II

(i) X为 $C_{1-6}$ 亚烷基(例如亚甲基、亚乙基或亚丙-2-炔-1-基);(ii) Y为单键、亚炔基(例如 $-C\equiv C-$ )、亚芳基(例如亚苯基)或亚杂芳基(例如亚吡啶基);(iii) Z为H、芳基(例如苯基)、杂芳基(例如吡啶基,例如吡啶-2-基)、卤素(例如F、Br、Cl)、卤代 $C_{1-6}$ 烷基(例如三氟甲基)、 $-C(O)-R^1$ 、 $-N(R^2)(R^3)$ ,或任选地包含至少一个选自N或O的原子的 $C_{3-7}$ 环烷基(例如环戊基、环己基、四氢-2H-吡喃-4-基或吗啉基);(iv)  $R^1$ 为 $C_{1-6}$ 烷基、卤代 $C_{1-6}$ 烷基、 $-OH$ 或 $-OC_{1-6}$ 烷基(例如 $-OCH_3$ );(v)  $R^2$ 和 $R^3$ 独立地为H或 $C_{1-6}$ 烷基;(vi)  $R^4$ 和 $R^5$ 独立地为H、 $C_{1-6}$ 烷基或芳基(例如苯基),任选地被一个或多个卤素(例如氟苯基、例如4-氟苯基)、羟基(例如羟基苯基、例如4-羟基苯基或2-羟基苯基)或 $C_{1-6}$ 烷氧基取代;(vii) 其中X、Y和Z独立地和任选地被一个或多个卤素(例如F、Cl或Br)、 $C_{1-6}$ 烷基(例如甲基)、卤代 $C_{1-6}$ 烷基(例如三氟甲基)取代,例如,Z为杂芳基,例如吡啶基,被一个或多个卤素(例如6-氟吡啶-2-基、5-氟吡啶-2-基、6-氟吡啶-2-基、3-氟吡啶-2-基、4-氟吡啶-2-基、4,6-二氯吡啶-2-基)、卤代 $C_{1-6}$ 烷基(例如5-三氟甲基吡啶-2-基)或 $C_{1-6}$ 烷基(例如5-甲基吡啶-2-基)取代,或Z为芳基,例如苯基,其被一个或多个卤素取代(例如4-氟苯基),该化合物为游离、盐或前药形式;

(C) 式III:



式 III

其中

(i) R<sub>1</sub>为H或C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基或乙基);

(ii) R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>独立地为H或C<sub>1-6</sub>烷基(例如甲基或乙基);

(iii) R<sub>4</sub>为H或C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基或乙基);

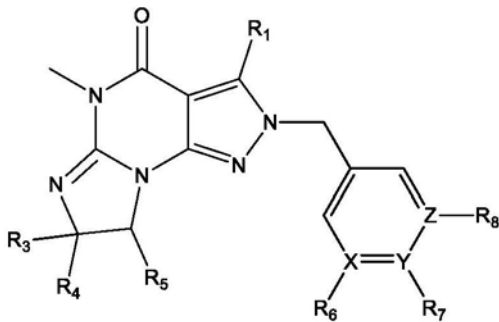
(iv) R<sub>5</sub>为芳基(例如苯基),其任选地被一个或多个基团取代,所述基团独立地选自-C(=O)-C<sub>1-6</sub>烷基(例如-C(=O)-CH<sub>3</sub>)和C<sub>1-6</sub>-羟基烷基(例如1-羟基乙基);

(v) R<sub>6</sub>和R<sub>7</sub>独立地为H或芳基(例如苯基),其任选地被一个或多个基团取代,所述基团独立地选自C<sub>1-6</sub>烷基(例如甲基或乙基)和卤素(例如F或Cl),例如为取代的苯基或被一个或多个卤素(例如F)取代的苯基或被一个或多个C<sub>1-6</sub>烷基和一个或多个卤素取代的苯基或被一个C<sub>1-6</sub>烷基和一个卤素取代的苯基,例如4-氟苯基或3,4-二氟苯基或4-氟-3-甲基苯基;且

(vi) n为1、2、3或4,

该化合物为游离或盐形式;

(D) 式IV



式 IV

其为游离或盐形式,其中

(xi) R<sub>1</sub>为C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基或乙基)或-NH(R<sub>2</sub>),其中R<sub>2</sub>为任选地被卤素(例如氟)取代的苯基,例如4-氟苯基;

(xii) X、Y和Z独立地为N或C;

(xiii) R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>独立地为H或C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基);或R<sub>3</sub>为H且R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>一起形成三-亚甲基桥(优选其中R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>一起具有顺式构型,例如其中携带R<sub>4</sub>和R<sub>5</sub>的碳分别具有R和S构型),

(xiv) R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>和R<sub>8</sub>独立地为:

H,

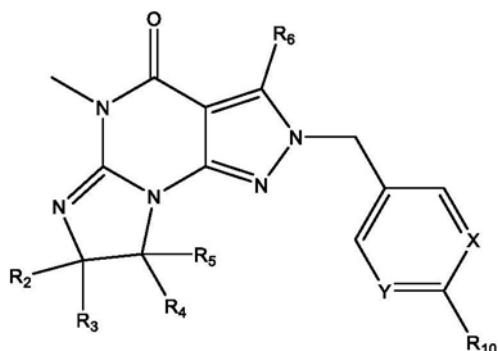
C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基),

被羟基取代的吡啶-2-基,或

-S(O)<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>;

条件是当X、Y和/或Z为N时,R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>和/或R<sub>8</sub>相应地不存在;且当X、Y和Z均为C时,R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>或R<sub>8</sub>的至少一个为-S(O)<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>或被羟基取代的吡啶-2-基,该化合物为游离或盐形式;和

(E) 式1a:



式 Ia

其中

(vii)  $R_2$ 和 $R_5$ 独立地为H或羟基,且 $R_3$ 和 $R_4$ 一起形成三-或四-亚甲基桥[优选其中携带 $R_3$ 和 $R_4$ 的碳分别具有R和S构型];或 $R_2$ 和 $R_3$ 各自为甲基,且 $R_4$ 和 $R_5$ 各自为H;或 $R_2$ 、 $R_4$ 和 $R_5$ 为H,且 $R_3$ 为异丙基[优选携带 $R_3$ 的碳具有R构型];

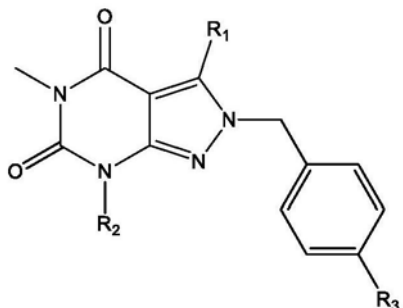
(viii)  $R_6$ 为(任选卤代的)苯基氨基、(任选卤代的)苄基氨基、 $C_{1-4}$ 烷基或 $C_{1-4}$ 烷硫基;例如,苯基氨基或4-氟苯基氨基;

(ix)  $R_{10}$ 为 $C_{1-4}$ 烷基、甲基羰基、羟基乙基、羧酸、磺酰胺、(任选卤代的或羟基-取代的)苯基、(任选地卤代或羟基-取代的)吡啶基(例如6-氟吡啶-2-基),或噻二唑基(例如1,2,3-噻二唑-4-基);且

X和Y独立地为C或N,

其为游离、药学上可接受的盐或前药形式,包括其对映体、非对映异构体和外消旋体;

(F) 式V



式 V

其中

(vii)  $R_1$ 为-NH( $R_4$ ),其中 $R_4$ 为任选地被卤素(例如氟)取代的苯基,例如4-氟苯基;

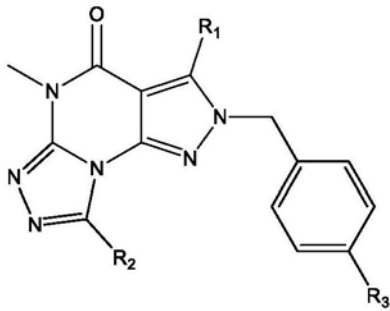
(viii)  $R_2$ 为H或 $C_{1-6}$ 烷基(例如甲基、异丁基或新戊基);

(ix)  $R_3$ 为 $-SO_2NH_2$ 或 $-COOH$ ;

其为游离、药学上可接受的盐或前药形式,包括其对映体、非对映异构体和外消旋体;

和/或

(G) 式VI



式 VI

其中

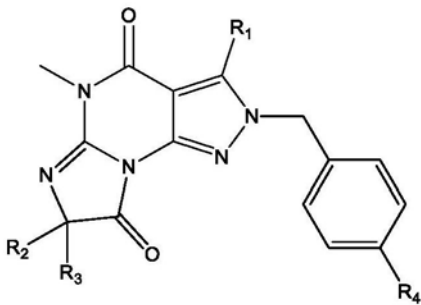
(vii)  $R_1$  为  $-NH(R_4)$ , 其中  $R_4$  为任意的被卤素 (例如氟) 取代的苯基, 例如 4-氟苯基;

(viii)  $R_2$  为 H 或  $C_{1-6}$  烷基 (例如甲基或乙基);

(ix)  $R_3$  为 H、卤素 (例如溴)、 $C_{1-6}$  烷基 (例如甲基)、任意地被卤素取代的芳基 (例如 4-氟苯基)、任意地被卤素取代的杂芳基 (例如 6-氟吡啶-2-基或吡啶-2-基), 或酰基 (例如乙酰基),

其为游离、药学上可接受的盐或前药形式, 包括其对映体、非对映异构体和外消旋体;  
或

(H) 式 VII:



式 VII

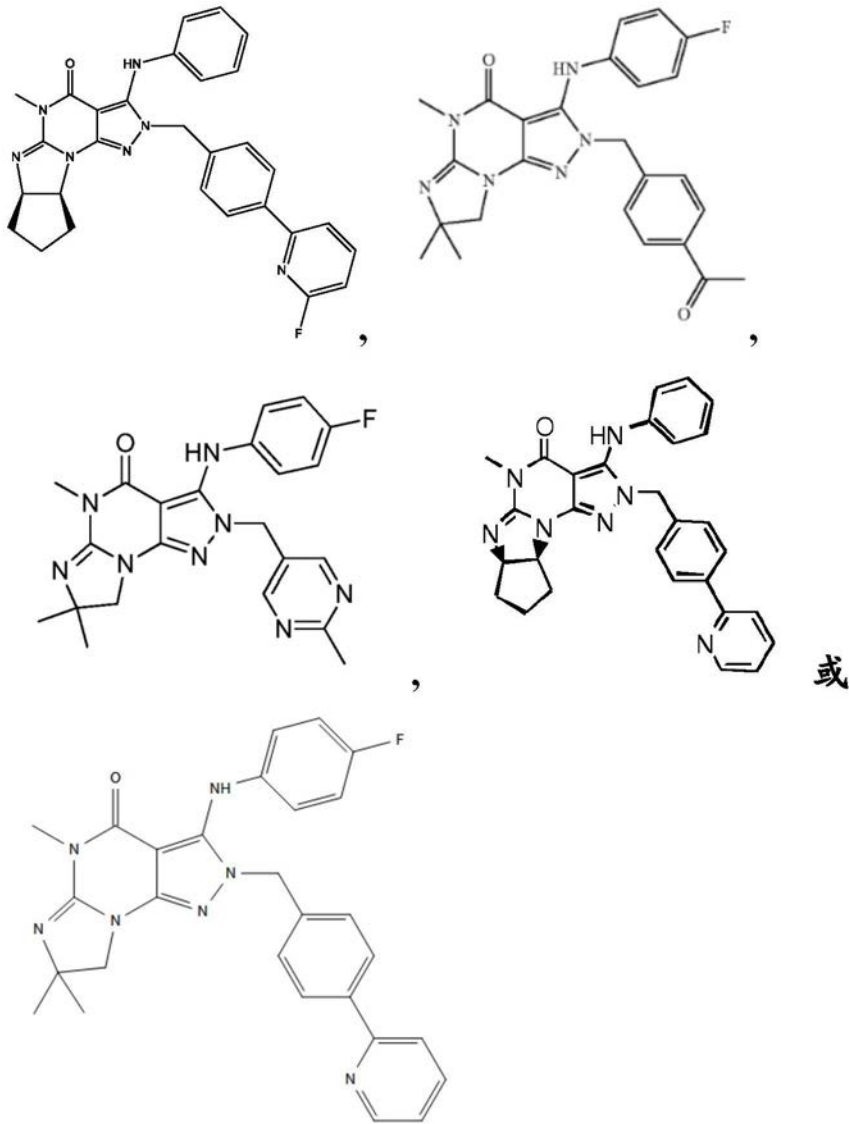
(xv)  $R_1$  为  $-NH(R_5)$ , 其中  $R_5$  为任意地被卤素 (例如氟) 取代的苯基, 例如 4-氟苯基;

(xvi)  $R_2$  和  $R_3$  各自独立地为 H 或  $C_{1-6}$  烷基 (例如甲基或乙基);

(xvii)  $R_4$  为任意地被卤素取代的芳基 (例如 4-氟苯基) 或任意地被卤素取代的杂芳基 (例如 6-氟吡啶-2-基),

其为游离、药学上可接受的盐或前药形式, 包括其对映体、非对映异构体和外消旋体。

13. 权利要求 9-12 任一项的方法, 其中 PDE1 抑制剂选自如下的任一种:



其为游离或药学上可接受的盐形式。

14. 权利要求9-13任一项的方法,其中检查点抑制剂为CTLA-4、PD-1和/或PD-L1的抑制剂。

15. 权利要求9-14任一项的方法,其中检查点抑制剂选自纳武单抗、帕博利珠单抗、西米普利单抗、伊匹木单抗、阿维单抗、德瓦鲁单抗、阿替唑单抗、斯巴达珠单抗或其组合。

16. 权利要求9-15任一项的方法,其中以足以减少单核细胞和/或巨噬细胞浸润至肿瘤相关微环境的量施用PDE1抑制剂。

17. 权利要求9-16任一项的方法,其中以足以减少单核细胞和/或巨噬细胞浸润至肿瘤相关微环境和/或增加自然杀伤细胞和CD4+T细胞浸润的量一起施用PDE1抑制剂和检查点抑制剂。

## 治疗方法

[0001] 本公开的领域

[0002] 本领域涉及可用于治疗某些癌症和肿瘤如结肠癌的磷酸二酯酶1 (PDE1) 抑制剂。本领域还涉及为治疗某些癌症和肿瘤如结肠癌施用磷酸二酯酶1 (PDE1) 抑制剂。

[0003] 本公开的背景

[0004] 结肠直肠癌是全世界男性中第三大最常诊断出的癌症和女性中第二大癌症,并且每年估计有50,000人死亡。与发病率趋势相反,在许多国家已经观察到结直肠癌死亡率下降,这很可能归因于结直肠癌筛查、风险因素患病率降低和/或疗法的改进。然而,当遇到广泛的恶性肿瘤时,这些病例对治愈性治疗无反应。

[0005] 另外估计,转移导致全世界90%的癌症相关死亡。在大多数情况下,转移性肿瘤细胞会开发出逃避免疫反应的方法,并对治疗产生抗性。对癌症治疗的抗性可能是肿瘤细胞固有的,但常常由构成肿瘤微环境 (TME) 的非恶性细胞赋予或增强。TME由组织驻留细胞、基质细胞和肿瘤募集的其他细胞组成,且由此它可能包括内皮细胞、周细胞、成纤维细胞、间充质干细胞和多种免疫细胞,包括调节性T (Treg) 细胞、肥大细胞、嗜中性粒细胞、髓源性抑制细胞和肿瘤相关巨噬细胞。这些细胞促进肿瘤血管生成、癌细胞侵入和/或破坏免疫监视。巨噬细胞是最常见的肿瘤相关细胞类型之一。研究人员最初假设这些免疫细胞是身体排斥肿瘤的反应的一部分,而的确,癌症发展的一个主要检查是由先天免疫系统的细胞(例如巨噬细胞、嗜中性粒细胞)以及与适应性免疫反应相关的细胞对免疫系统的监视和对癌症存在的反应。

[0006] 然而,在某些情况下,癌症能够逃避和指派 (co-opt) 免疫系统,使得这些免疫系统细胞不是攻击肿瘤,而是成为肿瘤支持和防御系统的一部分。可以修改免疫TME以支持肿瘤并促进其进展,同时抑制免疫细胞介导的细胞毒性。大量临床和实验证据表明,巨噬细胞—大量存在于大多数肿瘤类型中—在促进肿瘤进展为恶性肿瘤方面具有重要的调节作用。原发性肿瘤中的巨噬细胞(肿瘤相关巨噬细胞或TAM)和转移性肿瘤中的巨噬细胞(转移相关巨噬细胞或MAM)在大多数实体瘤中都很丰富,并且磷酸二酯酶可能与肿瘤转移有关。TAM、MAM及其先祖细胞的积累似乎由肿瘤和基质细胞释放的趋化因子配体驱动。例如,有证据表明TAM和MAM至少部分来源于由表达CCL2的肿瘤细胞和/或表达CCL2的基质细胞募集的表达CCR2的单核细胞。然而,确切的机制尚未完全确定,且其他CCR2配体如CCL12、细胞因子如VEGF和CSF1以及其他化学引诱信号如CCL5-CCR5、CCL20-CCR6、CXCL12-CXCR4可以提供替代选择的或额外的用于募集TAM的化学引诱途径。因此,靶向特异性化学引诱受体或配体、例如特异性阻断CCR2-CCL2相互作用的尝试并未完全有效,这可能归因于癌症能够利用替代途径。

[0007] 已经鉴定了磷酸二酯酶 (PDE) 的11个家族,但只有家族I中的PDEs,即Ca<sup>2+</sup>/钙调蛋白依赖性磷酸二酯酶 (CaM-PDE),其被Ca<sup>2+</sup>/钙调蛋白活化并已显示介导钙和环核苷酸(例如cGMP和cAMP) 信号通路。三种已知的CaM-PDE基因PDE1A、PDE1B和PDE1C均在中枢神经系统组织中表达。PDE1A在脑、肺和心脏中表达。PDE1B主要在中枢神经系统中表达,但也在单核细胞和嗜中性粒细胞中检测到,并且已被证明牵涉这些细胞的炎症反应。PDE1C在嗅上皮、

小脑颗粒细胞、纹状体、心脏和血管平滑肌中表达。PDE1C已被证明是人平滑肌中平滑肌增殖的主要调节剂。

[0008] 环核苷酸磷酸二酯酶下调胞内cAMP和cGMP信号传导,通过将环核苷酸水解成它们各自的5'-单磷酸(5'-AMP和5'-GMP)来进行,而5'-单磷酸在胞内信号传导途径方面是无活性的。cAMP和cGMP均为中枢胞内第二信使,并且它们在调节多种细胞功能中发挥作用。PDE1A和PDE1B优先水解cGMP而不是cAMP,而PDE1C显示的cGMP和cAMP水解大致相同。

[0009] 特别是关于PDE1C,近期证据表明,PDE1C为增殖相关基因,因为它仅在增殖的血管平滑肌细胞中表达。(Rybalkin SD等人,Calmodulin-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE1C) is induced in human arterial smoothmuscle cells of the synthetic,proliferative phenotype.J Clin Invest 1997;100:2611-2621.)。此外,还有关于PDE1C与其他PDE亚型在实验性肿瘤模型中表达的零星报道,例如黑素瘤(Watanabe Y等人,Phosphodiesterase 4regulates the migration of B16-F10 melanoma cells.Exp Ther Med2012;4:205-210.)、神经母细胞瘤(Jang IS,Juhn YS.Adaptation of cAMP signaling system in SH-SY5Y neuroblastoma cells following expression of a constitutively active stimulatory G protein alpha, Q227L Gsalpha.Exp Mol Med2001;33:37-45)和骨肉瘤(Ahlström M等人,Cyclic nucleotide phosphodiesterases (PDEs) in human osteoblastic cells;the effect of PDE inhibition on cAMP accumulation.Cell Mol Biol Lett 2005;10:305-319)。

[0010] 促进肿瘤的细胞增殖、迁移、组织侵入和炎症被视为癌症发展的促成特征。这些过程中的每一个均为时间相关性的、可变的和复杂的,其牵涉多种信号转导途径。人们认为,多靶向药物比单靶向疗法产生更大的益处,具有可接受的耐受性,并且对更广泛的肿瘤类型具有活性。环核苷酸信号传导的调节被恰当地视为牵涉肿瘤细胞功能的不同方面的多成分途径的复合物。已在各种癌症病理学中描述了cAMP生成受损。由于高细胞毒性,尝试直接调节癌细胞中的环核苷酸、同时具有抗增殖作用,但效果不佳。需要新的、更安全和选择性的策略来调节癌细胞中的cAMP。

[0011] 本公开的概述

[0012] 本发明人在先已经证实,使用本公开的化合物抑制PDE1活性可以在广泛的病理条件下安全地恢复cAMP功能,包括神经变性和神经炎症、心力衰竭、肺动脉高压和外周炎症的模型以及患有某些疾病的人。更近来,本发明人已经证实,PDE1抑制剂阻止小胶质细胞和单核细胞的细胞迁移。近期证据表明,PDE1、特别是PDE1C同种型在实验性肿瘤模型中过表达,例如黑素瘤、神经母细胞瘤和骨肉瘤。此外,已证实多形性胶质母细胞瘤(GBM)细胞中PDE1C的局灶基因组过表现。PDE1C的基因组增益与GBM衍生细胞培养物中的表达增加有关,并且对于驱动癌细胞中的细胞增殖、迁移和侵入至关重要。

[0013] 许多类型的癌细胞过表达PDE1活性,这通过各种生物标志物来鉴定,例如增加的RNA表达、DNA拷贝数、PDE1结合(PDE1抑制剂分子的放射性同位素保留或PET)或酶活性。这些癌细胞还表现出低水平的cAMP,而PDE1可以增加这种水平。可以单独使用PDE-1抑制剂或与化疗剂、基因治疗剂和/或免疫学方法组合来治疗这些特征。抑制PDE1引发细胞凋亡性细胞死亡、防止迁移、限制转移和减轻炎症。通过这种方式,PDE1抑制剂与化疗剂和免疫学方法发挥更好的协同作用。

[0014] 不受理论束缚,认为,抑制提高胞内cAMP(和/或cGMP)水平的选择性PDE1同种型,在广谱的肿瘤细胞中诱导细胞凋亡和细胞周期停滞并调节肿瘤微环境防止细胞迁移、炎症和组织侵入。因此,针对各PDE1及其同种型、特别是PDE1C的特异性抑制剂的研发和临床应用可以选择性恢复正常的胞内信号传导,从而提供具有减少副作用的抗肿瘤疗法。不受理论束缚,进一步认为,本公开的PDE1抑制剂抑制免疫系统细胞、包括巨噬细胞和其他细胞向癌症的募集,并抑制转移、肿瘤血管生成、癌细胞侵入和由募集的细胞提供的免疫监视的破坏。PDE1不仅抑制CCL2,而且抑制被认为牵涉这种募集的其他细胞因子和趋化因子,且由此预计比例如单克隆抗体或其他CCR2-CCL2相互作用的特异性抑制剂这样的疗法更有效。

[0015] 本公开还提供了PDE1抑制剂在治疗癌症或肿瘤、包括例如癌、黑素瘤和星形细胞瘤中的用途。此外,受损的cAMP(或cGMP)水平可能源于PDE1同种型在各种癌症病理中的过表达。抑制提高胞内cAMP(和/或cGMP)水平的选择性PDE1同种型在广谱的肿瘤细胞中诱导细胞凋亡和细胞周期停滞,并调节肿瘤微环境,从而防止细胞迁移、炎症和组织侵入。因此,针对各PDE1特异性抑制剂的研发和临床应用可以选择性地恢复正常的胞内信号传导,从而提供具有减少副作用的抗肿瘤疗法。

[0016] 在先的研究已经表明,与健康患者(即未患有胶质母细胞瘤的患者)相比,PDE1(即PDE1C)在胶质母细胞瘤患者的肿瘤环境中显著过表达。已证实siRNA介导的PDE1C沉默可抑制患者来源的胶质母细胞瘤细胞培养物中的增殖和侵入。不受任何理论的束缚,PDE1的抑制在某些癌症或肿瘤如胶质母细胞瘤的治疗干预中可能是有效的。

[0017] 在不同的实施方案中,本申请提供了治疗结肠癌(例如结直肠癌)的方法,包括对此需要的受试者施用药学有效量的PDE1抑制剂。在一些实施方案中,将PDE1抑制剂与抗肿瘤剂联合施用。

[0018] 在不同的实施方案中,本公开还提供了使用常规稀释剂或赋形剂和本领域公知的技术制备的、包含本公开化合物的药物组合物。因此,口服剂型可以包括片剂、胶囊、溶液、混悬液等。

[0019] 在不同的实施方案中,本公开还提供了本文所述的式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII的PDE1抑制剂,其为游离或盐形式,用于治疗选自癌症或肿瘤的病症、抑制肿瘤细胞增殖、迁移和/或侵入,或治疗结肠癌,例如结直肠癌。

[0020] 附图简述

[0021] 图1显示了PDE1抑制对用化合物1处理的样品和未处理的对照中的CT26鼠癌细胞的影响。

[0022] 图2显示了用化合物1处理的样品和未处理的对照中CT26鼠癌细胞中免疫细胞的相对比例的变化。

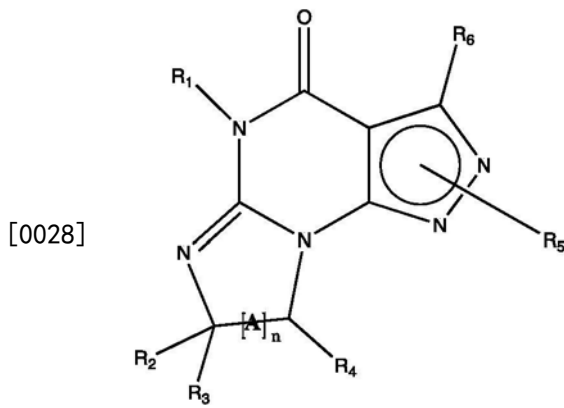
[0023] 本公开的详细描述

[0024] 用于本公开方法的化合物

[0025] 在一个实施方案中,用于本文所述的治疗和预防方法中的PDE1抑制剂为选择性PDE1抑制剂。

[0026] PDE1抑制剂

[0027] 在一个实施方案中,本发明提供了用于本文所述的治疗和预防方法中的PDE1抑制剂,其为式I的化合物:



式 I

[0029] 其中

[0030] (i)  $R_1$  为 H 或  $C_{1-4}$  烷基 (例如甲基) ;

[0031] (ii)  $R_4$  为 H 或  $C_{1-4}$  烷基, 且  $R_2$  和  $R_3$  独立地为 H 或  $C_{1-4}$  烷基

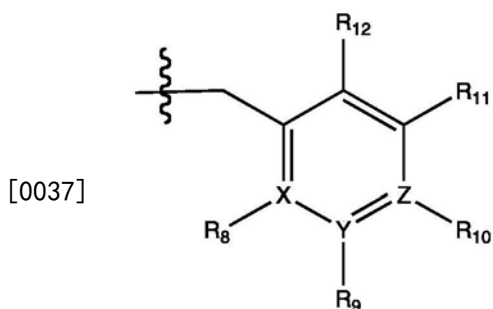
[0032] (例如  $R_2$  和  $R_3$  均为甲基, 或  $R_2$  为 H 且  $R_3$  为异丙基)、芳基、杂芳基、(任选地杂) 芳基烷氧基或 (任选地杂) 芳基烷基; 或

[0033]  $R_2$  为 H 且  $R_3$  和  $R_4$  一起形成二-、三-或四甲基桥

[0034] (优选其中  $R_3$  和  $R_4$  一起具有顺式构型, 例如其中携带  $R_3$  和  $R_4$  的碳分别具有 R 和 S 构型) ;

[0035] (iii)  $R_5$  为取代的杂芳基烷基, 例如被卤代烷基取代;

[0036] 或  $R_5$  连接至式 I 的吡啶并部分上的氮之一, 并且为式 A 的部分



式 A

[0038] 其中 X、Y 和 Z 独立地为 N 或 C, 且  $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$  和  $R_{12}$  独立地为 H 或卤素 (例如 Cl 或 F), 且  $R_{10}$  为卤素、烷基、环烷基、卤代烷基 (例如三氟甲基)、芳基 (例如苯基)、杂芳基 (例如吡啶基 (例如吡啶-2-基), 任选地被卤素取代, 或噻二唑基 (例如 1,2,3-噻二唑-4-基))、二唑基、三唑基、四唑基、芳基羰基 (例如苯甲酰基)、烷基磺酰基 (例如甲基磺酰基)、杂芳基羰基或烷氧基羰基; 条件是当 X、Y 或 Z 为氮时,  $R_8$ 、 $R_9$  或  $R_{10}$  相应地不存在; 且

[0039] (iv)  $R_6$  为 H、烷基、芳基、杂芳基、芳基烷基 (例如苄基)、芳基氨基 (例如苯基氨基)、杂芳基氨基、N,N-二烷基氨基、N,N-二芳基氨基或 N-芳基-N-(芳基烷基) 氨基 (例如 N-苯基-N-(1,1'-联苯-4-基甲基) 氨基) ; 且

[0040] (v)  $n=0$  或 1 ;

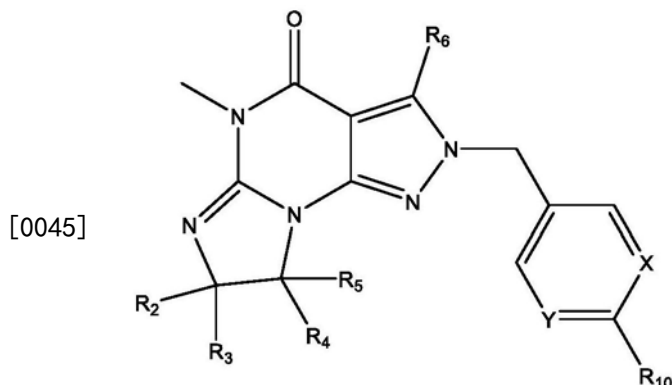
[0041] (vi) 当  $n=1$  时, A 为  $-C(R_{13}R_{14})-$ ,

[0042] 其中  $R_{13}$  和  $R_{14}$  独立地为 H 或  $C_{1-4}$  烷基、芳基、杂芳基、(任选地杂) 芳基烷氧基或 (任选

地杂) 芳基烷基;

[0043] 该化合物为游离、盐或前药形式, 包括其对映体、非对映异构体和外消旋体。

[0044] 在另一个实施方案中, 本发明提供了用于如本文所述方法中的PDE1抑制剂, 其为式1a:



式 Ia

[0046] 其中

[0047] (i)  $R_2$ 和 $R_5$ 独立地为H或羟基, 且 $R_3$ 和 $R_4$ 一起形成三-或四-亚甲基桥[优选其中携带 $R_3$ 和 $R_4$ 的碳分别具有R和S构型]; 或 $R_2$ 和 $R_3$ 各自为甲基且 $R_4$ 和 $R_5$ 各自为H; 或 $R_2$ 、 $R_4$ 和 $R_5$ 为H且 $R_3$ 为异丙基[优选携带 $R_3$ 的碳具有R构型];

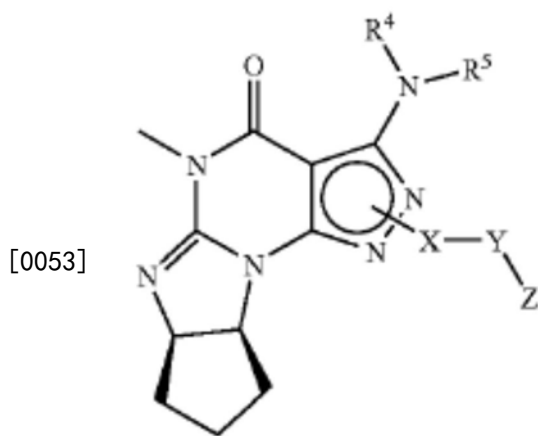
[0048] (ii)  $R_6$ 为(任选卤代的)苯基氨基、(任选卤代的)苄基氨基、 $C_{1-4}$ 烷基或 $C_{1-4}$ 烷硫基( $C_{1-4}$ alkyl sulfide); 例如, 苯基氨基或4-氟苯基氨基;

[0049] (iii)  $R_{10}$ 为 $C_{1-4}$ 烷基、甲基羰基、羟基乙基、羧酸、磺酰胺、(任选卤代-或羟基-取代的)苯基、(任选卤代-或羟基-取代的)吡啶基(例如6-氟吡啶-2-基), 或噻二唑基(例如1,2,3-噻二唑-4-基); 且

[0050] X和Y独立地为C或N,

[0051] 该化合物为游离、药学上可接受的盐或前药形式, 包括其对映体、非对映异构体和外消旋体。

[0052] 在另一个实施方案中, 本发明提供了用于本文所述的治疗和预防方法中的PDE1抑制剂, 其为式II的化合物:



式 II

[0054] (i) X为C<sub>1-6</sub>亚烷基(例如亚甲基、亚乙基或亚丙-2-炔-1-基);

[0055] (ii) Y为单键、亚炔基(例如-C≡C-)、亚芳基(例如亚苯基)或亚杂芳基(例如亚吡啶基);

[0056] (iii) Z为H、芳基(例如苯基)、杂芳基(例如吡啶基,例如吡啶-2-基)、卤素(例如F、Br、Cl)、卤代C<sub>1-6</sub>烷基(例如三氟甲基)、-C(O)-R<sup>1</sup>、-N(R<sup>2</sup>)(R<sup>3</sup>)或任选地包含至少一个选自N或O的原子的C<sub>3-7</sub>环烷基(例如环戊基、环己基、四氢-2H-吡喃-4-基或吗啉基);

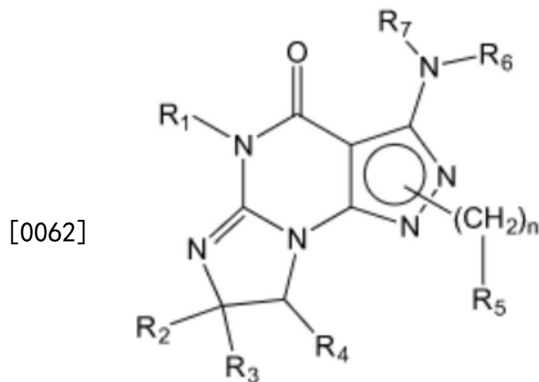
[0057] (iv) R<sup>1</sup>为C<sub>1-6</sub>烷基、卤代C<sub>1-6</sub>烷基、-OH或-OC<sub>1-6</sub>烷基(例如-OCH<sub>3</sub>);

[0058] (v) R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>独立地为H或C<sub>1-6</sub>烷基;

[0059] (vi) R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>独立地为H、C<sub>1-6</sub>烷基,或芳基(例如苯基),其任选地被一个或多个卤素(例如氟苯基、例如4-氟苯基)、羟基(例如羟基苯基、例如4-羟基苯基或2-羟基苯基)或C<sub>1-6</sub>烷氧基取代;

[0060] (vii) 其中X、Y和Z独立地和任选地被一个或多个卤素(例如F、Cl或Br)、C<sub>1-6</sub>烷基(例如甲基)、卤代C<sub>1-6</sub>烷基(例如三氟甲基)取代,例如,Z为杂芳基,例如吡啶基,其被一个或多个卤素(例如6-氟吡啶-2-基、5-氟吡啶-2-基、6-氟吡啶-2-基、3-氟吡啶-2-基、4-氟吡啶-2-基、4,6-二氟吡啶-2-基)、卤代C<sub>1-6</sub>烷基(例如5-三氟甲基吡啶-2-基)或C<sub>1-6</sub>烷基(例如5-甲基吡啶-2-基)取代,或Z为芳基,例如苯基,其被一个或多个卤素取代(例如4-氟苯基),该化合物为游离、盐或前药形式。

[0061] 在又一个实施方案中,本发明提供了用于本文所述的治疗和预防方法中的PDE1抑制剂,其为式III:



式 III

[0063] 其中

[0064] (i) R<sub>1</sub>为H或C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基或乙基);

[0065] (ii) R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>独立地为H或C<sub>1-6</sub>烷基(例如甲基或乙基);

[0066] (iii) R<sub>4</sub>为H或C<sub>1-4</sub>烷基(例如甲基或乙基);

[0067] (iv) R<sub>5</sub>为芳基(例如苯基),其任选地被一个或多个基团取代,所述基团独立地选自-C(=O)-C<sub>1-6</sub>烷基(例如-C(=O)-CH<sub>3</sub>)和C<sub>1-6</sub>-羟基烷基(例如1-羟基乙基);

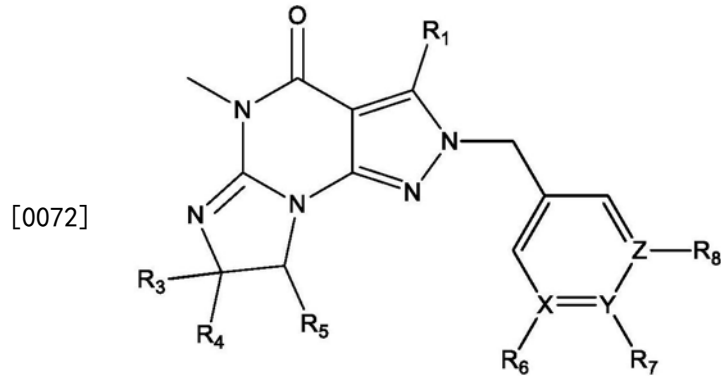
[0068] (v) R<sub>6</sub>和R<sub>7</sub>独立地为H或芳基(例如苯基),其任选地被一个或多个基团取代,所述基团独立地选自C<sub>1-6</sub>烷基(例如甲基或乙基)和卤素(例如F或Cl),例如未取代的苯基或被一个或多个卤素(例如F)取代的苯基或被一个或多个C<sub>1-6</sub>烷基和一个或多个卤素取代的苯基或被一个C<sub>1-6</sub>烷基和一个卤素取代的苯基,例如4-氟苯基或3,4-二氟苯基或4-氟-3-甲基苯

基;且

[0069] (vi) n为1、2、3或4,

[0070] 该化合物为游离或盐形式。

[0071] 在又一个实施方案中,本发明提供了用于本文所述的治疗和预防方法中的PDE1抑制剂,其为式IV



式 IV

[0073] 其为游离或盐形式,其中

[0074] (i)  $R_1$ 为 $C_{1-4}$ 烷基(例如甲基或乙基),或 $-NH(R_2)$ ,其中 $R_2$ 为任选被卤素(例如氟)取代的苯基,例如4-氟苯基;

[0075] (ii) X、Y和Z独立地为N或C;

[0076] (iii)  $R_3$ 、 $R_4$ 和 $R_5$ 独立地为H或 $C_{1-4}$ 烷基(例如甲基);或 $R_3$ 为H且 $R_4$ 和 $R_5$ 一起形成三-亚甲基桥(优选其中 $R_4$ 和 $R_5$ 一起具有顺式构型,例如其中携带 $R_4$ 和 $R_5$ 的碳分别具有R和S构型),

[0077] (iv)  $R_6$ 、 $R_7$ 和 $R_8$ 独立地为:

[0078] H,

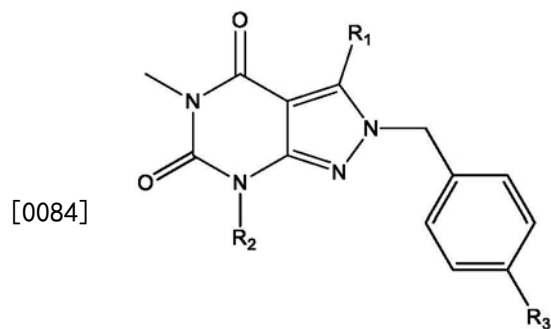
[0079]  $C_{1-4}$ 烷基(例如甲基),

[0080] 被羟基取代的吡啶-2-基或

[0081]  $-S(O)_2-NH_2$ ;

[0082] (v) 条件是当X、Y和/或Z为N时, $R_6$ 、 $R_7$ 和/或 $R_8$ 相应地不存在;且当X、Y和Z均为C时, $R_6$ 、 $R_7$ 或 $R_8$ 的至少一个为 $-S(O)_2-NH_2$ 或被羟基取代的吡啶-2-基。

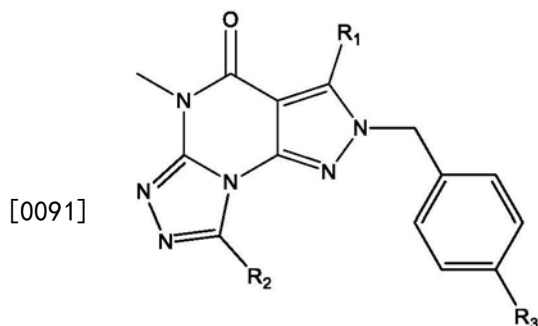
[0083] 在另一个实施方案中,本公开提供了用于本文所述的方法中的PDE1抑制剂,其为式V:



式 V

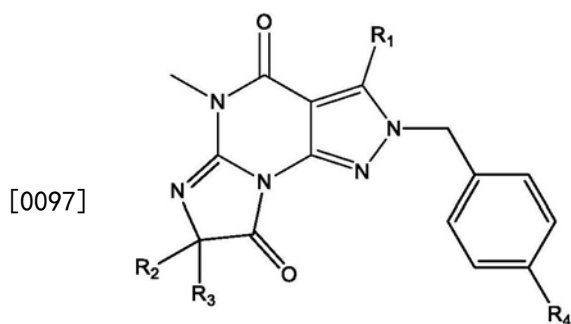
[0085] 其中

- [0086] (i)  $R_1$  为  $-NH(R_4)$ , 其中  $R_4$  为任选被卤素 (例如氟) 取代的苯基, 例如 4-氟苯基;
- [0087] (ii)  $R_2$  为 H 或  $C_{1-6}$  烷基 (例如甲基、异丁基或新戊基);
- [0088] (iii)  $R_3$  为  $-SO_2NH_2$  或  $-COOH$ ;
- [0089] 该抑制剂为游离、药学上可接受的盐或前药形式, 包括其对映体、非对映异构体和外消旋体。
- [0090] 在另一个实施方案中, 本公开提供了用于本文所述的方法中的 PDE1 抑制剂, 其为式 VI:



式 VI

- [0092] 其中
- [0093] (i)  $R_1$  为  $-NH(R_4)$ , 其中  $R_4$  为任选被卤素 (例如氟) 取代的苯基, 例如 4-氟苯基; (ii)  $R_2$  为 H 或  $C_{1-6}$  烷基 (例如甲基或乙基);
- [0094] (iii)  $R_3$  为 H、卤素 (例如溴)、 $C_{1-6}$  烷基 (例如甲基)、任选地被卤素取代的芳基 (例如 4-氟苯基)、任选地被卤素取代的杂芳基 (例如 6-氟吡啶-2-基或吡啶-2-基), 或酰基 (例如乙酰基),
- [0095] 该抑制剂为游离、药学上可接受的盐或前药形式, 包括其对映体、非对映异构体和外消旋体。
- [0096] 在另一个实施方案中, 本公开提供了用于本文所述的方法中的 PDE1 抑制剂, 其为式 VII:

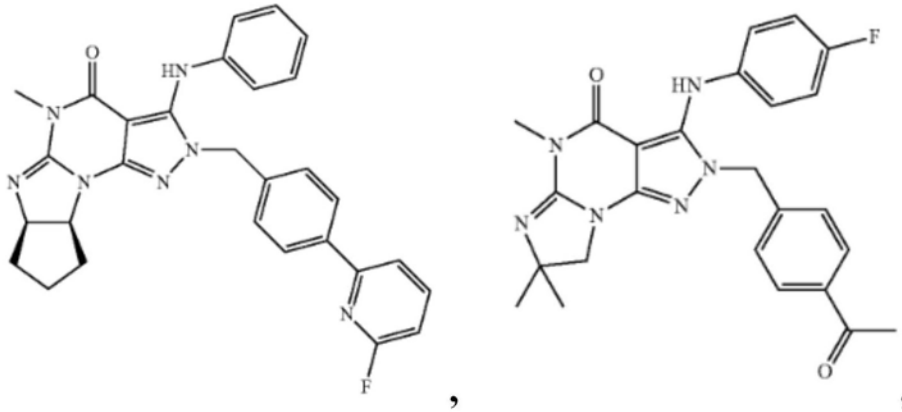


式 VII

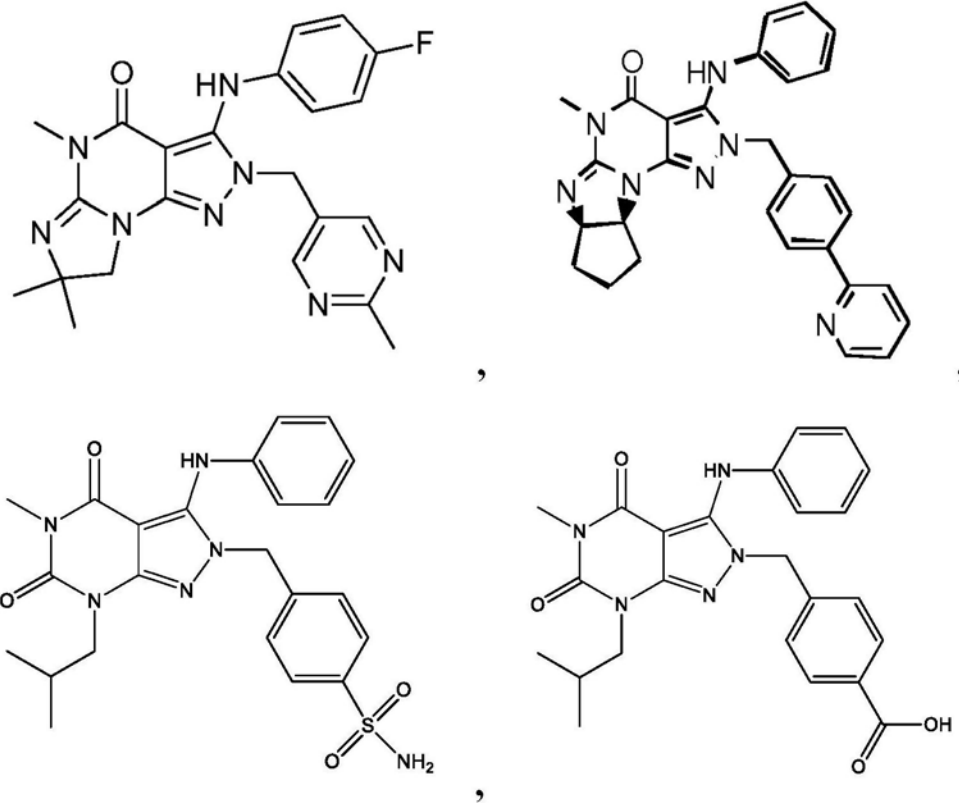
- [0098] (i)  $R_1$  为  $-NH(R_5)$ , 其中  $R_5$  为任选被卤素 (例如氟) 取代的苯基, 例如 4-氟苯基;
- [0099] (ii)  $R_2$  和  $R_3$  各自独立地为 H 或  $C_{1-6}$  烷基 (例如甲基或乙基);
- [0100] (iii)  $R_4$  为任选地被卤素取代的芳基 (例如 4-氟苯基) 或任选地被卤素取代的杂芳基 (例如 6-氟吡啶-2-基),
- [0101] 该抑制剂为游离、药学上可接受的盐或前药形式, 包括其对映体、非对映异构体和

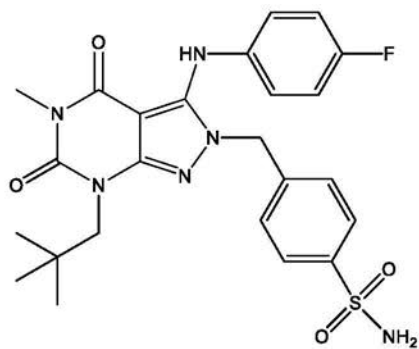
外消旋体。

[0102] 在一个实施方案中,本公开提供了施用PDE1抑制剂用于本文所述的方法(例如式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII的化合物),其中该抑制剂为下式的化合物:

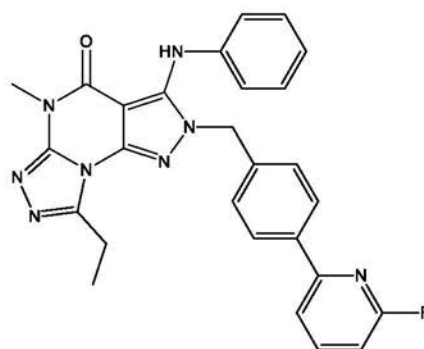


[0103]

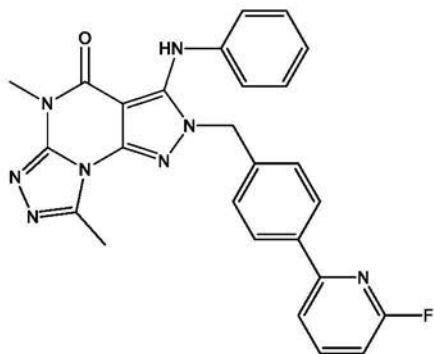




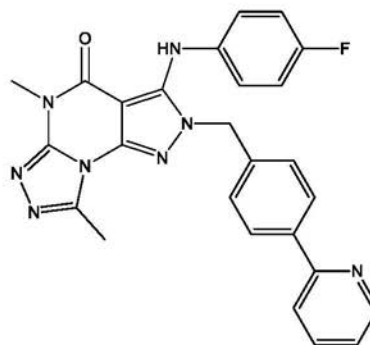
,



,

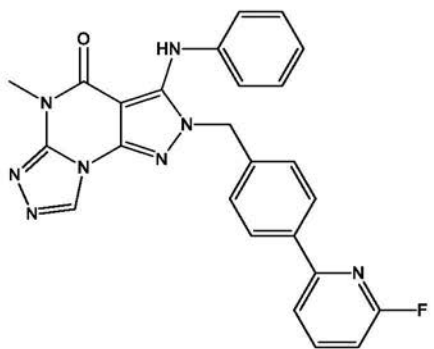


,

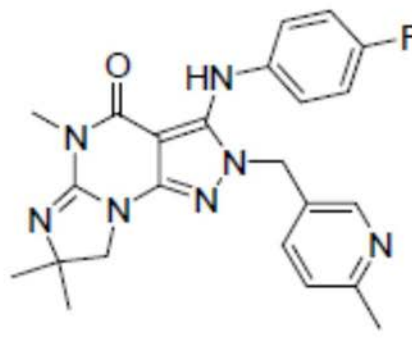


,

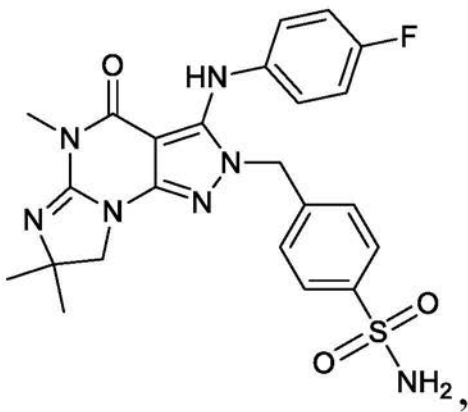
[0104]



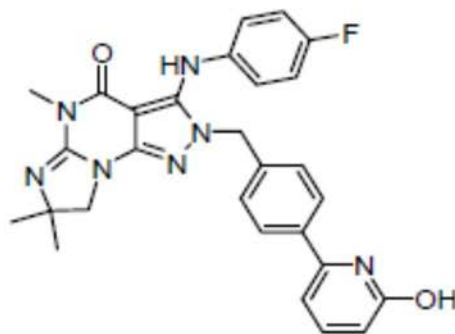
,



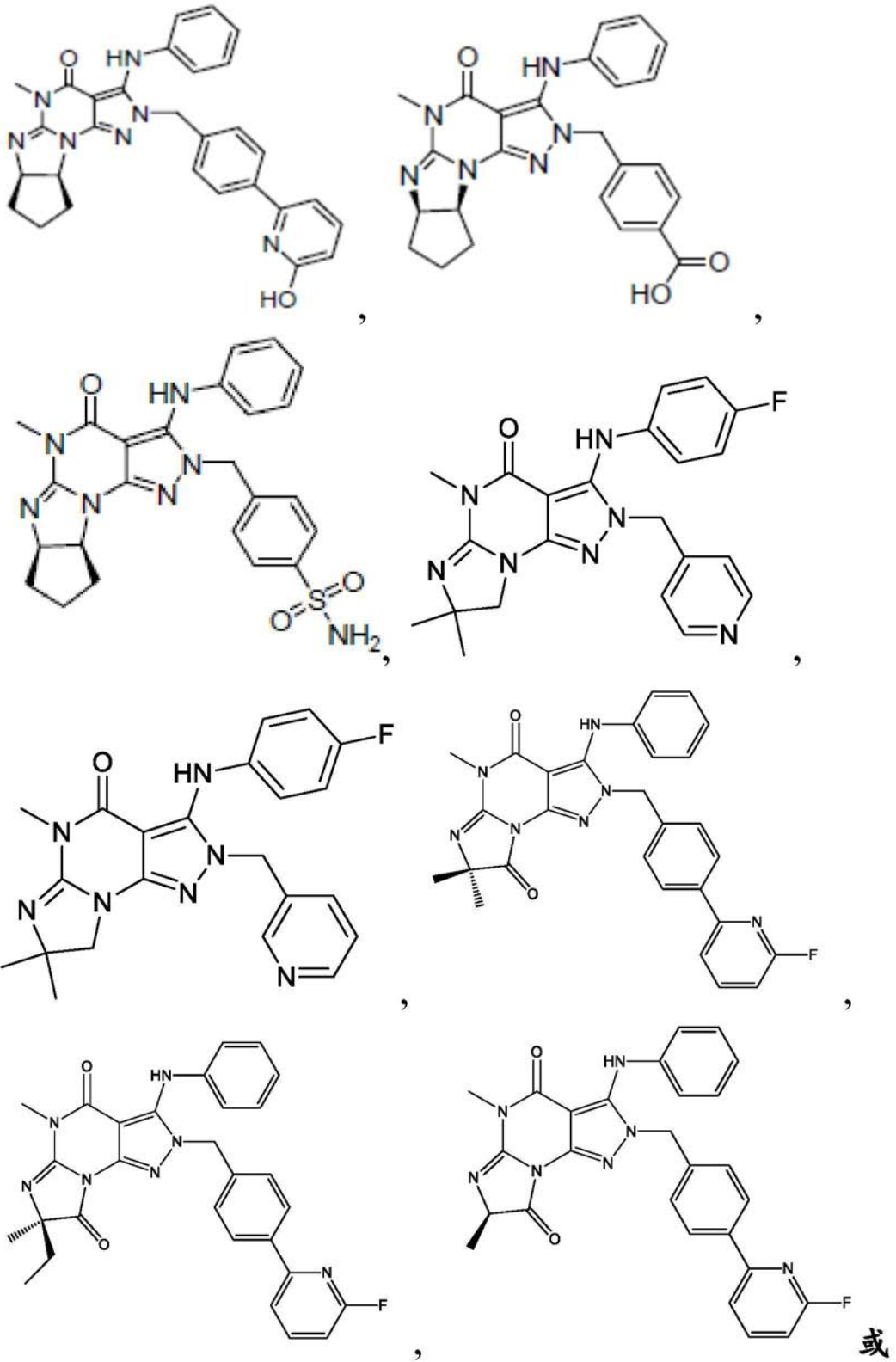
,



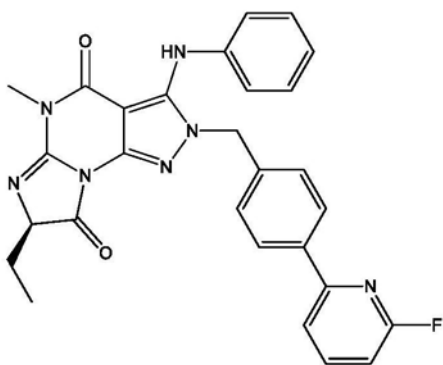
,



,

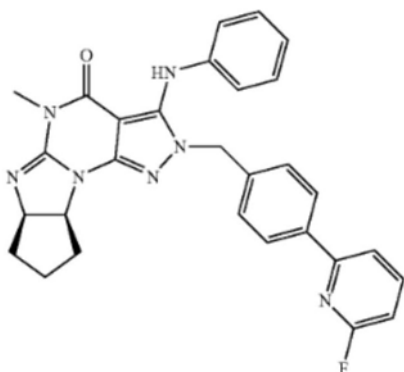


[0106]



[0107] 在一个实施方案中,本发明提供了施用PDE1抑制剂以治疗或预防炎症或炎症相关疾病或障碍,其中所述抑制剂为下式的化合物:

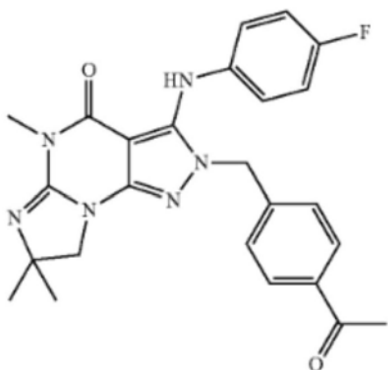
[0108]



[0109] 其为游离或药学上可接受的盐形式。

[0110] 仍然在另一个实施方案中,本发明提供了施用PDE1抑制剂以治疗或预防炎症或炎症相关疾病或障碍,其中所述抑制剂为下式的化合物:

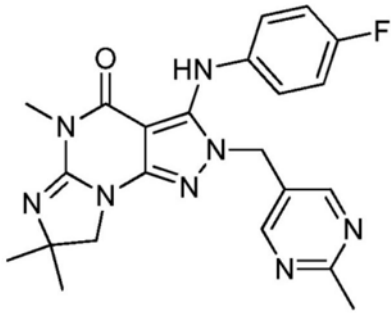
[0111]



[0112] 其为游离或药学上可接受的盐形式。

[0113] 仍然在另一个实施方案中,本发明提供了施用PDE1抑制剂以治疗或预防炎症或炎症相关疾病或障碍,其中所述抑制剂为下式的化合物:

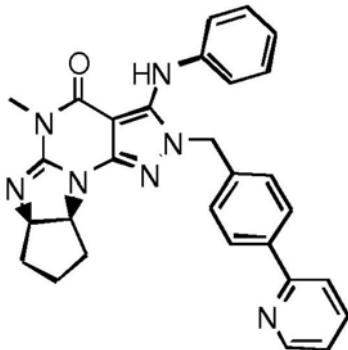
[0114]



[0115] 其为游离或药学上可接受的盐形式。

[0116] 仍然在另一个实施方案中,本发明提供了施用PDE1抑制剂以治疗或预防炎症或炎症相关疾病或障碍,其中所述抑制剂为下式的化合物:

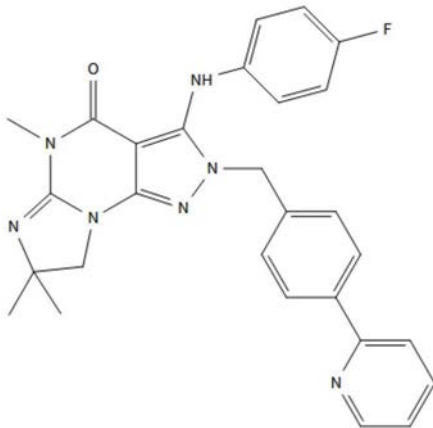
[0117]



[0118] 其为游离或药学上可接受的盐形式。

[0119] 仍然在另一个实施方案中,本发明提供了施用PDE1抑制剂以治疗或预防炎症或炎症相关疾病或障碍,其中所述抑制剂为下式的化合物:

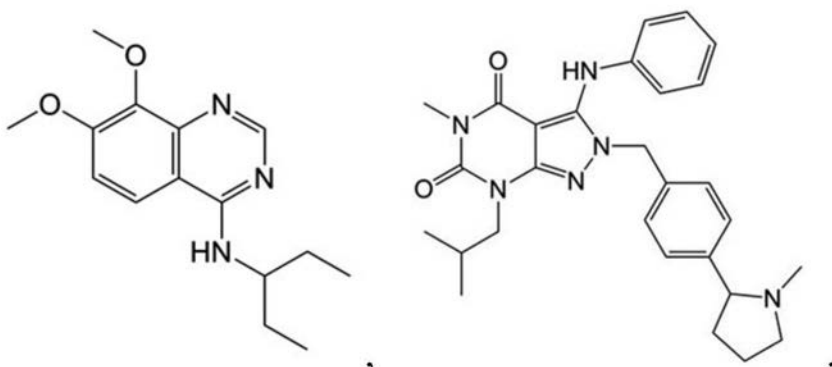
[0120]



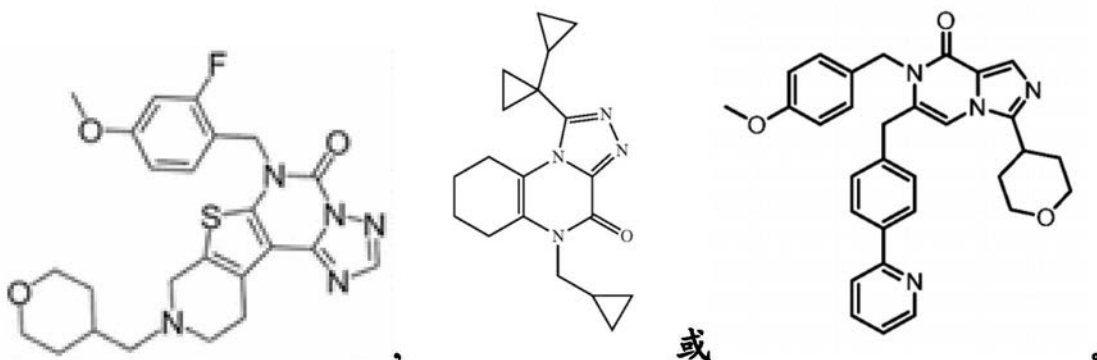
[0121] 其为游离或药学上可接受的盐形式。

[0122] 在一个实施方案中,上述式子(例如式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII)的任一的选择性PDE1抑制剂为抑制磷酸二酯酶-介导的(例如PDE1-介导的、尤其是PDE1B-介导的)cGMP水解的化合物,例如优选的化合物在固定化-金属亲和颗粒试剂PDE测定中具有低于1 $\mu$ M、优选低于500nM、优选低于50nM且优选低于5nM的IC<sub>50</sub>,该化合物为游离或盐形式。

[0123] 在其他实施方案中,本发明提供了施用PDE1抑制剂以治疗选自癌症或肿瘤的病症;用于抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和/或侵入;和/或用于治疗神经胶质瘤,其中所述抑制剂为下式的化合物:



[0124]



[0125] 适用于本文所述方法和治疗中的PDE1抑制剂的另外的实例可以在如下文献中找到:国际公布号W02006133261A2;美国专利8,273,750;美国专利9,000,001;美国专利9,624,230;国际公布号W02009075784A1;美国专利8,273,751;美国专利8,829,008;美国专利9,403,836;国际公布号W02014151409A1;美国专利9,073,936;美国专利9,598,426;美国专利9,556,186;美国公布号2017/0231994A1;国际公布号W02016022893A1;和美国公布号2017/0226117A1,它们各自通过引用整体并入。

[0126] 适用于本文所述的方法和治疗的PDE1抑制剂的另外的实例可以在如下文献中找到:国际公布号W02018007249A1;美国公布号2018/0000786;国际公布号W02015118097A1;美国专利9,718,832;国际公布号W02015091805A1;美国专利9,701,665;美国公布号2015/0175584A1;美国公布号2017/0267664A1;国际公布号W02016055618A1;美国公布号2017/0298072A1;国际公布号W02016170064A1;美国公布号2016/0311831A1;国际公布号W02015150254A1;美国公布号2017/0022186A1;国际公布号W02016174188A1;美国公布号2016/0318939A1;美国公布号2017/0291903A1;国际公布号W02018073251A1;国际公布号W02017178350A1;美国公布号2017/0291901A1;国际公布号W02018/115067;美国公布号2018/0179200A;美国公布号US20160318910A1;美国专利9,868,741;国际公布号W02017/139186A1;国际申请号W02016/040083;美国公布号2017/0240532;国际公布号W02016033776A1;美国公布号2017/0233373;国际公布号W02015130568;国际公布号W02014159012;美国专利9,034,864;美国专利9,266,859;国际公布号W02009085917;美国专利8,084,261;国际公布号W02018039052;美国公布号US20180062729;和国际公布号W02019027783,这些文献各自通过引用整体并入。在其中以引用方式并入的任何对比文件的陈述与本公开中的任何陈述相矛盾或不相容的任何情况下,应理解以本公开的陈述为准。

[0127] PDE1抑制剂的另外的实例和适合的使用方法公开在国际申请PCT/US2019/033941和美国临时申请62/789,499中,两篇文献通过引用并入本文。

[0128] 如果没有另外的指定或从上下文中有清楚地说明,则本文的下列术语具有如下含义:

[0129] (a) 如本文所用,“选择性PDE1抑制剂”是指PDE1抑制剂,其对PDE1抑制的选择性超过对任一其他PDE同种型的抑制至少100-倍。

[0130] (b) 如本文所用,“烷基”为饱和或不饱和烃部分,优选饱和的、优选具有1-6个碳原子,其可以为直链或支链的,并且可以任选地例如被卤素(例如氯或氟)、羟基或羧基单-、二-或三-取代。

[0131] (c) 如本文所用,“环烷基”为饱和或不饱和非芳族烃部分,优选饱和的、优选包含3-9个碳原子,其中至少一些形成非芳族单-或双环或桥接环状结构,并且可以任选地例如被卤素(例如氯或氟)、羟基或羧基取代。其中环烷基任选地包含一个或多个选自N和O和/或S的原子,所述环烷基还可以为杂环烷基。

[0132] (d) 除非另有指示,否则“杂环烷基”为饱和或不饱和非芳族烃部分,优选饱和的、优选包含3-9个碳原子,其中至少一些形成非芳族单-或双环或桥接环状结构,其中至少一个碳原子被N、O或S替代,该杂环烷基可以任选地例如被卤素(例如氯或氟)、羟基或羧基取代。

[0133] (e) 如本文所用,“芳基”为单或双环芳族烃,优选苯基,其任选地例如被烷基(例如甲基)、卤素(例如氯或氟)、卤代烷基(例如三氟甲基)、羟基、羧基取代,或被另外的芳基或杂芳基取代(例如联苯基或吡啶基苯基)。

[0134] (f) 如本文所用,“杂芳基”为芳族部分,其中构成芳族环的原子中的一个或多个为硫或氮,而不是碳,例如吡啶基或噻二唑基,其可以任选地例如被烷基、卤素、卤代烷基、羟基或羧基取代。

[0135] 本公开的化合物,例如如本文所述的PDE1抑制剂,可以以游离或盐形式存在,例如为酸加成的盐。在本说明书中,除非另有指示,措词如“本公开的化合物”应理解为包括任意形式的化合物,例如游离或酸加成的盐形式,或如果化合物包含酸性取代基,则为碱加成的盐形式。预期本公开的化合物用作药物,因此,优选药学上可接受的盐。不适合于药物应用的盐可能是有用的,例如,用于分离或纯化游离的本公开的化合物或其药学上可接受的盐,因此也包括在内。

[0136] 本公开的化合物在一些情况中也可以以前药形式存在。前药为在体内转成本公开化合物的化合物。例如,当本公开的化合物包含羟基或羧基取代基时,这些取代基可以形成生理学可水解的和可接受的酯。如本文所用,“生理学可水解的和可接受的酯”是指本公开化合物的酯,其在生理条件下可水解生成酸(在具有羟基取代基的本公开化合物的情况中)或醇(在具有羧基取代基的本公开化合物的情况中),其自身在所施用剂量下为生理学可耐受的。因此,如果本公开的化合物包含羟基,例如化合物-OH,则这类化合物的酰基酯前药即化合物-O-C(O)-C<sub>1-4</sub>烷基一方面可以在体内水解成生理学可水解的醇(化合物-OH),而另一方面可以在体内水解成生理学可水解的酸(例如HOC(O)-C<sub>1-4</sub>烷基)。或者,如果本公开的化合物包含羧酸,例如化合物-C(O)OH,则这类化合物的酸性酯前药即化合物-C(O)O-C<sub>1-4</sub>烷基可以水解成化合物-C(O)OH和HO-C<sub>1-4</sub>烷基。正如可以理解的,该术语因此包括常规的

药用前药形式。

[0137] 在另一个实施方案中,本公开还提供了包含PDE1抑制剂与抗肿瘤剂(它们各自为游离或药学上可接受的盐的形式)的组合与药学上可接受的载体的药物组合物。如本文所用,术语“组合”包括同时、依次或同期施用PDE1抑制剂和抗肿瘤剂。在另一个实施方案中,本公开提供了包含这类化合物的药物组合物。在一些实施方案中,PDE1抑制剂和抗肿瘤剂的组合允许以低于如果作为唯一单一疗法施用而有效的剂量的剂量施用抗肿瘤剂。

[0138] 使用本公开化合物的方法

[0139] 在另一个实施方案中,本公开提供了治疗结肠癌的方法(方法1),包括向有此需要的受试者施用药学有效量的PDE1抑制剂(即式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII的PDE1抑制剂)。

[0140] 1.1方法1,其中所述结肠癌为结直肠癌。

[0141] 1.2任一上述方法,还包括向患者施用抗肿瘤剂的步骤。

[0142] 1.3方法1.2,其中将抗肿瘤剂与PDE1抑制剂同时施用。

[0143] 1.4方法1.2,其中将抗肿瘤剂在施用PDE1抑制剂之前施用。

[0144] 1.5方法1.2,其中将抗肿瘤剂在施用PDE1抑制剂之后施用。

[0145] 1.6上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和任选的抗肿瘤剂与放疗或化疗一起施用。

[0146] 1.7上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和任选的抗肿瘤剂与放疗或化疗同时施用。

[0147] 1.8上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和任选的抗肿瘤剂在放疗或化疗之前施用。

[0148] 1.9上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和任选的抗肿瘤剂在放疗或化疗之后施用。

[0149] 1.10上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂与抗肿瘤剂、化疗剂、基因治疗剂和/或免疫治疗一起施用。

[0150] 1.11上述方法的任一项,其中施用PDE1抑制剂有效地诱导结肠癌中如下的一种或多种:编程性细胞死亡、迁移抑制、转移抑制和/或炎症减轻。

[0151] 1.12上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂与抗肿瘤剂、化疗剂、基因治疗剂、免疫治疗、皮质类固醇和/或抗组胺药一起施用。

[0152] 1.13上述方法的任一项,其中结肠癌由PDE介导。

[0153] 1.14上述方法的任一项,其中结肠癌由PDE1介导。

[0154] 1.15上述方法的任一项,其中结肠癌由PDE1C介导。

[0155] 1.16上述方法的任一项,其中所述结肠癌的特征在于钙/钙调蛋白控制缺失。

[0156] 1.17上述方法的任一项,其中所述受试者为人。

[0157] 本公开还提供了PDE1抑制剂,其用于治疗结肠癌的方法中,例如用于方法1等的任一项。

[0158] 本公开还提供了PDE1抑制剂在制备用于治疗结肠癌的方法中的药物中的用途,例如用于方法1等的任一项的药物。

[0159] 本公开还提供了药物组合物,其包含PDE1抑制剂,例如式I、Ia、II、III、IV、V、VI

和/或VII的化合物的任一种,其用于方法1等的任一项。

[0160] 在另一个实施方案中,本申请提供了抑制结肠中癌或肿瘤细胞的增殖、迁移和/或侵入的方法(方法2),包括对有此需要的受试者施用药学有效量的PDE1抑制剂(即式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII的PDE1抑制剂)。

[0161] 2.1方法2,其中该方法用于抑制癌或肿瘤细胞的增殖。

[0162] 2.2任一上述方法,其中所述受试者患有结肠癌。

[0163] 2.3任一上述方法,其中所述受试者患有结直肠癌。

[0164] 2.4任一上述方法,还包括向患者施用抗肿瘤剂的步骤。

[0165] 2.5方法2.4,其中将抗肿瘤剂与PDE1抑制剂同时施用。

[0166] 2.6方法2.4,其中将抗肿瘤剂在施用PDE1抑制剂之前施用。

[0167] 2.7方法2.4,其中将抗肿瘤剂在施用PDE1抑制剂之后施用。

[0168] 2.8上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和任选的抗肿瘤剂与放疗或化疗一起施用。

[0169] 2.9上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和任选的抗肿瘤剂与放疗或化疗同时施用。

[0170] 2.10上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和任选的抗肿瘤剂在放疗或化疗之前施用。

[0171] 2.11上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和任选的抗肿瘤剂在放疗或化疗之后施用。

[0172] 2.12上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂与抗肿瘤剂、化疗剂、基因治疗剂和/或免疫治疗一起施用。

[0173] 2.13上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂与抗肿瘤剂、化疗剂、基因治疗剂、免疫治疗、皮质类固醇和/或抗组胺药一起施用。

[0174] 2.14上述方法的任一项,其中结肠中的癌或肿瘤细胞由PDE介导。

[0175] 2.15上述方法的任一项,其中结肠中的癌或肿瘤细胞由PDE1介导。

[0176] 2.16上述方法的任一项,其中结肠中的癌或肿瘤细胞由PDE1C介导。

[0177] 2.17上述方法的任一项,还包括评估受试者在表达的PDE1中对钙/钙调蛋白的敏感性程度、环核苷酸水平的恢复、PDE1的RNA表达或PDE1基因的突变的步骤。

[0178] 2.18上述方法的任一项,其中所述受试者为人。

[0179] 本公开还提供了PDE1抑制剂,其用于抑制癌或肿瘤细胞增殖、迁移和/或侵入的方法中,例如用于方法2等的任一项。

[0180] 本公开还提供了PDE1抑制剂在制备用于抑制癌或肿瘤细胞增殖、迁移和/或侵入的方法中的药物、例如用于方法2等的任一项中的药物中的用途。

[0181] 本公开还提供了药物组合物,其包含PDE1抑制剂,例如式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII的化合物的任一种,其用于方法2等的任一项中。

[0182] 在另一个实施方案中,本申请提供了治疗选自癌症或肿瘤性癌症的病症的方法(方法3),包括对有此需要的受试者施用药学有效量的PDE1抑制剂(即式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII的PDE1抑制剂)和检查点抑制剂。

[0183] 3.1方法3,其中所述癌症为结肠癌。

- [0184] 3.2任一上述方法,其中所述癌症为结直肠癌。
- [0185] 3.3上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和检查点抑制剂与放疗或化疗一起施用。
- [0186] 3.4上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和检查点抑制剂与放疗或化疗同时施用。
- [0187] 3.5上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和检查点抑制剂在放疗或化疗之前施用。
- [0188] 3.6上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和检查点抑制剂在放疗或化疗之后施用。
- [0189] 3.7上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂和检查点抑制剂与另外的抗肿瘤剂、化疗剂、基因治疗剂和/或免疫治疗一起施用。
- [0190] 3.8上述方法的任一项,其中施用PDE1抑制剂有效地诱导结肠癌中的如下一种或多种:编程性细胞死亡、迁移抑制、转移抑制,和/或炎症减轻。
- [0191] 3.9上述方法的任一项,其中将PDE1抑制剂与抗肿瘤剂、化疗剂、基因治疗剂、免疫治疗、皮质类固醇和/或抗组胺药一起施用。
- [0192] 3.10上述方法的任一项,其中结肠癌由PDE介导。
- [0193] 3.11上述方法的任一项,其中结肠癌由PDE1介导。
- [0194] 3.12上述方法的任一项,其中结肠癌由PDE1C介导。
- [0195] 3.13上述方法的任一项,其中检查点抑制剂为CTLA-4、PD-1和/或PD-L1的抑制剂。
- [0196] 3.14上述方法的任一项,其中检查点抑制剂选自纳武单抗(Nivolumab)、帕博利珠单抗(Pembrolizumab)、西米普利单抗(cemiplimab)、伊匹木单抗(ipilimumab)、阿维单抗(avelumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)、阿替唑单抗(atezolizumab)、斯巴达珠单抗(spartalizumab)或其组合。
- [0197] 3.15上述方法的任一项,其中所述结肠癌的特征在于钙/钙调蛋白控制丧失。
- [0198] 3.16上述方法的任一项,其中所述受试者为人。
- [0199] 3.17上述方法的任一项,其中以足以减少单核细胞和/或巨噬细胞浸润至肿瘤相关微环境的量施用PDE1抑制剂。
- [0200] 3.18上述方法的任一项,其中以足以减少单核细胞和/或巨噬细胞浸润至肿瘤相关微环境和/或增加天然杀伤细胞和CD4<sup>+</sup>T细胞(即产生TNF $\alpha$ 的CD4<sup>+</sup>T细胞)浸润的量一起施用PDE1抑制剂和检查点抑制剂。
- [0201] 3.19上述方法的任一项,其中以约1-1000mg/kg,例如约250-750mg/kg,例如约400-600mg/kg,例如约500mg/kg的量施用PDE1抑制剂。
- [0202] 本公开还提供了PDE1抑制剂,其用于抑制癌或肿瘤细胞增殖、迁移和/或侵入的方法中,例如用于方法3等的任一项。
- [0203] 本公开还提供了PDE1抑制剂在制备用于抑制癌或肿瘤细胞增殖、迁移和/或侵入的方法中的药物、例如用于方法3等的任一项中的药物中的用途。
- [0204] 本公开还提供了药物组合物,其包含PDE1抑制剂,例如式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII的化合物的任一种,其用于方法3等的任一项中。
- [0205] 在一些实施方案中,将所述药物组合物与一种或多种抗肿瘤药联合施用,例如,已

知在治疗或消除各种类型的癌症和/或肿瘤中具有效果的药物。抗肿瘤药的非限制性实例为Abemaciclib、醋酸阿比特龙 (Abitraterone Acetate)、Abitrexate (甲氨蝶呤)、注射用紫杉醇 (Abraxane) (紫杉醇白蛋白稳定的纳米粒制剂)、ABVD、ABVE、ABVE-PC、AC、阿卡拉布替尼 (Acalabrutinib)、AC-T、Adcetris (本妥昔单抗/Brentuximab Vedotin)、ADE、曲妥珠单抗-美坦新偶联物 (Ado-Trastuzumab Emtansine)、阿霉素 (盐酸多柔比星)、二马来酸阿法替尼 (Afatinib Dimaleate)、Afinitor (依维莫司)、Akynzeo (奈妥匹坦和盐酸帕洛司琼/Netupitant和Palonosetron Hydrochloride)、Aldara (咪喹莫特/Imiquimod)、阿地白介素 (Aldesleukin)、Alecensa (Alectinib)、阿来替尼 (Alectinib)、阿仑珠单抗 (Alemtuzumab)、Alimta (培美曲塞二钠)、Aliqopa (Copanlisib Hydrochloride)、注射用爱克兰 (盐酸美法仑)、Alkeran Tablets (美法仑)、Aloxi (盐酸帕洛司琼)、Alunbrig (布加替尼/Brigatinib)、安布氯 (Ambochlorin) (苯丁酸氮芥)、Ambochlorin (苯丁酸氮芥)、氨磷汀 (Amifostine)、氨基酮戊酸 (Aminolevulinic Acid)、阿那曲唑、阿瑞吡坦 (Aprepitant)、阿可达 (Aredia)、帕米膦酸二钠)、Arimidex (阿那曲唑)、阿诺新 (Aromasin) (依西美坦/Exemestane)、Arranon (Nelarabine)、三氧化二砷 (Arsenic Trioxide)、Arzerra (Ofatumumab)、菊欧文氏菌天冬酰胺酶 (Asparaginase Erwinia chrysanthemi)、阿替唑单抗、Avastin (贝伐单抗)、Avelumab、Axicabtagene CiloleuceL、阿昔替尼 (Axitinib)、阿扎胞苷 (Azacitidine)、Bavencio (Avelumab)、BEACOPP、Becenum (卡莫司汀)、Beleodaq (贝林司他/Belinostat)、贝林司他、盐酸苯达莫司汀 (Bendamustine Hydrochloride)、BEP、Bespensa (奥英妥珠单抗/Inotuzumab Ozogamicin)、贝伐单抗 (Bevacizumab)、贝沙罗汀 (Bexarotene)、比卡鲁胺、BiCNU (卡莫司汀)、博来霉素、博纳妥单抗 (Blinatumomab)、Blincyto (博纳妥单抗)、硼替佐米、Bosulif (波舒替尼/Bosutinib)、波舒替尼、本妥昔单抗、布加替尼 (Brigatinib)、BuMel、白消安、Busulfex (白消安)、卡巴他赛 (Cabazitaxel)、Cabometyx (卡博替尼/Cabozantinib-S-苹果酸盐)、卡博替尼-S-苹果酸盐、CAF、Calquence (阿卡拉布替尼/Acalabrutinib)、Campath (阿仑珠单抗/Alemtuzumab)、Camptosar (盐酸伊立替康)、卡培他滨、CAPOX、Carac (Fluorouracil--Topical)、卡铂、CARBOPLATIN-TAXOL、卡非佐米 (Carfilzomib)、Carmubris (卡莫司汀)、卡莫司汀、卡莫司汀植入物、Casodex (比卡鲁胺)、CEM、塞利替尼 (Ceritinib)、Cerubidine (盐酸柔红霉素)、Cervarix (重组HPV二价疫苗)、西妥昔单抗、CEV、苯丁酸氮芥、苯丁酸氮芥-泼尼松、CHOP、顺铂、克拉屈滨、Clafen (环磷酰胺)、氯法拉滨、Clofarex (氯法拉滨)、Clolar (氯法拉滨)、CMF、钴美替尼 (Cobimetinib)、Cometriq (卡博替尼-S-苹果酸盐)、Copanlisib Hydrochloride、COPDAC、COPP、COPP-ABV、Cosmegen (更生霉素/Dactinomycin)、Cotellic (柯比美替尼/Cobimetinib)、克唑替尼 (Crizotinib)、CVP、环磷酰胺、Cyfos (异环磷酰胺)、Cyramza (雷莫芦单抗/Ramucirumab)、阿糖胞苷、阿糖胞苷脂质体、Cytosar-U (阿糖胞苷)、Cytosan (环磷酰胺)、达拉非尼 (Dabrafenib)、达卡巴嗪、Dacogen (地昔他滨/Decitabine)、更生霉素、达雷木单抗 (Daratumumab)、Darzalex (达雷木单抗)、达沙替尼 (Dasatinib)、盐酸柔红霉素、盐酸柔红霉素和阿糖胞苷脂质体、地昔他滨、去纤苷钠 (Defibrotide Sodium)、Defitelio (去纤苷钠)、地加瑞克 (Degarelix)、地尼白介素 (Denileukin Diftitox)、地诺单抗 (Denosumab)、DepoCyt (阿糖胞苷脂质体)、地塞米松、盐酸右雷佐生 (Dexrazoxane Hydrochloride)、地奴妥昔单抗 (Dinutuximab)、多西他赛、Doxil (盐酸多柔比星脂质体)、

盐酸多柔比星、盐酸多柔比星脂质体、Dox-SL (盐酸多柔比星脂质体)、DTIC-Dome (达卡巴嗪)、德瓦鲁单抗、Efudex (氟尿嘧啶一局部用)、Elitek (拉布立酶/Rasburicase)、Ellence (盐酸表柔比星)、埃洛图珠单抗 (Elotuzumab)、Eloxatin (奥沙利铂)、埃洛波帕醇胺 (Eltrombopag Olamine)、Emend (阿瑞吡坦/Aprepitant)、Empliciti (埃洛图珠单抗)、甲磺酸依那替尼 (Enasidenib Mesylate)、安扎鲁胺 (Enzalutamide)、盐酸表柔比星、EPOCH、Erbitux (西妥昔单抗)、甲磺酸艾立布林 (Eribulin Mesylate)、Erivedge (Vismodegib)、盐酸厄洛替尼 (Erlotinib Hydrochloride)、Erwinaze (菊欧文氏菌天冬酰胺酶)、Ethyol (氨磷汀)、Etopophos (磷酸依托泊苷)、依托泊苷、磷酸依托泊苷、Evacet (盐酸多柔比星脂质体)、依维莫司、Evista (盐酸雷洛昔芬)、Evomela (盐酸美法仑)、依西美坦、5-FU (氟尿嘧啶注射液)、5-FU (氟尿嘧啶一局部用)、Fareston (托瑞米芬)、Farydak (帕比司他/Panobinostat)、Faslodex (氟维司群)、FEC、Femara (来曲唑)、非格司亭 (Filgrastim)、Fludara (磷酸氟达拉滨)、磷酸氟达拉滨、Fluoroplex (氟尿嘧啶一局部用)、氟尿嘧啶注射液、氟尿嘧啶一局部用、氟他胺、Folex (甲氨蝶呤)、Folex PFS (甲氨蝶呤)、伊立替康 (Folfiri)、伊立替康-贝伐单抗、伊立替康-西妥昔单抗、Folfirinox、奥沙利铂 (Folfox)、Folotyn (普拉曲沙/Pralatrexate)、FU-LV、氟维司坦、Gardasil (重组HPV四价疫苗)、Gardasil9 (重组HPV Nonvalent疫苗)、Gazyva (Obinutuzumab)、吉非替尼、盐酸吉西他滨、吉西他滨-顺铂、吉西他滨-奥沙利铂、吉姆单抗奥佐米星 (Gemtuzumab Ozogamicin)、Gemzar (盐酸吉西他滨)、Gilotrif (二马来酸阿法替尼)、Gleevec (甲磺酸伊马替尼)、Gliadel (卡莫司汀植入物)、Gliadel wafer (卡莫司汀植入物)、谷卡匹酶 (Glucarpidase)、醋酸性瑞林 (Goserelin Acetate)、Halaven (甲磺酸艾立布林/Eribulin Mesylate)、Hemangeol (盐酸普萘洛尔)、赫赛汀/Herceptin (曲妥珠单抗)、HPV二价疫苗、重组HPV Nonvalent疫苗、重组HPV四价疫苗、Recombinant、美新/Hycamtin (盐酸拓扑替康)、Hydrea (羟基脲)、羟基脲、Hyper-CVAD、Ibrance (帕博昔布/Palbociclib)、替伊莫单抗 (Ibritumomab Tiuxetan)、伊布替尼 (Ibrutinib)、ICE、Iclusig (盐酸帕那替尼/Ponatinib Hydrochloride)、Idamycin (盐酸伊达比星)、盐酸伊达比星、爱德拉昔布 (Idelalisib)、Idhifa (甲磺酸依那替尼/Enasidenib Mesylate)、Ifex (异环磷酰胺)、异环磷酰胺、Ifosfamidum (异环磷酰胺)、IL-2 (阿地白介素)、甲磺酸伊马替尼、Imbruvica (伊布替尼)、Imfinzi (德瓦鲁单抗)、咪喹莫特、Imlygic (Talimogene Laherparepvec)、Inlyta (阿昔替尼)、吉姆单抗奥佐米星、干扰素 $\alpha$ -2b、重组白细胞介素-2 (阿地白介素)、Intron A (重组干扰素 $\alpha$ -2b)、伊匹木单抗、伊丽沙/Iressa (吉非替尼)、盐酸伊立替康、盐酸伊立替康脂质体、Istodax (罗米地新/Romidepsin)、伊沙匹隆 (Ixabepilone)、Ixazomib Citrate、Ixempra (伊沙匹隆)、Jakafi (Ruxolitinib Phosphate)、JEB、Jevtana (卡巴他赛)、Kadcyla (Ado-Trastuzumab Emtansine)、雷洛昔芬/Keoxifene (盐酸雷洛昔芬)、Kepivance (帕利夫明/Palifermin)、Keytruda (帕博利珠单抗)、Kisqali (Ribociclib)、Kymriah (Tisagenlecleucel)、Kyprolis (卡非佐米/Carfilzomib)、醋酸兰瑞肽 (Lanreotide Acetate)、二甲苯磺酸拉帕替尼 (Lapatinib Ditosylate)、Lartruvo (奥拉单抗/Olaratumab)、来那度胺 (Lenalidomide)、甲磺酸乐伐替尼 (Lenvatinib Mesylate)、Lenvima (甲磺酸乐伐替尼)、来曲唑、亚叶酸钙 (Leucovorin Calcium)、瘤可宁/Leukeran (苯丁酸氮芥)、醋酸亮丙瑞林 (Leuprolide Acetate)、Leustatin (克拉屈滨)、Levulan (氨

基酮戊酸)、Linfolizin(苯丁酸氮芥)、LipoDox(盐酸多柔比星脂质体)、洛莫司汀(Lomustine)、Lonsurf(曲氟尿苷和盐酸替匹拉西/Trifluridine和Tipiracil Hydrochloride)、Lupron(醋酸亮丙瑞林)、Lupron Depot(醋酸亮丙瑞林)、Lupron Depot-Ped(醋酸亮丙瑞林)、Lynparza(奥拉帕利/Olaparib)、Marqibo(硫酸长春新碱脂质体)、Matulane(盐酸丙卡巴肼)、盐酸氮芥、醋酸甲地孕酮(Megestrol Acetate)、Mekinist(曲美替尼/Trametinib)、美法仑、盐酸美法仑、巯嘌呤、Mesna、Mesnex(美司钠)、Methazolastone(替莫唑胺)、甲氨蝶呤、甲氨蝶呤LPF(甲氨蝶呤)、甲基纳曲酮溴化物、Mexate(甲氨蝶呤)、Mexate-AQ(甲氨蝶呤)、米哌妥林(Midostaurin)、丝裂霉素C、盐酸米托蒽醌、Mitozytrex(丝裂霉素C)、MOPP、Mozobil(普乐沙福/Plerixafor)、Mustargen(盐酸氮芥)、Mutamycin(丝裂霉素C)、Myleran(白消安)、Mylosar(阿扎胞苷)、Mylotarg(吉姆单抗奥佐米星)、紫杉醇纳米粒(紫杉醇白蛋白-稳定的纳米粒制剂)、诺维本/Navelbine(酒石酸长春瑞滨)、奈西木单抗(Necitumumab)、奈拉滨(Nelarabine)、Neosar(环磷酰胺)、马来酸奈拉替尼(Neratinib Maleate)、Nerlynx(马来酸奈拉替尼)、奈妥匹坦和盐酸帕洛诺司琼、Neulasta(聚乙二醇化非格司亭/Pegfilgrastim)、优保津/Neupogen(非格司亭)、Nexavar(甲苯磺酸索拉非尼/Sorafenib Tosylate)、Nilandron(尼鲁米特)、尼洛替尼、尼鲁米特、Ninlaro(Ixazomib Citrate)、一水甲苯磺酸尼拉帕利(Niraparib Tosylate Monohydrate)、纳武单抗、Nolvadex(枸橼酸他莫昔芬)、Nplate(罗米司亭/Romiplostim)、阿托珠单抗(Obinutuzumab)、Odomzo(Sonidegib)、OEPA、Ofatumumab、OFF、奥拉帕利、奥拉单抗、Omacetaxine Mepesuccinate、Oncaspar(Pegasparase)、盐酸昂丹司琼(Ondansetron Hydrochloride)、Onivyde(盐酸伊立替康脂质体)、Ontak(地尼白介素)、Opdivo(纳武单抗)、OPPA、奥希替尼(Osimertinib)、奥沙利铂、紫杉醇、紫杉醇白蛋白稳定的纳米粒制剂、PAD、帕博昔布、帕利夫明、盐酸帕洛司琼、盐酸帕洛司琼和奈妥匹坦、帕米麟酸二钠、帕木单抗(Panitumumab)、帕比司他、Paraplat(卡铂)、Paraplatin(卡铂)、盐酸帕佐帕尼(Pazopanib Hydrochloride)、PCV、PEB、培门冬酶(Pegasparase)、聚乙二醇化非格司亭、聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2b、聚乙二醇内含子(聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2b)、帕博利珠单抗、培美曲塞二钠、Perjeta(培妥珠单抗/Pertuzumab)、培妥珠单抗、Platinol(顺铂)、Platinol-AQ(顺铂)、普乐沙福、泊马度胺(Pomalidomide)、Pomalyst(泊马度胺)、盐酸泊那替尼(Ponatinib Hydrochloride)、Portrazza(奈昔木单抗/Necitumumab)、普拉曲沙、泼尼松、盐酸丙卡巴肼、Proleukin(阿地白介素)、Prolia(地诺单抗)、Promacta(Eltrombopag Olamine)、盐酸普萘洛尔、Provence(Sipuleucel-T)、Purinethol(巯嘌呤)、Purixan(巯嘌呤)、二氯化镭223、盐酸雷洛昔芬、雷莫芦单抗、拉布立酶、R-CHOP、R-CVP、重组人乳头瘤病毒(HPV)二价疫苗、重组人乳头瘤病毒(HPV) Nonvalent疫苗、重组人乳头瘤病毒(HPV)四价疫苗、重组干扰素 $\alpha$ -2b、瑞戈非尼(Regorafenib)、Relistor(甲基纳曲酮溴化物、R-EPOCH、Revlimid(来那度胺)、Rheumatrex(甲氨蝶呤)、Ribociclib、R-ICE、Rituxan(利妥昔单抗)、Rituxan Hycela(利妥昔单抗和人透明质酸酶)、利妥昔单抗、利妥昔单抗和人透明质酸酶、盐酸罗拉匹坦(Rolapitant Hydrochloride)、罗米地新、罗米司亭(Romiplostim)、红比霉素/Rubidomycin(盐酸柔红霉素)、Rubraca(右旋樟脑磺酸鲁卡帕利/Rucaparib Camsylate)、右旋樟脑磺酸鲁卡帕利、磷酸鲁索替尼(Ruxolitinib Phosphate)、Rydapt(米哌妥林)、Sclerosol胸膜内气雾剂(滑石粉)、司妥昔单抗(Siltuximab)、Sipuleucel-T、促生长素抑

制素储库制剂/Somatuline Depot (醋酸兰瑞肽)、Sonidegib、对甲苯磺酸索拉非尼、Sprycel (达沙替尼)、STANFORD V、无菌滑石粉 (滑石粉)、Steritalc (滑石粉)、Stivarga (瑞戈非尼)、苹果酸舒尼替尼 (Sunitinib Malate)、索坦/Sutent (苹果酸舒尼替尼)、Sylatron (聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2b)、Sylvant (司妥昔单抗)、Synribo (Omacetaxine Mepesuccinate)、Tabloid (硫鸟嘌呤)、TAC、Tafinlar (达拉非尼)、Tagrisso (奥希替尼)、滑石粉、Talimogene Laherparepvec、枸橼酸他莫昔芬、Tarabine PFS (阿糖胞苷)、Tarceva (盐酸厄洛替尼)、Targretin (贝沙罗汀)、Tasigna (尼洛替尼)、Taxol (紫杉醇)、Taxotere (多西紫杉醇)、Tecentriq (阿替唑单抗)、Temodar (替莫唑胺)、替莫唑胺、坦西莫司 (Temsirolimus)、沙立度胺、Thalomid (沙立度胺)、硫鸟嘌呤、塞替派、Tisagenlecleucel、Tolak (氟尿嘧啶—局部)、盐酸拓扑替康、托瑞米芬、Torisel (坦西莫司/Temsirolimus)、Totect (盐酸右雷佐生)、TPF、曲贝替定 (Trabectedin)、曲美替尼 (Trametinib)、曲妥珠单抗、Treanda (盐酸苯达莫司汀/Bendamustine Hydrochloride)、曲氟尿苷和盐酸替匹拉西、Trisenox (三氧化二砷)、Tykerb (二甲苯磺酸拉帕替尼)、Unituxin (地奴妥昔单抗)、三乙酸尿苷、VAC、戊柔比星、Valstar (戊柔比星)、凡德他尼 (Vandetanib)、VAMP、Varubi (盐酸罗拉匹坦)、Vectibix (帕木单抗)、VeIP、Velban (硫酸长春碱)、Velcade (硼替佐米)、Velsar (硫酸长春碱)、维罗非尼 (Vemurafenib)、Venclexta (Venetoclax)、Venetoclax、Verzenio (Abemaciclib)、Viadur (醋酸亮丙瑞林)、Vidaza (阿扎胞苷)、硫酸长春碱、Vincasar PFS (硫酸长春新碱)、硫酸长春新碱、硫酸长春新碱脂质体、酒石酸长春瑞滨、VIP、维莫德吉 (Vismodegib)、Vistogard (三乙酸尿苷)、Voraxaze (谷卡匹酶/Glucarpidase)、伏力诺他 (Vorinostat)、Votrient (盐酸帕唑帕尼/Pazopanib Hydrochloride)、Vyxeos (盐酸柔红霉素和阿糖胞苷脂质体)、Wellcovorin (亚叶酸钙)、Xalkori (克唑替尼)、Xeloda (卡培他滨)、XELIRI、XELOX、Xgeva (地诺单抗)、Xofigo (二氯化镭223)、Xtandi (安扎鲁胺)、Yervoy (伊匹木单抗)、Yescarta (Axicabtagene Ciloleucel)、Yondelis (曲贝替定)、Zaltrap (Ziv-Aflibercept)、Zarxio (非格司亭)、Zejula (一水甲苯磺酸尼拉帕利)、Zelboraf (维罗非尼)、Zevalin (替伊莫单抗)、Zinecard (盐酸右雷佐生)、Ziv-Aflibercept、Zofran (盐酸昂丹司琼)、Zoladex (醋酸性瑞林)、唑来膦酸、Zolinza (伏力诺他/Vorinostat)、Zometa (唑来膦酸)、Zydelig (爱德拉西布/Idelalisib)、Zykadia (塞利替尼)、Zytiga (醋酸阿比特龙/Abiraterone Acetate)。

[0206] 如本文所用,术语“抗肿瘤剂”应理解为是指有效预防或抑制癌或肿瘤形成或生长的任一化学试剂或药物。本文所述的抗肿瘤剂可以包括烷化剂、抗代谢药、天然产物、激素和/或抗体。肿瘤或癌症的治疗可以包括限制癌或肿瘤细胞在体内增殖、迁移和/或侵入或限制与所述癌症或肿瘤相关的症状。如本文所用,抗肿瘤剂应理解为包括抗癌剂,否则就是与抗癌剂为同义词。

[0207] 制备本公开化合物的方法

[0208] 本公开的PDE1抑制剂及其药学上可接受的盐可以使用如下列文献中所述和示例的方法、并且通过与之类似的方法和通过化学领域公知的方法制备:US 8,273,750、US 2006/0173878、US 8,273,751、US 2010/0273753、US 8,697,710、US 8,664,207、US 8,633,180、US 8,536,159、US 2012/0136013、US 2011/0281832、US 2013/0085123、US 2013/0324565、US 2013/0338124、US 2013/0331363、WO 2012/171016和WO 2013/192556。这类方

法包括但不限于下文所述的那些。如果无法商购,则用于这些方法的原料可以通过选自使用与已知化合物合成类似或相似的技术的化学方法制备。

[0209] 可以使用下列文献中所述的方法制备各种PDE1抑制剂及其原料:US 2008-0188492A1、US 2010-0173878 A1、US 2010-0273754 A1、US 2010-0273753A1、WO 2010/065153、WO 2010/065151、WO 2010/065151、WO 2010/065149、WO 2010/065147、WO 2010/065152、WO 2011/153129、WO 2011/133224、WO 2011/153135、WO 2011/153136、WO 2011/153138。本文引述的所有参考文献通过引用整体并入本文。

[0210] 另外的PDE1抑制剂和相关方法公开在美国临时申请62/833,481中,其通过引用整体并入本文。另外的相关PDE1抑制剂和相关方法公开在国际公布号W02018/049417中,其通过引用整体并入本文。

[0211] 本公开的化合物包括其对映体、非对映异构体和外消旋体及其多晶型物、水合物、溶剂化物和配合物。本公开范围内的一些单个化合物可以包含双键。本公开中双键的表示意味着包括双键的E和Z异构体。此外,本公开范围内的一些化合物可以包含一个或多个不对称中心。本公开包括光学纯的立体异构体的任一种和立体异构体的任意组合的用途。

[0212] 还预期,公开的化合物包括其稳定和不安定的同位素。稳定的同位素为放射性同位素,与同一种类(即元素)的丰富核素相比其包含一个额外的中子。预期包含这类同位素的化合物的活性可以得到保留,并且这类化合物还可以具有测定非同位素类似物的药代动力学的用途。例如,本公开的化合物上某一位置上的氢原子可以被氘替代(为非放射性的稳定的同位素)。已知的稳定同位素的实例包括但不限于氘、<sup>13</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>18</sup>O。或者,为与同一种类(即元素)的丰富核素相比其包含一个额外中子的放射性同位素的不稳定同位素例如<sup>123</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>11</sup>C、<sup>18</sup>F可以替代I、C和F的相应丰富种类。本公开化合物的有用同位素的另一个实例为<sup>11</sup>C同位素。这些放射性同位素可用于本公开化合物的放射成像和/或药代动力学研究。

[0213] 熔点未经校正并且(dec)表示分解。温度以摄氏度(°C)给出;除非另有说明,否则操作在室温或环境温度下进行,即在18-25°C的温度下进行。色谱法是指硅胶快速色谱法;在硅胶板上进行薄层色谱(TLC)。NMR数据以主要诊断质子的 $\delta$ 表示,以相对于作为内标的四甲基硅烷(TMS)值的百万分率(ppm)给出。使用信号形状的常规缩写。耦合常数(J)以Hz给出。对于质谱(MS),对于同位素分裂导致多个质谱峰的分子,报告最低质量主要离子。溶剂混合物组成作为体积百分比或体积比给出。在NMR光谱复杂的情况下,仅报告诊断信号。

[0214] 措词“治疗”由此应理解为包括治疗或缓解疾病症状和治疗疾病的原因。

[0215] 对于治疗方法,措词“有效量”预期包括治疗特定疾病或障碍的治疗有效量。

[0216] 术语“患者”包括人或非(即动物)患者。在具体的实施方案中,本公开包括人和非人。在另一个实施方案中,本公开包括非人。在另外的实施方案中,该术语包括人。

[0217] 作为在本公开中使用的术语“包含”预期为开放式的且不排除另外的未描述的要素或方法步骤。

[0218] 在实施本公开中采用的剂量当然将根据例如所治疗的特定疾病或病症、所用的特定的本公开化合物、施用方式和期望的疗法的不同而改变。本公开的化合物可以通过任何适合的途径施用,包括口服、肠胃外、透皮或通过吸入,但优选口服施用。一般而言,例如用于治疗如上文所述的疾病的令人满意的结果指示以约0.01-2.0mg/kg量级的剂量口服施用

得到。在较大的哺乳动物中,例如人,用于口服施用PDE1抑制剂的指示日剂量由此在约0.50-300mg范围,便利地每日施用1次,或分2-4次剂量,或以缓释形式。用于口服施用的单位剂型由此例如可以包含约0.2-150或300mg,例如约0.2或2.0-10、25、50、75、100、150或200mg的本公开的化合物与其药学上可接受的稀释剂或载体。

[0219] 本公开的化合物、特别是用于方法1或2等的任一项中或在其中的施用,可以作为治疗癌症或肿瘤例如结直肠癌所必需的较高剂量施用。可以设想,这类方法中施用PDE1抑制剂可以在约50mg-1000mg/日。例如,可以给针对方法1-6等的任一项的病症施用PDE1抑制剂的患者施用式I、Ia、II、III、IV、V、VI和/或VII的PDE1抑制剂,其用量为50mg-1000mg/日、50mg-900mg/日、50mg-800mg/日、50mg-700mg/日、50mg-600mg/日、50mg-500mg/日、50mg-400mg/日、50mg-350mg/日、50mg-300mg/日、50mg-250mg/日、50mg-200mg/日、50mg-150mg/日或50mg-100mg/日。

[0220] 本公开的化合物可以通过任何令人满意的途径施用,包括口服、肠胃外(静脉内、肌内或皮下)或透皮施用,但优选口服施用。在某些实施方案中,本公开的化合物例如在长效制剂(depot formulation)中优选通过肠胃外施用,例如通过注射施用。

[0221] 本公开的化合物和本公开的药物组合物可以与一种或多种另外的治疗剂联合使用,特别是以低于当单个活性剂作为单一疗法时的剂量,以便增强组合活性剂的治疗活性,而不会导致通常在常规单一疗法中发生的不期望副作用。因此,本公开的化合物可以与其他用于治疗疾病的活性剂同时、单独、依次或同期地施用。在另一个实例中,通过施用本公开的化合物与一种或多种另外的游离或盐形式的治疗剂,可以减少副作用或将其减少到最低限度,其中(i)一种或多种第二种活性剂或(ii)本公开化合物和第二种活性剂的剂量低于如果所述活性剂/化合物作为单一疗法施用时的剂量。作为非限制性实例,这类另外的治疗剂可以包括ACE抑制剂、血管紧张素II受体拮抗剂、钙通道阻滞剂等。

[0222] 术语“同时”在指治疗用途时是指在或约相同时间、通过相同施用途途径施用两种或多种活性成分。

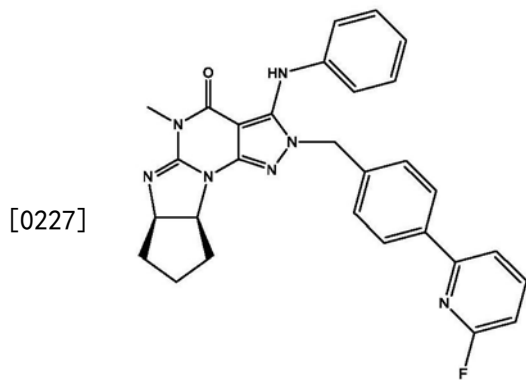
[0223] 术语“单独地”在指治疗用途时是指在或约相同时间、通过不同的施用途途径施用两种或多种活性成分。

[0224] 包含本公开化合物的药物组合物可以使用盖仑领域(galenic art)已知的常规稀释剂或赋形剂和技术制备。因此,口服剂型可以包括片剂、胶囊、溶液、混悬液等。

## 实施例

[0225] 实施例1:测定PDE1抑制剂抑制鼠结肠癌生长的能力

[0226] 将癌细胞的等分试样注入BALB/C小鼠的肩胛下空间以诱导结肠癌。当测量肿瘤体积时,允许肿瘤生长7天。一旦肿瘤形成,则开始药物治疗(50mg/kg化合物1,每日1次i.p.,在0.5%甲基纤维素媒介物中),并且每天观察肿瘤生长并记录。化合物1如下所示:



化合物 1

[0228] 注射后30天处死小鼠，并且从小鼠中分离肿瘤。如图1所示，化合物1在30天后显著减缓了CT26细胞样品中的肿瘤生长。

[0229] 然后将肿瘤酶解成单细胞混悬液，用荧光团标记的抗体染色并通过流式细胞术进行分析。对细胞进行分选并分析免疫标志物。如图2中所示，用化合物1处理导致单核细胞和CD8 T-细胞显著增加，但在肿瘤微环境中观察到巨噬细胞存在显著减少。不受理论束缚，认为PDE1抑制剂具有调节肿瘤微环境中免疫功能的能力，其中一种方式包括减少巨噬细胞对肿瘤的侵袭。由此认为，这允许先天免疫系统更有效地靶向肿瘤细胞，这与本文观察到的结果一致（即肿瘤微环境中T细胞的活化增加）。

[0230] 实施例2：PDE1抑制剂与检查点抑制剂的共同施用在抑制鼠癌生长中的分析

[0231] 评估了化合物1单独或联合亚有效剂量的检查点抑制剂抗-PD-1对BALB/c小鼠中CT26异种移植肿瘤生长的影响。将首次接受治疗的带有肿瘤的小鼠（即同种型组）与接受实施例1中定义的化合物1单一疗法的小鼠组、接受亚有效剂量的检查点抑制剂（抗-PD-1抗体）的小鼠组以及接受化合物1和亚有效剂量的抗-PD-1抗体的小鼠进行比较。

[0232] 给BALB/c小鼠在第0天皮下注射CT26细胞，然后在第7天分成4组：(1) 化合物1治疗，(50mg/kg, i.p.qd), 5天/周；(2) 同种型组，第7、10和14天的ip mlGg同种型；(3) 抗-PD-1组，在第7、10和14天i.p.施用；和(4) 联合组，以化合物1和抗-PD-1治疗作为第1组和第3组。每隔2或3天测量肿瘤体积。在第17-18天，切除、解剖肿瘤并用于制备单细胞混悬液。将这些肿瘤单细胞混悬液与FC阻滞剂(eBioscience)一起温育，然后在黑暗中在冰上用抗体染色。通过FACSCalibur、LSRII或LSRII黄(BD Biosciences)获取样品，并用FlowJo(Tree Star)分析。

[0233] 在同种型治疗组中，9只小鼠中有0只显示出肿瘤清除（即肿瘤显示体积小于100mm<sup>3</sup>），而在化合物1治疗组中5只小鼠中有1只、在抗-PD-1治疗组中10只小鼠中有1只显示出肿瘤清除。然而，化合物1和抗-PD-1联合治疗组中15只小鼠中有7只显示出肿瘤清除。在实验结束时，也称重肿瘤。结果显示，接受化合物1和抗-PD-1联合治疗的小鼠的肿瘤重量显著低于同种型治疗的对照组。

[0234] 肿瘤浸润性免疫细胞的荧光激活细胞分选(FACS)揭示出，来自化合物1单一疗法治疗的小鼠的肿瘤显示CD45<sup>+</sup>肿瘤（浸润性）巨噬细胞和单核细胞的数量显著减少，并且化合物1和抗-PD-1的联合疗法通过引发增加数量的CD45<sup>+</sup>天然杀伤(NK)细胞和产生TNFa的CD4 T细胞而增强了抗肿瘤免疫性。结果启示：单独的化合物1能够减少肿瘤巨噬细胞，其增

强抗-PD-1的抗肿瘤免疫性。

[0235] 所提供的实施例的替代组合和变化基于本公开将变得显而易见。不可能为所述实施方案的所有许多可能的变化形式提供具体实施例,但是这样的组合和变化形式可以是最终发布的权利要求。

CT26 平均值+SE

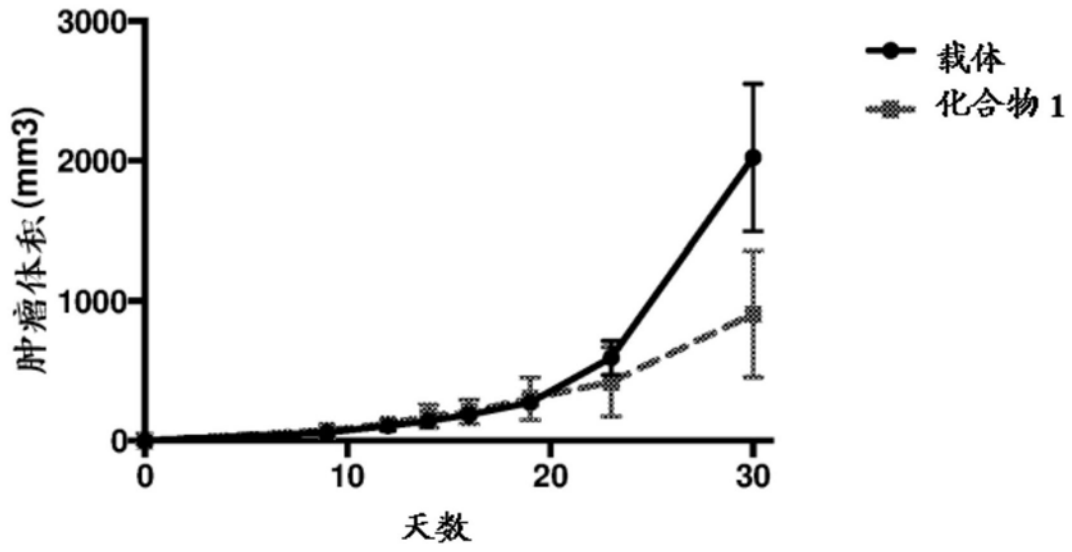


图1

CD45 的%

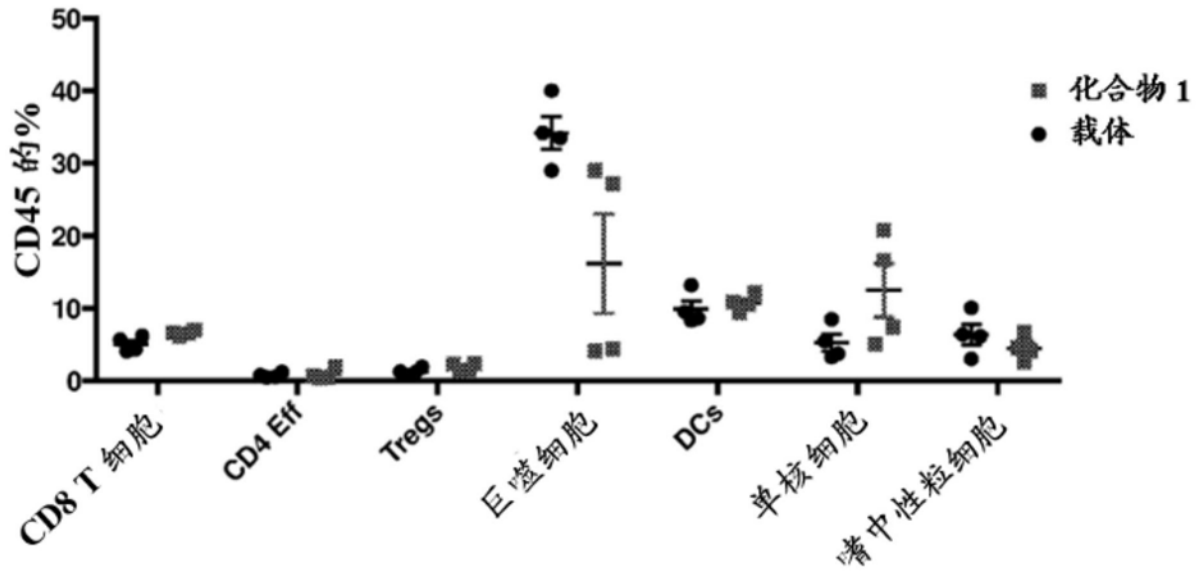


图2