



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107233343 A

(43)申请公布日 2017. 10. 10

(21)申请号 201710422676.3

A61K 31/337(2006.01)

(22)申请日 2012.03.30

A61P 35/00(2006.01)

(30)优先权数据

61/470,803 2011.04.01 US

61/470,624 2011.04.01 US

(62)分案原申请数据

201280027028.3 2012.03.30

(71)申请人 基因泰克公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 K·林 M·南尼尼 E·彭努斯

D·桑帕思 J·瓦林 P·帕特尔

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 郭杰

(51)Int.Cl.

A61K 31/517(2006.01)

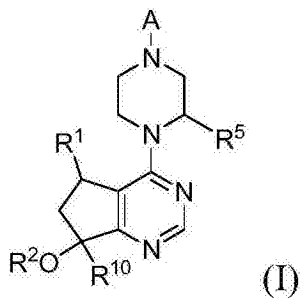
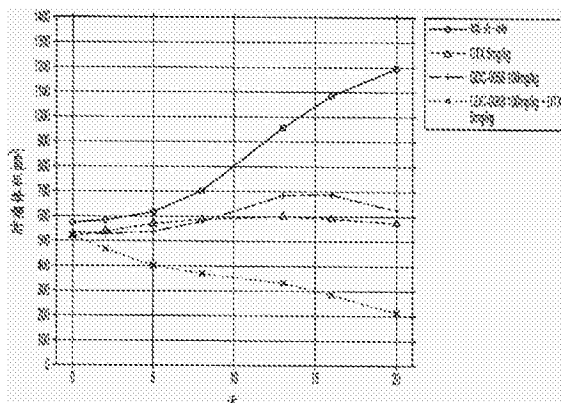
权利要求书1页 说明书60页 附图42页

(54)发明名称

AKT抑制剂化合物和化疗剂的组合以及使用方法

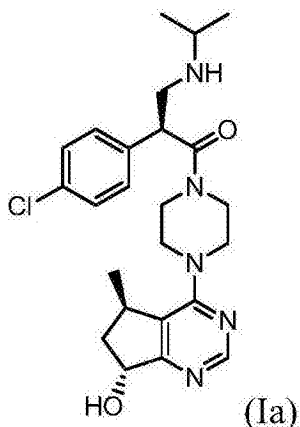
(57)摘要

本发明提供组合,其包含a)式I化合物或者其药用盐,其中 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^{10}$ ,和A具有说明书中定义的任何值;和b)选自5-FU、铂剂、甲酰四氢叶酸、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、紫杉醇、贝伐单抗、培妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素和拉帕替尼的一种或者多种药物。所述组合对于治疗过度增殖性病症如癌症特别有用。



1. 在人类患者中治疗提高的AKT激酶活性所调节的疾病或病症的方法,其包括向所述患者给药:

a) 治疗有效量的式Ia化合物:



或其药用盐;和

b) 治疗有效量的紫杉醇或其药用盐,  
从而治疗性处置乳腺癌。

2. 权利要求1的方法,其中所述乳腺癌与PTEN突变相关。

3. 权利要求1的方法,其中所述乳腺癌与AKT突变、过表达或扩增相关。

4. 权利要求1的方法,其中所述乳腺癌与PI3K突变相关。

5. 权利要求1的方法,其中所述乳腺癌与Her2/ErbB2突变或扩增相关。

6. 权利要求1的方法,其中所述组合在治疗所述乳腺癌中提供协同效应。

7. 权利要求6的方法,其中所述协同效应的组合指数值小于约0.8。

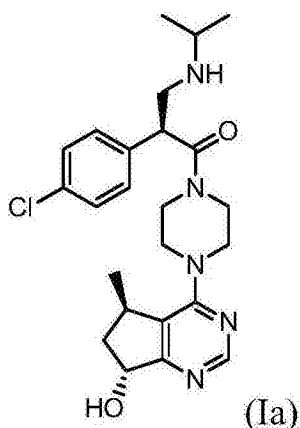
8. 权利要求1的方法,其中所述式Ia化合物或其盐与紫杉醇或其盐同时给药。

9. 权利要求1的方法,其中所述式Ia化合物或其盐与紫杉醇或其盐先后给药。

10. 权利要求1的方法,其中所述式Ia化合物或其盐与紫杉醇或其盐分开给药。

11. 在有此需要的人类患者中治疗乳腺癌的方法,其包括向所述患者给药:

a) 治疗有效量的式Ia化合物:



或其药用盐;和

b) 治疗有效量的紫杉醇或其药用盐。

## AKT抑制剂化合物和化疗剂的组合以及使用方法

[0001] 本申请是中国申请号为201280027028.3、发明名称为“AKT抑制剂化合物和化疗剂的组合以及使用方法”且申请日为2012年3月30日的专利申请(PCT申请号为PCT/US2012/031720)的分案申请。

[0002] 发明的优先权

[0003] 本申请要求2011年4月1日申请的美国临时申请61/470,803和2011年4月1日申请的美国临时申请61/470,624的优先权。将这些临时申请的全部内容并入本文作为参考。

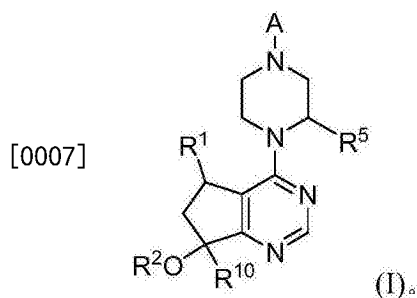
### 技术领域

[0004] 本发明大体涉及化合物的药物组合,所述化合物具有针对过度增殖性病症(例如癌症)的活性并且包括抑制AKT激酶活性的化合物。本发明还涉及将所述组合用于体外、原位和体内诊断或者治疗哺乳动物细胞或者有关病理学病症的方法。

### 背景技术

[0005] 蛋白激酶(PK)是通过转移ATP上的末端( $\gamma$ )磷酸酯,催化蛋白的酪氨酸、丝氨酸和苏氨酸残基上羟基的磷酸化的酶。通过信号转导途径,这些酶调节细胞生长、分化和增殖,即细胞周期的几乎所有方面以某种或者其它方式取决于PK活性(Hardie,G.和Hanks,S.(1995)The Protein Kinase Facts Book.I and II,Academic Press,San Diego,CA)。此外,PK活性异常与许多病症有关,范围从相对无生命危险的疾病例如牛皮癣至极其致命的疾病例如恶性胶质瘤(脑癌)。蛋白激酶是治疗调节的重要靶向类别(Cohen,P.(2002)Nature Rev.Drug Discovery 1:309)。

[0006] 国际专利申请公开WO 2008/006040详述了一系列式I的AKT抑制剂:



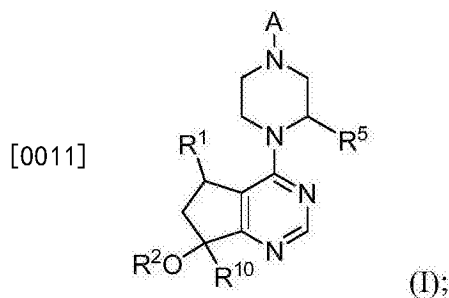
[0008] 目前,仍然需要可用于治疗过度增殖性疾病(例如癌症)的改善的方法和组合物。

### 发明内容

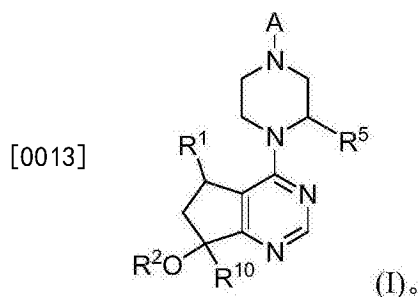
[0009] 已经确定的是,体外和体内抑制癌细胞生长的累加或者协同效应可通过给予式I的化合物或者其药用盐与其它某些具体的化疗剂的组合来实现。所述组合和方法可用于过度增殖性病症(例如癌症)的治疗。

[0010] 本发明的一个方面提供了治疗哺乳动物中过度增殖性病症的方法,其包括对哺乳动物给予:a)式I的化合物或者其药用盐;以及b)选自:5-FU、铂剂(卡铂、顺铂、奥沙利铂等等)、伊立替康、多西他赛(docetaxel)、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄

洛替尼(erlotinib)、PD-0325901、紫杉醇(paclitaxel)、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973中的一种或者多种药剂,所述式I为:



[0012] 一个方面包括a) 式I化合物或者其药用盐和b) 选自5-FU、铂剂、甲酰四氢叶酸、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、紫杉醇、贝伐单抗、培妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素和拉帕替尼或其药用盐的药剂的组合,其用于预防性或者治疗性处置治疗过度增殖性病症,所述式I为:



[0014] 在一个实例中,式I化合物为GDC-0068或者其盐。

[0015] 式I的化合物或者其药用盐和化疗剂可共同配制用于作为药物组合物的组合给药或者它们可作为治疗性组合交替(先后)分开给药。

[0016] 本发明的一个方面提供了治疗哺乳动物中由AKT激酶所调节的疾病或者病症的方法,其包括对所述哺乳动物给予:a) 式I的化合物或者其药用盐;以及b) 一种或者多种药剂,所述药剂选自:5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。

[0017] 本发明的一个方面提供了用于治疗过度增殖性病症的组合,所述组合包含:a) 式I的化合物或者其药用盐;以及b) 一种或者多种药剂,所述药剂选自:5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。

[0018] 本发明的一个方面提供了用于治疗由AKT激酶所调节的疾病或者病症的组合,所述组合包含:a) 式I的化合物或者其药用盐;以及b) 一种或者多种药剂,所述药剂选自:5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。

[0019] 本发明的一个方面提供了式I的化合物或者其药用盐在制备用于治疗哺乳动物中

过度增殖性病症的药物中的用途,其中对所述哺乳动物给予一种或者多种药剂,所述药剂选自:5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。

[0020] 本发明的一个方面提供了式I的化合物或者其药用盐在制备用于治疗哺乳动物中由AKT激酶所调节的疾病或者病症的药物中的用途,其中对所述哺乳动物给予一种或者多种药剂,所述药剂选自:5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。

[0021] 本发明的一个方面提供了试剂盒,其包含式I的化合物或者其药用盐、容器以及包装说明书或者标签,所述包装说明书或者标签指明用于治疗过度增殖性病症的式I的化合物或者其药用盐与一种或者多种药剂的给药,所述药剂选自:5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。

[0022] 本发明的一个方面提供了产品,其为在过度增殖性病症的治疗中分开、同时或者先后使用的组合制剂,包含具有式I的化合物或者其药用盐和化疗剂,所述化疗剂选自5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。

[0023] 除了提供为给定的过度增殖性病症提供改善的治疗之外,与接受不同治疗的相同患者所经历的生活质量相比,本发明某些组合的给药可改善患者的生活质量。例如,如果相同患者仅接受化疗剂作为治疗,则与他们将会经历的生活质量相比,对患者给予本申请所述式I的化合物或者其药用盐和化疗剂的组合可提供改善的生活质量。例如,用本申请所述组合的组合疗法可降低所需化学药物的剂量,由此减轻与高剂量化疗剂有关的副作用(例如,恶心、呕吐、脱发、皮疹、食欲减退、重量减轻等等)。所述组合还可引起降低的肿瘤负荷和有关的不良事件,例如,疼痛、器官功能障碍、重量减轻等等。因此,本发明的一个方面提供了式I的化合物或者其药用盐,其治疗性用于改善用药剂治疗过度增殖性病症的患者的生活质量,所述药剂选自5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。因此,本发明的另一方面提供用于治疗用途的式I化合物或者其药用盐,其用于改善用选自5-FU、铂剂、甲酰四氢叶酸、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、紫杉醇、贝伐单抗、培妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素和拉帕替尼的药剂治疗过度增殖性病症的患者的生命质量。

## 附图说明

[0024] 图1示出实施例15的结果,即实施例2化合物和多西他赛在LuCap35V原发性前列腺肿瘤中具有200的HScore的结果。

[0025] 图2示出实施例15的结果,即P0或者IP间歇给药的实施例2化合物和多西他赛在

PC3-NCI前列腺肿瘤中的结果。

[0026] 图3示出实施例15的结果,即P0给药的实施例2化合物和多西他赛在PC3-NCI前列腺肿瘤中的结果。

[0027] 图4示出实施例15的结果,即间歇IP给药的实施例2化合物和多西他赛在MCF7-neo/HER2肿瘤中的结果。

[0028] 图5示出实施例15的结果,即P0给药的实施例2化合物和多西他赛在MCF7-neo/HER2乳腺癌肿瘤中的结果。

[0029] 图6示出实施例15的结果,即实施例2化合物和多西他赛在MAXF401乳腺肿瘤中的结果。

[0030] 图7示出实施例15的结果,即实施例2化合物和多西他赛在SKOV3卵巢癌肿瘤中的结果。

[0031] 图8示出实施例2化合物和顺铂在SKOV3卵巢癌肿瘤中的结果。

[0032] 图9示出实施例15的结果,即P0给药的实施例2化合物和卡铂在IGROV-1卵巢癌肿瘤中的结果。

[0033] 图10示出实施例15的结果,即实施例2化合物和MDV3100在LuCap35V细胞中的结果。

[0034] 图11示出GDC-0068和B20-4.1.1(鼠抗VEGF抗体)的组合在乳腺癌模型中的结果。

[0035] 图12示出实施例14的数据,其显示,代表性组合针对许多癌症类型提供加和或者协同活性。

[0036] 图13示出实施例14的数据,其显示实施例2加上5-FU/顺铂的活性与AKT路径活化相关,特别是在胃和头颈鳞状细胞癌中。加和效果在GDC-0068加上5-FU/顺铂的组合中观察到,并且与PTEN(低或者没有)、pAKT(过表达)和PI3K突变和扩增相关。

[0037] 图14示出来自实施例14的BLISS得分数据,其显示实施例2(GDC-0068)加上5-FU/顺铂(“化疗”)组合在胃细胞系中的活性。协同性在所述组合中在NUGC3细胞系(胃癌)中得到证实,其中PTEN状态低并且pAKT过表达。另外,这种特定细胞系(NUGC3)在5-Fu/顺铂的中等剂量和GDC-0068的高剂量显示加和效果。

[0038] 图15示出实施例14的数据,其显示,实施例2加上多西他赛组合在无PTEN系(其对实施例2具有最小单一药剂应答)中显示最大效果。

[0039] 图16示出实施例14的数据,其显示实施例2加上多西他赛组合在PTEN正常细胞系中较弱。

[0040] 图17显示Akt抑制剂式1A(GDC-0068)与DTX的序列组合在LuCap145.2无PTEN原发性前列腺癌异种移植模型中的数据。

[0041] 图18示出P0给药的式1A(GDC-0068)+多西他赛在MCF-7乳腺癌肿瘤中的数据。

[0042] 图19示出P0给药的式1A(GDC-0068)+卡铂在OVCAR3卵巢癌肿瘤中的数据。

[0043] 图20示出单一药剂GDC-0068在HGC-27(Her2(-)&无PTEN)胃肿瘤异种移植植物中的数据。

[0044] 图21显示用GDC-0068单一药剂疗法治疗的乳腺癌患者的PET扫描应答。

[0045] 图22显示一位用GDC-0068单一药剂疗法治疗的乳腺癌患者的PET和肿瘤标记物应答。

[0046] 图23显示一位具有Akt1E17K突变乳腺癌的患者在多种其它化疗治疗失败后从一个周期的GDC-0068与多西他赛组合治疗得到部分应答的结果。

[0047] 图24显示在在先治疗失败后GDC-0068与FOLF0X的组合治疗具有部分应答的结果,其中患者患有宫颈的PIK3CA突变型鳞状癌。

[0048] 图25显示在在先治疗失败后GDC-0068与FOLF0X的组合治疗具有部分应答的结果,其中患者患有PTEN损失(Hscore 40),KRAS野生型结肠直肠癌。

[0049] 图26显示蛋白质印迹数据,其示出在用GDC-0068与MDV3100的组合处理3小时和8小时的LuCaP35V肿瘤中的PD应答。

[0050] 示例性实施方案的具体描述和定义

[0051] 当在说明书和下面的权利要求中使用时,术语“包含(comprise)”、“包含(comprising)”、“包括(include)”、“包括(including)”和“包括(includes)”,意欲具体说明所叙述的性能、整体、组分或步骤的存在,但不排除存在或添加一或多种其它性能、整体、组分、步骤或基团。

[0052] 本申请所用的术语“烷基”是指1至12个碳原子的饱和直链或支链一价烃基,其中烷基可以任选被一个或多个如下所述的取代基独立地取代。烷基的实例包括但不限于,甲基(Me、 $-\text{CH}_3$ )、乙基(Et、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、1-丙基(n-Pr、正丙基、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、2-丙基(i-Pr、异丙基、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、1-丁基(n-Bu、正丁基、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、2-甲基-1-丙基(i-Bu、异丁基、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、2-丁基(s-Bu、仲丁基、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、2-甲基-2-丙基(t-Bu、叔丁基、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ )、1-戊基(正戊基、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、2-戊基( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、3-戊基( $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ )、2-甲基-2-丁基( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、3-甲基-2-丁基( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、3-甲基-1-丁基( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、2-甲基-1-丁基( $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、1-己基( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、2-己基( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、3-己基( $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)$ )、2-甲基-2-戊基( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、3-甲基-2-戊基( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、4-甲基-2-戊基( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、3-甲基-3-戊基( $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ )、2-甲基-3-戊基( $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、2,3-二甲基-2-丁基( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ )、3,3-二甲基-2-丁基( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$ )、1-庚基、1-辛基等。

[0053] 术语“烯基”是指2至12个碳原子、且具有至少一个不饱和位点(即碳-碳 $\text{sp}^2$ 双键)的直链或支链一价烃基,其中烯基可以任选被一个或多个本申请所述的取代基独立地取代,并且包括具有“顺式”和“反式”取向或“E”和“Z”取向的基团。实例包括但不限于,乙烯基(ethylenyl)或乙烯基(vinyl)( $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、烯丙基( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ )等。

[0054] 术语“炔基”是指2至12个碳原子、且具有至少一个不饱和位点(即碳-碳 $\text{sp}$ 叁键)的直链或支链一价烃基,其中炔基可以任选被一个或多个本申请所述的取代基独立地取代。实例包括但不限于,乙炔基( $-\text{C}\equiv\text{CH}$ )和丙炔基(炔丙基, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ )等等。

[0055] 术语“碳环(carbocycle)”、“碳环基(carbocycly)”、“碳环(carbocyclic ring)”和“环烷基”指作为单环的环具有3至12个碳原子或者作为二环的环具有7至12个碳原子的单价非芳族的、饱和的或者部分不饱和的环。具有7至12个原子的二环碳环可排列(例如)成二环[4,5]、二环[5,5]、二环[5,6]或者二环[6,6]系统,而具有9或10个环原子的二环碳环可排列成二环[5,6]或者二环[6,6]系统,或者排列成桥连系统如二环[2.2.1]庚烷、二环[2.2.2]辛烷和二环[3.2.2]壬烷。单环碳环的实例包括但不限于,环丙基、环丁基、环戊基、

1-环戊-1-烯基、1-环戊-2-烯基、1-环戊-3-烯基、环己基、1-环己-1-烯基、1-环己-2-烯基、1-环己-3-烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十一基、环十二基等。

[0056] “芳基”是指6-20个碳原子的一价芳族烃基,其通过从母体芳环体系的单一碳原子上除去一个氢原子而得到。一些芳基在示例性结构中表示为“Ar”。芳基包括包含与饱和、部分不饱和的环,或芳族碳环或杂环稠合的芳环的二环基团。典型的芳基包括但不限于,衍生自下列的基团:苯(苯基)、取代的苯、萘、蒽、联苯、茚、茚满、1,2-二氢萘、1,2,3,4-四氢萘等。芳基可以任选被一个或多个本申请描述的取代基独立地取代。

[0057] 术语“杂环(heterocycle)”、“杂环基”和“杂环(heterocyclic ring)”在本申请中互换使用并指饱和的或者部分不饱和的(即,环内具有一个或者多个双键和/或三键)具有3至20个环原子的碳环基,其中至少一个环原子为选自氮、氧和硫的杂原子,剩余的环原子为C,其中一个或者多个环原子任选地独立取代有一个或者多个以下所述的取代基。杂环可以为具有3至7个环成员的单环(2至6个碳原子和1至4个选自N、O、P和S的杂原子)或者具有7至10个环成员的二环(4至9个碳原子和1至6个选自N、O、P和S的杂原子),例如:二环[4,5]、二环[5,5]、二环[5,6]或者二环[6,6]系统。杂环综述于Paquette,Leo A.;“Principles of Modern Heterocyclic Chemistry”(W.A.Benjamin,New York,1968),尤其是第1、3、4、6、7和9章;“The Chemistry of Heterocyclic Compounds,A series of Monographs”(John Wiley&Sons,New York,1950 to present),尤其是第13、14、16、19和28卷;以及J.Am.Chem.Soc.(1960)82:5566。术语“杂环”包括杂环烷氧基。“杂环基”还包括其中杂环基与饱和的、部分不饱和的环或者芳族碳环或者杂环稠合的基团。杂环的实例包括但不限于,吡咯烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、四氢噻喃基、哌啶子基、吗啉代、硫吗啉代、噻噁烷基(thioxanyl)、哌嗪基、高哌嗪基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、高哌啶基、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基、氧氮杂茺基、二氮杂茺基、硫氮杂茺基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、二氢吡啶基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二噁烷基、1,3-二氧杂环戊烷基、吡唑啉基、二硫杂环己烷基(dithianyl)、二硫杂环戊烷基(dithiolanyl)、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二氢呋喃基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、3-氮杂二环[3.1.0]己基、3-氮杂二环[4.1.0]庚基、氮杂二环[2.2.2]己基、3H-吡啶基、喹啉基和N-吡啶基脒。螺部分也包括在本定义的范围之内。其中2个环碳原子被氧代(=O)部分取代的杂环基团的实例是嘧啶酮基和1,1-二氧代-硫吗啉基。本申请中杂环基团任选地独立取代有一个或者多个本申请所述的取代基。

[0058] 术语“杂芳基”指5-、6-或者7-元环的单价芳族基团,并包括5-20个原子的稠合的环系(其中至少一个是芳族的),所述环系含有一个或者多个独立选自氮、氧和硫的杂原子。杂芳基的实例为吡啶基(包括,例如,2-羟基吡啶基)、咪唑基、咪唑并吡啶基、嘧啶基(包括,例如,4-羟基嘧啶基)、吡唑基、三唑基、吡嗪基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异噻唑基、噻唑基、噁唑基、异噻唑基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噌啉基、吡啶基、吡嗪基、酞嗪基、哒嗪基、三嗪基、异吡啶基、蝶啶基、嘌呤基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、噻二唑基、呋喃基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹啉基、喹喔啉基、萘啶基和呋喃并吡啶基。杂芳基任选地独立取代有一个或者多个本申请所述的取代基。

[0059] 所述杂环或者杂芳基在适当连接时可以是碳(碳联的)、氮(氮联的)或者氧(氧联的)连接的。作为实例且非限制,碳键合的杂环或者杂芳基在以下位置键合:吡啶的2、3、4、5或者6位,哒嗪的3、4、5或者6位,嘧啶的2、4、5或者6位,吡嗪的2、3、5或者6位,呋喃、四氢呋喃、噻吩(thiofuran)、噻吩(thiophene)、吡咯或者四氢吡咯的2、3、4或者5位,噁唑、咪唑或者噻唑的2、4或者5位,异噁唑、吡唑或者异噻唑的3、4或者5位,氮杂环丙烷的2或者3位,氮杂环丁烷的2、3或者4位,喹啉的2、3、4、5、6、7或者8位或者异喹啉的1、3、4、5、6、7或者8位。

[0060] 作为实例而非限制,氮键合的杂环或者杂芳基在以下位置键合:氮杂环丙烷、氮杂环丁烷、吡咯、吡咯烷、2-吡咯啉、3-吡咯啉、咪唑、咪唑烷、2-咪唑啉、3-咪唑啉、吡唑、吡唑啉、2-吡唑啉、3-吡唑啉、哌啶、哌嗪、吡啶、二氢吡啶、1H-吡啶的1位,异吡啶或者二氢异吡啶的2位,吗啉的4位,以及呋唑或者β-呋啉的9位。

[0061] 术语“治疗(treat)”和“治疗(treatment)”指的是治疗性处置以及预防或阻止性措施,其中目的是预防或延迟(衰减)不希望的生理变化或异常,诸如癌症的生长、发展或者扩散。对本发明来说,有利的或目标临床效果包括但不限于,症状减轻,疾病程度降低,疾病状态稳定化(即未恶化),延迟或减缓疾病发展,改善或减缓疾病状态,和症状缓解(不论是部分的或全部的),不论是否是可检测或不可检测的。“治疗”还可以是指:与不得到医治而期望的存活相比,可以延长存活。需要治疗的那些包括:患有病症或障碍的那些,以及易于患所述病症或障碍的那些或者其中所述病症或障碍应该被预防的那些。

[0062] 短语“治疗有效量”表示本发明化合物的量,所述化合物(i)治疗具体疾病、病症或者障碍,(ii)减弱、改善或者消除所述具体疾病、病症或者障碍的一种或者多种症状,或者(iii)预防或者延迟本申请所述具体疾病、病症或者障碍的一种或者多种症状的发作。在癌症的情况下,治疗有效量的药物可减少癌细胞的数量;减小肿瘤大小;抑制(即,在某种程度上减慢并优选停止)癌细胞向外周器官的浸润;抑制(即,在某种程度上减慢并优选停止)肿瘤转移;在某种程度上抑制肿瘤生长;和/或在某种程度上减轻一种或者多种与癌症有关的症状。为此,药物可以预防所存在癌细胞的生长和/或将其杀死的程度,它可以是细胞生长抑制性的和/或细胞毒性的。对于癌症治疗,可以例如通过评价疾病进展的时间(TTP)和/或测定反应率(RR)来测定其效果。

[0063] 术语“癌症(cancer)”和“癌的(cancerous)”是指哺乳动物中特征通常为未调节的细胞生长的生理条件或者描述所述生理条件。“肿瘤”包含一种或者多种癌细胞。癌症的实例包括但不限于癌(carcinoma)、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤以及白血病(leukemia)或者淋巴样恶性肿瘤(lymphoid malignancy)。所述癌症的更具体的实例包括鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌);肺癌,包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌(“NSCLC”)、肺腺癌(adenocarcinoma of the lung)和肺鳞状细胞癌(squamous carcinoma of the lung);腹膜癌;肝细胞癌;胃癌(gastric or stomach cancer),包括胃肠癌;胰腺癌;成胶质细胞瘤;子宫癌;卵巢癌;肝癌(liver cancer);膀胱癌;肝细胞瘤(hepatoma);乳腺癌(breast cancer);结肠癌;直肠癌;结肠直肠癌;子宫内膜癌或者子宫癌;唾液腺癌;肾癌或者肾癌;前列腺癌;外阴癌(vulval cancer);甲状腺癌;肝脏癌(hepatic carcinoma);肛门癌;阴茎癌;以及头颈癌。本申请所用的胃癌(Gastric cancer)包括胃癌(stomach cancer),其可在胃的任何部分发展并可在胃各处蔓延并蔓延至其它器官;具体而言为食道、肺、淋巴结和肝。

[0064] “化疗剂”是可用于治疗癌症的生物学的(大分子)或者化学的(小分子)化合物,而

与其作用机理无关。化疗剂包括,但是不限于:烷化剂、抗代谢药、纺丝体毒植物生物碱(spindle poison plant alkaloids)、细胞毒性/抗肿瘤抗生素(cytotoxic/antitumor antibiotics)、拓扑异构酶抑制剂(topoisomerase inhibitors)、蛋白、抗体、光敏性药物和激酶抑制剂。化疗剂包括在“靶向疗法”和非靶向常规化学疗法中使用的化合物。

[0065] 术语“哺乳动物”包括但不限于,人、小鼠、大鼠、豚鼠、猴、狗、猫、马、牛、猪、羊以及家禽。

[0066] 术语“包装说明书”是指通常包括在治疗产品的市售包装中的说明书,其含有关于适应症、用法、剂量、给药、禁忌症和/或者注意事项的信息,这些信息涉及上述治疗产品的使用。

[0067] 本申请使用的短语“药用盐”是指本发明化合物的药用有机或者无机盐。示例性盐包括但不限于硫酸盐、枸橼酸盐、乙酸盐、草酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸式枸橼酸盐、酒石酸盐、油酸盐、鞣酸盐(tannate)、泛酸盐(pantothenate)、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐(gentisinate)、富马酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、糖二酸盐(saccharate)、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐(mesylate)、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和扑酸盐(即1,1'-亚甲基-二-(2-羟基-3-萘甲酸盐))。药用盐可涉及另一种分子如乙酸根离子、琥珀酸根离子或者其它抗衡离子的包合物(inclusion)。抗衡离子可以是稳定母体化合物电荷的任何有机或者无机部分。此外,药用盐可在其结构中具有多于一个带电原子。多个带电原子为药用盐的部分的情况可具有多个抗衡离子。因此,药用盐可具有一个或者多个带电原子和/或者一个或者多个抗衡离子。

[0068] 若本发明化合物为碱,则期望的药用盐可通过本领域可得任何合适方法来制备,例如用无机酸(如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、甲磺酸、磷酸等)或者用有机酸(如乙酸、马来酸、琥珀酸、扁桃酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、羟乙酸、水杨酸、吡喃糖基酸(pyranosidyl acid)如葡萄糖醛酸或者半乳糖醛酸、 $\alpha$ -羟基酸如枸橼酸或者酒石酸、氨基酸如天冬氨酸或者谷氨酸、芳族酸如苯甲酸或者肉桂酸、磺酸如对甲苯磺酸或者乙磺酸等)处理游离碱。例如,由P.Stahl等,Camille G.(eds.)Handbook of Pharmaceutical Salts.Properties,Selection and Use.(2002)Zurich:Wiley-VCH;S.Berge等,Journal of Pharmaceutical Sciences(1977)66(1)1 19;P.Gould,International J.of Pharmaceutics(1986)33 201 217;Anderson等,The Practice of Medicinal Chemistry(1996),Academic Press,New York;Remington's Pharmaceutical Sciences,18<sup>th</sup> ed.,(1995)Mack Publishing Co.,Easton PA;and in The Orange Book(Food&Drug Administration,Washington,D.C.on their website)讨论了通常认为适于由碱性药用化合物形成药学上有用的或者可接受的盐的酸。将这些公开引入到本申请作为参考。

[0069] 若本发明化合物为酸,则期望的药用盐可通过任何合适方法来制备,例如用无机或者有机碱(如胺(伯胺、仲胺或者叔胺)、碱金属氢氧化物或者碱土金属氢氧化物等)处理游离酸。合适盐的示例性实例包括但不限于从以下物质得到的有机盐:氨基酸如甘氨酸和精氨酸、氨、伯胺、仲胺和叔胺以及环状胺如哌啶、吗啉和哌嗪;以及从以下物质得到的无机盐:钠、钙、钾、镁、锰、铁、铜、锌、铝和锂。

[0070] 短语“药用的”表示所述物质或者组合物必须与制剂包含的其它成分和/或者用其

治疗的哺乳动物在化学上和/或者毒理学上是相容的。

[0071] “溶剂化物”是指一种或者多种溶剂分子与本发明化合物的缔合物 (association) 或者络合物 (complex)。化合物可以非溶剂化物以及溶剂化物形式存在。形成溶剂化物的溶剂的实例包括但不限于水、异丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺。术语“水合物”是指当溶剂分子是水时的络合物。该物理缔合物涉及多种程度的离子键合和共价键合, 其包括氢键键合。在某些实例中所述溶剂化物将能够分离, 例如当一个或多个溶剂分子被掺到结晶固体的晶格中时。溶剂化物的制备通常是已知的, 例如, M. Cairra 等, *J. Pharmaceutical Sci.*, 93 (3), 601-611 (2004)。E. C. van Tonder 等, *AAPS PharmSciTech.*, 5 (1), article 12 (2004); 以及 A. L. Bingham 等, *Chem. Commun.*, 603-604 (2001) 描述了溶剂化物、半溶剂化物、水合物等的类似制备。典型的、非限制性的方法涉及在高于环境温度时将发明的化合物溶于期望量的期望溶剂 (有机溶剂或者水或者其混合物) 中, 并以足够形成晶体的速率冷却所述溶液, 然后通过标准方法分离所述晶体。分析技术, 例如 I.R. 光谱, 显示作为溶剂化物 (或者水合物) 的晶体中溶剂 (或者水) 的存在。

[0072] 本申请所用的术语“协同的”指比两种或更多种单个药剂累加效应更有效的治疗组合。式 I 的化合物或者其药用盐与一种或者多种化疗剂之间协同性相互作用的确定可基于从本申请所述的测定中获得的结果。为了获得组合指数, 可使用 Chou 和 Talalay 组合方法以及用 CalcuSyn 软件的剂量-效果分析来分析这些测定的结果 (Chou and Talalay, 1984, *Adv. Enzyme Regul.* 22:27-55)。已经在若干测定系统中评估了该发明所提供的组合, 并且可采用在抗癌剂中的定量协同作用、相加作用和拮抗作用的标准程序分析所述数据。所采用的程序, 例如在图 12 中所采用的, 是 Chou 和 Talalay 在 “New Avenues in Developmental Cancer Chemotherapy,” Academic Press, 1987 第 2 章中描述的程序。小于 0.8 的组合指数值指示协同作用, 大于 1.2 的值指示拮抗作用而 0.8 至 1.2 的值指示累加效应。所述组合疗法可提供“协同作用”并证明是“协同的”, 即, 当所述活性成分一起使用时所实现的效应大于由分开使用所述化合物产生的效应的总和。当所述活性成分为以下成分时, 可达到协同效应: (1) 在组合的单位剂量制剂中共同配制并同时给药或者递送; (2) 作为分开制剂交替或平行递送; 或者 (3) 通过一些其它用药方案。当在交替疗法中递送时, 例如通过分开注射器中的不同注射液, 当先后给予或者递送所述化合物时可达到协同效应。一般而言, 在交替疗法期间, 有效剂量的各活性成分是先后给药的, 即, 连续地, 而在组合疗法中, 有效剂量的两种或者更多种活性成分是一起给药的。

[0073] 在一些实例中, 使用 BLISS 独立模型和最高单个药剂 (HSA) 模型 (Lehár 等, 2007, *Molecular Systems Biology* 3:80) 评估组合效应。BLISS 评分定量来自单个药剂的增强程度并且 BLISS 评分 >0 表明大于单纯的相加作用。HAS 评分 >0 表明组合效应大于相应浓度时单个药剂响应的最大值。

[0074] 使用 Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, Version 1.1 (RECIST v1.1) 评价在某些人临床试验中的肿瘤应答。这部分提供用于针对靶标病灶测定客观肿瘤应答的标准的定义。“完全应答” (CR) 用于表示所有可观察的靶标病灶消失, 病理淋巴结 (无论是靶标还是非靶标) 的短轴已经减小至小于约 10mm。“部分应答” (PR) 用于表示靶标病灶的直径的总和减少至少约 30%, 使用直径的基线总和作为参照。“进行性疾病” (PD) 用于表示靶标病灶的直径的总和增加至少约 20%, 使用所研究的最小总和 (最低值) (包括基线) 作

为参照。除了约20%的相对增加之外,总和也显示至少约5mm的绝对增加。在一个实例中,一个或者多个新病灶的出现被认为是PD。“稳定性疾病”(SD)用于表示达不到量化为PR所需的足够的收缩,也达不到量化为PD所需的足够的增加,使用所研究的最小总和作为参照。

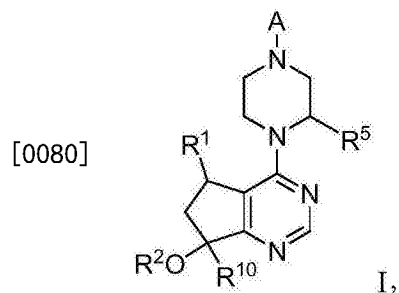
[0075] 使用不良事件分级(严重性)尺度评价安全性和耐受性,等级1为轻微(未指示干预),等级2为中度(指示最小、局部,或者非侵袭性干预),等级3为严重(严重或者医学上明显,但是不立即威胁生命;指示住院或者住院的延长),等级4是非常严重,威胁生命或者残废,指示紧急干预,和等级5是与不良事件有关的死亡。

[0076] 在一个方面中,本发明提供了治疗过度增殖性病症的方法,其中式I的化合物或者其盐和一种或者多种药剂的给药提供了治疗过度增殖性病症的协同效应,所述药剂选自:5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。在另一个方面中,所述协同效应具有小于约0.8的组合指数。

[0077] 在临床前模型中,GDC-0068给药导致血浆葡萄糖水平的剂量依赖性增加。等级1或者2的高血糖症事件在GDC-0068的Ia期人临床试验中在禁食的患者中观察到,并且用口服抗糖尿病治疗和膳食的组合缓解。因此,一旦本发明的方面是治疗患有过增生性疾病如癌症的患者中的过增生性疾病如癌症的方法,其包括与抗糖尿病化合物(例如二甲双胍)组合地给药式I化合物(例如,GDC-0068)。抗糖尿病疗法的组合预防、治疗或者逆转式Ia化合物治疗的高血糖症副作用。在一个实例中,将GDC-0068空腹(禁食)给药,任选地与抗糖尿病疗法组合,并与本申请所述的化疗剂组合。在其它实施方案中,也将化疗剂(在本申请中进一步讨论,例如多西他赛和folfox)作为组合的一部分给药。

[0078] 式I化合物

[0079] 式I化合物包含式I的化合物及其药用盐,所述式I化合物为:

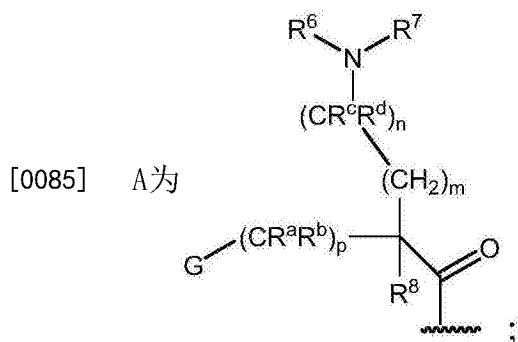


[0081] 其中:

[0082]  $R^1$ 为H、Me、Et、乙烯基、 $CF_3$ 、 $CHF_2$ 或者 $CH_2F$ ;

[0083]  $R^2$ 为H或者Me;

[0084]  $R^5$ 为H、Me、Et或者 $CF_3$ ;



[0086] G为任选地被一至四个 $R^9$ 基团所取代的苯基或者任选地被卤素取代的5-6元的杂芳基；

[0087]  $R^6$ 和 $R^7$ 独立地为H、 $OCH_3$ 、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基)-(CH<sub>2</sub>)、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基)-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)；V-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>，其中V为具有一至两个独立地选自N、O和S的环杂原子的5-6元的杂芳基；W-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>，其中W为任选地取代有F、Cl、Br、I、OMe、CF<sub>3</sub>或者Me的苯基；任选地取代有C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基或者O(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)的C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-环烷基；羟基-(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-环烷基)；氟-(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-环烷基)；CH(CH<sub>3</sub>)CH(OH)苯基；任选地取代有F、OH、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-烷基、环丙基甲基或者C(=O)(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)的4-6元的杂环；或者任选地取代有一个或者多个基团的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基，所述基团独立地选自OH、氧代、O(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)、CN、F、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)、N(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)<sub>2</sub>、环丙基、苯基、咪唑基、哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、四氢呋喃基、氧杂环庚烷基或者四氢吡喃基，

[0088] 或者 $R^6$ 和 $R^7$ 与它们所连接的氮一起形成4-7元的杂环，其中所述杂环任选地取代有一个或者多个基团，所述基团独立地选自OH、卤素、氧代、CF<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、O(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基)、C(=O)CH<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、NHMe、N(Me)<sub>2</sub>、S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、环丙基甲基和C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基；

[0089]  $R^a$ 和 $R^b$ 为H，

[0090] 或者 $R^a$ 为H，且 $R^b$ 和 $R^6$ 与它们所连接的原子一起形成5-6元的具有一个或者两个氮原子的杂环；

[0091]  $R^c$ 和 $R^d$ 为H或者Me，

[0092] 或者 $R^c$ 和 $R^d$ 与它们所连接的原子一起形成环丙基环；

[0093]  $R^8$ 为H、Me、F或者OH，

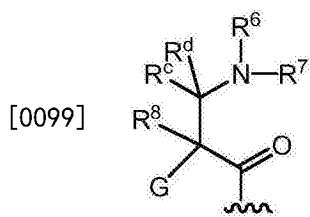
[0094] 或者 $R^8$ 和 $R^6$ 与它们所连接的原子一起形成5-6元的具有一个或者两个环氮原子的杂环；

[0095] 各个 $R^9$ 独立地为卤素、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-环烷基、O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)、CF<sub>3</sub>、OCF<sub>3</sub>、S(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)、CN、OCH<sub>2</sub>-苯基、CH<sub>2</sub>O-苯基、NH<sub>2</sub>、NH-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)、N-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)<sub>2</sub>、哌啶、吡咯烷、CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>、OCH<sub>2</sub>F、OCHF<sub>2</sub>、OH、SO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)、C(O)NH<sub>2</sub>、C(O)NH(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)和C(O)N(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-烷基)<sub>2</sub>；

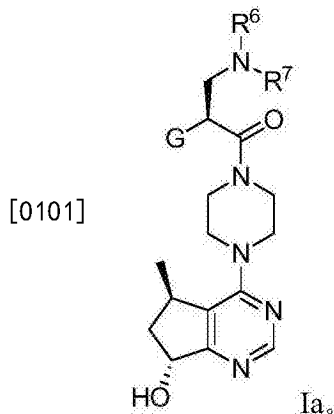
[0096]  $R^{10}$ 为H或者Me；并且

[0097] m、n和p独立地为0或者1。

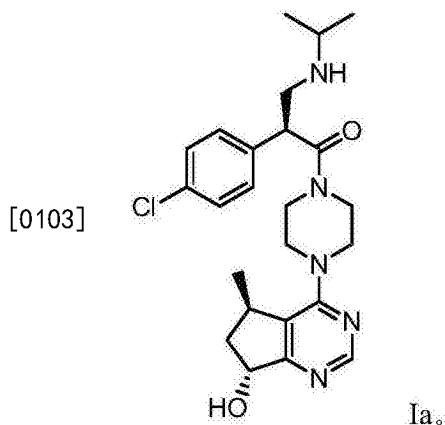
[0098] 式I的具体化合物为化合物，其中A为



[0100] 式I的具体化合物为式Ia化合物或者其药用盐,所述式Ia为:



[0102] 在本发明的一个方面中,式I的化合物不包含式Ia化合物(S)-2-(4-氯苯基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-(异丙基氨基)丙-1-酮或者其药用盐(该化合物也可称作GDC-0068),所述式Ia为:



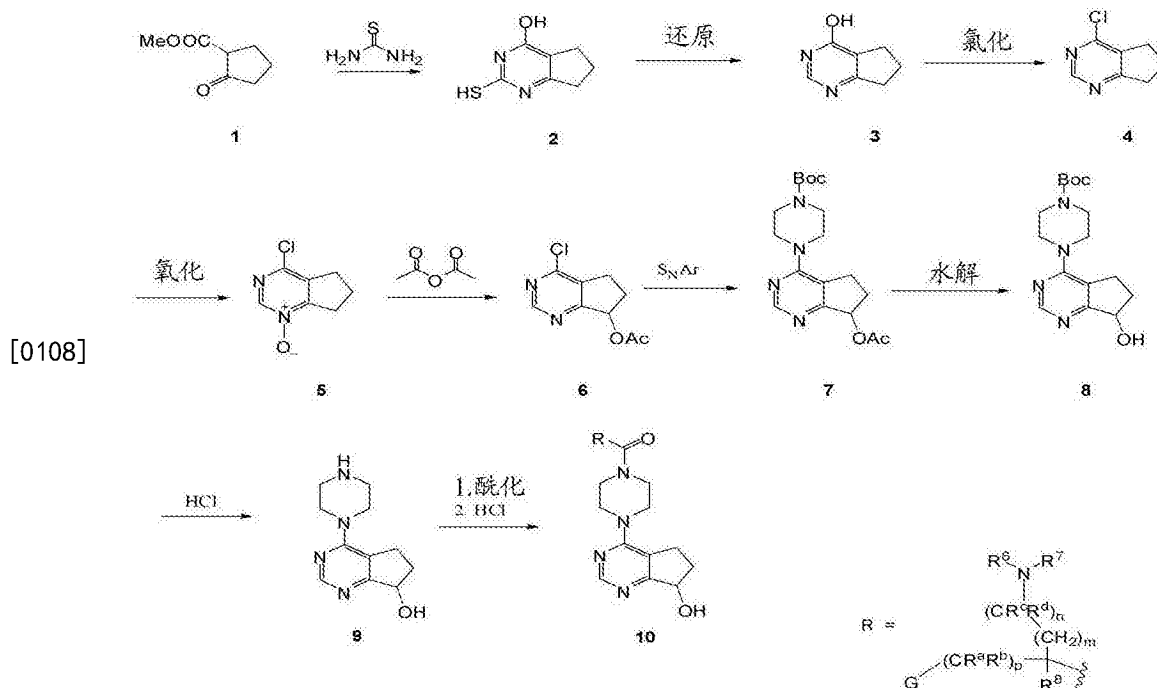
[0104] 式I化合物的制备

[0105] 本发明化合物可通过包括与化学领域中众所周知的方法类似的方法的合成路线来合成,特别是根据本申请所含有的描述。起始原料通常可从商业来源例如Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) 得到或者使用本领域技术人员所熟知的方法容易制备(例如,通过Louis F.Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v.1-19, Wiley, N.Y. (1967-1999ed.), 或者Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl.ed.Springer-Verlag, Berlin, 包括附录中通常所描述的方法制备)。

[0106] 式I的化合物可逐一制备,或者作为包含至少2个,例如5至1,000个化合物或者10至100化合物的化合物库制备。通过本领域技术人员已知的操作,使用液相或者固相化学,式I化合物的库可通过组合的‘裂分和混合’途径或者通过多个平行合成来制备。因此根据本发明的另一个方面,提供有包含至少2个式I的化合物或者其盐的化合物库。

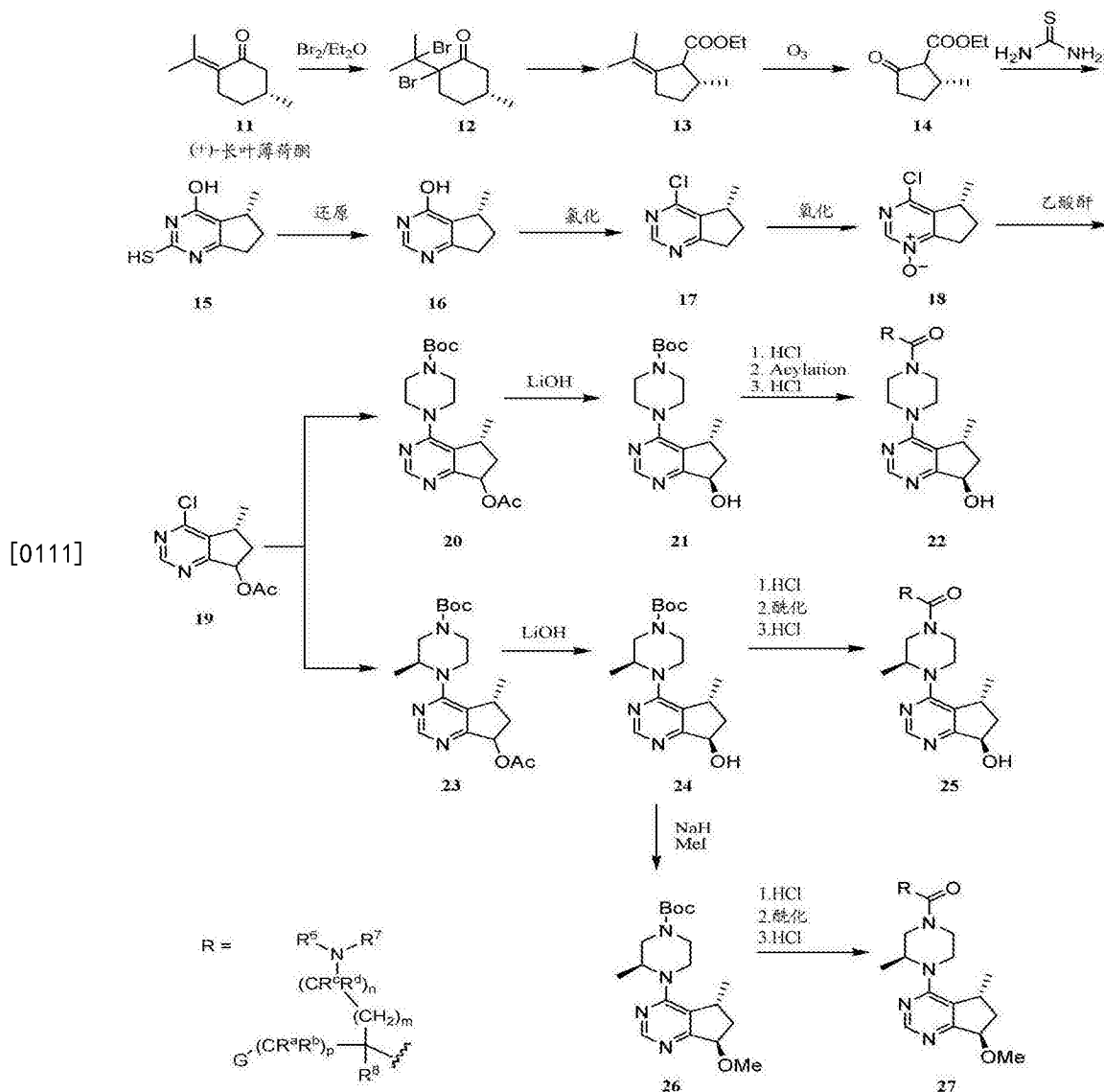
[0107] 为了用作说明,方案1-4和方案A-J显示制备本发明化合物以及关键中间体的通用

方法。对于个别反应步骤更加详细的描述,见下面实施例部分。本领域的技术人员应当理解的是,其它合成路线可用于合成发明的化合物。虽然在方案中描述并在下面讨论了具体的起始原料和试剂,但是其它起始原料和试剂可容易地被替换,从而提供多种衍生物和/或反应条件。除此之外,多种通过下面所述方法制备的化合物可根据本公开使用本领域技术人员所熟知的常规化学来进一步修饰。



#### [0109] 方案1

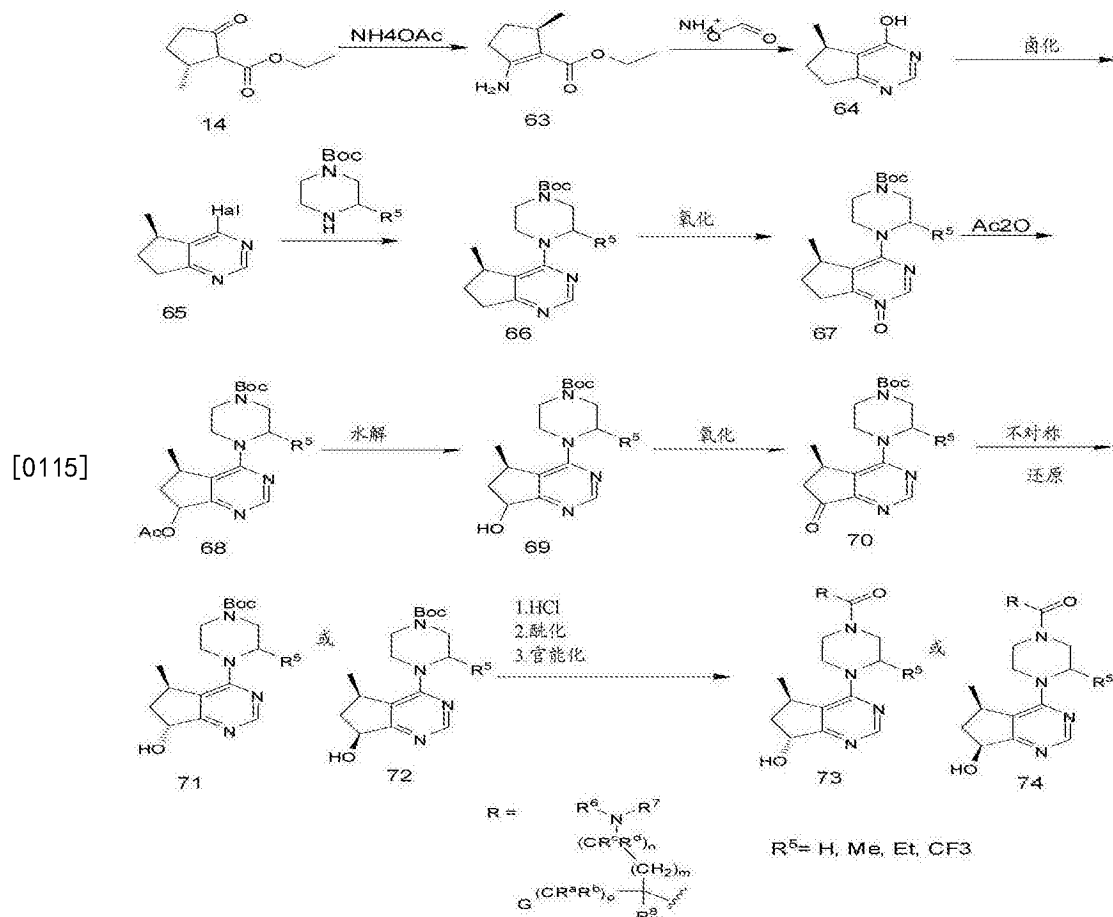
[0110] 方案1显示制备式I的化合物10的方法,其中 $R^1$ 为H, $R^2$ 为H且 $R^5$ 为H。嘧啶2的形成可通过在适当溶剂(如乙醇)中在碱(如KOH)存在下酮酸酯1与硫脲的反应来完成。在标准还原条件(例如,兰尼镍和 $NH_4OH$ )下化合物2的巯基还原得到化合物3之后,在标准条件(例如,在DIEA/DCE中的 $POCl_3$ )下可将羟基嘧啶3氯化得到化合物4。然后在标准条件(例如,MCPBA在适当溶剂如 $CHCl_3$ 中的溶液)下将化合物4氧化得到嘧啶-氧化物。用乙酸酐处理嘧啶-氧化物得到重排产物6。化合物7是在标准 $S_NAr$ 反应条件下通过化合物6与适当取代的哌啶反应,得到化合物7来获得的。将化合物7水解得到化合物8,然后脱保护得到中间体9。在偶联试剂如HBTU存在下,哌嗪基环戊二烯并[d]嘧啶9与适当氨基酸酰化,必要时接着脱保护,得到式I的化合物10。



## [0112] 方案2

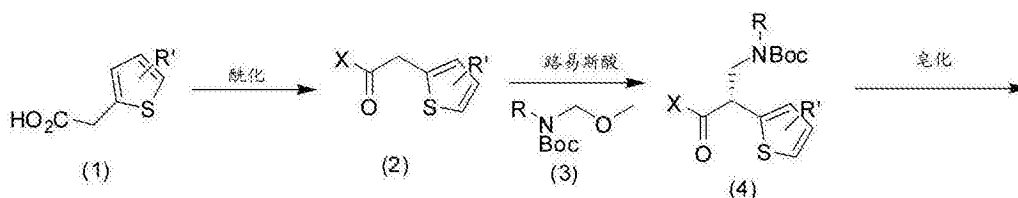
[0113] 方案2显示制备式I的化合物22、25和27的方法，其中 $R^1$ 、 $R^2$ 和 $R^5$ 为甲基。根据方案2，(+)-长叶薄荷酮11与溴的溴化得到二溴化物12。用碱(如乙醇钠)处理二溴化物12得到蒲勒烯酸酯(pulegenate)13。臭氧分解蒲勒烯酸酯13得到酮酸酯14。在乙醇中在碱(如KOH)存在下，用硫脲处理酮酸酯14，接着在标准条件(例如，在氨中的兰尼镍催化剂)下还原巯基，得到羟基嘧啶16。在标准条件(例如， $POCl_3$ )下将羟基嘧啶16氯化得到4-氯嘧啶17。用氧化剂如MCPBA或者过氧化氢氧化4-氯嘧啶17得到N-氧化物18。N-氧化物18与乙酸酐的重排得到中间体19。根据方案1中所述操作，化合物19与期望的哌嗪反应，得到其中 $R^5$ 为H的化合物20和其中 $R^5$ 为Me的化合物23。使用具有手性固定相的HPLC手性分离化合物20和23，然后紧接着用碱(如氢氧化锂)处理进行水解分别得到化合物21和24。在脱保护之后，化合物21和24接着与适当氨基酸反应分别得到化合物22和25。

[0114] 可选择地，化合物24的7-羟基可在碱(如NaH或者KOH)存在下用烷基化试剂(如烷基卤化物)进行烷基化得到其中 $R^2$ 为Me的化合物26。在脱保护之后，化合物26接着与适当氨基酸反应，得到化合物27。

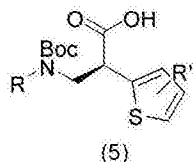


## [0116] 方案3

[0117] 方案3显示制备化合物73和74的可选择的方法。根据方案3,使用氨合成子的14的胺化得到63。在50℃-250℃和/或在高压在甲酰胺存在下使用例如甲酰胺进行嘧啶的形成得到二环单元64。使用例如POCl<sub>3</sub>或者SOCl<sub>2</sub>,进行64的活化得到活化的嘧啶65。在0℃至150℃使用适当保护的/取代的哌嗪,取代该离去基团,得到哌嗪66。在-20℃至50℃使用例如间氯过氧苯甲酸(“MCPBA”或者“m-CPBA”)或者Oxone®,氧化得到N-氧化物67。用酰化剂(例如,乙酸酐)处理接着加热(40℃至200℃)引起重排得到68。在0℃至50℃使用例如LiOH或者NaOH,水解得到醇69。在适当温度使用例如Swern条件、MnO<sub>4</sub>或者吡啶-SO<sub>3</sub>络合物,氧化得到酮70。例如在氢气存在下使用催化的手性催化剂、在手性配体存在下使用CBS催化剂或者硼氢化物还原剂进行不对称还原,在醇71或者72处产生(R)或者(S)立体化学。可选择地,可使用非手性还原剂(例如,H<sub>2</sub>,Pd/C),使在环戊烷单元上的甲基提供面选择性及最终地非对映立体选择性。如果还原得到较低的非对映立体选择性,可通过(例如)色谱法、重结晶或者衍生化分离非对映异构体。最终,Boc-基团的脱保护(例如在0℃至50℃使用酸)、使用适当官能化氨基酸的酰化及该氨基酸的胺的最终官能化(例如,任何保护基的移除、烷基化、还原胺化或者酰化,引入新取代基),生成最终的化合物73和74。



[0118]



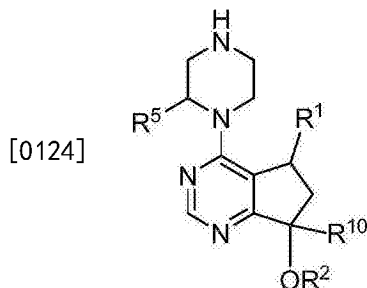
[0119] 方案4

[0120] 向化合物1引入手性助剂(例如, Evans噁唑烷酮等等)可通过标准酰化操作来完成, 得到结合物2。例如, 在 $-20^{\circ}\text{C}$ 至 $100^{\circ}\text{C}$ 在胺类碱存在下, 用活化剂(例如,  $\text{COCl}_2$ )处理所述酸或者形成混合酸酐(例如, 2,2-二甲基丙酰氯), 接着用适当手性助剂(X)处理, 得到化合物2。立体化学和手性助剂的选择可决定新产生的手性中心的立体化学和非对映立体选择性。先后在低温(例如,  $-20^{\circ}\text{C}$ 至 $-100^{\circ}\text{C}$ )用路易斯酸(例如,  $\text{TiCl}_4$ )、胺类碱(例如, 许尼希碱)以及在低温使用适当取代的亚胺离子前体3处理化合物2, 然后生成化合物4。温度、路易斯酸和手性助剂预期都可影响加成产物的非对映立体选择性。最终, 在温和条件下(例如,  $\text{LiOH}/\text{H}_2\text{O}$ 在 $-10^{\circ}\text{C}$ 至 $30^{\circ}\text{C}$ )皂化生成期望的酸5。

[0121] 因此, 本发明的另一个方面提供了制备式I的化合物的方法, 其包括:

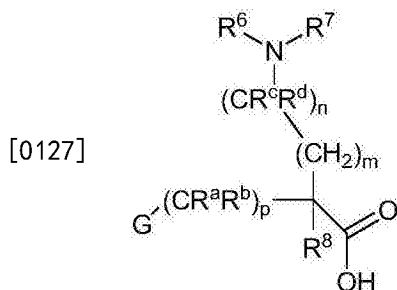
[0122] 使下述化合物与氨基酸反应,

[0123] 所述化合物具有以下式:



[0125] 其中 $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^5$ 和 $\text{R}^{10}$ 如本申请所定义,

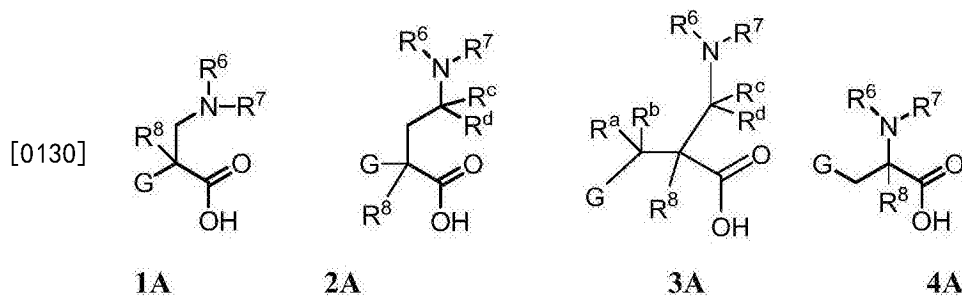
[0126] 所述氨基酸具有以下式:



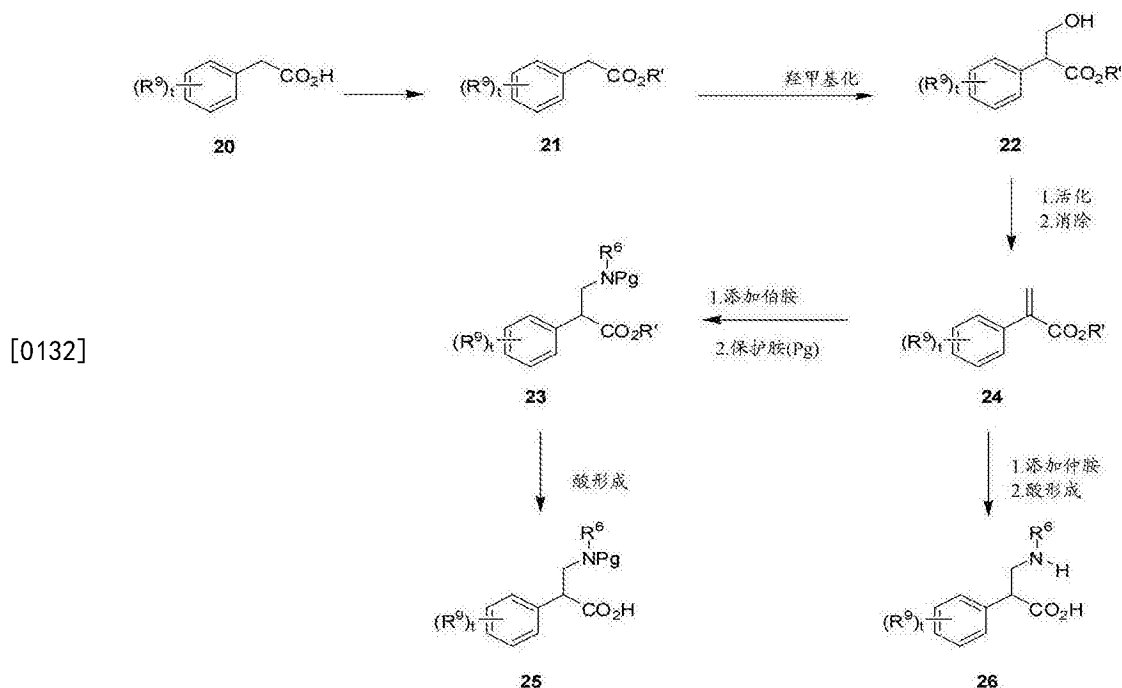
[0128] 其中 $\text{R}^6$ 、 $\text{R}^7$ 、 $\text{R}^a$ 、 $\text{R}^b$ 、 $\text{R}^c$ 、 $\text{R}^d$ 、G、m、n和p如本申请所定义。

[0129] 在方案1-4和实施例所述的式I化合物的合成中所使用的氨基酸或者是可商购的或者可根据本申请所公开的方法制备。例如, 在某些实施方案中, 用于制备式I化合物的氨基酸包括具有式1A的 $\beta$ -苯基甘氨酸氨基酸、具有式2A的 $\gamma$ -苯基甘氨酸氨基酸、具有式3A的

$\beta$ -苯基丙氨酸氨基酸和具有式4A的  $\gamma$ -苯基丙氨酸氨基酸。



[0131] 制备式1A-4A的氨基酸的方法显示在方案A-J中。



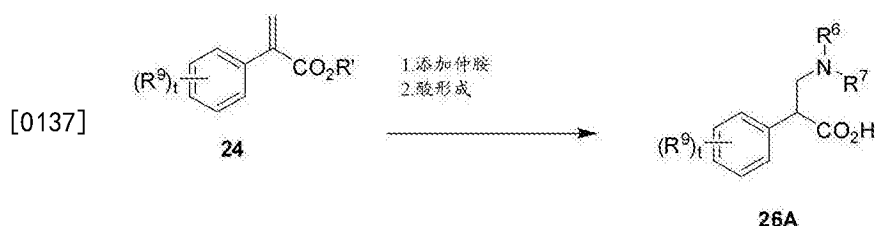
[0133] 方案A

[0134] 方案A说明制备任选取代的式1A的 $\beta$ -苯基甘氨酸氨基酸25和26的方法,其中 $R^8$ 为H,且 $R^6$ 和 $R^9$ 如本申请所定义,t为0至4,且 $R^7$ 为H或者胺保护基。根据方案A,使用标准条件如在催化量的酸(如浓 $H_2SO_4$ )或者偶联剂(如DCC/DMAP)存在下用适当醇(例如,MeOH)处理;或者可选择地在适当温度(例如, $-20^\circ C$ 至 $100^\circ C$ )在碱(如 $NEt_3$ /DMAP)存在下用适当亲电体(例如,MeI、EtBr、BnBr)处理,将酸20转化成其中 $R'$ 为烷基的酯21。适当的酯的选择通过在合成结束时重新形成酸所需要的条件来决定,许多适当的实例和条件在Greene和Wuts编著的‘Protective Groups in Organic Synthesis’ (Wiley-Interscience) 第三版第5章中列出。在适当温度(例如, $-20^\circ C$ 至室温)在碱(如NaOEt)存在下用适当醛(例如,甲醛)处理引入羟基甲基,得到化合物22。通过在适当温度(例如, $-20^\circ C$ 至室温)在过量碱(如 $NEt_3$ 、DIPEA或者DBU)存在下可用(例如)甲磺酰氯处理来完成化合物22醇基团的活化,形成离去基团(例如,甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、卤化物)。在许多情况下可从该操作中直接分离烯烃24,在其它情况下可需要温热( $30^\circ C$ 至 $100^\circ C$ )或者另外的碱(例如,在卤化物的情况下为DBU)完成消除从而得到化合物24。活化的烯烃24可在适当温度(例如, $-20^\circ C$ 至回流温度)在适合的溶剂(如THF)中用期望的伯胺(例如,乙胺)处理,生成氨基酯中间体。在其中化合物24具有富电子芳族环或者缺电子/体积大的伯胺的情况下,可需要加热(例如,在密封管中 $30-240^\circ C$ )或

者微波化学。氨基的保护(例如Boc-基团)可在标准条件下使用Boc<sub>2</sub>O来完成,得到其中Pg为保护基的化合物23。可使用可选择的保护基,并且许多实例在Greene和Wuts编著的‘Protective Groups in Organic Synthesis’ (Wiley-Interscience) 第三版第7章中列出。使用适合于酯的条件(例如,对于甲酯的含水LiOH、对于苄酯的氢化、对于叔丁酯的酸)可完成酯23的皂化,形成保护的氨基酸25。

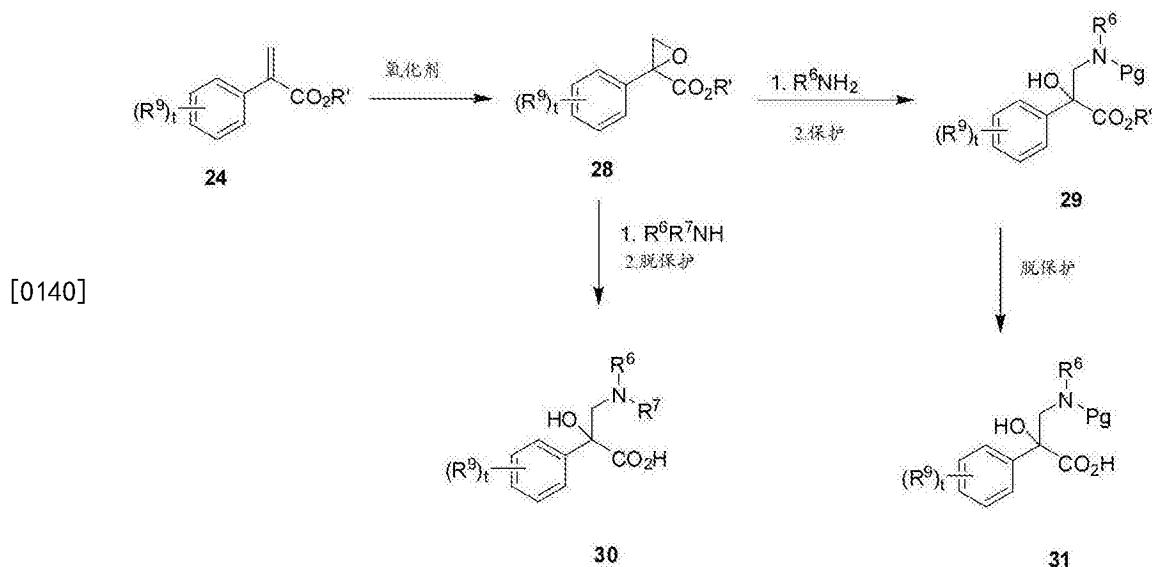
[0135] 可选择地,所述活化的烯烃24可在适当温度(例如,-20℃至回流温度)在适合溶剂(如THF)中用仲胺(例如,二乙胺)处理,得到氨基酯中间体(未显示)。在其中化合物24具有富电子芳族环或者缺电子/大体积仲胺的情况下,可需要加热(例如,在密封管中30-240℃)或者微波化学。使用适于酯的条件(例如,对于甲基的含水LiOH、对于苄基的氢化、对于叔丁酯的酸等等)可完成所述酯的皂化,形成氨基酸26。

[0136] 在方案A的替代方案中,Pg可用化合物23和25中的R<sup>7</sup>取代。



[0138] 方案A1

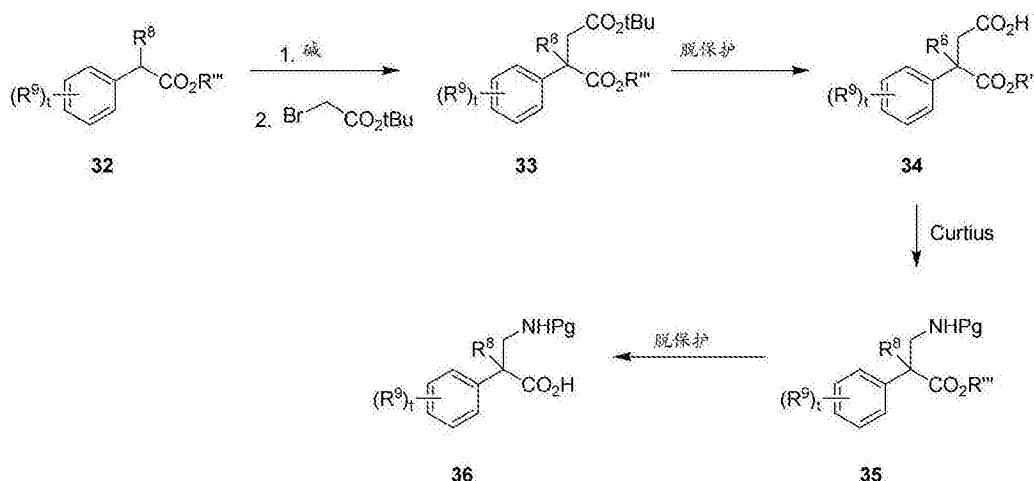
[0139] 方案A1显示方案1的替代方案,其中活化的烯烃24反应形成氨基酸26A。



[0141] 方案B

[0142] 方案B显示制备任选取代的式1A的β-苯基甘氨酸氨基酸30和31的方法,其中R<sup>8</sup>为OH,且R<sup>6</sup>和R<sup>9</sup>如本申请所定义,t为0至4,且R<sup>7</sup>如本申请所定义或者为胺保护基。在适当温度(室温至回流温度)使用标准氧化剂(如MCPBA)的不饱和酯24(根据方案A制备)的氧化,其中t为0-4且R'为烷基,得到环氧化物中间体28。通常在高温(例如,50-300℃)和高压(例如,在密封管或者钢弹中)可用适当胺处理中间体28,得到氨基醇29或者30。如果使用仲胺(如在化合物30的制备中),那么可使用Greene和Wuts编著的‘Protective Groups in Organic Synthesis’ (Wiley-Interscience) 第三版第5章中所列条件的脱保护(例如,对于甲酯的LiOH、对于苄酯的氢化等等)。当使用伯胺(如在化合物29的制备中)时,进行胺的脱保护(例

如,使用Boc酐的Boc-基团)接着是酯的脱保护(使用上述条件)得到羟基化的氨基酸31。



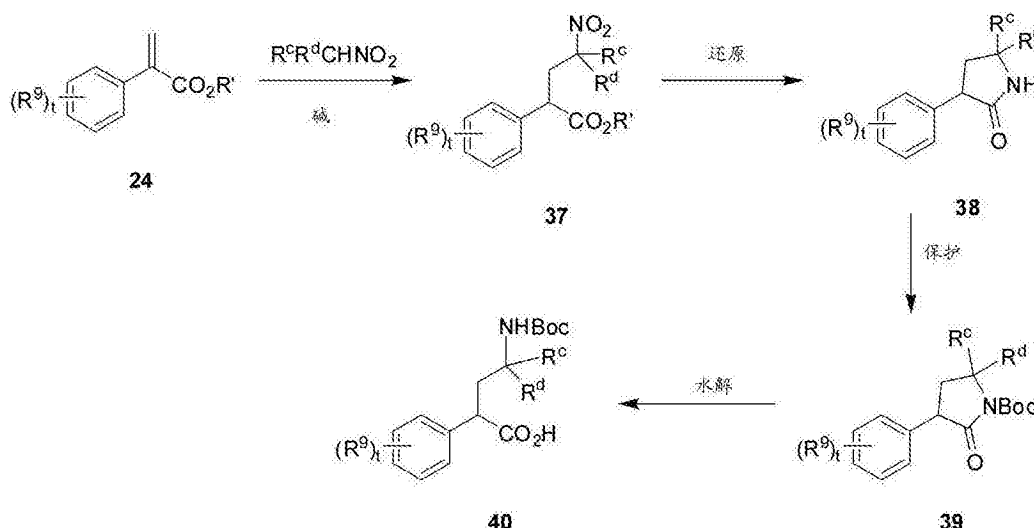
[0143]

[0144] 方案C

[0145] 方案C显示制备任选取代的式1A的 $\beta$ -苯基甘氨酸氨基酸36的方法,其中 $R^8$ 为甲基, $R^6$ 为H, $R^7$ 为胺保护基, $t$ 为0至4,且 $R^9$ 如本申请所定义。可在适当温度(例如, $0^\circ\text{C}$ 至回流温度)用碱(例如, $\text{NaOtBu}$ )处理其中 $R''$ 为烷基的酯32,形成阴离子,接着在适当温度(例如, $-78^\circ\text{C}$ 至室温)加入亲电体(例如,2-溴乙酸叔丁酯),得到同系的(homologated)酯33。在适当温度(例如, $0^\circ\text{C}$ 至回流温度)使用适当酸(如TFA或者HCl)除去化合物33的叔丁酯得到化合物34。例如在适当温度(例如, $0^\circ\text{C}$ 至回流温度)在温和碱(如 $\text{NEt}_3$ )存在下使用DPPA进行化合物34的Curtius重排,接着任选地在较高温度(例如, $40-200^\circ\text{C}$ )在路易斯酸(例如, $\text{SnCl}_2$ )存在下用醇(例如, $t\text{-BuOH}$ )处理反应性中间体,得到其中Pg为胺保护基的化合物35。用于制备化合物35的醇的选择决定胺保护基(例如, $t\text{-BuOH}$ 得到Boc-胺)。使用标准条件(例如,当保护基为甲酯时用LiOH,对于苯酯的氢化等等)的化合物35酯基的脱保护,得到酸化合物36。

[0146] 在方案C的一种替代方案中, $R^8$ 可以为甲基、H或者F。

[0147] 在方案C的另一种替代方案中,化合物35和36中的Pg可用 $R^7$ 取代。



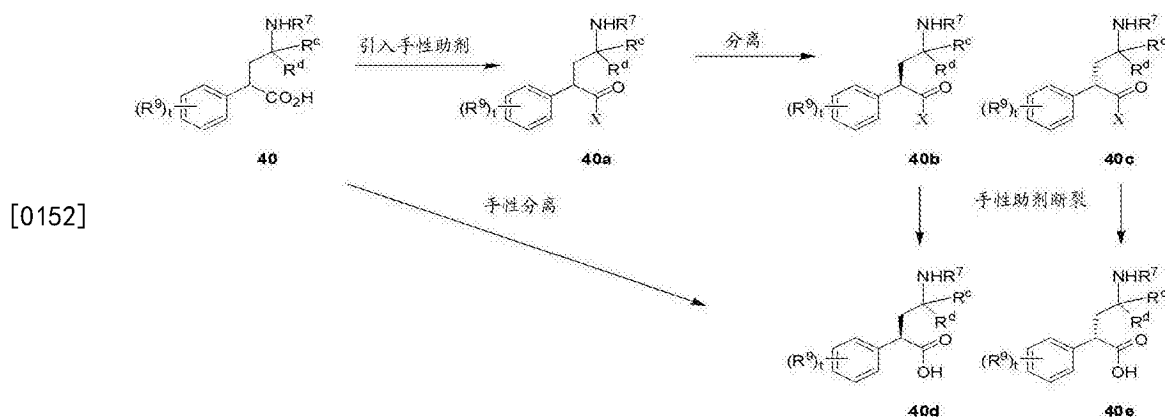
[0148]

[0149] 方案D

[0150] 方案D显示制备任选取代的式2A的 $\gamma$ -苯基甘氨酸氨基酸40的方法,其中 $R^c$ 、 $R^d$ 和 $R^9$ 如本申请所定义, $t$ 为0至4, $R^6$ 为H,且 $R^7$ 为胺保护基(如Boc)。根据方案A制备的起始不饱和酯

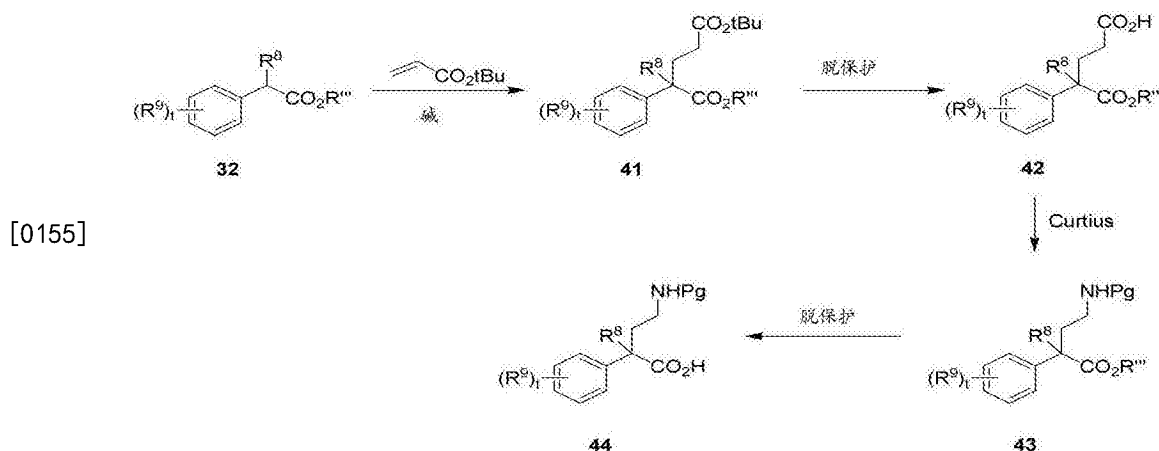
24,可在适当温度(例如,0℃至室温)在碱(如DBU)存在下,用取代的硝基甲烷衍生物(例如,硝基乙烷)处理,得到同系的加合物37。可在适当温度(例如,室温至回流温度)使用标准条件(例如,氢化、Zn/酸等等)还原化合物37的硝基,并将所得中间体环化,得到内酰胺中间体38。在标准条件下使用Boc<sub>2</sub>O可完成(例如)具有Boc-基团胺的保护,得到化合物39。可使用可选择保护基,并且许多适当的实例在Greene和Wuts编著的‘Protective Groups in Organic Synthesis’(Wiley-Interscience)第三版第7章中列出。在适当温度(例如,0至100℃)用含水的碱(如LiOH或者KOH)处理化合物39来影响内酰胺的开环,得到适当取代的保护的氨基酸化合物40。

[0151] 在方案D的一种替代方案中,化合物39和40中的Boc可用R<sup>7</sup>代替。



[0153] 方案D1

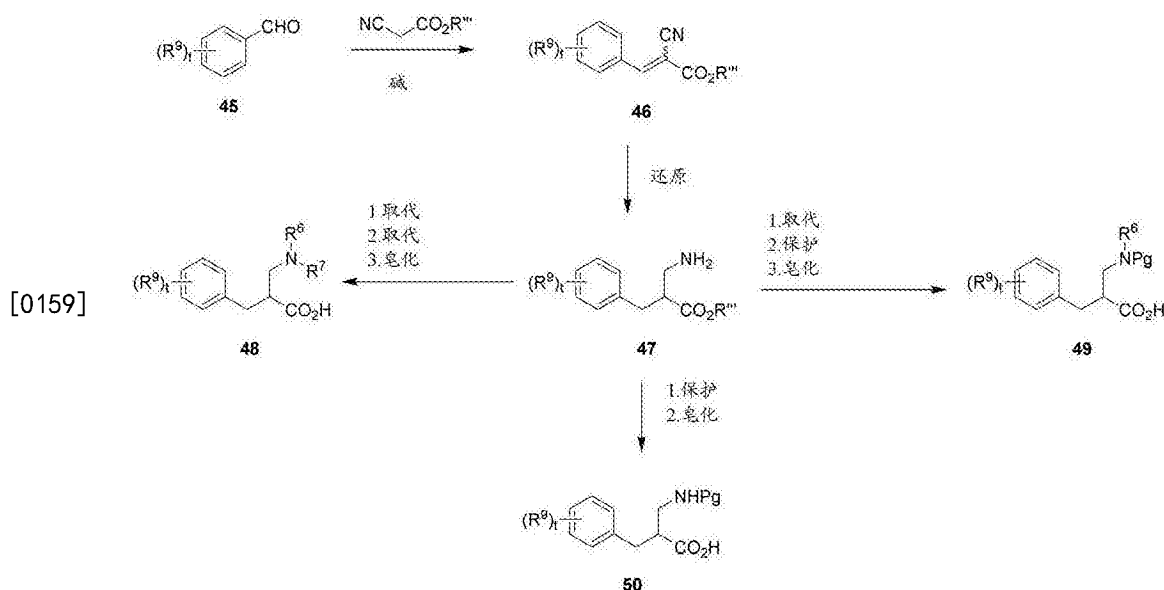
[0154] 方案D1显示形成 $\gamma$ 氨基酸40d和40e的单个对映异构体的方法,其中R<sup>c</sup>、R<sup>d</sup>和R<sup>9</sup>如本申请所定义,t为0至4,R<sup>6</sup>为H,且R<sup>7</sup>为胺保护基(如Boc)。在一种可能的方法中,使用手性固定相将消旋的氨基酸进行手性色谱分离。可选择地,可制备非对映异构的混合物,其可通过常规色谱技术分离。例如,在-20℃至50℃在碱性胺(例如,许尼希碱)存在下,活化化合物40(例如,COCl<sub>2</sub>、碱)并引入手性助剂(例如,Evans的噁唑烷酮),得到化合物40b和40c的非对映异构的混合物。该混合物可使用标准条件(例如,柱色谱、HPLC、SFC等等)来分离,得到单独的非对映异构体。通过手性助剂的裂解(在Evans的助剂情况下,通过在-15℃至室温使用(例如)LiOH/HOOH)可将这些转化成期望的酸,得到化合物40d和40e。需要保持低温从而防止新分离的手性中心的消旋化。



[0156] 方案E

[0157] 方案E显示制备任选取代的式2A的 $\gamma$ -苯基甘氨酸氨基酸44的方法,其中 $R^8$ 为甲基, $R^6$ 为H, $R^7$ 为胺保护基, $t$ 为0至4,且 $R^9$ 如本申请所定义。可在适当温度(例如,0℃至回流温度)用适合的碱(如KOtBu)处理其中 $R''$ 为烷基且 $t$ 为0-4的酯32,形成阴离子,然后在-78℃至室温的温度范围加入丙烯酸酯单元(例如,丙烯酸叔丁酯),得到同系的酯41。通过在适当温度(例如,0℃至回流温度)用适合的酸(如TFA或者HCl)处理,化合物41的叔丁酯进行皂化得到化合物42。例如在适当温度(例如,0℃至回流温度)在温和碱(如NEt<sub>3</sub>)存在下使用DPPA进行化合物42的Curtius重排,接着任选地在升高的温度(例如,40-200℃)在路易斯酸(例如,SnCl<sub>2</sub>)存在下用适当的醇(例如, $t$ -BuOH)处理反应性中间体,得到化合物43。醇的选择决定化合物43的胺保护基(例如, $t$ -BuOH得到Boc-胺)。在标准条件下(例如,对于甲酯的LiOH,对于苄酯的氢化等等)化合物43的酯的脱保护,得到酸44。

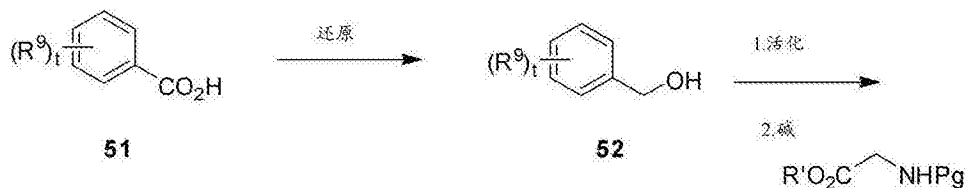
[0158] 在方案E的一种替代方案中,Pg可用化合物43和44中的 $R^7$ 取代。



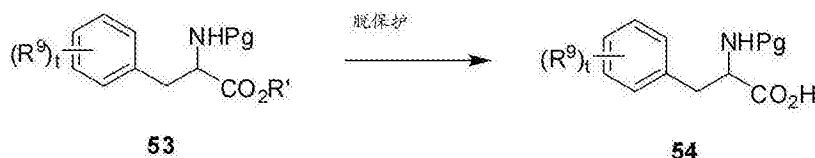
[0160] 方案F

[0161] 方案F显示制备任选取代的式3A的 $\beta$ -苯基丙氨酸氨基酸48、49和50的方法,其中 $R^6$ 为H, $R^7$ 为胺保护基, $t$ 为0至4,且 $R^9$ 如本申请所述。在适当温度(例如,室温至回流温度)在适合的碱(如吡啶)存在下,适当取代的醛45可用其中 $R''$ 为烷基的式CN-CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>R''的氰基乙酸酯(例如,2-氰基乙酸乙酯)处理,得到不饱和的酯46。可以多种方式完成化合物46的烯烃和腈基的还原,得到化合物47。例如,所述烯烃可用影响1,4-还原的已知的任何试剂(如NaBH<sub>4</sub>)来还原。所述腈可在路易斯酸(如BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>或者TFA)存在下使用试剂(如LiAlH<sub>4</sub>或者NaBH<sub>4</sub>)来还原。可使用多种可选择的还原剂,如Hudlicky编著的'Reductions in Organic Chemistry'(ACS专著)第二版第18章中列出的还原剂。需要时,在该阶段使用标准条件(例如,使用适当醛、路易斯酸和还原剂的还原胺化)可将伯胺47进行单烷基化或者双烷基化,得到制备化合物48和49途中的中间体(未显示)。为了制备伯胺和仲胺,可使用多种保护基(例如,Greene和Wuts编著的'Protective Groups in Organic Synthesis'(Wiley-Interscience)第三版第7章)完成保护,例如作为Boc-基团在0℃至室温使用Boc酐。使用含水碱如LiOH或者KOH,或者在上述'Protecting Groups'文本中列出的任何可选择试剂(例如,对于苄酯的氢化)可完成酯基的裂解,形成氨基酸48、49或者50。

[0162] 在方案F的一个替代方案中, Pg可用化合物49或者50中的 $R^7$ 取代。



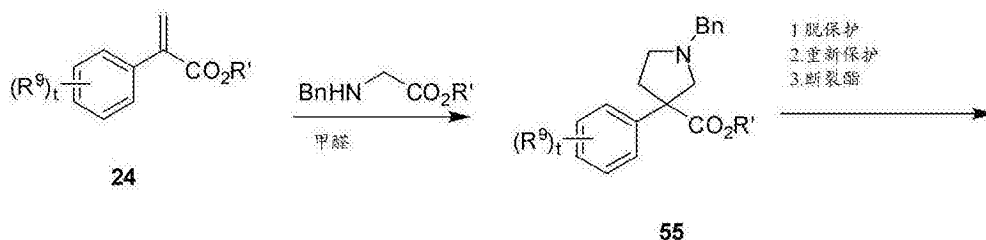
[0163]



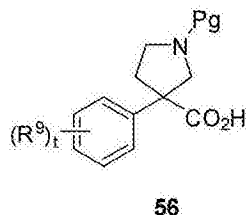
[0164] 方案G

[0165] 方案G显示制备任选取代的式4A的 $\alpha$ -苯基丙氨酸氨基酸54的方法, 其中 $R^6$ 为H,  $R^7$ 为胺保护基,  $t$ 为0至4, 且 $R^9$ 如本申请所定义。在室温至回流的温度范围使用例如 $LiAlH_4$ , 可将适当取代的酸51还原成苯基醇52。使用例如 $PBr_3$ 、 $MsCl/NEt_3$ 等等, 可将化合物52的醇基团活化为离去基团(例如, 卤化物、甲磺酸酯等等)。在强碱(如LDA、 $nBuLi$ )存在下使用保护的甘氨酸衍生物(如2-(二苯基亚甲基氨基)乙酸乙酯)置换所述离去基团, 得到氨基酯中间体53, 其中 $R^1$ 为烷基且Pg为保护基。适当的保护基在'Protective Groups in Organic Synthesis' by Greene and Wuts, Wiley-Interscience中列出。在本阶段可改变胺保护基, 例如引入Boc-基团。在适当温度(例如,  $0^\circ C$ 至回流温度)随后进行酯53的脱保护(例如, 对于苯酯使用3N HCl、LiOH、氢化等等), 得到期望的N-保护的氨基酸54。

[0166] 在方案G的一种替代方案中, 在化合物53脱保护之后, Pg可用化合物54中的 $R^7$ 取代。



[0167]

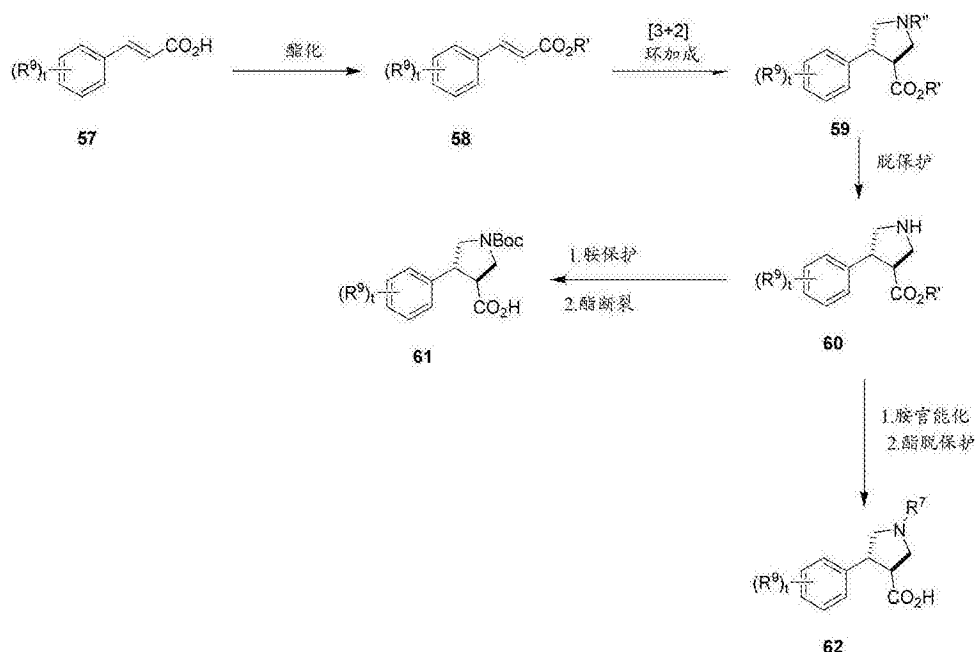


[0168] 方案H

[0169] 方案H显示制备任选取代的式2A的 $\gamma$ -苯基甘氨酸氨基酸56的方法, 其中 $R^6$ 和 $R^8$ 与它们所连接的原子一起形成螺环杂环,  $R^7$ 为胺保护基,  $t$ 为0至4, 且 $R^9$ 如本申请所定义。根据方案H, 在适当温度(例如, 室温至回流温度)在干燥条件(例如, 加入分子筛)下, 可将不饱和的酯24用适当保护的甘氨酸衍生物(例如, 苯基甘氨酸)和甲醛处理, 生成化合物55。使用标准条件(例如, 经氢化、甲酸1-氯乙酯等等)裂解苄基, 接着加入胺保护基(如Boc-基团), 并在标准条件下(例如, 在 $0^\circ C$ 至回流温度, 对于甲酯的LiOH、对于叔丁酯的酸等等)裂解酯, 得

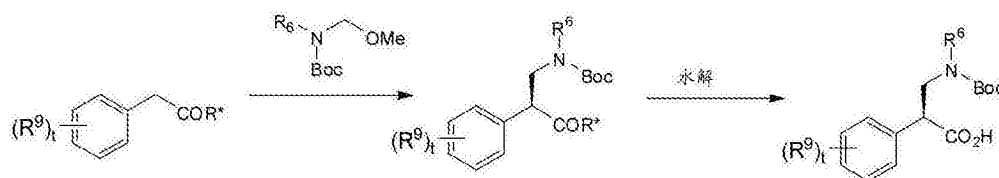
到N-保护的氨基酸56。

[0170] 在方案H的一种替代方案中, Pg可用化合物56中的R<sup>7</sup>取代。

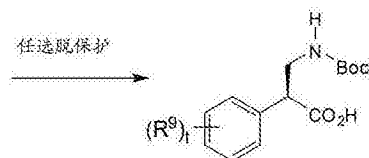


[0172] 方案I

[0173] 方案I显示制备任选取代的式3A的β-苯基丙氨酸氨基酸61和62的方法,其中R<sup>6</sup>和R<sup>b</sup>与它们所连接的原子一起形成杂环,且R<sup>7</sup>和R<sup>9</sup>如本申请所定义且t为0至4。使用标准条件如在催化的酸(例如,浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>或者TMSCl)或者偶联剂(例如,DCC/DMAP)存在下用适当醇(例如,MeOH)处理;或者可选择地通过在适当温度(例如,-20℃至100℃)在适合的碱(如NEt<sub>3</sub>/DMAP)存在下用适当亲电体(例如,MeI、EtBr、BnBr)处理,将酸57转化成酯58。适当的酯的选择通过在合成结束时重新形成酸所需要的条件来决定,如Greene和Wuts编著的‘Protective Groups in Organic Synthesis’(Wiley-Interscience)第三版第5章中所述的条件。例如,在TFA存在下使用N-(甲氧基甲基)(苯基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)甲胺,可实现化合物58的环化,得到化合物59。该特定试剂组生成苄胺,所述试剂组可在标准条件如在-20℃至50℃在氢化下或者任何其它标准条件如Greene和Wuts编著的‘Protective Groups in Organic Synthesis’(Wiley-Interscience)第三版第7章中列出的条件下裂解,得到化合物60。使用上文所列出的试剂(如Boc-酐)用可选择的保护基(例如,Boc)保护化合物60的游离胺,随后使用适于酯的标准条件(例如,对于甲酯的含水LiOH、对于苄酯的氢化、对于叔丁酯的酸)裂解酯,得到酸化合物61。可选择地,可将游离胺进一步官能化(例如,使用烷基化、还原胺化或者酰化条件),接着裂解酯,得到三级氨基酸化合物62。



[0174]



## [0175] 方案J

[0176] 使用方案J中所示的操作可制备任一种b-氨基酸的对映异构体。可将与具有适当立体化学以产生在氨基酸b-位期望的适当的化学的适当手性助剂( $R^*$ ) (例如, Evans的助剂或者磺内酰胺) 偶联的乙酸2-苯酯用亚胺或者亚胺离子合成子(例如, 在 $-100^{\circ}\text{C}$ 至 $50^{\circ}\text{C}$ 在路易斯酸(例如,  $\text{TiCl}_4$ ) 和适当取代的烷氧基甲胺或者N-(烷氧基甲基) 酰胺/氨基甲酸酯存在下原位制备) 处理。不对称加成可能需要路易斯酸(例如,  $\text{TiCl}_4$ )、胺类碱(例如, 许尼希碱) 和较低温度(例如,  $-100^{\circ}\text{C}$ 至 $0^{\circ}\text{C}$ ) 的存在, 产生最佳水平的立体化学诱导。如果de低于所需, 可通过(例如) 色谱法或者重结晶在本阶段分离单独的非对映异构体。然后使用裂解所选助剂已知的方法(例如, 对于Evans助剂的在 $-50^{\circ}\text{C}$ 至 $50^{\circ}\text{C}$ 的 $\text{LiOH}/\text{H}_2\text{O}_2$ ) 裂解手性助剂得到期望的在b-位具有期望立体化学的N-保护的b-氨基酸。另外, 如果 $R^6$ 也是保护基(例如, 2,4-二甲氧基苄基), 可在Boc-基团存在下将其除去(例如, 氢化或者DDQ等等), 得到Boc-氨基酸, 当其除去Boc-基团时将会得到伯胺, 所述伯胺可通过烷基化、酰化或者还原胺化进一步官能化(在与嘧啶-哌嗪单元偶联之前或者之后)。

[0177] 在制备式I的化合物中, 中间体远距离官能团(例如, 伯胺或者仲胺等等) 的保护可以是必需的。这种保护的需要将取决于远距离官能团的性质和制备方法的条件而变化。适合的氨基-保护基( $\text{NH-Pg}$ ) 包括乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧基羰基(BOC)、苄基氧基羰基(CBz) 和9-芴基亚甲基氧基羰基(Fmoc)。这种保护的需要由本领域的技术人员容易地确定。对于保护基以及其使用的一般描述, 见T.W.Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley&Sons, New York, 1991。

## [0178] 分离方法

[0179] 在制备式I的化合物的任意合成方法中, 将反应产物彼此分离和/或者与起始原料分离可能是有益的。通过本领域常见技术将每步或者多步中期望的产物分离和/或者纯化(以下称为分离) 为期望的同质性程度。通常所述分离涉及多相萃取、从溶剂或者溶剂混合物中结晶、蒸馏、升华或者色谱法。色谱法可涉及任何数目的方法, 包括例如: 反相和正相; 尺寸排阻(size exclusion); 离子交换; 高、中和低压液相色谱方法和装置; 小规模分析; 模拟移动床(SMB) 和制备性薄层或者厚层色谱, 以及小规模薄层和快速色谱技术。

[0180] 另一类分离方法涉及用所选择的试剂处理混合物, 从而与期望的产物、未反应的起始原料、反应副产物等结合或者使得期望的产物、未反应的起始原料、反应副产物等分离。所述试剂包括吸附剂(adsorbent) 或者吸收剂(absorbent), 如活性炭、分子筛、离子交换介质等。可供选择地, 所述试剂可以是酸(在碱性物质的情况下), 碱(在酸性物质的情况下), 结合剂如抗体、结合蛋白, 选择性螯合剂如冠醚, 液/液离子交换试剂(LIX) 等。

[0181] 对适当的分离方法的选择依赖于所涉及物质的性质。例如,沸点和分子量(在蒸馏和升华中)、存在或者不存在极性官能团(在色谱法中)、在酸性和碱性介质中物质的稳定性(在多相萃取中)等等。本领域技术人员将采用最有可能实现期望的分离的技术。

[0182] 可通过本领域技术人员公知的方法(如色谱法和/或者分级结晶),基于非对映异构体的物理化学差别,将非对映异构混合物分离为其单独的非对映异构体。对映异构体可通过以下方式分离:通过使对映异构体混合物与适当的光学活性的化合物(例如,手性助剂如手性醇或者Mosher's酰氯)反应将其转化为非对映异构混合物,分离非对映异构体,然后将单独的非对映异构体转化(例如,水解)为相应的纯的对映异构体。此外,一些本发明化合物可以是阻转异构体(例如,取代的联芳(biaryl))并视为本发明的部分。对映异构体也可通过使用手性HPLC柱分离。

[0183] 单一的立体异构体,例如,基本上不含其立体异构体的对映异构体,可通过以下方式获得:使用诸如形成非对映异构体的方法,用光学活性的拆分剂来拆分外消旋混合物(Eliel,E.and Wilen,S."Stereochemistry of Organic Compounds",John Wiley&Sons, Inc.,New York,1994;Lochmuller,C.H.,J.Chromatogr.,(1975) 113 (3):283-302)。本发明的手性化合物的外消旋混合物可通过任何合适的方法分开和离析,所述方法包括:(1)与手性化合物形成离子性非对映异构的盐,然后通过分级结晶或者其它方法分离,(2)与手性衍生试剂形成非对映异构的化合物,分离所述非对映异构体,然后转化为纯的立体异构体,(3)在手性条件下直接分离基本上纯的或者富含的立体异构体。参见:"Drug Stereochemistry,Analytical Methods and Pharmacology,"Irving W.Wainer,Ed., Marcel Dekker,Inc.,New York(1993)。

[0184] 在方法(1)的情况下,非对映异构的盐可通过以下方式形成:使对映异构纯的手性碱如马钱子碱(brucine)、奎宁、麻黄碱、番木鳖碱(strychnine)、 $\alpha$ -甲基- $\beta$ -苯基乙胺(安非他明)等与带有酸性官能团的不对称化合物如羧酸和磺酸反应。可通过分级结晶或者离子色谱法诱导非对映异构体的盐分离。对于氨基化合物的光学异构体的分离而言,加入手性羧酸或者磺酸如樟脑磺酸、酒石酸、扁桃酸或者乳酸可引起非对映异构体的盐的形成。

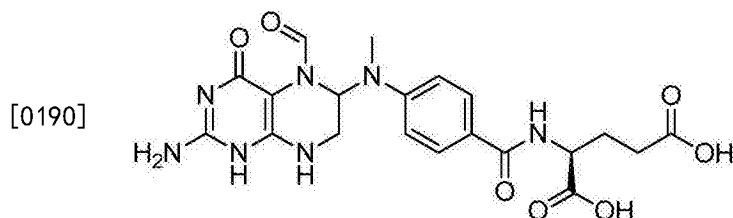
[0185] 可供选择地,通过方法(2),使待拆分的底物与手性化合物的一种对映异构体反应,形成非对映异构对(E.and Wilen,S."Stereochemistry of Organic Compounds",John Wiley&Sons,Inc.,1994,p.322)。非对映异构化合物可通过以下方式形成:使不对称化合物与对映异构纯的手性衍生试剂如薄荷基衍生物反应,接着分离非对映异构体,然后水解得到纯的或者富集的对映异构体。确定光学纯度的方法涉及制备外消旋混合物手性酯,如在碱的存在下制备薄荷基酯例如(-)氯甲酸薄荷基酯,或者Mosher酯,乙酸 $\alpha$ -甲氧基- $\alpha$ -(三氟甲基)苯基酯(Jacob III.J.Org.Chem.,(1982) 47:4165),然后就两种阻转异构的对映异构体或者非对映异构体的存在而分析 $^1\text{H}$  NMR光谱。阻转异构化合物的稳定的非对映异构体可遵循分离阻转异构的萘基-异喹啉(WO1996/15111)的方法通过正相和反相色谱分开和离析。通过方法(3),两种对映异构体的外消旋混合物可使用手性固定相通过色谱来分离("Chiral Liquid Chromatography"(1989)W.J.Lough,Ed.,Chapman and Hall,New York; Okamoto,J.of Chromatogr.,(1990) 513:375-378)。富集的或者纯化的对映异构体可通过用于区分带有不对称碳原子的其它手性分子的方法(如旋光性或者圆二色性)来区分。

[0186] 化疗剂

[0187] 某些化疗剂与式I的化合物或者其药用盐组合已经证明具有令人惊讶的及意想不到的体外和体内抑制细胞增殖性质。所述化疗剂包括：5-FU、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、厄洛替尼、PD-0325901、紫杉醇、贝伐珠单抗、帕妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素、拉帕替尼、PLX-4032、MDV3100、阿比特龙和GDC-0973。

[0188] 5-FU(氟尿嘧啶,5-氟尿嘧啶,CAS登记号51-21-8)为胸苷酸合酶抑制剂并已经用于癌症治疗数十年,所述癌症包括结肠直肠癌和胰腺癌(US 2802005;US 2885396;Duschinsky等(1957) J.Am.chem.Soc.79:4559;Hansen,R.M.(1991) Cancer Invest.9:637-642)。5-FU的命名为5-氟-1H-嘧啶-2,4-二酮。

[0189] 亚叶酸(INN)或者甲酰四氢叶酸(USAN)((2S)-2-{{4-[(2-氨基-5-甲酰基-4-氧代-5,6,7,8-四氢-1H-蝶啶-6-基)甲基氨基]苯甲酰基}氨基}戊二酸,CAS登记号1492-18-8)通常作为亚叶酸钙或者亚叶酸钠(或者甲酰四氢叶酸钙/钠)给药,作为方案FOLFOX的一部分用于癌症化疗中,所述化疗包括the与化疗药物5-氟尿嘧啶,和在某些实施方案中,与奥沙利铂,或者任选地与其它铂如顺铂的协同组合。它具有结构:



[0191] 奥沙利铂(CAS登记号63121-00-6)为用于癌症化疗的配位络合物(美国专利4,169,846)。已经在晚期癌症(胃癌、卵巢癌)中将奥沙利铂与其它铂化合物(顺铂、卡铂)作比较。奥沙利铂通常在称为FOLFOX的组合中与氟尿嘧啶和甲酰四氢叶酸给药用于结肠直肠癌的治疗。

[0192] mFOLFOX6(修饰的FOLFOX6)是指奥沙利铂(例如,ELOXATIN®)、5-FU(例如,ADRUCIL®),和甲酰四氢叶酸(例如,WELLCOVORIN®)。

[0193] 卡铂(CAS登记号41575-94-4)是用于针对卵巢癌、肺癌、头颈癌的化疗药物(US 4140707;Calvert等(1982) Cancer Chemother.Pharmacol.9:140;Harland等(1984) Cancer Res.44:1693)。卡铂的命名为环丁烷-1,1-二羧酸二氨铂(azanide;cyclobutane-1,1-dicarboxylic acid;platinum)。

[0194] 顺铂(Cisplatin)、顺铂(cisplatinum)或者顺式-二氨二氯化亚铂(II)(CAS登记号15663-27-1)为用于治疗多种类型癌症的化疗药物,所述癌症包括肉瘤、一些癌瘤(例如,小细胞肺癌和卵巢癌)、淋巴瘤以及生殖细胞肿瘤(germ cell tumors)。它是含有铂的抗癌药物种类中的第一个成员,该种类目前还包括卡铂和奥沙利铂。顺铂具有如下结构:顺式-PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

[0195] 伊立替康(CAS登记号97682-44-5)为拓扑异构酶I抑制剂,其阻止DNA解旋。伊立替康经水解活化成拓扑异构酶I的抑制剂SN-38。所述活性代谢物SN-38对拓扑异构酶I的抑制最终导致对DNA复制和转录的抑制。它主要用于结肠癌,具体而言,与其它化疗剂组合用于结肠癌。所述组合包括用药方案FOLFIRI,其由输注的5-氟尿嘧啶、甲酰四氢叶酸和伊立替康组成。

[0196] 多柔比星(CAS登记号23214-92-8)为蒽环类抗生素。同所有蒽环类一样,它通过嵌

入DNA起作用。多柔比星常用于多种癌症(包括血液恶性肿瘤)、多种癌瘤以及软组织肉瘤的治疗。多柔比星的命名为(8S,10S)-10-(4-氨基-5-羟基-6-甲基-四氢-2H-吡喃-2-基氧基)-6,8,11-三羟基-8-(2-羟基乙酰基)-1-甲氧基-7,8,9,10-四氢并四苯-5,12-二酮。

[0197] 多西他赛(CAS登记号114977-28-5)用于治疗乳腺癌、卵巢癌以及NSCLC癌症的紫杉烷(US 4814470;US 5438072;US 5698582;US 5714512;US 5750561;Mangatal等(1989) Tetrahedron 45:4177;Ringel等(1991) J.Natl.Cancer Inst.83:288;Bissery等(1991) Cancer Res.51:4845;Herbst等(2003) Cancer Treat.Rev.29:407-415;Davies等(2003) Expert.Opin.Pharmacother.4:553-565)。多西他赛的命名为(2R,3S)-N-羧基-3-苯基异丝氨酸,N-叔丁酯,13-酯与5,20-环氧-1,2,4,7,10,13-六羟基紫杉-11-烯-9-酮4-乙酸酯 2-苯甲酸酯,三水合物((2R,3S)-N-carboxy-3-phenylisoserine,N-tert-butyl ester,13-ester with 5,20-epoxy-1,2,4,7,10,13-hexahydroxytax-11-en-9-one 4-acetate 2-benzoate, trihydrate) (US 4814470;EP 253738;CAS登记号114977-28-5)。

[0198] 吉西他滨(CAS登记号95058-81-4)为阻断DNA复制的核苷类似物,用于治疗多种癌瘤,所述癌瘤包括胰腺癌、乳腺癌、NSCLC和淋巴瘤(US 4808614;US 5464826;Hertel等(1988) J.Org.Chem.53:2406;Hertel等(1990) Cancer Res.50:4417;Lund等(1993) Cancer Treat.Rev.19:45-55)。吉西他滨的命名为4-氨基-1-[3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2-酮。

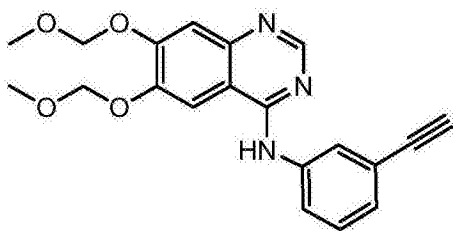
[0199] SN-38(CAS登记号86639-52-3)为伊立替康的活性代谢物(见上文)。它比伊立替康本身活性强200倍。它的命名为7-乙基-10-羟基-喜树碱。

[0200] 卡培他滨(CAS登记号154361-50-9)为口服给药的用于转移性乳腺癌和结肠直肠癌治疗的化疗剂。卡培他滨为在肿瘤中被酶解转化成5-氟尿嘧啶的前药,其中它抑制DNA合成并减慢肿瘤组织的生长。卡培他滨的活化采取具有三种酶解步骤和两种中间代谢物的途径形成5-氟尿嘧啶,所述代谢物为5'-脱氧-5-氟胞嘧啶(5'-DFCR)和5'-脱氧-5-氟尿嘧啶(5'-DFUR)。卡培他滨的命名为[1-(3,4-二羟基-5-甲基-四氢呋喃-2-基)-5-氟-2-氧代-1H-嘧啶-4-基]氨基甲酸戊酯。

[0201] 替莫唑胺(CAS登记号85622-93-1)为用于治疗IV级星形细胞瘤(也称作多形性胶质母细胞瘤)以及黑色素瘤(皮肤癌的形式)的烷化剂。替莫唑胺的命名为4-甲基-5-氧代-2,3,4,6,8-五氮杂二环[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-甲酰胺。

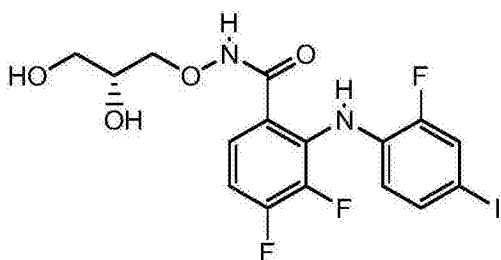
[0202] 厄洛替尼(CAS登记号183321-74-6, **TARCEVA®**, OSI-774, Genentech)用于治疗非小细胞肺癌(NSCLC)、肺癌、胰腺癌和特异性靶向表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶的几种其它类型的癌症(US 5747498;US 6900221;Moyer等(1997) Cancer Res.57:4838;Pollack等(1999) J.Pharmacol.Exp.Ther.291:739;Perez-Soler等(2004) J.Clin.Oncol.22:3238;Kim等(2002) Curr.Opin.Invest.Drugs 3:1385-1395;Blackhall等(2005) Expert Opin.Pharmacother.6:995-1002)。厄洛替尼的命名为N-(3-乙炔基苯基)-6,7-二(甲氧基甲氧基)喹唑啉-4-胺(CAS登记号183321-74-6)并具有以下结构:

[0203]



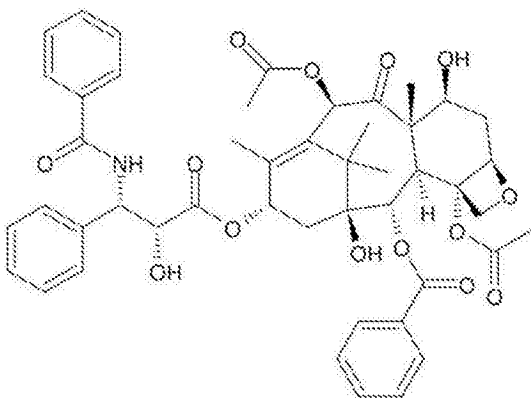
[0204] PD-0325901 (CAS登记号391210-10-9, Pfizer) 为治疗癌症的可能的口服片剂的第二代、非-ATP竞争性、变构MEK抑制剂 (US 6960614; US 6972298; US 2004/147478; US 2005/085550)。已经进行II期临床试验,可能治疗乳腺癌、结肠癌和黑色素瘤。PD-0325901的命名为(R)-N-(2,3-二羟基丙氧基)-3,4-二氟-2-(2-氟-4-碘苯基氨基)苯甲酰胺,并具有以下结构:

[0205]



[0206] 紫杉醇 (CAS登记号33069-62-4, TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton NJ) 是从太平洋紫杉树短叶红豆杉 (*Taxus brevifolia*) 的树皮中分出的化合物,并用于治疗肺癌、卵巢癌、乳腺癌以及晚期的卡波西肉瘤 (Kaposi's sarcoma) (Wani等 (1971) J. Am. Chem. Soc. 93:2325; Mekhail等 (2002) Expert. Opin. Pharmacother. 3:755-766)。紫杉醇的命名为(2aR-(2a- $\alpha$ , 4- $\beta$ , 4a- $\beta$ , 6- $\beta$ , 9- $\alpha$  ( $\alpha$ -R\*,  $\beta$ -S\*), 11- $\alpha$ , 12- $\alpha$ , 12a- $\alpha$ , 2b- $\alpha$ ))- $\beta$ -(苯甲酰基氨基)- $\alpha$ -羟基-苯丙酸6, 12b-二(乙酰基氧基)-12-(苯甲酰基氧基)-2a, 3, 4, 4a, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 12a, 12b-十二氢-4, 11-二羟基-4a, 8, 13, 13-四甲基-5-氧代-7, 11-亚甲基-1H-环癸(3,4)苯并(1,2-b)氧杂环丁-9-基酯,并具有以下结构:

[0207]



[0208] 贝伐珠单抗 (CAS登记号216974-75-3, AVASTIN®, Genentech Inc.) 为针对血管内皮生长因子VEGF的重组人源化单克隆抗体 (US 6054297; Presta等 (1997) Cancer Res. 57:4593-4599)。它用于癌症的治疗,其中它通过阻断新血管的形成来抑制肿瘤生长。贝伐珠单抗是美国第一种临床可用的血管发生抑制剂,其在2004年由FDA批准在转移性结肠癌和大多数形式的转移性非小细胞肺癌的治疗中与标准化疗组合使用。正在进行几项晚期临床研究以确定它对于患有以下疾病的患者的安全性和有效性:辅助的 (adjuvant)/非

转移性结肠癌、转移性乳腺癌、转移性肾细胞癌、转移性多形性胶质母细胞瘤、转移性卵巢癌、转移性激素难治性前列腺癌,以及转移性或者不能切除的局部晚期胰腺癌 (Ferrara等 (2004) Nat. Rev. Drug Disc. 3:391-400)。贝伐珠单抗的分子量为约149,000道尔顿并且是糖基化的。

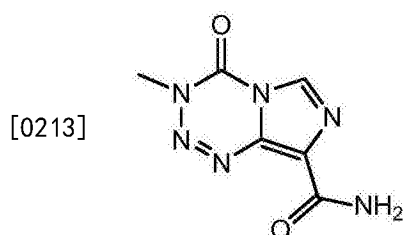
[0209] 贝伐珠单抗和其它人源化的抗-VEGF抗体在US 6884879中有更多描述。另外的抗-VEGF抗体包括G6或者B20系列抗体,例如,G6-31,B20-4.1,(WO 2005/012359;WO 2005/044853;US 7060269;US 6582959;US 6703020;US 6054297;WO 98/45332;WO 96/30046;WO 94/10202;EP 0666868B1;US 2006/009360;US 2005/0186208;US 2003/0206899;US 2003/0190317;US 2003/0203409;20050112126;Popkov等 (2004) Journal of Immunological Methods 288:149-164。“B20系列抗体”为根据WO 2005/012359的图27-29的任一项从B20抗体或者B20-衍生的抗体的序列衍生的抗-VEGF抗体,将其整个公开特地引入本申请作为参考。在一个实施方案中,所述B20系列抗体结合至人VEGF上包含残基F17、M18、D19、Y21、Y25、Q89、I91、K101、E103和C104的功能表位。其它抗-VEGF抗体包括结合至人VEGF上包含残基F17、M18、D19、Y21、Y25、Q89、I91、K101、E103和C104或者可选择地包含残基F17、Y21、Q22、Y25、D63、I83和Q89的功能表位的抗体。

[0210] 曲妥珠单抗 (HERCEPTIN®, huMAb 4D5-8, rhuMAb HER2, Genentech) 为重组的DNA-衍生的人源化的、IgG1 $\kappa$ 、单克隆抗体版本的鼠HER2抗体,其在基于细胞的测定中高亲和力和选择性结合 ( $K_d=5\text{nM}$ ) 至人表皮生长因子受体2蛋白HER2 (ErbB2) 的细胞外结构域 (US 5821337;US 6054297;US 6407213;US 6639055;Coussens L,等 (1985) Science 230:1132-9;Slamon DJ,等 (1989) Science 244:707-12)。曲妥珠单抗含有具有结合至HER2的鼠抗体 (4D5) 互补性决定区的人构架区。曲妥珠单抗结合至所述HER2抗原并由此抑制癌性细胞的生长。在体外测定和动物中已经显示,曲妥珠单抗抑制过表达HER2的人肿瘤细胞的增殖 (Hudziak RM,等 (1989) Mol Cell Biol 9:1165-72;Lewis GD,等 (1993) Cancer Immunol Immunother;37:255-63;Baselga J,等 (1998) Cancer Res.58:2825-2831)。曲妥珠单抗为具有抗体依赖性细胞毒性ADCC的介质 (Hotelling TE,等 (1996) [abstract].Proc. Annual Meeting Am Assoc Cancer Res;37:471;Pegram MD,等 (1997) [abstract].Proc Am Assoc Cancer Res;38:602;Sliwkowski等 (1999) Seminars in Oncology 26 (4), Suppl 12:60-70;Yarden Y. and Sliwkowski, M. (2001) Nature Reviews: Molecular Cell Biology, Macmillan Magazines, Ltd., Vol. 2:127-137)。HERCEPTIN®在1998年被批准治疗患有ErbB2-过表达的转移性乳腺癌的患者 (Baselga等, (1996) J. Clin. Oncol. 14:737-744)。FDA在2006年批准HERCEPTIN®作为含有多柔比星、环磷酰胺和紫杉醇的治疗方案的部分以用于患有HER2-阳性、结节-阳性乳腺癌的患者的辅助治疗。有发展更多HER2-定向的癌症疗法的重大的临床需要,其用于患有对HERCEPTIN®治疗不响应或者响应微弱的HER2-过表达的肿瘤或者与HER2表达有关的其它疾病的患者。

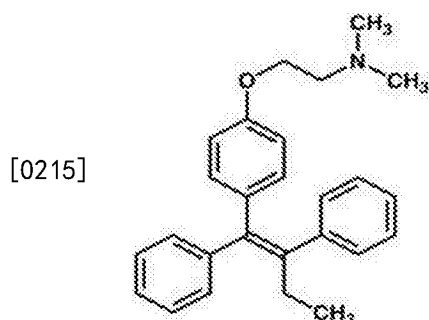
[0211] 帕妥珠单抗 (OMNITARG™, rhuMAb 2C4, Genentech) 为临床阶段、人源化抗体并且是第一种称作HER二聚化抑制剂 (HDI) 的新型药剂,其阻断了HER2受体与其它HER受体家族成员 (即HER1/EGFR、HER3和HER4) 协作的能力 (US 6949245;Agus等 (2002) Cancer Cell 2:127-37;Jackson等 (2004) Cancer Res 64:2601-9;Takai等 (2005) Cancer 104:2701-8)。在癌细胞中,干扰HER2与其它HER家族受体协作的能力阻断了细胞信号传导并可最终导致癌

细胞生长抑制和癌细胞的死亡。由于它们独特的作用模式,HDI具有在包括不过表达HER2肿瘤的多种肿瘤中起作用的可能性(Mullen等(2007)Molecular Cancer Therapeutics 6: 93-100)。

[0212] 替莫唑胺(CAS登记号85622-93-1, **TEMODAR®**, **TEMODAL®**, Schering Plough)是由FDA批准治疗间变性星形细胞瘤的口服化疗药物,并已经研究用于其它脑肿瘤类型如多形性胶质母细胞瘤(US 5260291;Stevens等(1984)J.Med.Chem.27:196;Newlands等(1997)Cancer Treat.Rev.23:35-61;Danson等(2001)Expert Rev.Anticancer Ther.1: 13-19)。替莫唑胺的命名为(4-甲基-5-氧代-2,3,4,6,8-五氮杂二环[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-甲酰胺或者3,4-二氢-3-甲基-4-氧代咪唑并[5,1-d]-as-四嗪-8-甲酰胺(US 5260291,CAS No.85622-93-1),并具有以下结构:

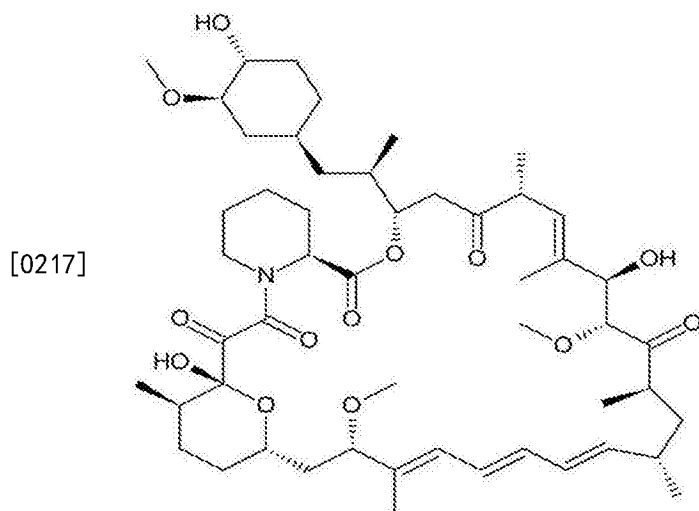


[0214] 他莫昔芬(CAS登记号 10540-29-1, **NOLVADEX®**, **ISTUBAL®**, **VALODEX®**)为口服有效的、选择性雌激素受体调节剂(SERM),其用于乳腺癌的治疗并且是目前世界上针对该适应症销量最大的药物。他莫昔芬(**Nolvadex®**)在1977年首先由FDA批准(ICI Pharmaceuticals,现在的AstraZeneca)用于转移性乳腺癌的治疗(Jordan VC(2006)Br J Pharmacol 147(Suppl 1):S269-76)。他莫昔芬目前用于绝经前和绝经后妇女的早期和晚期雌激素受体(ER)阳性乳腺癌的治疗(Jordan VC(1993)Br J Pharmacol 110(2):507-17)。FDA还批准它用于预防具有高的发展疾病风险的妇女中的乳腺癌以及用于降低对侧的(在对生的乳房中)乳腺癌。他莫昔芬的命名为(Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基-乙胺(CAS登记号10540-29-1)并具有以下结构:

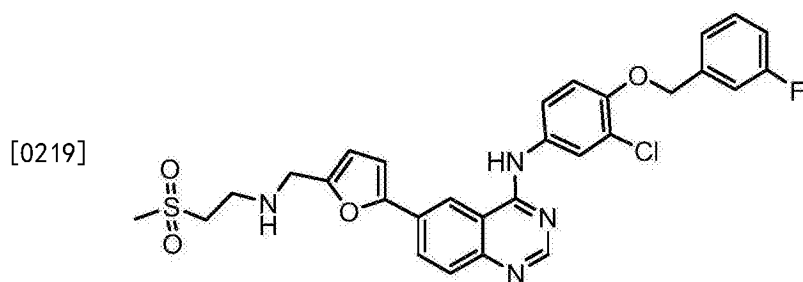


[0216] 雷帕霉素(CAS登记号53123-88-9,西罗莫司, **RAPAMUNE®**)为用于预防器官移植排异反应的免疫抑制药物,并且在肾移植中尤其有用。雷帕霉素为大环内酯抗生素(“霉素”),其首先在来自称作拉帕努伊(Rapa Nui)的岛(作为复活节岛(Easter Island)更为出名)的土壤样本中作为细菌吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)产物被发现(Pritchard DI(2005).Drug Discovery Today 10(10):688-691)。雷帕霉素抑制对白细胞素-2(IL-2)的应答并由此阻断T-和B-细胞的活化。雷帕霉素的作用模式为结合至胞质蛋白FK-结合蛋白12(FKBP12)。通过直接结合所述mTOR络合物1(mTORC1),雷帕霉素-FKBP12络合

物抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 途径。mTOR 也称作 FRAP (FKBP-雷帕霉素相关蛋白) 或者 RAFT (雷帕霉素和 FKBP 靶蛋白)。雷帕霉素的命名为 (3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-9,10,12,13,14,21,22,23,24,25,26,27,32,33,34,34a-十六氢-9,27-二羟基-3-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-羟基-3-甲氧基环己基]-1-甲基乙基]-10,21-二甲氧基-6,8,12,14,20,26-六甲基-23,27-环氧-3H-吡啶并[2,1-c][1,4]-氧杂氮杂环三十一碳烷-1,5,11,28,29 (4H,6H,31H)-五酮 (CAS 登记号 53123-88-9), 并具有以下结构:

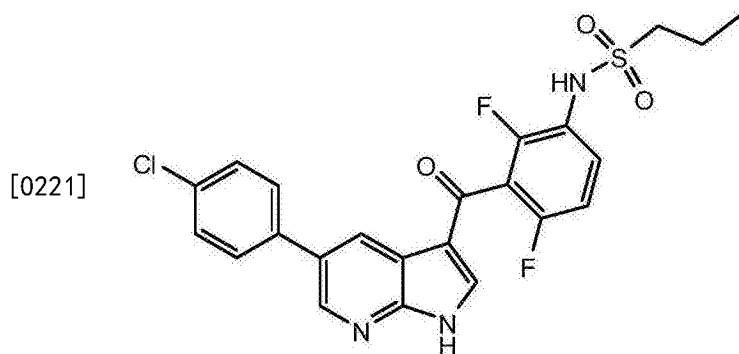


[0218] 拉帕替尼 (CAS 登记号 388082-78-8, **TYKERB®**, GW572016, Glaxo SmithKline) 已被批准与卡培他滨 (**XELODA®**, Roche) 组合用于治疗患有晚期或者转移性乳腺癌的患者, 他们的肿瘤过表达 HER2 (ErbB2) 并且他们已经接受包括蒽环类抗生素、紫杉烷和曲妥珠单抗的先前治疗。拉帕替尼为 ATP-竞争性表皮生长因子 (EGFR) 和 HER2/neu (ErbB-2) 双重酪氨酸激酶抑制剂 (US 6727256; US 6713485; US 7109333; US 6933299; US 7084147; US 7157466; US 7141576), 其通过结合至 EGFR/HER2 蛋白激酶结构域的 ATP-结合口袋来抑制受体自磷酸化作用和活化。拉帕替尼的命名为 N-(3-氯-4-(3-氟苄基氧基) 苯基)-6-(5-(2-(甲基磺酰基) 乙基氨基) 甲基) 呋喃-2-基) 喹唑啉-4-胺, 并具有以下结构:



[0220] 威罗菲尼 (RG7204, PLX-4032, CAS 登记号 1029872-55-5) 已经显示在多种癌细胞系中引起程序性细胞死亡, 例如黑色素瘤细胞系。威罗菲尼中断 B-Raf/MEK/ERK 途径上的 B-Raf/MEK 步骤-如果所述 B-Raf 具有常见的 V600E 突变。威罗菲尼在患者中起作用, 例如在 FDA 所批准的黑色素瘤患者中, 他们的肿瘤具有 V600E BRAF 突变 (即, 在 B-Raf 蛋白上的氨基酸位置号 600, 正常的缬氨酸被谷氨酸所替代)。大约 60% 的黑色素瘤具有所述 V600E BRAF 突变。所述 V600E 突变存在于多种其它癌症中, 所述其它癌症包括淋巴瘤、结肠癌、黑色素瘤、

甲状腺癌和肺癌。威罗菲尼具有下列结构：



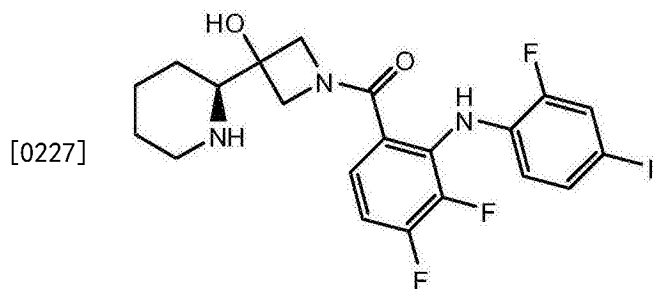
[0222] **ZELBORAF®** (威罗菲尼) (Genentech, Inc.) 在美国被批准并被指定用于治疗患者的药品,所述患者患有通过FDA批准的试验检测具有BRAF V600E突变的不能切除的或者转移黑色素瘤。**ZELBORAF®** (威罗菲尼) 不被推荐用于缺乏BRAF V600E突变的黑色素瘤患者(野生型BRAF黑色素瘤)。

[0223] MDV3100 (CAS登记号915087-33-1) 为开发用于激素难治性前列腺癌治疗的雄激素受体拮抗剂药物。已经报道在服用所述药物一个月后前列腺特异性抗原血清水平降低高达89%。与比卡鲁胺相反的是,MDV3100不能促进AR向细胞核的易位并且另外还阻止AR对DNA以及AR对共活化物蛋白的结合。发现MDV 3100对正在进行的I和II期试验中的转移性去雄抗性(castration-resistant)前列腺癌患者是临床有效的。MDV3100的命名为4-(3-(4-氰基-3-(三氟甲基)苯基)-5,5-二甲基-4-氧代-2-硫代咪唑烷-1-基)-2-氟-N-甲基苯甲酰胺。

[0224] 阿比特龙 (CAS登记号154229-19-3; 见美国专利5,604,213和5,618,807) 是目前正在研究用于去雄抗性前列腺癌的药物。它通过抑制CYP17A1 (CYP450c17) (也称作17 $\alpha$ -羟化酶/17,20裂解酶的酶) 阻断睾酮的形成。该酶涉及DHEA和雄烯二酮的形成,其最终可代谢成睾酮。阿比特龙的命名为(3S,8R,9S,10R,13S,14S)-10,13-二甲基-17-(吡啶-3-基)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15-十二氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-醇。它还作为以下乙酸酯前药注册:乙酸(3S,8R,9S,10R,13S,14S)-10,13-二甲基-17-(吡啶-3-基)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15-十二氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-基酯。

[0225] **ZYTIGA®** (乙酸阿比特龙) (JOHNSON&JOHNSON Corp) 是在美国被批准并被指定与泼尼松组合用于治疗患有转移去雄抗性的前列腺癌的患者药品,所述患者已经接受了含有多西他赛的在先化疗。

[0226] GDC-0973为MEK的选择性抑制剂,MEK也称作丝裂原活化蛋白激酶激酶(MAPKK),所述酶是常在肿瘤中活化的RAS/RAF/MEK/ERK途径的关键组分。在缺少外源性生长因子的情况下,MEK/ERK途径的不适当活化促进细胞生长。评估GDC-0973用于实体瘤的I期临床试验正在进行中。GDC-0973可如国际专利申请公开W02007044515 (A1) 中所述来制备。GDC-0973的命名为:(S)-(3,4-二氟-2-(2-氟-4-碘苯基氨基)苯基)(3-羟基-3-(哌啶-2-基)氮杂环丁烷-1-基)甲酮,并具有以下结构:



[0228] 药物组合物

[0229] 本发明的药物组合物或者制剂包含式I化合物、化疗剂以及一种或者多种可药用的载体、助流剂、稀释剂或者赋形剂的组合。

[0230] 一个实例包括用于口服递送式I化合物,或者其盐,和一种或者多种药学上可接受的载体、助流剂、稀释剂,或者赋形剂的第一制剂,和用于口服递送威罗菲尼(vemerafenib)或者其盐,和一种或者多种药学上可接受的载体、助流剂、稀释剂,或者赋形剂的第二制剂。在一个实例中,第一制剂包含GDC-0068或者其盐。

[0231] 本发明的式I化合物和化疗剂可以非溶剂化形式以及与可药用的溶剂(如水、乙醇等)的溶剂化形式存在,并且意图是本发明包括所有溶剂化的和非溶剂化的形式。

[0232] 本发明的式I化合物和化疗剂还可以呈不同的互变异构形式存在,并且所有这些形式都包括在本发明的范围中。术语“互变异构体”或者“互变异构形式”是指可通过低能垒互相转化的不同能量的结构异构体。例如,质子互变异构体(也称为质子移变互变异构体)包括通过质子迁移进行的互相转化,如酮-烯醇异构化和亚胺-烯胺异构化。价键互变异构体包括通过一些成键电子的重组进行的互相转化。

[0233] 药物组合物包括由多于一种(例如,两种)药学活性剂与任何无药学活性的赋形剂、稀释剂、载体或者助流剂一起组成的大量的(bulk)组合物和单独的剂量单位,所述药学活性剂包括式I化合物和选自本申请所述另外药剂名单的化疗剂。所述大量的组合物和各单独剂量单位可含有固定量的上述药学活性剂。所述大量的组合物是尚未形成单独剂量单位的物质。示例性剂量单位为口服剂量单位如片剂、丸剂、胶囊剂等。类似地,本申请所述的通过给予本发明的药物组合物治疗患者的方法也意在包括大量的组合物和单独的剂量单位的给药。

[0234] 药物组合物还包括同位素标记的本发明化合物,其与本申请所述的化合物相同,但是事实上一个或者多个原子被原子质量或者质量数不同于自然界中常见原子质量或者质量数的原子代替。预期任何具体原子或者元素的所有同位素都包括在本发明化合物和它们的用途的范围中。可引入本发明化合物中的示例性同位素包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、氯和碘的同位素,如 $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、 $^{18}\text{O}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{36}\text{Cl}$ 、 $^{123}\text{I}$ 和 $^{125}\text{I}$ 。某些同位素标记的本发明化合物(例如,用 $^3\text{H}$ 和 $^{14}\text{C}$ 标记的化合物)用于化合物和/或者底物的组织分布测定。氟标记的( $^3\text{H}$ )和碳-14( $^{14}\text{C}$ )同位素由于其易于制备及可检测性,从而是有用的。此外,用较重的同位素如氘(即, $^2\text{H}$ )取代可得到起因于较好的代谢稳定性(例如,体内半衰期增加或者剂量需求降低)的某些治疗优点,因此在一些情况中可以是优选的。发射正电子的同位素如 $^{15}\text{O}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{11}\text{C}$ 和 $^{18}\text{F}$ 用于正电子发射成像(PET)研究以检查底物受体的占据。同位素标记的本发明化合物通常可通过遵循与方案中和/或者下文本申请的实施例中披露的操作所类似的操作,通过用同位素标记的试剂取代非同位素标记的试剂来制备。

[0235] 式I化合物和化疗剂可按照标准制药规范来配制以用于治疗哺乳动物(其包括人)中过度增殖性病症的治疗性处置(其包括预防性治疗)的治疗性组合。本发明提供了包含式I化合物与一种或者多种可药用的载体、助流剂、稀释剂或者赋形剂的药物组合物。

[0236] 合适的载体、稀释剂和赋形剂是本领域技术人员公知的,并且包括以下物质,如碳水化合物、蜡、水溶性聚合物和/或者水可溶胀聚合物(swellable polymer)、亲水性物质或者疏水性物质、明胶、油、溶剂、水等。所用的具体载体、稀释剂或者赋形剂将取决于应用本发明化合物的方式和目的。通常基于本领域技术人员认为给予哺乳动物安全的溶剂(GRAS)来选择溶剂。一般而言,安全溶剂为无毒性含水溶剂如水和可在水中溶解或者混溶的其它无毒性溶剂。合适的含水溶剂包括水、乙醇、丙二醇、聚乙二醇(例如,PEG 400、PEG 300)等及其混合物。制剂还可包括以下物质中的一种或者多种:缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、润湿剂、润滑剂、乳化剂、助悬剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂(opaquin agent)、助流剂、加工助剂(processing aid)、着色剂、增甜剂、芳香剂、矫味剂和提供药物(即本发明化合物或者其药物组合物)的优质外观或者辅助制造药物产品(即药物)的其它已知添加剂。

[0237] 制剂可使用常规溶出和混合操作制备。例如,将大块的药品(即,本发明化合物或者化合物的经稳定形式(例如,与环糊精衍生物或者其它已知复合剂(complexation agent)的复合物))在一种或者多种上述的赋形剂存在下溶于合适的溶剂中。通常将本发明化合物配制成提供容易可控制药物的剂量且使患者能够依从所给出的方案的药物剂型。

[0238] 取决于用于给药药物的方法,用于施用的药物组合物(或者制剂)可按多种方式包装。一般地,用于分配的物品包括容器,容器内存放有适当形式的药物制剂。合适的容器是本领域技术人员公知的,并且包括以下物质,如瓶(塑料的和玻璃的)、小袋(sachet)、安瓿、塑料袋、金属圆筒等。容器还可包括防止不慎重取得包装中的内含物的防干扰装置(tamper-proof assemblage)。此外,在容器上具有描述容器中的内含物的标签。所述标签还可包括适当的注意事项。

[0239] 可制备本发明化合物的药物制剂用于多种给药途径和类型。例如,具有期望的纯度的式I的化合物可任选与药用稀释剂、载体、赋形剂或者稳定剂(Remington's Pharmaceutical Sciences (1995) 18th edition, Mack Publ. Co., Easton, PA)以冻干制剂、磨细的粉末剂或者水溶液剂形式混合。配制可如下进行:在环境温度在适当的pH以及在适当的纯度与生理学可接受的载体(即在采用的剂量和浓度下对受体是无毒性的载体)混合。制剂的pH主要取决于具体用途和化合物的浓度,但范围可为约3至约8。

[0240] 所述药物制剂优选为无菌的。特别地,用于体内给药的制剂必须为无菌的。所述灭菌通过滤过经无菌滤膜容易地完成。

[0241] 药物制剂通常可储存为固体组合物、冻干制剂或者水溶液剂。

[0242] 所述药物制剂将按照与良好医学实践一致的方式(即量、浓度、时间表、过程、媒介物和给药途径)来确定剂量和给药。在此背景下考虑的因素包括所治疗的具体病症、所治疗的具体哺乳动物、个体患者的临床情况、病症的起因、药物的递送位点、给药方法、给药的时间表和医学实践者已知的其它因素。所给药的化合物的“治疗有效量”将由这些考虑因素控制,并且是预防、改善或者治疗凝结因子介导的病症所需的最小量。所述量优选低于对宿主有毒的或者使宿主显著地更易于出血的量。

[0243] 作为通常的建议,每剂量口服或者肠胃外给药的式I化合物的初始药理学有效量应

当在约0.01-1000mg/kg的范围,即约0.1至20mg/kg的患者体重/天的范围,所用化合物的通常起始范围为0.3至15mg/kg/天。所要给药的式I化合物的剂量和化疗剂的剂量各自可以为约1mg至约1000mg/单位剂量形式,或者,为约10mg至约100mg/单位剂量形式。式I化合物和化疗剂的剂量可以约1:50至约50:1以重量计的比率或者以约1:10至约10:1以重量计的比率给药。

[0244] 可接受的稀释剂、载体、赋形剂和稳定性在所用的剂量和浓度下对受体是无毒性的,并且包括缓冲剂如磷酸盐、枸橼酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和蛋氨酸(methionine);防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲双铵(hexamethonium chloride);苯扎氯铵、苄索氯胺;苯酚、丁醇或者苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,如对羟基苯甲酸甲酯或者对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚(resorcinol);环己醇;3-戊醇和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或者免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或者赖氨酸;单糖、二糖和其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或者糊精;螯合剂,如EDTA;糖如蔗糖、甘露醇、海藻糖或者山梨醇;成盐的抗衡离子,如钠;金属络合物(例如,Zn-蛋白质络合物);和/或者非离子型表面活性剂,如TWEEN<sup>TM</sup>、PLURONICS<sup>TM</sup>或者聚乙二醇(PEG)。活性药物成分还可包埋在通过例如凝聚技术或者通过界面聚合制备的微胶囊中,例如在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊(nanocapsules))中或者在巨乳液(macroemulsion)中,分别为羟基甲基纤维素或者明胶微胶囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊。所述技术披露于Remington's Pharmaceutical Sciences 18th edition, (1995) Mack Publ. Co., Easton, PA中。

[0245] 可制备式I的化合物的缓释制剂。缓释制剂的合适实例包括含有式I的化合物的的固态疏水性聚合物的半渗透性基质,其中基质以成形的物品形式(例如薄膜或者微胶囊)存在。缓释基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如,聚(甲基丙烯酸2-羟基乙酯)或者聚(乙烯醇))、聚交酯(US专利3,773,919)、L-谷氨酸和 $\gamma$ -乙基-L-谷氨酸的共聚物、非降解性乙烯-乙酸乙烯酯、降解性乳酸-羟乙酸共聚物如LUPRON DEPOT<sup>TM</sup>(由乳酸-羟乙酸共聚物和醋酸亮丙瑞林组成的可注射微球)和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。

[0246] 所述药物制剂包括适于本申请详述的给药途径的制剂。制剂可适宜地以单位剂量形式存在并可通过药学领域公知的任何方法制备。技术和制剂通常参见Remington's Pharmaceutical Sciences 18<sup>th</sup> Ed. (1995) Mack Publishing Co., Easton, PA。所述方法包括使活性成分与构成一种或者多种助剂(accessory ingredient)的载体结合的步骤。通常制剂如下制备:使活性成分与液态载体或者微细分散的固态载体或者与这两种载体同时均匀和紧密的结合,然后必要时,对产品进行成型。

[0247] 可将适于口服给药的式I的化合物和/或化疗剂的制剂制备成离散的单位如丸剂、硬的或者软的(例如)明胶胶囊、扁胶囊、糖锭(troches)、锭剂(lozenges)、含水或者油混悬剂、可分散粉剂或者颗粒剂、乳剂、糖浆剂或者酞剂,其各自含有预设量的式I化合物和/或化疗剂。式I化合物的量和化疗剂的量可作为组合制剂在丸剂、胶囊剂、溶液剂或者混悬剂中配制。可选择地,式I化合物和化疗剂可交替在丸剂、胶囊剂、溶液剂或者混悬剂中单独配制。

[0248] 制剂可根据制备药物组合物的领域已知的任何方法制备,所述组合物可含有一种

或者多种试剂,包括增甜剂、矫味剂、着色剂和防腐剂,以提供适口的制剂。压制片可如下制备:在合适的机器中对自由流动形式(如粉末或者颗粒)的活性成分以及任选混合的粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、表面活性剂或者分散剂进行压制。模制片可如下制备:在合适的机器中对用惰性液态稀释剂润湿的粉末状活性成分的混合物进行模制。可任选对片剂进行包衣或者刻痕,并任选进行配制以提供活性成分从其中缓慢或者控制释放。

[0249] 药物制剂的片剂赋形剂可包括:填充剂(或者稀释剂),增加组成片剂的粉末状药物的大体积;崩解剂,当它被消化时促进片剂分裂成小碎片,理想地是个体药物颗粒,并且促进药物的快速溶出和吸收;粘合剂,确保颗粒剂和片剂可以需要的机械强度形成,并在已经被压缩后保持片剂在一起,防止在包装、运输和日常搬运期间分裂成它的组分粉末;助流剂,改善生产期间组成片剂的粉末的流动性;润滑剂,确保生产期间压片粉末不粘附于用于压片的设备,它们通过压缩改善粉末状混合物的流动并且当从完成的片剂设备中推出时最小化摩擦力和破裂;抗粘附剂,其具有与助流剂类似的功能,减少生产期间组成片剂的粉末与用于冲出片剂形状的设备之间的粘着力;调味剂,其掺入片剂给予其更加令人愉快的味道或者掩蔽不愉快的味道;以及着色剂,有助于识别和患者顺应性。

[0250] 含有活性成分以及混合有适于制造片剂的无毒性生理学可接受的赋形剂的片剂是可接受的。这些赋形剂可以是,例如,惰性稀释剂,如碳酸钙或者碳酸钠、乳糖、磷酸钙或者磷酸钠;成粒剂和崩解剂,如玉米淀粉或者海藻酸;粘合剂,如淀粉、明胶或者阿拉伯胶;以及润滑剂,如硬脂酸镁、硬脂酸或者滑石。片剂可以是未包衣的或者可通过已知技术(包括微胶囊化)包衣,以延迟在胃肠道的崩解和吸收,由此在较长的时间提供持续的作用。例如,可采用定时延迟物质,如单独的或者与蜡结合的单硬脂酸甘油酯或者二硬脂酸甘油酯。

[0251] 对于治疗眼部或者其它外部组织如嘴和皮肤而言,所述制剂优选应用为局部软膏剂或者乳膏剂,其含有的活性成分的量为例如,0.075至20%w/w。当配制成软膏剂时,活性成分可与石蜡或者可与水混溶的软膏基质一起使用。可供选择地,活性成分可与水包油性乳膏基质一起配制成乳膏。

[0252] 如果期望的话,乳膏基质的水相可包括多元醇,即,具有两个或者更多个羟基的醇,如丙二醇、丁-1,3-二醇、甘露醇、山梨醇、甘油和聚乙二醇(包括PEG 400)及这些醇的混合物。局部制剂可包括增强活性成分通过皮肤或者其它作用区域吸收或者渗透的化合物。所述皮肤渗透增强剂的实例包括二甲基亚砜和相关类似物。

[0253] 本发明的乳剂的油相可由已知成分以已知方式构成,包含至少一种乳化剂与脂肪或者油或者与脂肪和油两者的混合物。优选地,还包括亲水性乳化剂以及作为稳定剂的亲脂性乳化剂。同时,含有或者不含有稳定剂的乳化剂构成了所谓的乳化蜡,所述蜡和油和脂肪一起构成了形成软膏制剂的油性分散相的所谓乳化软膏基质。适用于本发明制剂的乳化剂和乳化稳定剂包括Tween®60、Span®80、十八醇/十六醇、苯醇、肉豆蔻醇、单硬脂酸甘油酯和月桂基硫酸钠。

[0254] 所述药物制剂的含水混悬剂含有活性物质以及混合有适于制备水性混悬剂的赋形剂。所述赋形剂包括助悬剂,如羧甲基纤维素钠、交联羧甲基纤维素、聚维酮、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、西黄蓍胶和阿拉伯胶,以及分散或者润湿剂,如天然存在的磷脂(例如,卵磷脂)、烯化氧与脂肪酸的缩合产物(例如,聚氧乙烯硬脂酸酯)、环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物(例如,十七亚乙氧基十六醇)、环氧乙烷与衍生

自脂肪酸和己糖醇脱水物的偏酯的缩合产物(例如,聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯)。水性混悬剂还可含有一种或者多种防腐剂如对羟基苯甲酸乙酯或者对羟基苯甲酸正丙酯、一种或者多种着色剂、一种或者多种矫味剂和一种或者多种增甜剂如蔗糖或者糖精。

[0255] 药物组合物可呈无菌注射制剂,如无菌注射水性混悬剂或者油性混悬液制剂形式存在。该混悬液可使用上文已提及的合适的分散剂或者润湿剂和助悬剂根据本领域已知方法配制。无菌注射制剂还可以是于无毒性的肠胃外可接受的稀释剂或者溶剂中的无菌注射溶液或者混悬液,如于1,3-丁二醇中的溶液,或者制备为冻干粉末。可使用的可接受媒介物和溶剂包括水、林格氏溶液(Ringer's solution)和等张氯化钠溶液。此外,无菌不挥发性油(sterile fixed oil)通常可用作溶剂或者助悬介质。出于该目的,可采用任何温和的不挥发性油,包括合成性甘油一酯或者甘油二酯。此外,脂肪酸如油酸同样可用于制备注射剂。

[0256] 可与载体物质结合以产生单一剂量形式的活性成分的量将随着所治疗的宿主和具体的给药模式而变化。例如,意在对人类口服给药的定时释放制剂可含有约1至1000毫克活性物质,以及混合有适当和适宜量的载体物质,所述载体其可占总组合物(重量:重量)的约5至约95%。可制备药物组合物以提供给药时容易测量的量。例如,意在用于静脉输注的水溶液每毫升溶液可含有约3至500 $\mu$ g活性成分,从而合适体积的输注以约30毫升/hr的速率出现。

[0257] 适于肠胃外给药的制剂包括水性和非水性无菌注射溶液剂,其可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使得制剂与预期受体的血液等张的溶质;以及水性和非水性无菌混悬剂,其可包括助悬剂和增稠剂。

[0258] 适于局部给药至眼部的制剂还包括滴眼剂,其中将活性成分溶于或者悬浮于合适的载体(尤其是活性成分的含水溶剂)中。在所述制剂中存在的活性成分的浓度优选为约0.5至20%w/w,例如约0.5至10%w/w,例如约1.5%w/w。

[0259] 适于在口内局部给药的制剂包括糖锭(lozenge),其含有于矫味基质(通常是蔗糖和阿拉伯胶或者西黄蓍胶)中的活性成分;锭剂(pastille),其含有于惰性基质(如明胶和甘油,或者蔗糖和阿拉伯胶)中的活性成分;以及漱口剂,其包含于液态载体中的活性成分。

[0260] 适于直肠给药的制剂可呈现为栓剂形式,其具有合适基质(其包含例如可可脂或者水杨酸酯)。

[0261] 适于肺内或者经鼻给药的制剂具有例如为0.1至500微米的粒度(包括在0.1和500微米之间,增量为例如0.5、1、30微米、35微米等的粒度),其通过鼻道经快速吸入给药或者通过口经吸入给药,以便到达肺泡囊(alveolar sacs)。合适的制剂包括活性成分的水性或者油性溶液剂。适于气雾剂或者干粉给药的制剂可根据常规方法制备,并可与其它治疗药物(如迄今用于治疗或者预防下文所述的病症的化合物)一起递送。

[0262] 适于阴道给药的制剂可呈现为阴道栓剂、棉塞(tampon)、乳膏剂、凝胶剂、糊剂、泡沫或者喷雾制剂,这些制剂除了活性成分外还含有本领域已知为适当的载体。

[0263] 制剂可包装在单位剂量或者多剂量容器例如密封安瓿或者小瓶中,并且可在冷冻干燥(冻干)条件下储存,在立即使用前仅需要加入无菌液态载体例如水,用于注射。即时注射溶液剂(Extemporaneous injection solutions and suspension)和混悬剂从前述种类的无菌粉末、颗粒和片剂制备。优选的单位剂量制剂是含有本申请上文所述的日剂量或者

单位日亚剂量(sub-dose)或者其适当分数的活性成分的制剂。

[0264] 本发明还提供了兽用组合物,由此其含有上文定义的至少一种活性成分以及兽用载体。兽用载体是用于给药所述组合物目的的物质,并可为固态、液态或者气态物质,这些物质在兽医领域要么是惰性的要么是可接受的,并且与活性成分相容。这些兽用组合可经肠胃外、口服或者经任何其它期望的途径给药。

[0265] 组合疗法

[0266] 式I的化合物或者其药用盐可与其它化疗剂或其药用盐组合用于治疗过度增殖性疾病或者病症,所述过度增殖性疾病或者病症包括肿瘤、癌症和新生物组织,以及恶化前和非新生物的或者非恶性的过度增殖性病症。在某些实施方案中,式I的化合物或者其药用盐在作为组合疗法的剂量用药方案中与具有抗过度增殖性质或者用于治疗过度增殖性病症的第二化合物或其药用盐组合。所述剂量用药方案的第二化合物优选具有与式I的化合物或者其药用盐互补的活性,从而使得它们不能不利地影响彼此。这种化合物可以对预期目的有效的量给药。在一个实施方案中,所述治疗性组合通过剂量用药方案给药,其中所述治疗有效量的式I化合物或者其药用盐在每日两次至每三周一次(q3wk)的范围内给药,并且治疗有效量的化疗剂在每日两次至每三周一次的范围内给药。

[0267] 在一个实例中,应答于化疗剂如多西他赛的给药,癌细胞正调节途径,例如PI3K/AKT途径,试图避开化疗并变得对化疗耐药。在另一实例中,某些癌症与PTEN状态、PI3K或者AKT中的突变相关,其使得癌症固有地对化疗耐药。通过与化疗剂组合地给药式I化合物,式I化合物抑制应答于化疗剂正调节的,或者在PTEN状态、PI3K或者AKT途径中具有突变的途径。在一个实施方案中,本申请的组合防止癌细胞对某些化疗耐药。在另一个实施方案中,本申请的组合治疗已经接受了化疗剂,但是已经对治疗耐药或者已经治疗失败的患者。

[0268] 在另一实例中,应答于使用Folfox(或者5-FU、奥沙利铂或者顺铂,和亚叶酸中的一个或者多个)的治疗,某些癌症例如胃癌和结肠癌诱导pAKT的增加,其可作为结肠癌应答于所述治疗耐药的机制。在另一实例中,某些癌症例如胃癌和结肠癌与PTEN、PI3K或者AKT突变相关,其可作为所述癌症应答于所述治疗耐药的机制。

[0269] 在一个实施方案中,将GDC-0068或者其盐与Folfox(或者5-FU、奥沙利铂或者顺铂,和亚叶酸中的一个或者多个)组合给药,以防止癌细胞对所述治疗耐药。在另一个实施方案中,将GDC-0068或者其盐与Folfox(或者5-FU、奥沙利铂或者顺铂,和亚叶酸中的一个或者多个)组合给药,以治疗癌症患者,所述患者已经接受了一种或者多种化疗剂,但是已经对所述治疗变得耐药或者已经治疗失败。在一个具体实例中,癌症为胃癌。在另一实例中,癌症为结肠癌。

[0270] 在另一实例中,某些癌症例如乳腺癌、肺癌(例如,非-小肺癌)、前列腺癌(例如,CRCP)、胃癌和头/颈癌与PTEN状态、PI3K或者AKT中的突变相关,其可作为所述癌症应答于使用紫杉烷如多西他赛或者紫杉醇的治疗耐药的机制。在一个实施方案中,将GDC-0068或者其盐与紫杉烷(例如,多西他赛)组合给药,以防止癌细胞对紫杉烷治疗变得耐药。在另一个实施方案中,将GDC-0068或者其盐与紫杉烷(例如,多西他赛)组合给药,以治疗癌症患者,所述患者已经接受了紫杉烷,但是已经对所述治疗变得耐药或者已经治疗失败,在一个实例中由于PTEN状态、PI3K或者AKT突变。在一个具体实例中,所述癌症为前列腺癌或者激素难治性前列腺癌。在另一实例中,所述癌症为耐切除的前列腺癌并且所述组合还包含激

素疗法,例如泼尼松。在另一实例中,所述组合在紫杉烷剂量足够低时是有效的,以防止发生有害的副作用,例如肝毒性、中性粒细胞减少症、超敏反应和液体潴留,其中单独的紫杉烷的这种剂量不会有效。

[0271] 在另一实例中,应答于使用紫杉烷例如多西他赛或者紫杉醇的治疗,某些癌症例如前列腺癌(例如,CRCP)诱导pAKT的增加,其可作为前列腺癌应答于所述治疗耐药的机制。在一个实施方案中,将GDC-0068或者其盐与紫杉烷(例如,多西他赛)组合给药,以防止癌细胞对紫杉烷治疗变得耐药。在另一个实施方案中,剂GDC-0068或者其盐与紫杉烷(例如,多西他赛)组合给药,以治疗癌症患者,所述患者已经接受了紫杉烷,但是已经对所述治疗变得耐药或者已经治疗失败。在一个具体实例中,所述癌症为前列腺癌。在另一实例中,所述癌症为耐切除的前列腺癌并且所述组合还包含激素治疗例如泼尼松。

[0272] 所述组合疗法可作为同时或者先后用药方案给药。当先后给药时,所述组合可以在两次或者更多次给药中给予。所述组合给药包括使用分开制剂的共同给药,以及以任一次序的连续给药,其中优选有两种(或者所有)活性剂同时发挥它们生物学活性的时间段。

[0273] 在本发明的一个具体方面中,可在一种或者多种药剂给药开始之后给予式I的化合物或者其药用盐,历时约1至约10天。在本发明的另一个具体方面,可在组合给药开始之前给予式I的化合物或者其药用盐,历时约1至约10天。在本发明的另一个具体方面,式I的化合物或者其药用盐的给药与所述化疗剂的给药在同一天开始。

[0274] 任何上述共同给药药剂的适合剂量为目前所使用的剂量并且可由于新近鉴定的药剂和其它化疗剂或者治疗组合作用(协同作用)而降低,如增加治疗指数或者减轻毒性或者其它副作用或者后果。

[0275] 在抗癌疗法的具体实施方案中,式I的化合物或者其药用盐,可与化疗剂组合,以及与手术疗法和放射疗法组合。为了实现期望的组合治疗效应,应选择式I的化合物或者其药用盐和其它一种或者多种药理学活性化疗剂的量和给药的相对时机。

[0276] 药物组合物的给药

[0277] 所述化合物可通过任何适于所要治疗病症的途径给药。适合的途径包括口服途径、肠胃外途径(其包括皮下、肌内、静脉内、动脉内、吸入、皮内、鞘膜内、硬膜外和输注技术)、经皮途径、直肠途径、鼻途径、局部途径(其包括口腔含服和舌下途径)、阴道途径、腹膜内途径、肺内途径和鼻内途径。局部给药还可涉及经皮给药如经皮贴剂或者离子电渗疗法装置的使用。

[0278] 药物的制剂在Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>th</sup> Ed., (1995) Mack Publishing Co., Easton, PA中有讨论。药物制剂的其它实例可在Lieberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker, Vol 3, 2<sup>nd</sup> Ed., New York, NY中找到。对于局部免疫抑制性治疗,可通过损害内给药给予所述化合物,其包括在移植前用所述抑制剂灌注或者以其它方式接触移植物。应当理解的是,优选的途径可随着(例如)接受者的情况而变化。口服给予所述化合物时,它可以与可药用的载体、助流剂或者赋形剂一起配制为丸剂、胶囊剂、片剂等等。肠胃外给予所述化合物时,如下文详述,它可与可药用的肠胃外媒介物或者稀释剂一起并以单位剂量可注射的形式配制。

[0279] 治疗人类患者的剂量可以为约20mg至约1600mg/天的式I的化合物或者其药用盐。通常的剂量可以为约50mg至约800mg的所述化合物。取决于包括所述具体化合物的吸收、分

布、代谢和排泄的药代动力学 (PK) 和药效学 (PD) 性质,可每日一次 (QD)、每日两次 (BID) 或者更频繁地给予剂量。除此之外,毒性因素可影响剂量和给药用量方案。当口服给药时,所述丸剂、胶囊剂或者片剂可每日两次、每日一次或者更不频繁地 (如对于具体的时间周期,每周一次或者每两周或者三周一次) 摄入。所述用药方案可重复多个治疗周期。

#### [0280] 治疗方法

[0281] (1) 式I的化合物或者其药用盐和 (2) 化疗剂的治疗性组合用于治疗疾病、病症和/或障碍,其包括但不限于,哺乳动物中由AKT激酶所调节的疾病、病症和/或障碍。根据本发明的方法可治疗的癌症包括但不限于,间皮瘤、子宫内膜癌、乳腺癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌 (其包括去雄抗性前列腺癌“CRPC”)、胰腺癌、黑色素瘤、胃癌、结肠癌、神经胶质瘤、头颈癌。

#### [0282] 制品

[0283] 在本发明的另一个实施方案中,提供了用于治疗上述疾病和病症的含有式I的化合物或者其药用盐的制品或者“试剂盒”。在一个实施方案中,所述试剂盒包含容器和式I的化合物或者其药用盐。

[0284] 所述试剂盒还可包含附在容器上或者容器中的标签或者包装说明书。术语“包装说明书”用来指通常包括在治疗产品的市售包装中的说明书,其含有关于适应症、用法、剂量、给药、禁忌症和/或者注意事项的信息,这些信息涉及所述治疗产品的使用。合适的容器包括,例如,瓶、小瓶、注射器、发泡包装 (blister pack) 等。容器可从多种材料 (如玻璃或者塑料) 形成。容器可装有有效治疗所述病症的式I的化合物或其药用盐或者其制剂,并可具有无菌入口 (例如,容器可为静脉注射溶液袋或者具有可由皮下注射针头刺穿的塞子的小瓶)。在组合物中至少一种活性药物是式I的化合物或其药用盐。标签或者包装说明书指示所述组合物用于治疗选择的病症如癌症。在一个实施方案中,标签或者包装说明书指示包含式I的化合物或其药用盐的组合物可用于治疗起因于异常细胞生长的病症。标签或者包装说明书还可指示所述组合物可用于治疗其它病症。可供选择地或者另外地,所述制品还可包含第二种容器,所述容器包含药用缓冲液,如抑菌性注射用水 (BWFI)、磷酸盐缓冲生理盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。试剂盒还可包括从商业和使用者角度看是期望的其它物质,包括其它缓冲液、稀释剂、滤器、针头和注射器。

[0285] 试剂盒还可包含给药式I的化合物或其药用盐以及第二种药物制剂 (如果存在) 的说明。例如,若试剂盒包含第一种组合物 (含有式I的化合物或其药用盐) 和第二种药物制剂,则试剂盒还可包含将第一种和第二种药物组合物同时、先后或者分开给予需要所述制剂的患者的说明。

[0286] 在另一实施方案中,试剂盒适于递送固态口服形式的式I的化合物或其药用盐,如片剂或者胶囊剂。这样的试剂盒优选包括多个单位剂量。所述试剂盒可以包括针对预期用途为目的的剂量卡片。这样的试剂盒的一个实例是“泡罩包装”。泡罩包装在包装工业中是公知的,并且广泛用于包装药物单位剂量形式。如果期望的话,可提供记忆辅助装置 (memory aid),其可呈例如数字、字母或者其它标记形式,或者具有日历插入物,所述记忆辅助装置指定在可对所述剂量进行给药的治疗时间表中的天数。

[0287] 根据一实施方案,试剂盒可包含 (a) 在其中含有式I的化合物或其药用盐的第一个容器;以及任选地 (b) 在其中含有第二种药物制剂的第二个容器,其中所述第二种药物制剂

包含具有抗过度增殖活性的第二化合物。可供选择地或者另外地,所述试剂盒还可包含第三个容器,其包含药用缓冲液,如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲生理盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。其还可包括从商用和使用者角度来看是期望的其它物质,包括其它缓冲液、稀释剂、滤器、针头和注射器。

[0288] 在试剂盒包含式I的化合物或其药用盐和第二种治疗药物(即化疗剂)的组合物的某些其它实施方案中,所述试剂盒可包含用于容纳分开的组合物的容器,如分开的瓶或者分开的箔包装(foil packet),然而,分开的组合物还可容纳在单一的未分开的容器中。典型地,试剂盒包含给药分开的组分的说明。当分开的组分优选以不同剂量形式(例如口服和肠胃外)给药时,当以不同剂量间隔给药时,或者当对联用的单独组分进行滴定对主治医师是期望之时,试剂盒形式是特别有益的。

[0289] 本发明的具体方面

[0290] 在本发明的一个具体方面中,所述过度增殖性病征为癌症。

[0291] 在本发明的一个具体方面中,所述癌症与PTEN突变有关。

[0292] 在本发明的一个具体方面中,所述癌症与AKT突变、过表达或者扩增有关。

[0293] 在本发明的一个具体方面中,所述癌症与PI3K突变有关。

[0294] 在本发明的一个具体方面中,所述癌症与HER2突变有关。

[0295] 在本发明的一个具体方面中,所述癌症选自乳腺癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌(例如,去雄抗性的前列腺癌)、黑色素瘤、胃癌、结肠癌、肾癌、头颈癌和神经胶质瘤。

[0296] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和5-FU。

[0297] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐、5-FU和奥沙利铂并且所述癌症为胃癌、卵巢癌或者结肠癌。

[0298] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐、5-FU和奥沙利铂并且所述癌症为胃癌、前列腺癌、头部或者颈部癌。

[0299] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐、5-FU、奥沙利铂和亚叶酸并且所述癌症为胃癌、卵巢癌或者结肠癌。

[0300] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐、5-FU、奥沙利铂和亚叶酸并且所述癌症为胃癌、前列腺癌、头部或者颈部癌。

[0301] 在本发明的一个具体方面,将所述式I化合物,例如,GDC-0068,或者其药用盐,以及5-FU、奥沙利铂,和亚叶酸中的一个或者多个给药于所述哺乳动物以治疗癌症并且所述癌症为HER2阴性胃癌(例如,第一线)、结肠直肠癌(例如,第一线,任选与VEGF抑制剂如贝伐单抗组合)、SCC头/颈癌(例如,第一线)、结肠直肠癌(例如,第二线),或者胰腺癌(例如,第二线)。

[0302] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和卡铂。

[0303] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和卡铂并且所述癌症为乳腺癌、肺癌或者前列腺癌。

[0304] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和卡铂并且所述癌症为乳腺癌、肺癌、前列腺癌、头部或者颈部癌。

[0305] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和伊立替康。

[0306] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和伊立替康并且所述癌症为结肠癌。

[0307] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和紫杉醇以治疗子宫内膜癌(例如,第二线)

[0308] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和多西他赛。

[0309] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和多西他赛并且所述癌症为乳腺癌、神经胶质瘤、肺癌、黑色素瘤、卵巢癌或者前列腺癌。

[0310] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和多西他赛并且所述癌症为乳腺癌、卵巢癌或者前列腺癌。

[0311] 在本发明的一个具体方面,将所述式I化合物,例如,GDC-0068,或者其药用盐和多西他赛给药于所述哺乳动物并且所述癌症为去雄抗性的前列腺癌(例如,第一线)、HER2阴性乳腺癌(例如,第一线)、胃癌(例如,第二线)、胃食管连接部癌症(例如,第二线)、非-小细胞肺癌(例如,第二线)、卵巢癌(例如,第二线),和鳞状细胞癌头颈癌(例如,第二线)。

[0312] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和多柔比星。

[0313] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和多柔比星并且所述癌症为乳腺癌、肺癌、卵巢癌、神经胶质瘤或者前列腺癌。

[0314] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和SN-38。

[0315] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和SN-38并且所述癌症为结肠癌。

[0316] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和替莫唑胺。

[0317] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和替莫唑胺并且所述癌症为神经胶质瘤。

[0318] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和铂剂。

[0319] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和铂剂并且所述癌症为卵巢癌。

[0320] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和GDC-0973或者其药用盐。

[0321] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和GDC-0973或者其药用盐并且所述癌症为胰腺癌、前列腺癌、黑色素瘤或者乳腺癌。

[0322] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和PLX-4032或者其药用盐。

[0323] 在本发明的一个具体方面中,对所述哺乳动物给予式I的化合物或者其药用盐和

PLX-4032或者其药用盐并且所述癌症为黑色素瘤。

[0324] 在本发明的一个具体方面中,可口服给予式I的化合物或者其药用盐。

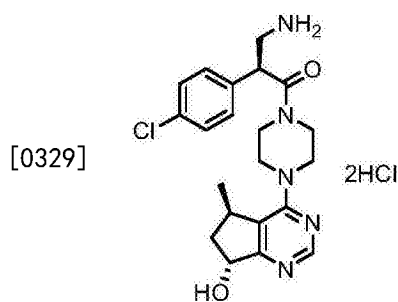
[0325] 在本发明的一个具体方面中,将式I的化合物或者其药用盐配制成片剂。

[0326] 一般制备操作

## 实施例

[0327] 为了示例说明本发明,包括下列实施例。然而,应当理解的是,这些实施例不限制本发明并且仅仅意在提出实施本发明的方法。本领域的技术人员应当认识到所述化学反应可容易地适于制备多种本发明的其它AKT抑制剂,并且认为制备本发明化合物的可选方法在本发明的范围之内。例如,根据本发明合成非示例性化合物可通过对本领域技术人员显而易见的修改来顺利进行,所述修改例如,通过适当保护干扰基团,通过采用不同于所述试剂的本领域已知的其它适合试剂和/或通过进行反应条件的路线修改。可选择地,应当认为本申请所公开的或者本领域已知的其它反应具有制备本发明其它化合物的适用性。

[0328] 实施例1



[0330] (S)-3-氨基-2-(4-氯苯基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)吡咯啉-1-基)丙-1-酮二盐酸盐的制备

[0331] 步骤1:向1L圆底烧瓶中加入(R)-(+)-长叶薄荷酮(76.12g,0.5mmol)、无水NaHCO<sub>3</sub>(12.5g)和无水乙醚(500mL)。在氮气下将反应混合物用冰浴冷却。历时30分钟滴加溴(25.62mL,0.5mmol)。过滤混合物并在冰-冷却浴中小心地将其加入到NaOEt(21%,412mL,1.11mmol)中。将混合物在室温搅拌过夜,然后加入1L的5%HCl和300mL的乙醚。用乙醚(2x 300mL)萃取水相。将合并的有机相用水洗涤,干燥并浓缩。将残余物加入到温热的氨基脲盐酸盐(37.5g)和NaOAc(37.5g)在水(300mL)中的溶液,然后加入沸腾的乙醇(300mL),得到澄清的溶液。将混合物回流2.5小时,然后在室温搅拌过夜。将混合物用1L的水和300mL的乙醚处理。用乙醚(2x 300mL)萃取水相。将合并的有机相用水洗涤,干燥并浓缩。将残余物通过真空蒸馏纯化(在0.8mm Hg 73-76℃),得到(2R)-2-甲基-5-(丙-2-亚基)环戊羧酸乙酯(63g,64%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400MHz) 4.13(m,2H),3.38(d,J=16Hz,0.5H),2.93(m,0.5H),2.50-2.17(m,2H),1.98(m,1H),1.76(m,1H),1.23(m,6H),1.05(m,6H)。

[0332] 步骤2:用干冰/异丙醇将(2R)-2-甲基-5-(丙-2-亚基)环戊羧酸乙酯(24g,0.122mol)在乙酸乙酯(100mL)中的溶液冷却至-68℃。将臭氧化的氧气(5-7立方英尺/小时的O<sub>2</sub>)通过该溶液鼓泡3.5小时。在室温将反应混合物用氮气吹洗直至颜色消失。真空除去乙酸乙酯并将残余物溶于150mL的乙酸并经冰水冷却,加入锌粉(45g)。将溶液搅拌30分钟然后过滤。用2N NaOH(1.3L)和NaHCO<sub>3</sub>中和滤液。将水相用乙醚(3x 200mL)萃取。合并有机相,用水洗涤,干燥并浓缩,得到(2R)-2-甲基-5-氧代环戊羧酸乙酯(20g,96%)。<sup>1</sup>H NMR

(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 4.21 (m, 2H), 2.77 (d, J=11.2Hz, 1H), 2.60 (m, 1H), 2.50-2.10 (m, 3H), 1.42 (m, 1H), 1.33 (m, 3H), 1.23 (m, 3H).

[0333] 步骤3: 向 (2R)-2-甲基-5-氧代环戊羧酸乙酯 (20g, 117.5mmol) 和硫脲 (9.2g, 120.9mmol) 的混合物在乙醇 (100mL) 中的溶液加入 KOH (8.3g, 147.9mmol) 在水 (60mL) 中的溶液。将混合物回流10小时。冷却后, 除去溶剂并在0℃将残余物用浓HCl (12mL) 中和, 然后用 DCM (3x 150mL) 萃取。除去溶剂并通过硅胶色谱 (用己烷/乙酸乙酯 (2:1) 洗脱) 将残余物纯化, 得到 (R)-2-巯基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-醇 (12g, 56%)。MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup>+183.

[0334] 步骤4: (R)-2-巯基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-醇 (12g, 65.8mmol) 在蒸馏水 (100mL) 中的混悬液加入兰尼镍 (15g) 和NH<sub>4</sub>OH (20mL)。将混合物回流3小时然后过滤, 并将滤液浓缩, 得到 (R)-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-醇 (9.89g, 99%)。MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup>+151.

[0335] 步骤5: 将 (R)-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-醇 (5.8g, 38.62mmol) 在POCl<sub>3</sub> (20mL) 中的混合物回流5分钟。真空除去过量的POCl<sub>3</sub>并将残余物溶于DCM (50mL) 中。然后将混合物加入饱和的NaHCO<sub>3</sub> (200mL) 中。将水相用DCM (3x 100mL) 萃取, 并将合并的有机相干燥并浓缩。通过硅胶色谱 (用乙酸乙酯洗脱) 将残余物纯化, 得到 (R)-4-氯-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶 (3.18g, 49%)。1H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 8.81 (s, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.20 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 1.86 (m, 3H), 1.47 (m, 3H).

[0336] 步骤6: 以三份向 (R)-4-氯-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶 (2.5g, 14.8mmol) 在CHCl<sub>3</sub> (60mL) 中的溶液加入MCPBA (8.30g, 37.0mmol)。将混合物在室温搅拌2天。将混合物冷却至0℃并向其中先后滴加Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (10g) 在水 (60mL) 中的溶液、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6g) 在水 (20mL) 中的溶液。将反应混合物搅拌20分钟。将水相用CHCl<sub>3</sub> (2x 200mL) 萃取, 并将合并的有机相在低温 (<25℃) 浓缩。通过硅胶色谱 (用乙酸乙酯-DCM/MeOH (20:1) 洗脱) 将残余物纯化, 得到 (R)-4-氯-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-氧化物 (1.45g, 53%)。1H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 8.66 (s, 1H), 3.50 (m, 1H), 3.20 (m, 2H), 2.44 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 1.37 (d, J=7.2Hz, 3H).

[0337] 步骤7: 将 (R)-4-氯-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-氧化物 (1.45g, 7.85mmol) 在乙酸酐 (20mL) 中的溶液加热至110℃持续2小时。冷却后, 真空除去过量的溶剂。通过硅胶色谱 (用己烷/乙酸乙酯 (3:1) 洗脱) 将残余物纯化, 得到乙酸 (5R)-4-氯-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-7-基酯 (1.25g, 70%)。1H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 8.92 (m, 1H), 6.30-6.03 (m, 1H), 3.60-3.30 (m, 1H), 2.84 (m, 1H), 2.40-2.20 (m, 1H), 2.15 (d, J=6Hz, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.47 (d, J=6.8, 2H), 1.38 (d, J=7.2, 1H)。MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup>+227.

[0338] 步骤8: 向乙酸 (5R)-4-氯-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-7-基酯 (0.5g, 2.2mmol) 在NMP (10mL) 中的溶液加入1-Boc-哌嗪 (0.9g, 4.8mmol)。将反应混合物加热至110℃持续12小时。冷却后, 将反应混合物用乙酸乙酯 (200mL) 稀释并用水 (6x 100mL) 洗涤。将有机相干燥并浓缩。通过硅胶色谱 (用乙酸乙酯洗脱) 将残余物纯化, 得到4-((5R)-7-乙酰氧基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (0.6g, 72%)。1H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 8.60 (d, 1H), 6.05-5.90 (m, 1H), 3.80-3.30 (m, 9H), 2.84 (m, 1H), 2.20- (m, 1H), 1.49 (s, 9H), 1.29-1.20 (m, 3H)。MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup>+377. 通过手性分离

HPLC(Chiralcel ODH柱, 250x 20mm, 己烷/EtOH60:40, 21mL/分钟) 将所得非对映异构体的混合物纯化。第一个峰(RT=3.73分钟) 为4-((5R,7R)-7-乙酰氧基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(0.144g, 24%)。第二个峰(RT=5.66分钟) 为4-((5R,7S)-7-乙酰氧基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(0.172g, 29%)。MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup>+377.

[0339] 步骤9: 向4-((5R,7R)-7-乙酰氧基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(0.144g, 0.383mmol) 在THF (4mL) 中的溶液加入LiOH (3M, 2mL)。将混合物在室温搅拌6小时, 然后用2N HCl (3mL) 淬灭。除去溶剂并通过硅胶色谱(用乙酸乙酯洗脱) 将残余物纯化, 得到4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(89mg, 70%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 8.52 (s, 1H), 5.48 (br, 1H), 5.14 (m, 1H), 3.82-3.40 (m, 9H), 2.20 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.19 (d, J=6.8Hz, 3H)。MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup>+335.

[0340] 步骤10: 在DCM (5mL) 中将4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯用HCl (4M的二噁烷溶液, 2mL) 处理6小时, 得到(5R,7R)-5-甲基-4-(哌嗪-1-基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-7-醇二盐酸盐。MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup>+235.

[0341] 步骤11: 将2,4-二甲氧基苄基氨基甲酸叔丁酯(3.96g, 14.8mmol) 溶于THF (74mL) 并冷却至-78℃。历时五分钟滴加丁基锂(7.44mL, 16.3mmol) 处理该溶液, 得到淡黄色溶液。将溶液搅拌15分钟后滴加氯(甲氧基)甲烷(1.35mL, 17.8mmol) (纯态的)。将反应混合物在-78℃搅拌10分钟, 然后慢慢温热至环境温度过夜。将反应混合物真空浓缩, 得到黄色凝胶状物, 将其在半饱和NH<sub>4</sub>Cl溶液和乙醚之间分配。萃取水相一次, 并合并有机相。将有机层用先后用水、盐水洗涤, 分离, 以Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩。<sup>1</sup>H NMR证实了期望的接近纯的(>90%) 2,4-二甲氧基苄基(甲氧基甲基)氨基甲酸叔丁酯(4.81g, 104%产率), 为淡黄色油状物, 其无需纯化即可使用。

[0342] 步骤12: 将(R)-4-苄基-3-(2-(4-氯苯基)乙酰基)噁唑烷-2-酮(3.00g, 9.10mmol) 溶于DCM (91mL) 并冷却至-78℃。先后向溶液中加入TiCl<sub>4</sub>的1M甲苯溶液(11.4mL, 11.4mmol)、DIEA (1.66mL, 9.55mmol), 得到暗紫色反应混合物。将该反应混合物搅拌15分钟之后滴加2,4-二甲氧基苄基(甲氧基甲基)氨基甲酸叔丁酯(3.40g, 10.9mmol) 在DCM (10mL) 中的溶液。将反应混合物在-78℃搅拌15分钟, 然后在盐水-冰浴中将其温热至-18℃持续一小时。历时2.5小时将该反应混合物慢慢温热至0℃。然后加入饱和的NH<sub>4</sub>Cl溶液(100mL) 将反应混合物淬灭。分离各相, 并将有机层用DCM萃取一次。将合并的有机层以MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩, 得到黄色油状物。通过色谱(用4:1己烷:乙酸乙酯洗脱的硅胶) 将残余物纯化, 得到纯物质, 为无色油状物2,4-二甲氧基苄基((S)-3-((R)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-2-(4-氯苯基)-3-氧代丙基)氨基甲酸叔丁酯(4.07g, 73.5%产率)。在环境温度将所述2,4-二甲氧基苄基((S)-3-((R)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-2-(4-氯苯基)-3-氧代丙基)氨基甲酸叔丁酯(680mg, 1.12mmol) 溶于DCM (10.6mL) 和水(560μL; 19:1DCM:水)。用DDQ (380mg, 1.67mmol) 处理该溶液, 并将反应混合物搅拌一天, 通过TLC和LCMS分析得到反应完成。将反应混合物用DCM稀释并用半饱和的NaHCO<sub>3</sub>溶液洗涤。将有机层以MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并真空浓缩, 得到黄橙色油状物。通过色谱(用9:1己烷:乙酸乙酯洗脱的硅胶) 将残余物纯化,

得到醛副产物和(S)-3-((R)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-2-(4-氯苯基)-3-氧代丙基氨基甲酸叔丁酯的混合物(不可分离的),为淡黄色油状物(729mg合并重量)。LC/MS (APCI+) m/z 359.1 [M-BOC+H]<sup>+</sup>。

[0343] 步骤13:向LiOH·H<sub>2</sub>O (0.0978g, 2.33mmol) 在2:1 THF:H<sub>2</sub>O (33mL) 中的溶液加入35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.240mL, 2.91mmol)。将反应混合物在室温搅拌35分钟,然后冷却至0℃。通过滴液漏斗滴加含有(S)-3-((R)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-2-(4-氯苯基)-3-氧代丙基氨基甲酸叔丁酯 (0.535g, 1.17mmol) 和2,4-二甲氧基苯甲醛 (0.194g, 1.17mmol) 的混合物在THF (7mL) 中的溶液。将冰浴慢慢温热,并将反应混合物搅拌过夜。然后将反应混合物冷却至0℃,加入1M Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (7mL)。将混合物搅拌5分钟,然后温热至室温并搅拌另外20分钟。然后将反应混合物转移至分液漏斗并用乙醚 (3X) 洗涤。用KHSO<sub>4</sub> (固体) 酸化水层,并用DCM (2X) 萃取该混合物。将合并的萃取物干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并浓缩,得到(S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-氯苯基) 丙酸 (0.329g, 94.2% 产率), 为白色残余物。LC/MS (APCI+) m/z 200 [M-BOC+H]<sup>+</sup>。

[0344] 步骤14:向(S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-氯苯基) 丙酸 (0.329g, 1.10mmol) 在2:1 二噁烷:DCM (10mL) 中的溶液加入4M HCl/二噁烷 (5.49mL, 22.0mmol)。将反应混合物在室温搅拌过夜 (16小时), 此后将其浓缩至1/3体积。将所得混浊的混合物用乙醚稀释,并将混合物再浓缩至1/3体积。将混合物再用乙醚 (20mL) 稀释,并通过具有氮气压的中号玻璃漏斗 (medium frit funnel) 过滤将固体分离,用乙醚 (5X 10mL) 冲洗,在氮气压干燥,并真空干燥,得到(S)-3-氨基-2-(4-氯苯基) 丙酸盐 (0.199g, 76.8% 产率), 为白色固体。HPLC>99面积%纯。LC/MS (APCI+) m/z 200。

[0345] 步骤15:向(S)-3-氨基-2-(4-氯苯基) 丙酸盐 (0.199g, 0.843mmol) 和四甲基氢氧化铵五水合物 (0.382g, 2.11mmol) 在10:1 MeCN:H<sub>2</sub>O (7.7mL) 中的溶液加入Boc<sub>2</sub>O (0.368g, 1.69mmol)。将反应混合物在室温搅拌过夜 (12小时), 此后在旋转蒸发仪上除去MeCN。将混合物用水稀释并用乙醚 (2X) 洗涤。用KHSO<sub>4</sub> (固体) 酸化水层,并用DCM萃取该混合物,并将合并的萃取物干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并浓缩,得到(S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-氯苯基) 丙酸 (0.229g, 90.6% 产率), 为泡沫状物。HPLC>99面积%纯。LC/MS (APCI+) m/z 200 [M-BOC+H]<sup>+</sup>。

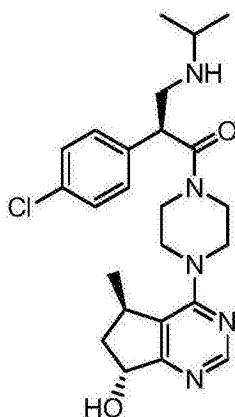
[0346] 步骤16:向(5R,7R)-5-甲基-4-(哌嗪-1-基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-7-醇二盐酸盐 (88mg, 0.29mmol) 和(S)-3-(叔丁氧基羰基氨基)-2-(4-氯苯基) 丙酸 (86mg, 0.29mmol) 在DCM (10mL) 和二异丙基乙基胺 (0.22mL, 1.3mmol) 的溶液中加入HBTU (110mg, 0.29mmol)。将反应混合物在室温搅拌1小时。除去溶剂并将残余物溶于乙酸乙酯 (100mL), 用水 (6x50mL) 洗涤。将有机相干燥并浓缩,得到(S)-2-(4-氯苯基)-3-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基氨基甲酸叔丁酯 (116mg, 78%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 8.51 (s, 1H), 7.34-7.20 (m, 4H), 5.15-5.09 (m, 2H), 4.15-4.05 (m, 1H), 3.87-3.85 (m, 2H), 3.78-3.38 (m, 7H), 3.22-3.19 (m, 1H), 2.20-2.10 (m, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.41 (s, 9H), 1.14-1.12 (d, J=7.2Hz, 3H)。MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup> 516。

[0347] 步骤17:在DCM (5mL) 中将(S)-2-(4-氯苯基)-3-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基氨基甲酸叔丁酯用HCl (4M 的二噁烷溶液, 2mL) 处理6小时,得到(S)-3-氨基-2-(4-氯苯基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-

5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)丙-1-酮二盐酸盐。<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400MHz) 8.38 (s, 1H), 7.37-7.35 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.23-7.21 (d, J=8.4Hz, 2H), 5.29-5.25 (m, 1H), 4.64 (s, 9H), 4.31-4.28 (m, 1H), 4.11 (m, 1H), 3.88-3.79 (m, 2H), 3.70-3.20 (m, 10H), 2.23-2.17 (m, 1H), 2.07-1.99 (m, 1H), 1.22-1.20 (m, 2H), 0.98-0.96 (d, J=6.8Hz, 2H). MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup>+416.

[0348] 实施例2

[0349]



[0350] (S)-2-(4-氯苯基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-(异丙基氨基)丙-1-酮

[0351] 步骤1: 使用干冰-异丙醇浴将蒲勒烯酸乙酯 (ethyl puleginate) (130g, 662mmol) 在EtOAc (900mL) 中的溶液冷却至-78℃。使该混合物经受臭氧解直至反应变成紫色。此时, 停止产生臭氧, 并将反应混合物从干冰浴中移开。使得氧气鼓泡通过该反应混合物直至它变成黄色。将反应混合物真空浓缩, 并将所得残余物溶于冰醋酸 (400mL)。将溶液冷却至0℃, 历时30分钟逐份加入Zn粉 (65g, 993mmol)。然后将反应混合物搅拌2小时, 此时通过硅藻土填料将反应混合物过滤除去锌粉。用NaOH和NaHCO<sub>3</sub>的水溶液将乙酸中和至pH 7并用乙醚 (3X 800mL) 萃取。将合并的有机物用盐水洗涤, 以MgSO<sub>4</sub>干燥并浓缩, 得到 (2R)-2-甲基-5-氧代环戊-羧酸乙酯, 为棕色液体 (107g, 95%)。

[0352] 步骤2: 向 (R)-2-甲基-5-氧代环戊羧酸乙酯 (106.0g, 622.78mmol) 在MeOH (1.2L) 中的溶液加入乙酸铵 (240.03g, 3113.9mmol)。氮气下将反应混合物在室温搅拌20小时, 此后通过TLC和HPLC判断反应完成。浓缩反应混合物除去MeOH。将所得残余物溶于DCM, 用H<sub>2</sub>O洗涤两次, 用盐水洗涤一次, 干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并浓缩, 得到 (R)-2-氨基-5-甲基环戊-1-烯羧酸乙酯 (102g, 97%产率), 为橙色油状物。LC/MS (APCI+) m/z 170 [M+H]<sup>+</sup>。

[0353] 步骤3: 将含有 (R)-2-氨基-5-甲基环戊-1-烯羧酸乙酯 (161.61g, 955.024mmol) 和甲酸铵 (90.3298g, 1432.54mmol) 在甲酰胺 (303.456ml, 7640.19mmol) 中的溶液加热至内温150℃并搅拌17小时。将反应混合物冷却, 并转移至2L单颈烧瓶中。然后通过高真空蒸馏除去过量的甲脒。一旦甲脒停止馏出, 将蒸馏器 (still pot) 中剩余的油状物溶于DCM并用盐水 (3X 200mL) 洗涤。用DCM萃取合并的含水洗涤物。将合并的有机萃取物干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 过滤并浓缩。将所得棕色油状物溶于最小量DCM, 并使用分液漏斗向搅拌的乙醚溶液加入该溶液 (大约5体积的乙醚相对于DCM溶液), 使得形成一些棕色沉淀物。通过中号玻璃料漏斗过滤除去该棕色沉淀物, 用乙醚淋洗并弃去 (disposed)。浓缩滤液, 再重复从乙醚中研磨两次, 然后在真空管道上干燥, 得到 (R)-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-醇

(93.225g, 65.00%产率), 为棕黄色糊状固体。LC/MS (APCI-)  $m/z$  149.2.

[0354] 步骤4: 通过滴液漏斗向 (R)-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-醇 (152.2g, 1013mmol) 在 DCE (1.2L) 中的 0℃ 溶液中慢慢加入纯态的  $\text{POCl}_3$  (463.9ml, 5067mmol)。加入完成后, 将反应混合物温热至室温, 然后加热至回流并搅拌 70 分钟。通过 HPLC 确定反应完成。将反应混合物冷却至室温, 并分 4 份淬灭过量的  $\text{POCl}_3$ , 操作如下: 将反应混合物转移至分液漏斗并滴入到含有在冰浴中冷却的冰及饱和  $\text{NaHCO}_3$  溶液的烧杯中。一旦每份反应混合物加入完成, 将所淬灭的混合物搅拌 30 分钟以确保在转移至分液漏斗之前完全破坏  $\text{POCl}_3$ 。将混合物转移至分液漏斗中并用 DCM 萃取两次。将合并的萃取物干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 过滤并浓缩。将粗品在硅胶上纯化如下: 将硅胶 (1kg) 在 9:1 己烷:乙酸乙酯中打浆到 3L 玻璃料漏斗上, 真空沉降硅胶, 用沙封顶。用 DCM/己烷混合物装载粗品, 并使用 1L 侧臂烧瓶真空洗脱。高 Rf 副产物首先被洗脱, 然后是 (R)-4-氯-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶 (104.4g, 61.09%产率), 为棕色油状物。向 (R)-4-氯-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶 (30.0g, 178mmol) 在 *n*-BuOH (250mL) 中的溶液加入三乙胺 (93.0ml, 534mmol) 和哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (34.8g, 187mmol)。氮气下将反应混合物加热至回流并搅拌过夜 (17 小时), 此后将其在旋转蒸发仪上浓缩。将所得油状物溶于 DCM, 用  $\text{H}_2\text{O}$  洗涤, 干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 过滤并浓缩。将所得棕色油状物在硅胶上纯化 (首先用 2:1 己烷:乙酸乙酯直至干净地洗脱产物, 然后用 1:1 至 1:5 DCM:乙酸乙酯梯度) 得到 (R)-4-(5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基) 哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (42.0g, 74.1%产率), 为米色粉末。LC/MS (APCI+)  $m/z$  319.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0355] 步骤5: 向 (R)-4-(5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基) 哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (20.0g, 62.8mmol) 在  $\text{CHCl}_3$  (310mL) 中的 0℃ 溶液逐份加入固体 77% 最大量 MCPBA (23.9g, 107mmol)。将反应混合物搅拌 5 分钟, 然后温热至室温并搅拌 90 分钟。7.5 小时后 HPLC 显得类似。将反应混合物冷却至 0℃, 然后加入  $\text{NaHCO}_3$  (13.2g, 157mmol) 和另外 0.5 当量的 *m*-CPBA。将反应混合物搅拌过夜 (14 小时)。将反应混合物冷却至 0℃, 并通过滴液漏斗滴加  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (29.8g, 188mmol) 在  $\text{H}_2\text{O}$  (50mL) 中的溶液。接着通过滴液漏斗加入  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (24.6g, 232mmol) 在  $\text{H}_2\text{O}$  (70mL) 中的溶液 (混合物变成均质的)。将反应混合物搅拌 30 分钟, 然后用  $\text{CHCl}_3$  (3X 150mL) 萃取混合物。将合并的萃取物干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 过滤并浓缩, 得到 N-氧化物。LC/MS (APCI+)  $m/z$  335.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0356] 步骤6: 向来自步骤 5 的 N-氧化物 (21.0g, 62.8mmol) 中加入  $\text{Ac}_2\text{O}$  (77.0ml, 816mmol)。氮气下将反应混合物在 90℃ 沙浴加热并搅拌 100 分钟。将反应混合物冷却至室温, 并通过旋转蒸发除去过量的乙酸酐。将所得油状物溶于 DCM, 然后将其小心地倾入冰的饱和  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  中。用 DCM 萃取混合物, 并将合并的萃取物干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 过滤并浓缩, 得到 (5R)-4-(7-乙酰氧基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基) 哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (23.6g, 100%), 为棕色泡沫状物。LC/MS (APCI+)  $m/z$  377.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0357] 步骤7: 向 (5R)-4-(7-乙酰氧基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基) 哌嗪-1-羧酸叔丁酯 (23.6g, 62.69mmol) 在 2:1 THF: $\text{H}_2\text{O}$  (320mL) 中的 0℃ 溶液中加入  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (6.577g, 156.7mmol)。将反应混合物搅拌 10 分钟, 然后温热至室温。在 3 小时和 4.5 小时 LC/MS 看起来相同。将反应混合物冷却至 0℃, 然后向混合物中加入饱和的  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 。将混合物搅拌 5 分钟, 并通过旋转蒸发除去大部分的 THF。用 EtOAc (3X 250mL) 萃取混合物, 并将合并的萃

取物干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ),过滤并浓缩。将粗品在Biotage 65M上快速分离:4:1DCM:乙酸乙酯,然后梯度为1:1至1:4DCM:乙酸乙酯。一旦洗脱产物,然后用乙酸乙酯淋洗柱。然后30:1DCM:MeOH洗脱剩余部分的产物(8.83g)。使用相同的条件将混合的馏分用Biotage 40M再次快速分离,得到另外2.99g,其给出合并产量的(5R)-4-(7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(11.82g,56.38%产率),为棕色泡沫状物。LC/MS (APCI+)  $m/z$  335.1 [M+H]<sup>+</sup>。

[0358] **步骤8:**通过滴液漏斗向草酰氯(3.35ml,38.4mmol)在DCM(150mL)中的-78℃溶液滴加DMSO(5.45ml,76.8mmol)在DCM(50mL)中的溶液。将反应混合物搅拌35分钟,然后通过滴液漏斗慢慢加入(5R)-4-(7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(9.17g,27.4mmol)在DCM(80mL)中的溶液。将反应混合物在-78℃搅拌另外1小时,此后向混合物中加入纯态的三乙胺(18.0ml,129mmol)。然后将反应混合物温热至室温,然后搅拌30分钟。加入 $\text{H}_2\text{O}$ 。用DCM(3X 200mL)萃取混合物,并将合并的萃取物干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ),过滤并真空浓缩。将粗品在硅胶(Biotage65M)上纯化:用大约800mL 4:1DCM:EtOAc,然后梯度为1:1DCM:乙酸乙酯淋洗柱直至产物洗脱,然后1:4DCM:EtOAc洗脱产物,得到(R)-4-(5-甲基-7-氧代-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(7.5g,82.3%产率),为棕色泡沫状物。从DCM/己烷中浓缩(3X)该泡沫状物,其给出极浅棕色的泡沫状物。HPLC>95%面积。LC/MS (APCI+)  $m/z$  333 [M+H]<sup>+</sup>。

[0359] **步骤9:**向(R)-4-(5-甲基-7-氧代-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(9.75g,29.3mmol)在DCM(210mL;使用之前用氮气脱气30分钟)中加入三乙胺(4.33ml,31.1mmol;使用之前用氮气脱气30分钟)和甲酸(1.36ml,36.1mmol;使用之前用氮气脱气30分钟)。将混合物搅拌5分钟,然后加入Ru催化剂(0.0933g,0.147mmol)。将反应混合物在正氮气压搅拌过夜(18小时)。将反应混合物高真空浓缩至干并干燥。将不纯的物质在Biotage 65M上快速分离,装入1:1DCM:乙酸乙酯500mL淋洗,然后是1:4DCM:乙酸乙酯直至产物洗脱(第2个点),然后梯度为纯态的乙酸乙酯,然后25:1DCM:MeOH洗脱剩余部分的产物。合并馏分并在旋转蒸发仪上浓缩。从DCM/己烷中再浓缩残余物,得到4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(主要的)和4-((5R,7S)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(次要的)的混合物(9.35g,95.3%产率),为米色泡沫状物。LC/MS (APCI+)  $m/z$  335 [M+H]<sup>+</sup>。通过甲醇次甲基(carbinol methine)的积分,<sup>1</sup>H NMR ( $\text{CDCl}_3$ )显示88%de。

[0360] **步骤10:**向4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(7.0g,20.9mmol)和三乙胺(4.38ml,31.4mmol)在DCM(110mL)中的0℃溶液加入4-硝基苯甲酰氯(4.27g,23.0mmol)。将反应混合物在室温搅拌过夜,此后加入饱和的 $\text{NaHCO}_3$ 。将混合物搅拌10分钟,然后用DCM萃取。将合并的萃取物干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ),过滤并浓缩。将粗品在Biotage 65M上快速分离(3:1己烷:乙酸乙酯装载粗品,然后2:1己烷:乙酸乙酯洗脱)得到4-((5R,7R)-5-甲基-7-(4-硝基苯甲酰基氧基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯和少量混合的馏分。然后使用1:2己烷:乙酸乙酯洗脱4-((5R,7S)-5-甲基-7-(4-硝基苯甲酰基氧基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯。通过旋转蒸发浓缩具有产物的馏分,得到4-((5R,7R)-5-甲基-7-(4-硝基苯甲酰基氧基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(8.55g,

84.5%产率),为黄色泡沫状物。LC/MS (APCI+)  $m/z$  484 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) 显示单一的非对映异构体)。通过旋转蒸发浓缩具有其它对映异构体的馏分,得到4-((5R,7S)-5-甲基-7-(4-硝基苯甲酰基氧基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(0.356g, 3.52%产率),为棕色泡沫状物。LC/MS (APCI+)  $m/z$  484 [M+H]<sup>+</sup>.

[0361] 步骤11:向4-((5R,7R)-5-甲基-7-(4-硝基苯甲酰基氧基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(2.30g, 4.76mmol)在2:1THF:H<sub>2</sub>O(40mL)的0℃溶液中加入LiOH·H<sub>2</sub>O(0.499g, 11.9mmol)。将反应混合物温热至室温并搅拌1小时。通过旋转蒸发除去THF,加入饱和的NaHCO<sub>3</sub>,并用乙酸乙酯萃取混合物。将合并的萃取物用饱和的NaHCO<sub>3</sub>洗涤(1X),干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),过滤并浓缩,得到4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(1.59g, 100.0%产率),为黄色泡沫状物。后处理后HPLC仅产物>98面积%纯。LC/MS (APCI+)  $m/z$  335 [M+H]<sup>+</sup>. 使用类似的方法制备4-((5R,7S)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯。

[0362] 步骤12:向4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(0.600g, 1.79mmol)在二噁烷(15mL)中的溶液加入4M HCl/二噁烷(11.2mL, 44.9mmol)。氮气下将反应混合物在室温搅拌过夜(20小时)。将混合物浓缩至干并在高真空管道上干燥。将粗品混悬在乙醚中,超声并搅拌5分钟。通过具有氮气压的中号玻璃料漏斗过滤将固体分离出,用乙醚淋洗,氮气压下干燥并在高真空管道上再干燥,得到(5R,7R)-5-甲基-4-(哌嗪-1-基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-7-醇二盐酸盐(0.440g, 79.8%产率),为黄色粉末。LC/MS (APCI+)  $m/z$  235. 使用类似的方法制备(5R,7S)-5-甲基-4-(哌嗪-1-基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-7-醇二盐酸盐。

[0363] 步骤13:将2-(4-氯苯基)乙酸甲酯(36.7g, 199mmol)和多聚甲醛(6.27g, 209mmol)溶解/混悬在DMSO(400mL)中并用NaOMe(537mg, 9.94mmol)处理。将混合物在室温搅拌2小时至完全(通过粗品的TLC分析)。将反应混合物倾入冰-冰水中(700mL;白色乳液)并加入1M HCl溶液中和。用乙酸乙酯(3X)萃取水层,并合并有机物。将有机层用水(2X)、盐水(1X)洗涤,分离,以MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩,得到粗产物,为黄色油状物。将残余物装载到具有硅胶的大号玻璃料漏斗上并用9:1己烷:乙酸乙酯洗脱直至收集起始原料/烯烃。然后用1:1己烷:乙酸乙酯洗脱填料直至纯的期望产物完全被洗脱。浓缩纯的馏分得到2-(4-氯苯基)-3-羟基丙酸甲酯,为无色油状物(39.4g, 92%)。

[0364] 步骤14:将2-(4-氯苯基)-3-羟基丙酸甲酯(39.4g, 184mmol)溶于DCM(500mL)并用TEA(64.0mL, 459mmol)处理。将溶液冷却至0℃并用MsCl(15.6mL, 202mmol)慢慢处理,然后搅拌30分钟至完全(通过TLC分析)。将溶液与1N HCl溶液一起分配,并用DCM萃取水相一次。将合并的有机层用1N HCl溶液再洗涤一次,分离,用稀的NaHCO<sub>3</sub>溶液洗涤并分离。将有机层以MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩,得到橙色的油状物。将残余物装载到具有硅胶填料的大号玻璃料漏斗中并用9:1己烷:乙酸乙酯洗脱,得到纯的期望产物(通过TLC分析)。浓缩纯的馏分得到2-(4-氯苯基)丙烯酸甲酯,为无色油状物(30.8g, 85%)。在0℃向搅拌的*i*-PrNH<sub>2</sub>(217μL, 2.54mmol)在THF(5.0mL)中的溶液加入2-(4-氯苯基)丙烯酸甲酯(500mg, 2.54mmol)在THF(1.35mL)中的溶液。将反应混合物在室温搅拌过夜至完全(通过LCMS分析)。经吸量管向搅拌的胺中加入Boc<sub>2</sub>O(584μL, 2.54mmol)。将反应混合物搅拌过夜至完全(通过混合物的LCMS和TLC分析)。真空浓缩溶液,得到3-(叔丁氧基羰基(异丙基)氨基)-2-

(4-氯苯基)丙酸甲酯,为无色油状物(854mg,94%)。LC/MS (APCI+)  $m/z$  256.1 [M-Boc]<sup>+</sup>。

[0365] 步骤15:在室温将3-(叔丁氧基羰基(异丙基)氨基)-2-(4-氯苯基)丙酸甲酯(133g,374mmol)溶于THF (1.0L)并用KOTMS (56.0g,392mmol)处理。将混合物搅拌过夜至完全(通过粗品的LCMS分析)。真空浓缩混合物,得到湿的泡沫状物,将其真空干燥过夜,得到3-(叔丁氧基羰基(异丙基)氨基)-2-(4-氯苯基)丙酸钾,为白色固体(148.7g,105%)。LC/MS (APCI+)  $m/z$  242.1 [M-Boc-K]<sup>+</sup>。

[0366] 步骤16:在室温将3-(叔丁氧基羰基(异丙基)氨基)-2-(4-氯苯基)丙酸钾(77.2g,203mmol)溶于THF (515mL)并用特戊酰氯 (26.3mL,213mmol)处理。将混合物搅拌3小时,形成混合物酸酐。在分开的烧瓶中将(S)-4-苄基噁唑烷-2-酮(46.1g,260mmol)溶于THF (600mL)并冷却至-78℃。将溶液用n-BuLi (102mL的2.50M己烷溶液,254mmol)处理并搅拌一小时。经套管向搅拌的Li-噁唑烷酮中加入制备的酸酐溶液,并将混合物温热至室温过夜。加入饱和的氯化铵溶液将混合物淬灭,然后在更多的水和乙酸乙酯之间分配。萃取水相若干次,并将有机物合并。将有机层先后用水、盐水洗涤,分离,以MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。经色谱法(用4:1己烷:乙酸乙酯洗脱的硅胶)将残余物纯化/分离(非对映异构体),得到完全分离的非对映异构体,为粘性油状物:(R)-3-((S)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-2-(4-氯苯基)-3-氧代丙基(异丙基)氨基甲酸叔丁酯(12.16g,基于1/2的酸消旋体为24%) and (S)-3-((S)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-2-(4-氯苯基)-3-氧代丙基(异丙基)氨基甲酸叔丁酯(39.14g,基于1/2的酸消旋体为77%)。LC/MS (APCI+)  $m/z$  401.2 [M-Boc]<sup>+</sup>。

[0367] 步骤17:在室温向搅拌的THF (30mL)和水(15mL)的溶液中加入LiOH-H<sub>2</sub>O (168mg,4.00mmol)直至其溶解。将混合物用过氧化氢(658uL的在水中的35%wt.溶液,8.00mmol)处理并在室温搅拌10分钟。在冰浴中将反应混合物冷却至0℃,并历时10分钟经滴液漏斗滴加(S)-3-((S)-4-苄基-2-氧代噁唑烷-3-基)-2-(4-氯苯基)-3-氧代丙基(异丙基)氨基甲酸叔丁酯(1.00g,2.00mmol)在THF (15mL)中的溶液。将混合物在室温搅拌至完全(通过粗品的LCMS分析)。将反应混合物冷却至0℃,然后历时十分钟时间经滴液漏斗用1M Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (9.00mL)溶液处理。加入完成后,将混合物温热至室温10分钟。将混合物浓缩除去THF,然后用水稀释。用乙酸乙酯洗涤水层两次(弃去)。将水层与乙酸乙酯一起分配,然后在搅拌的同时用1M HCl滴加处理直至达到pH 2-3。用乙酸乙酯萃取水层两次,并将有机物合并。将有机物用盐水洗涤,分离,以MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。将无色油状物高真空干燥一小时,得到(S)-3-(叔丁氧基羰基(异丙基)氨基)-2-(4-氯苯基)丙酸,为粘性油状物/泡沫状物(685mg,100%)。LC/MS (APCI+)  $m/z$  242.1 [M-Boc]<sup>+</sup>。

[0368] 步骤18:将(5R,7R)-5-甲基-4-(哌嗪-1-基)-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-7-醇二盐酸盐(2.92g,9.51mmol)和(S)-3-(叔丁氧基羰基(异丙基)氨基)-2-(4-氯苯基)丙酸(3.25g,9.51mmol)在DCM (40mL)和DIEA (5.0mL,28.7mmol)中的溶液在室温搅拌10分钟。向混合物中加入HBTU (3.61g,9.51mmol)。将混合物在室温搅拌1小时。除去溶剂,并将残余物溶于乙酸乙酯(500mL)并用水(6X 100mL)洗涤。将有机相干燥并浓缩。将残余物由EtOAc-DCM/MeOH (20:1)洗脱的柱色谱处理,得到(S)-2-(4-氯苯基)-3-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基(异丙基)氨基甲酸叔丁酯(3.68g,69%)。LC/MS (APCI+)  $m/z$  558.2 [M+H]<sup>+</sup>。

[0369] 步骤19:在室温将(S)-2-(4-氯苯基)-3-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-

5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-氧代丙基(异丙基)氨基甲酸叔丁酯(2.50g, 4.48mmol)溶于二噁烷(22.4mL)并用4M HCl的二噁烷溶液(22.4mL, 89.6mmol)处理。将所得溶液搅拌过夜至完全(通过粗品的LCMS分析)。真空浓缩溶液得到凝胶状物,将其溶于最小量的甲醇(10mL)。经吸量管将该溶液转移至搅拌的乙醚(300mL)中,得到期望产物的白色沉淀物。当白色沉淀物融化成黄色胶状物时加入大约一半。真空浓缩该物质,得到黄色凝胶状物,将其减压放置过夜,得到(S)-2-(4-氯苯基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-(异丙基氨基)丙-1-酮二盐酸盐,为浅黄色粉末(2.14g, 90%)。

[0370]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400MHz) 8.39 (s, 1H), 7.37-7.35 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 7.23-7.20 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 5.29-5.25 (m, 1H), 4.33-4.29 (m, 1H), 4.14-4.10 (m, 1H), 3.89-3.19 (m, 11H), 2.23-2.17 (m, 1H), 2.08-1.99 (m, 1H), 1.20-1.18 (m, 6H), 0.98-0.96 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H). MS (APCI+)  $[\text{M}+\text{H}]^+$  458.

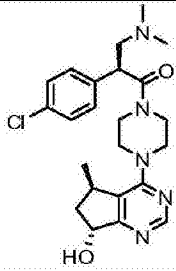
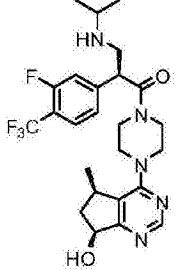
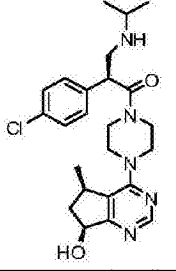
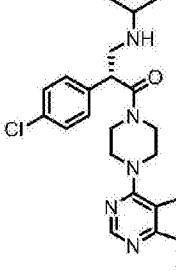
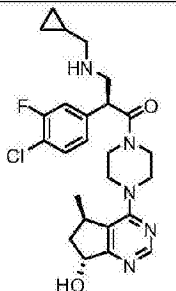
[0371] 表1中所示实施例3-9也可根据上述方法制得。

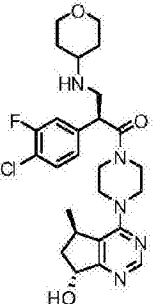
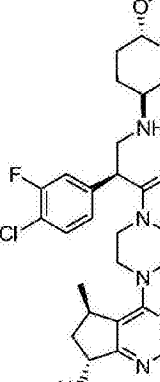
[0372] 表1

[0373]

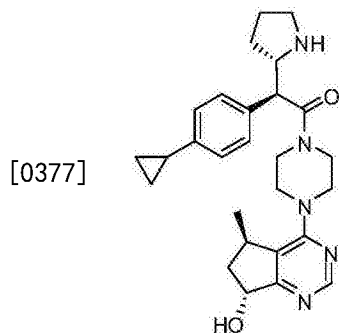
| 实施例 | 结构 | 名称 | LCMS 或者 $^1\text{H}$ NMR |
|-----|----|----|--------------------------|
|-----|----|----|--------------------------|

[0374]

|   |                                                                                     |                                                                                                |                                                 |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 3 |    | (S)-2-(4-氯苯基)-3-(二甲基氨基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)丙-1-酮          | 444.1                                           |
| 4 |    | (S)-2-(3-氟-4-(三氟甲基)苯基)-1-(4-((5R,7S)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-(异丙基氨基)丙-1-酮 | 510.3                                           |
| 5 |    | (S)-2-(4-氯苯基)-1-(4-((5R,7S)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-(异丙基氨基)丙-1-酮          | 458.3                                           |
| 6 |  | (R)-2-(4-氯苯基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-3-(异丙基氨基)丙-1-酮          | 458                                             |
| 7 |  | (S)-2-(4-氯-3-氟苯基)-3-(环丙基甲基氨基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)丙-1-酮    | LCMS (APCI+) m/z<br>488, 490 [M+H] <sup>+</sup> |

|             |                                                                                   |                                                                                                            |                                                 |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 8           |  | (S)-2-(4- 氯 -3- 氟 苯基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]噻唑-4-基)吡咯-1-基)-3-(4-羟基-2H-吡啶-4-基氨基)丙-1-酮   | LCMS (APCI+) m/z<br>518, 520 [M+H] <sup>+</sup> |
| [0375]<br>9 |  | (S)-2-(4- 氯 -3- 氟 苯基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]噻唑-4-基)吡咯-1-基)-3-((1r,4S)-4-甲氧基环己基氨基)丙-1-酮 | LCMS (APCI+) m/z<br>546                         |

## [0376] 实施例10



[0378] (S)-2-(4-环丙基苯基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]噻唑-4-基)吡咯-1-基)-2-((S)-吡咯烷-2-基)乙酮

[0379] 步骤1:将环丙基溴化镁(64.0mL, 32.00mmol)的THF溶液用氯化锌(II)(64.00mL, 32.00mmol)在THF中的溶液处理。将混合物在室温搅拌20分钟。加入2-(4-溴苯基)乙腈(5.228g, 26.67mmol)和二[三叔丁基膦]钯(0.6814g, 1.333mmol)在THF(2mL)中的溶液。氮气下将反应混合物在环境温度搅拌12小时。用饱和的NH<sub>4</sub>Cl淬灭反应混合物,用二氯甲烷稀释并分离。用二氯甲烷(2X)洗涤水层,然后用水(3X)洗涤合并的有机层,以Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩。将粗产物经SiO<sub>2</sub>色谱处理(用25:1己烷/乙酸乙酯洗脱),得到2-(4-环丙基苯基)乙腈(2.76g, 66%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 7.20(d, J=8.2, 2H), 7.07(d, J=8.2, 2H), 3.70(s, 2H), 1.94-1.85(m, 1H), 1.01-0.95(m, 2H), 0.71-0.66(m, 2H)。

[0380] 步骤2:将甲醇(65mL)冷却至0℃并用HCl(气体)饱和。用2-(4-环丙基苯基)乙腈(2.76g, 17.56mmol)在甲醇(6mL)中的溶液处理该溶液。在含有CaSO<sub>4</sub>的干燥管下将反应混合物加热至回流过夜。将反应混合物冷却并真空浓缩。将粗混合物再混悬于乙酸乙酯和水,然后分离。将有机层用饱和的NaHCO<sub>3</sub>、饱和的NaCl洗涤,以Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩,得到2-(4-环丙基苯基)乙酸甲酯,为油状物(3.10g, 93%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 7.16(d, J=

8.3, 2H), 7.02 (d, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.58 (s, 2H), 1.92-1.83 (m, 1H), 0.97-0.91 (m, 2H), 0.70-0.64 (m, 2H) .

[0381] 步骤3: 将2-(4-环丙基苯基) 乙酸甲酯 (3.10g, 16.30mmol) 溶于THF/MeOH/水的混合物 (2:2:1, 80mL) 中, 并用氢氧化锂水合物 (0.8548g, 20.37mmol) 处理该溶液。然后将混合物在环境温度搅拌4小时。用3N HCl将反应混合物中和至pH为4并真空浓缩。将该固体再溶于乙酸乙酯和水。用3N HCl将pH再调节到约3至约4的pH。然后分离各层。用乙酸乙酯 (2X) 洗涤水层。然后将合并的有机层用饱和的NaCl洗涤, 以Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩, 得到2-(4-环丙基苯基) 乙酸 (2.82g, 98%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 7.16 (d, J=8.2, 2H), 7.03 (d, 2H), 3.60 (s, 2H), 1.92-1.83 (m, 1H), 0.98-0.91 (m, 2H), 0.70-0.64 (m, 2H) .

[0382] 步骤4: 在甲苯 (14mL) 中将2-(4-环丙基苯基) 乙酸 (2.82g, 16.003mmol) 与(R)-4-苄基噁唑烷-2-酮 (3.4030g, 19.204mmol) 合并。将该混悬液用三乙胺 (6.6917mL, 48.010mmol) 处理, 然后加热至80℃。滴加特戊酰氯 (1.9893mL, 16.003mmol) 在甲苯 (3.5mL) 中的溶液处理该溶液。将反应混合物在80℃加热过夜。将反应混合物冷却并用2N HCl洗涤, 然后分离。用甲苯洗涤水层, 然后用2N HCl、水、饱和的NaHCO<sub>3</sub> (2X)、饱和的NaCl洗涤合并的有机物, 以Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并真空浓缩。将粗产物经SiO<sub>2</sub>色谱处理 (用9:1己烷/乙酸乙酯洗脱), 得到(R)-4-苄基-3-(2-(4-环丙基苯基) 乙酰基) 噁唑烷-2-酮 (3.43g, 64%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 7.33-7.20 (m, 5H), 7.16-7.11 (m, 2H), 7.05 (d, J=8.2, 2H), 4.70-4.63 (m, 1H), 4.32-4.14 (m, 4H), 3.26 (dd, J<sub>1</sub>=3.2, J<sub>2</sub>=13.3, 1H), 2.75 (dd, J<sub>1</sub>=9.5, J<sub>2</sub>=13.3, 1H), 1.93-1.85 (m, 1H), 0.98-0.92 (m, 2H), 0.72-0.66 (m, 2H) .

[0383] 步骤5: 根据实施例1中所述操作, 使用(R)-4-苄基-3-(2-(4-环丙基苯基) 乙酰基) 噁唑烷-2-酮, 制备(S)-2-((S)-1-(叔丁氧基羰基) 吡咯烷-2-基)-2-(4-环丙基苯基) 乙酸 (0.287g, 26%)。MS (ESI+) [M+H] 345.7.

[0384] 步骤6: 根据实施例3中所述操作, 使用(S)-2-((S)-1-(叔丁氧基羰基) 吡咯烷-2-基)-2-(4-环丙基苯基) 乙酸, 制备(S)-2-((S)-1-(4-环丙基苯基)-2-(4-((5R, 7R)-7-羟基-5-甲基-6, 7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基) 哌嗪-1-基)-2-氧代乙基) 吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (0.199g, 94%)。MS (ESI+) [M+H] 562.1.

[0385] 步骤7: 根据实施例3中所述操作, 使用(S)-2-((S)-1-(4-环丙基苯基)-2-(4-((5R, 7R)-7-羟基-5-甲基-6, 7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基) 哌嗪-1-基)-2-氧代乙基) 吡咯烷-1-羧酸叔丁酯, 制备(S)-2-(4-环丙基苯基)-1-(4-((5R, 7R)-7-羟基-5-甲基-6, 7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基) 哌嗪-1-基)-2-((S)-吡咯烷-2-基) 乙酮 (0.145g, 77%)。MS (ESI+) [M+H] 462.2。<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz) 8.56 (s, 1H), 7.26 (d, 2H), 7.13 (d, 2H), 5.29 (dd, 1H), 5.32-5.26 (dd, 1H), 4.32 (d, 1H), 4.29-4.18 (m, 1H), 4.12-3.95 (m, 2H), 3.88-3.61 (m, 6H), 3.51-3.38 (m, 1H), 3.35-3.30 (m, 1H), 2.32-2.24 (m, 1H), 2.22-2.03 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 2H), 1.82-1.73 (m, 2H), 1.40-1.34 (m, 1H), 1.16 (d, 3H), 1.01-0.95 (m, 2H), 0.69-0.64 (m, 2H) .

[0386] 表2中所示实施例也可根据上述方法制得。

[0387] 表2

| 实施例    | 结构 | 名称                                                                                                  | LCMS 或者 <sup>1</sup> H NMR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| [0388] |    | 4-((S)-2-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-1-((S)-1-甲基吡咯烷-2-基)-2-氧代乙基)苯甲腈      | m/z 461.3; <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, DMSO-D <sub>6</sub> ) δ ppm 8.65 (s, 1H), 7.85 (d, 2H), 7.65 (d, 2H), 5.10 (t, 1H), 4.80 (d, 1H), 4.10-3.85 (m, 5H), 3.68 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.20-2.02 (m, 2H), 1.93 (m, 2H), 1.68 (m, 1H), 1.50 (m, 1H), 1.35-1.25 (m, 11H), 1.10 (d, 3H)                                                                                                                                                                               |
| [0389] |    | (S)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)-2-((S)-吡咯烷-2-基)-2-(4-(三氟甲基)苯基)乙酮       | m/z 490.3; <sup>1</sup> H NMR (500 MHz, DMSO-D <sub>6</sub> ) δ ppm 9.18 (m, 1H), 8.85 (m, 1H), 8.57 (s, 1H), 7.78 (d, 2H), 7.62 (d, 2H), 5.04 (t, 1H), 4.48 (d, 1H), 4.02 (m, 2H), 3.95 (m, 2H), 3.75-3.50 (m, 6H), 3.42 (m, 2H), 3.30-3.10 (m, 4H), 2.10-1.90 (m, 3H), 1.75 (m, 1H), 1.70-1.50 (m, 2H), 1.04 (d, 3H)                                                                                                                                                             |
| [0389] |    | (S)-2-(4-氯-3-氟苯基)-2-((S)-5,5-二甲基吡咯烷-2-基)-1-(4-((5R,7R)-7-羟基-5-甲基-6,7-二氢-5H-环戊二烯并[d]嘧啶-4-基)哌嗪-1-基)乙酮 | LCMS (apci+) 502 [M+H] <sup>+</sup> ; 2.68 分钟; HPLC r.t.= 1.98 分钟, >97%纯度; <sup>1</sup> H NMR (400MHz, D <sub>2</sub> O) δ ppm 8.37 (s, 1H), 7.43 (t, J= 8.2Hz, 1H), 7.16 (d, J= 9.8Hz, 1H), 7.06 (d, J= 8.2Hz, 1H), 5.24 (t, J= 7.8Hz, 1H), 4.27 (d, J= 9.4Hz, 1H), 4.22-4.02 (m, 1H), 3.88-3.75 (m, 2H), 3.72-3.60 (m, 1H), 3.59-3.41 (m, 4H), 3.37-3.22 (m, 1H), 2.24-2.11 (m, 0.5H), 2.10-1.94 (m, 0.5H), 1.89-1.71 (m, 4H), 1.36 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 0.96 (d, J=7.0Hz, 3H) |

[0390] 实施例14体外细胞增殖测定

[0391] 实施例2的化合物与某些具体化疗剂的组合的体外效能可使用CellTiter-Glo<sup>®</sup>荧光细胞存活测定(可由Promega Corp., Madison, WI商购得到)进行测量。该均质测定(homogeneous assay)方法基于同翅目萤光素酶的重组表达(US 5583024; US 5674713; US 5700670)并基于存在的ATP(代谢活性细胞的指示物)的定量确定培养物中活细胞的数目(Crouch等(1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; US 6602677)。所述CellTiter-Glo<sup>®</sup>测定以96或384孔模式进行,使其可进行自动高通量筛选(HTS)(Cree等(1995) AntiCancer Drugs 6:398-404)。所述均质测定操作包括将单一试剂(CellTiter-Glo<sup>®</sup> Reagent)直接加到在血清补充的培养基中孵育的细胞中。不需要洗涤细胞、除去培养基和多次移液步骤。在加入试剂并混合后的10分钟内,在384-孔模式中系统检出低至15个细胞/孔。

[0392] 所述均质”加入-混合-测量(add-mix-measure)”模式导致细胞溶解并产生与存在

的ATP的量成比例的荧光信号。ATP的量与在培养物中存在的细胞数目直接成比例。所述CellTiter-Glo<sup>®</sup>测定产生“辉光型”荧光信号(由荧光素酶反应产生),其具有通常大于五小时的半衰期,依赖于细胞类型和所使用的培养基。以相对发光单位(RLU)反映活细胞。通过重组萤火虫荧光素酶使底物(甲虫荧光素(Beetle Luciferin))氧化性脱羧,伴随着将ATP转化成AMP并产生光子。延长的半衰期使之不再需要使用试剂注射器并且使多板连续或多板分批模式加工具有灵活性。该细胞增殖测定可用于各种多孔模式,例如96或384孔模式。可通过光度计或CCD相机成像装置记录数据。呈现发光输出,其为随时间测量的相对光单位(RLU)。

[0393] 使用CellTiter-Glo<sup>®</sup>测定测量实施例2的化合物和某些化疗剂的组合的抗增殖效应。确定所述测试化合物和组合的EC<sub>50</sub>值。体外细胞效能活性的范围为约100nM至约10μM。图12中的数据证实了,代表性组合针对许多癌症类型提供加和或者协同的活性。

[0394] 实施例15体内肿瘤异种移植物效力

[0395] 本发明的代表性组合的效能通过将癌细胞的同种异体移植物或者异种移植物植入啮齿动物中并将荷瘤动物用所述组合处理来进行体内测量。可变结果可取决于细胞系、在肿瘤细胞中存在或者不存在某些突变、给予实施例2化合物和化疗剂的顺序、给药方案以及其它因素而为预期的。将受试小鼠用药物或者对照(媒介物)处理并历时若干周或者更长时间监测以测量肿瘤体积倍增的时间、细胞死亡对数值和肿瘤抑制。

[0396] 在该模型中测试了本发明的代表性组合,结果示于图中。

[0397] 图中的数据证明了,与各药剂单独给药相比,代表性组合提供了改善的效果。例如,在LuCap35V原发性人前列腺肿瘤模型中,实施例2和多西他赛的组合导致肿瘤退行,而任一化合物的单一药物仅导致肿瘤停滞(图1)。另外,在SKOV3卵巢人肿瘤模型(图8)中,实施例2和顺铂的组合比单独的任一单一药物导致较大的肿瘤生长抑制。

[0398] 已经确定的是,本发明的某些组合提供针对某些癌症表型的改善的效应。例如,本发明的某些组合提供针对与PTEN突变、AKT突变(例如过表达或者扩增水平)、PI3K突变或者Her2/ErbB2扩增或突变有关的癌症的改善的效应。因此,本申请所述的某些组合针对这些类型的癌症特别有用。例如,在胃癌中,PTEN-丧失预示着本发明的某些组合(例如,式I的化合物与5-FU/顺铂)具有更好的效力,并且在前列腺癌PTEN-无效细胞系中可看到式I的化合物和多西他赛的组合具有更强的效应。

[0399] 可通过本领域已知的任何适合的方法测量PTEN状态。在一个实例中,使用IHC。可选择地,可使用蛋白质印迹分析。针对PTEN的抗体是可商购的(Cell Signaling Technology,Beverly,MA,Cascade Biosciences,Winchester,MA)。PTEN状态的IHC和蛋白质印记分析的实例操作在Neshat,M.S.等.Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR,Proc.Natl Acad.Sci.USA 98,10314-10319(2001)和Perren,A.等人Immunohistochemical Evidence of Loss of PTEN Expression in Primary Ductal Adenocarcinomas of the Breast,American Journal of Pathology,Vol.155,No.4,October 1999中有描述。另外,可使用本领域已知的技术鉴定与AKT突变、PI3K突变以及与Her2/ErbB2扩增或突变有关的癌症。在一个实例中,患者或者组织样品的PTEN状态使用IHC测定,并将histo得分或者HScore指定至样品或者患者。计算HScore的实例方式使用下式:HScore=(%1+细胞x1)+( %2+细胞x 2)+( %3+细胞x 3)(See Shoman,N,

et.al, Mod Path (2005) 18, 250-259)。来自相同患者或者患者的集合的非-癌性组织的平均 PTEN HScore 可用于测定是否患者或者样品 HScore 为低的或者无效。在一个实例中, 小于约 200 的 HScore 被认为是低的并对应于 PTEN 低, 以及约 0 的 HScore 被认为无效。

[0400] 一个方面包括患者中的肿瘤生长抑制 (TGI) 的方法, 所述患者患有包含 PTEN 突变、AKT 扩增 (例如, 过表达或者扩增)、PI3K 突变, 或者 Her2/ErbB2 扩增或者突变的癌症, 所述方法包括向所述患者给药 GDC-0068 或者其药用盐和以下中的一种: Folfex、铂剂、伊立替康、多西他赛、多柔比星、吉西他滨、SN-38、卡培他滨、替莫唑胺、紫杉醇、贝伐单抗、培妥珠单抗、他莫昔芬、雷帕霉素和拉帕替尼或者它们的药用盐。在某些实施方案中, 所述组合为协同性的。在某些实施方案中, 所述组合的 TGI 大于单独的任一 GDC-0068 或者化疗剂的 TGI。在某些实施方案中, 所述组合的 TGI 比单独的任一 GDC-0068 或者化疗剂的 TGI 大约 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70% 或者 75%。

[0401] 测量 TGI 的方法是本领域已知的。在一个实例方法中, 从治疗之前和之后的患者测量平均肿瘤体积并比较。肿瘤体积可使用本领域中的任何方法在两个维度 (长度和宽度) 中测量, 例如 UltraCal IV 卡尺 (Fred V. Fowler Company) 或者通过 PET (正电子发射断层扫描), 或者通过一些其它方法。可使用式肿瘤体积 ( $\text{mm}^3$ ) = (长度  $\times$  宽度<sup>2</sup>)  $\times$  0.5。历经多个时间段测量肿瘤体积可使用混合建模的 Linear Mixed Effects (LME) 方法进行 (Pinheiro et al. 2009)。这种方法可解决重复测量 (和多个患者)。在每个剂量水平, 可使用三次回归样条将非线性曲线拟合至肿瘤体积的时间过程。然后可将这些非线性曲线与混合模型中的剂量关联起来。可使用下式将作为媒介物的百分数的肿瘤生长抑制计算为与媒介物相关的每天的拟合曲线下面积百分比 (AUC):

$$[0402] \quad \% \text{ TGI} = 100 \left[ 1 - \left( \frac{\text{AUC}_{\text{治疗} / \text{天}}}{\text{AUC}_{\text{媒介物} / \text{天}}} \right) \right]$$

[0403] 使用该式, 100% 的 TGI 值表示肿瘤停滞, 大于约 1% 但是小于约 100% 表示肿瘤生长抑制, 和大于约 100% 表示肿瘤退化。

[0404] 在某些实施方案中, 癌症包括 AKT、PI3k、PTEN 和 HER2 突变或者 AKT、PI3k、PTEN 或者 HER2 异常信号中的一个或者多个。在一个实例中, 癌症为包含高 pAKT 活性和低或者无 PTEN 状态的胃癌。

[0405] 在一个具体方面, 本发明提供治疗具有癌症的患者的方法, 所述癌症与 PTEN 突变或者表达缺失、AKT 突变或者扩增、PI3K 突变或者扩增, 或者 Her2/ErbB2 扩增相关, 所述方法包括将本发明的组合给药于患者。在另一方面, 本发明提供鉴别可用本发明组合治疗的具有癌症的患者的方法, 所述方法包括测定是否患者的癌症与 PTEN 突变或者表达缺失、AKT 突变或者扩增、PI3K 突变或者扩增, 或者 Her2/ErbB2 扩增相关, 其中患者的癌症与 PTEN 突变或者表达缺失、AKT 突变或者扩增、PI3K 突变或者扩增, 或者 Her2/ErbB2 扩增相关表明所述癌症可用本发明组合治疗。在另一方面, 本发明提供方法, 其进一步包括用本发明组合治疗如此识别的患者。

[0406] 在另一实例中, 待治疗的癌症与组合有 HER2 阳性或者阴性状态的阳性、低或者无 PTEN 状态相关。实例包括胃癌, 所述胃癌为 (i) PTEN 阴性 (HScore 小于约 10, 或者 0) 和 Her2 阴性, (ii) 低 PTEN (HScore 小于约 200) 和 Her2 阴性, (iii) PTEN 阴性和 Her2 阳性, 或者 (iv) PTEN

阳性和Her2阴性。在此实例中,癌症可用式I化合物例如GDC-0068或者其盐和FOLFOX的组合治疗。

[0407] 实施例16 GDC-0068的人类给药

[0408] 对具有晚期或者转移实体肿瘤的患者口服给药GDC-0068的盐酸盐,并使用例如PET扫描和剂量限制性毒性(DLT)的发病率和性质评价安全性、耐受性和应答。患者接受25 (n=3)、50 (n=3)、100 (n=3)、200 (n=3)、400 (n=3)、600 (n=8) 和800 (n=7) mg GDC-0068的剂量。在25、50、100、200、400或者600mg剂量未观察到DLT。在800mg剂量时在一位患者中观察到等级3疲劳。所有3位患者在400mg剂量时在PRAS40水平(AKT信号的下流读数)方面具有大于约60%的抑制率,如通过IHC或者RPPA测定测量。

[0409] 将患有去雄抗性的前列腺癌(n=10)或者诊断阳性的转移乳腺癌(具有低或者无PTEN状态、PI3K突变或者AKT突变或者提高的表达或者活性中的一个或者多个,n=10)的患者以600mg的剂量口服给药GDC-0068,在21天周期的最初7天每天一次。图21示出乳腺癌患者的PET扫描应答。图22示出图21的患者1中的PET和肿瘤标记物应答,其患有HER2-,PI3K突变型(H1047R)乳腺癌。图24的患者6(其患有AKT突变型E17K(PI3K野生型和240的HScore)乳腺癌)在PET扫描上在周期#1后具有完全应答,所有靶标和非-靶标病灶PET阴性,并且未发现新的病灶。这些应答证实,式I化合物例如GDC-0068治疗患者的过增生性疾病。

[0410] 替代PD生物标记测定

[0411] 在用GDC-0068治疗后,在不同的时间点使用在富血小板血浆(PRP)中的磷酸-GSK-3 $\beta$ 作为替代PD生物标记测量患者中的Akt途径抑制。将外周血收集在含有作为抗凝剂的.38%柠檬酸盐的Vacutainer中。将血液在室温以200g旋转15分钟。将PRP层从所述管小心地取出,然后在含有洗涤剂、蛋白酶和磷酸酶抑制剂的缓冲液中裂解。在PRP裂解液中的磷酸化的和总的GSK-3 $\beta$ 水平使用磷酸-GSK3 $\beta$ /总-GSK3 $\beta$ 多重MSD测定来测量。将pGsk-3 $\beta$ 水平归一化至总的Gsk-3 $\beta$ 水平,并将pGsk-3 $\beta$ 的剂量后抑制表示为每位患者的剂量前水平的比率。证实了剂量-和时间-依赖性药理学应答,在剂量 $\geq$ 200mg时,pGSK3 $\beta$ 水平的降低 $\geq$ 75%。

[0412] 反相蛋白质测定(RPPA测定)

[0413] 将来自用GDCC0068治疗的患者的中心穿刺肿瘤活组织检查新鲜冷冻在OCT中并切成8 $\mu$ m切片。将组织在含有TPER、300mM NaCl和磷酸酶抑制剂的RPPA裂解缓冲液中裂解。将裂解物的磷蛋白标记使用反相蛋白质测定分析:将样品印刷在硝化纤维素载玻片上并用Sypro染色,测定总的蛋白质浓度。将每个载玻片用不同的抗体在4 $^{\circ}$ C染色过夜。然后将数据标准化成总的蛋白质水平并将空间效应使用Quadrant中值归一化除去。pPRAS40的60%-70%的降低和Cyclin D1的 $\sim$ 50%降低(与基线相比)发生在每天以400mg治疗的所有3位患者中。对于RPPA的方法和综述,参见:Reverse phase protein microarrays advance to use in clinical trials,Molecular Oncology.2010Dec;4(6):461-81,Mueller C et al。

[0414] 实施例17与多西他赛组合地向人类给药GDC-0068

[0415] 进行21天治疗期,历经多个周期。将具有晚期或者转移实体肿瘤的患者给药GDC-0068的盐酸盐(口服,每天一次,在所有周期的第2天至第15天)和多西他赛(在第1天历时1小时给予75mg/m<sup>2</sup>IV静脉输注)。将患者分成队列。队列1接受100mg GDC-0068剂量。分别地,队列2接受200mg,队列3接受400mg和队列4接受600mg GDC-0068。疾病状态使用Response

Evaluation Criteria in Solid Tumors, Version 1.1 (RECIST v1.1) 评价。安全性和耐受性使用剂量限制性毒性 (DLT) 的发病率和性质以及不良事件和实验室异常的发病率、性质, 和严重性评价 (根据 NCI CTCAE v4.03 分级)。在队列 1、2 或者 3 中未观察到 DLT。

[0416] 图 23 示出在 Akt1E17K 突变乳腺癌患者中的一位具有部分应答的患者的结果。患者接受了三个疗程的在先化疗, 但是在三个疗程中均失败。在第 1 天的多西他赛治疗后, 在约 15 天的第一周期的第 2 天口服给予患者 GDC-0068, 每天一次。在接下来的 28 天内不给予治疗。在组合治疗之前 (在筛查时), 患者的肿瘤为  $30.2 \times 17.9\text{mm}$ , 以及在第一周期的组合治疗后, 患者的肿瘤收缩至  $18.2 \times 16.0\text{mm}$  (39% 降低或者 PR)。这些应答证实, 与化疗剂例如多西他赛组合的式 I 化合物例如 GDC-0068 治疗患者的过增生性疾病, 并且可在在先治疗失败后治疗疾病。

[0417] 实施例 18 与 5-FU、甲酰四氢叶酸和奥沙利铂 (FOLFOX) 组合的 GDC-0068 的人类给药

[0418] 进行 14 天治疗期, 历经多个周期。在所有周期的第 1 天至第 7 天, 对具有晚期或者转移实体肿瘤的患者口服给药逐步提高剂量的 GDC-0068 的盐酸盐, 每天一次, 并将 mFOLFOX6 (奥沙利铂  $85\text{mg}/\text{m}^2$ , 甲酰四氢叶酸  $400\text{mg}/\text{m}^2$  IV, 历经 2 小时, 和 5-氟尿嘧啶  $400\text{mg}/\text{m}^2$  IV 注射 (初始推注) 和 5-氟尿嘧啶  $2400\text{mg}/\text{m}^2$  IV, 历经 46 小时) 作为 IV 静脉输注在每个 14 天周期的第 1 天给药。队列 1 接受  $100\text{mg}$  的 GDC-0068 剂量。分别地, 队列 2 接受  $200\text{mg}$  和队列 3 接受  $400\text{mg}$  GDC-0068。疾病状态将使用 Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, Version 1.1 (RECIST v1.1) 评价。安全性和耐受性使用剂量限制性毒性 (DLT) 的发病率和性质以及不良事件和实验室异常的发病率、性质, 和严重性评价 (根据 NCI CTCAE v4.03 分级)。在队列 1 或者 2 中未观察到 DLT。

[0419] 图 24 示出在宫颈的 PIK3CA 突变型鳞状癌中具有部分应答的一位患者的结果。所述患者接受上面的组合疗法。在组合治疗之前 (在筛查时), 患者的肿瘤为  $22\text{mm}$ , 以及在上面的组合治疗的第 8 周后, 患者的肿瘤收缩至  $13.1\text{mm}$  (40% 减低或者 PR)。

[0420] 图 25 示出在在先治疗失败后与 FOLFOX 组合的 GDC-0068 具有部分应答的治疗结果, 其中患者患有 PTEN 缺失 (Hscore 40)、KRAS 野生型结肠直肠癌。

[0421] 这些应答证实, 与化疗剂例如多西他赛组合的式 I 化合物例如 GDC-0068 治疗患者的过增生性疾病, 并且可在在先治疗失败后治疗疾病。

[0422] 另外, 由于许多修饰和变化对于本领域技术人员而言将变得显而易见, 不希望将本发明限制至如上所述的精确结构和方法。因此, 所有适合的修饰物和等价物可被认为落在所附权利要求限定的本发明范围内。

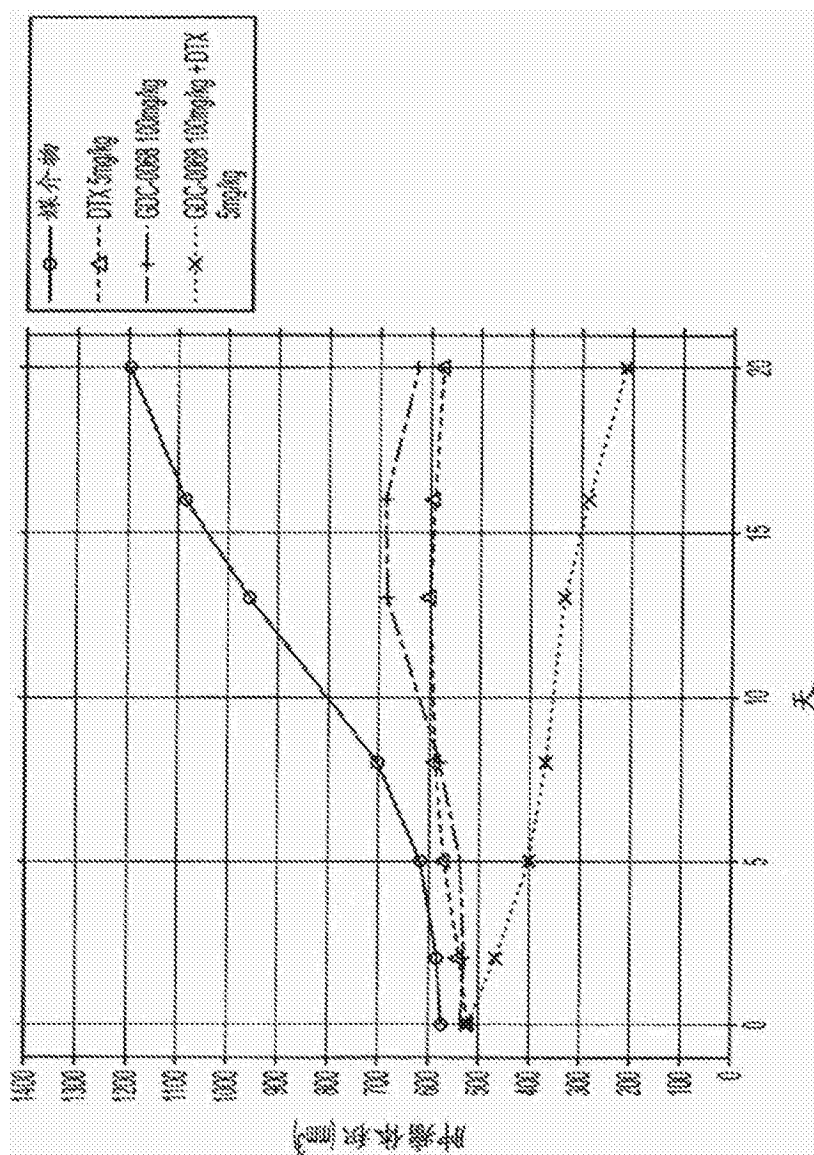


图1

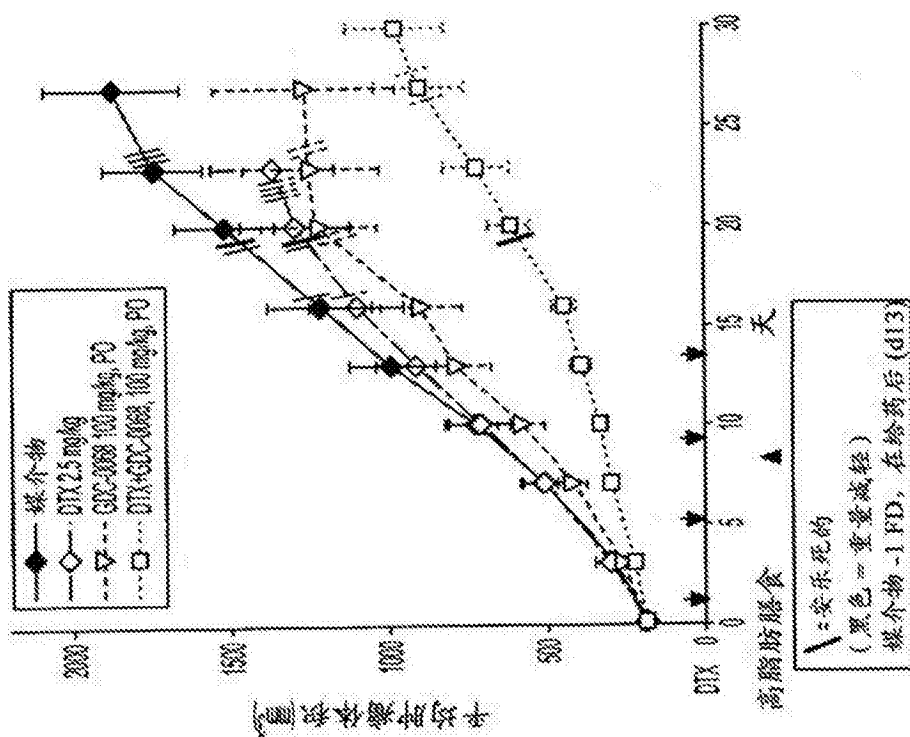


图2A

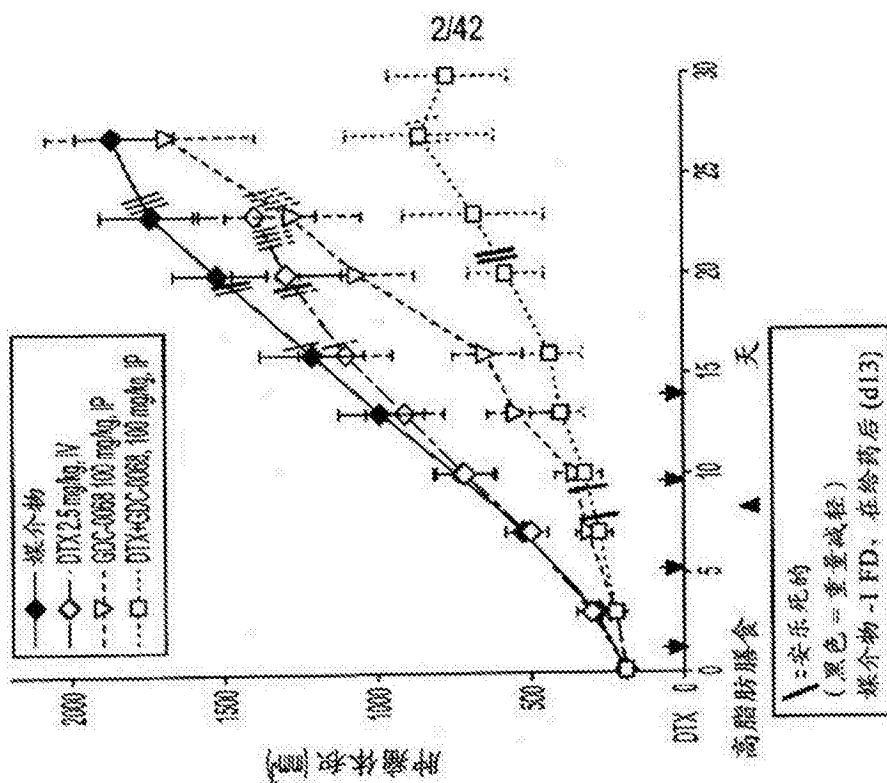


图2B

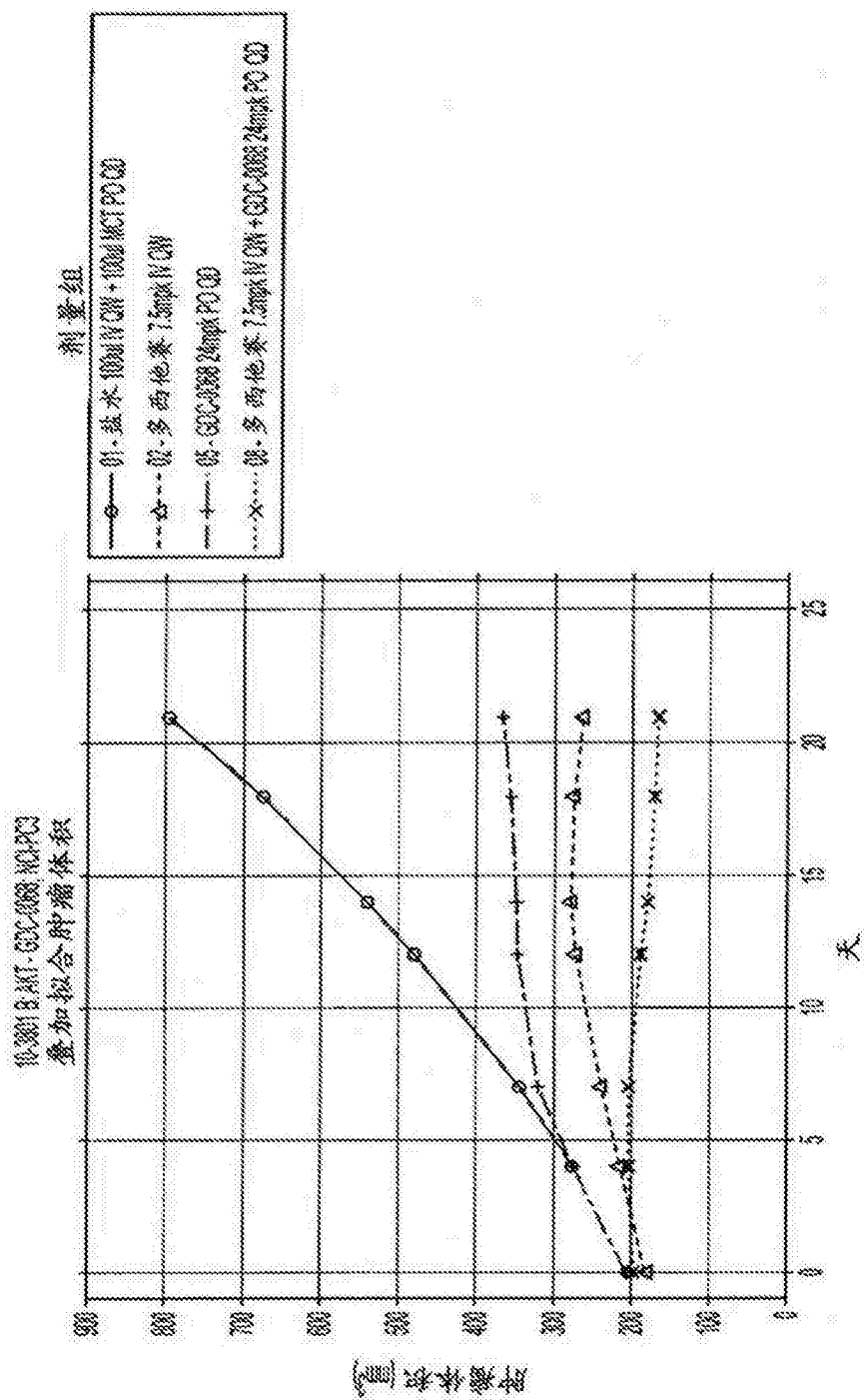


图3

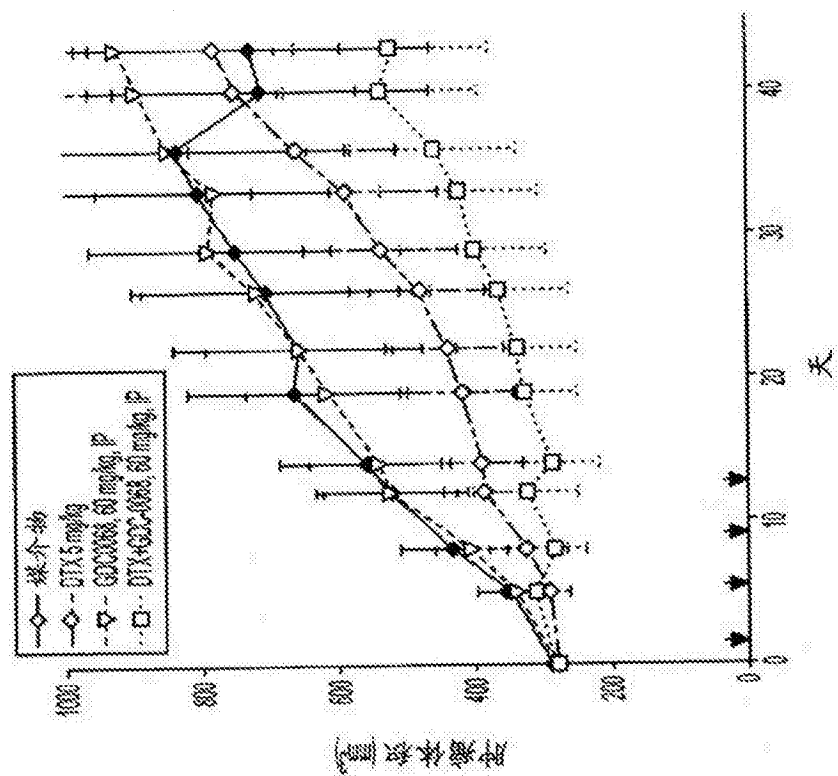


图4A

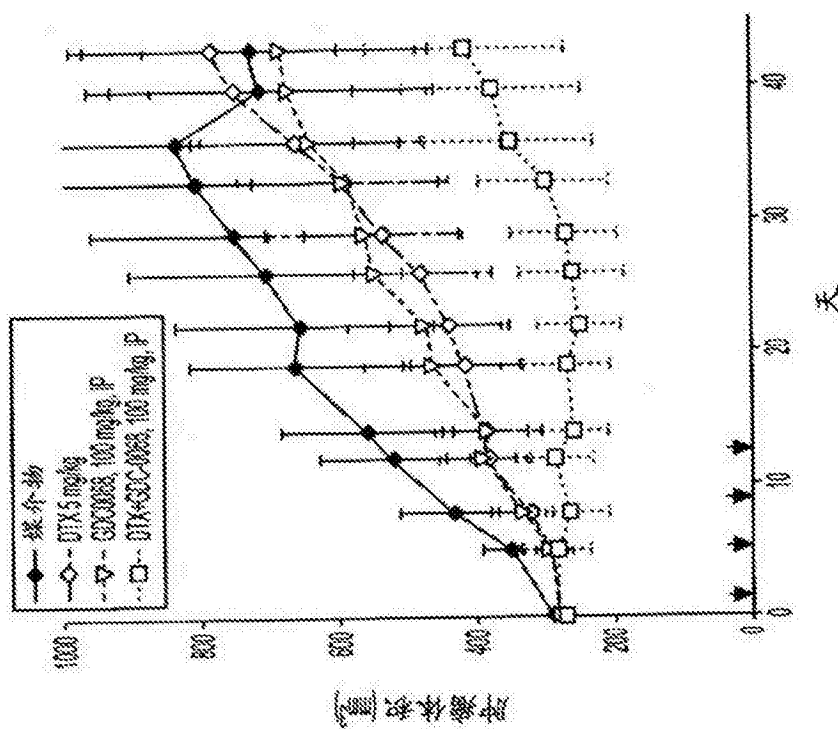


图4B

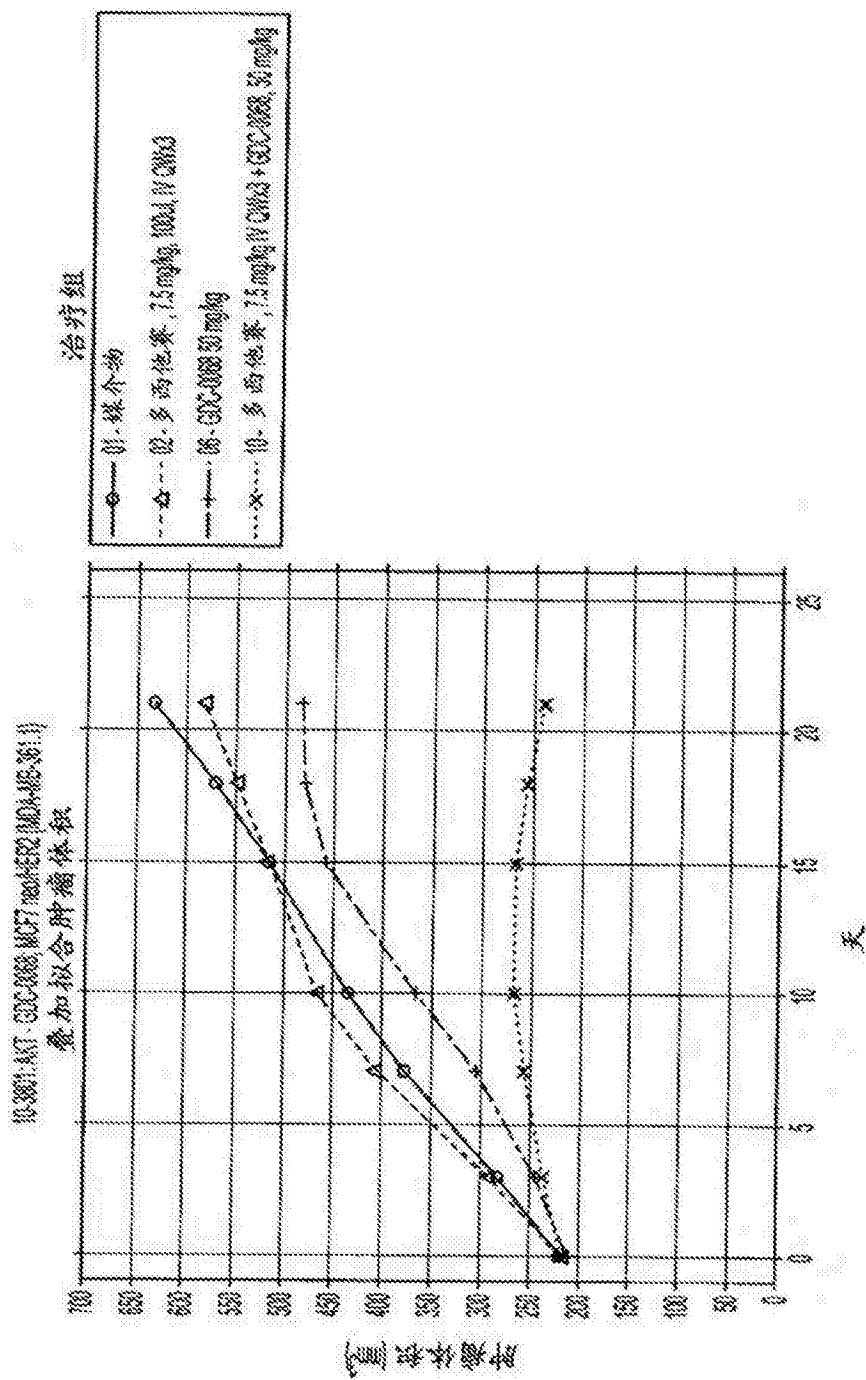


图5

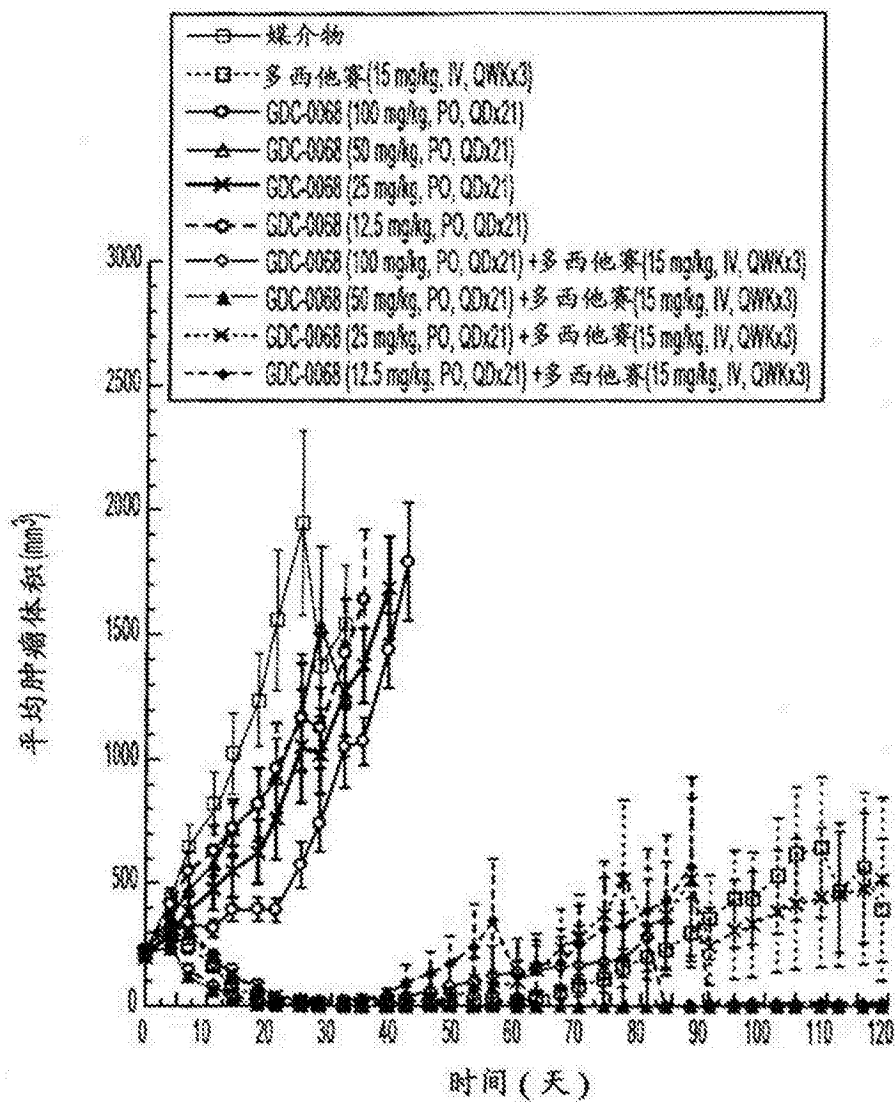


图6

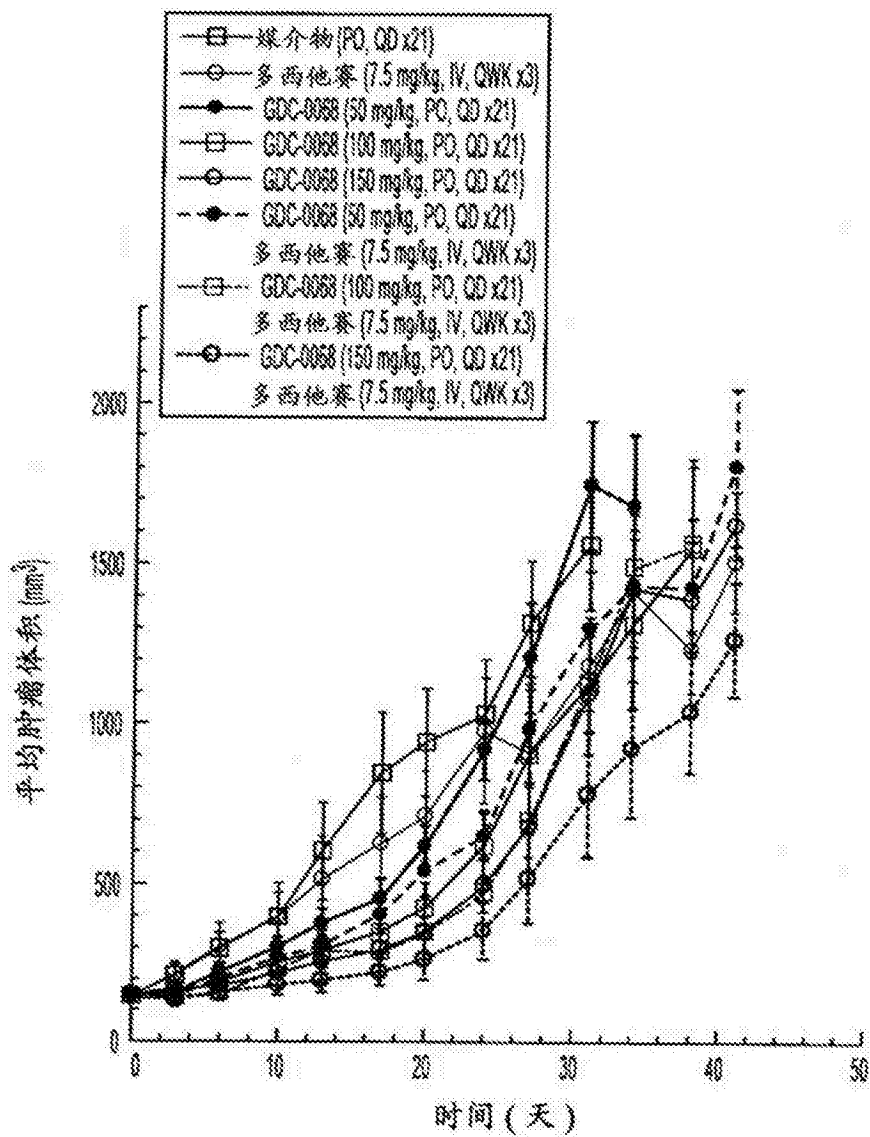


图7

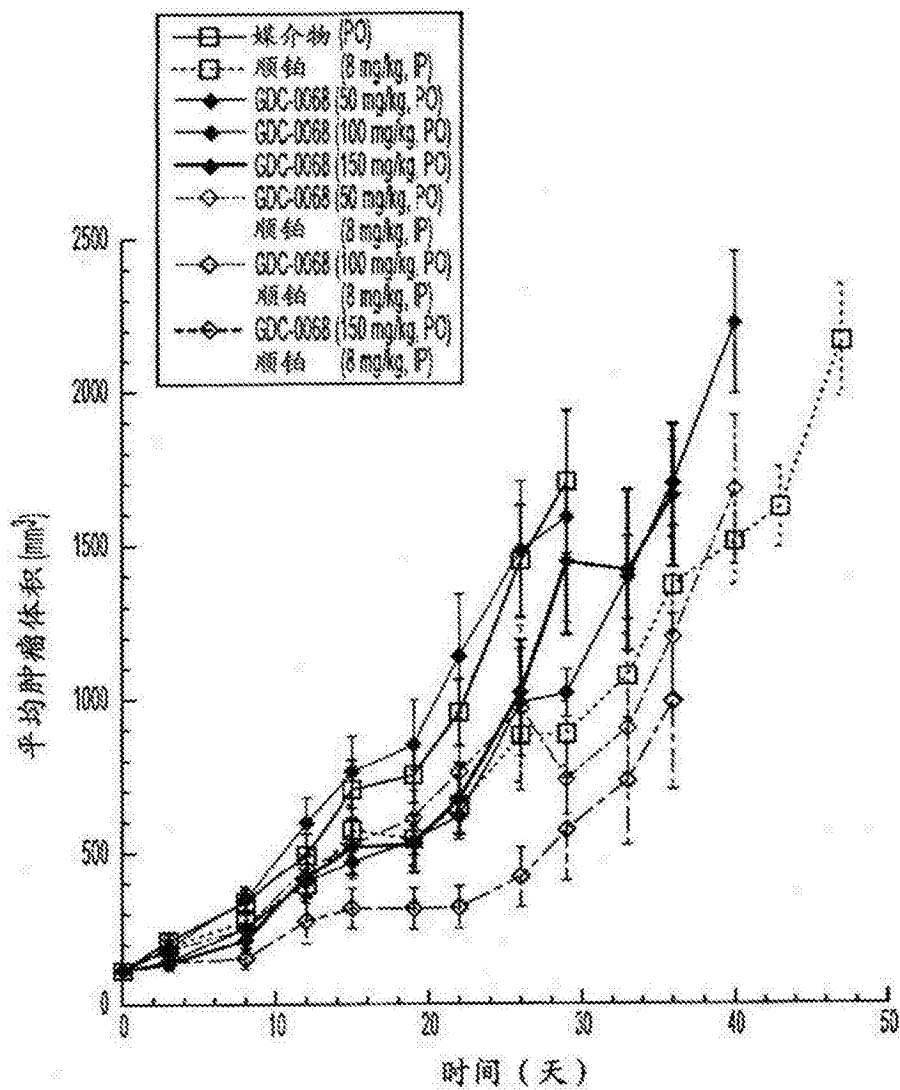


图8

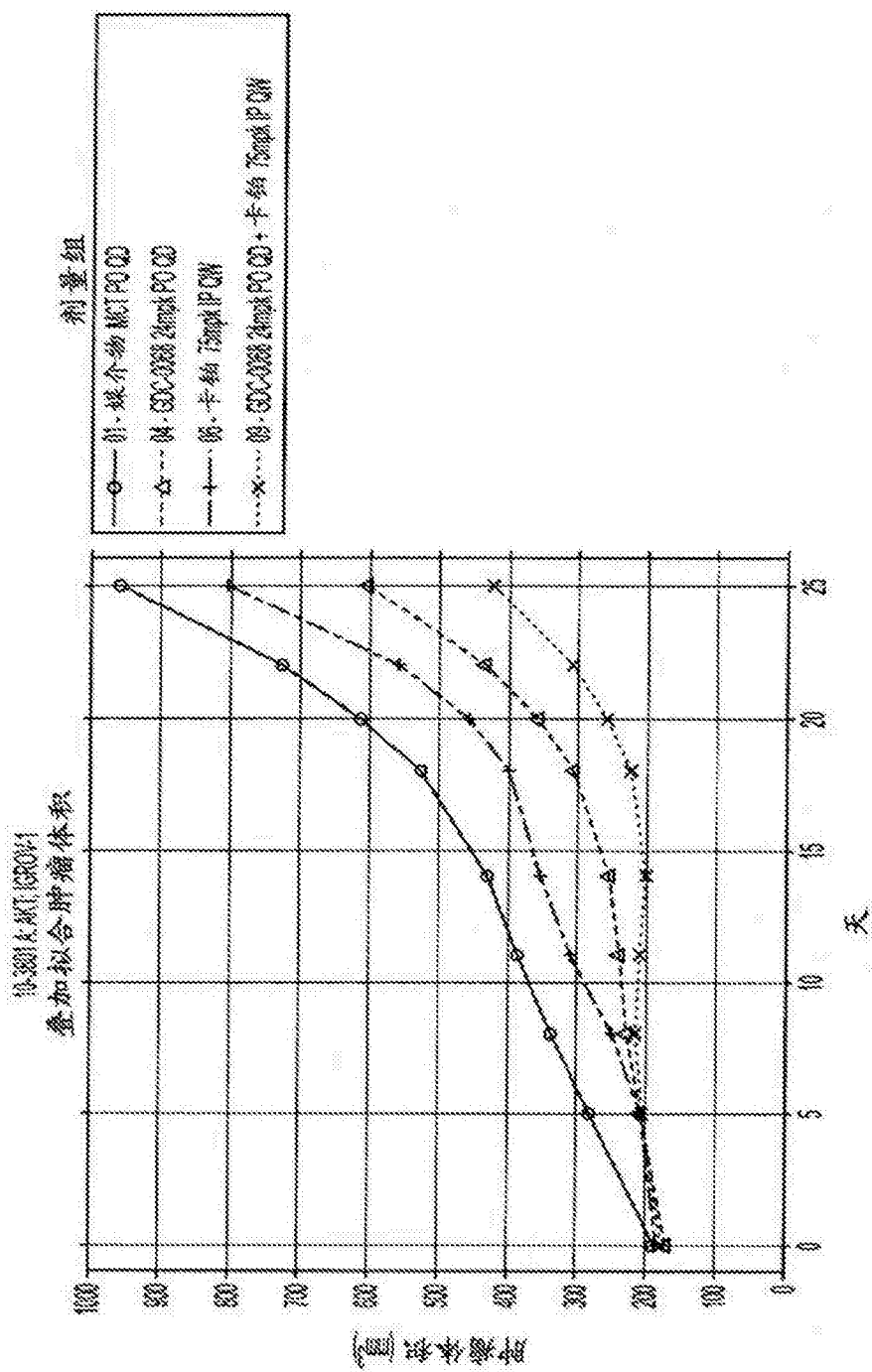


图9

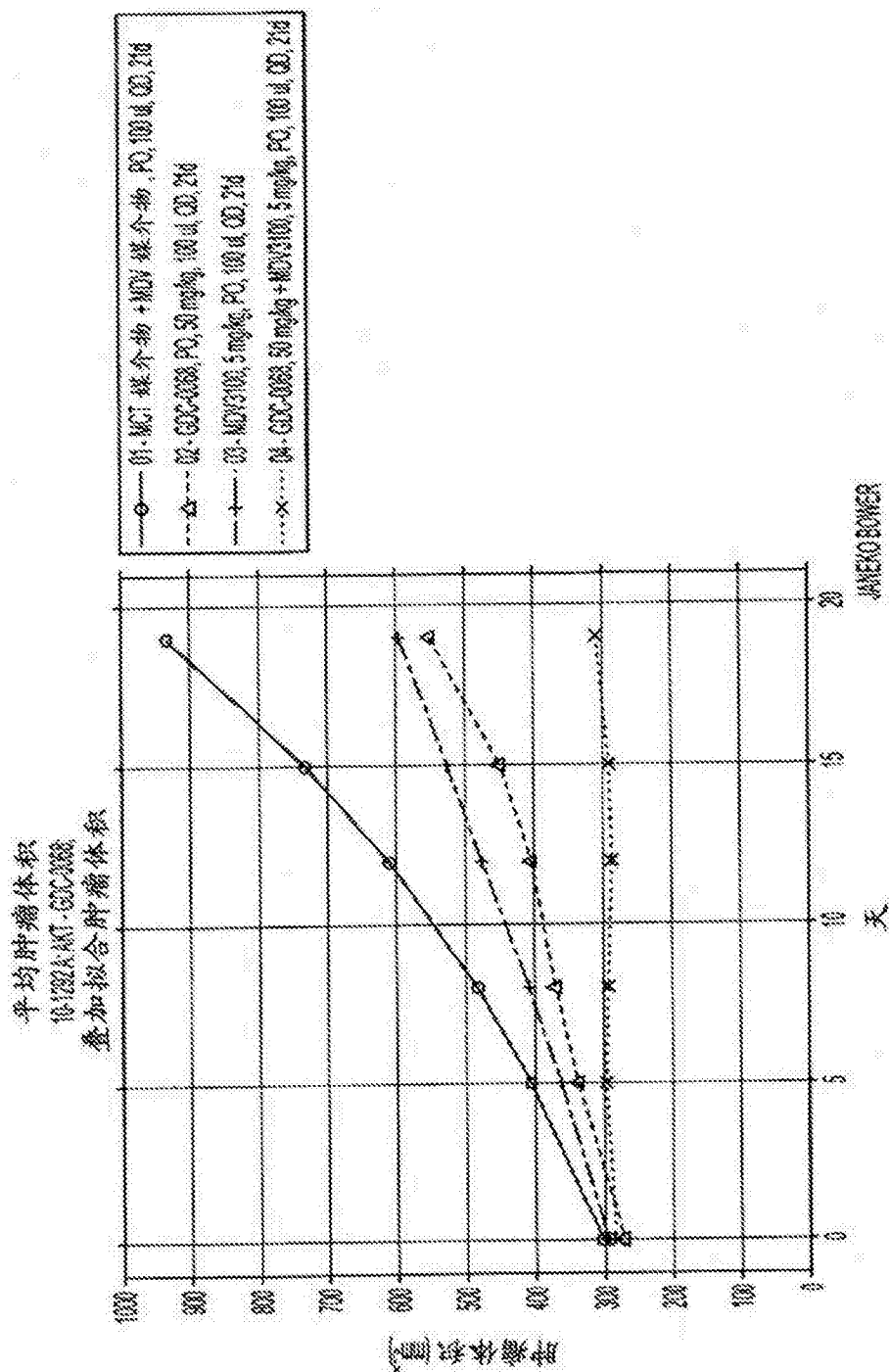


图10A

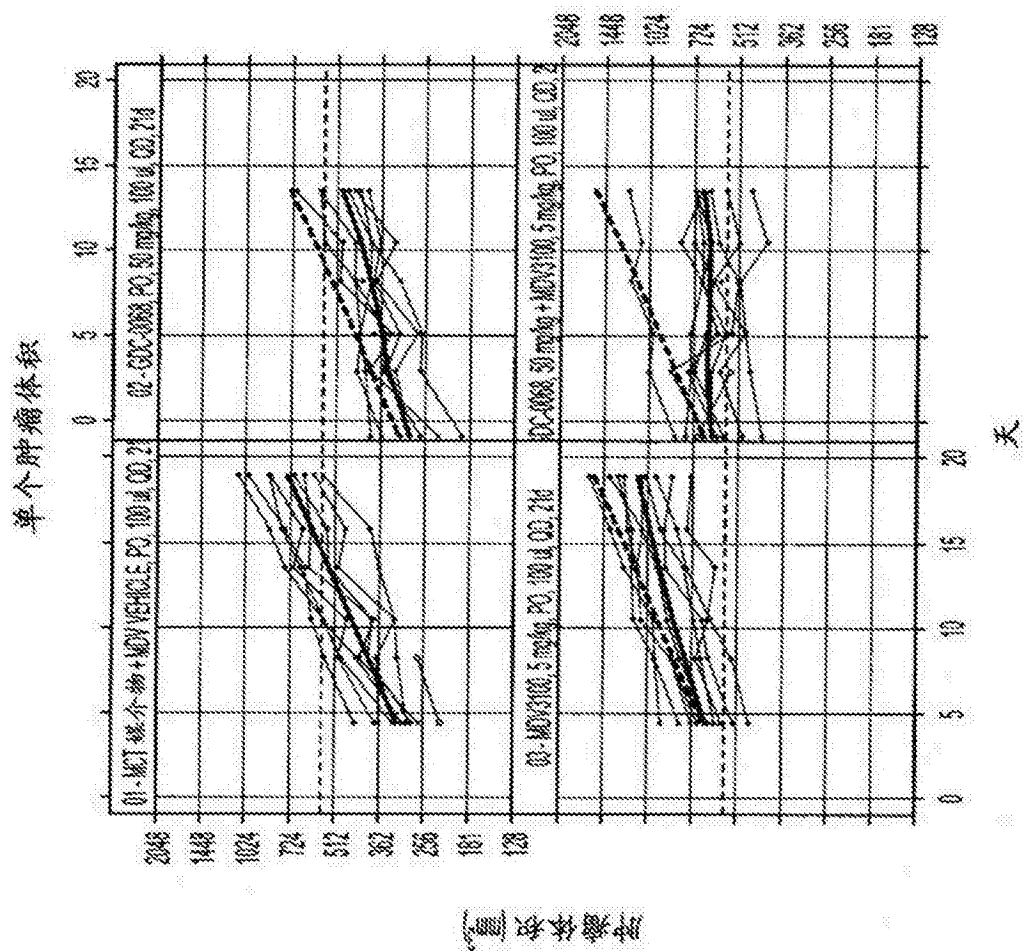


图10B

| 试验药物          | 途径    | 方案    | 剂量 (mg/kg) | 第0天<br>(周) | 最后一天 | 最后一天<br>(周) | 第18天<br>(体积) | %T0(下限<br>上限) | TP2A | PR | CR |
|---------------|-------|-------|------------|------------|------|-------------|--------------|---------------|------|----|----|
| MCT+M23100媒介物 | PO/PO | QD+QD | 0          | 9          | 21   | 8           | 935          | 0.0.0         | 11   | 0  | 0  |
| QDC-008       | PO    | QD    | 50         | 9          | 21   | 9           | 553          | 54.09.82      | NA   | 0  | 0  |
| M02100        | PO    | QD    | 5          | 9          | 21   | 9           | 536          | 43.0.72       | 17.5 | 0  | 0  |
| 实施例 2+M23100  | PO/PO | QD+QD | 50+5       | 9          | 21   | 8           | 339          | 55.03.115     | NA   | 0  | 0  |

图10C

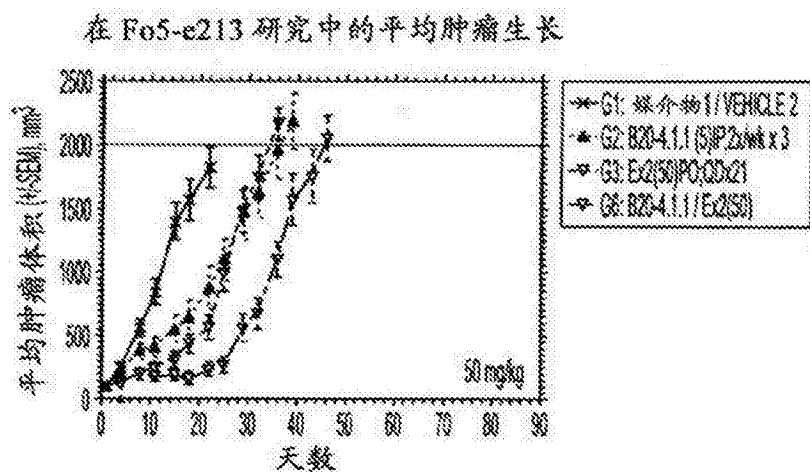


图11A

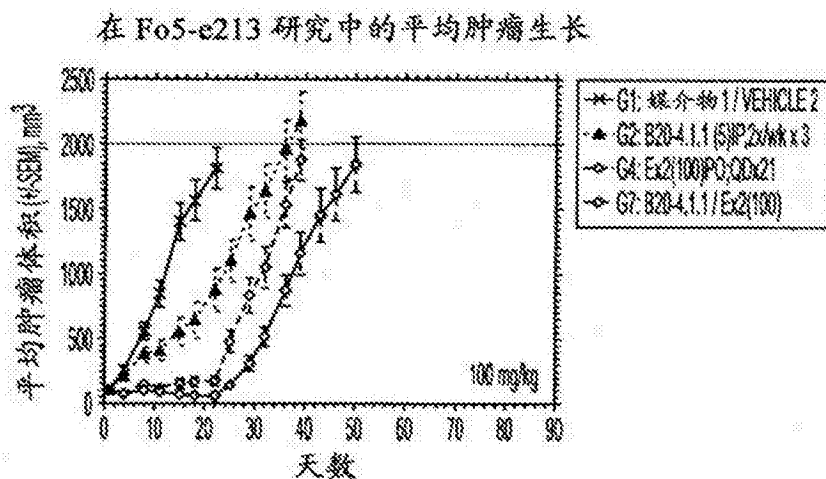


图11B

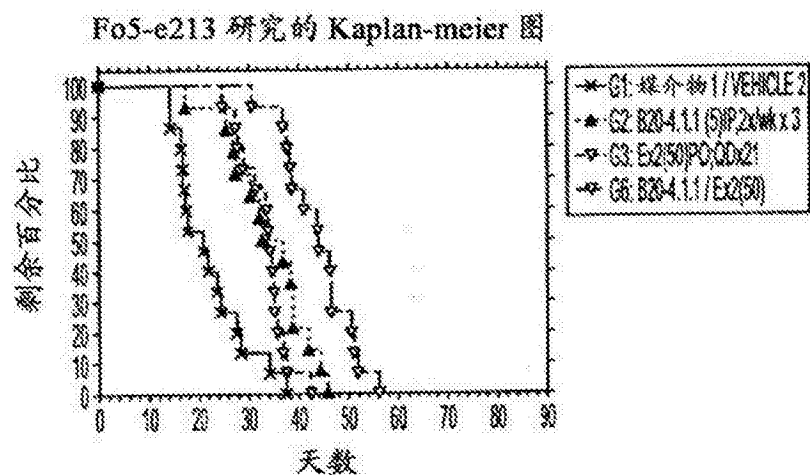


图11C

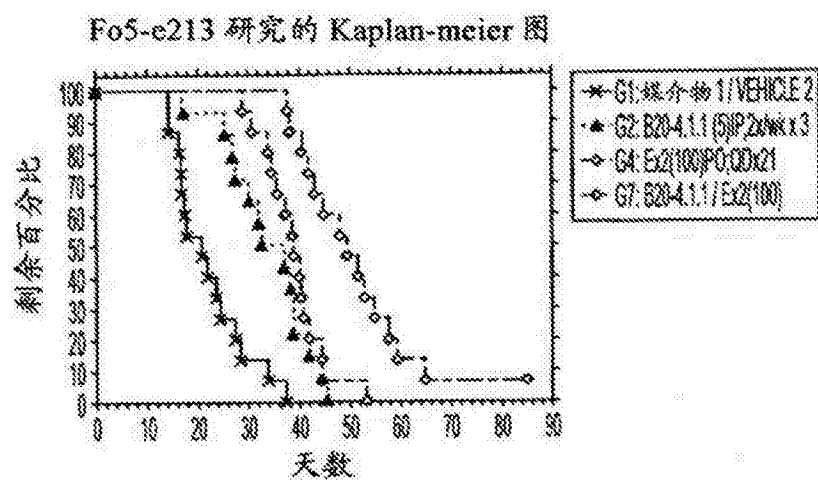


图11D

组合 CI 值总结

| 细胞系        | 肿瘤类型  | 基因突变                    | 化疗  | 化疗 EC50 | GDC-0008 EC50 | 协同? | GDC-0008 CI 值 |
|------------|-------|-------------------------|-----|---------|---------------|-----|---------------|
| BT20       | 乳腺癌   | PTEN NEG, KRAS          | 5FU | >40     | >25           | 否   | 0.03          |
| CAL51      | 乳腺癌   | PIK3CA, PTEN NEG        | 5FU | >40     | 0.29          | 是   | 0.06          |
| CAL51H1    | 乳腺癌   |                         | 5FU | 4       | 0.5           | YES | 0.05          |
| CAL10      | 乳腺癌   |                         | 5FU | >40     | >25           | YES | 0.01          |
| HCC1934    | 乳腺癌   | PIK3CA H1047R           | 5FU | >40     | 0.3           | NO  | 0.7           |
| MDA-MB-30  | 乳腺癌   | PIK3CA                  | 5FU | >40     | >25           | YES | 0.27          |
| MCF7       | 乳腺癌   | PIK3CA                  | 5FU | 7.1     | >25           | YES | 0.5           |
| MCF7PRC    | 乳腺癌   |                         | 5FU | 7.1     | >25           | YES | 0.34          |
| MDA-MB-468 | 乳腺癌   | PIK3CA G1209T, PTEN NEG | 5FU | 20      | >25           | NO  | 1.24          |
| ZR75.1     | 乳腺癌   | PTEN NEG                | 5FU | 20      | >25           | YES | 0.37          |
| U87PRC     | 神经胶质瘤 |                         | 5FU | 12      | >25           | YES | 0.3           |
| H2122      | 肺癌    | KRAS G12C               | 5FU | 0.35    | >25           | NO  | 0.05          |
| K562       | 白血病   |                         | 5FU | 0.5     | >25           | YES | 0.677         |
| K562       | 白血病   |                         | 5FU | 0.5     | >25           | YES | 0.677         |
| K562       | 白血病   | PIK3CA G1209T           | 5FU | 0.5     | 0.50          | YES | 0.50          |
| ZR75.1     | 乳腺癌   | PIK3CA G1209T, PTEN NEG | 5FU | 0.525   | >25           | NO  | 1.05          |
| PC3PRC     | 前列腺癌  | PTEN NEG, PIK3CA        | 5FU | >40     | 22            | NO  | 0.04          |
| MCF7PRC    | 乳腺癌   |                         | 卡铂  | >12.5   | >25           | YES | 0.49          |
| MDA-MB-30  | 乳腺癌   | PIK3CA                  | 卡铂  | >12.5   | >25           | YES | 0.19          |
| U87PRC     | 神经胶质瘤 |                         | 卡铂  | >12.5   | >25           | NO  | 0.72          |

至图 12B

图12A

从图 12A

|            |      |                                |        |      |      |   |      |
|------------|------|--------------------------------|--------|------|------|---|------|
| ASU(NEG)   | 肺癌   | PIK M772A N89H, KRAS G12S      | 卡铂     | >125 | >25  | 是 | 0.51 |
| ASU(POS)   | 肺癌   |                                | 卡铂     | >125 | >25  | 是 | 0.68 |
| H129(POS)  | 肺癌   |                                | 卡铂     | >125 | >25  | 否 | 0.77 |
| H122       | 肺癌   | KRAS G12C                      | 卡铂     | >125 | >25  | 否 | 0.87 |
| A375(POS)  | 黑色素瘤 | $\beta$ -RAF V600E IN ONE LINE | 卡铂     | >125 | >25  | 否 | 0.84 |
| ICR01      | 卵巢癌  | PIK G1069W                     | 卡铂     | >125 | 0.55 | 否 | 1.2  |
| SKOV3(POS) | 卵巢癌  |                                | 卡铂     | >125 | >25  | 否 | 1.09 |
| PC9(NEG)   | 前列腺癌 | PTEN NEG, PIK N89H             | 卡铂     | >125 | >25  | 是 | 0.69 |
| PC9(POS)   | 前列腺癌 |                                | 卡铂     | >125 | >25  | 否 | 0.95 |
| H462       | 结肠癌  | PTEN NEG                       | CPT-11 | >25  | >25  | 是 | 0.57 |
| H462       | 结肠癌  |                                | CPT-11 | >25  | >25  | 是 | 0.54 |
| B1549      | 乳腺癌  | PTEN NEG, KRAS                 | 多西他赛   | 0.02 | >25  | 是 | 0.47 |
| CUL51      | 乳腺癌  | PIK E545K, PTEN NEG            | 多西他赛   | 0.03 | 0.29 | 是 | 0.54 |
| CUL51X1.1  | 乳腺癌  |                                | 多西他赛   | 0.03 | 0.5  | 是 | 0.58 |
| CUL120     | 乳腺癌  |                                | 多西他赛   | 0.02 | >25  | 是 | 0.4  |
| HCC1954    | 乳腺癌  | PIK H1047R                     | 多西他赛   | 0.04 | 0.3  | 是 | 0.48 |
| HCC7       | 乳腺癌  | PIK E545K                      | 多西他赛   | 0.05 | >25  | 是 | 0.43 |
| MCF7(POS)  | 乳腺癌  |                                | 多西他赛   | 0.05 | >25  | 是 | 0.47 |
| MDA-MB-31  | 乳腺癌  | PIK E545K                      | 多西他赛   | 0.03 | >25  | 是 | 0.24 |
| MDA-MB-468 | 乳腺癌  | PIK C780G T435, PTEN NEG       | 多西他赛   | 0.05 | >25  | 否 | 0.78 |

至图 12C

图 12B

从图 12B

| ZR-751     | 乳腺癌   | PTEN-NEG                   | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.52     |
|------------|-------|----------------------------|------|------|------|----------|
| U87(GBM)   | 神经胶质瘤 |                            | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.17     |
| U87(GBM)   | 神经胶质瘤 |                            | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.2      |
| U87(GNE)   | 神经胶质瘤 | PIK139M, PTEN-NEG          | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.47     |
| U87(GNE)   | 神经胶质瘤 | PIK139M, PTEN-NEG          | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.35     |
| U87(PRC)   | 神经胶质瘤 |                            | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.32     |
| U87(PRC)   | 神经胶质瘤 |                            | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.42     |
| U87(PRC)   | 神经胶质瘤 |                            | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.25     |
| A549(GNE)  | 肺癌    | PIK1772X, NR65H, KRAS G12S | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.59     |
| A549(PRC)  | 肺癌    |                            | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.39     |
| H1299(PRC) | 肺癌    |                            | 多西他赛 | >25  | 否    | 0.72     |
| H2122      | 肺癌    | - KRAS G12C                | 多西他赛 | >25  | 否/是? | 0.710.54 |
| A375(PRC)  | 黑色素瘤  |                            | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.64     |
| IGROV1     | 卵巢癌   | PIK10128W                  | 多西他赛 | 0.59 | 是    | 0.54     |
| SKOV3(PRC) | 卵巢癌   |                            | 多西他赛 | >25  | 否    | 0.79     |
| ZR751      | 前列腺癌  | PIK10546R, BRAF L597R      | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.64     |
| PC1(PRC)   | 前列腺癌  | PTEN-NEG, PIK1056H         | 多西他赛 | 1.09 | 是    | 0.440.59 |
| PC3(PRC)   | 前列腺癌  |                            | 多西他赛 | >25  | 是    | 0.55     |
| MCF7(PRC)  | 乳腺癌   |                            | 多柔比星 | >25  | 是    | 0.35     |
| U87(PRC)   | 神经胶质瘤 |                            | 多柔比星 | >25  | 否    | 0.92     |

至图 12D

图12C

从图 12C

|            |      |                          |      |        |      |   |      |
|------------|------|--------------------------|------|--------|------|---|------|
| A44(CNE)   | 肺癌   | PDX M77X N286H KRAS G12S | 多聚比星 | 0.2    | >25  | 是 | 0.48 |
| A48(PRC)   | 肺癌   |                          | 多聚比星 | 0.2    | >25  | 是 | 0.67 |
| H128(PRC)  | 肺癌   |                          | 多聚比星 | 0.2    | >25  | 否 | 0.1  |
| H212       | 肺癌   | KRAS G12C                | 多聚比星 | 0.01   | >25  | 否 | 0.3  |
| A378(PRC)  | 黑色素瘤 |                          | 多聚比星 | 0.03   | >25  | 否 | 0.72 |
| EP021      | 卵巢癌  | PTEN NEG BRCA H57H       | 多聚比星 | 0.12   | 0.1  | 否 | 0.31 |
| SKOV3      | 卵巢癌  | PDX H104R                | 多聚比星 | 0.3    | >25  | 是 | 0.67 |
| SKOV3(PRC) | 卵巢癌  |                          | 多聚比星 | 0.07   | >25  | 否 | 0.87 |
| PC9(SNE)   | 前列腺癌 | PTEN NEG PDX N286H       | 多聚比星 | 0.4    | >25  | 否 | 0.74 |
| PC9(PRC)   | 前列腺癌 |                          | 多聚比星 | 0.4    | >25  | 是 | 0.38 |
| BT549      | 乳腺癌  | PTEN NEG KRAS            | 吉西他滨 | 0.02   | >25  | 否 | 0.73 |
| CAL-51     | 乳腺癌  | PDX E54X PTEN NEG        | 吉西他滨 | 0.0024 | 0.23 | 否 | 0.87 |
| CAL-51.1   | 乳腺癌  |                          | 吉西他滨 | 0.0025 | 0.1  | 是 | 0.47 |
| CAL122     | 乳腺癌  |                          | 吉西他滨 | 0.7    | >25  | 是 | 0.12 |
| HCC1934    | 乳腺癌  | PDX H104R                | 吉西他滨 | 0.005  | 0.9  | 是 | 0.61 |
| MCF7       | 乳腺癌  | PDX E54X                 | 吉西他滨 | 0.005  | >25  | 是 | 0.42 |
| MCF7(PRC)  | 乳腺癌  |                          | 吉西他滨 | 0.0025 | >25  | 是 | 0.44 |
| MDA-MB-31  | 乳腺癌  | PDX E54X                 | 吉西他滨 | 0.02   | >25  | 是 | 0.19 |
| MDA-MB-468 | 乳腺癌  | PDX C786G T435L PTEN NEG | 吉西他滨 | 0.0025 | >25  | 否 | 1.14 |

至图 12E

图12D

从图 12D

|           |                     |                           |         |        |      |   |      |
|-----------|---------------------|---------------------------|---------|--------|------|---|------|
| ZR75-1    | 乳腺癌                 | PTEN NEG                  | 吉西他滨    | 0.01   | >25  | 是 | 0.42 |
| U87PRC    | 神经胶质瘤               |                           | 吉西他滨    | 0.0025 | >25  | 是 | 0.3  |
| A549(CNE) | 肺癌                  | PI3K M72X N88H, KRAS G12S | 吉西他滨    | 0.01   | >25  | 是 | 0.38 |
| A549(PRC) | 肺癌                  |                           | 吉西他滨    | 0.01   | >25  | 是 | 0.35 |
| H2122     | 肺癌                  | KRAS G12C                 | 吉西他滨    | 0.0027 | >25  | 否 | 0.7  |
| KP1       | 小鼠系<br>(Mouse line) |                           | 吉西他滨    | 0.017  | >25  | 否 | 1.04 |
| K562V1    | 卵巢癌                 | PI3K C1089H               | 吉西他滨    | 0.0088 | 0.58 | 否 | 0.92 |
| SKOV3     | 卵巢癌                 | PI3K H1047R               | 吉西他滨    | 0.05   | >25  | 否 | 0.97 |
| ZR71      | 前列腺癌                | PI3K C548R, B-RAF L587R   | 吉西他滨    | 0.005  | >25  | 是 | 0.54 |
| PC3(CNE)  | 前列腺癌                | PTEN NEG, PI3K N88H       | 吉西他滨    | 0.125  | >25  | 是 | 0.67 |
| PC3(PRC)  | 前列腺癌                |                           | 吉西他滨    | 0.025  | >25  | 是 | 0.34 |
| COL0205   | 结肠癌                 | B-RAF V600E               | SN38    | 0.012  | >25  | 是 | 0.55 |
| HCT116    | 结肠癌                 | PI3K H1047R               | SN38    | 0.024  | >25  | 是 | 0.48 |
| H129      | 结肠癌                 | B-RAF V600E               | SN38    | 0.04   | >25  | 否 | 0.33 |
| G40       | 神经胶质瘤               | PTEN NEG                  | TEMODAR | >10    | >25  | 否 | 0.73 |
| G81       | 神经胶质瘤               |                           | TEMODAR | >10    | >25  | 是 | 0.55 |
| U87(CNE)  | 神经胶质瘤               | PI3K D39M, PTEN NEG       | TEMODAR | >10    | >25  | 是 | 0.31 |
| LOX       | 黑色素瘤                | B-RAF V600E               | TEMODAR | >10    | >25  | 否 | 0.33 |

图12E

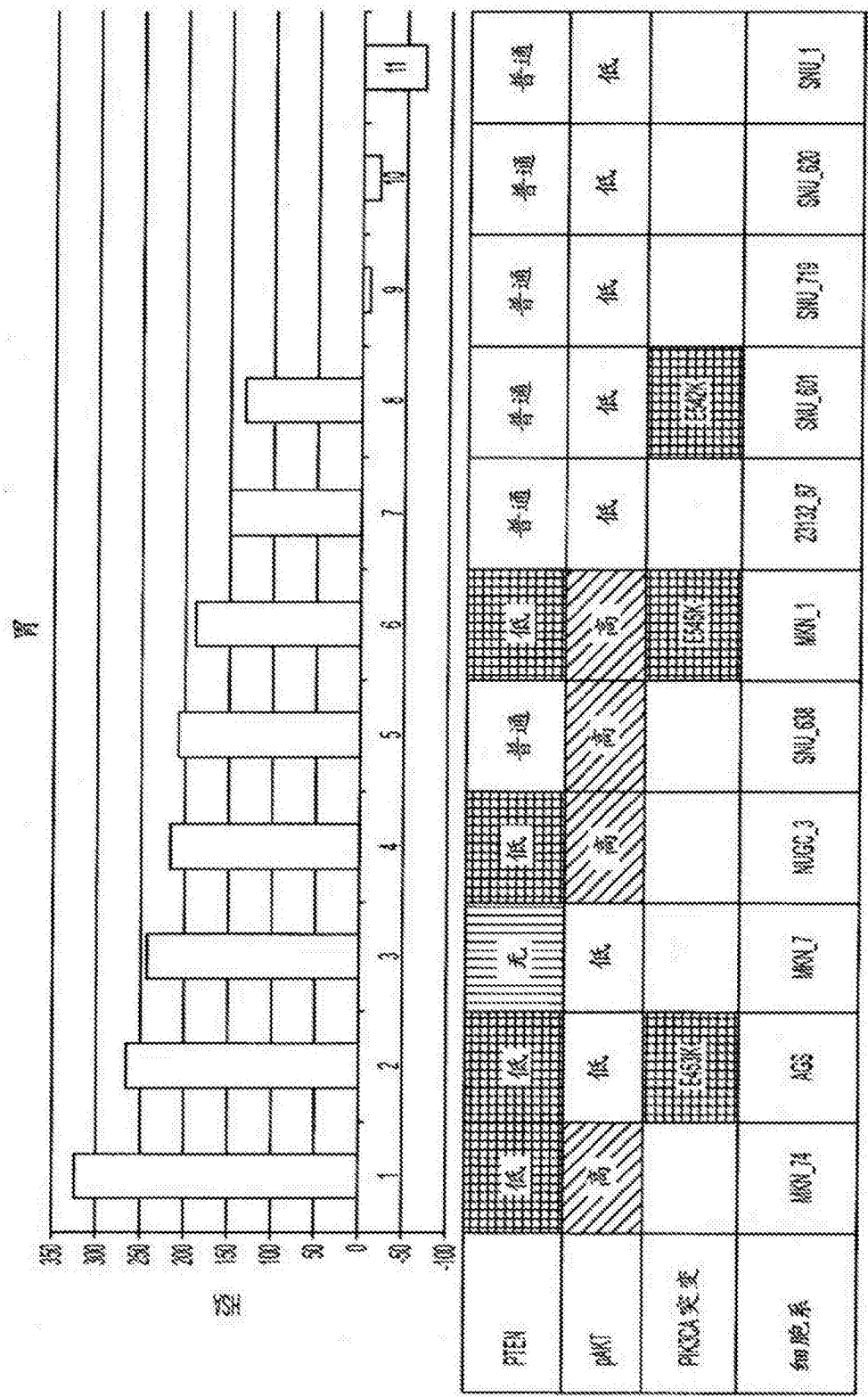


图13A

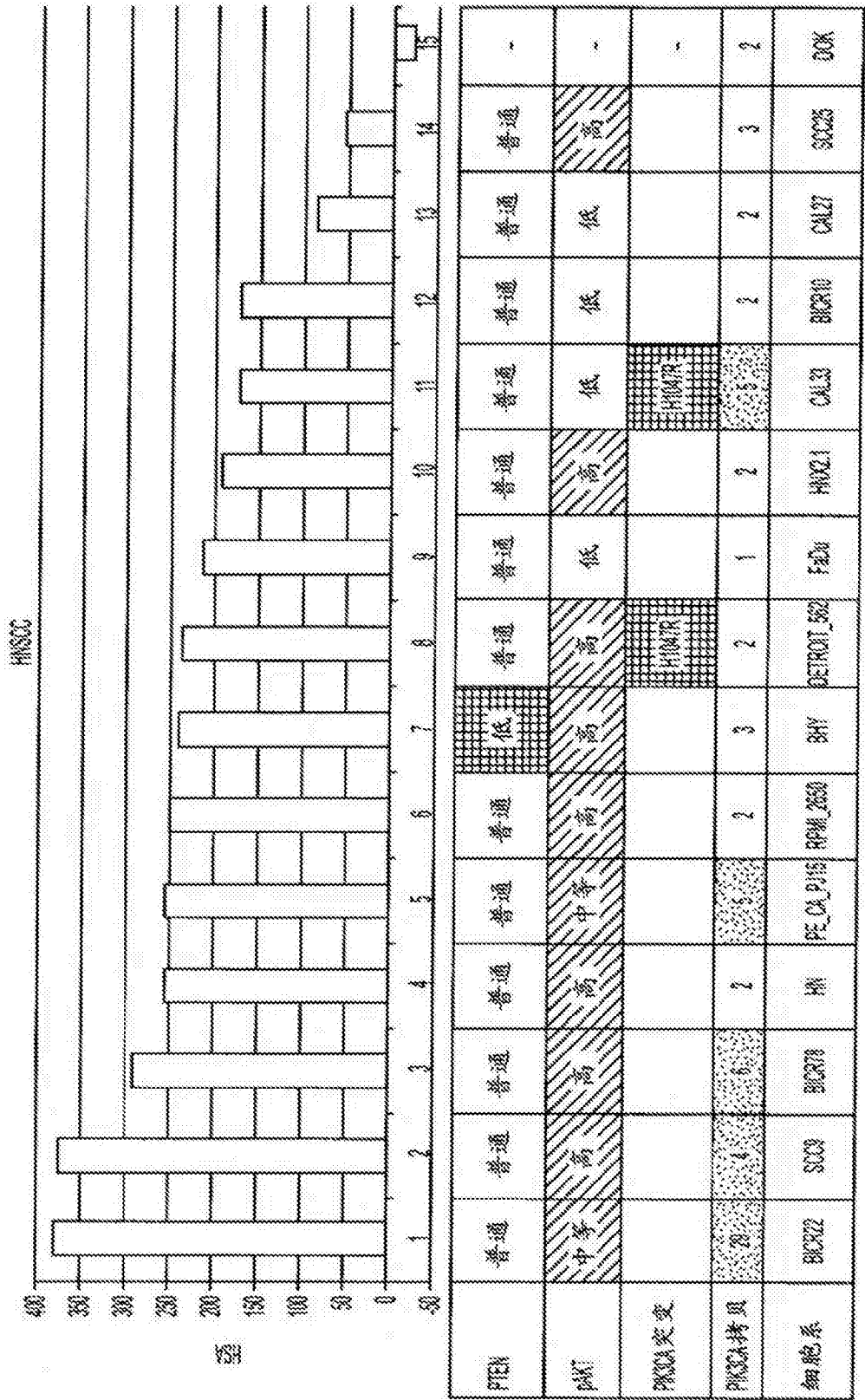


图13B

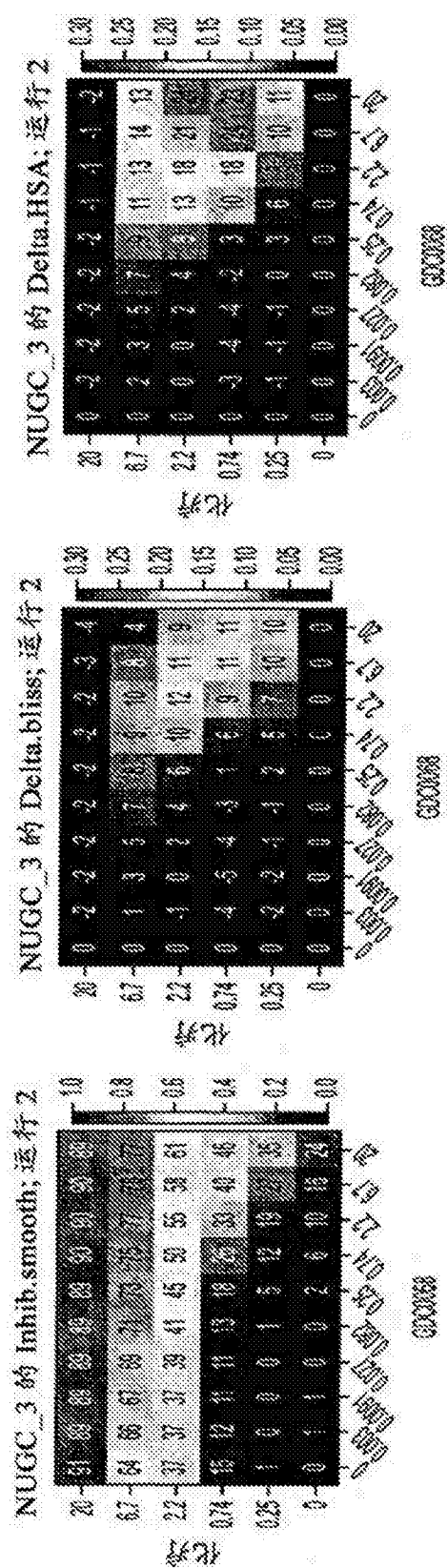


图14

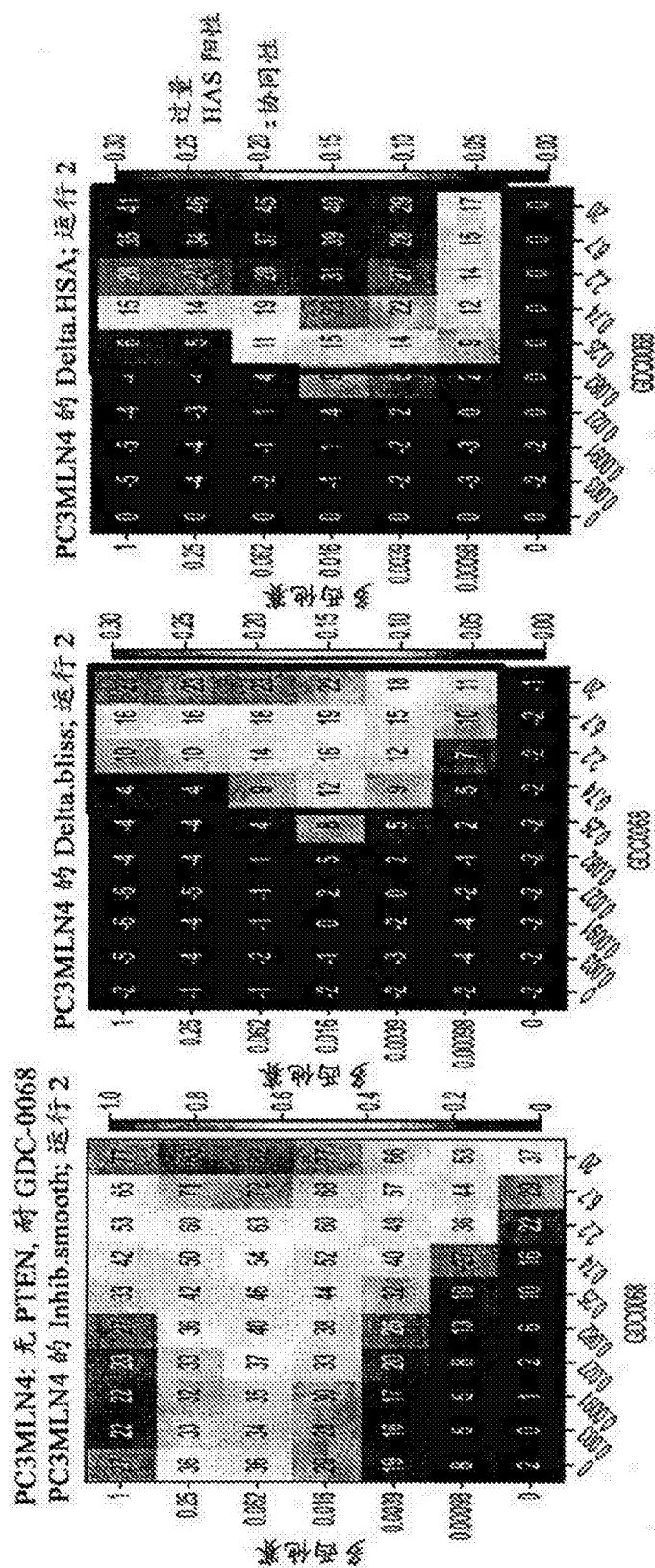


图 15A

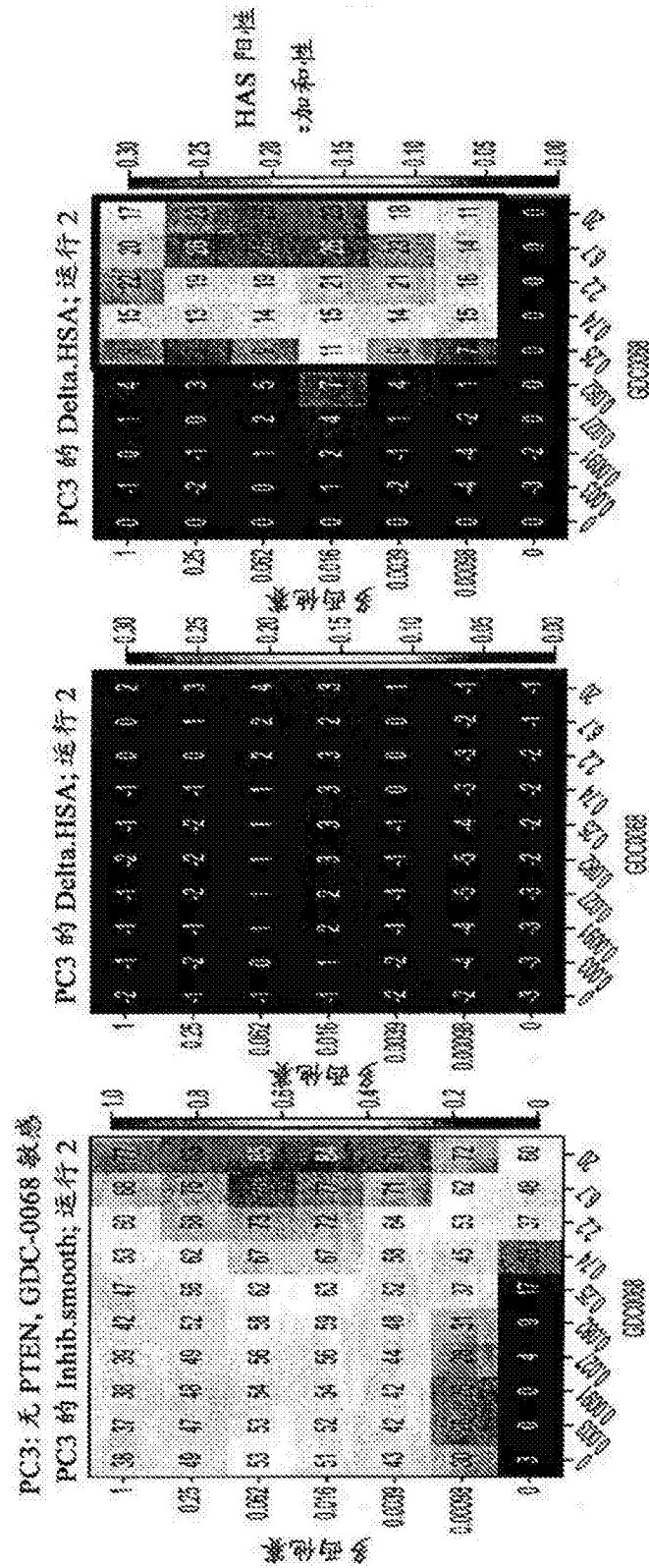


图15B

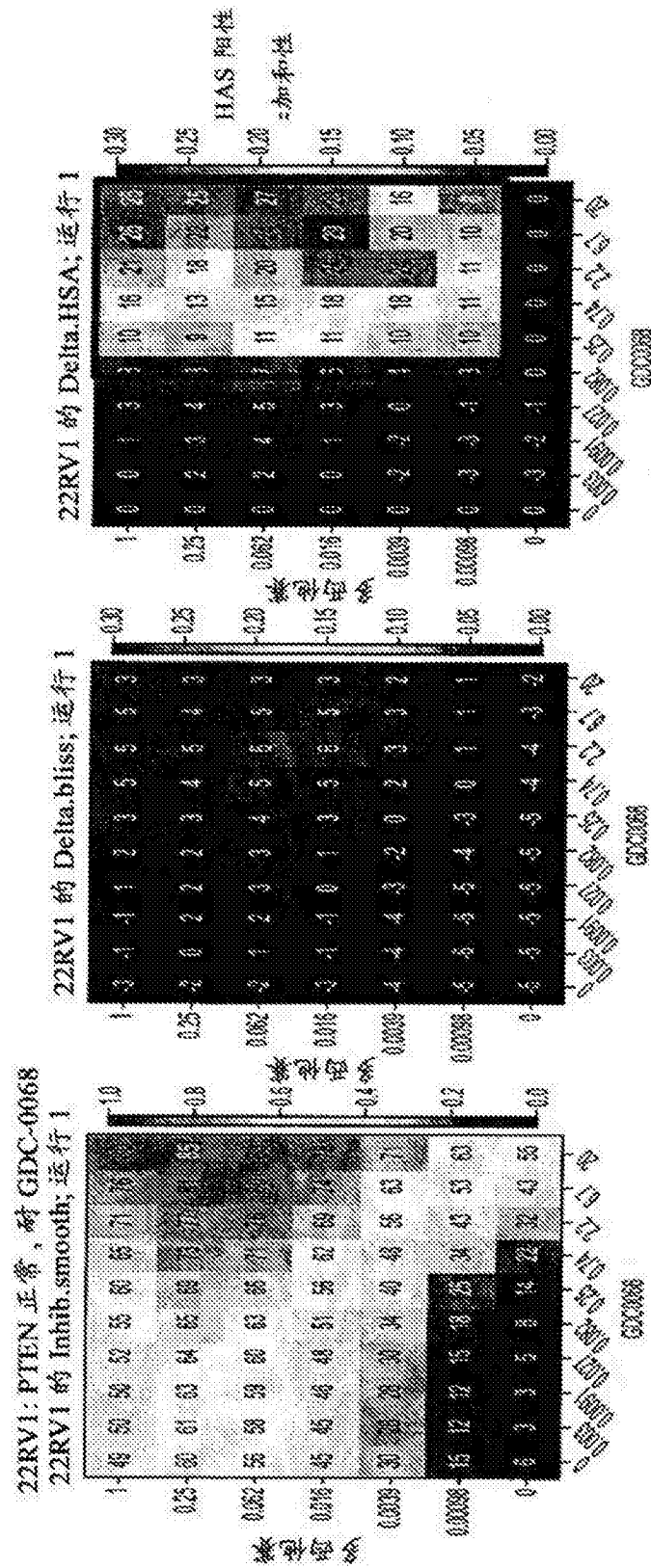


图16A

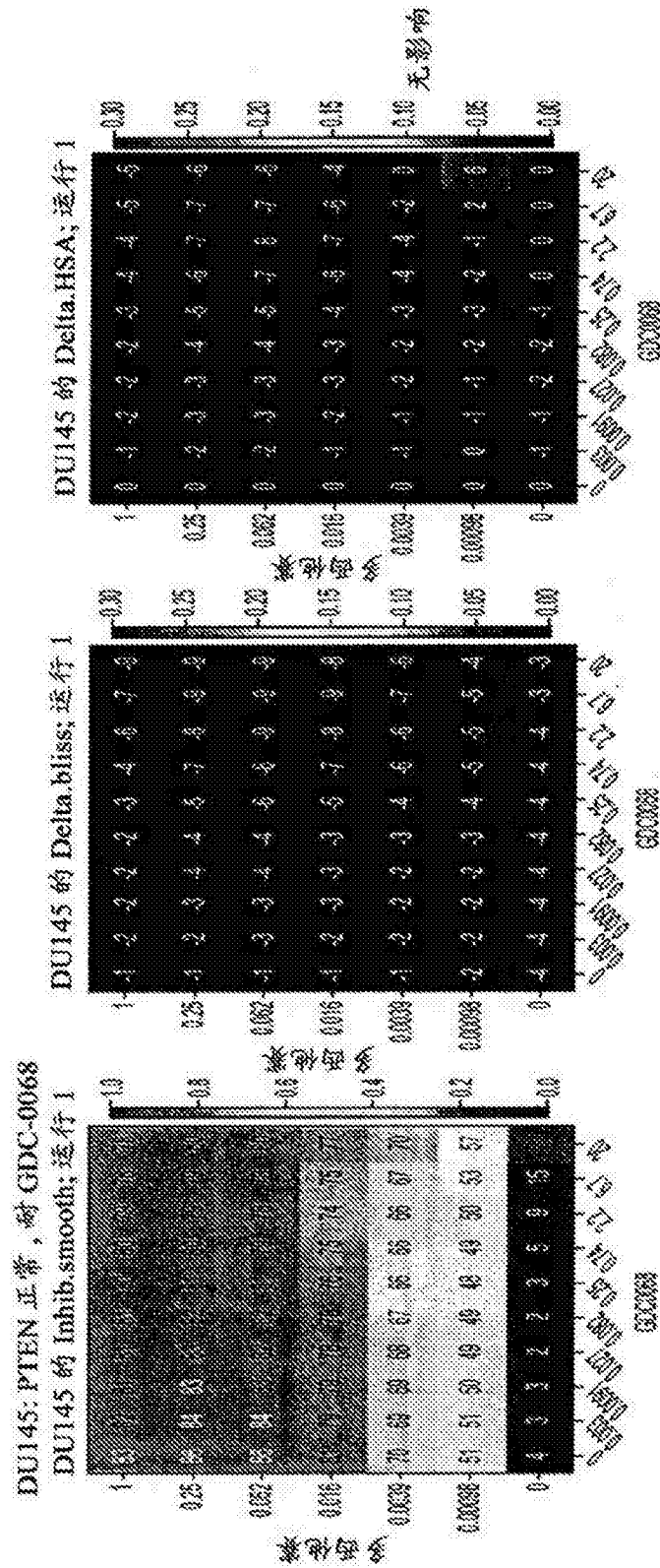


图16B

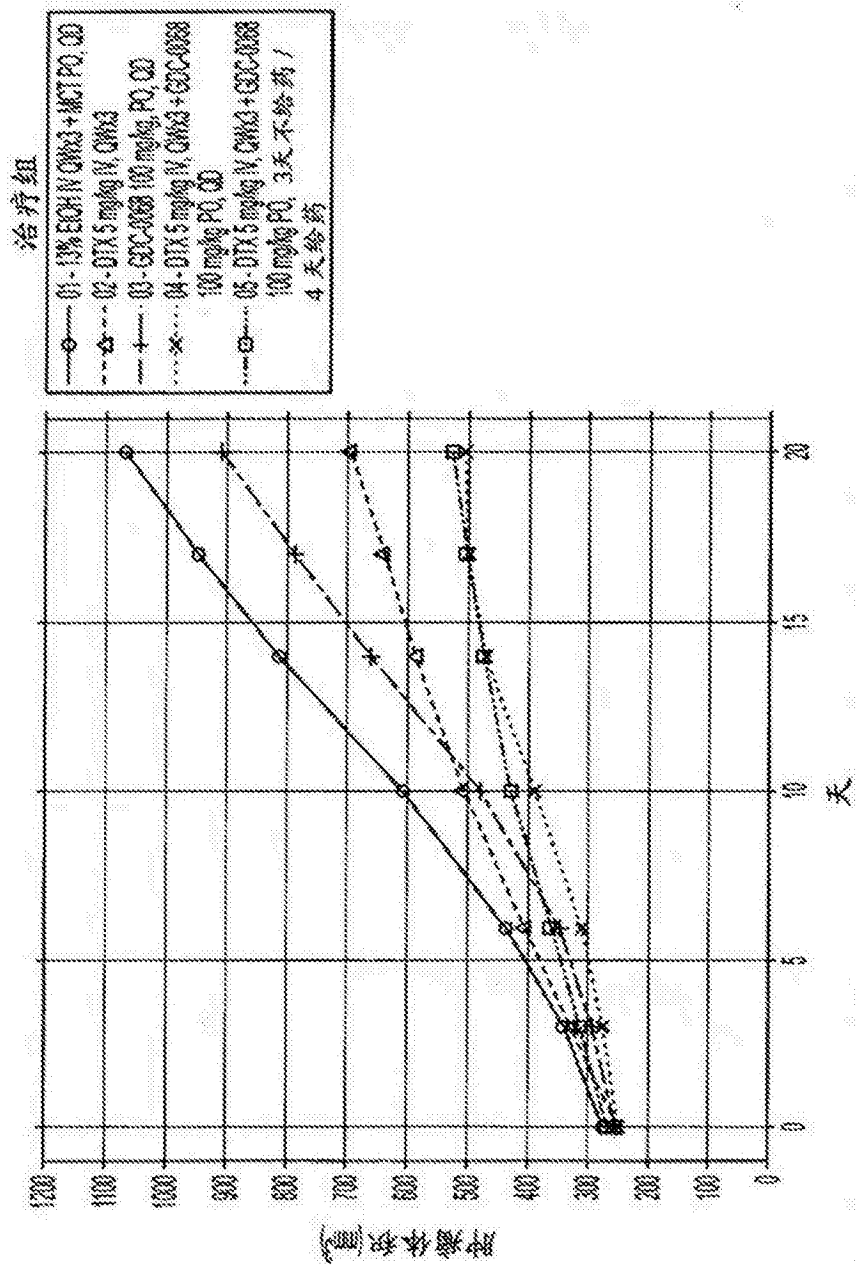


图17A

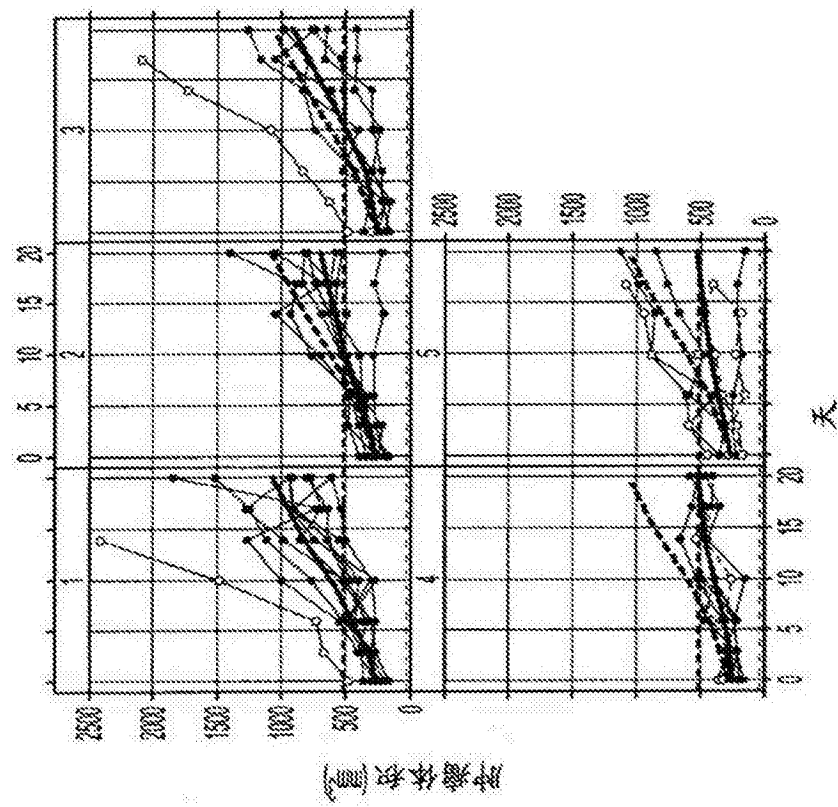


图17B

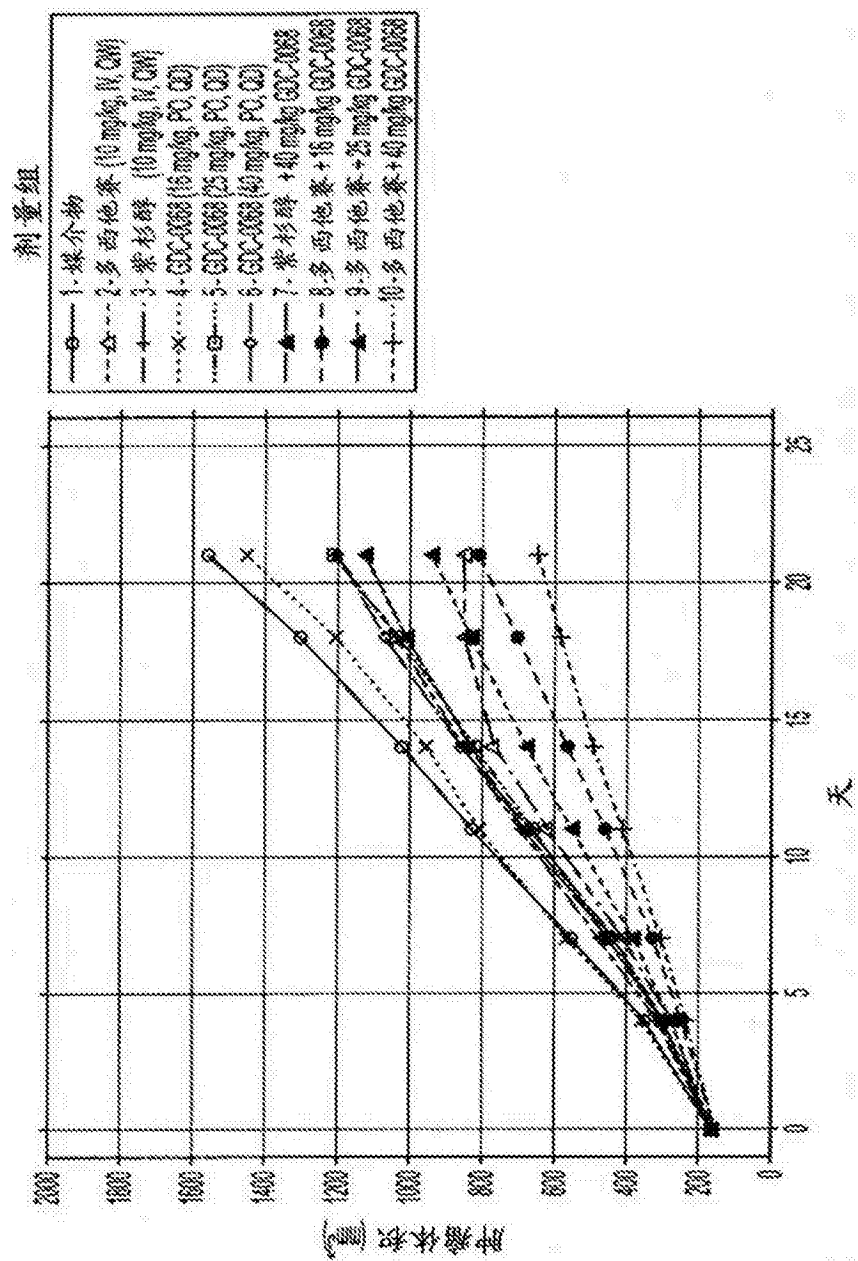


图18A

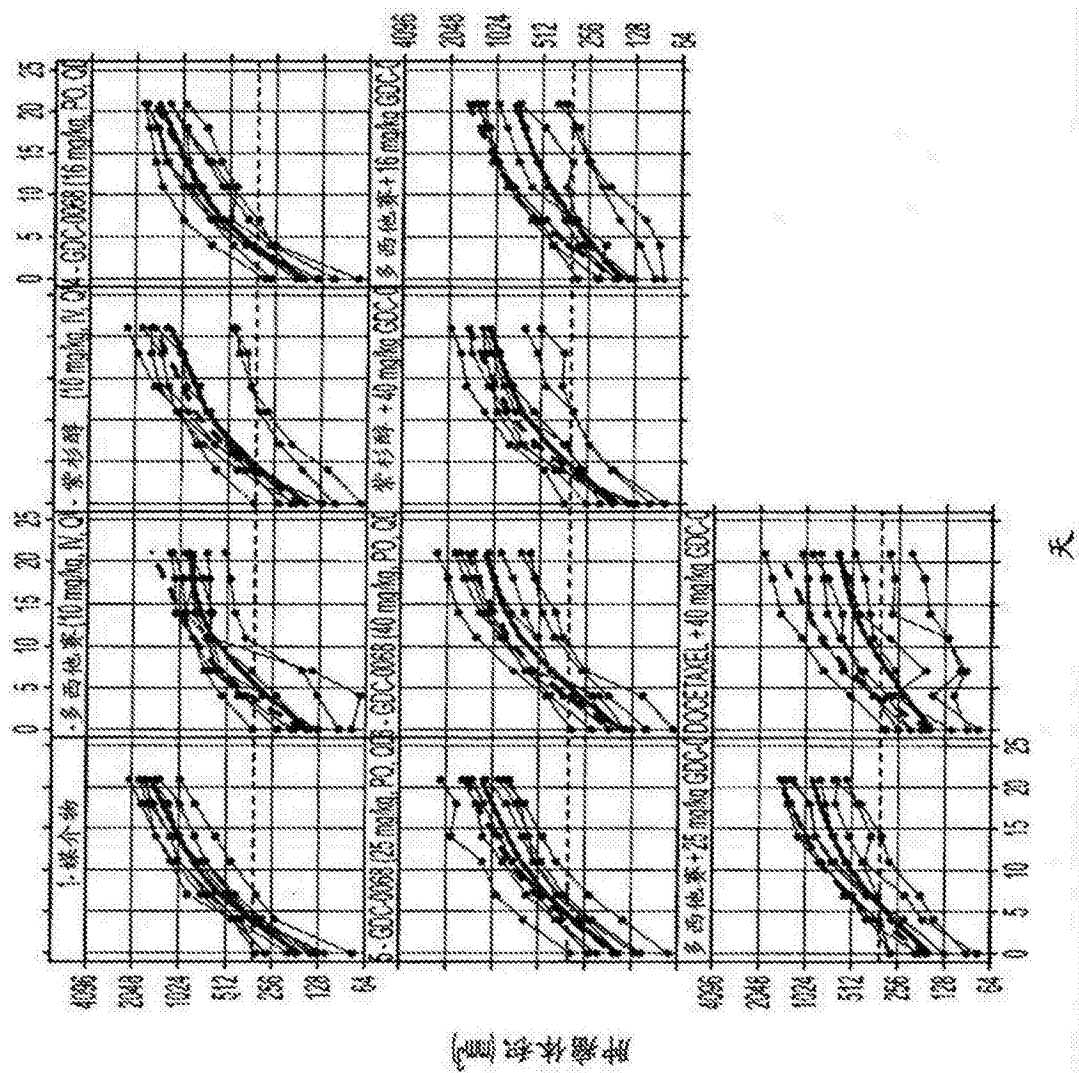


图18B

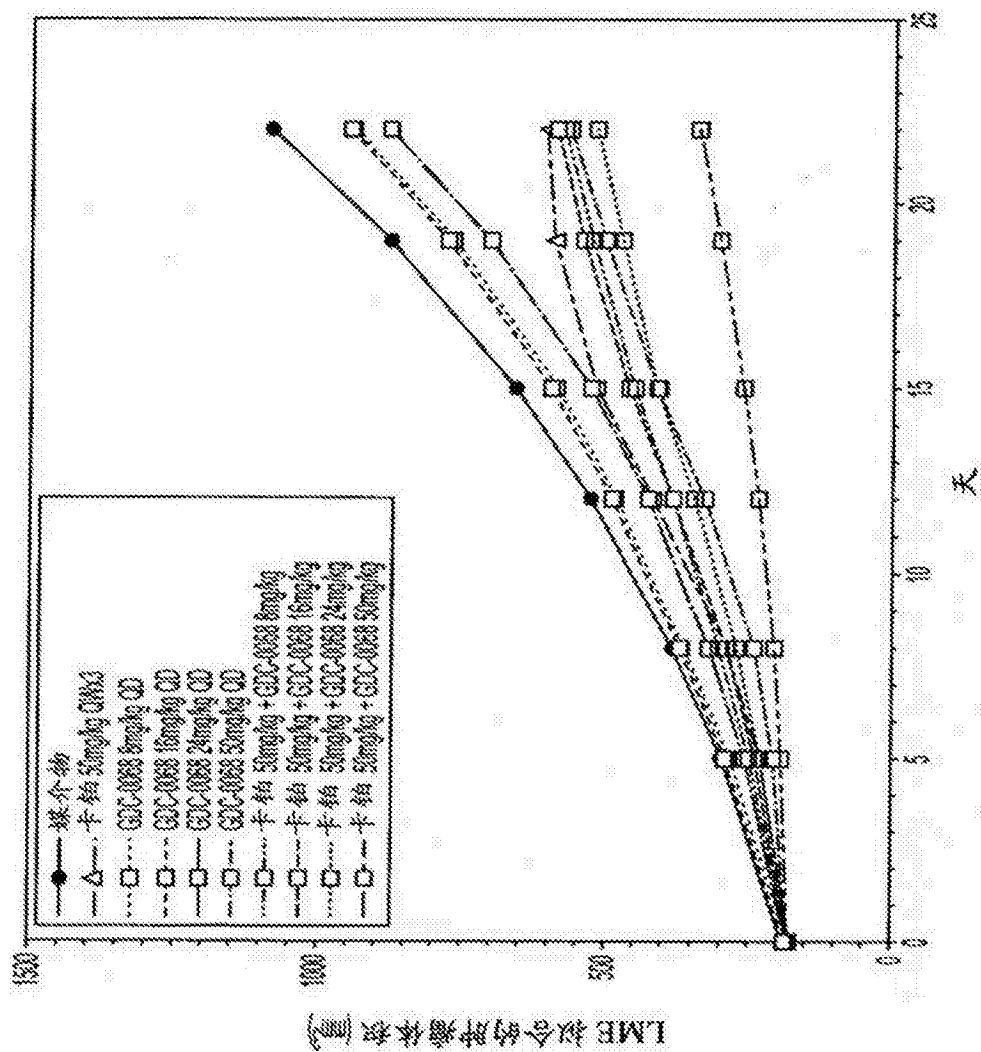


图19

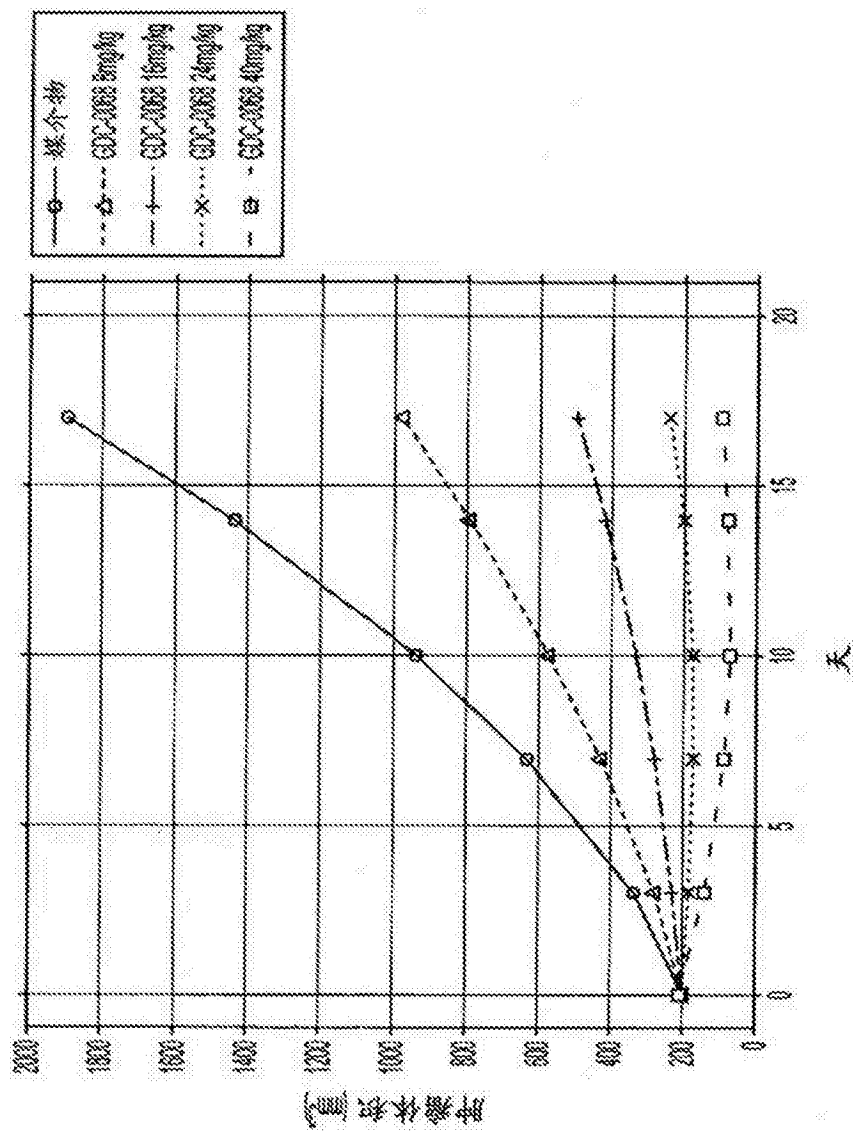


图20

| 患者 | 肿瘤                | PDX<br>WUT | PTEN<br>SCORE | STUDY<br>TIME     | BEST<br>RESP | PET+<br>病灶         | SUV MAX              |                      |                 |                |               | %Δ<br>周期 1        | %Δ<br>周期 2      | %Δ<br>周期 3 |
|----|-------------------|------------|---------------|-------------------|--------------|--------------------|----------------------|----------------------|-----------------|----------------|---------------|-------------------|-----------------|------------|
|    |                   |            |               |                   |              |                    | 筛查                   | 周期<br>1              | 周期<br>2         | 周期<br>3        |               |                   |                 |            |
| 1  | 乳腺<br>HR+<br>HER2 | H047R      | 60            | 进行中<br>的周期<br>7   | SD           | L肺<br>肝<br>肝       | 51<br>112<br>105     | 41<br>109<br>104     | 18<br>31<br>44  | 51<br>94<br>94 | 20<br>3<br>4  | -48<br>-72<br>-58 | 0<br>-16<br>-10 |            |
| 2  | 乳腺<br>HR+<br>HER2 | E84K       | 180           | 在周期<br>1 后的<br>Pd | PD           | L肺<br>L肺<br>肝<br>肝 | 73<br>78<br>63<br>76 | 72<br>78<br>52<br>65 |                 |                | 7<br>6<br>14  |                   |                 |            |
| 3  | 乳腺<br>HR+<br>HER2 | WT         | 5             | 在周期<br>1 中的<br>PD |              | 肝<br>肝<br>L肾上腺     | 114<br>55<br>85      | 121<br>36<br>31      | 131<br>42<br>92 |                | 4<br>38<br>38 | +15<br>-23<br>-3  |                 |            |
| 4  | 乳腺<br>HR+<br>HER2 | WT         | 20            | 在周期<br>2 后撤消      | SD           | R肺<br>L肺           | 44<br>41             | 28<br>16             | 23<br>22        |                | 38<br>51      | 44<br>46          |                 |            |
| 5  | 乳腺<br>HR+<br>HER2 | E10K       | 100           | 进行中<br>的周期<br>3   |              | 肝<br>肝             | 61<br>74             | 37<br>42             | 33<br>38        |                | 39<br>43      | 46<br>48          |                 |            |
| 6  | 乳腺                | WT         | 240           | 进行中<br>的周期<br>2   |              | 肝<br>肝             | 48<br>40             | 15<br>15             |                 |                | 48<br>48      |                   |                 |            |
| 7  | 乳腺                |            | LOSS          | 周期 1              | PD           |                    |                      |                      |                 |                |               |                   |                 |            |
| 8  | 乳腺                |            | 10            | 周期 1              | RASH         |                    |                      |                      |                 |                |               |                   |                 |            |
| 9  | 乳腺                |            | LOSS          | 周期 1              |              |                    |                      |                      |                 |                |               |                   |                 |            |
| 10 | 乳腺                |            | LOSS          | 周期 1              |              |                    |                      |                      |                 |                |               |                   |                 |            |

图21

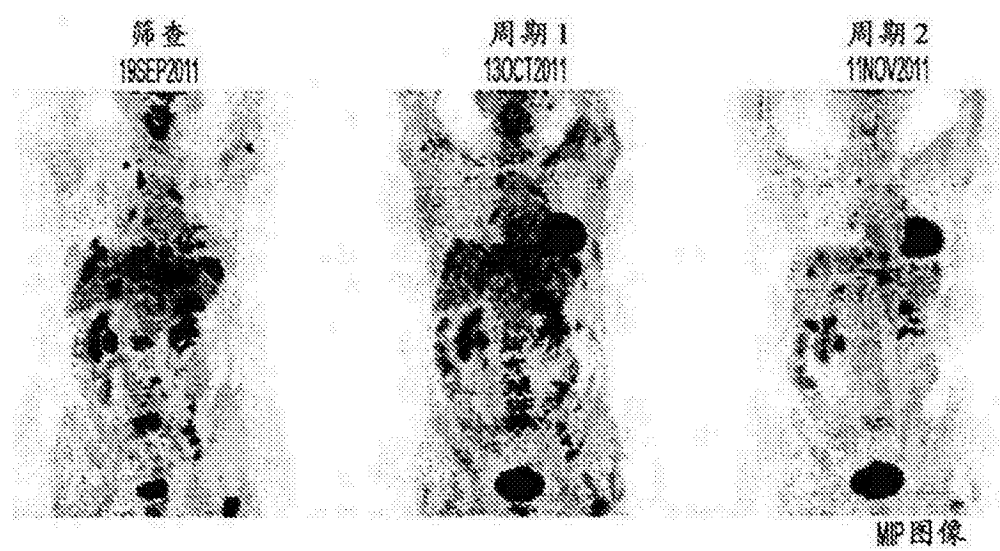


图22A

患者 1

| 病灶 ID   | 病灶位置 | SUVmax |              |              | 相对于 SCR 的<br>百分比变化 |              |
|---------|------|--------|--------------|--------------|--------------------|--------------|
|         |      | SCR    | C1<br>D22-28 | C2<br>D15-21 | C1<br>D22-28       | C2<br>D15-21 |
| 401     | 左肺   | 5.1    | 4.1          | 1.6          | -21%               | -69%         |
| 402     | 肝    | 11.2   | 10.9         | 3.1          | -3%                | -72%         |
| 403     | 肝    | 10.5   | 10.4         | 4.4          | -1%                | -58%         |
| 平均百分比变化 |      |        |              |              | -8%                | -66%         |

图22B

| 治疗的线 | 治疗                  | 时间       |
|------|---------------------|----------|
| 第一   | 环磷酰胺，<br>亚德里亚霉素，5FU | 6个月      |
| 第二   | 吉西他滨 +<br>卡培他滨      | 15个月     |
| 第三   | FASLODEX            | 16个月     |
| 第四   | 长春瑞滨 +<br>卡培他滨      | 21个月     |
| 第五   | 紫杉醇                 | 6个月      |
| 第六   | 长春氟宁                | 7个月      |
| 第七   | GDC-0068 600 mg     | 7个月并在进行中 |

图22C

| 肿瘤标记 |        |      |
|------|--------|------|
| 天    | CA15.3 | CEA  |
| -42  | 363    | 14.0 |
| 21   | 284    | 11.9 |
| 37   | 256    | 10.3 |
| 84   | 195    | 9.0  |
| 98   | 146    | 8.2  |

图22D

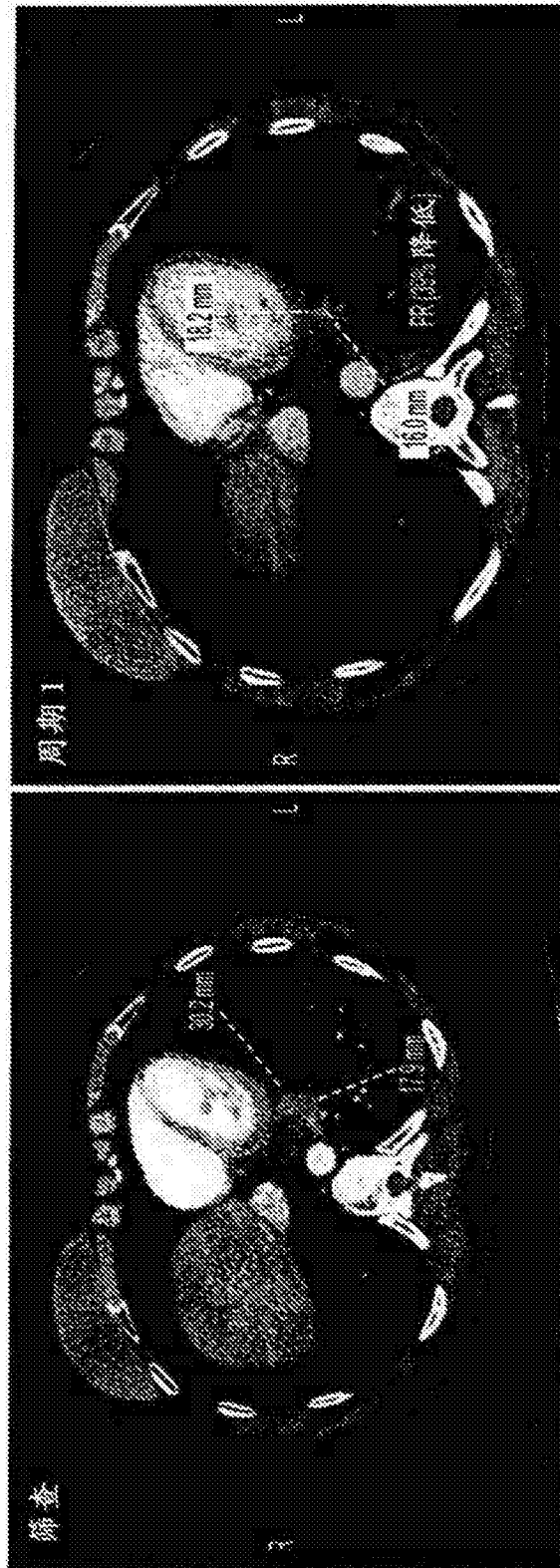


图23A

| 治疗  | 治疗历史              | 时间  |
|-----|-------------------|-----|
| 佐剂  | 多柔比星+<br>环磷酰胺→紫杉醇 | 4个月 |
| 转移  | 用辐射切除脑转移          | 2个月 |
| 第一线 | 单一药物卡培他滨          | 7个月 |

图23B

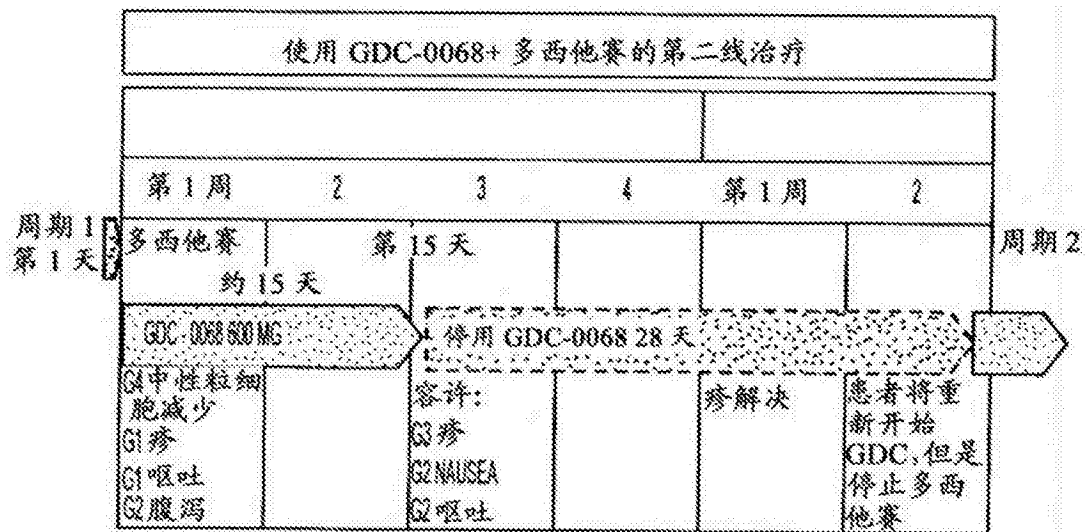


图23C

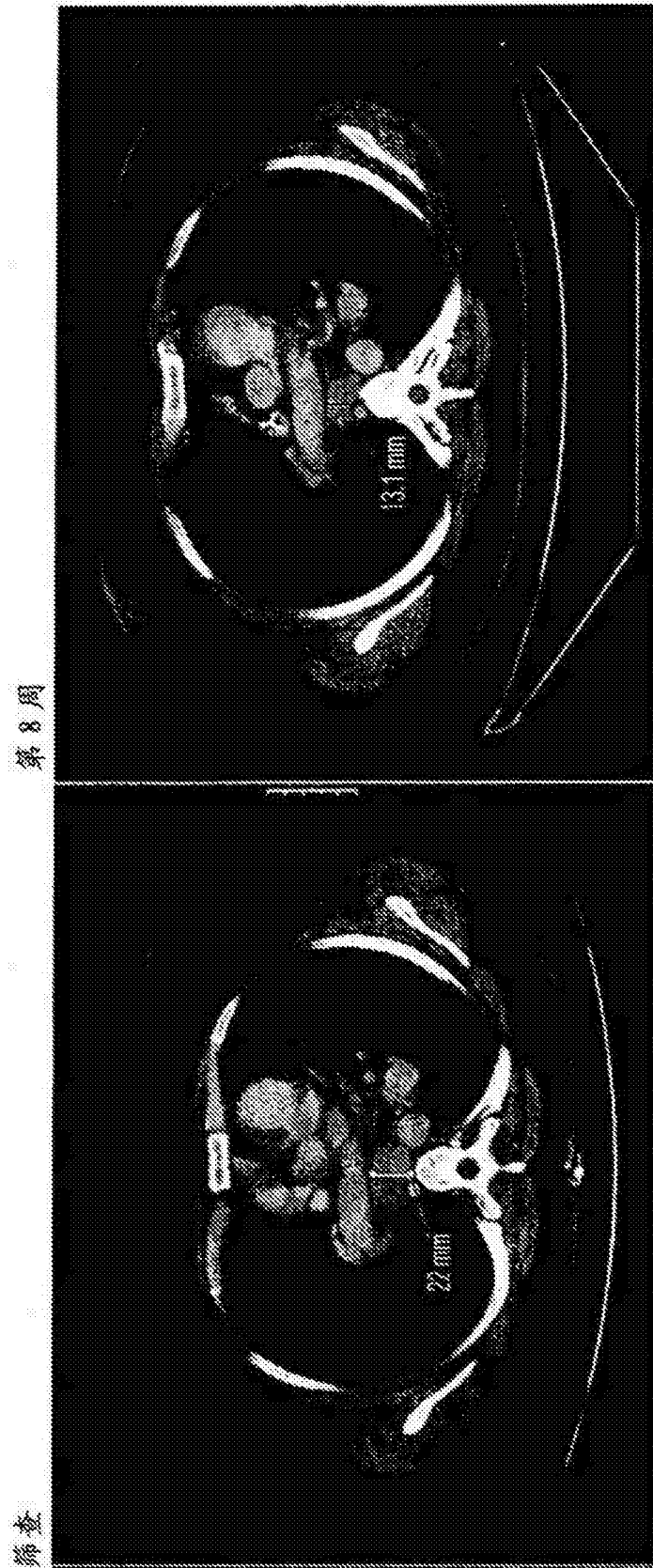


图24A

| 治疗线 | 治疗                    | 时间                       | 最佳应答                                 |
|-----|-----------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| 诊断  | 切除: 宫颈的鳞状细胞癌          | 2009 年 3 月               |                                      |
| 佐剂  | 顺铂 + 伴随辐射             | 2009 年 3 月 - 5 月         | 混合应答                                 |
| 第一线 | 卡铂和紫杉醇 x 6 个周期        | 2010 年 11 月 - 2011 年 5 月 | PR(快速进展)<br>(RAPID PROGRESSION POST) |
| 第二线 | GDC-0368 + mFOLFIRI-6 | 2011 年 9 月 - 正在进行        | 在第 8 周时 PR(40% RECIST)               |

图24B

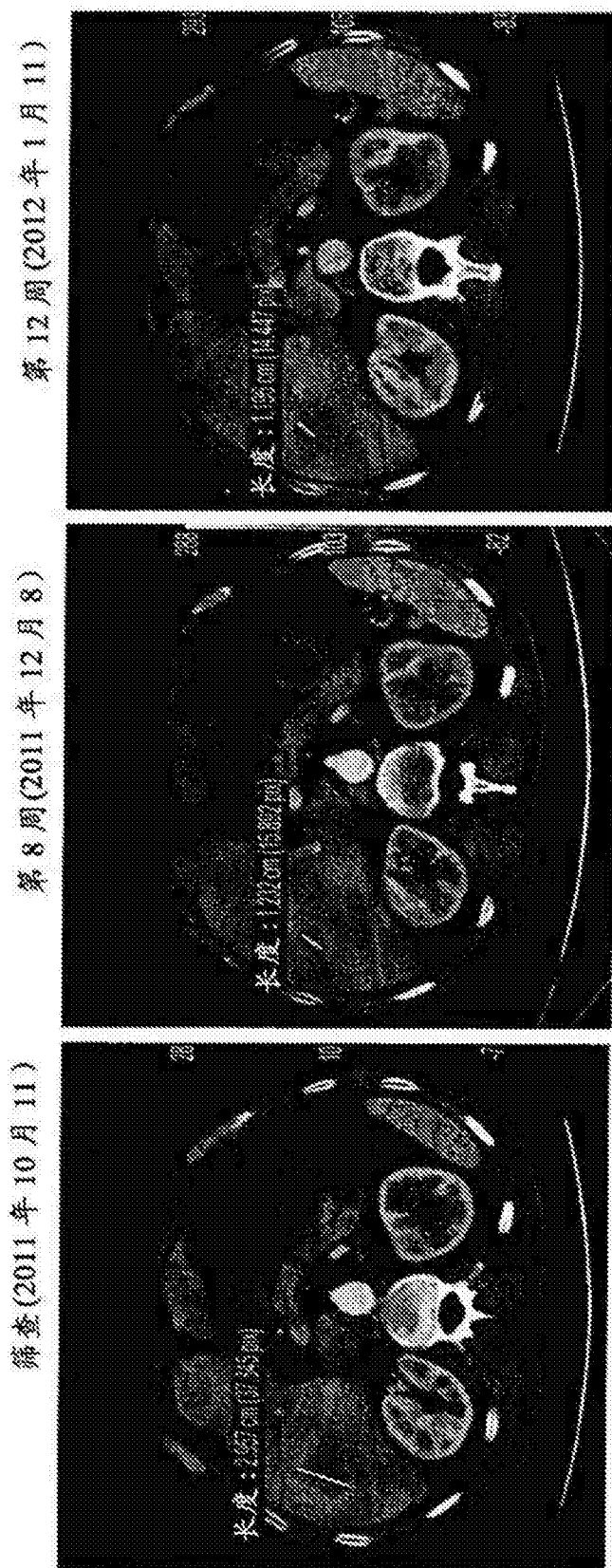


图25A

| 疗法  | 治疗                     | 时间         | 最佳应答                                   |
|-----|------------------------|------------|----------------------------------------|
| 佐剂  | FOLFOX - 4 x 12 周期     | 6 个月       |                                        |
| 第一线 | 伊立替康 + 西妥昔单抗           | 4 个月       | SD                                     |
| 第二线 | 帕木单抗                   | 17 个月      | PD                                     |
| 第三线 | GDC-0033 + MFOLFOX - 6 | 6 个月并且正在进行 | · 在第 8 周时 40% PR<br>· 在第 12 周时 50% cPR |

图 25B

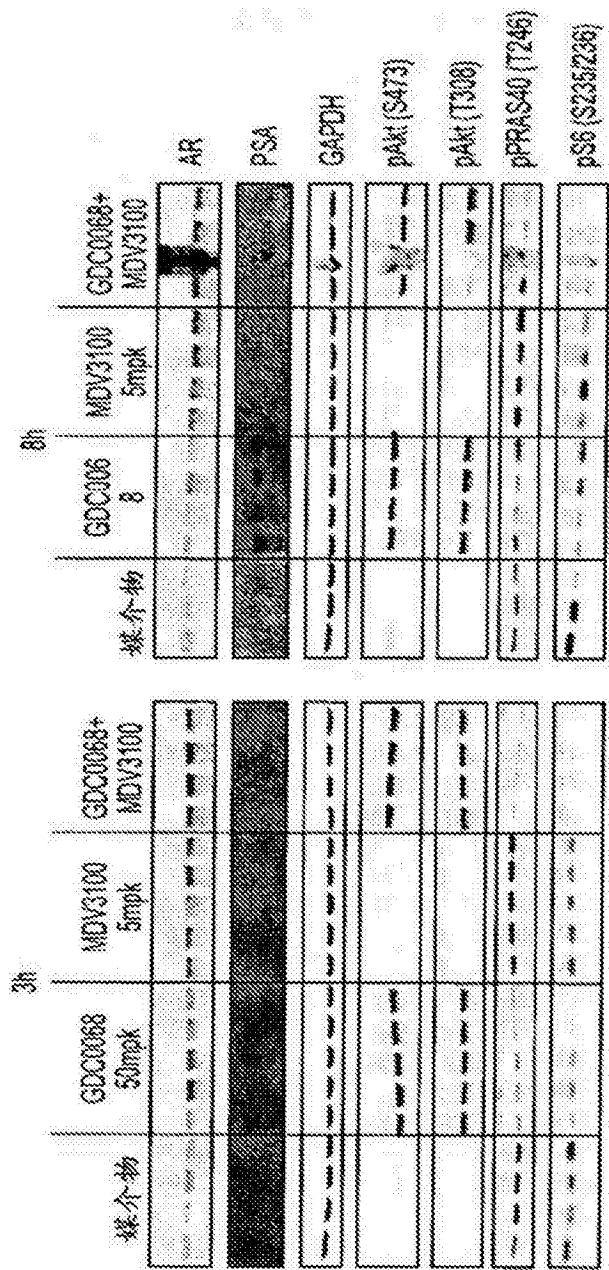


图26