

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480021110.0

[51] Int. Cl.

A61K 31/663 (2006.01)

A61K 31/451 (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 19/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008 年 7 月 30 日

[11] 授权公告号 CN 100406016C

[51] Int. Cl. (续)

A61P 19/10 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

[22] 申请日 2004.7.20

[21] 申请号 200480021110.0

[30] 优先权

[32] 2003.7.21 [33] US [31] 60/488,925

[86] 国际申请 PCT/EP2004/008107 2004.7.20

[87] 国际公布 WO2005/014006 英 2005.2.17

[85] 进入国家阶段日期 2006.1.23

[73] 专利权人 诺瓦提斯公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 J·齐默尔曼 C·格斯尔

[56] 参考文献

US6468559 B1 2002.10.22

WO03020278 A 2003.3.13

审查员 沈丽鸽

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 隋晓平

权利要求书 1 页 说明书 35 页

[54] 发明名称

用于治疗骨转移瘤、肿瘤生长和肿瘤诱导的骨丢失的组织蛋白酶 K 抑制剂和二膦酸盐/酯的组合

[57] 摘要

本发明涉及包含某些类型的二膦酸盐/酯和某些类型的组织蛋白酶 K 抑制剂的药物制剂，特别是用于预防和治疗骨转移瘤、肿瘤诱导的高钙血症、肿瘤生长、肿瘤诱导的骨丢失和骨丢失疾病如骨质疏松症或癌症治疗诱导的骨丢失的药物制剂。

1. 同时或相继应用的用于治疗恶性疾病、骨转移瘤、癌细胞生长和/或癌症治疗诱导的骨丢失的药物制剂，该制剂包括联合的2-(咪唑-1基)-1-羟基乙烷-1,1-二膦酸或其药理学可接受的盐和为N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(4-(1-丙基)-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺或其可药用的盐的组织蛋白酶K抑制剂。

用于治疗骨转移瘤、肿瘤生长和肿瘤诱导的骨丢失的 组织蛋白酶 K 抑制剂和二膦酸盐/酯的组合

本发明涉及包含某些类型的二膦酸盐/酯和某些类型的组织蛋白酶 K 抑制剂的药物制剂, 该药物制剂特别是可用于预防和治疗骨转移瘤、肿瘤诱导的高钙血症、肿瘤生长、肿瘤诱导的骨丢失和骨丢失疾病如骨质疏松症或癌症治疗诱导的骨丢失(例如由化疗方案、骨髓移植术后的骨、性激素消耗剂, 如双侧睾丸切除术/卵巢切除术(手术性阉割)、用于绝经前的乳腺癌或前列腺癌(化学性阉割)的 LHRH 类似物(analoga)、患有乳腺癌的女性化疗诱导的绝经、向患有乳腺癌的绝经前的妇女的 LHRH 治疗中加入芳香酶抑制剂(例如来曲唑)或者作为患有乳腺癌的绝经后妇女的独立治疗的芳香酶抑制剂治疗诱导的。在这些情况中, 本发明将已经很低的性激素水平降低至几乎不可检测的水平)。

二膦酸盐/酯被广泛用于抑制涉及过量骨再吸收的许多良性和恶性疾病中的破骨细胞活性。这些焦磷酸酯类似物不仅降低了与骨骼有关事件(例如骨折、放疗需要、脊髓受压、恶性肿瘤的高钙血症)的发生率, 而且还为患者提供了另外的临床益处(例如, 减少疼痛)并且有改善存活性的可能。二膦酸盐/酯能阻止体内骨再吸收; 已经在骨质疏松症、骨量减少、骨佩吉特氏病、肿瘤诱导的高钙血症(TIH)的治疗中并且最近在得自实体瘤的骨转移瘤(BM)和多发性骨髓瘤(MM)的骨损害的治疗中证明了二膦酸盐/酯的治疗效力。但是, 人们仍然没有完全了解二膦酸盐/酯抑制骨再吸收的机理, 其似乎随着所研究二膦酸盐/酯的不同而不同。证据已经表明二膦酸盐/酯与骨的羟磷灰石结晶强烈结合, 从而降低了骨翻转和再吸收、降低了血液中羟脯氨酸或碱性磷酸酶的水平、并且还抑制了破骨细胞的形成、募集、活化和活性。

对组织蛋白酶 K(cat K; 也被称为组织蛋白酶 O 和组织蛋白酶 O2)进行了克隆, 发现其特定地在破骨细胞中进行表达(Shi G.-P., 等人, 1995, FEBS Lett. 357: 129-134; Inoka T., 等人, 1995, Biochem. Biophys. Res. Commun. 206: 89-96; Li Y., 等人, 1995, J. Bone Miner. Res. 10: 1197-1202; Bromme D. 等人, 1995, Biol. Chem. Hoppe-Seyler 376: 379-384; Tezuka, K 等人, 1994, J Biol Chem 269: 1106-1109)。在克隆的同时, 特征为具有骨再吸收降低的骨硬化的(osteopetrotic)表型的常染色体隐性遗传病症——致密性成骨不全症被映射到该 cat K 基因中存在的突变上(例如 Gelb, B.D. 等人, 1996, Science 273: 1236-1238)。骨中的主要胶原——人 I 型胶原是组织蛋白酶 K 的良好底物(见例如 Kafienah, W. 等人, 1998, Biochem J 331: 727-732)。在使用 cat K 的反义寡核苷酸的体外实验中已经表明体外骨再吸收降低, 其可能是由于 cat K mRNA 的转译降低(见 Inui, T. 等人, 1997, J Biol Chem 272: 8109-8112)。也已经研制了某些可以降低骨再吸收的以肽为基础的的选择性 cat K 抑制剂(见例如 US 6,353,017)。因此, 已经建议了其用于哺乳动物, 特别是人的与骨再吸收增加有关的各种病症的应用, 所说的病症包括炎症、类风湿性关节炎、骨关节炎、骨质疏松症、肿瘤(尤其是肿瘤侵袭和肿瘤转移)、冠心病、动脉粥样硬化、自身免疫性疾病、呼吸系统疾病、传染性疾病和免疫介导的疾病(包括移植排斥)(见 Brubaker, K.D. 等人, 2001, J Bone Miner Res 18: 222-230 和 Stroup, G.B., 等人, 2001, J Bone Miner Res 16: 1739-1746)。

某些类型的二膦酸盐/酯和某些类型的 cat K 抑制剂的联合治疗具有许多益处, 包括可以更有效地治疗一些情况下的骨丢失诸如下列良性疾病, 实例有与骨再吸收增加有关的各种疾病, 包括炎症、类风湿性关节炎、骨关节炎、骨质疏松症、肿瘤(尤其是肿瘤侵蚀和肿瘤转移)、冠心病、动脉粥样硬化、自身免疫性疾病、呼吸系统疾病、传染性疾病和免疫介导的疾病(包括移植排斥)、佩吉特氏病、假体周围的(periprosthetic)骨丢失或包括下述情况的预防: 软骨下骨丢失、骨赘形成及最后的关节变质和破坏; 而且也可以治疗由于肿瘤转移导致的恶性疾病如骨质溶解, 包括由于多发性

骨髓瘤导致的骨损害、恶性肿瘤的高钙血症、骨转移瘤、肿瘤和癌症治疗诱导的骨丢失如由于用性激素消耗剂、包含皮质类固醇的化疗方案进行治疗而造成的骨丢失、骨髓移植后的骨丢失。某些类型的二膦酸盐/酯和某些类型的 cat K 抑制剂的联合治疗特别是可用于治疗骨转移瘤、肿瘤和肿瘤诱导的骨丢失。

因此，本发明提供了用于治疗上述疾病的药物组合物，该药物组合物包含用于同时、相继或独立应用的如下所述的某些类型的二膦酸盐/酯和如下所述的某些类型的 cat K 抑制剂的组合。

本发明还提供了如下所述的某些类型的 cat K 抑制剂用于制备与如下所述的某些类型的二膦酸盐/酯联合用于治疗上述疾病的药物的应用。

本发明还提供了如下所述的某些类型的二膦酸盐/酯用于制备与如下所述的某些类型的 cat K 抑制剂联合用于治疗上述疾病的药物的应用。

本发明另一方面提供了一种对患有上述疾病的患者进行治疗的方法，该方法包括给该患者使用有效量的如下所述的某些类型的二膦酸盐/酯和有效量的如下所述的某些类型的 cat K 抑制剂。

本发明另一方面还提供了如下所述的某些类型的 cat K 抑制剂与某些类型的二膦酸盐/酯联合用于抑制骨转移瘤、抑制癌细胞生长、诱导癌细胞编程性细胞死亡或/和抑制癌症治疗诱导的骨丢失的应用。

本发明还相应地提供了一种用于抑制骨转移瘤、抑制癌细胞生长、诱导癌细胞编程性细胞死亡或/和抑制肿瘤诱导的骨丢失的药物组合物，该药物组合物包含同时、相继或独立应用如下所述的某些类型的 cat K 抑制剂与某些类型的二膦酸盐/酯的组合。

本发明还提供了如下所述的某些类型的二膦酸盐/酯用于制备与如下所述的某些类型的 cat K 抑制剂联合用于抑制骨转移瘤、抑制癌细胞生长、诱导癌细胞编程性细胞死亡或/和抑制肿瘤诱导的骨丢失的药物的应用。

本发明另一方面还提供了一种对患有骨转移瘤、癌细胞生长、受限的癌细胞编程性细胞死亡或/和癌症治疗诱导的骨丢失的患者进行治疗的方法，该方法包括给该患者使用有效量的如下所述的某些类型的二膦酸盐/

酯和有效量的如下所述某些类型的 cat K 抑制剂。

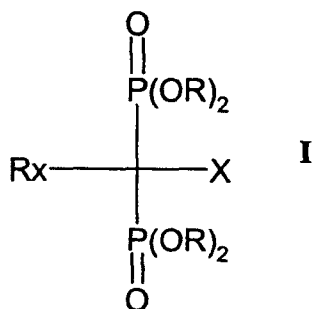
在本发明的说明书中，术语“治疗”包括预防性或防止性处理以及治愈或改变疾病的处理，包括对有患病风险的患者或者怀疑已经患病的患者以及患病的患者进行治疗。

本发明通常可用于治疗表明二膦酸盐/酯和/或 cat K 抑制剂治疗可用于对其进行治疗或已知对其有效的恶性和良性疾病。本发明优选地可用于恶性疾病，例如具有骨转移瘤的疾病、具有肿瘤生长和肿瘤诱导的骨丢失(骨质溶解)的疾病。该类疾病的实例包括癌症，如乳癌和前列腺癌、多发性骨髓瘤(MM)、肿瘤诱导的高血压(TIH)和相似的疾病以及病症。本发明特别是可用于治疗与癌症如乳癌、肺癌、结肠癌、肾癌和其它实体瘤癌症有关的多发性骨髓瘤和骨转移瘤(BM)。

本发明的组合物、应用和方法给出了一种其中使用二膦酸盐/酯和/或 cat K 抑制剂的对现存的良性和/或恶性疾病疗法的改良。如下所述的某些类型的二膦酸盐/酯与如下所述的某些类型的 cat K 抑制剂的组合有利地使得抗转移、抗肿瘤产生(anti-tumorogenic)和肿瘤诱导的抗溶骨活性水平增加。

用于本发明的二膦酸盐/酯优选地是 N-二膦酸盐/酯类物质。

在本说明书中，N-二膦酸盐/酯是除特征性的成对的二膦酸盐/酯(bisphosphate)部分外还包含含有氮的侧链的化合物，例如式 I 的化合物：



其中

X 是氢、羟基、氨基、烷酰基、或被 C₁-C₄ 烷基或烷酰基取代的氨基；

R 是氢或 C₁-C₄ 烷基，且

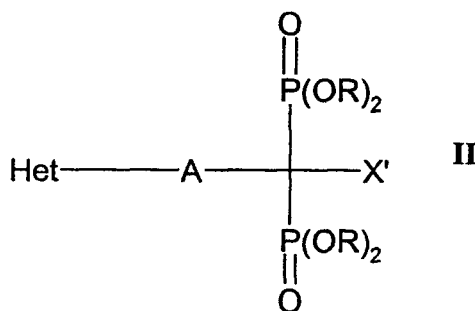
Rx 是包含任选地被取代的氨基的侧链或包含氮的杂环(包括包含芳族

氮的杂环),

以及其可药用的盐或任何水合物。

因此,例如,适用于本发明的 N-二膦酸盐/酯可包括下面的化合物或其可药用的盐或其任何水合物: 3-氨基-1-羟基丙烷-1,1-二膦酸(帕米膦酸), 例帕米膦酸盐/酯(APD); 3-(N,N-二甲基氨基)-1-羟基丙烷-1,1-二膦酸, 例如二甲基-APD; 4-氨基-1-羟基丁烷-1,1-二膦酸(阿仑膦酸), 例如阿仑膦酸盐/酯; 1-羟基-3-(甲基戊基氨基)-亚丙基-二膦酸, 伊班膦酸, 例如伊班膦酸盐/酯; 6-氨基-1-羟基己烷-1,1-二膦酸, 例如氨基-己基-BP; 3-(N-甲基-N-正-戊基氨基)-1-羟基丙烷-1,1-二膦酸, 例如甲基-戊基-APD(= BM 21.0955); 1-羟基-2-(咪唑-1-基)乙烷-1,1-二膦酸, 例如唑来膦酸; 1-羟基-2-(3-吡啶基)乙烷-1,1-二膦酸(利塞膦酸), 例如利塞膦酸盐/酯, 包括其 N-甲基吡啶鎓盐, 例如碘化 N-甲基吡啶鎓如 NE-10244 或 NE-10446; 3-[N-(2-苯基硫代乙基)-N-甲基氨基]-1-羟基丙烷-1,1-二膦酸; 1-羟基-3-(吡咯烷-1-基)丙烷-1,1-二膦酸, 例如 EB 1053(Leo); 1-(N-苯基氨基硫代羰基)甲烷-1,1-二膦酸, 例如 FR 78844(Fujisawa); 5-苯甲酰基-3,4-二氢-2H-吡唑-3,3-二膦酸四乙基酯, 例如 U-81581(Upjohn); 和 1-羟基-2-(咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基)乙烷-1,1-二膦酸, 例如 YM 529。

在一个实施方案中,用于本发明的特别优选的N-二膦酸盐/酯包括式II的化合物:



其中

Het 是咪唑、噁唑、异噁唑、噁二唑、噻唑、噻二唑、吡啶、1,2,3-三唑、1,2,4-三唑或苯并咪唑基, 其可任选地被烷基、烷氧基、卤素、羟基、羧基、任选地被烷基或烷酰基取代的氨基或任选地被烷基、硝基、氨基或

氨基烷基取代的苄基取代;

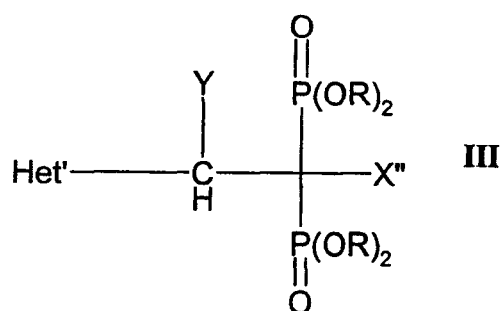
A 是包含 1 至 8 个碳原子的直链或支链、饱和或不饱和的烃部分;

X' 是任选地被烷酰基取代的氢原子或任选地被烷基或烷酰基取代的氨基, 且

R 是氢原子或烷基,

以及其药理学可接受的盐。

在另一个实施方案中, 用于本发明的特别优选的二膦酸盐/酯包括式 III 的化合物:



其中

Het' 是被取代或未被取代的选自咪唑基、咪唑啉基、异噁唑基、噁唑基、噁唑啉基、噻唑基、噻唑啉基、三唑基、噁二唑基和噻二唑基的杂芳族 5 元环, 其中所说的环可以被部分氢化并且其中所说的取代基选自 C₁-C₄ 烷基、C₁-C₄ 烷氧基、苯基、环己基、环己基甲基、卤素和氨基中的至少一种, 其中 Het 两个毗邻的烷基取代基可以一起形成第二个环;

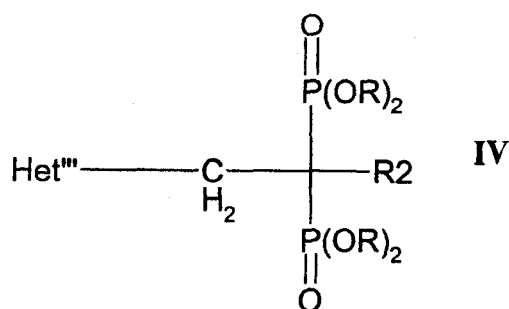
Y 是氢或 C₁-C₄ 烷基;

X'' 是氢、羟基、氨基或被 C₁-C₄ 烷基取代的氨基, 且

R 是氢或 C₁-C₄ 烷基;

以及其药理学可接受的盐和异构体。

在另一个实施方案中, 用于本发明的特别优选的二膦酸盐/酯包括式 IV 的化合物:



其中

Het'''是咪唑基、2H-1,2,3-、1H-1,2,4-或4H-1,2,4-三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻唑基或噻二唑基，这些取代基可以是未被取代的或者被低级烷基、低级烷氧基、苯基(其也可以被低级烷基、低级烷氧基和/或卤素所单-或二-取代)、羟基、二-低级烷基氨基、低级烷硫基和/或卤素所 C-单-或二-取代且在可取代的 N-原子上被低级烷基或苯基-低级烷基(其也可以在苯基部分被低级烷基、低级烷氧基和/或卤素所单-或二-取代)N-取代，且

R2 是氢、羟基、氨基、低级烷硫基或卤素、具有多至并包括 7 个 C-原子的低级基团，

或其药理学可接受的盐。

本发明所用的特别优选的 N-二膦酸盐/酯的实例有：

- 2-(1-甲基咪唑-2-基)-1-羟基乙烷-1,1-二膦酸；
- 2-(1-苄基咪唑-2-基)-1-羟基乙烷-1,1-二膦酸；
- 2-(1-甲基咪唑-4-基)-1-羟基乙烷-1,1-二膦酸；
- 1-氨基-2-(1-甲基咪唑-4-基)乙烷-1,1-二膦酸；
- 1-氨基-2-(1-苄基咪唑-4-基)乙烷-1,1-二膦酸；
- 2-(1-甲基咪唑-2-基)乙烷-1,1-二膦酸；
- 2-(1-苄基咪唑-2-基)乙烷-1,1-二膦酸；
- 2-(咪唑-1-基)-1-羟基乙烷-1,1-二膦酸；
- 2-(咪唑-1-基)乙烷-1,1-二膦酸；
- 2-(4H-1,2,4-三唑-4-基)-1-羟基乙烷-1,1-二膦酸；
- 2-(噻唑-2-基)乙烷-1,1-二膦酸；

2-(咪唑-2-基)乙烷-1,1-二膦酸;

2-(2-甲基咪唑-4(5)-基)乙烷-1,1-二膦酸;

2-(2-苯基咪唑-4(5)-基)乙烷-1,1-二膦酸;

2-(4,5-二甲基咪唑-1-基)-1-羟基乙烷-1,1-二膦酸, 和

2-(2-甲基咪唑-4(5)-基)-1-羟基乙烷-1,1-二膦酸,

以及其药理学可接受的盐。

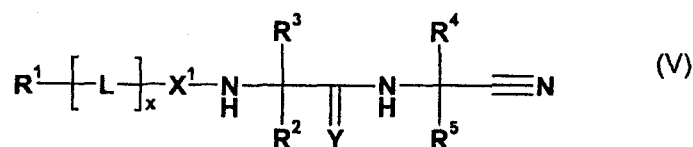
本发明所用的最优选的 N-二膦酸盐/酯是 2-(咪唑-1-基)-1-羟基乙烷-1,1-二膦酸(唑来膦酸)或其药理学可接受的盐, 特别是唑来膦酸。

上述的所有 N-二膦酸衍生物在文献中都是众所周知的。这些文献包括其制备(见例如 EP-A-513760, 第 13-48 页)。例如, 3-氨基-1-羟基丙烷-1,1-二膦酸是如例如 US 专利 3,962,432 所述的那样来进行制备的, 并且其二钠盐的制备如 US 专利 4,639,338 和 4,711,880 所述, 和 1-羟基-2-(咪唑-1-基)乙烷-1,1-二膦酸的制备例如如 US 专利 4,939,130 所述。还可参见 US 专利 4,777,163 和 4,687,767。

所说的 N-二膦酸盐/酯可以以异构体或异构体(在适宜的情况中, 典型地为光学异构体如对映异构体和非对映异构体或几何异构体, 典型地为顺-反异构体)混合物的形式被使用。所说的光学异构体可以以纯对映体和/或外消旋体的形式被获得。

所说的 N-二膦酸盐/酯还可以以其水合物的形式被使用或者可以包含其结晶用的其它溶剂。

发明的药物组合物 and 治疗方法所用的 cat K 抑制剂典型地包括式 V 的化合物或其生理学可接受和可裂解的酯或盐:



其中 R^1 是任选地被取代的(芳基、芳基-低级烷基、低级链烯基、低级炔基、杂环基或杂环基-低级烷基);

R^2 和 R^3 一起表示任选地夹杂有 O、S 或 NR^6 的低级亚烷基, 从而和其与之相连的碳原子一起形成环, 且 R^6 是氢、低级烷基或芳基-低级烷基;

R^4 和 R^5 独立地是 H 或任选地被取代的(低级烷基或芳基-低级烷基)、 $-C(O)OR^7$ 或 $-C(O)NR^7R^8$, 其中 R^7 是任选地被取代的(低级烷基、芳基、芳基-低级烷基、环烷基、二环烷基、二环烷基或杂环基), 且 R^8 是 H 或任选地被取代的(低级烷基、芳基、芳基-低级烷基、环烷基、二环烷基、二环烷基或杂环基); 或

R^4 和 R^5 一起表示任选地夹杂有 O、S 或 NR^6 的低级亚烷基, 从而和其与之相连的碳原子一起形成环, 且 R^6 是氢、低级烷基或芳基-低级烷基; 或

R^4 是 H 或任选地被取代的低级烷基并且 R^5 是式 $-X^2-(Y^1)_n-(Ar)_p-Q-Z$ 的取代基, 其中

Y^1 是 O、S、SO、 SO_2 、 $N(R^6)SO_2$ 、 $N-R^6$ 、 SO_2NR^6 、 $CONR^6$ 或 NR^6CO ;

N 是 0 或 1;

P 是 0 或 1;

X^2 是低级亚烷基: 或者当 n 是 0 时, X^2 也是夹杂有 O、S、SO、 SO_2 、 NR^6 、 SO_2NR^6 、 $CONR^6$ 或 NR^6CO 的 C_2-C_7 -亚烷基, 且 R^6 是氢、低级烷基或芳基-低级烷基;

Ar 是亚芳基;

Z 是羟基、酰氧基、羧基、被酯化的羧基、被酰胺化的羧基、氨基磺酰基、(低级烷基或芳基-低级烷基)氨基磺酰基或(低级烷基或芳基-低级烷基)磺酰基氨基羧基; 或 Z 是四唑基、三唑基或咪唑基;

Q 是一种直键、低级亚烷基、 Y^1 -低级亚烷基或夹杂有 Y^1 的 C_2-C_7 -亚烷基;

X^1 是 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 或 $-P(O)(OR^6)-$, 且 R^6 的定义如上所述;

Y 是氧或硫;

L 是任选地被取代的 $-Het-$ 、 $-Het-CH_2-$ 或 $-CH_2-Het-$, 且 Het 是选自 O、

N 或 S 的杂原子; 且

X 是 0 或 1; 且

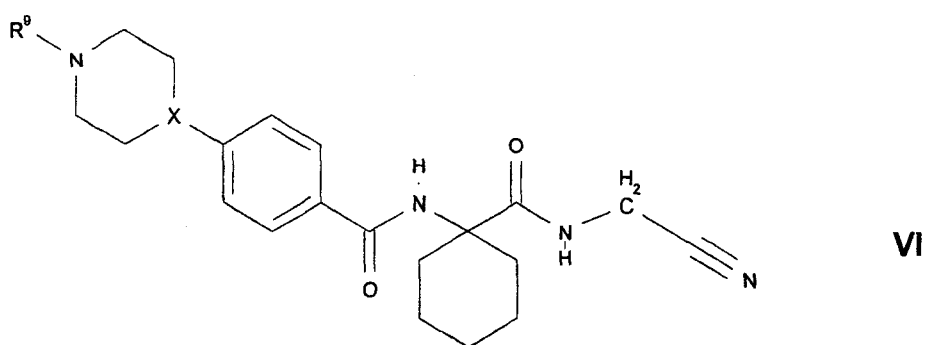
上述定义中的芳基表示碳环或杂环芳基。

特定的式 V 的化合物是这些其中 R^1 是被取代的苯基的化合物, 例如其取代基是任选地被取代的包含氮的杂环取代基(=Het^{IV})的化合物。这种取代基可以位于该苯环的 2-或 3-位上, 但是优选地位于其 4-位上。Het^{IV} 表示包含至少 1 个氮原子的 2 至 10 个、优选 3 至 7 个、最优选 4 或 5 个碳原子和任选的一个或多个选自 O、S 或优选地是 N 的另外的杂原子的杂环系统。

Het^{IV} 可包括包含氮的不饱和的例如芳族的杂环; 但是优选地包括包含氮的饱和杂环。特别优选的包含氮的饱和杂环是哌嗪基, 优选哌嗪-1-基或哌啶基, 优选哌啶-4-基。

Het^{IV} 可以被一个或多个取代基所取代, 例如可以被多至 5 个独立地选自卤素、羟基、氨基、硝基、任选地被取代的 C₁₋₄ 烷基(例如被羟基、烷氧基、氨基、任选地被取代的烷基氨基、任选地被取代的二烷基氨基、芳基或杂环基取代的烷基)、C₁₋₄ 烷氧基的取代基取代。Het^{IV} 优选地在氮原子上被取代, 更优选地在氮原子上被单-取代。Het^{IV} 的优选取代基是 C₁-C₇ 低级烷基、C₁-C₇ 低级烷氧基-C₁-C₇ 低级烷基、C₅-C₁₀ 芳基-C₁-C₇ 低级烷基或 C₃-C₈ 环烷基。

本发明特别优选的实施方案提供了一种式 VI 的化合物或其可药用的盐或酯:



其中 X 是 CH 或 N, 且

R⁹ 是 H、C₁-C₇ 低级烷基、C₁-C₇ 低级烷氧基-C₁-C₇ 低级烷基、C₅-C₁₀ 芳基-C₁-C₇ 低级烷基或 C₃-C₈ 环烷基。

因此，C₁-C₇ 低级烷基形式的 R⁹ 的优选的特定实例有甲基、乙基、正-丙基和或异-丙基。C₁-C₇ 低级烷氧基-C₁-C₇ 低级烷基形式的 R 的特定实例是甲氧基乙基。C₅-C₁₀ 芳基-C₁-C₇ 低级烷基形式的 R 的特定实例是苄基。C₃-C₈ 环烷基形式的 R 的特定实例是环戊基。式 VI 特定化合物的实例有：

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(哌嗪-1-基)-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-[4-(1-丙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(4-苄基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-[1-(2-甲氧基-乙基)-哌啶-4-基]-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-异丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺；

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-环戊基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺；

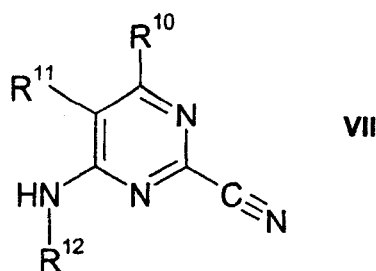
N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-甲基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺，和

N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(哌啶-4-基)-苯甲酰胺。

用于本发明的最优选的 cat K 抑制剂是 N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-[4-(1-丙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺或其药理学可接受的盐，例如马来酸氢盐。

上述的所有 cat K 抑制剂都可以从文献中获知。这些文献包括其制备 (见例如 US 6,353,017B1, 第 15-17 页)。

用于本发明的另外的 cat K 抑制剂化合物包括式 VII 的化合物或其生理学上可接受的和可裂解的酯或盐：



其中

R^{10} 是 H、 $-R^{14}$ 、 $-OR^{14}$ 或 $NR^{13}R^{14}$,

其中 R^{13} 是 H、低级烷基或 C_3 至 C_{10} 环烷基, 且

R^{14} 是低级烷基或 C_3 至 C_{10} 环烷基, 且

其中 R^{13} 和 R^{14} 独立地任选地被卤素、羟基、低级烷氧基、CN、 NO_2 、或任选地被单-或二-低级烷基取代的氨基所取代;

R^{11} 是 $-CO-NR^{15}R^{16}$ 、 $-NH-CO-R^{15}$ 、 $-CH_2-NH-C(O)-R^{15}$ 、 $-CO-R^{15}$ 、 $-S(O)-R^{15}$ 、 $-S(O)_2-R^{15}$ 、 $-CH_2-CO-R^{15}$ 或 $-CH_2-NR^{15}R^{16}$,

其中

R^{15} 是芳基、芳基-低级烷基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_3 - C_{10} 环烷基-低级烷基、杂环基或杂环基-低级烷基,

R^{16} 是 H、芳基、芳基-低级烷基、芳基-低级-链烯基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_3 - C_{10} 环烷基-低级烷基、杂环基或杂环基-低级烷基, 或

其中 R^{15} 和 R^{16} 和其与之相连的氮原子一起形成一种 N-杂环基,

其中 N-杂环基表示具有 3 至 8 个环原子的任选地进一步包含 1、2 或 3 个选自 N、 NR^{17} 、O、S、 $S(O)$ 或 $S(O)_2$ 的杂原子的通过其氮原子被连接的包含氮的饱和、部分不饱和或芳族杂环部分, 其中 R^{17} 是 H 或任选地被取代的(低级烷基、羧基、酰基(包括低级烷基酰基, 例如甲酰基、乙酰基或丙酰基、或芳基酰基, 例如苯甲酰基)、酰氨基、芳基、 $S(O)$ 或 $S(O)_2$), 且其中所说的 N-杂环基任选地被稠合于一种二环结构中, 例如与苯或吡啶环稠合, 其中所说的 N-杂环基任选地在一种螺环结构中与所述 3 至 8 元环烷基或杂环相连接, 其中所说的杂环具有 3 至 10 个环成员并且包含 1 至 3 个选自 N、 NR^{16} 、O、S、 $S(O)$ 或 $S(O)_2$ 的杂原子, 其中 R^{16} 的定义如上所

述), 其中杂环基表示一种具有 3 至 10 个环成员并包含 1 至 3 个选自 N、 NR^{17} 、O、S、 S(O) 或 S(O)_2 的杂原子, 其中 R^{17} 的定义如上所述), 其中 R^{15} 和 R^{16} 独立地任选地被一个或多个例如 1-3 个选自下面基团的取代基所取代: 卤素、羟基、氧代、低级烷氧基、CN 或 NO_2 、任选地被取代的(任选地被单-或二-低级烷基取代的氨基、低级-烷氧基、芳基、芳基-低级烷基、N-杂环基或 N-杂环基-低级烷基(其中任选的取代基包含 1 至 3 个选自卤素、羟基、低级烷氧基、低级烷氧基-低级烷基、低级烷氧基-羰基、CN、 NO_2 、N-杂环基或 N-杂环基-低级烷基、或任选地被单-或二-低级烷基取代的氨基的取代基;

R^{12} 独立地是 H 或任选地被取代的(低级烷基、芳基、芳基-低级烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ 环烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ 环烷基-低级烷基、杂环基或杂环基-低级烷基), 且

其中 R^2 任选地被卤素、羟基、氧代、低级烷氧基、CN、 NO_2 或任选地被单-或二-低级烷基取代的氨基所取代。

卤代或卤素表示 I、Br、Cl 或 F。

在上下文中涉及有机基团或化合物时的术语“低级”分别定义的是如具有多至并包括 7 个、优选多至并包括 5 个碳原子, 并且最好包含一个、两个或三个碳原子的支链或直链。低级烷基是支链或直链的并且包含 1 至 7 个碳原子、优选地包含 1-5 个碳原子的烷基。低级烷基表示例如甲基、乙基、丙基、丁基、异丙基、异丁基、叔丁基或新戊基(2,2-二甲基丙基)。

卤代低级烷基是被多至 6 个卤素原子取代的 $\text{C}_1\text{-C}_7$ 低级烷基。

低级烷氧基是支链或直链的并且包含 1 至 7 个碳原子、优选地包含 1-4 个碳原子的烷氧基。低级烷氧基表示例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、异丙氧基、异丁氧基或叔丁氧基。

低级链烯烃、链烯基或链烯氧基是支链或直链的并包含 2 至 7 个碳原子、优选地包含 2-4 个碳原子并包含至少一个碳-碳双键。低级链烯烃、低级链烯基或低级链烯氧基表示例如乙烯基、丙-1-烯基、烯丙基、丁烯基、异丙烯基或异丁烯基以及其氧化等同物。

低级炔烃、炔基或炔氧基是支链或直链的并包含 2 至 7 个碳原子、优

选包含 2-4 个碳原子并包含至少一个碳-碳三键。低级炔烃或炔基表示例如乙炔基、丙-1-炔基、炔丙基、丁炔基、异丙炔基或异丁炔基以及其氧化等同物。

在本说明书中，包含氧的取代基例如烷氧基、链烯氧基、炔氧基、羰基等等包括其包含硫的同系物，例如硫代烷氧基、硫代链烯氧基、硫代炔氧基、硫代羰基、砜、亚砜等等。

芳基表示碳环或杂环芳基。

碳环芳基表示单环、二环或三环芳基，例如苯基或被一个、两个或三个选自低级烷基、低级烷氧基、芳基、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、低级亚烷基二氧基和氧基- C_2-C_3 -亚烷基以及其它取代基例如如实例中所述的取代基所单-、二-或三-取代的苯基；或 1-或 2-萘基；或 1-或 2-菲基。低级亚烷基二氧基是连接于苯基的两个毗邻碳原子上的二价取代基，例如亚甲二氧基或亚乙二氧基。氧基- C_2-C_3 -亚烷基-也是连接于苯基的两个毗邻碳原子上的二价取代基，例如氧基亚乙基或氧基亚丙基。氧基- C_2-C_3 -亚烷基-苯基的实例有 2,3-二氢苯并呋喃-5-基。

优选的碳环芳基是萘基、苯基或任选地被取代的例如如实例中所述那样被取代的苯基，例如被低级烷氧基、苯基、卤素、低级烷基或三氟甲基单-或二取代的苯基。

杂环芳基表示单环或二环杂芳基，例如吡啶基、吡咯基、喹啉基、喹啉基、异喹啉基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、苯并吡喃基、苯并噻喃基、呋喃基、吡咯基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、三唑基、四唑基、吡唑基、咪唑基、噻吩基，或其任何被取代的基团，尤其是如上面所定义的被单-或二-取代的基团。

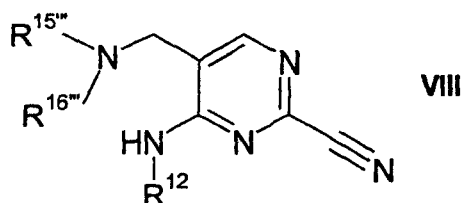
杂环芳基优选地是吡啶基、吡咯基、喹啉基、吡咯基、噻唑基、异噁唑基、三唑基、四唑基、吡唑基、咪唑基、噻吩基，或其任何被取代的基团，尤其是如上面所定义的被单-或二-取代的基团。

环烷基表示任选地被低级烷基取代的饱和环状烃，其包含 3 至 10 个环碳，最好是任选地被低级烷基取代的环丙基、环戊基、环己基、环庚基

或环辛基。

N-杂环基的定义如上所述。优选的N-杂环取代基是任选地被取代的吡咯烷、吡咯、二唑、三唑、四唑、咪唑、噁唑、噻唑、吡啶、嘧啶、三嗪、哌啶、哌嗪、吗啉、邻苯二甲酰亚胺(phthalimide)、己内酰胺、噁唑烷酮或2,6-二氧化-哌嗪及例如如下文实例中所述的基团。

在另一个实施方案中，本发明提供了式VIII的化合物或其可药用的盐或酯：



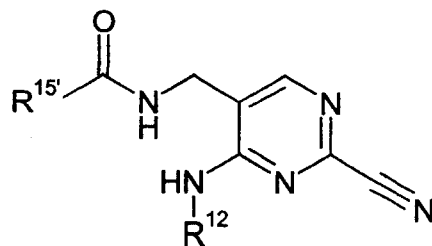
其中 R^{12} 的定义如上所述并且 $R^{15''}$ 和 $R^{16''}$ 的定义分别如上面 R^{15} 和 R^{16} 的定义所述。

R^{12} 优选地是 R^{12} ，其是低级烷基，例如直链或更优选地是支链的 C_1 - C_6 烷基，例如尤其是2-乙基丁基、异丁基或2,2-二甲基丙基；或 C_3 - C_6 环烷基，尤其是环丙基、环戊基或环己基。

$R^{15''}$ 和 $R^{16''}$ 可以是使 $R^{15''}$ 和 $R^{16''}$ 和其与之相连的氮原子一起形成一种N-杂环基的该基团。 $R^{15''}$ 优选地是任选地被取代的(芳基-低级烷基、杂环基-芳基、N-杂环基-芳基或芳基-N-杂环基(其中N-杂环基的定义如上所述))。 $R^{15''}$ 优选地任选地被1-4个选自卤素、羟基、硝基、氰基、低级-烷基、低级-烷氧基或低级-烷氧基-低级-烷基的取代基所取代。例如， $R^{15''}$ 是4-甲氧基-苄基、3-甲氧基-苄基、4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苄基、4-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苄基、1-甲基-1-苄基-乙基、2-(4-甲氧基-苄基)-1,1-二甲基-乙基、2-(4-氟-苄基)-1,1-二甲基-乙基、4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苄基]-乙基、2-[4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苄基]-1,1-二甲基-乙基、2-{4-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苄基}-1,1-二甲基-乙基、2-{3-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苄基}-1,1-二甲基-乙基、2-[3-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苄基]-1,1-二甲基-乙基、2-[3-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苄基]-1,1-二甲基-乙基、1,1-二甲基-2-(3-吡咯烷-1-基-苄基)-乙基、2-{3-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苄基}-1,1-二甲基-乙基、

基、2-(4-甲氧基-苯基)-乙基、2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-乙基、2-[4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯基]-乙基、2-{4-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯基}-乙基、2-(3-甲氧基-苯基)-乙基、2-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-乙基、2-[4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯基]-乙基、2-吡咯-1-基-乙基、3-哌啶-1-基-丙基、2-(4-甲氧基-苯基)-2-甲基-丙基、2-甲基-2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙基、2-[4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯基]-2-甲基-丙基、2-{4-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯基}-2-甲基-丙基、2-{4-[哌啶-1-基]-苯基}-2-甲基-丙基、4-(3-甲氧基-苯基)-哌嗪-1-基-甲基、4-(4-甲氧基-苯基)-哌嗪-1-基-甲基、1-甲基-1-(1-苯基-环丙基)-乙基。例如， $R^{15'}$ 和 $R^{16'}$ 和其与之相连从而形成N-杂环基的氮原子一起是4-(2-吡啶-4-基-乙基)-哌嗪-1-基、[4-(2-吡啶-2-基-乙基)-哌嗪-1-基、4-吡啶-4-基甲基-哌嗪-1-基、4-(2-哌啶-1-基-乙基)-哌嗪-1-基、4-(2-吡咯烷-1-基-乙基)-哌嗪-1-基、4-(2-二乙基氨基-乙基)-哌嗪-1-基、4-(3-二乙基氨基-丙基)-哌嗪-1-基、4-(1-甲基-哌啶-4-基)-哌嗪-1-基、4-吡咯烷-1-基-哌啶-1-基、4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基。

在一个优选的实施方案中，本发明提供了式IX的化合物或其可药用的盐或酯：



其中 R^{12} 的定义如上所述并且 $R^{15'}$ 的定义如上面 R^{15} 的定义所述。

R^{12} 优选地是 $R^{12'}$ ，其是低级烷基，例如直链或更优选地是支链的 C_1 - C_6 烷基，例如尤其是2-乙基丁基、异丁基或2,2-二甲基丙基；或 C_3 - C_6 环烷基，尤其是环丙基、环戊基或环己基。

$R^{15'}$ 优选地是任选地被取代的(芳基-低级-烷基、杂环基-芳基、N-杂环基-芳基或芳基-N-杂环基(其中N-杂环基的定义如上所述))。 $R^{15'}$ 优选地任选地被1-4个选自卤素、羟基、硝基、氰基、低级-烷基、低级-烷氧基、低级-烷氧基-羰基或低级-烷氧基-低级-烷基的取代基所取代。例如， $R^{15'}$ 是4-甲

氧基-苯基、4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯基、4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基、4-[1-(2-甲氧基-乙基)-哌啶-4-基]-苯基、4-(4-丙基-哌嗪-1-基)-苯基、3-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙酰基、3-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙酰基、4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基、4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯基、4-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯基、4-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯基、4-哌嗪-1-基-苯基、4-[4-(羧酸叔丁酯)哌嗪基-1-基]-苯基、3-[4-(羧酸叔丁酯)哌嗪基-1-基]-苯基、3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基、3-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基、3-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯基、3-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯基、3-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯基、3-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基、3-(2-二甲基氨基-乙氧基)-4-甲氧基-苯基、4-二甲基氨基甲基-苯基、4-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-苯基、4-[1-(2-甲氧基-乙基)-哌啶-4-基甲基]-苯基、4-甲氧基-3-(2-哌啶-1-基-乙氧基)-苯基、3-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-2,2-二甲基-丙酰基、3-[4-(4-丙基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙酰基、3-(4-吡咯烷-1-基-苯基)-丙酰基、3-[3-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-2,2-二甲基-丙酰基、3-{3-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯基}-2,2-二甲基-丙酰基、3-{3-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯基}-2,2-二甲基-丙酰基、3-(3-吡咯烷-1-基-苯基)-丙酰基、2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-异丁基、2-(4-甲氧基-苯基)-乙酰基、2-(3-甲氧基-苯基)-乙酰基、2-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-乙酰基、2-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-乙酰基、2-[4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯基]-乙酰基、2-(4-吡咯烷-1-基-苯基)-乙酰基、2-[4-(2-二乙基氨基-乙基氨基)-苯基]-异丁基、2-(4-吡咯烷-1-基-苯基)-异丁基。

特别优选的化合物如在 WO 03/020278A1, 第 17-52 页所公开的实例, 例如:

N-[2-氰基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺;

N-[2-氰基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺;

N-[2-氰基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[1-(2-甲氧基-乙基)-

哌啶-4-基]-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-2,2-二甲基-3-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-2,2-二甲基-3-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-哌嗪-1-基-苯甲酰胺;
4-(4-{[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-氨基甲酰基}-苯基)-哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

4-(3-{[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-氨基甲酰基}-苯基)-哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-甲氧基-3-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(2-二甲基氨基-乙氧基)-4-甲氧基-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-二甲基氨基甲基-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[1-(2-甲氧基-乙基)-哌啶-4-基甲基]-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-甲氧基-3-(2-哌啶-1-基-乙氧基)-苯甲酰胺;

N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-2,2-二甲基-丙酰胺;

或其可药用的盐。

作为一类供选择的 cat K 化合物的上述所有 cat K 抑制剂都可以由文献中得知。这些文献包括其制备(见例如 WO 03/020278A1, 第 9-12 页)。

二膦酸盐/酯和 cat K 抑制剂可药用的盐优选地是与碱形成的盐, 方便地是得自元素周期表的第 Ia、Ib、IIa 和 IIb 族的金属盐, 包括碱金属盐, 例如钾盐并且尤其是钠盐, 或碱土金属盐, 优选地钙盐或镁盐, 并且还可以是与氨水或有机胺形成的铵盐。

组织蛋白酶 K 抑制剂尤其优选的可药用的盐是马来酸盐, 例如 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺马来酸氢盐。

N-二膦酸盐/酯尤其优选的可药用的盐是这些其中所说二膦酸的一个、两个、三个或四个、特别是一个或两个酸性氢被可药用的阳离子、特别是

钠、钾或铵、优选钠替代的可药用的盐。

本发明一种适宜的组合物是组织蛋白酶 K 抑制剂和 N-二膦酸盐/酯。一种特别优选的组合物是本申请中所述的 N-二膦酸盐/酯与本申请中所述的组织蛋白酶 K 抑制剂。更优选的是任何组织蛋白酶 K 抑制剂与唑来膦酸或其可药用的盐、特别是与唑来膦酸的组合物。更优选的是本申请中所述的组织蛋白酶 K 抑制剂例如 N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺马来酸氢盐的组合物。

将两种治疗剂(即组织蛋白酶 K 抑制剂和 N-二膦酸盐/酯)进行给药产生了比单独将 N-二膦酸盐/酯给药的作用高的作用。其优点是使得可以使用数量更低的 N-二膦酸盐/酯来获得治疗作用。另一个优点是可以影响在使用认为是最大浓度剂量的 N-二膦酸盐/酯时响应不足的患者。

本发明另一方面提供了一种用作用于同时、独立或相继治疗哺乳动物例如人的恶性疾病的联合制剂的包含含有 N-二膦酸盐/酯的第一种可药用组合物和含有组织蛋白酶 K 抑制剂的第二种可药用组合物的产品,所说的恶性疾病例如抑制骨转移瘤、癌细胞生长、诱导癌细胞编程性细胞死亡和/或抑制肿瘤诱导的骨丢失。

在一个实施方案中,所说的位于第一种组合物中的 N-二膦酸盐/酯是本申请所述的特定的 N-二膦酸盐/酯。所说的位于第一种组合物中的 N-二膦酸盐/酯优选地是唑来膦酸或其可药用的盐。所说的位于第二种组合物中的组织蛋白酶 K 抑制剂可以是上面所定义的组织蛋白酶 K 抑制剂。所说的位于第二种组合物中的组织蛋白酶 K 抑制剂优选地选自 WO 03/020278A1(第 17-52 页)中所公开的实例,例如 N-[2-氰基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺、N-[2-氰基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氰基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[1-(2-甲氧基-乙基)-哌啶-4-基]-苯甲酰胺、N-[2-氰基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氰基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-2,2-二甲基-3-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙酰胺、N-[2-氰基

-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-2,2-二甲基-3-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-哌嗪-1-基-苯甲酰胺、4-(4-{[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-氨基甲酰基}-苯基)-哌嗪-1-甲酸叔丁酯、4-(3-{[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-氨基甲酰基}-苯基)-哌嗪-1-甲酸叔丁酯、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-甲氧基-3-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(2-二甲基氨基-乙氧基)-4-甲氧基-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-二甲基氨基甲基-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[1-(2-甲氧基-乙基)-哌啶-4-基甲基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-甲氧基-3-(2-哌啶-1-基-乙氧基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-2,2-二甲基-丙酰胺或其可药用的盐；或者是 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺或其可药用的盐，例如马来酸氢盐。

本发明提供了将各拮抗剂以相同治疗程序或方案一部分的形式独立

进行的给药,并且有时考虑推荐将各化合物在不同时间和通过不同途径进行的独立给药。因此,所说的两种组分不必在基本相同的时间被给药。在另一个实施方案中,所说的 N-二膦酸盐/酯例如唑来膦酸将在引入组织蛋白酶 K 抑制剂前几天被每天、每月、每 3 个月或每年或“请求式”给药。如果独立地共同给药,则还优选地将 N-二膦酸盐/酯组分注射给药并将组织蛋白酶 K 抑制剂以口服剂型形式进行给药。

所说的产品包括试剂盒。该试剂盒可包含一种用于包含所说独立组合物的容器如分开的小瓶或分开的箔包装,其中各隔室包含多个含有 α -肾上腺素受体拮抗剂或毒蕈碱拮抗剂的剂型(例如片剂)。

或者,该试剂盒可以不包含独立的包含活性成分的剂型,而是包含一些独立的隔室,其中各隔室包含含有独立组合物的全部剂量。这类试剂盒的一个实例是其中各凸泡包含两种药物的剂量单位的凸泡包装,例如一个包含冷冻干燥的 N-二膦酸盐/酯的小瓶而另一个包含所说组织蛋白酶 K 抑制剂的板(table)。

所说的试剂盒通常包含说明用于将所说的各组分进行给药的指导。该类说明将覆盖诸如:

- i)被(例如口服和胃肠外)给药的组分位于其中的剂型,
- ii)何时将该产品的组分以不同的剂量间隔进行给药,或
- iii)由开处方的医师确定何时需要该组合的各组分的一些情况。

该类试剂盒的一个实例是所谓的凸泡包装。凸泡包装在包装工业中是众所周知的并且被广泛用于对药物单位剂型如片剂、胶囊、瓶等等进行包装。凸泡包装通常包括一种被优选地是透明塑料材料的箔覆盖的相对坚硬材料的薄片。在包装过程中,在该塑料箔中形成了一些凹穴。这些凹穴的大小和形状与被包装的片剂或胶囊相一致。接下来,将片剂或瓶放到该凹穴中并在与塑料箔和薄片之间的凹穴方向相反一面的箔上将该相对坚硬材料的薄片密封。所说薄片的强度优选地是使得片剂或瓶可以通过向该凹穴上手动施压从而在该凹穴位置的薄片形成一个开口而被取出的该类强

度。片剂或瓶可以通过所说的开口被取出。

希望在该试剂盒上提供一种记忆辅助器，例如为片剂或胶囊旁边的数字形式，所说的数字与方案中应当摄取其所指定的片剂或胶囊的天数相一致。该类记忆辅助器的另一个实例是被印刷在卡片上的日历，例如如下“第一周，星期一，星期二，...等等...第二周，星期一，星期二，...”等等。记忆辅助器的其它变型将是显而易见的。“日剂量”可以是在给定天被服用的单个的片剂或胶囊或者一些小丸或胶囊。第一种化合物的日剂量可以由一片片剂或一枚胶囊所组成，而第二种化合物的日剂量可以由一些片剂或一些胶囊所组成并且反之亦然。该记忆辅助器应当反射这一点。

该 N-二膦酸盐/酯药物组合物可以是例如用于胃肠给药，如用于口服、直肠、气雾剂吸入或鼻给药的组合物、用于胃肠外给药，例如静脉内或皮下给药的组合物、或者用于经皮(例如被动或离子电渗疗法)给药的组合物。该 N-二膦酸盐/酯药物组合物优选地适用于胃肠外(尤其是静脉内、动脉内或经皮)给药。认为静脉内给药是特别优选的。该 N-二膦酸盐/酯活性成分优选地是胃肠外形式、最优选地是静脉内形式。该组织蛋白酶 K 抑制剂药物组合物优选地是适于口服给药的药物组合物。

被给药于体重为大约 75 kg 的温血动物的剂量通常为所说二膦酸盐/酯活性成分的单剂量为 0.002 – 20.0mg/kg，尤其是 0.01 – 10.0mg/kg，例如唑来膦酸的优选剂量为每名成人每月一次使用 4mg 或 5mg(但是可以根据所说疾病的种类和状态而进行变化)。如果需要的话，这种剂量也可以以一些(任选地为相等的)部分剂量的形式被服用。

“mg/kg”指的是 mg 药物/kg 被治疗哺乳动物(包括人)的体重。

上述剂量—以单剂量或一些部分剂量(优选单剂量)形式被给予的一可以被重复给药，例如每天一次、每周一次、每月一次、每三个月一次或每年一次。即，该药物组合物的给药方案可以为连续的每日治疗至间歇性的循环治疗。

所说的 N-二膦酸盐/酯优选地是以与用二膦酸衍生物进行的恶性疾病标准治疗所用数量相同的数量被给药的，所说的恶性疾病如肿瘤诱导的高

钙血症或 MM 的骨转移瘤或乳癌。即，N-二膦酸衍生物优选地是以同样可以有效治疗肿瘤诱导的高钙血症或骨转移瘤或乳癌的剂量被给药的，即其优选地是以同样可有效抑制骨再吸收以及转移瘤的侵袭和生长的剂量被给药的。

单剂量单位形式的制剂优选地包含约 1%至约 90%的活性成分，非单剂量单位形式的制剂优选地包含约 0.1%至约 20%的活性成分。用于口服给药的单剂量单位形式如胶囊、片剂或糖锭剂包含例如约 1mg 至约 500mg 活性成分。

用于肠和胃肠外给药的药物制剂是例如剂量单位形式的这些制剂，如糖锭剂、片剂或胶囊，并且还可以是安瓿剂。其是用本身已知的方法来进行制备的，例如可以通过常规的混合、制粒、成型、溶解或冷冻干燥方法来进行制备。

例如，用于口服给药的药物组合物可以通过将活性成分与固体载体相结合，在适宜的情况中将所得的混合物制粒，并且如果需要或必需的话在加入适宜的助剂后将该混合物或颗粒加工成片剂或糖锭剂来获得。适宜的载体尤其是填充剂，如糖类，例如乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇、纤维素制剂和/或磷酸钙类物质，例如磷酸三钙或磷酸氢钙，并且还有粘合剂，如例如使用玉米、小麦、水稻或马铃薯淀粉的淀粉糊、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素和/或聚乙烯吡咯烷酮，并且如果需要的话，还包括崩解剂，如上述淀粉，还有羧甲基淀粉、交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或藻酸或其盐，如藻酸钠。助剂尤其是流动调节剂和润滑剂，例如硅酸、滑石粉、硬脂酸或其盐，如硬脂酸镁或硬脂酸钙和/或聚乙二醇。为糖锭剂核提供可以耐受胃酸的适宜包衣，所说的包衣特别是使用任选地包含阿拉伯胶、滑石粉、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇和/或二氧化钛的浓的糖溶液、或者用于得到一种耐胃酸的包衣的位于适宜有机溶剂或溶剂混合物中的漆溶液、适宜纤维制剂如邻苯二甲酸乙酰纤维素或邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素的溶液。可以向片剂或糖锭剂包衣中加入着色剂或色素，例如用其来鉴定或表明活性成分的不同剂量。可口服给药的其它药物制剂有明胶制成的干填充的胶囊以

及由明胶和增塑剂如甘油或山梨醇制得的密封的软胶囊。所说的干填充的胶囊可包含颗粒形式例如混有填充剂如乳糖、粘合剂如淀粉和/或助流剂如滑石粉或硬脂酸镁以及适宜情况中的稳定剂的活性成分。在软胶囊中，活性成分优选地被溶解或混悬于适宜的液体如脂肪油、石蜡油或液体聚乙二醇中，还可以向其中加入稳定剂。

胃肠外制剂尤其是在各种方式如静脉内、动脉内、肌内、腹膜内、鼻内、皮内、皮下给药中都有效的可注射的液体，优选地是可静脉内注射的液体。该类液体优选地是可以在使用前制备例如由仅包含活性成分或者包含活性成分和可药用载体的冷冻干燥制剂制备的等渗的水溶液或混悬液。该药物制剂可以被灭菌和/或包含助剂，例如防腐剂、稳定剂、润湿剂和/或乳化剂、增溶剂、用于调节渗透压的盐和/或缓冲剂。优选的胃肠外形式是静脉内输注的溶液，其每单位剂量优选地包含约 1mg 到多至约 20mg 的活性成分；例如对体积为约 5 到多至约 200 ml 的输注溶液而言，例如可以在约 1 分钟到多至约 1 小时或更高的时间内进行输注。该类优选的胃肠外形式典型地是以约每周到多至一年一次的间隔进行给药的。

本发明的 cat K 药物组合物可以是例如用于肠给药如用于口服、直肠、气雾剂吸入或鼻给药的组合物、用于胃肠外给药如静脉内或皮下给药的组合物或用于经皮(例如被动或离子电渗疗法)给药的组合物。

本发明的 cat K 药物组合物优选地适于口服或胃肠外给药(尤其适于口服给药)。认为静脉内给药和口服给药是特别优选的，而且最优选口服给药。

主治医师可以根据患者的特定情况，尤其是年龄、体重、生活方式、活动水平以及视情况而定的疾病状态来选择特定的给药方式和剂量。但是，该 cat K 药物组合物优选地在每天两次或每天一次的剂量方案中被口服给药。

本发明 cat K 抑制剂的给药剂量取决于温血动物(哺乳动物)的种类、体重、年龄和个体情况以及给药形式。口服给药于约 50 至 70 kg 哺乳动物的单位剂量可包含约 0.05 至 5000mg，例如 0.5-500mg 的活性成分。每天一次口服给药的 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-

苯甲酰胺的剂量为 5 至 50mg。

单位剂量单位形式的本发明的 Cat K 抑制剂制剂优选地包含约 1% 至约 90% 的活性成分，非单位剂量形式的制剂优选地包含约 0.1% 至约 20% 的活性成分。单剂量单位形式如胶囊、片剂或糖锭剂包含例如约 0.05mg 至约 5000mg 的活性成分。

本发明肠给药和胃肠外给药的 Cat K 抑制剂药物组合物是例如这些单位剂量形式的组合物，如糖锭剂、片剂或胶囊，并且还可以是安瓿剂。其是用本身已知的方式制备的，例如可通过常规混合、制粒、成型、溶解或冷冻干燥过程来进行制备。

例如，口服给药的药物制剂可以通过将活性成分与固体载体相结合，在适宜的情况中将所得的混合物制粒，并且如果需要的话在加入适宜的助剂后将该混合物或颗粒加工成片剂或糖锭剂核。可口服给药的其它药物制剂有明胶制成的干填充的胶囊以及由明胶和增塑剂如甘油或山梨醇制得的密封的软胶囊。所说的干填充的胶囊可包含颗粒形式例如混有填充剂如乳糖、粘合剂如淀粉和/或助流剂如滑石粉或硬脂酸镁以及适宜情况中的稳定剂的活性成分。在软胶囊中，活性成分优选地被溶解或混悬于适宜的液体如脂肪油、石蜡油或液体聚乙二醇中，还可以向其中加入稳定剂。

胃肠外制剂尤其是在各种方式如静脉内、肌内、腹膜内、鼻内、皮内或皮下给药中都有效的可注射的液体。该类液体优选地是可以在使用前制备例如由仅包含活性成分或者包含活性成分和可药用载体的冷冻干燥制剂制备的等渗的水溶液或混悬液。该药物制剂可以被灭菌和/或包含助剂，例如防腐剂、稳定剂、润湿剂和/或乳化剂、增溶剂、用于调节渗透压的盐和/或缓冲剂。

用下面的实施例来对本发明进行说明，但是并不是要用其对本发明进行限制。

实施例

实施例1: 制剂

制剂的制备:将 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-[4-(1-丙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺或其马来酸氢盐溶解于 1-甲基-2-吡咯烷酮 (pyrrolidone)(NMP)和聚乙二醇 300(PEG300)(1:10,体积:体积)(二者都得自 Fluka Chemica, Buchs, 瑞士)中。将唑来膦酸溶解于 0.9%的无菌生理盐水溶液(B. Braun Medical AG, Emmenbrücke, 瑞士)中。

实施例2:特定的cat K抑制化合物和特定的二膦酸盐/酯化合物的组合在 4T1_{Luc2000}试验中的溶骨活性

方法

4T1 luc2000 小鼠乳腺癌细胞的胫骨内注射:

通过以 10 ml/kg 的剂量腹膜内给予 ketarom: 一种 100mg /kg Ketalar® 50(Parker-Davis, Zurich, 瑞士)和 10mg/kg 甲苯噻嗪(Rompun®, Bayer, Lyssach, 瑞士)的混合物将 Athymic Balb/c 雌性裸鼠(Spezialzuchten, Stein, 瑞士)麻醉。用 30 号针穿过关节软骨和骺将 1.25×10^5 位于 20 μ l HBSS 中的细胞混悬液(Invitrogen, Basel 瑞士)注射到胫骨中。在本研究中一共使用 48 只动物, 将其分为 6 组, 每组 8 只动物。治疗化合物和剂量为: 唑来膦酸 100 μ g/kg, 每周皮下给药两次; N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺或其马来酸氢盐 50mg/kg, 每天经口给药两次, 给药 7 天。第 1 组是对照 1: 溶媒处理的肿瘤细胞。第 2 组: 唑来膦酸。第 3 组: N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺或其马来酸氢盐。第 4 组: 唑来膦酸和 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺或其马来酸氢盐的组合。第 5 组是对照 3: 没有用化合物进行处理的热灭活的肿瘤细胞。第 6 组是对照 2: 没有肿瘤细胞。

IVIS Xenogen 成像, 每周两次:

在通过以 10ml/kg 的剂量将 ketarom 腹膜内给药进行麻醉前 5 分钟将萤火虫 D-荧光素(1×10^5 个细胞)钾盐溶液(Xenogen Biosciences, Cranbury,

NJ, USA)注射到动物体内(100mg/kg, 以位于 PBS 中的形式静脉内给药)。在 Ketarom 给药后 5 分钟进行成像。成像参数为: 通过滤器/填塞/打开滤器与 binning 8 接触 1 分钟。用 LivingImage 软件来对所获得的影像进行分析。

外周定量的计算机 x 线体层照相术(pQCT), 端点确定:

用配有 0.5 mm 准直管的 XCT-Research SA+(Stratec-Norland, Pforzheim, 德国)对总骨量、骨密质和骨松质的骨量进行监测。选择下面的设置来进行测量: 体元(voxel)-尺度: 0.1 mm × 0.1 mm × 0.5 mm, 扫描速度: 探查性图象(scout view) 10 mm/s, 最后的扫描 2mm/s, 1 block, contour mode 1, peel mode 2, 皮层阈值 350mg/cm³, 内部阈值 350mg/cm³。对离胫骨近端干骺端中的骺间结节 2、3、4 和 5 mm 处的切片进行分析。

在治疗开始前 5 天、开始治疗后 1 周和 2 周用 VivaCT40 进行的 MicroCT 测量:

用所述的 microCT 对骨松质的 3D 结构参数进行非侵入性测量。将小鼠用 Forene 麻醉并将其后肢牢牢固定在 vivaCT40(SCANCO Medical, Bassersdorf, 瑞士)测量用的小鼠托盘上。在约 15 μm 的标称分辨率(nominal resolution)下对与 4T1luc2000 细胞注射部位相一致的生长板下 1 mm 处(继发的松质)的 200 个切片区域进行测量(图 3)。这些测量将提供肿瘤细胞在结构参数如骨松质体积、数目、厚度、分离方面溶骨活性的直接信息以及提供连通度(连通度密度、结构模型指数)方面的信息。此外, 还可获得表明随着时间的流逝肿瘤的生长进程和化合物的疗效的影像。

双能 X-射线吸收计量术(DEXA), 端点确定:

用适于测量小动物的 Hologic QDR-1000 仪(Hologic, Waltham, MA, USA)在验尸时离体测量胫骨骨矿物质含量(BMC,mg)和骨矿物质密度(BMD,mg/cm²)。使用超高分辨率模式(行间隔为 0.0254 cm, 分辨率为 0.0127 cm)和 0.9 cm 直径的准直管。将切除下来的长骨放到 Hologic 提供的树脂平台上的 70%的酒精中用于软组织校准。对被注射的整个胫骨(L1-L3)和大约三分之一(L1)的胫骨进行测量。

统计学分析:

将由该骨研究获得的所有结果都表示为均值 $\pm$ 标准误差(SEM)。将对这些数据进行单侧方差分析(ANOVA)。用 Levene F-检验来检验方差的均匀性,并用 Dunnett 检验来检验组间的差异(显著水平: * $p < 0.05$)。所有的统计学检验都是双尾的。对化合物处理的荷瘤组与溶媒处理的荷瘤动物的差异进行检验。

如果将唑来膦酸(100 ug/kg, 每周两次, 皮下给药)、N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺或马来酸氢盐(50mg/kg, 每天两次, 经口给药)联合, 预期其将表现出优于单独用唑来膦酸进行的单一治疗的加和的抗溶骨活性。

实施例3:PC-3M2AC6前列腺实验骨转移瘤模型中的特定的cat K抑制化合物和特定的二膦酸盐/酯化合物的组合

表达荧光素酶的人前列腺癌细胞系, PC-3M2AC6:

在 Xenogen Corporation 的实验室中, 将转移性的人前列腺癌细胞系, PC-3M(得自 Prof. J.I. Fidler, M.D.Anderson Cancer Center, Houston, TX)用萤火虫荧光素酶表达载体——pGL-3(Promega)转染, 从而制得一种被称为 PC-3M2AC6 的克隆物, 在存在荧光素情况下的高光输出和保留对细胞毒性药物抗增生活性体外敏感性的基础上对其进行选择。将该 PC-3M2AC6 细胞系维持在包含 10%热灭活的 RPMI 1640 介质(都得自 Life Technologies, Grand Island, NY)中并使之扩张以进行移植。为了进行注射, 通过用 0.25%包含 1 mM EDTA 的胰蛋白酶(Life Technologies, Grand Island, NY)进行的简短的胰蛋白酶消化来在 90%的融合率下收获细胞。在收集细胞混悬液后, 立即用包含 10% FBS 的 HBSS 将胰蛋白酶灭活。将细胞用 HBSS 洗涤一次, 然后将其以 3×10^7 个细胞/mL 的浓度混悬于 HBSS 中进行移植。注射用单细胞混悬液中的细胞活力 $> 90\%$ (用台盼蓝排除测得的)。

动物

雄性无胸腺(*nu/nu*)裸鼠购自 Charles River Laboratories, Wilmington, MA。通过耳朵标记来对所说的小鼠进行确定并将其以每只笼子 4 只动物的数量饲养在没有病原体的条件下,并且在 6-8 周大时使用这些动物。在各实验中每个治疗组使用十二只小鼠。

PC-3M2AC6细胞的心内注射

PC-3M2AC6 细胞的心内注射导致了骨的移生(colonization)。将这些细胞注射到左心室中需要进行腹部手术以使心脏从隔膜中暴露出来。在手术前,通过单次腹膜内注射新制备的盐酸氯胺酮(Ketaset™, 150mg/kg)和甲苯噻嗪(Rompun™, 12mg/kg)的混合物来对小鼠进行麻醉。制造一个 10 mm 的上中线垂直切口,并使肝回缩以使得可以通过隔膜看到心脏的底部。用 27G½或 28G½针通过隔膜将肿瘤细胞混悬液(在前两个实验中为 3×10^6 个细胞/100 μ L HBSS, 在第三个试验中为 2×10^6 个细胞/100 μ L HBSS)注射到左心室中。在注射后,用 3-5 个金属闭合夹闭合腹部的切口。各动物接受 0.1mg/kg 布托啡诺(Torbugesic™)的单剂量,然后被转移到一种加热垫(37℃ -42℃)上以从麻醉中恢复过来。在恢复后,将所有的动物都转移到其笼子中。每次实验给一共 150 只小鼠注射肿瘤细胞。在手术后一周内,低百分比(<5%)的动物由于手术后的并发症而死亡。在注射肿瘤细胞后 10 天(在第三个实验中为肿瘤细胞注射后 7 天),如下所述的那样对所有存活的动物成像并选择具有适宜肿瘤的小鼠来进行给药并将其分成 12 组。所说的分类方法在平衡考虑荷瘤均值和范围的情况下进行,由此得到各组。

制剂和给药

将化合物(式 VII 的 cat K 抑制剂,例如一种下面的化合物: N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[1-(2-甲氧基-乙基)-哌啶-4-基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基

基)-嘧啶-5-基甲基]-2,2-二甲基-3-[4-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-2,2-二甲基-3-[3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯基]-丙酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-哌嗪-1-基-苯甲酰胺、4-(4-{[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-氨基甲酰基}-苯基)-哌嗪-1-甲酸叔丁酯、4-(3-{[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-氨基甲酰基}-苯基)-哌嗪-1-甲酸叔丁酯、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(4-甲基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-[4-(2-甲氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-[4-(2-乙氧基-乙基)-哌嗪-1-基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-甲氧基-3-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-(2-二甲基氨基-乙氧基)-4-甲氧基-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-二甲基氨基甲基-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-[1-(2-甲氧基-乙基)-哌啶-4-基甲基]-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-4-甲氧基-3-(2-哌啶-1-基-乙氧基)-苯甲酰胺、N-[2-氟基-4-(2,2-二甲基-丙基氨基)-嘧啶-5-基甲基]-3-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-2,2-二甲基-丙酰胺)制备成位于1%羧甲基纤维素中的混悬液,并将其以100mg/kg的剂量每天口服给药一次,给药5天/周。可以将唑来膦酸溶

解于无菌的 0.9%生理盐水溶液(B. Braun Medical AG, Emmenbrücke, 瑞士)中并将其以 100 ug/kg 的剂量皮下给药, 每周两次。

非侵入性的骨转移瘤探测和定量

用非侵入性的 IVIS 成像系统使表达荧光素酶的 PC-3M2AC6 肿瘤显形。用 LivingImage™ v.2.11 软件来对光输出进行定量。对 4 只一批的小鼠进行成像。首先, 给这些动物以 50mg/kg 的剂量静脉内注射 D-荧光素(钾盐), 然后, 通过单次腹膜内注射新制备的盐酸氯胺酮(Ketaset™, 150mg/kg)和甲苯噻嗪(Rompun™, 12mg/kg)的混合物来将动物麻醉。将被麻醉的小鼠以仰卧位置放到成像室中, 并首先对这些动物进行常规照相。在注射 D-荧光素后 15 分钟内一直对光发射进行记录。所有的图象都获取 1 分钟。然后, 将这些图象叠加到小鼠的正常照片上从而得到一些合成图象。随后, 用 LivingImage™ v.2.11 软件对这些图象的光输出进行分析。

结果的计算

在前两个实验中, 对各图像下颌骨区域中的肿瘤进行定量。在第三个实验中, 对胫骨和股骨中(联合的)的肿瘤进行分析。将抗肿瘤活性(%T/C)表示为 $\% \Delta T / \Delta C$ 的形式(在实验结束时, 将治疗组的 Δ 肿瘤平均光子计数与溶媒对照组进行比较)。

实施例4:临床研究中特定的cat K抑制化合物和特定的二膦酸盐/酯化化合物的组合

本研究的目的是:

其一个目的是确定与单独使用的4mg的唑来膦酸相比和与单独使用的N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺相比剂量增加的与4mg唑来膦酸联用的N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺在患有骨转移瘤的癌症患者中的安全性。

另一个目的是对其对患有骨转移瘤的癌症患者的骨再吸收和形成生物化学参数的功效进行评估。在功效参数中, 尿 NTX(以尿肌酸酐/NTX 比例的形式进行测量的)将是第一功效变量, 血清 NTX 和 CTX 将是第二功效变

量。此外，将对疼痛的作用(Brief pain inventory)和行为状态(ECOG-得分)进行研究。

综合研究方案

该研究是一种开放标记的随机多中心固定剂量调查试验，其用患有确诊的骨转移瘤的癌症患者对每天一次口服 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺片剂(10mg、25mg 和 50mg)和唑来膦酸 4mg 组合的三种增加的剂量强度、单独静脉内给予 4mg 的唑来膦酸、以及 25mg 和 50mg 剂量(每天一次)的 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺进行了研究。在试验期间，所有的患者都将口服服用钙和维生素 D 补充物。对各患者随访 12 周。在研究者慎重考虑试验期后进行治疗(用唑来膦酸 4mg(= Zometa® 4mg)对得自所有实体瘤的骨转移瘤和得自多发性骨髓瘤的骨损害进行治疗)。

总的来说，招募 102 名患者，将其随机分成 6 个治疗组，每组 17 名患者(所有的患者都口服使用钙和维生素 D 补充物)：

1. 在第 0、21、42 和 63 天静脉内给予 ZOMETA 4mg 并且
在第 0 至第 84 天每天一次以 10mg 的剂量经口给予 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺
2. 在第 0、21、42 和 63 天静脉内给予 ZOMETA 4mg 并且
在第 0 至第 84 天每天一次以 25mg 的剂量经口给予 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺
3. 在第 0、21、42 和 63 天静脉内给予 ZOMETA 4mg 并且
在第 0 至第 84 天每天一次以 50mg 的剂量经口给予 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺
4. 在第 0 至第 84 天每天一次以 25mg 的剂量经口给予 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺
5. 在第 0 至第 84 天每天一次以 50mg 的剂量经口给予 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺
6. 在第 0、21、42 和 63 天静脉内给予 ZOMETA 4mg(对照组)

各剂量水平有 17 名患者参与，每组可有 2 名患者中途退出，从而使得每组有 15 名可进行评估的患者。各组将包括至少 5 名患有乳癌的患者、5 名患有难以用激素进行治疗的前列腺癌的患者和 7 名具有任何肿瘤实体的患者。

以不低于 100 ml 的输注体积在至少 15 分钟内以静脉内输入形式给予 4mg 的 ZOMETA。ZOMETA 一定不能与包含 Ca^{2+} 或其它二价阳离子的溶液一起给药。对 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺的口服摄取没有限制，只是在所说治疗期中的服用时间应当相同。然后，对各患者随访 12 周以收集安全性数据和骨再吸收以及形成标记数据。

方案设计图表

时期	筛选	随机化和评估，第(1)至(6)组	评估，第(1)至(6)组
访问	1	2	3、4、5、6、7
星期	-2 星期	0	1、3、6、9、12
治疗*	无	N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺*** + Zometa**(第 1-3 组) 仅使用 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺(第 4-5 组) 仅使用 Zometa**(第 6 组)	N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺 + Zometa**(第 1-3 组) 仅使用 N-[1-(氟基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺(第 4-5 组) 仅使用 Zometa**(第 6 组)

* 所有的患者都口服钙和维生素 D 补充物(见第 3.4.2 节，钙和维生素补充物)。

** ZOMETA 4mg 是以单次输液(100 ml)的形式在不低于 15 分钟的时间内被给予的，每 3 周给药一次(即在第 2、4、5 和 6 次拜访时给药)。

*** 将包含安慰剂和 N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺的硬明胶胶囊组合物(mg)每天给药一次，对给药时间没有限制

	安慰剂	5mg	25mg	50mg
N-[1-(氰基甲基-氨基甲酰基)-环己基]-4-(1-丙基-哌啶-4-基)-苯甲酰胺马来酸酐盐	-	⁽¹⁾ 6.41	⁽²⁾ 32.05	⁽³⁾ 64.1
乳糖	210.6	276.2	250.55	218.5
淀粉	144.0	-	-	-
预胶化淀粉	-	72.0	72.0	72.0
无水胶体二氧化硅	1.8	1.8	1.8	1.8
硬脂酸镁	3.6	3.6	3.6	3.6
胶囊填充物的总重量	360.0	360.0	360.0	360.0

⁽¹⁾相当于 5mg 游离碱

⁽²⁾相当于 25mg 游离碱

⁽³⁾相当于 50mg 游离碱