



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I503121 B

(45)公告日：中華民國 104 (2015) 年 10 月 11 日

(21)申請案號：099110582

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 04 月 06 日

(51)Int. Cl. : A61K31/7052 (2006.01)

A61K31/551 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2009/04/06 美國

61/167,119

(71)申請人：大塚製藥股份有限公司 (日本) OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (JP)
日本(72)發明人：貝亞克佛 瑟吉 BELYAKOV, SERGEI (US)；都佛 布里吉 DUVALL, BRIDGET
(US)；費拉瑞斯 戴納 FERRARIS, DANA (US)；漢米爾頓 葛瑞格利
HAMILTON, GREGORY (US)；維爾 馬克 VAAL, MARK (US)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

TW 201102397A1

Laliberte J, et al. "Potent inhibitors for the deamination of
cytosine arabinoside and 5-aza-2'-deoxycytidine by human cytidine
deaminase" Cancer Chemotherapy and Pharmacology 1992;30:7-11Liu PS, et al. "Cyclic urea nucleosides. Cytidine deaminase
activity as a function of aglycon ring size" Journal of Medicinal
Chemistry 1981;24:662-666

審查人員：蔡明秀

申請專利範圍項數：27 項 圖式數：6 共 99 頁

(54)名稱

用以治療癌症之組成物及方法

COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING CANCER

(57)摘要

本文中所提供者為治療癌症之方法，其包含投予地西他濱(decitabine)併用一些化合物，該些化合物會抑制去胺酵素(其會造成地西他濱不活化作用)。

Provided herein are methods of treating cancer comprising administering decitabine in combination with compounds that inhibit the deamination enzyme responsible for the inactivation of decitabine.

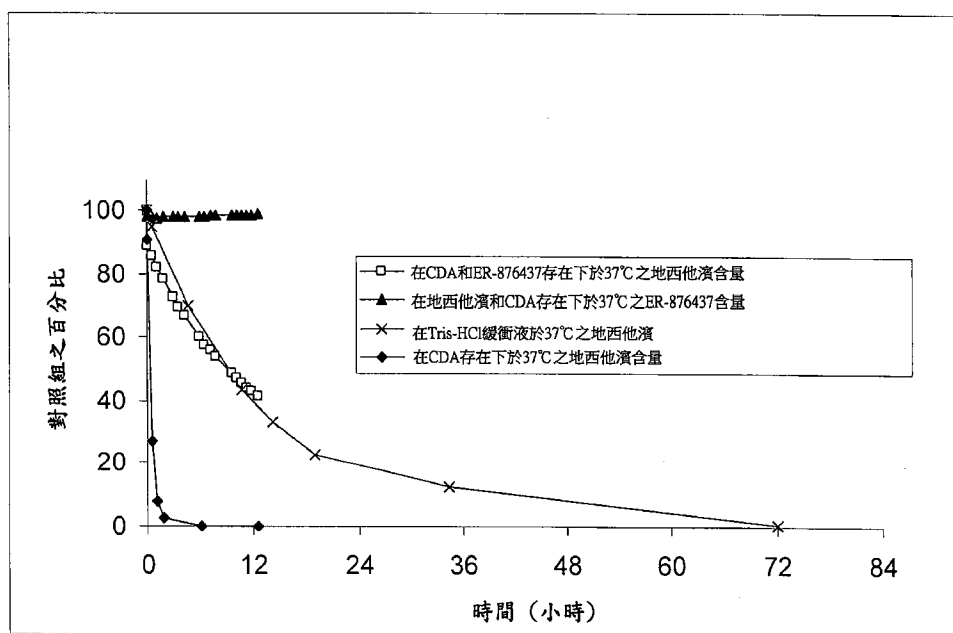
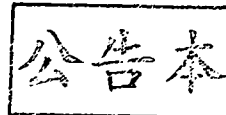


圖6



861602

發明專利說明書

(本申請書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：099110582

A61k³¹/7052 (2006.01)

※申請日：99 年 04 月 06 日

※IPC 分類：

A61k³¹/55-1 (2006.01)

一、發明名稱：(中文／英文)

用以治療癌症之組成物及方法

A61p³⁵/₀₀ (2006.01)

Compositions and methods for treating cancer

二、中文發明摘要：

本文中所提供者為治療癌症之方法，其包含投予地西他濱(decitabine)併用一些化合物，該些化合物會抑制去胺酵素(其會造成地西他濱不活化作用)。

三、英文發明摘要：

Provided herein are methods of treating cancer comprising administering decitabine in combination with compounds that inhibit the deamination enzyme responsible for the inactivation of decitabine.

四、指定代表圖：

(一)、本案指定代表圖為：第(6)圖。

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：無

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明關於治療癌症之方法，其包含投予地西他濱（decitabine）併用一些化合物，該些化合物會抑制去胺酵素（其會造成地西他濱不活化作用）。

【先前技術】

[發明背景]

在美國癌症是第二種最常見的死亡原因，僅次於心疾病，且每四人就有一人死亡。自1990年以來，僅在美國，就有近500萬生命喪失於一些形式的癌。

例如，在美國乳癌每年影響186,000名婦女，且此疾病死亡率仍然保時50年不變。疾病透過根治術、改良的根治術或腫瘤切除術之手術切除仍是這種疾病的主流治療。不幸地，高比例之單獨用腫瘤切除術治療者會將出現疾病的復發。

在美國兩性中肺癌是最常見的癌症死亡原因。肺癌可起因於源自肺之原發性腫瘤或從另一器官諸如腸或乳房擴散之繼發性腫瘤。原發性肺癌被分為三種主要類型；小細胞肺癌；非小細胞肺癌；及中皮瘤。有三種類型之非小細胞肺癌：鱗狀上皮細胞瘤、腺癌及大細胞癌。中皮瘤是癌的稀有類型，影響所謂胸膜的肺之覆蓋，且時常是因曝露於石棉所引起。

卵巢癌佔女人所有癌症之約3%類且在婦科癌中排名第

二，僅次於子宮內膜癌。在美國卵巢癌每年影響超過20,000名婦女且造成一年15,000人死亡。如果疾病在局部階段被診斷出來，5年生存率超過19%；然而，所有情形中只有約19%在此階段被診斷出來。

在過去二十年中，大多數工業化國家胰臟癌的發病率一直穩步上升，顯示越來越多的流行病學問題的特徵。

白血病是一種影響血細胞的癌類型。對白血病之現有規定的治療方案中為全身輻射及化療。然而，二種治療方法產生臨床困境：因為白血病為血液的癌症，在血液中的所有細胞及在骨髓中產生的所有細胞都必須治療以便確定腫瘤細胞的破壞。破壞全部這些細胞會使病人處於嚴重免疫抑制狀態，其會如白血病般致命。

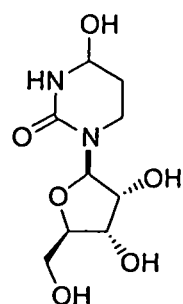
一些癌藥物被生物自然產生的酵素諸如腺苷去胺酶(ADA, EC 3.5.4.4)及胞苷去胺酶(CDA, 也稱為胞嘧啶核苷去胺酶、胞苷胺基水解酶、或EC3.5.4.5)代謝。這些酵素在人類及其他生物中分別地具有將天然胺基嘌呤及胺基嘧啶核苷類去胺基之功能。這些酵素也將以活性核苷為主之癌症藥物轉化成非活性代謝物。例如，嘌呤核苷藥物阿拉伯糖基腺嘌呤(氟達拉濱(fludarabine), ara-A)被ADA去胺基；所得化合物之母胺基被羥基置換，其與母化合物比較，作為抗癌劑為非活性的。

CDA為嘧啶再利用(salvage)路徑之成分。其藉由水解去胺作用將胞苷及去氧胞苷分別地轉化成尿苷及去氧尿苷，(Arch. Biochem. Biophys. 1991, 290, 285-292; Methods

Enzymol. 1978, 51, 401-407 ; Biochem. J. 1967, 104, 7P)

。其也將許多的合成胞嘧啶類似物(其為臨床上有效的藥物)去胺基(Cancer Chemother. Pharmacol. 1998, 42, 373-378 ; Cancer Res. 1989, 49, 3015-3019 ; Antiviral Chem. Chemother. 1990, 1, 255-262)。胞嘧啶化合物轉化成尿苷衍生物通常賦予治療活性之損失或副作用的增加。也顯示獲得抵抗胞嘧啶類似物藥物之癌時常過表現CDA(Leuk. Res. 1990, 14, 751-754)。表現高含量CDA之白血病細胞可顯現抵抗胞嘧啶抗代謝物及藉此限制該等治療的抗腫瘤活性(Biochem. Pharmacol. 1993, 45, 1857-1861)。

許多年來已知四氫尿苷(THU，或1(β -D-核呋喃基)-4-羥基四氫嘧啶-2(1H)-酮)作為胞苷去胺酶之抑制劑。



四氫尿苷
(THU)

各種報告已提議與THU共同投予增加以胞苷為主之藥物的效力及口服活性。參見，例如，Cancer Chemotherapy Reports 1975, 59, 459-465及Blood 1985, 66, 527-532。然而，早期CDA抑制劑諸如THU遭受包括酸不穩定性(J. Med. Chem. 1986, 29, 2351)及不良生物可用率(J. Clin.

Pharmacol. 1978, 18, 259)的缺點。

5-氮-2'-去氧胞苷(也稱為地西他濱(decitabine); 或品牌產品 Dacogen®中的活性劑)為治療骨髓形成不良症候群(MDS)之抗腫瘤劑, 也具有治療AML及CML之潛在效用。像其他以胞苷為主之藥物, 其口服生物可用率及效力受到被CDA去活化之限制。在狒狒鎌狀細胞模型中THU也已顯示改良地西他濱之效力(Am. J. Hematol. 1985, 18, 283-288)。此外, 另一已知CDA抑制劑, 立巴拉力(zebularine), 已顯示在具有L1210白血病之小鼠中提高地西他濱的效力(抗癌 Drugs 2005, 16, 301-308)。

因此, 持續需要可與地西他濱一起用於治療癌或腫瘤病的CDA之新穎、有效且治療上有用的抑制劑。

【發明內容】

[發明概述]

仍需要用於癌及癌相關疾病之新穎處理及治療。也需要有效治療或改善一或多種癌症徵狀的化合物。此外, 需要抑制酵素胞苷去胺酶之活性的方法。

因此, 本文中所提供者為醫藥組成物, (i)地西他濱及(ii)式I、II、III、IV、V、VI、VII或VIII之化合物, 或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆烷酯或C₂₋₆烯酯。在本發明之一觀點中, 在本文中所提供者為組成物, 其包含(i)地西他濱及(ii)式VIII之化合物, 或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆烷酯或C₂₋₆烯酯。在另一觀點中, 在本文中所提供者為一種

治療癌之方法，其包含將一種包含地西他濱之組成物投予至個體；及將一種包含式 I 之化合物、II、III、IV、V、VI、VII 或 VIII 或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆ 烷酯或 C₂₋₆ 烯酯之組成物投予至個體。

在另一觀點中，在本文中所提供者為一種治療癌之方法，其包含將一種包含地西他濱之組成物投予至個體，及將一種包含式 I 之化合物或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆ 烷酯或 C₂₋₆ 烯酯之組成物投予至個體。在此方法之一體系中，該包含地西他濱之組成物及包含式 I 化合物之組成物係同時地投予。在另一體系中，該包含地西他濱之組成物及包含式 I 化合物之組成物係按順序地投予。

在另一觀點中，在本文中所提供者為一種治療癌之方法，其包含將一種包含地西他濱之組成物投予至個體；及將一種包含式 VIII 之化合物或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆ 烷酯或 C₂₋₆ 烯酯之組成物投予至個體。在此方法之一體系中，該包含地西他濱之組成物及該包含式 VIII 化合物之組成物係同時地投予。在另一體系中，該包含地西他濱之組成物及該包含式 VIII 化合物之組成物係按順序地投予。

在另一觀點中，在本文中所提供者為醫藥組成物，其包含 (i) 地西他濱；(ii) 式 I、II、III、IV、V、VI、VII 或 VIII 之化合物，或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆ 烷酯或 C₂₋₆ 烯酯；及 (iii) 醫藥上可接受的賦形劑。

在另一觀點中，在本文中所提供者為醫藥組成物，其包含 (i) 地西他濱；(ii) 式 VIII 之化合物，或其醫藥上可接

受的鹽、C₁₋₆烷基酯或C₂₋₆烯基酯；及(iii)醫藥上可接受的賦形劑。在任何這些體系中，該癌可為血液癌或固態癌。該血液癌可為骨髓形成不良症候群或白血病。該白血病可為急性骨髓性白血病或慢性骨髓性白血病。該固態癌可為胰臟癌、卵巢癌、腹膜癌、非小細胞肺癌或轉移性乳癌。

在另一觀點中，在本文中所提供者為一種治療癌之方法，其包含將投予至個體一種醫藥包含地西他濱之組成物；及將一種包含式VIII化合物，或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆烷基酯或C₂₋₆烯基酯；及醫藥上可接受的載體之醫藥組成物投予至個體。

在一體系中，該癌症為血液癌或固態癌。血液癌可為骨髓形成不良症候群或白血病。白血病可為急性骨髓性白血病或慢性骨髓性白血病。固態癌可為胰臟癌、卵巢癌、腹膜癌、非小細胞肺癌或轉移性乳癌。

在另一觀點中，在本文中所提供者為式I化合物或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆烷基酯或C₂₋₆烯基酯於製造供欲用包含地西他濱之組成物治療的個體之癌症的藥物之用途。

在一體系中，該癌症為血液癌或固態癌。血液癌可為骨髓形成不良症候群或白血病。白血病可為急性骨髓性白血病或慢性骨髓性白血病。固態癌可為胰臟癌、卵巢癌、腹膜癌、非小細胞肺癌或轉移性乳癌。

仍在另一觀點中，在本文中所提供者為式VIII化合物或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆烷基酯或C₂₋₆烯基酯於製造

供欲用包含地西他濱之組成物治療的個體之癌症的藥物之用途。在一體系中，該癌症為血液癌或固態癌。血液癌可為骨髓形成不良症候群或白血病。白血病可為急性骨髓性白血病或慢性骨髓性白血病。固態癌可為胰臟癌、卵巢癌、腹膜癌、非小細胞肺癌或轉移性乳癌。

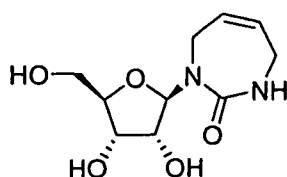
在另一觀點中，在本文中所提供者為一種預防地西他濱的去胺作用之方法，其包含利用有效量之任何式 I-VIII 之化合物。在此方法之一特殊體系中，化合物為以式 VIII 給予之化合物。

[發明之詳細說明]

將天然胺基嘌呤及胺基嘧啶核苷類去胺基之酵素在人類體中也可將活性抗癌藥物轉化成非活性化合物。例如，酵素胞苷去胺酶可快速地將某些藥物之胺基轉化成羥基，使這些化合物成為非活性。當胞苷去胺酶之抑制劑與另外被此酵素去胺基(且結果去活性)之藥物共同投予時，將達成改良之抗腫瘤活性。

胞苷去胺酶抑制劑(Z)-3,4-二氫-1-((2R,3R,4S,5R)-四氫-3,4-二羥基-5-(¹羥甲基)呋喃-2-基)-1H-1,3-二氮吡-2(7H)-酮(在本文中也稱為"ER-876400"; 1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羥基-5-(羥甲基)四氫呋喃-2-基)-3,4-二氫-1H-1,3-二氮吡-2(7H)-酮; 2H-1,3-二氮吡-2-酮、1,3,4,7-四氫-1-β-D-核呋喃基-; 或以化學註冊號 75421-11-3 給予)已描述於 Liu, P. S. 等人, J. Med. Chem. 24:

662-666 (1981)；及於美國專利第4,275,057號(該二者以其全文引用之方式併入本文中)。ER-876400以式IX給予：



IX.

(在此及別處，在化合物名和化合物結構之間存在差異時，化學結構將為對照標準)。

其他胞苷去胺酶抑制劑先前已描述於2008年10月16日申請之國際申請案號PCT/US2008/80163；於2008年10月16日申請之美國專利申請案號12/252,961；及於2007年10月16日申請之美國臨時專利申請案號60/980,397中；該等申請案全部特此以其全文引用方式合併。

本文中所提供者為一種新穎種類的胞苷去胺酶("CDA")之抑制劑。如本文中所述，這些化合物具有超越其他已知化合物之改良半衰期。在一體系中，相較於ER-876400，本發明化合物具有在模擬胃液中之改良半衰期。這些化合物可併用為了治療癌(例如骨髓形成不良症候群、白血病、胰臟癌、卵巢癌、腹膜癌、非小細胞肺癌細胞或轉移性乳癌)之另一抗癌藥劑投予。

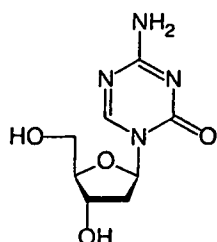
定義

下列定義係使用於此說明書各處中：

如使用於說明書及申請專利範圍中，除非內容中清楚

指出，否則單數形式 "一(a)"、"一(an)"及 "該(the)"包括複數個指示物。因此，例如提及包含 "一化合物"之醫藥組合物可涵蓋兩種或兩種以上化合物。

術語 "地西他濱"，被稱為 "DACOGEN[®]"或 "5-氮-2'-去氧胞苷"之商標藥物中的活性劑係指具有下式之化合物：



"烷基"或"烷基基團"如使用在本文中，表示完全飽和之直鏈(也就是，未分枝)、分枝或環狀烴鏈。例子包括但不限制於甲基、乙基、丙基、異-丙基、丁基、異-丁基、三級-丁基、正戊基及正己基。在一些體系中，該烷基鏈為C₁至C₆分枝或未分枝碳鏈。在一些體系中，該烷基鏈為C₂至C₅分枝或未分枝碳鏈。在一些體系中，該烷基鏈為C₁至C₄分枝或未分枝碳鏈。在一些體系中，該烷基鏈為C₂至C₄分枝或未分枝碳鏈。在一些體系中，該烷基鏈為C₃至C₅分枝或未分枝碳鏈。在一些體系中，該烷基鏈為C₁至C₂碳鏈。在一些體系中，該烷基鏈為C₂至C₃分枝或未分枝碳鏈。在某些體系中，術語"烷基"或"烷基基團"包括環烷基，也稱為碳環。典型C₁₋₃烷基包括甲基、乙基、丙基、異丙基及環丙基。

"烯基"或"烯基基團"，如使用在本文中，係指具有一

或多個雙鍵之直鏈(也就是，未分枝)、分枝或環狀烴鏈。例子包括但不限制於乙烯基、丙烯基、異丙烯基、丁烯基、異丁烯基、三級-丁烯基、正戊烯基及正己烯基。在一些體系中，該烯基鏈為C₂至C₆分枝或未分枝碳鏈。在一些體系中，該烯基鏈為C₂至C₅分枝或未分枝碳鏈。在一些體系中，該烯基鏈為C₂至C₄分枝或未分枝碳鏈。在一些體系中，該烯基鏈為C₃至C₅分枝或未分枝碳鏈。根據另一觀點，術語烯基係指具有二個雙鍵之直鏈烴，也稱為"二烯"。在其他體系中，術語"烯基"或"烯基基團"係指環烯基基團。

"C₁₋₆烷酯"係指其中各C₁₋₆烷基基團如上述所定義之C₁₋₆烷酯。因此，醇(-OH)之C₁₋₆烷酯基團具有式-C(=O)O(C₁₋₆烷基)，其中端基氧佔據醇氧之位置。

"C₂₋₆烯酯"係指其中各C₂₋₆烯基基團如上述所定義之C₂₋₆烯酯。因此，醇(-OH)之C₂₋₆烯酯基團具有式-C(=O)O(C₂₋₆烯基)，其中端基氧佔據醇氧之位置。

除非另有說明，其中二價基團係以其化學式描述，包括二個以"-"指示之端基部分，應了解該連接從左邊讀到右邊。

除非描述立體化學或另有說明或顯示，本文中所述結構也表示包括結構的所有鏡像異構物、非鏡像異構物，及幾何(或構形)形式；例如，各不對稱中心之R及S組態，(Z)及(E)雙鍵異構物，及(Z)及(E)構形異構物。因此，本發明化合物之單一立體化學異構物以及鏡像異構物、非鏡像異

構物，及幾何(或構形)混合物係在本發明範圍內。本發明化合物之任何互變異構形式係在本發明範圍內。

此外，除非另有說明，本文中所述結構也表示包括不同處只在一或多個的富同位素原子。例如，具有本結構之化合物，除了氘或氚替換氫以外，或以富含 ^{13}C -或 ^{14}C -碳替換碳係在本發明範圍內。該等化合物可用作(例如)生物分析中之分析工具或探針。

“治療(Treatment)”、“治療(treat)”及“治療(treating)”係指逆轉、減輕、延遲本文中所述之疾病或病症的開始，或抑制本文中所述之疾病或病症描的進展。在一些體系中，治療可在一或多種症狀已發展之後投予。在其他體系中，治療可在沒有症狀下投予。例如，治療可在症狀開始之前投予至敏感個體(例如，鑑於症狀的歷史或鑑於基因或其他敏感因素、或鑑於症狀的歷史及鑑於基因或其他敏感因素)。治療在症狀已解決之後也可繼續，例如用以減輕或延緩復發。關於疾病、病症或病狀之“治療”係指：(i)減緩疾病、病症或病狀，例如抑止其發展；或(ii)減輕疾病、病症或病狀，例如使臨床症狀消退。或(iii)減緩疾病、病症或病狀及減輕減緩疾病、病症或病狀。

關於疾病、病症或病狀之“預防”係指預防疾病、病症或病狀，例如使疾病、病症或病狀之臨床症狀不發展。

“抑制(Inhibit)”、“抑制劑”及“抑制(inhibition)”係指任何以式 I-VIII 給予之化合物(或本文中所述之 CDA 抑制劑，包括但不限制於任何其鹽類、烷酯類或烯酯類)係指減

少 CDA 結合至地西他濱的能力，藉此減少 CDA 將地西他濱催化去胺基的能力。沒有受到任何理論之限制，化合物抑制 CDA 之能力可由於化合物結合至特定 CDA 蛋白質之活性位置的能力，藉此減少特定 CDA 蛋白質結合至地西他濱特別的能力。“抑制 (Inhibit)”、“抑制劑”及“抑制 (inhibition)”就此而論不表示完全預防所有的 CDA 蛋白質結合地西他濱。而是，就此而論，“抑制 (Inhibit)”、“抑制劑”及“抑制 (inhibition)”係有關 CDA 抑制劑減少地西他濱被 CDA 之酵素去胺作用的能力。在一觀點中，本發明之方法包含使細胞與有效量之 CDA 抑制劑化合物 (也就是，本發明化合物) 接觸，藉此抑制 CDA 之活性。

“患者”或“個體”如使用在本文中，表示動物個體，較佳哺乳動物個體 (例如，狗、貓、馬、牛、綿羊、山羊、猴子等)，及特別是人類個體 (包括男性及女性個體兩者，及包括新生兒、嬰兒、少年、青少年、成人類及老年個體)。“個體”也可指動物或人類的細胞或組織，體外或活體內。

術語“組合”表示於一劑量單位形式之固定組合，或組合投予之部件套組，其中本發明化合物及組合夥伴可獨立地、同時或在特別允許夥伴顯示合作 (例如相加或加乘) 效果的間隔分開地，或任何其組合的組合投予。

“醫藥上可接受”係指從藥理學或毒理學觀點來看，彼等患者可接受之特性或物質，或從關於組合物、調配物、穩定性、患者接受性、生物可用性及與其他成份之相容性

的物理或化學觀點來看，彼等製造藥物化學家可接受之特性或物質。

“醫藥上可接受的賦形劑”可表示本身不為治療劑之任何物質，其係用作向個體傳遞治療劑之載劑、稀釋劑、黏合劑或媒劑，或添加至醫藥組合物中以改良其操作或儲存性質或允許可或促進化合物或組合物形成供投藥之單位劑形。醫藥上可接受的賦形劑在醫藥技術中為熟知且係描述於（例如）Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa(例如第20版，2000年)及 Handbook of Pharmaceutical Excipients, 美國製藥協會，華盛頓，D.C.(例如分別在1986、1994及2000年之第1、2及3版)。賦形劑可提供各種功能且可描述為潤濕劑、緩衝劑、懸浮劑、潤滑劑、乳化劑、崩解劑、吸收劑、防腐劑、界面活性劑、著色劑、調味劑及甜味劑。醫藥上可接受的賦形劑的例子包括但不限制於：(1)糖諸如乳糖、葡萄糖及蔗糖；(2)澱粉，諸如玉米澱粉及馬鈴薯澱粉；(3)纖維素及其衍生物諸如羧甲基纖維鈉、乙基纖維素、纖維素乙酸酯、羥丙基甲基纖維素及羥丙基纖維素；(4)粉末黃蓍膠；(5)麥芽；(6)明膠；(7)滑石；(8)賦形劑諸如可奶脂及栓劑蠟；(9)油類，諸如花生油、棉籽油、紅花油、芝麻油、橄欖油、玉米油及大豆油；(10)二醇類，諸如丙二醇；(11)多元醇，甘油、山梨糖醇、甘露醇和聚乙二醇；(12)酯類，諸如油酸乙酯及月桂酸乙酯；(13)瓊脂；(14)緩衝劑，諸如氫氧化鎂及氫氧化鋁；(15)藻酸；(16)無熱原水；

(17)等張鹽水；(18)Ringer氏溶液；(19)乙醇；(20)pH緩衝溶液；(21)聚酯、聚碳酸酯或聚酸酐；及(22)其他使用於醫藥調配物中之非毒性可相容的物質。

“醫藥上可接受的載體”如使用在本文中係指用其調配之不破壞化合物之藥理活性的無毒載體或媒液。可使用於本發明組成物中之醫藥上可接受的載體或媒液包括但不限制於離子交換劑、鋁氧、硬脂酸鋁、卵磷脂、血清蛋白質，諸如人類血清白蛋白、緩衝劑物質諸如磷酸鹽類、甘胺酸、山梨酸、山梨酸鉀、飽和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、鹽類或電解質，諸如硫酸魚精蛋白、磷酸氫二鈉、磷酸氫鉀、氯化鈉、鋅鹽類、矽酸膠、三矽酸鎂、聚乙烯吡咯酮、以纖維素為主之物質、聚乙二醇、環糊精類、羧甲基纖維素鈉、聚丙烯酸酯類、蠟類、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇及羊毛脂。

“醫藥上可接受之鹽”係指本發明化合物之酸或鹼鹽，該鹽具有所需藥理活性且在生物學及其他方面均無不當。該鹽可與酸形成，其包括但不限制於乙酸鹽、己二酸鹽、藻酸鹽、天門冬氨酸鹽、苯甲酸鹽、苯磺酸鹽、硫酸氫鹽、丁酸鹽、檸檬酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、環戊烷丙酸鹽、二葡萄糖酸鹽、十二烷基硫酸鹽、乙磺酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡萄糖庚酸鹽、甘油磷酸鹽、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、氫氨酸鹽、氫溴酸鹽、氫碘酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、乳酸鹽、馬來酸鹽、甲磺酸鹽、2-萘磺酸鹽、烟酸鹽、草酸鹽、硫氰酸鹽、甲苯磺酸鹽及十一烷酸鹽。鹼鹽的

例子包括但不限制於鹼鹽類、鹼金屬鹽類諸如鈉及鉀鹽類、鹼土金屬鹽類諸如鈣及鎂鹽類、與有機鹼之鹽類諸如環己胺鹽類、N-甲基-D-還原葡萄糖胺，及與胺基酸諸如精胺酸及離胺酸之鹽類。在一些體系中，鹼性含氮基可用包括鹵化低級烷基諸如氯化、溴化及碘化甲基、乙基、丙基及丁基；硫酸二烷基酯諸如硫酸二甲基、二乙基、二丁基及二戊基酯；長鏈鹵化物諸如氯化、溴化及碘化癸基、月桂基、肉豆蔻基及硬脂基；及鹵化芳烷基諸如溴化苯乙基之試劑四級化。

“動物”係指具有感覺及自主運動能力且為其存在需要氧及有機食物之活有機體。

“哺乳動物”係指具有毛髮或毛皮之溫血脊椎動物。實例包括(但不限於)人類、馬、豬、牛、鼠、犬或貓物種。

“癌症”係指細胞異常生長，其傾向於以不受控方式增殖且在某些情況下轉移(擴散)。特定癌症類型包括(但不限於)公開案第US 2006/0014949號中所識別且如下之癌症：

- 心臟：肉瘤(例如，諸如血管肉瘤、纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤、脂肪肉瘤等等)、橫紋肌瘤及畸胎瘤；
- 肺：支氣管癌(例如，諸如鱗狀細胞癌、未分化小細胞癌、未分化大細胞癌、腺癌等等)、肺泡(例如，諸如支氣管)癌、肉瘤、淋巴瘤、非小細胞肺癌及中皮瘤；
- 胃腸：食道(例如，諸如鱗狀上皮細胞瘤、腺癌、平滑肌瘤、淋巴瘤等等)、胃(例如，諸如癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤等等)、胰腺(例如，諸如導管腺癌、胰島素瘤、

類癌瘤、胰腺瘤(vipoma)等等)、小腸(例如, 諸如腺癌、淋巴瘤、類癌瘤、卡波西氏肉瘤(Karposi's sarcoma)等等)、大腸(例如, 諸如腺癌等等);

- 泌尿生殖道: 腎臟(例如, 諸如腺癌、淋巴瘤、白血病等等)、膀胱及尿道(例如, 諸如鱗狀上皮細胞瘤、移行細胞癌、腺癌等等)、前列腺(例如腺癌、肉瘤)、睪丸(例如精原細胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌、畸形癌、絨毛膜癌、肉瘤、間質細胞癌、等等);

- 肝: 肝癌(例如肝細胞癌等等)、膽管癌、肝胚細胞瘤及血管肉瘤;

- 骨骼: 骨源性肉瘤(例如, 諸如骨肉瘤等等)、纖維肉瘤、惡性纖維組織細胞瘤、軟骨肉瘤、尤因氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、惡性淋巴瘤(例如, 諸如網狀細胞肉瘤)、多發性骨髓瘤、惡性巨細胞瘤脊索瘤(例如, 諸如骨軟骨性外生骨疣)、軟骨胚細胞瘤、骨樣骨瘤及巨細胞瘤;

- 神經系統: 顱骨、腦膜(例如, 諸如meningiosarcoma、神經膠瘤病等等)、大腦(例如, 諸如星形細胞瘤、神經管胚細胞瘤、神經膠質瘤、室管膜瘤、胚細胞瘤[松果腺瘤]、多形性膠質母細胞瘤、寡樹突細胞瘤、視網膜胚細胞瘤、先天性腫瘤等等)、脊髓(例如, 諸如肉瘤等等);

- 乳癌;

- 婦科: 子宮((例如, 諸如子宮內膜癌等等)、子宮頸((例如, 諸如子宮頸癌、等等)、卵巢((例如, 諸如卵巢癌

[漿液性囊腺癌、黏液性囊腺癌、未分類癌瘤]、史脫力雷迪格(Sertoli-Leydig)細胞瘤、惡性胚胎瘤(dysgerminoma)、惡性畸胎瘤等等)、陰門((例如，諸如鱗狀上皮細胞瘤、上皮內癌、腺癌、纖維肉瘤、黑色素瘤等等)、陰道(例如透明細胞癌、鱗狀上皮細胞瘤、葡萄形肉瘤(胚胎性橫紋肌肉瘤)、輸卵管(癌)等等)；

- 血液：血液(例如骨髓白血病[急性及慢性])、急性淋巴母細胞白血病、慢性淋巴球性白血病、慢性粒細胞白血病、骨髓增生病、多發性骨髓瘤、骨髓發育不良症候群等等)、霍奇金(Hodgkin)病、非霍奇金淋巴瘤；

- 皮膚：惡性黑色素瘤、基底細胞癌、鱗狀上皮細胞瘤、卡波西氏肉瘤、等等；及

- 腎上腺：神經胚細胞瘤。

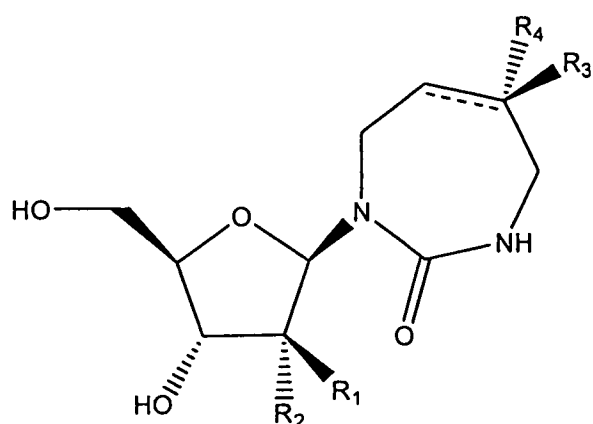
如使用在本文中，"治療有效量"係指足以引起所要生物反應之量。地西他濱的治療有效量(例如)為足以治療如本文中所述之疾病或病症的量。以式I-VIII給予之化合物的治療有效量為足以增加地西他濱之活體內曝露的量。

在說明書各處，在所命名化合物及所顯示結構之間存在差異時，化學結構應為對照標準。其中提供任何特定化合物之任何命名同義字(例如縮寫、IUPAC名、通用名稱或其他化學藥名，或註冊號)實際上有關不同化合物，則說明書將被解釋為以替代方式表示這些化合物。

本發明之化合物

本發明提供抑制 CDA 活性之化合物。在另一體系中，這些化合物可與用於治療癌(例如骨髓形成不良症候群、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、非小細胞肺癌、胰臟癌、卵巢癌及乳癌)目的之地西他濱組合投予。

本發明係針對一種醫藥組成物，其包含地西他濱之及式 I 之化合物：



I

其中：

R_1 及 R_2 之一為 F，及另一個係選自 H 及 F；

R_3 及 R_4 之一為 H，及另一個係選自 H 及 OH；

其中 ----- 為共價鍵或不存在，及當 ----- 為共價鍵時， R_4 不存在及 R_3 是平的；

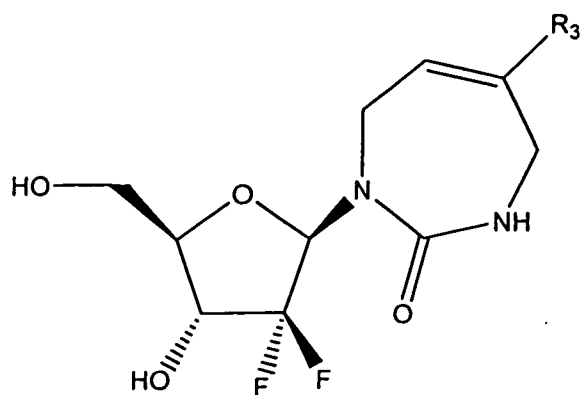
或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

如使用在說明書各處中，詞語 " R_3 是平的" 表示當平面包含 R_3 連接至其之碳以及二個碳原子緊鄰至 R_3 連接至其之碳時， R_3 駐留在相同平面。

在式 I 之一體系中， R_1 及 R_2 各自為 F。

在另一體系中，本發明係針對一種醫藥組成物，其包

含地西他濱及式 II 之化合物：

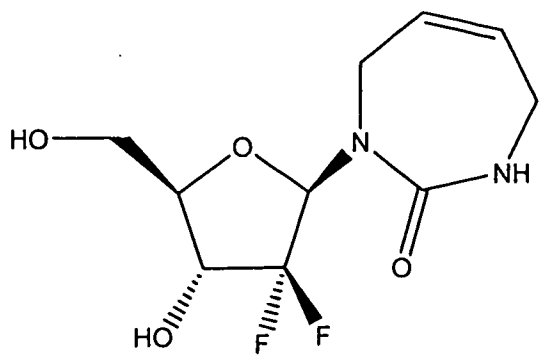


II

或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆烷酯、或C₂₋₆烯酯。

在另一觀點中，本發明係針對一種醫藥組成物，其包含地西他濱和 ER-876437(或，2H-1,3-二氮呋-2-酮、1,3,4,7-四氫-1-β-(D-2-去氧-2,2-二氟核呋喃基)-；或1-((2R,4R,5R)-3,3-二氟-4-羥基-5-(羥甲基)四氫呋喃-2-基)-3,4-二氫-1H-1,3-二氮呋-2(7H)-酮，顯示如式 VIII)。在此及別處，在化合物化學名和其結構描寫之間存在差異時，結構描寫將為對照標準。其中在結構描寫和¹H NMR數據之間存在差異時，¹H NMR數據將為對照標準。

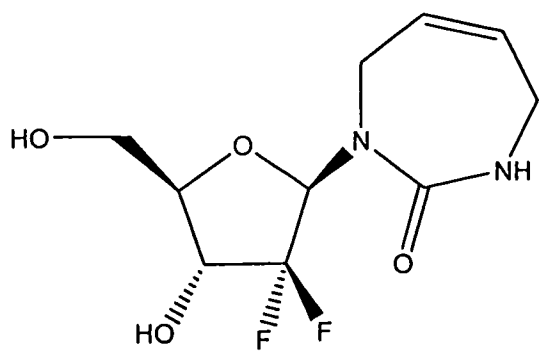
在另一觀點中，本發明係針對一種醫藥組成物，其包含地西他濱及式 VIII 之化合物：



VIII

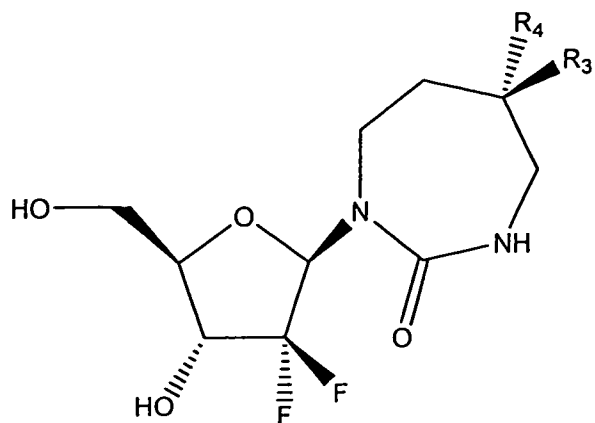
或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

在另一觀點中，本發明係針對一種醫藥組成物，其包含地西他濱及一種式VIII之化合物：



VIII.

在另一體系中，本發明係針對一種醫藥組成物，其包含地西他濱及式III之化合物：



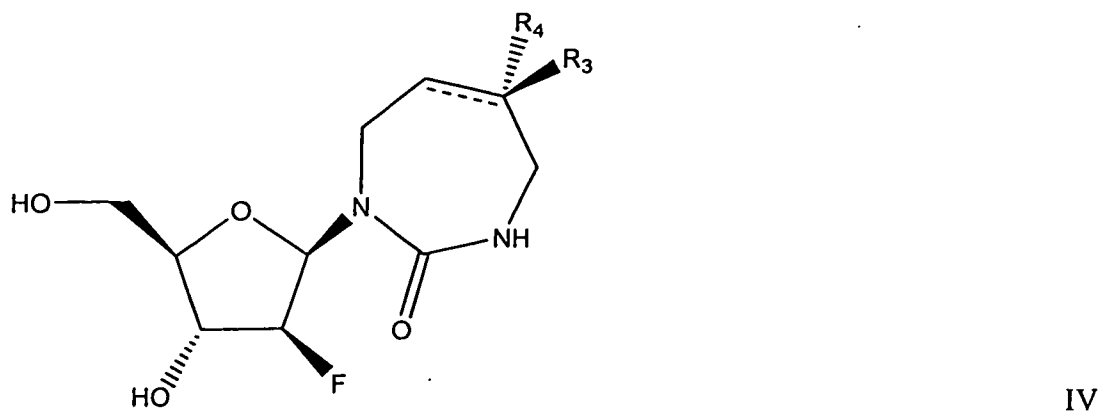
III

其中：

R_3 及 R_4 之一為H，及另一個係選自H及OH；

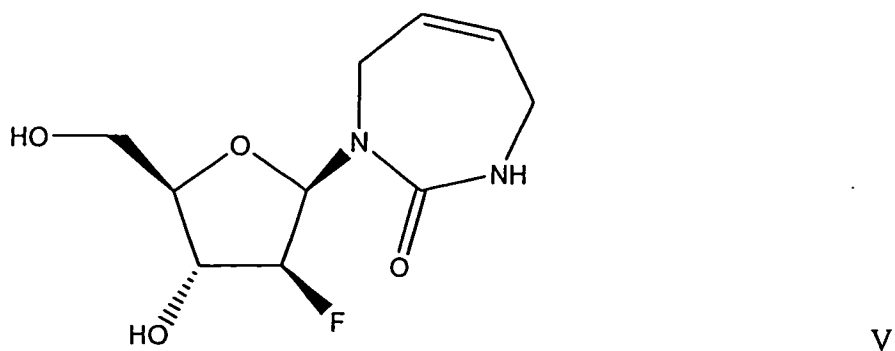
或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

在另一體系中，本發明係針對一種醫藥組成物，其包含地西他濱及式IV之化合物：



或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

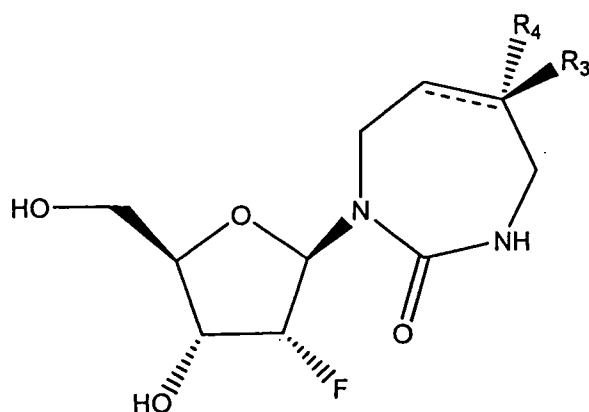
在一體系中，本發明係針對一種醫藥組成物，其包含地西他濱及式V之化合物：



或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

在另一體系中，本發明係針對一種醫藥組成物，其包

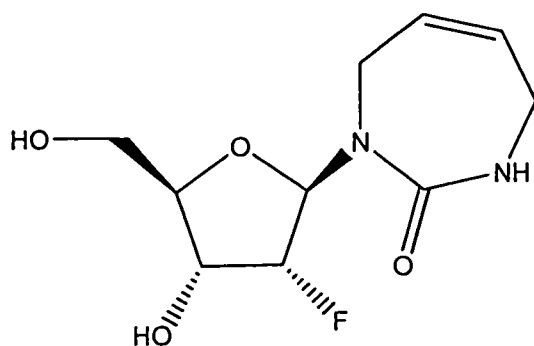
含地西他濱及式 VI 之化合物：



VI

或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

在另一體系中，本發明係針對一種醫藥組成物，其包含地西他濱之組成物及式 VII 之化合物：



VII

或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

在本發明之另一體系中，醫藥組成物可包含 (a) 任何一種式 I-VIII 之化合物以及 (b) 地西他濱。

在本發明之另一體系中，係針對投予本文所述醫藥組成物之方法。因此，本發明係針對一種治療個體的癌之方法，其包含將地西他濱投予至個體；及將一種包含任何

一種式 I-VIII 之化合物的醫藥組成物投予至個體。地西他濱及所給予之化合物可為任何一種式 I-VIII 且可相繼地或同時地投予至個體。相繼投予包括 (a) 首先投予地西他濱接著 (b) 投予包含任何一種式 I-VIII 化合物之醫藥組成物。一替代性相繼投予包括 (a) 首先投予包含任何一種式 I-VIII 化合物之醫藥組成物接著 (b) 投予地西他濱。同時投予包括地西他濱及包含任何一種式 I-VIII 化合物之醫藥組成物同時；或實質上同時投予。

當投予包含第一種化合物(例如式 I 之化合物)及第二種化合物(例如地西他濱)之分開投予(例如，相繼投予)時，如本文中所述，化合物係足夠接近地及時投予以具有所要治療效果。例如，可產生所要治療效果的每次投予之間的期間可在從幾分鐘至幾小時至幾天之範圍且可根據各化合物之性質諸如效力、溶解度、生物可用率、血漿半衰期及動力學概況決定。例如，化合物可彼此在 24-72 小時內或彼此在任何小於 24 小時時間內以任何順序投予。或者，化合物可彼此在一週內以任何順序投予。

地西他濱及任何一種式 I-VIII 之化合物被相繼地投予時，它們被分開調配且可以任何順序提供。然而，當地西他濱及任何一種式 I-VIII 之化合物被同時投予時，它們可被分開調配或合併於相同調配物中。當合併於相同調配物中時，地西他濱及任何一種式 I-VIII 之化合物可調配以使同時或在不同時間釋放至個體。包含地西他濱及任何一種式 I-VIII 之化合物二者之調配物釋放概況如下：

A)地西他濱之釋放及生物可用率，接者任何一種式 I-VIII 化合物之釋放及生物可用率；

B)任何一種式 I-VIII 化合物之釋放及生物可用率，接者地西他濱之釋放及生物可用率；

C)任何一種式 I-VIII 化合物之釋放及生物可用率同時(或實質上同時)地西他濱之釋放及生物可用率。

因此，本文中所提供者為一種治療癌之方法，其包含將一種包含地西他濱及任何一種式 I-VIII 化合物之組成物投予至需要其之個體。所要治療之癌可為慢性骨髓性白血病、黑色素瘤、骨髓發育不良、復發性白血病、結腸癌(包括結腸直腸癌)、胃腸癌、卵巢癌、急性淋巴性白血病、急性骨髓性白血病、淋巴球性白血病、前列腺的癌、慢性骨髓性白血病、結腸直腸癌、非小細胞肺癌、前列腺腫瘤、腎細胞癌、睪丸癌、乳癌、輸卵管癌、卵巢腫瘤、腹膜腫瘤、神經胚細胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、頭頸部腫瘤、小腸癌、食管腫瘤、肺腫瘤(或肺癌)、小細胞肺癌或中皮瘤。在一特殊體系中，所要治療之癌為骨髓形成不良症候群、急性骨髓性白血病(骨髓性白血病)或慢性骨髓性白血病。

在另一體系中，本文中所提供者為一種治療需要其之個體的癌之方法，其包含將一種包含地西他濱和 ER-876437 之組成物投予至個體。在另一體系中，本文中所提供者為一種治療需要其之個體的癌之方法，其包含將一種包含地西他濱和 ER-876437 之組成物投予至個體，其中該

癌係選自由骨髓形成不良症候群、白血病、胰臟癌、卵巢癌、腹膜癌、非小細胞肺癌及轉移性乳癌所組成之群組。在另一體系中，在本文中所提供者為一種治療需要其之個體的急性骨髓性白血病、骨髓形成不良症候群或慢性骨髓性白血病之方法，其包含將一種包含地西他濱和 ER-876437 之組成物投予至個體。

在另一體系中，在本文中所提供者為一種治療需要其之個體的鎌狀細胞貧血之方法，其包含將一種包含地西他濱和 ER-876437 之組成物投予至個體。在另一體系中，在本文中所提供者為一種治療需要其之個體的後他發性先驅細胞移植復發 (postallogeic progenitor cell transplant relapse) 之方法，其包含將一種包含地西他濱和 ER-876437 之組成物投予至個體。

在本發明之另一體系中，該地西他濱及任何一種式 I-VIII 化合物可與典型地投予至要治療癌之個體的其他藥劑相繼 (以任何順序) 或同時地投予。該等其他藥劑包括但不限制於止吐藥、增加食慾之藥劑、其他細胞毒素或化療藥物，及減輕疼痛劑。地西他濱及任何一種式 I-VIII 化合物可與該等其他藥劑一起或分開地調配。

與該類其他醫藥試劑之組合可產生抗癌活性之加乘性增加，或該增加可為相加性。本文中所述組成物典型地包括在組成物中較低劑量之各化合物，藉此避免在化合物之間的不良相互作用或有害副作用，諸如一些已為相似化合物所報告者。此外，各化合物的正常量當以組合物給予時

能夠在對當各每化合物單獨使用時無反應或最小反應的個體中提供較大效力。

可使用合適方法(諸如 Sigmoid-Emax 方程式(Holford, N. H. G. 及 Scheiner, L.B., Clin. Pharmacokinet. 6:429-453(1981))、Loewe 相加性方程式(Loewe, S. 及 Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114:313-326(1926))及中值效應方程式(Chou, T. C. 及 Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22:27-55(1984))計算增效作用。上文所提及之各方程式可與實驗數據一起應用以產生有助於評估藥物組合之效應的對應圖。與上文所提及之方程式相關之對應圖分別為濃度-效應曲線、等效應圖曲線及組合指數曲線。

在某些體系中，本發明提供一種任何本發明組成物之醫藥組成物。在一相關體系中，本發明供一種任何本發明組成物及任何這些組成物之醫藥上可接受的載體或賦形劑之醫藥組成物。在某些體系中，本發明包括作為新穎化學實體之組成物。

在一體系中，本發明包括一種包裝癌治療。包裝治療包括一種對於使用本發明組成物所要用途之有效量的指令包裝之本發明組成物。在其他體系中，本發明提供任何本發明組成物供製造治療個體之癌感染的藥劑之用途。

合成步驟

在此本文的範圍內，不是本發明化合物之特別想要的最終產物之成份的容易去除之基團被指定為“保護基”。官

能基以該等保護基之保護、保護基本身、以及其裂解反應係描述於(例如)標準參考著作中，諸如例如 Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformation. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Germany. 2005, 第 41627 頁 (URL: <http://www.science-of-synthesis.com> (電子版, 第 48 冊)); J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum 出版社, 倫敦及紐約 1973、於 T. W. Greene 及 P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 第 3 版, Wiley, 紐約 1999、於 "The Peptides", 第 3 冊 (E. Gross 及 J. Meienhofer 編輯), 學術出版社, 倫敦及紐約 1981、於 "Methoden der organischen Chemie" (有機化學之方法), Houben Weyl, 第 4 版, 第 15/I 冊, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974、於 H.-D. Jakubke 及 H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (胺基酸、肽、蛋白質), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, 及 Basel 1982; 及 Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (碳水化合物的化學: 單醣類及衍生物), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974。保護基團之特性係可藉由(例如)溶劑分解、還原、光解或者在生理條件下(例如, 藉由酵素裂解)容易地去除(亦即不發生不期望之副反應)。

本發明化合物之酸加成鹽類最合適於從醫藥上可接受的酸類且包括例如該等與無機酸, 例如鹽酸、氫溴酸、硫

酸或磷酸及有機酸，例如丁二酸、順丁烯二酸、乙酸或反丁烯二酸形成。其他非其醫藥上可接受的鹽類(例如草酸鹽)可用於例如分離本發明化合物，用於實驗室使用，或用於隨後轉化成醫藥上可接受的酸加成鹽。也包括在本發明範圍者為本發明之溶劑合物及水合物。

所給定之化合物鹽轉化成所要化合物鹽係藉由應用標準技術達成，其中所給定之鹽的水溶液係用鹼例如碳酸鈉或氫氧鉀的溶液處理，以釋放游離鹼，其然後萃取於適當溶劑(諸如醚)中。然後將游離鹼從水性部分分離出來，乾燥，及用所要酸處理以產生所要鹽。

某些本發明化合物之活體內可水解酯類或醯胺類可藉由在鹼存在下在惰性溶劑諸如二氯甲烷或氯仿中用所要酯之醯鹵處理該等具有游離羥基或胺基能性之化合物而形成。適當鹼類包括三乙胺或吡啶。相反地，具有游離羧基之本發明化合物可使用標準條件酯化，其可包括活化作用接著在適當鹼存在下用所要醇之處理。

根據本發明可獲得之異構物的混合物可以本身已知的方法分離成個別異構物；非鏡像異構物可被分離，例如，藉由分溶於多相溶劑混合物之間、再結晶或層析分離，例如利用矽凝膠或藉由(例如)利用逆向管柱之中壓液相層析，及可分離消旋物，例如，藉由用光學純鹽形成試劑之形成鹽類及所可獲得的非鏡像異構物之混合物的分離，例如利用分結晶，或藉由利用光學活性管柱材料之層析。

中間物及最終產物可根據標準方法處理或純化，例如

，使用層析法、分佈方法、(再-)結晶，等等。

製備地西他濱之方法在該技術中為已知的。

在另一體系中，本發明係針對一種將環脲化合物諸如咪唑啉-2-酮、四氫嘧啶-2(1H)-酮、1,3-二氮呋-2-酮或1,3,4,7-四氫-2H-1,3-二氮呋-2-酮(ER-878899)偶合至C-2-取代之四氫呋喃環之方法，其包含形成一種反應混合物，其係藉由在回條件下混合(i)包含1,3,4,7-四氫-2H-1,3-二氮呋-2-酮在反應溶劑中的之第一種溶液與(ii)包含C-2-取代之四氫呋喃環在反應溶劑中的之第二種溶液。在此體系中，當第一種溶液加至第二種溶液時，該回流條件可維持反應混合物之體積。或者，回流條件可避免反應混合物之體積增加大於50%、40%、30%、20%、10%、5%、4%、3%、2%或1%。在此體系中，反應溶劑可為沸點大於150℃之極性非質子溶劑，諸如二甲基乙醯胺(DMA)或二甲亞砜(DMSO)。根據此體系，該第二種溶液被加熱至大於150℃，及第一種溶液可經由注射器加至第二種溶液。根據此體系，該第一種溶液可加至第二種溶液經延長小於10小時、小於5小時、小於3小時、小於2小時、小於1小時或小於30分鐘之時間。根據此體系，該第二種溶液可從150℃加熱至250℃，從175℃至225℃，或從200℃至220℃。根據此體系，該C-2-經取代之四氫呋喃環可在C-3位置具有取代基，其可包括一個鹵素在C-3位置，二個鹵素在C-3位置，或二個氟在C-3位置。根據此體系，該四氫呋喃環可為ER-878898。除互相排斥的值之外，任何本段中所述之可供替

代的特徵可被一起使用。

在另一體系中，本發明係針對一種從包含 ER-878617 的混合物分離 ER-879381 之方法，其包含 (i) 使混合物與層析物質接觸，及在物質上使用甲苯及乙腈作為流動相分離混合物。根據此體系，該層析物質可為矽凝膠。根據此體系，該流動相可為於 7:1 比之甲苯:乙腈。或者，根據此體系，該甲苯:乙腈可具有大於 7:1 或小於 7:1 之比。除互相排斥的值之外，任何本段中所述之可供替代的特徵可被一起使用。

劑形

在某些體系中，本發明之組成物(例如，式 I 之化合物併用非-地西他濱 CDA 受質，例如，ER-876437 併用地西他濱(decitabine))可使用美國專利第 7,144,873 號、美國專利第 7,135,464 號、美國專利第 6,982,253 號、美國專利第 6,905,669 號及美國專利第 6,613,753 號中所描述之調配物及方法投予至需要其之個體，且該專利全部以其全文引用方式納入本文中。

在一些體系中，本發明化合物(或組合物)的醫藥組成物可為適合於口服、直腸地或藉由非經口注射投予之單位劑形。例如，在製備口服劑形之組成物時，可使用任何常用的醫藥介質，如在口服液體製劑例如懸浮液、酏劑及溶液之情形下，諸如，例如水、二醇類、油類、醇類等等；或在粉劑、藥丸、膠囊及錠劑之情形下，固體載體諸如澱

粉、糖類、高嶺土、潤滑劑、黏合劑、崩解劑等等。因為錠劑及膠囊劑投予容易，所以該等代表最有利的口服劑量單位形式，在此情形下使用固體醫藥載體。關於非經口組成物，載體通常包含滅菌水，至少在大部份，雖然可包括其他組分(例如)用以幫助溶解性。可注射溶液(例如)係使用包含鹽水溶液、葡萄糖溶液或鹽水和葡萄糖之混合物的載體製備。也可製備可注射懸浮液，在該情形中可使用適當液體載體、懸浮劑等等。在適合於經皮投予組成物之情形中，載體任意地包含滲透加強劑或適當潤濕劑，其可與小比例的任何性質之適當添加劑組合，該添加劑對皮膚不引起顯著有害的效果。添加劑可幫助投予至皮膚或可對製備所要組成物是有幫助的。這些組成物可以各種方式投予，例如，呈經皮貼片、呈擺放形式、呈軟膏。

尤其有利的是將本文中所述之醫藥組成物調配成容易投予且劑量均勻的劑量單位形式。劑量單位形式，如使用在本文中，係指適合作單一劑量之物理上不連續單位，每個單位包含計算與所要醫藥載體聯合產生所要治療效果的預定量之活性組分。該等劑量單位形式的例子為錠劑(包括刻痕或塗布錠劑)、膠囊、藥丸、粉包、薄片、可注射溶液或懸浮液、茶匙、湯匙等等，及其分隔離的多個。

通常預期第一種或第二種化合物的治療有效量將為從0.0001毫克/公斤至0.001毫克/公斤；0.001毫克/公斤至10毫克/公斤體重或從0.02毫克/公斤至5毫克/公斤體重。在一些體系中，第一種或第二種化合物之治療有效量為從

0.007毫克至0.07毫克，0.07毫克至700毫克，或從1.4毫克至350毫克。一種預防性或治病性治療之方法也可包括以每天一到五次之間吸入的方法投予組成物。

在一些體系中，第一種化合物或第二種化合物之治療有效量包括但不限於小於0.01毫克/劑量，或小於0.5毫克/劑量，或小於1毫克/劑量，或小於2毫克/劑量，或小於5毫克/劑量，或小於10毫克/劑量，或小於20毫克/劑量，或小於25毫克/劑量，或小於50毫克/劑量，或小於100毫克/劑量，或小於500毫克/劑量之量。第一種或第二種化合物投予至個體之一天次數可根據普遍用於該技術或本文中所述的各種標準決定。

潤濕劑、乳化劑及潤滑劑，諸如硫酸月桂酯鈉及硬脂酸鎂，以及著色劑、脫膜劑、塗佈劑、甜味劑、調味劑及芳香劑、防腐劑及抗氧化劑也可存在於該組成物中。

醫藥上可接受的抗氧化劑之例子包括：水溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸、光胱胺酸鹽酸鹽、硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉等等；油溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸棕櫚酸酯、丁基化羥基苯甲醚(BHA)、丁基化羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、五倍子酸丙酯、 α -生育酚、等等；及金屬螯合劑，諸如檸檬酸、伸乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸、等等。

本發明之調配物包括該適合於口服、經鼻、局部、經頰、舌下、直腸、陰道或非經口投予者。該調配物可合宜地以單位劑形存在，且可以藥學技術中任何為人熟知之方

法製備。可與載體材料結合以製造單一劑形的活性組分量通常為產生療效之該組成物的量。通常，每100%，此量將於從約1%至約99%活性組分，較佳為從約5%至約70%，最佳為從約10%至約30%之範圍。

製備這些調配物或組成物之方法包括使本發明之組成物與載體及任意地一或多種輔助組分進行結合之步驟。通常，調配物係藉由使本發明之組成物與液體載體或磨碎固體載體，或二者進行均勻且密切地結合，及然後，如果必需，將產物成形。

適合於口服投予之本發明調配物可為膠囊、扁囊劑、丸劑、錠劑、糖錠(使用經調味基質，通常為蔗糖與阿拉伯樹膠或黃蓍樹膠)、粉劑、顆粒，或為在水性或非水性液體中之溶液或懸浮液，或為水包油型或油包水型液態乳液，或為酏劑或糖漿，或為含片(使用惰性基質，諸如明膠及甘油，或蔗糖及阿拉伯樹膠)或為漱口水等等形式，各包含預定量之本發明組成物作為活性組分。本發明之組成物亦可以大丸藥、舐劑或糊劑投予。

在用於口服投予的本發明之固體劑形(膠囊、錠劑、丸劑、糖衣錠、粉劑、顆粒等)中，該活性組分係與一或多種醫藥上可接受之載體，諸如檸檬酸鈉或磷酸二鈣，或下列任一者混合：填料或增量劑，諸如澱粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇、或矽酸；黏合劑，諸如，例如，羧甲基纖維素、褐藻酸酯、明膠、聚乙基吡咯啉酮、蔗糖或阿拉伯樹膠；保濕劑，諸如，甘油；崩解劑，諸如瓊脂、

碳酸鈣、馬鈴薯或樹薯澱粉、褐藻酸、某些矽酸鹽，與碳酸鈉；溶液滯凝劑，諸如石蠟；吸收促進劑，諸如四級銨化合物；濕潤劑，諸如，例如，鯨蠟醇與一硬脂酸甘油酯；吸收劑，諸如高嶺土與膨黏土；潤滑劑，諸如滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固態聚乙二醇、硫酸月桂酯鈉及其混合物，以及著色劑。在膠囊、錠劑與丸劑之情形下，該醫藥組成物亦可包含緩衝劑。相似類型之固態組成物亦可用作使用該等賦形劑(如乳糖(lactose)或乳糖(milk sugar)以及高分子量聚乙二醇等等)之軟與硬填充明膠膠囊的填充料。

錠劑可藉由隨意地與一或多種輔助組分壓縮或模製而製得。壓縮錠劑可使用黏合劑(例如，明膠或羥丙基甲基纖維素)、潤滑劑、惰性稀釋劑、防腐劑、崩解劑(例如，羥基乙酸澱粉鈉或交聯羧甲基纖維素鈉)、界面活性劑或分散劑製備。模製錠劑可藉由在適當機器中將用惰性液體稀釋液濕化之粉末組成物的混合物模製而製得。

本發明醫藥組成物之錠劑與其他固態劑形(諸如糖衣錠、膠囊、丸劑與顆粒)可隨意地劃痕或製備塗層與外殼，諸如腸溶塗層與醫藥調配技術中廣為人知之其他塗層。彼等亦可使用(例如)各種比例之用以提供所需釋放曲線的羥丙基甲基纖維素、其他聚合物基質、脂質體或微球體加以調配，以便提供緩慢或受控釋放其中之活性組分。彼等可藉由(例如)經由保留細菌之過濾器過濾、或藉由混入呈可溶解在滅菌水中之滅菌固態組成物形式的滅菌劑，或一

些其他在使用前可注入之滅菌介質而滅菌。這些組成物亦可隨意地含有失透劑，且可為僅在或較佳係在腸胃某些部分中隨意地以延緩方式釋放該(等)活性組分。可使用之包埋組成物的例子包括聚合物質與蠟。該活性組分亦可呈微膠囊化形式，需要時，具有一或多種之上述賦形劑。

本發明組成物之口服投予用液態劑形包括醫藥上可接受之乳液、微乳液、溶液、懸浮液、糖漿與酏劑。除了活性組分之外，該液態劑形可包含該技術中常用之惰性稀釋劑，諸如，例如，水或其他溶劑、助溶劑與乳化劑，諸如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油類(特別是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄欖油、蓖麻油與芝麻油)、甘油、四氫呋喃醇、聚乙二醇與山梨醇酐之脂肪酸酯，及其混合物。

除了惰性稀釋劑之外，該口服組成物亦可包括佐劑諸如濕潤劑、乳化與懸浮劑、甜味劑、調味劑、著色劑、香料與防腐劑。

除了該等活性組成物之外，懸浮液可包含懸浮劑，例如乙氧基化異硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇與山梨醇酐酯、微晶纖維素、偏氫氧化鋁、膨土、瓊脂與黃蓍樹膠，及其混合物。

供直腸或陰道投予之本發明醫藥組成物的調配物可呈栓劑狀，其可藉由混合一或多種本發明之組成物與一或多種適當非刺激性賦形劑或載體而製備，該等賦形劑或載體

包含例如可可脂、聚乙二醇、栓劑蠟或水楊酸酯，且其在室溫下呈固態但在體溫下呈液態，且因此會在直腸或陰道腔中熔融並釋放該活性組成物。

適合於陰道投予之本發明調配物也包括子宮托、棉塞、乳霜、凝膠、糊劑、泡體、或噴霧調配物，其包含該等在該技藝中已知為適當的載體。

用於本發明組成物之局部或經皮投予的劑形包括粉劑、噴霧、軟膏、糊劑、乳霜、洗劑、凝膠、溶液、貼片及吸入劑。該活性組成物可在滅菌條件下與醫藥上可接受之載體，及與任何可能需要之防腐劑、緩衝劑或推進劑混合。

該軟膏、糊劑、乳霜及凝膠除了本發明活性組成物之外，可包含賦形劑，諸如動物與植物脂肪、油、蠟、石蠟、澱粉、黃蓍膠、纖維素衍生物、聚乙二醇、聚矽氧、膨土、矽酸、滑石與氧化鋅，或其混合物。

粉劑與噴霧除了本發明組成物之外，可包含賦形劑，諸如乳糖、滑石、矽酸、氫氧化鋁、矽酸鈣與聚醯胺粉末，或這些物質混合物。噴霧可額外包含習知推進劑，諸如氟氯烴類與揮發性未經取代烴類，諸如丁烷與丙烷。

經皮貼片具有提供本發明組成物受控制輸送至身體的附加優點。該類劑形可藉由將該組成物溶解或分散於適當介質中而製得。亦可使用吸收加強劑以提高該組成物穿過皮膚的通量。此種通量率可藉由提供速率控制膜或將該活性組成物分散在聚合物基質或凝膠中而加以控制。

眼科調配物、眼用軟膏、粉劑、溶液等亦被視為在本發明範圍內。

適合於非經口投予之本發明醫藥組成物包含一或多種本發明化合物與一或多種醫藥上可接受之滅菌等滲壓水性或非水性溶液、分散液、懸浮液或乳液，或可只在使用前才重新組成滅菌注射溶液或分散液的滅菌粉末，其可包含抗氧化劑、緩衝劑、抑菌劑、可使該調配物與預期接受者的血液等滲壓之溶質，或懸浮劑或增稠劑。

可用於本發明醫藥組成物之適當水性與非水性載體的例子包括水、乙醇、多元醇(諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其適當混合物、植物油(諸如橄欖油)，及可注射有機酯(諸如油酸乙酯)。適當流性可(例如)藉由使用塗佈材料(諸如卵磷脂)、在分散液情況下藉由維持所需之粒子大小，以及藉由使用界面活性劑而加以維持。

這些組成物亦可包含佐劑諸如防腐劑、濕潤劑、乳化劑及分散劑。藉由包括各種抗菌與抗真菌劑(例如對羥苯甲酸酯、氯丁醇、酚山梨酸等等)而確保防止微生物之作用。亦可能需要將等滲壓劑(諸如糖、氯化鈉等等)包括在該組成物中。此外，可藉由包括延緩吸收之藥劑(諸如一硬脂酸鋁及明膠)而使可注射醫藥形式具有長期吸收性。

在一些情形中，為了延長藥物之效果，需要減緩從皮下或肌內注射之藥物的吸收。此可以藉由使用具有不良水溶性之結晶或非晶材料的液態懸浮液而達成。該藥物的吸收速率則視其溶解速率而定，因此可視結晶大小與晶形而

定。或者，非經口投予之藥物形式的延緩吸收係藉由將該藥物溶解或懸浮在油性賦形劑中而達成。

注射貯存形式(injectable depot form)係藉由在可生物降解聚合物(諸如聚丙交酯-聚乙交酯)中形成標的組成物之微膠囊基質而製得。視藥物對聚合物之比率及所使用之特定聚合物的性質而定，藥物釋放速率可加以控制。其他可生物降解聚合物的例子包括聚(原酸酯)與聚(酐)。貯存注射調配物亦可藉由將該藥物截留於與體組織可相容之脂質體或微乳液中而製備。

本發明之製劑可以口服、非經口、局部或直腸給藥。彼等當然可以適合於每一種投予途徑的形式給予。例如，彼等可以錠劑或膠囊形式、藉由注射、吸入、洗眼劑、軟膏、栓劑、等等投予、藉由注射投予、灌注或吸入投予；藉由洗劑或藥膏局部投予；及藉由栓劑直腸投予。口服或IV投予為較佳。

詞組"非經口投予"及"非經口地投予"如使用在本文中，表示除腸內及局部投予之外的投予模式，通常藉由注射，且包括但不限於靜脈內、肌內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蜘蛛膜下、椎管內與胸骨內注射及灌注。

"系統性投予"、"系統性地投予"、"周邊投予"與"周邊地投予"詞組表示化合物、藥物或其他材料之投予非直接投至中樞神經系統，致使其進入病患的系統，因而進行代謝與其他類似過程，例如，皮下投予。

此等化合物可藉由任何適用投予路徑投予至人類與其他動物以供治療，該等投予路徑包括口服、鼻內(諸如藉由例如噴霧)、直腸、陰道內、非經口、腦內與局部(諸如藉由粉劑、軟膏或滴劑，包括經頰與舌下)。

不論所選用之投予路徑為何，本發明之化合物(其可以適當水合形式使用)或本發明之醫藥組成物係藉由習知方法調配成醫藥上可接受之劑形。

本發明醫藥組成物中之活性組分的實際劑量含量可改變，以使獲得一有效達成特定病患、組成物與投予模式所要之治療反應而對病患無毒性的活性組分之量。

該選擇之劑量含量將視各種因素而定，該等因素包括所使用之特定本發明化合物或其酯、鹽或醯胺的活性、投予路徑、投予時間、所使用之特定化合物的排泄速率、治療期間、與所使用的特定化合物併用之其他藥物、化合物或材料、所要治療之病患的年齡、性別、體重、狀態、一般健康、與先前病史及在醫藥技術中為人熟知的類似因素。

醫生或獸醫可決定及指示所需醫藥組成物的有效量。例如，該醫生或獸醫可以低於為了達成所要治療效果所需要之含量作為該藥學組成物中所使用之本發明化合物的劑量開始，並逐漸提高該劑量直到達成所要效果為止。

通常，本發明化合物的適當每日劑量將為該化合物有效產生治療效果之最低劑量的量。此種有效劑量通常視上述因素而定。通常，當用於所指示止痛效果時，對病患而

言本發明化合物之靜脈內與皮下劑量將在每日每公斤體重使用約0.0001至約100毫克，較佳為每日每公斤約0.01至約50毫克，且仍更佳為每日每公斤從約1.0至約100毫克之範圍。有效量為治療毒菌感染之量。

視需要，該活性化合物的有效每日劑量可在當天以適當間隔分成二、三、四、五、六或更多子劑量分開投予，隨意地以單位劑形進行。

雖然本發明化合物可能單獨投予，但較佳係以醫藥組成物投予該化合物。

【實施方式】

實例

製備本發明化合物的一般方法及實驗係陳述於下文。

實例 I：化學合成

除非另有說明，對於實例 I.B.-I.C.，溶劑去除係使用 Büchi 旋轉蒸發器進行。分析型層析法係使用 Hewlett Packard 系列 1100 HPLC 進行及製備型層析法係使用 Biotage SP4 儀器或 Waters 4000 儀器使用 Chiralpak IA 管柱在中性條件下進行，除非另有說明。質譜係使用 Waters Acquity UPLC/MS 系統記錄。同類或可比較的儀器係用於其餘的實例。

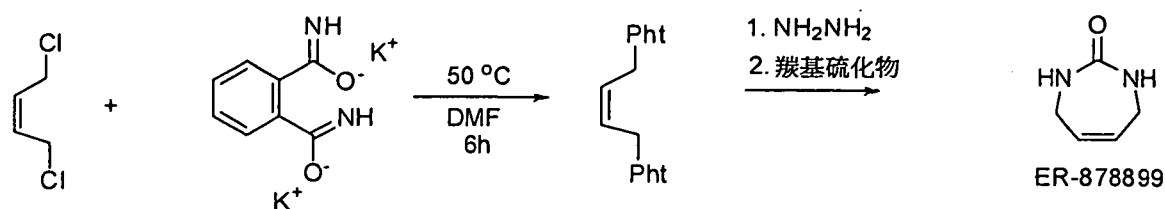
NMR 光譜係使用 Varian 400 MHz 光譜儀 (實例 I.B.-I.C.) 或使 Fluka 400 MHz 光譜儀 (實例 I.A. 及 I.D.) 記錄。

實例 I.A. : ER-876437

I.A.1. : ER-878899(1,3,4,7-四氫-2H-1,3-二氮呋-2-酮)的製備

ER-878899係如下列流程所概述製備。此製備係描述於J. Med. Chem. 1981, 24, 662-666; J. Org. Chem. 1980, 45, 485-489及Bull. Soc. Chim. Fr. 1973, 198-292中, 其全部特此以其全文引用方式併入。

流程 I



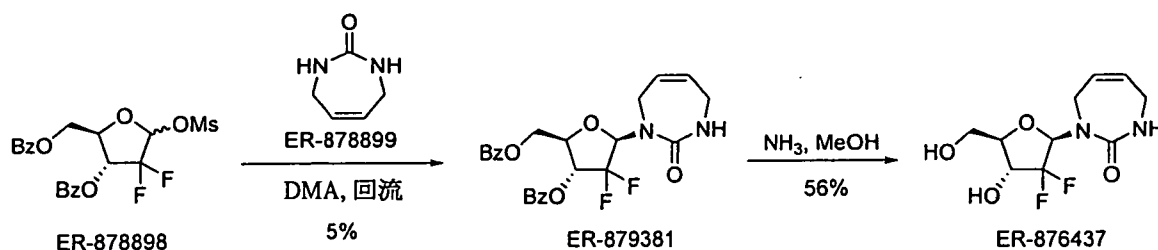
形成根據流程 I製造之 ER-878899需要機械攪拌。羰基硫化物可使用(大直徑的)玻璃吸管且不是針通入反應燒瓶中, 其由於在反應期間固體形成而傾向於阻塞。在反應結束時, 過濾反應介質中的不溶物質, 和 ER-878899可存在於濾餅中。

流程 II

I.A.2. : ER-876437的製備

ER-878899, 根據 I.A.1.製備, 係如下所述使用於流程 II中。

流程 II



1-(3,3-二氟-4-苯甲醚基-5-苯甲氧基甲基-四氫-呋喃-2-基)-1,3,4,7-四氫-[1,3]二氮吡-2-酮(ER-879381)。將在上示流程 II 中之市售甲烷磺酸酯 ER-878898(3.8 克，8.3 毫莫耳)及脲 ER-878899 (900 毫克，8.0 毫莫耳)加至二甲基乙醯胺(DMA)(400 毫升)。一旦加熱(170℃)，反應成份溶解。將溶液在氮氛圍下加熱過夜(15 小時)。

然後在真空中除去 DMA。將殘餘物再懸浮於 EtOAc(150 毫升)中且然後用水(2×75 毫升)洗滌。將合併之有機層經過 MgSO₄ 乾燥，過濾，及在真空中濃縮。將該物質利用 SiO₂ 進行層析並用 50% EtOAc/己烷溶析。將層析之後所得物質為未解析 α/β 變旋異構物。然後使用正相製備型 HPLC 將該等變旋異構物分離(50% EtOAc/己烷等強度，10 毫升/分鐘，R_t = 25.7 分鐘)；管柱：phenomenex luna 10μ，矽石 100A，250×21.20 毫米；折射率檢測器。β 變旋異構物 ER-879381 以 >90% 純度分離(10% 變旋異構物，R_t. 24 分鐘)。¹H NMR(CDCl₃) δ 8.05(m, 4H), 7.59(m, 2H), 7.43(m, 4H), 5.99(m, 1H), 5.72(m, 2H), 5.54(m, 1H), 4.77(dd, J=12.1, 3.4 Hz, 1H), 4.65(br s, 1H), 4.56(dd, J=12.4,

4.0 Hz, 1H), 4.38(m, 1H), 3.80(m, 4H)。

1-(3,3-二氟-4-羥基-5-羥甲基-四氫-呋喃-2-基)-1,3,4,7-四氫-[1,3]二氮呋-2-酮(ER-876437)。將 ER-879381 溶解於在 MeOH(40 毫升)中之 NH₃(7M)中。將溶液攪拌過夜。除去溶劑及以 RP HPLC 將殘餘物純化(10%乙腈/H₂O, 流速 10 毫升/分鐘, R_t = 23 分鐘); 管柱: phenomenex luna 5μ, C18(2)100A, 250 × 21.2 毫米; 折射率檢測器。以 1.5%(62 毫克)總產率獲得所要的化合物 ER-876437。¹H NMR(D₂O) δ 5.86(m, 2H), 5.69(dd, J=14.3 Hz, 6.2 Hz, 1H), 4.14(m, 1H), 3.86(m, 1H), 3.74(m, 6H)。¹³C NMR(D₂O) δ 164.5, 127.3, 126.2, 122.1(dd, J=252, 261 Hz, 1C), 85.9(dd, J=41, 22 Hz, 1C), 77.4(d, J=8 Hz, 1C), 69.5(dd, J=22 Hz, 19 Hz, 1C), 58.9, 41.0, 40.7。

分子式(C₁₀H₁₄N₂O₄F₂+0.5 H₂O)的碳、氫及氮成份被計算為 C, 43.96; H, 5.53; 及 N, 10.25。元素分析顯示此物質包含 C, 43.99; H, 5.36; 及 N, 10.21。

將 ER-878899 偶合至甲烷磺酸酯的偶合反應之產率的邊際改良可藉由改變反應溶劑而獲得。當二甘醇二甲醚當作溶劑使用時, 可觀察到 15% 產率改良。

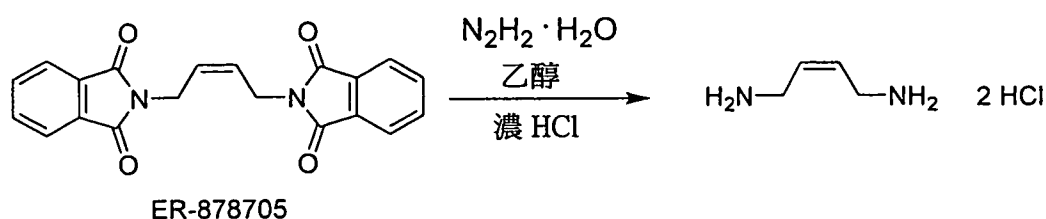
實例 I.B.: ER-876437

I.B.1.: ER-878899 (1,3,4,7-四氫-2H-1,3-二氮呋-2-酮)的製備

按照在 Feigenbaum, A. 及 Lehn, J.M., Bull. Soc. Chim.

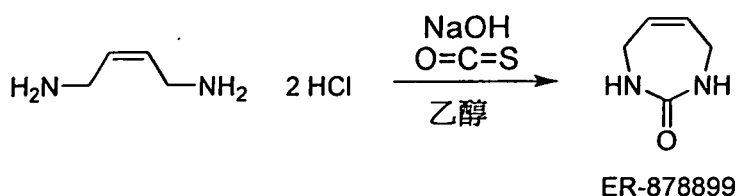
Fr. , 1973 , 198-202 及 Liu , P.S. , Marquez , V.E. , Driscoll , J.S. 及 Fuller , R.W. , J.Med. Chem. , 1981 , 24 , 662-666中所描述之步驟製備 ER-878705(下示)。

流程 III



在室溫下將水合肼(23.5毫升, 483毫莫耳)加至在裝備機械攪拌器之二頸2升燒瓶中的 ER-878705(79.7克, 230毫莫耳)在乙醇(470毫升)中之白色懸浮液。將所得白色懸浮液加熱至 50℃ 經 30分鐘以獲得透明淡黃色溶液。當白色沈澱物開始出現時, 將混合物加熱至 60℃ 經 3小時且攪拌變得非常困難。混合物至冷卻至室溫之後, 添加濃氯化氫溶液(40.3毫升, 483毫莫耳)及混合物變得容易攪拌。攪拌 30分鐘之後, 將混合物過濾並用 5×200毫升的水洗滌。將濾液濃縮至乾固體。將乾固體懸浮於 200毫升的乙醇中, 及攪拌 1小時以製造良好(nice)懸浮液。將懸浮液過濾並用 3×100毫升純乙醇洗滌。將濾餅收集(白色粒狀結晶)及乾燥以產生 34.6 (94%)克的 1,4-二氨基-2-丁烯二-鹽酸鹽。¹H NMR顯示產物包含 5:1比之小雜質鄰苯二甲醯胺。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 5.85 (ddd, J=1.6, 1.8及 4.4 Hz, 2H), 3.69 (d, J=4.4, 4H)。

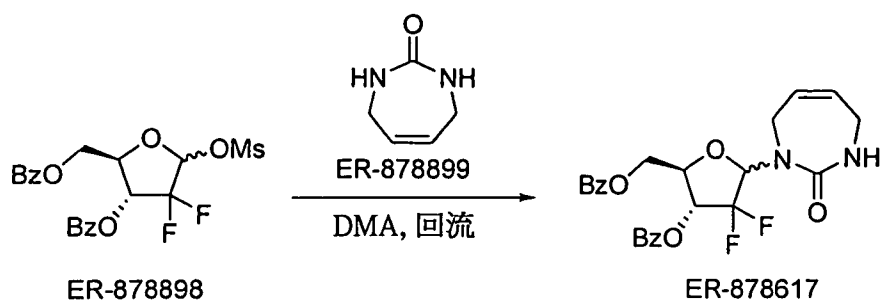
流程 IV



將 1.0M NaOH 溶液 (330 毫升, 330 毫莫耳) 加至在二頸 2 升燒瓶中的 1,4-二氨基-2-丁烯二-鹽酸鹽 (22.7 克, 143 毫莫耳) 在乙醇 (1.2 升) 中之懸浮液。一旦將 NaOH 添加至懸浮液, 混合物變成透明且無色的溶液。將溶液加熱至 70°C 並將羰基硫化物通入該加熱混合物。其後, 將混合物在回流下加熱至 80°C。3 小時之後, 停止該通入並將混合物加熱另 1.5 小時, 冷卻至室溫及藉由添加 1.0N HCl (50 毫莫耳) 中和。將混合物濃縮至乾灰色固體。將固體懸浮在 1 升的甲醇中, 攪拌 2 小時, 過濾及用甲醇洗滌。將濾液濃縮至約 200 毫升體積, 冷卻至 0°C, 過濾和用冷甲醇洗滌。將固體收集及乾燥以產生 5.05 克產物。¹H NMR 顯示其包含於 13:1 比之非常少的雜質。¹H NMR 顯示產物包含 13:1 比之非常少的雜質鄰苯二甲醯胺。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 5.91 (ddd, J=0.8, 1.2 及 1.6 Hz, 2H), 3.67 (d, J=4.0, 4H)。將母液濃縮至約 30 毫升, 冷卻至 -10°C, 過濾及用冷甲醇 (-10°C) 洗滌。將固體收集及乾燥以產生 7.10 克的產物, 其具有於 4:1 比之少量鄰苯二甲醯胺污染, 其以 ¹H NMR 測定。

I.B.2.; ER-878617 的製備

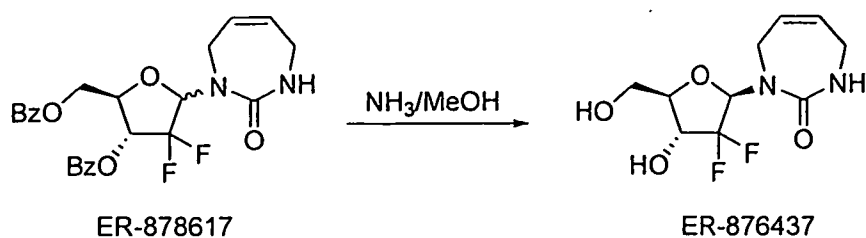
流程 V



如上述流程 V 中所描述，將 ER-878898 (1.33 克，2.92 毫莫耳，可得自 Waterstone 或 Depew Fine Chemical)) 和 ER-878899 (200.0 毫克，1.78 毫莫耳) 在無水 DMA (30 毫升) 中之溶液在 180-190°C (油浴溫度) 下加熱及攪拌，同時 DMA 慢慢地蒸餾出來。在此 DMA 蒸餾期間經 2 小時用注射泵添加在 DMA (50 毫升) 中之另外共沸 1,3,4,7-四氫-2H-1,3-二氮呋-2-酮 (800.0 毫克，7.13 毫莫耳)。添加所有材料之後，將反應在回流下保持 30 分鐘且使冷卻。將反應混合物在真空中濃縮且以層析法純化殘餘物以產生 ER-878617 (624.8 毫克，45%)，呈二個表異構物之混合物。

I.B.3.: ER-876437 的製備

流程 VI



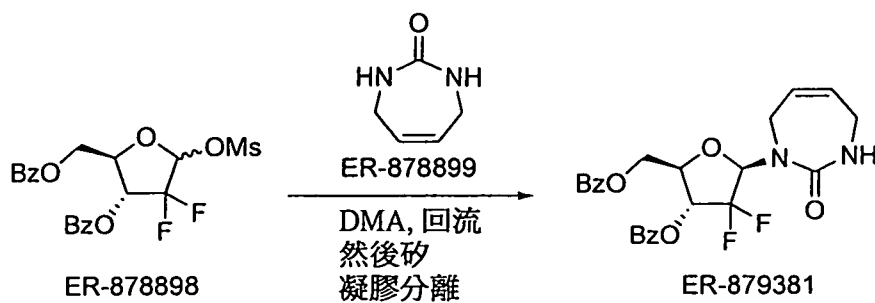
如上述流程 VI 中所描述，將 ER-878617 (624.8 毫克，1.32 毫莫耳) 在 7M 氨 / 甲醇 (53 毫升) 之溶液在周圍溫度下拌攪 18 小時。在真空中濃縮反應混合物及用製備型 TLC 純化殘餘物以產生粗產物 (274.2 毫克，78%)，呈二個表異構物之混合物。將二個表異構物之混合物借助於製備型層析用 Chiralpak IA 管柱 (日本東京 Daicel 化學藥工業公司) 分離以產生 ER-876437 (160.2 毫克)。

實例 I.C.：ER-876437

I.C.1.：ER-879381 的製備

根據下示流程 VII 製造 ER-879381。如上述實例 I.B.1 所描述製備 ER-878899。

流程 VII



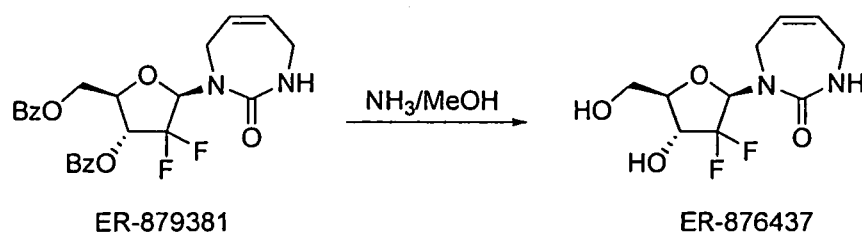
如上述流程 VII 中所描述，將 ER-878898 (8.0 克，18 毫莫耳，可得自 Waterstone 或 Depew Fine Chemical) 和 ER-878899 (1.2 克，10.7 毫莫耳) 在無水 DMA (100 毫升) 中之溶液在 200-220°C (油浴溫度) 下加熱及攪拌，同時 DMA 慢慢地

蒸餾出來。在此 DMA 蒸餾期間經 2 小時經由注射泵添加在 DMA (350 毫升) 中之另外共沸 1,3,4,7-四氫-2H-1,3-二氮呋-2-酮 (4.8 克, 42.9 毫莫耳)。添加所有材料之後, 將反應在回流下保持 30 分鐘且使冷卻。將反應混合物在真空中濃縮及合併殘餘物與來自使用相同步驟以相同規模進行之分離實驗的殘餘物。合併之殘餘物用矽凝膠層析 (移動相: 50-100% AcOEt/庚烷) 純化以產生二個表異構物之混合物 (9.38 克)。二個表異構物之混合物用矽凝膠層析 (移動相: 甲苯: 乙腈 = 7: 1) 純化以產生 ER-879381 (3.94 克)。

I.C.2.: ER-876437 的製備

如下列流程 VIII 中所示製備 ER-876437。

流程 VIII

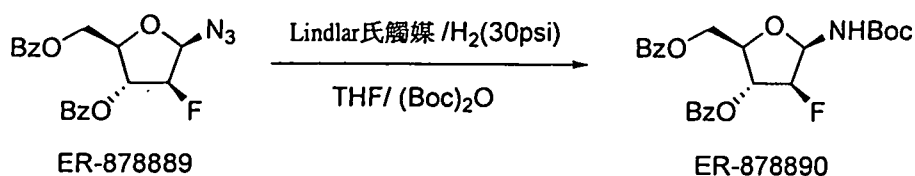


如上述流程 VIII 中所描述, 將 ER-879381 (3.8 克, 8.0 毫莫耳) 在 7M 氨/甲醇 (100 毫升) 之溶液在周圍溫度攪拌 17 小時。在真空中濃縮反應混合物及用層析法純化殘餘物 (流動相: 50-100% AcOEt/庚烷) 以產生 ER-876437 (1.89 克, 產率 89%)。

實例 I.D. : ER-878895

I.D.1. : ER-878890的製備

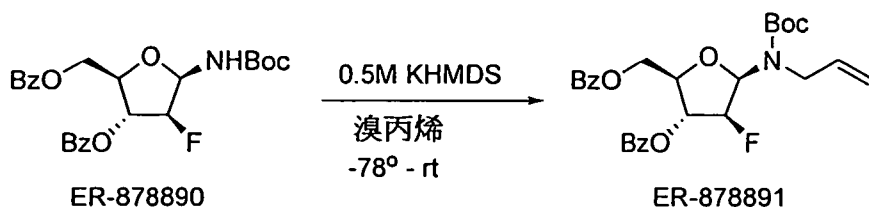
流程 IX



如上述流程 IX 中所描述，將 ER-878889 (根據 Stimac, A. 及 Kobe, J., Carbohydr. Res., 2000, 329, 317-324 製備，4.3 克，11.7 毫莫耳) 及二碳酸二 - 三級 - 丁酯 (5.4 克，24.6 毫莫耳) 在 THF (125 毫升) 中之溶液在 Lindlar 氏觸媒 (1 克) 存在下於 30 psi 攪拌過週末。將包含氫化產物之反應懸浮液通過矽藻土過濾並濃縮。用徑向層析純化殘餘物以產生 ER-878890 (2.8 克)。藉由從 AcOEt/己烷再結晶進一步純化 ER-878890 以產生具有 mp 106-108°C 之白色針狀物。

I.D.2. : ER-878891的製備

流程 X

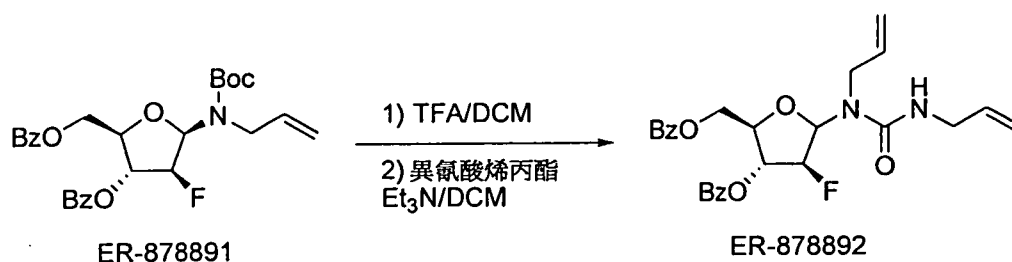


如上述流程 X 中所描述，在約 -78°C (乾冰 / 丙酮浴) 下將在甲苯 (8.5 毫升，4.25 毫莫耳) 中之 0.5M 六甲基二矽疊氮鉀

(KHMDs) 逐滴加至 ER-878890 (1.6 克, 3.48 毫莫耳) 在 THF/DMF (100 毫升 / 30 毫升) 中之攪拌溶液, 接著添加溴丙烯 (0.4 毫升, 4.6 毫莫耳)。將反應混合物攪拌過夜同時乾冰-丙酮浴慢慢地加熱到室溫 ($\sim 25^{\circ}\text{C}$)。用氯化銨飽和水溶液停止反應並用 AcOEt 萃取。將有機相用鹽水洗滌及經過無水硫酸鎂乾燥。將乾燥溶液過濾及蒸發。用徑向層析純化殘餘物以產生 ER-878891 (0.64 克)。

I.D.3.: ER-878892 的製備

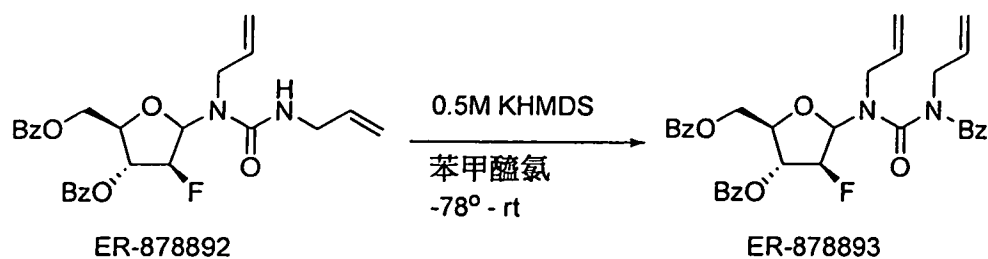
流程 XI



如上述流程 XI 中所描述, 於室溫下將三氟乙酸 (TFA) (0.5 毫升) 加至 ER-878891 (0.1 克, 0.2 毫莫耳) 在二氯甲烷 (DCM) (1 毫升) 中之攪拌溶液。ER-878891 在 1 小時消失且在真空下蒸發溶劑和 TFA。在室溫下將異氰酸烯丙酯 (0.2 毫升, 2.2 毫莫耳) 加至溶解在 DCM (2 毫升) 中之所得油。1 小時之後將反應混合物蒸發及藉由徑向層析純化以產生 ER-878892 (50% 產率), 呈二個變旋異構物之混合物 (β/α -3/1)。

I.D.4.: ER-878893 的製備

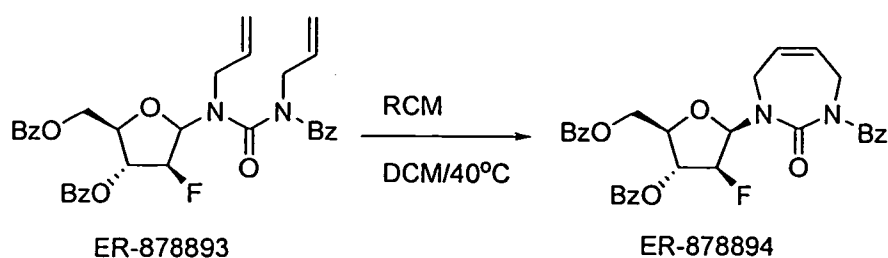
流程 XII



如上述流程 XII 中所描述，在約 -78°C (乾冰 / 丙酮浴) 下將在甲苯中之 0.5M KHMDs (1.5 毫升，0.75 毫莫耳) 加至 ER-878892 (0.27 克，0.56 毫莫耳) 在 THF (10 毫升) 中之在氮氣下的攪拌溶液，接著添加苯甲醯氯 (0.6 毫升，5.1 毫莫耳)。將反應混合物攪拌過夜且使慢慢加熱到室溫。用飽和氯化銨水溶液停止反應及用 AcOEt 萃取。用鹽水洗滌有機相，經過無水硫酸鎂乾燥，過濾和蒸發。用徑向層析純化殘餘物以產生呈變旋異構物之混合物的 ER-878893 (0.13 克，50% 產率)。

I.D.5.: ER-878894的製備

流程 XIII

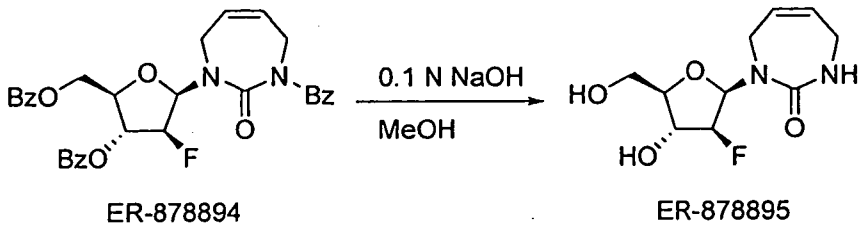


如上述流程 XIII 中所描述，在氮氣下將格拉布 (Grubb) 第二代觸媒 (~30 毫克，可得自 Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 加至 ER-878893 (0.13 克，0.22 毫莫耳) 在 DCM (120 毫升) 中之脫氣溶液。此觸媒提供環閉合置換 (RCM)。將反應混

合物在 40℃ 下加熱 1 小時接著蒸發溶劑。將 Silicycle Si-三胺 Pd 清除劑 (Silicycle Inc.) 加至溶解在 AcOEt (20 毫升) 中之殘餘物並用力地攪拌 1 小時。將反應混合物過濾及濃縮。將所得淡黃色黏稠油用徑向層析純化及極性較小之化合物被測定為 ER-878894 (40 毫克)，其在靜止時結晶。

I.D.6. : ER-878895 的製備

流程 XIV

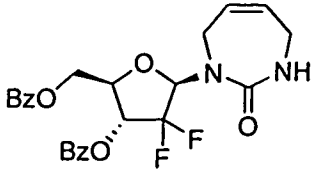
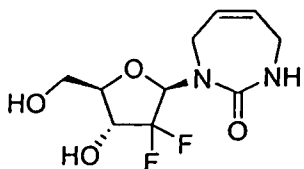
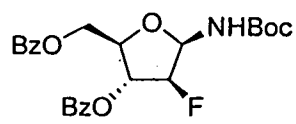
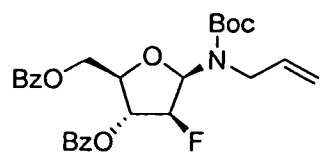


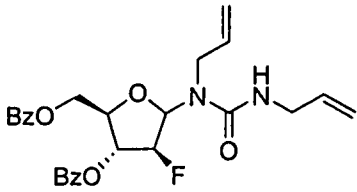
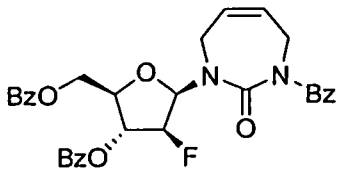
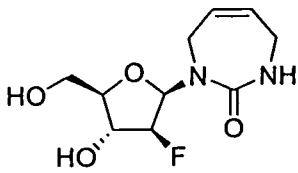
如上述流程 XIV 中所描述，將 ER-878894 (65 毫克，0.14 毫莫耳) 在 0.1 N NaOH/MeOH (3 毫升) 中的溶液攪拌 30 分鐘直到以 TLC 確認所有 UV 活性斑點都消失。在真空中除去溶劑且將粗製固體溶解在水中 (2 毫升)。用 HCl 將溶液中和及在真空中除去溶劑。藉由逆相製備型 HPLC 純化殘餘物以提供 ER-878895 (12 毫克，35%)。

表 1 提供本文中所述化合物之分析數據。

表 1. 分析數據

結構	ER-#	分析數據
	878617 無鹽	¹ H NMR: (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.05 (m, 4H), 7.55 (m, 2H), 7.45 (m, 4H), 6.22 (t, J=10.4 Hz), 5.95 (dd, J=12.8, 10.6 Hz), 5.88-5.66 (m), 5.5 (m), 4.76 (dd, J=12.4, 3.6 Hz), 4.65 (m), 4.55 (m), 4.55 (dd, J=12, 4.4 Hz), 4.36 (m), 3.94-3.64 (m) MS (ESI) <i>m/z</i> 473.31 (M+H) ⁺

結構	ER-#	分析數據
	879381 無鹽	^1H NMR: (400 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (m, 4H), 7.64 (m, 2H), 7.48 (m, 4H), 6.04 (dd, $J=12.0, 10.4$ Hz, 1H), 5.76 (m, 2H), 5.58 (ddd, $J=12.0, 6.4, 5.2$ Hz, 1H), 4.81 (dd, $J=12.4, 3.6$ Hz, 1H), 4.61 (dd, $J=12.8, 4.4$ Hz, 1H), 4.58 (broad, partially overlap with 4.61 peaks, 1H), 4.43 (dt, $J=6.4, 3.4$ Hz, 1H), 3.99-3.71 (m, 4H)
	876437 無鹽	^1H NMR: (400 MHz, CD_3OD) δ 5.83 (m, 2H), 5.69 (dd, $J=21.2, 8.0$ Hz, 1H), 4.05 (ddd, $J=14.0, 11.2, 8.4$ Hz, 1H), 3.86-3.58 (m, 7H) MS (ESI) m/z 265.17 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$
	878890 無鹽	^1H NMR: (400 MHz, CDCl_3) δ 8.11-8.00 (m, 4H), 7.66-7.53 (m, 2H), 7.52-7.40 (m, 4H), 5.86 (dd, $J=16, 10$ Hz, 1H), 5.57 (d, $J=18$ Hz, 1H), 5.41 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.23 (d, $J=50$ Hz, 1H), 4.60 (s, 2H), 1.47 (s, 9H)
	878891 無鹽	^1H NMR: (400 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 8.05 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.62 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.56 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.46 (m, 4H), 6.0 (dd, $J=18.4, 4.4$ Hz, 1H), 5.88 (m, 1H), 5.71 (dt, $J=19.6, 3.2$ Hz, 1H), 5.48 (d, $J=52$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J=17.2$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 4.61 (broad s, 3H), 3.93 (m, 2H), 1.47 (s, 9H)

結構	ER-#	分析數據
	878892 無鹽	¹ H NMR: (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.11-8.00 (m, 4H), 7.66-7.53 (m, 2H), 7.52-7.40 (m, 4H), 6.35 (dd, J=26, 3 Hz, 1H), 6.06 (dd, J=18, 5 Hz, 1H), 6.00-5.79 (m, 3H), 5.67 (dt, J=19, 4 Hz, 1H), 5.58-5.50 (m, 1H), 5.44-4.95 (m, 8H), 4.74-4.53 (m, 4H), 4.01-3.97 (m, 2H), 3.91-3.83 (m, 3H), 1.71 (s, 1H)
	878894 無鹽	¹ H NMR: (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.12 (dd, J=8.2, 1.2 Hz, 2H), 7.98 (dd, J=8.2, 1.2 Hz, 2H), 7.6 (m, 5H), 7.45 (m, 6H), 5.93 (dd, J=24.4, 3 Hz, 1H), 5.79 (s, 2H), 5.59 (dd, J=18.6, 3.2 Hz, 1H), 5.14 (dd, J=50.8, 2.8 Hz, 1H), 4.85 (d, J=18.8 Hz, 1H), 4.81 (dd, J=12, 3.8 Hz, 1H), 4.72 (dd, J=12, 4.8 Hz, 1H), 4.35 (m, 2H), 4.17 (m, 2H) MS (ESI) <i>m/z</i> 559.2 (M+H) ⁺
	878895 無鹽	¹ H NMR: (400 MHz, D ₂ O) δ 5.8 (m, 2H), 5.7 (dd, J=18.4, 5.2 Hz, 1H), 4.93 (ddd, J=53, 5.2, 3.8 Hz, 1H), 4.19 (ddd, J=22.8, 6.4, 3.6 Hz, 1H), 3.84-3.61 (m, 7H) MS (ESI) <i>m/z</i> 247.11 (M+H) ⁺

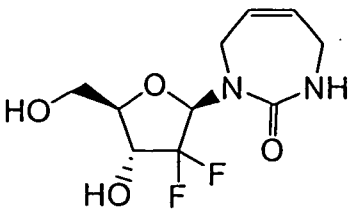
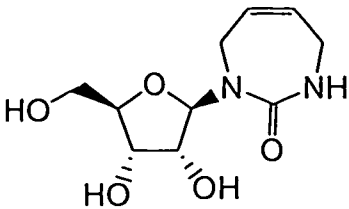
實例 II：胞苷去胺酶 (CDA) 之抑制分析

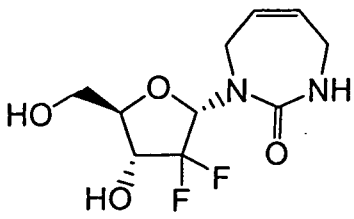
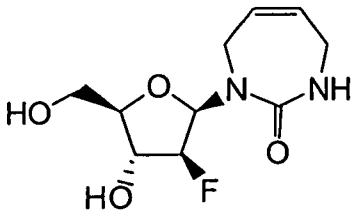
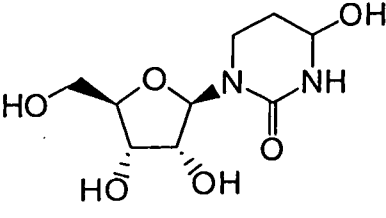
使用 Cacciamani, T. 等人 (Arch. Biochem. Biophys. 1991, 290, 285-92; Cohen R. 等人, J. Biol. Chem., 1971, 246, 7566-8; 及 Vincenzetti S. 等人, Protein Expr. Purif. 1996, 8, 247-53) 所描述之胞苷去胺酶 (CDA) 酵素分析測定本文中所述化合物之抑制活性 (IC₅₀)。使用此分析，這些

化合物之 IC₅₀係在由 CDA 催化之去胺反應所引起的受質(胞苷)減少之後測定。受質(胞苷)隨時間的消失係以反應在 280 奈米的吸光度監測。

分析反應係在 96-孔盤格式以總體積 100 微升在磷酸鉀緩衝液 (pH 7.4，20 毫米，包含 1 mM DTT) 中進行。最終反應混合物包含胞苷 (50 μM) 及純化之人類重組 CDA。將純化之酵素稀釋以使產生約 2 毫吸光度單位 / 分鐘之吸光度改變。隨時間之吸光度改變的基線測量係在受質(胞苷)添加之前進行。受質添加之後，用 FlexStation[®] 3 (分子裝置，Sunnyvale，CA) 每分鐘讀取吸光度改變經 30 分鐘。關於各化合物，使用 8 種不同濃度 (10 μM、3.33 μM、1.11 μM、0.37 μM、0.12 μM、0.04 μM、及 0.014 μM、及 0.0047 μM) 來抑制反應。計算在各反應中隨時間之吸光度改變的斜率且被 SoftMax[®] Pro5 軟體 (分子裝置，Sunnyvale，CA) 使用以獲得 IC₅₀ 值。

表 2. 測試化合物之抑制效力

結構	ER-編號	IC ₅₀ (nM)
	876437	237 ± 86 n = 4
	876400	101 ± 53 n = 4

	878519	1616 ± 643 n = 3
	878895	140 n=1
	876404	113 n = 2

實例 III：在小鼠中 IV 及 PO 投予之後 ER-876437 和 ER-876400 之藥物動力學

ER-876437 和 ER-876400 二者皆以 10 毫克 / 公斤經由尾靜脈靜脈內 (IV)，及以 10 毫克 / 公斤經由灌胃經口 (PO，或口服) 投予至小鼠。所有的劑量製備於磷酸鹽緩衝之鹽水 (PBS) 中且以 5 毫升 / 公斤之體積投予。每組五隻小鼠使用於這些研究中。在預定時間點從各鼠之尾靜脈連續地取得血液試樣。在處理血漿之前集中來自在各組中所有小鼠之血液試樣。抽出之後將集中之血液試樣旋轉 30-60 分鐘並將血漿收穫及冷凍用於分析。製備及萃取之後以 LC/MS/MS 分析試樣。觀察的濃縮 (奈克 / 毫升) 係報告於下

表 3 中。

表 3. 在小鼠中 IV 及 PO 投予之後 ER-876437 和 ER-876400 之血漿濃縮 (奈克 / 毫升)

時間(小時)	ER-876437		ER-876400	
	IV	PO	IV	PO
0.167	11838	8597	19860	7101
0.5	7686	3720	10166	7859
1	3469	4179	4206	4665
2	1450	1145	1753 ^a	1750
4	214	146	495 ^a	320
6	184	36	118	87
8	64	103	59	44
24	20	39	93	264

^a 定量限界以上

ER-876437 和 ER-876400 之藥物動力學 (PK) 參數係經由無隔分析 (non-compartmental analysis) 使用 Watson[®] 7.2 計算。所得 PK 參數呈現於下表 4 及 5 中：

表 4. 在小鼠中 IV 投予之後 ER-876437 和 ER-876400 之 PK 參數

參數	單位	ER-876437	ER-876400
劑量	毫克/公斤	10.0	10.0
$t_{1/2}$	小時	6.1	16.1
AUC_{0-t}	奈克·小時/毫升	12893	18838
$AUC_{0-\infty}$	奈克·小時/毫升	13071	20999
$AUC_{0-\infty}/D$	奈克·小時/毫升/D	1307	2100
AUC_{Extrap}	%	1.4	10.3
CL	升/公斤/小時	0.77	0.48
Vss	升/公斤	1.64	3.2

表 5. 在小鼠中 PO 投予之後 ER-876437 和 ER-876400 之 PK 參數

參數	單位	ER-876437	ER-876400
劑量	毫克/公斤	10.0	10.0
C_{max}	奈克/毫升	8597	7859
t_{max}	小時	0.167	0.5
AUC_{0-t}	奈克·小時/毫升	8579	13160
$AUC_{0-\infty}$	奈克·小時/毫升	9499	NC
$AUC_{0-\infty}/D$	奈克·小時/毫升/D	950	NC
AUC_{Extrap}	%	9.7	NC
$t_{1/2}$	小時	16.3	NC
F	%	66.5 ^a	69.9 ^a

^a 根據 AUC_{0-t} 計算

NC = 由於資料不足所以不計算

本研究之結果建議在雄性 BALB-c 小鼠中 ER-876437 和 ER-876400 的 PK 剖面相似。10 毫克 / 公斤 IV 之後，ER-876437 和 ER-876400 二者之 PK 其可以中等分佈 ($V_{ss} = 1.64$ 及 3.20 升 / 公斤，分別地)、慢廓清率 ($CL = 0.77$ 及 0.48 L/hr/公斤，分別地)，及慢排除 ($t_{1/2} = 6.1$ 及 16.1 小時，分別地) 為特徵。

ER-876437 和 ER-876400 IV 投予至小鼠之後，總曝露 ($AUC_{0-\infty}$) 分別地為 13071 及 20999 奈克·小時 / 毫升，其分別地導致 1307 及 2100 毫升 / 克之劑量 - 正規化曝露 ($AUC_{0-\infty}/D$)。10 毫克 / 公斤 PO 之後，ER-876437 和 ER-876400 之 C_{max} 分別地為 8597 及 7859 奈克 / 毫升，及分別地觀察於 1.0 及 2.0 小時之 t_{max} 。以 10 毫克 / 公斤 PO 投予之後，ER-876437 和 ER-876400 之 AUC_{0-t} 分別地為 8579 及 13160 奈克·小時 / 毫

升。ER-876437之 $AUC_{0-\infty}$ 為 9499 奈克·小時/毫升及 $t_{1/2}$ 為 16.3 小時。由於在終端消除階段之數據不足，所以這些參數不能用於測定 ER-876400。此外，PO 投予之後 ER-876437 之 $t_{1/2}$ 大約是高於 IV 投予之後 2.5-倍。

ER-876437 和 ER-876400 之生物可用率相似：分別為 66.5 及 69.9%。

總之，在雄性 BALB-c 小鼠中 10 毫克/公斤單一 IV 或 PO 劑量之後，ER-876437 和 ER-876400 之 PK 剖面是相似的。然而，應注意在正常飼養條件下，小鼠具有約 5 的高胃 pH。參見 Simpson, R. J. 等人 "Forms of soluble iron in mouse stomach and duodenal lumen: significance for mucosal update," British Journal of Nutrition. 63: 79-S9 (1990)，其特此以引用方式整個併入。

實例 IV：在模擬胃液中於 37°C 之 ER-876400 和 ER-876437 穩定性

此實例描述 ER-876400 和 ER-876437 在具有 pH 1.45 之模擬胃液中於室溫 (~ 25°C) 及於 37°C 下的穩定性。對於人類而言，在禁食條件下，胃的 pH 已被報告範圍在從 1.4 至 2.1。參見 Kararii, T.T. Comparison of the GI anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. BioPharm & Drug Dispos. 16:351-380, 1995，其特此以引用方式整個併入。在禁食猴子中胃的 pH 已被報告具有 1-3 的相似範圍。參見 Kondo, H. 等人

， Characteristics of the gastric pH profiles of unfed and fed cynomolgus monkeys as pharmaceutical product development subjects. BioPharm & Drug Dispos. 24:45-51, 2003， 其特此以引用方式整個併入。

材料：模擬胃液(SGF)係藉由混合下列成分至100毫升的HPLC級(或純)水中製備：200毫克的氯化鈉及1.87毫升的37.52% HCl儲備溶液。

試樣製備：藉由分別地將ER-876400或ER-876437稀釋於水中製備最初(t = 0)試樣。藉由將~2毫克的分析物(ER-876400或ER-876437)溶解在~1.0毫升的於37℃之模擬胃液製備所有其他試樣。

使用具有電量CAD檢測之Waters UPLC溶劑遞送系統進行HPLC分析。將HPLC管柱(Waters Atlantis HHS T3 2.1 x100毫米，1.8微米)維持於40℃及用包含98%水及2%乙腈之溶液預平衡。將溫度控制自動取樣器維持於37℃。水/MeCN流動相之流速為0.65毫升/分鐘，使用下列試樣注入之梯度(5微升)如下：

梯度：	時間(分鐘)	%水	%MeCN
	0-2	98	2
	2-2.5	從(98 %水/2%MeCN)至(60%水/40 %MeCN)之線性梯度	
	2.5-3.5	60	40

因此，在這些HPLC-SGF降解研究中，在各種時間從SGF/分析物溶液取得5微升等分試樣及載入具有上述特徵

及條件之 HPLC 管柱。將水 / MeCN 流動相以上述流率及梯度施用於該管柱及收集 HPLC 層析圖。3.5 分鐘之後，用 98% 水 / 2 % MeCN 將管柱再平衡 1.5 分鐘。

ER-876400 或 ER-876437 在水中之 HPLC 層析圖提供屬於 ER-876400 或 ER-876437 之峰的確認。沒有任何 ER-876400 或 ER-876437 之 SGF 的 HPLC 痕跡提供空白試樣 (或背景) 層析圖，其可用來鑒定 SGF 相關峰及區別該等峰和分析物的峰。收集在表 6 及 7 中所顯示之時間的層析圖，及每次採樣時間提供分別地屬於 ER-876400 或 ER-876437 的試樣之對應比例。這些結果也以作圖描述於圖 1 及 2 中。

表 6. ER-876400 在 SGF 中於 37℃ 之穩定性。

分析時間 (小時:分鐘:秒)	% ER-876400 (峰滯留時間 :1.46分鐘)
0:00:00	84.04
0:00:30	19.59
0:06:08	17.04
0:11:45	16.72
0:17:23	15.17
0:23:01	14.20
0:28:38	13.23
0:34:16	12.51
0:39:54	14.05
0:45:33	11.42
0:51:10	10.71
0:56:48	8.87
1:02:27	9.14
1:08:07	8.81
1:13:46	7.66
1:19:23	4.05
1:25:01	6.44
1:30:38	5.92
1:36:16	5.72
1:41:53	5.69
1:47:32	4.98
1:53:10	4.51
1:58:49	3.85
2:04:28	3.59
2:21:24	2.82
2:49:37	1.52
3:17:48	0.81
3:23:28	0.62
3:46:00	0.39
3:51:38	0.25

表 7. ER-876437 在 SGF 中於 37℃ 之穩定性。

分析時間 (小時:分鐘:秒)	% ER-876437 (峰滯留時間 :2.90分鐘)
0:00:00	92.18
0:00:30	85.88
0:06:08	85.72
0:11:45	86.46
0:17:24	86.38
0:23:02	83.22
0:28:39	83.48
0:34:17	83.80
0:39:54	84.16
0:45:32	82.62
0:51:10	82.41
0:56:47	82.45
1:02:26	82.45
1:08:04	82.55
1:13:41	83.11
1:19:19	81.82
1:24:56	81.24
1:30:33	79.20
1:36:10	79.14
1:41:47	78.47
1:47:24	77.88
1:53:02	78.29
1:58:39	78.56
2:04:16	77.21
2:21:12	76.06
2:26:50	77.34
2:49:21	75.34
3:17:30	72.37
3:51:16	50.13
4:19:26	51.88
4:47:38	48.95

5:21:25	45.19
5:49:35	47.44
6:17:45	44.94
6:51:31	43.29
7:19:40	41.85
7:47:22	41.72
8:21:11	36.89
8:49:19	37.52
9:17:30	36.34
9:51:17	34.61
10:19:29	31.94
10:47:39	32.33
11:15:53	29.85
11:49:44	29.94
12:17:54	27.99
12:46:10	27.39
13:20:01	26.14

結 論：在模 擬 胃 液 中 於 37℃，發 現 ER-876400 在 小 於 30 秒 內 降 解 50%，而 ER-876437 具 有 大 約 4-6 小 時 之 半 衰 期。

實 例 V：在 存 活 鼠 科 淋 巴 瘤 L1210 模 式 中 ER-876437 對 地 西 他 濱 之 影 響

此 研 究 之 目 的 為 測 定 在 小 鼠 的 L1210 存 活 模 式 中 ER-876437 是 否 提 高 地 西 他 濱 之 口 服 效 力。

L1210 細 胞 的 製 備：L1210 腹 水 細 胞 可 如 下 藉 由 將 它 們 通 入 小 鼠 中 至 少 三 次 製 備。各 CD2F1 雌 鼠 可 用 約 10^5 L1210 腹 水 細 胞 腹 膜 內 (IP) 注 射。一 週 之 後，可 將 小 鼠 犧 牲 (經 由 CO₂ 窒 息)。該 等 鼠 可 仰 臥 放 置，其 腹 表 面 可 用 酒 精 擦 拭 清

理，及製造進入腹膜腔的小切口。可將2毫升的在鹽水中之冰凍2.1% BSA注入腹膜腔及然後可抽出液體且用18G 3cc注射器轉移至乾淨滅菌管內並保持於冰上。將液體稀釋1:10於在鹽水中之2.1%BSA中及可將一滴Zapoglobin II溶血劑(lytic reagent)(可得自Beckman Coulter, Inc.)加至1毫升的稀釋腹水中。稀釋腹水(再次稀釋1:10)可利用血細胞計數器計算且可計算每毫升細胞數。約 10^5 L1210細胞係用於另一老鼠通過之後來的通過。或，L1210腹水在BSA溶液中之備料可稀釋至 1×10^4 細胞/0.1毫升以使用於研究鼠中。

研究鼠的準備：將35隻CD2F1 6-7週大的雌鼠任意地分成表8中所顯示之7組。小鼠可在始開劑量之前一天以靜脈內(IV)注射L1210腹水(如上述製備)準備。小鼠可用27G針經由尾靜脈以0.1毫升的細胞溶液注射。所有小鼠的全部IV注射花約50分鐘。

小鼠在以地西他濱劑量之前可用煤液或ER-876437經口(PO，也就是，口服)劑量30分鐘。ER-876437可製備於在PBS中之1毫克/毫升及然後為了較低劑量，稀釋至於PBS中之0.1毫克/毫升及0.01毫克/毫升。

地西他濱可製備於在PBS中之1毫克/毫升備料且適當地稀釋以達成0.01毫克/毫升劑量溶液。ER-876437可在各劑量當天開始時備且儲存在4℃。地西他濱可僅在劑量之前每天製備兩次新鮮的。在劑量時，所有的溶液可儲存在冰上。小鼠可被連續4天每天二次劑量(腹膜內(IP)或經口(

口服，PO))(相隔8小時)。最終劑量方案及總地西他濱和ER-876437劑量概述於表8中。

表8.劑量方案

組#	藥物	地西他濱劑量 (ret Adm)	累計地西他濱 劑量	ER-876437 劑量	累計ER-876437 劑量
1	媒液	Veh	0毫克/公斤	Veh	0毫克/公斤
2	ER-876437	Veh	0毫克/公斤	10毫克/公斤	80毫克/公斤
3	地西他濱	0.1毫克/公斤PO	0.8毫克/公斤	Veh	0毫克/公斤
4	地西他濱/ ER-876437	0.1毫克/公斤PO	0.8毫克/公斤	0.1毫克/公斤	0.8毫克/公斤
5	地西他濱/ ER-876437	0.1毫克/公斤PO	0.8毫克/公斤	1毫克/公斤	8毫克/公斤
6	地西他濱/ ER-876437	0.1毫克/公斤PO	0.8毫克/公斤	10毫克/公斤	80毫克/公斤
7	地西他濱	0.1毫克/公斤IP	0.8毫克/公斤	Veh	0毫克/公斤

存活率及驗屍：研究期間(30天)可觀察小鼠之存活率且每天秤重(Mon-Fri)。可將死鼠驗屍及觀察器官中的腫瘤出現。腫瘤死亡可依照 Covey JM和 Zaharko DS, Eur J Cancer Clin Oncol, 第21冊第109-117頁, 1985藉由肝重大於1.6克及脾重大於150毫克測定。

結果：

用地西他濱及地西他濱加ER-876437劑量之小鼠活得比媒液對照組和ER-876437單獨之小鼠久(表9及10； $p<0.05$)。用ER-876437併用地西他濱觀察到沒有劑量反應。

0.1毫克/公斤地西他濱PO比0.1毫克/公斤地西他濱IP

稍些無效(表9及10; $p=0.0047$)。相較於0.1毫克/公斤地西他濱PO或IP(表9及10; $p<0.05$)，ER-876437與0.1毫克/公斤地西他濱之共同投予而不管ER-876437劑量顯著提高存活率(天數)，但是在ER-876437劑量之間沒有劑量反應。

表9列出相較於媒液組之各治療組的平均存活率及百分比ILS(增加之平均壽命)。所有治療組活得比媒液對照組及CDA抑制劑單獨組顯著較久($p<0.05$)。

表9中所列者為驗屍時小鼠的肝臟及脾臟之重量。所有小鼠死於以大於1.6克之肝臟重及大於150毫克脾臟重指示的‘腫瘤負荷’相關的死亡(Covey 等人 Eur J Cancer Oncol 1985)。

肉眼觀察已注意關於腹腔及胸腔之整體外觀；然而，沒有這些觀察的正式分析。

表 9. 在 L1210 IV 存活模式中地西他濱和 ER-876437 對存活率與肝臟及脾臟重之影響

組別	平均存活率 (天數)± SD	%ILS(增加之 平均壽命)	平均肝臟重 (克)± SD	平均脾臟重 (克)± SD
Veh/Veh	7.4 ± 0.55		1.79 ± 0.34	0.35 ± 0.03
Veh/地西他濱0.1毫克/公斤PO	11.2 ± 0.45	51.35	2.17 ± 0.1	0.34 ± 0.04
Veh/地西他濱0.1毫克/公斤IP	13.4 ± 0.89	81.08	1.81 ± 0.25	0.37 ± 0.14
ER-876437 0.1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	15.8 ± 1.48	113.51	1.92 ± 0.16	0.24 ± 0.04
ER-876437 1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	16.6 ± 1.52	124.32	2.2 ± 0.46	0.28 ± 0.13
ER-876437 10毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	17.2 ± 2.39	132.43	2.18 ± 0.31	0.38 ± 0.12
ER-876437 10毫克/公斤/Veh	7.6 ± 0.89	2.70	2.02 ± 0.07	0.37 ± 0.04

$$* \%ILS = \frac{\text{實驗組之平均存活率(天數)} - \text{平均存活率對照組(天數)}}{\text{對照組之平均存活率(天數)}} \times 100$$

表 10. 統計分析 (根據 Prism GraphPad 之對數等級檢定 (Log Rank Test))

比較	P值
對照組對0.1毫克/公斤地西他濱PO	0.0023
對照組對0.1毫克/公斤地西他濱IP	0.0023
對照組對ER-876437單獨	0.601
地西他濱0.1毫克/公斤PO對地西他濱0.1毫克/公斤IP	0.0047
對照組對ER-876437 0.1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0023
地西他濱0.1毫克/公斤PO對ER-876437 0.1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0016
地西他濱0.1毫克/公斤PO對ER-876437 1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0016
地西他濱0.1毫克/公斤PO對ER-876437 10毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0016
地西他濱0.1毫克/公斤IP對ER-876437 0.1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0119
地西他濱0.1毫克/公斤IP對ER-876437 1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0034
地西他濱0.1毫克/公斤IP對ER-876437 10毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0034
ER-876437 0.1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO對ER-876437 1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.4069
ER-876437 1毫克/公斤/地西他濱1毫克/公斤PO對ER-876437 10毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.6131

結論：

在 L1210IV 存活模式中，地西他濱加 ER-876437 比地西他濱單獨而不管地西他濱之投予路徑 (PO 或 IP) 更為有效。在 0.1 毫克/公斤、1 毫克/公斤及 10 毫克/公斤之 ER-876437 加地西他濱組之間沒有劑量反應。在實例 VI 中重複此實驗但使用較低劑量的 ER-876437 以測定最小有效劑量。

實例 VI：在存活鼠科淋巴瘤 L1210 模式中 ER-876437 對地西他濱之影響

此實例依照實例 V 之所有方法及記錄且具有下列改變

：將 40 隻 CD2F1 6-7 週大之雌鼠任意地分成表 11 中所識別之 8 組。用 L1210 腹水之 IV 注射製備研究小鼠花約 60 分鐘。將 ER-876437 製備於在 PBS 中之 1 毫克/毫升料且然後稀釋至在 PBS 中之 0.1 毫克/毫升、0.01 毫克/毫升及 0.001 毫克/毫升。在投予時，所有的溶液可儲存在冰上。小鼠可被連續 4 天每天二次投予 (IP 或 PO) (相隔 8 小時)。

表 11. 投予方案

組#	藥物	地西他濱劑量 (ret Adm)	累計地西他 濱劑量	ER-876437 劑 量	ER-876437 劑量
1	媒液	媒液	0 毫克/公斤	媒液	0 毫克/公斤
2	ER-876437	媒液	0 毫克/公斤	1 毫克/公斤	8 毫克/公斤
3	地西他濱	0.1 毫克/公斤 PO	0.8 毫克/公斤	Veh	0 毫克/公斤
4	地西他濱/ER-876437	0.1 毫克/公斤 PO	0.8 毫克/公斤	0.01 毫克/公斤	0.08 毫克/公斤
5	地西他濱/ER-876437	0.1 毫克/公斤 PO	0.8 毫克/公斤	0.1 毫克/公斤	0.8 毫克/公斤
6	地西他濱/ER-876437	0.1 毫克/公斤 PO	0.8 毫克/公斤	1 毫克/公斤	8 毫克/公斤
7	地西他濱	0.1 毫克/公斤 IP	0.8 毫克/公斤	媒液	0 毫克/公斤
8*	地西他濱	0.1 毫克/公斤 PO	0.8 毫克/公斤	媒液	0

* 一天投予二次，相隔 8 小時。所有其他組別每天投予二次，相隔 7 小時。

結果：

用地西他濱及地西他濱加 ER-876437 投予之小鼠活得比媒液對照組和 ER-876437 單獨之小鼠久 (表 12 及 13； $p < 0.05$)。當相隔 7 或 8 小時投予時，用 0.1 毫克/公斤地西他濱 PO 投予之小鼠劑量的存活率之間沒有差異 (表 12 及 13)。

0.1 毫克/公斤地西他濱 PO 比 0.1 毫克/公斤地西他濱 IP 無效 (表 12 及 13； $p = 0.0086$)。在 L1210 白血病小鼠中，相較

於地西他濱 PO 單獨，0.01 毫克 / 公斤 ER-876437 與 0.1 毫克 / 公斤地西他濱 PO 之共同投予對於延長存活沒有影響。相較於 0.1 毫克 / 公斤地西他濱 PO 單獨，0.1 毫克 / 公斤及 1 毫克 / 公斤 ER-876437 與 0.1 毫克 / 公斤地西他濱 PO 之共投予顯著地提高存活率(天數)。0.1 毫克 / 公斤及 1 毫克 / 公斤與 0.1 毫克 / 公斤地西他濱 PO 單獨之共同投與經由 IP 投予之 0.1 毫克 / 公斤地西他濱沒有統計上的不同。ER-876437 於這些低劑量具有輕微劑量反應：0.01 毫克 / 公斤對於提高地西他濱口服遞送之效果是無效，而 0.1 毫克 / 公斤及 1 毫克 / 公斤二者顯著地提高存活率(分別為 $p=0.04$ 及 $p=0.005$ ；表 13)。二種較高劑量之 ER-876437 併用地西他濱 PO 具有輕微劑量回應($p=0.09$ ；表 13)。

表 12 列出相較於媒液組之各治療組的平均存活率及百分比 ILS(增加之平均壽命)。所有治療組活得比媒液對照組及只給予 ER-876437 組顯著較久($p<0.05$)。

表 12 中所列者為驗屍時小鼠的肝臟及脾臟之重量。所有小鼠死於以大於 1.6 克之肝臟重及大於 150 毫克脾臟重指示的‘腫瘤負荷’相關的死亡(Covey JM 及 Zaharko DS, Eur J Cancer Clin Oncol, 第 21 冊第 109-117 頁, 1985)。

肉眼觀察已注意關於腹腔及胸腔之整體外觀；然而，沒有這些觀察的正式分析。

表 12. 在 L1210 IV 存活模式中地西他濱和 ER-876437 對存活率與肝臟及脾臟重之影響

組別	平均存活率 (天數)±SD	%ILS(增加 之平均壽命)	平均肝臟重 (克)±SD	平均脾臟重 (克)±SD
Veh/Veh	8±0.71		1.95±0.15	0.35±0.03
Veh/地西他濱0.1毫克/公斤PO	11.8±0.84	47.50	2.02±0.31	0.36±0.11
Veh/地西他濱0.1毫克/公斤PO(8小時)	11.6±0.55	45.00	1.81±0.41	0.33±0.06
Veh/地西他濱0.1毫克/公斤IP	13.6±0.55	70.00	2.01±0.41	0.31±0.07
ER-876437 0.01毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	12±0.0	50.00	2.06±0.23	0.32±0.04
ER-876437 0.1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	13.2±0.84	65.00	2.28±0.25	0.35±0.1
ER-876437 1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	14.2±0.84	77.50	2.24±0.32	0.34±0.09
ER-876437 1.0毫克/公斤/Veh	8.4±0.55	5.00	2.04±0.15	0.32±0.02

Veh：只有媒液

$$*\%ILS = \frac{\text{實驗組之平均存活率(天數)} - \text{平均存活率對照組(天數)} \times 100}{\text{對照組之平均存活率(天數)}}$$

表 13. 統計分析 (根據 Prism GraphPad 之對數等級檢定)

比較	P值
對照組對0.1毫克/公斤地西他濱PO	0.002
對照組對0.1毫克/公斤地西他濱PO (8小時)	0.002
對照組對0.1毫克/公斤地西他濱IP	0.002
對照組對ER-876437單獨	0.353
地西他濱0.1毫克/公斤PO對地西他濱0.1毫克/公斤PO (8小時)	0.6015
地西他濱0.1毫克/公斤PO對地西他濱0.1毫克/公斤IP	0.0086
對照組對ER-876437 0.01毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.002
地西他濱0.1毫克/公斤PO對ER-876437 0.01毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.649
地西他濱0.1毫克/公斤PO對ER-876437 0.1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0368
地西他濱0.1毫克/公斤PO對ER-876437 1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0048
地西他濱0.1毫克/公斤IP對ER-876437 1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.1729
ER-876437 0.01毫克/公斤/地西他濱 0.1毫克/公斤PO對ER-876437 0.1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.014
ER-876437 0.1毫克/公斤/地西他濱1毫克/公斤PO對ER-876437 1毫克/公斤/地西他濱0.1毫克/公斤PO	0.0889

結 論：

在小鼠 L1210 存活模式中，相較於地西他濱 PO 單獨投予而沒有地西他濱 IP 投予，於 0.1 毫克/公斤及 1 毫克/公斤二者之 ER-876437 與 0.1 毫克/公斤地西他濱 PO 的共投予提高存活率。當經由 PO 投予時，測試之最低劑量 (0.01 毫克/公斤) 對於提高用 0.1 毫克/公斤地西他濱治療之小鼠的存活率沒有影響。二較高劑量之 ER-876437 併用地西他濱具有輕微劑量反應 ($p=0.09$)。在此模式中發現 ER-976437 之最小有效劑量為 0.1 毫克/公斤。

用 0.1 毫克/公斤地西他濱 PO 2x/天 qdx4 相隔 7 小時或相隔 8 小時劑量之鼠的存活率之間沒有差異。

所有本文中所述的公開或專利申請案特此以引用方式完全合併。

實例 VII：ER-876437 對地西他濱於 CDA 存在下在 Tris-HCl 緩衝液中於 37°C 之半衰期的影響

此實例描述 ER-876437 對地西他濱 (Eisai) 於胞苷去胺酶 (CDA) 存在下在 Tris-HCl 緩衝液中於 37°C 之半衰期 ($T_{1/2}$) 的影響。

材料及設備

此實例採用 Phenomenex Luna C18(2) HPLC 管柱 (100 Å 4.6×250 毫米 5 微米)。溶劑遞送系統採用 HPLC 四元泵，低壓力混合。使用具有可變循環，0.1 至 100 微升範圍及控溫恒溫器之自動採樣器。UV 檢測器可採用雙波長檢測器、二極體陣列檢測器、可變波長檢測器或同等物，且可使用層析軟體 (例如，Waters Empower 2 Build 2154，用於 HPLC 之 Agilent ChemStation 軟體第 A.09.03 版或更高或同等物) 記錄。所使用之分析天平能夠秤重 ±0.1 毫克。使用脫氣 HPLC 等級水及脫氣 HPLC 級乙腈作為流動相之溶劑。

用以製造下列溶液之稀釋溶液為 Tris-HCl (37°C，pH 7.4，Boston BioProducts)。稀釋溶液也作為用於 UV 光譜之空白試樣。

地西他濱標準對照組：0.2 mM 地西他濱對照組係藉由將秤重 2.6 毫克的地西他濱秤重於 10 毫升容量瓶製備。用

儲存於 37℃ 之 Tris-HCl 緩衝液將該燒瓶稀釋至該體積並藉由倒轉混合。將溶液標示為地西他濱儲備溶液。將 1.0 毫升的地西他濱儲備溶液轉移至 5 毫升容量瓶並用稀釋溶液稀釋至該體積及藉由倒轉混合。

ER-876437 標準對照組：0.4 mM ER-876437 對照組係藉由將 5.2 毫克的 ER-876437 秤重於 10 毫升容量瓶中製備。用儲存於 37℃ 之 Tris-HCl 緩衝液將燒瓶稀釋至體積並藉由倒轉混合。將溶液標示為 ER-876437 儲備溶液。將 1.0 毫升的 ER-876437 儲備溶液轉移至 5 毫升容量瓶並用稀釋溶液稀釋至該體積及藉由倒轉混合。

地西他濱與 CDA：將 1.0 毫升的地西他濱儲備溶液轉移至 5 毫升容量瓶。將約 2-3 毫升的稀釋溶液轉移至燒瓶。將 0.125 毫升的 CDA 溶液轉移至燒瓶並用稀釋溶液稀釋至該體積。藉由倒轉將試樣混合且製備之後立刻注入 HPLC。

地西他濱與 CDA 和 ER-876437：將 1.0 毫升的 ER-876437 儲備溶液轉移至 5 毫升容量瓶。將大約 2 毫升的稀釋溶液轉移至燒瓶。將 0.125 毫升的 CDA 溶液轉移至燒瓶。將 1.0 毫升的地西他濱儲備溶液轉移至相同燒瓶並用稀釋溶液稀釋至該體積。藉由倒轉將試樣混合並在製備之後立刻注入 HPLC。

HPLC 參數：上述標準品及試係在 HPLC 管柱上使用表 14 中所示參數操作。

表 14：HPLC 參數

管柱溫度：	25°C		
自動採樣器溫度：	37°C		
流率：	1.0毫升/分鐘。可將流率調整±0.2毫升/分鐘以獲得指定滯留時間		
梯度：	時間，分鐘	%-溶劑A*	%-溶劑B*
	起始	96	4
	10	96	4
	20	75	25
	25	75	25
再平衡時間	10分鐘		
注射體積：	25微升		
針洗滌液：	使用稀釋溶液		
檢測：	205奈米UV		
運行時間：	25分鐘		

* 溶劑 A：水；溶劑 B：乙腈

發現地西他濱之滯留時間為約 8 分鐘；且發現 ER-876437 之滯留時間為約 21.8 分鐘。

結果及討論

表 15. 結果總結

溶液	估計之 $T_{1/2}$
地西他濱在Tris-HCl緩衝液中於37°C	9小時
地西他濱與CDA在Tris-HCl緩衝液中於37°C	23分鐘
地西他濱與CDA和ER-876437-00在Tris-HCl緩衝液中於37°C	9小時

地西他濱在 CDA 存在及不存在下、有或沒有 ER-876437、在 Tris-HCl 緩衝劑中於 37°C 之含量係藉由使用 UV 檢測之 HPLC 分析測量。測量穩定性試樣中地西他濱和 ER-

876437峰之面積且分別地相較於地西他濱和ER-876437標準對照組之面積。結果係以對照組之殘餘百分比報告。

數據係收集於205奈米UV，因為地西他濱和ER-876437共用此UV最大值。參見圖3。每35分鐘記錄結果經12小時且由於分析方法的長度其後間歇地進行。在指定時間點顯示重疊痕跡之HPLC層析圖係顯於圖4和圖5中。

這些圖中之HPLC層析圖為了清晰度係用固定加偏移(constant, additive offset)顯示。雖然底部痕跡係顯示開始於時間 = 0.00 分鐘，但每個連續的層析圖被任意地位移至原層析圖的右側(以固定時間量)以使避免有峰重疊。與在這些層析圖中所顯示的峰有關之實際時間可藉由將層析圖痕跡(在左手側)之開始位移回至時間等於0.00分鐘之垂直軸實現。同樣地，任何峰的實際UV吸收可藉由將層析圖之基線位移至mAU = 0.00之位置實現。

在CDA不存在下，9小時之後觀察到地西他濱濃度減少至50%，而，在CDA存在下，吉西他濱之濃度在2小時之後被減少到幾乎0%對照組及 $T_{1/2}$ 估計為約23分鐘。ER-876437加至培養混合物中產生反應之抑制且觀察到9小時之後地西他濱濃度減少至50%。曝露於CDA與地西他濱12小時之後，ER-876437之含量不被影響。所有結果的總結顯示於圖6中。

發現地西他濱在CDA存在下於Tris-HCl緩衝液中在37℃之估計 $T_{1/2}$ 為23分鐘。ER-876437幾乎完全地制此產生與地西他濱單獨在Tris-HCl緩衝液中於37℃(9小時)相同之效

果。

【圖式簡單說明】

圖 1 顯示 ER-876400(1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羥基-5-(羥甲基)四氫呋喃-2-基)-3,4-二氫-1H-1,3-二氮呋-2(7H)-酮)在模擬胃液中於 37℃ 下之總 HPLC 面積-%純度呈時間函數之圖示。

圖 2 顯示 ER-876437(1-((2R,4R,5R)-3,3-二氟-4-羥基-5-(羥甲基)四氫呋喃-2-基)-3,4-二氫-1H-1,3-二氮呋-2(7H)-酮)之總 HPLC 面積-%純度在模擬胃液中於 37℃ 下呈時間函數之圖示。

圖 3 顯示地西他濱和 ER-876437 之 UV 光譜。

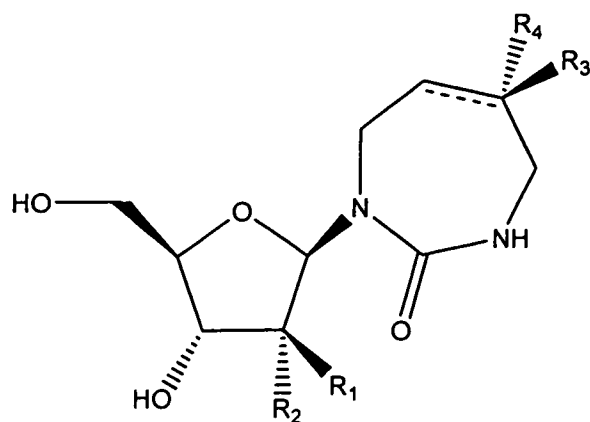
圖 4 顯示地西他濱於 CDA 存在下在 Tris-HCl 緩衝劑中於 37℃ 在選定的時間點之 HPLC 層析圖。

圖 5 顯示地西他濱於 CDA 和 ER-876437 存在下在 Tris-HCl 緩衝劑中於 37℃ 在選定的時間點之 HPLC 層析圖。

圖 6 顯示 ER-876437 對地西他濱於 CDA 存在下在 Tris-HCl 緩衝劑中於 37℃ 之含量的影響。

七、申請專利範圍：

1. 一種包含地西他濱(decitabine)及式 I 化合物之組成物：



I

其中：

R_1 和 R_2 之一為 F，及另一個係選自 H 及 F；

R_3 及 R_4 之一為 H，及另一個係選自 H 及 OH；

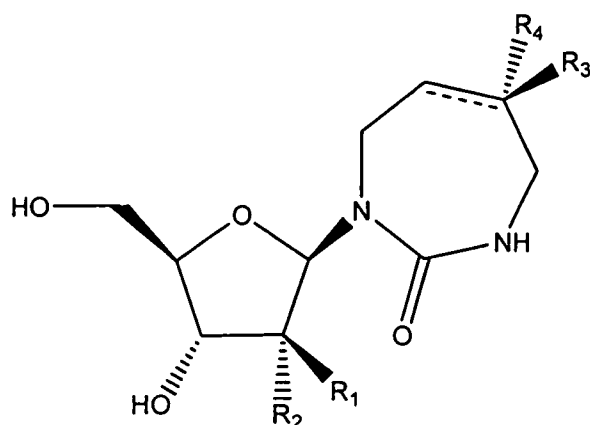
其中 ----- 為共價鍵或不存在，及當 ----- 為共價鍵時， R_4 不存在；

或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

2. 一種部件套組，包含：

一種包含地西他濱之組成物；及

一種包含式 I 化合物之組成物：



I

其中：

R_1 和 R_2 之一為 F，及另一個係選自 H 及 F；

R_3 及 R_4 之一為 H，及另一個係選自 H 及 OH；

其中 ----- 為共價鍵或不存在，及當 ----- 為共價鍵時， R_4 不存在；

或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯；

其係用於同時、分開或按順序地被使用於治療癌症之方法中。

3. 根據申請專利範圍第 2 項之部件套組，其中該癌症係選自由血液癌及固態癌組成之群組。

4. 根據申請專利範圍第 3 項之部件套組，其中該癌症為選自由骨髓形成不良症候群及白血病組成之群組的血液癌。

5. 根據申請專利範圍第 4 項之部件套組，其中該癌症為選自由急性骨髓性白血病及慢性骨髓性白血病組成之群組的白血病。

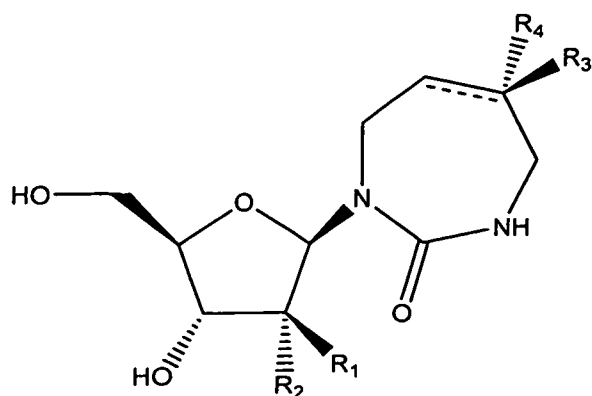
6. 根據申請專利範圍第 3 項之部件套組，其中該癌症為選自由胰臟癌、卵巢癌、腹膜癌、非小細胞肺癌及轉

移性乳癌組成之群組的固態癌。

7. 一種醫藥組成物，其包含

(i)地西他濱；

(ii)式 I 之化合物：



I

其中：

R_1 和 R_2 之一為 F，及另一個係選自 H 及 F；

R_3 和 R_4 之一為 H，及另一個係選自 H 及 OH；

其中 ----- 為共價鍵或不存在，及當 ----- 為共價鍵

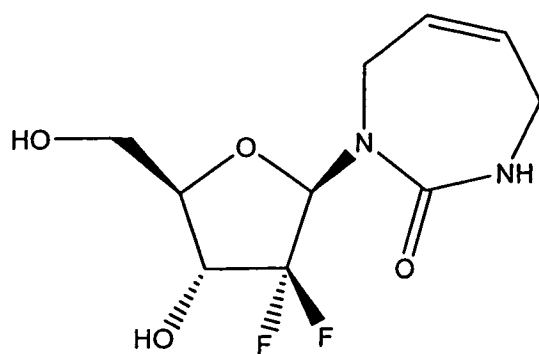
時， R_4 不存在；

或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯；及

(iii)醫藥上可接受的賦形劑。

8. 根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之組成物、部件套組或醫藥組成物，其中 R_1 及 R_2 各自為 F。

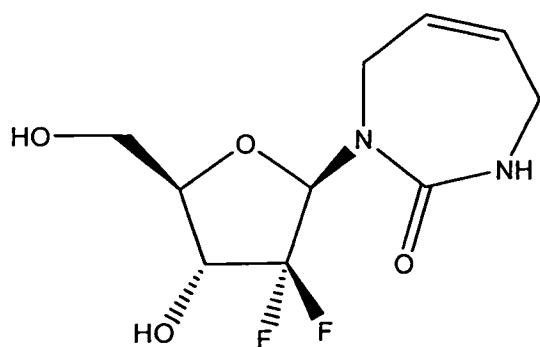
9. 根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之組成物、部件套組或醫藥組成物，其中該式 I 化合物為一種式 VIII 之化合物：



VIII

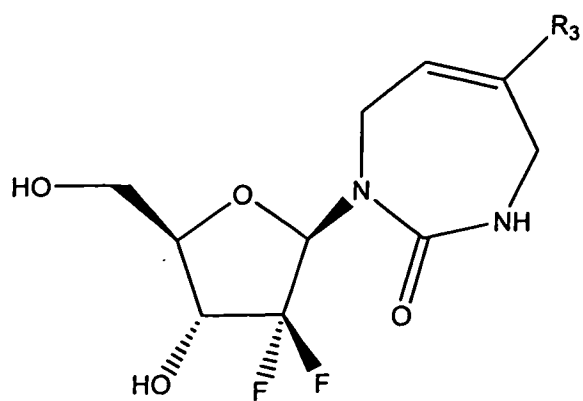
或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

10. 根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之組成物、部件套組或醫藥組成物，其中該式 I 化合物為一種式 VIII 之化合物：



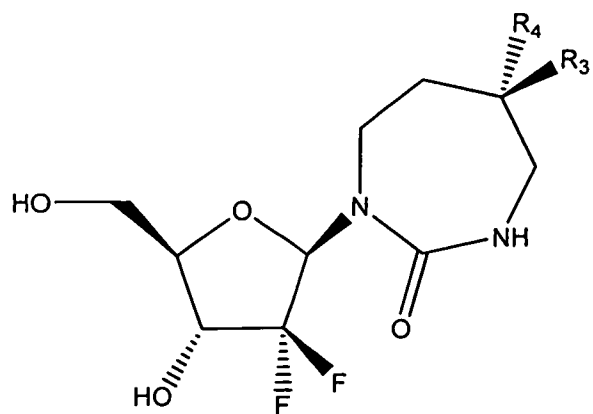
VIII。

11. 根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之組成物、部件套組或醫藥組成物，其中該式 I 化合物為一種式 II 之化合物：



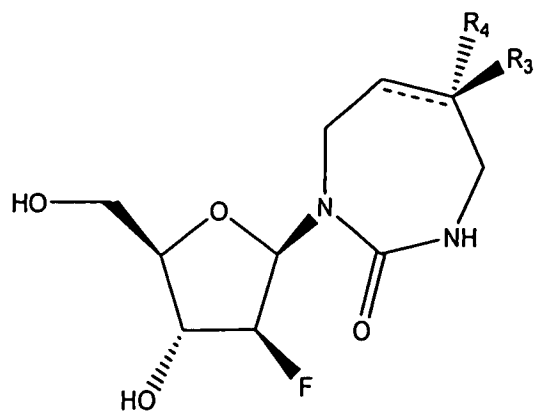
II ; 或

一種式 III 之化合物：



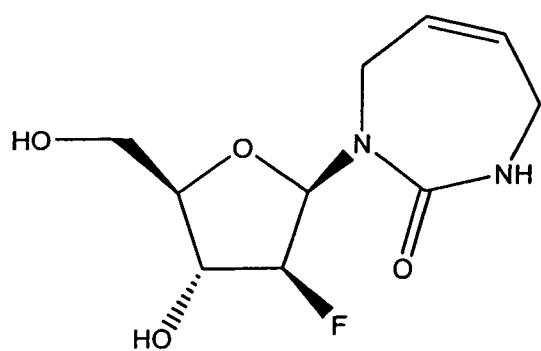
III ; 或

一種式 IV 之化合物：



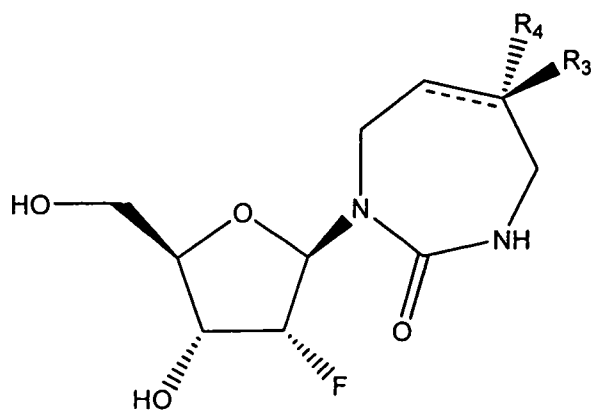
IV ; 或

一種式 V 之化合物：



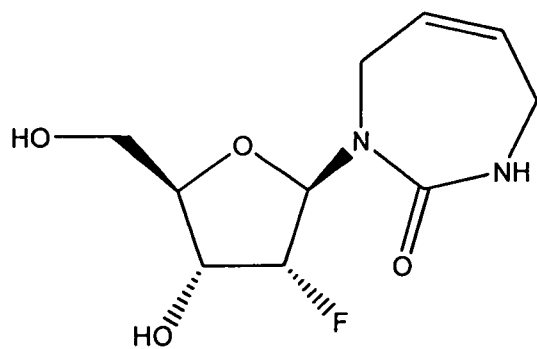
V ; 或

一種式 VI 之化合物：



VI ; 或

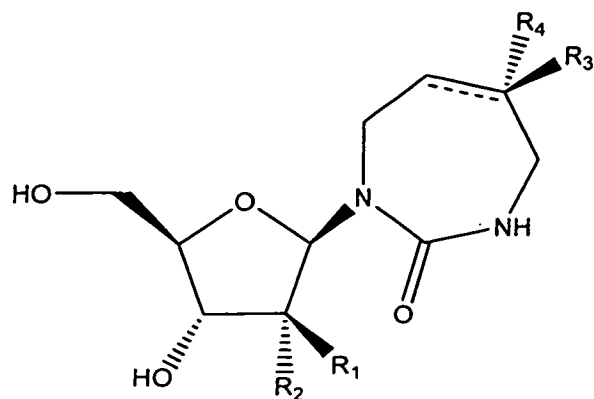
一種式 VII 之化合物：



VII ;

或其醫藥上可接受的鹽、C₁₋₆ 烷酯、或 C₂₋₆ 烯酯。

12. 一種式 I 化合物或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯之用途：



I

其中：

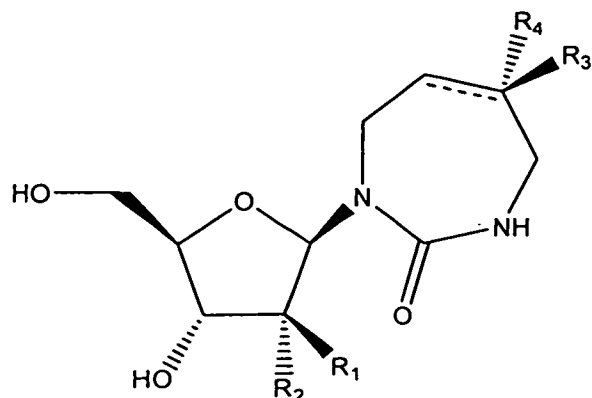
R_1 和 R_2 之一為 F，及另一個係選自 H 及 F；

R_3 和 R_4 之一為 H，及另一個係選自 H 及 OH；

其中 ----- 為共價鍵或不存在，及當 ----- 為共價鍵時， R_4 不存在；

係用於製備用於預防地西他濱去胺化之藥物。

13. 一種地西他濱與式 I 化合物或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯之用途：



I

其中：

R_1 和 R_2 之一為 F，及另一個係選自 H 及 F；

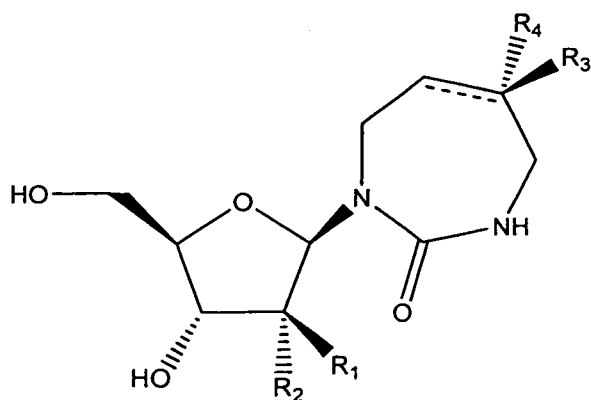
R_3 和 R_4 之一為 H，及另一個係選自 H 及 OH；

其中 ----- 為共價鍵或不存在，及當 ----- 為共價鍵時， R_4 不存在；

係用於製備用於預防地西他濱去胺化之藥物。

14. 根據申請專利範圍第 1 項之組成物，其係用於治療中。

15. 一種式 I 化合物或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯之用途：



I

其中：

R_1 和 R_2 之一為 F，及另一個係選自 H 及 F；

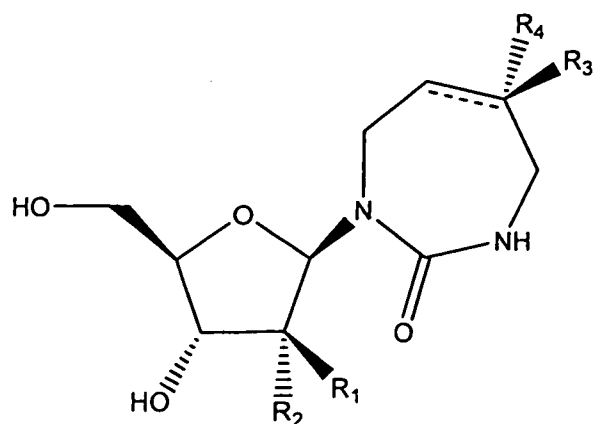
R_3 和 R_4 之一為 H，及另一個係選自 H 及 OH；

其中 ----- 為共價鍵或不存在，及當 ----- 為共價鍵時， R_4 不存在；

係用於製備用於治療癌症之藥物。

16. 一種地西他濱與式 I 化合物或其醫藥上可接受的

鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯之用途：



I

其中：

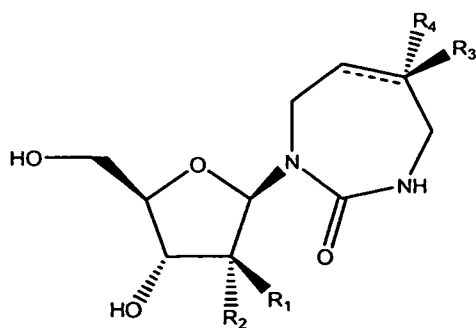
R_1 和 R_2 之一為 F，及另一個係選自 H 及 F；

R_3 和 R_4 之一為 H，及另一個係選自 H 及 OH；

其中 ----- 為共價鍵或不存在，及當 ----- 為共價鍵時， R_4 不存在；

係用於製備用於治療癌症之藥物。

17. 一種式 I 化合物或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯之用途：



I

其中：

R_1 和 R_2 之一為 F，及另一個係選自 H 及 F；

R_3 及 R_4 之一為 H，及另一個係選自 H 及 OH；

其中 ----- 為共價鍵或不存在，及當 ----- 為共價鍵時， R_4 不存在；

係用於製備用於在以包含地西他濱之組成物治療的個體中治療癌症之藥物。

18. 根據申請專利範圍第 15 至 17 項中任一項之用途，其中該癌症係選自由血液癌及固態癌組成之群組。

19. 根據申請專利範圍第 18 項之用途，其中該癌症為選自由骨髓形成不良症候群及白血病組成之群組的血液癌。

20. 根據申請專利範圍第 19 項之用途，其中該癌症為選自由急性骨髓性白血病及慢性骨髓性白血病組成之群組的白血病。

21. 根據申請專利範圍第 18 項之用途，其中該癌症為選自由胰臟癌、卵巢癌、腹膜癌、非小細胞肺癌及轉移性乳癌組成之群組的固態癌。

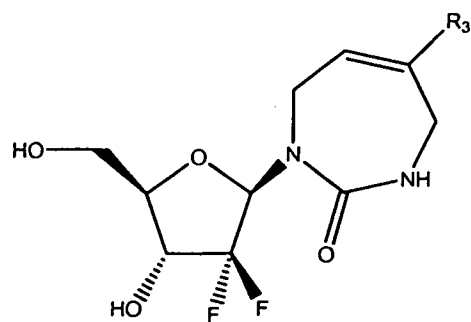
22. 根據申請專利範圍第 17 項之用途，其中該包含地西他濱之組成物及該包含式 I 化合物之藥物係同時地投予。

23. 根據申請專利範圍第 17 項之用途，其中該包含地西他濱之組成物及該包含式 I 化合物之藥物係按順序地投予。

24. 根據申請專利範圍第 15 至 23 項中任一項之用

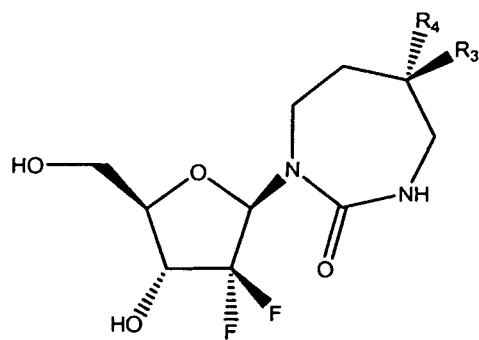
途，其中 R_1 及 R_2 各自為 F。

25. 根據申請專利範圍第 15 至 23 項中任一項之用途，其中該式 I 化合物為一種式 II 之化合物：



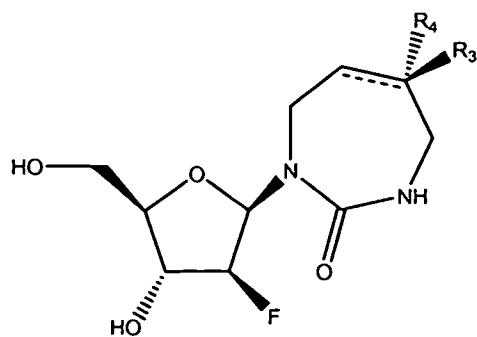
II；或

一種式 III 之化合物：



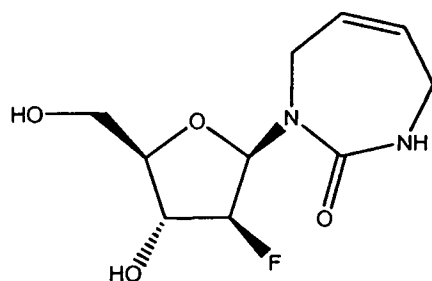
III；或

一種式 IV 之化合物：



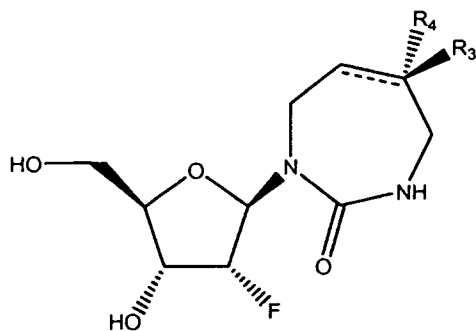
IV；或

一種式 V 之化合物：



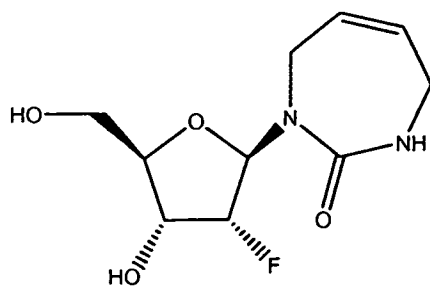
V；或

一種式 VI 之化合物：



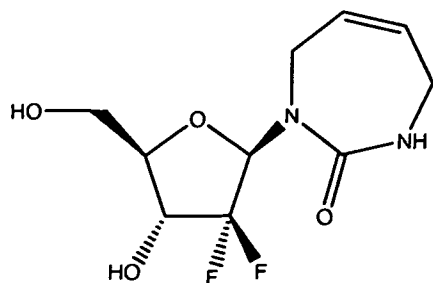
VI；或

一種式 VII 之化合物：



VII；或

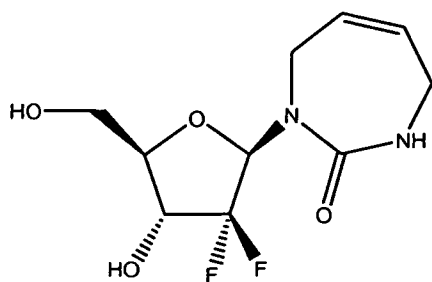
一種式 VIII 之化合物：



VIII

或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

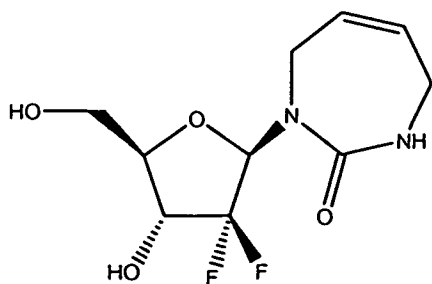
26. 根據申請專利範圍第 15 至 25 項中任一項之用途，其中該式 I 化合物為一種式 VIII 之化合物：



VIII

或其醫藥上可接受的鹽、 C_{1-6} 烷酯、或 C_{2-6} 烯酯。

27. 根據申請專利範圍第 15 至 26 項中任一項之用途，其中該式 I 化合物為一種式 VIII 之化合物：



VIII。

103年9月3日修(受)正替換頁

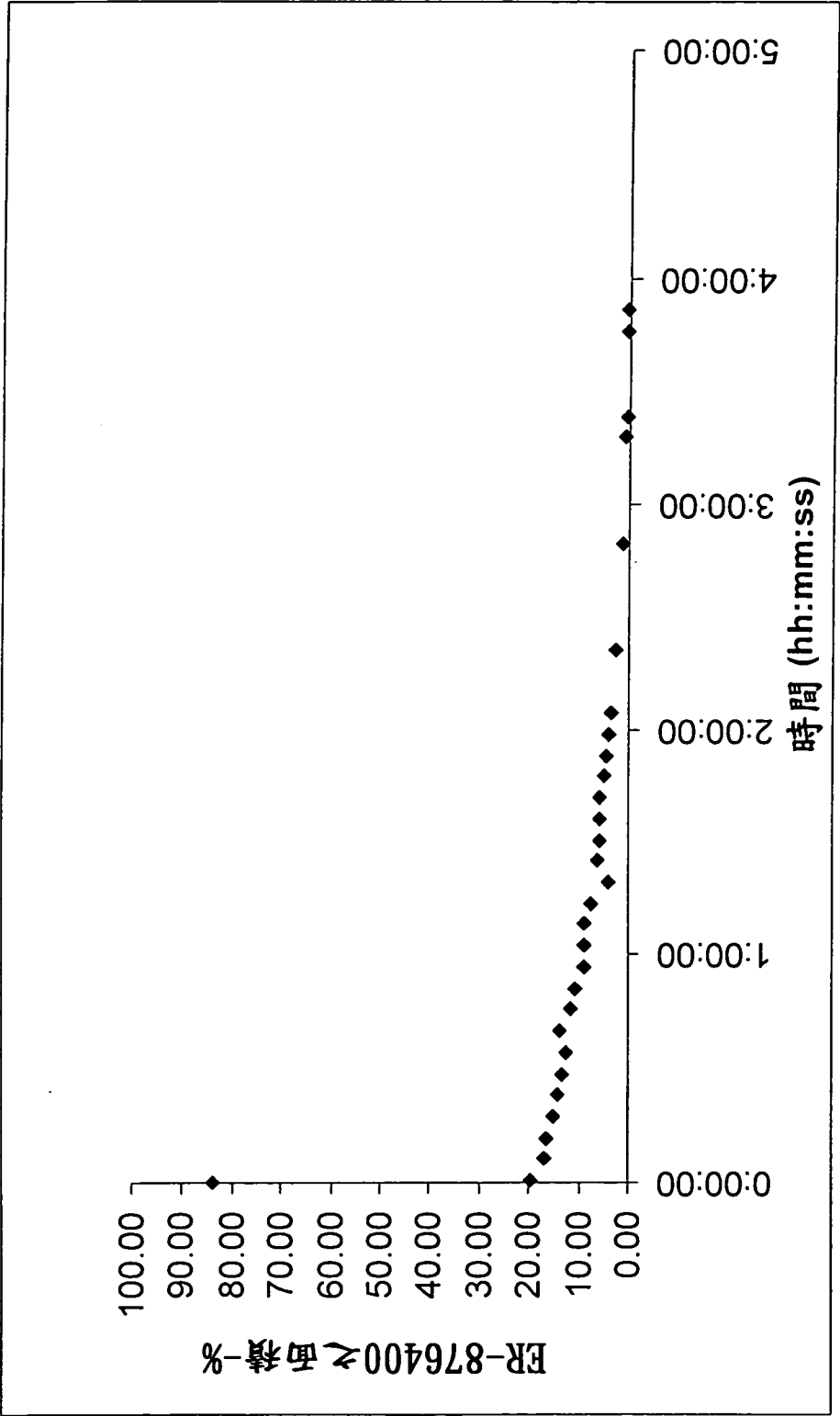


圖 1

103年9月3日修(更)正替換頁

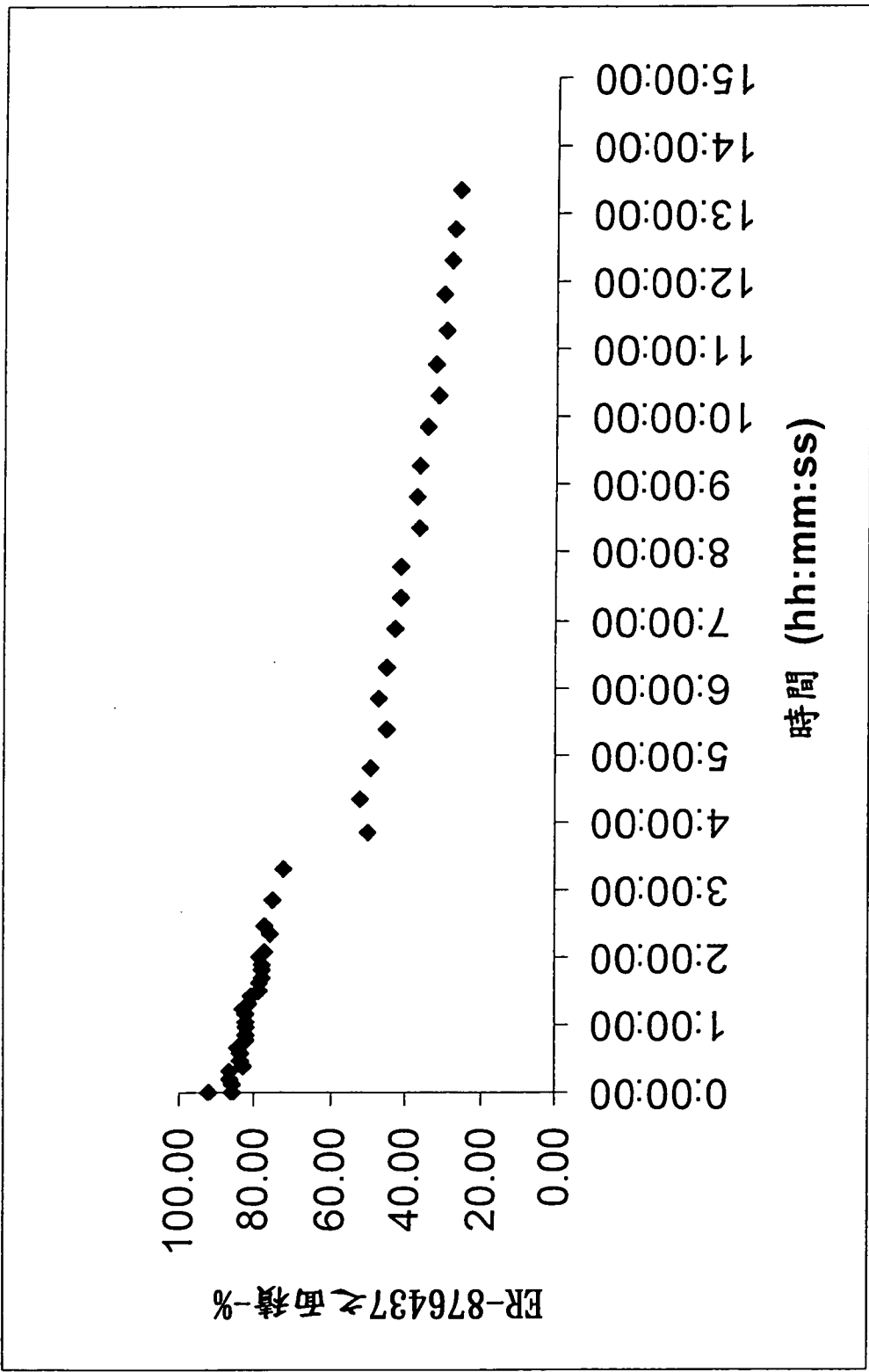


圖2

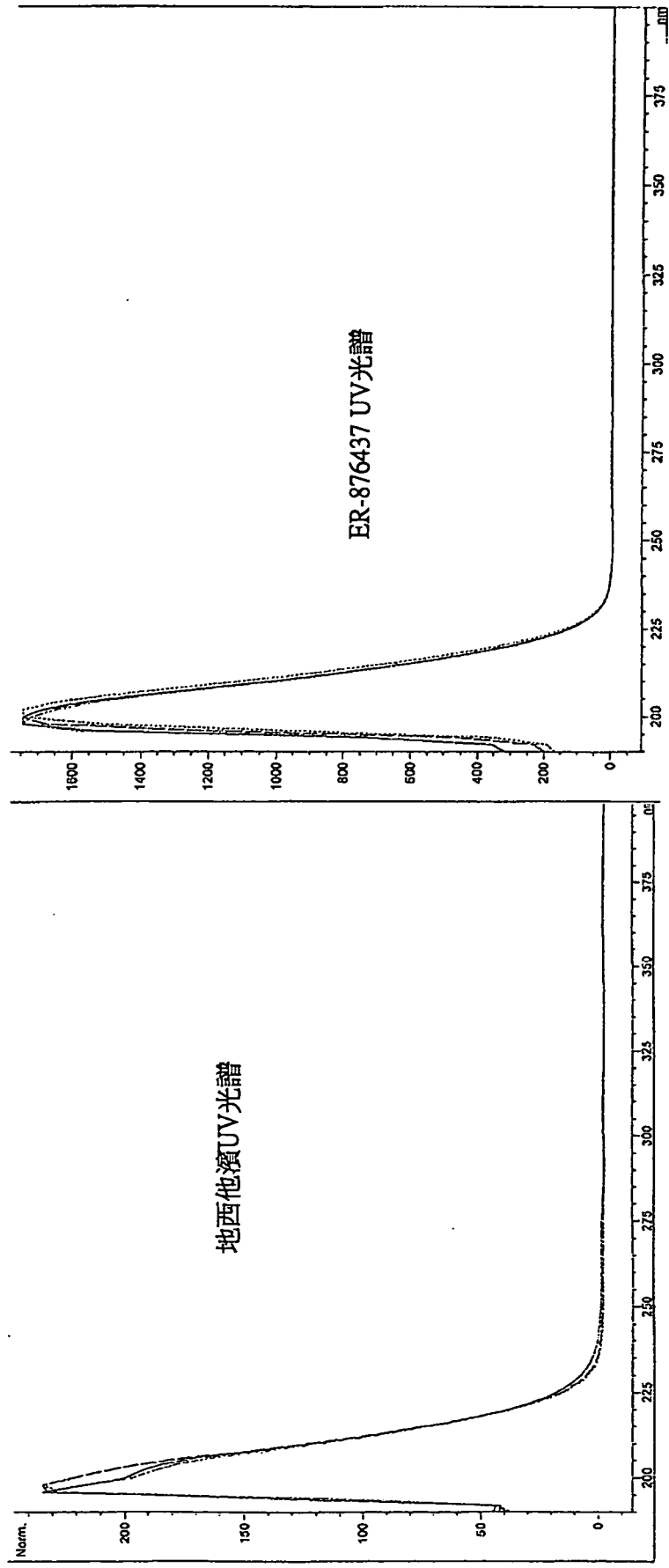


圖3

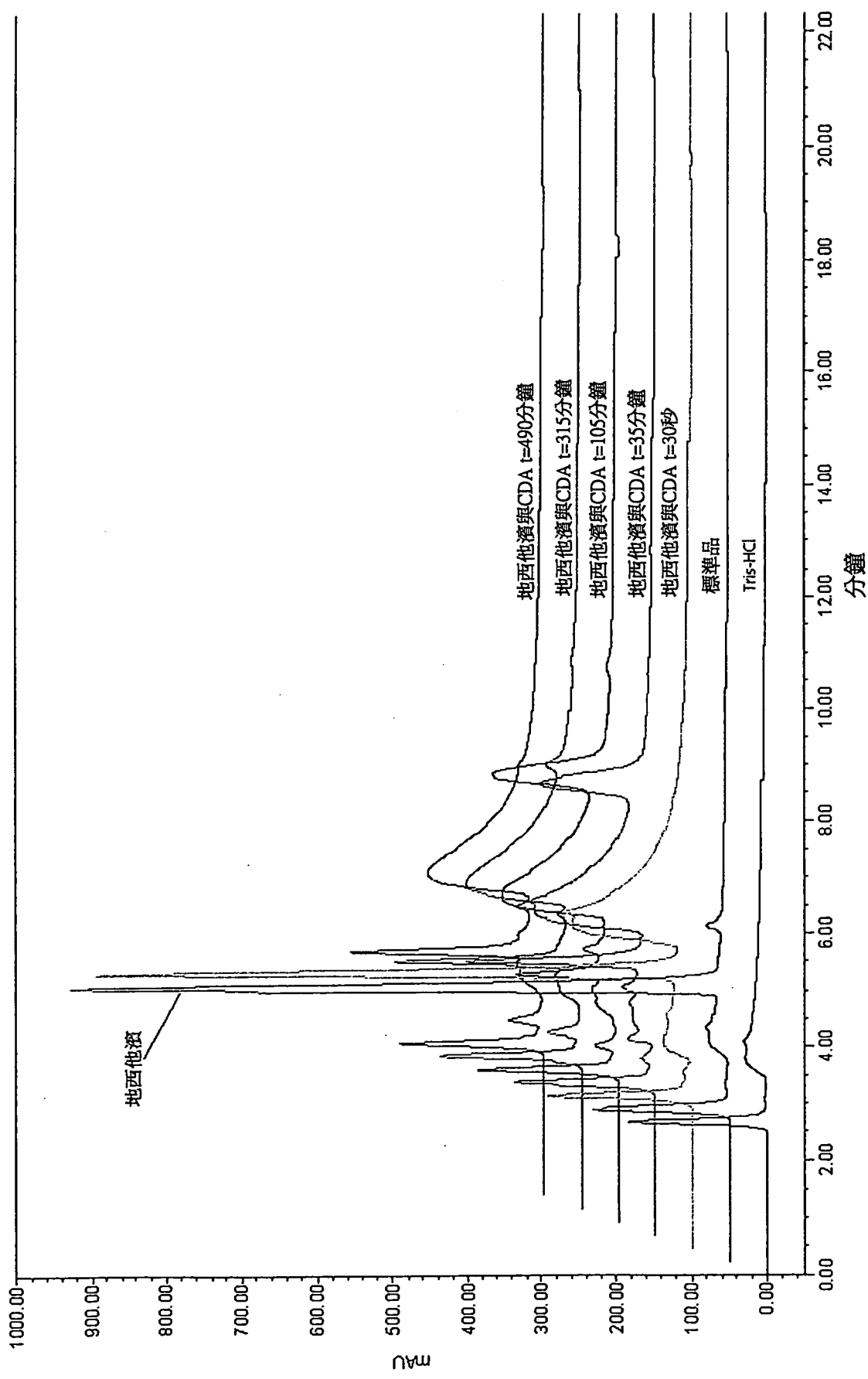


圖4

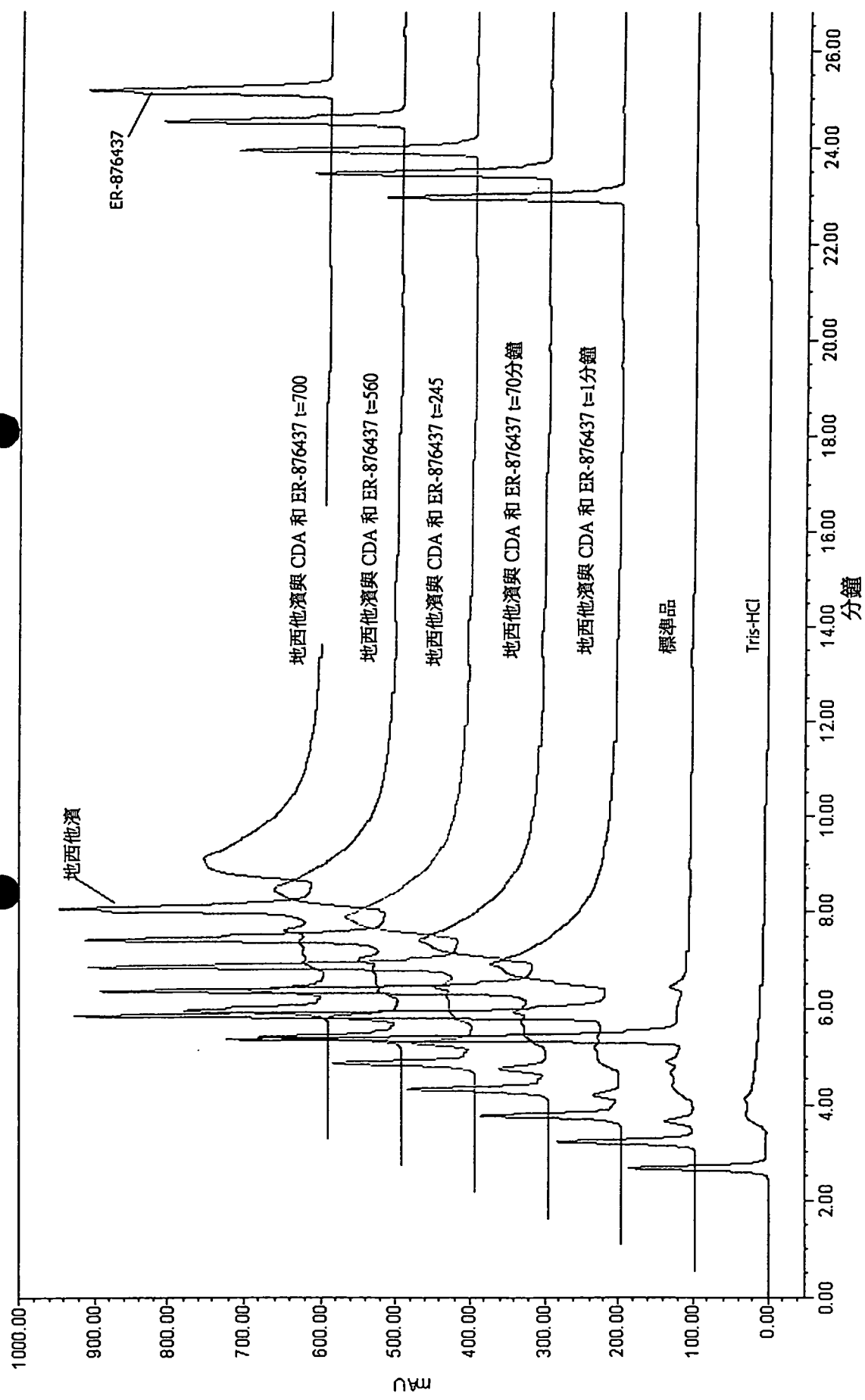


圖5

103年9月3日修(更)正替換頁

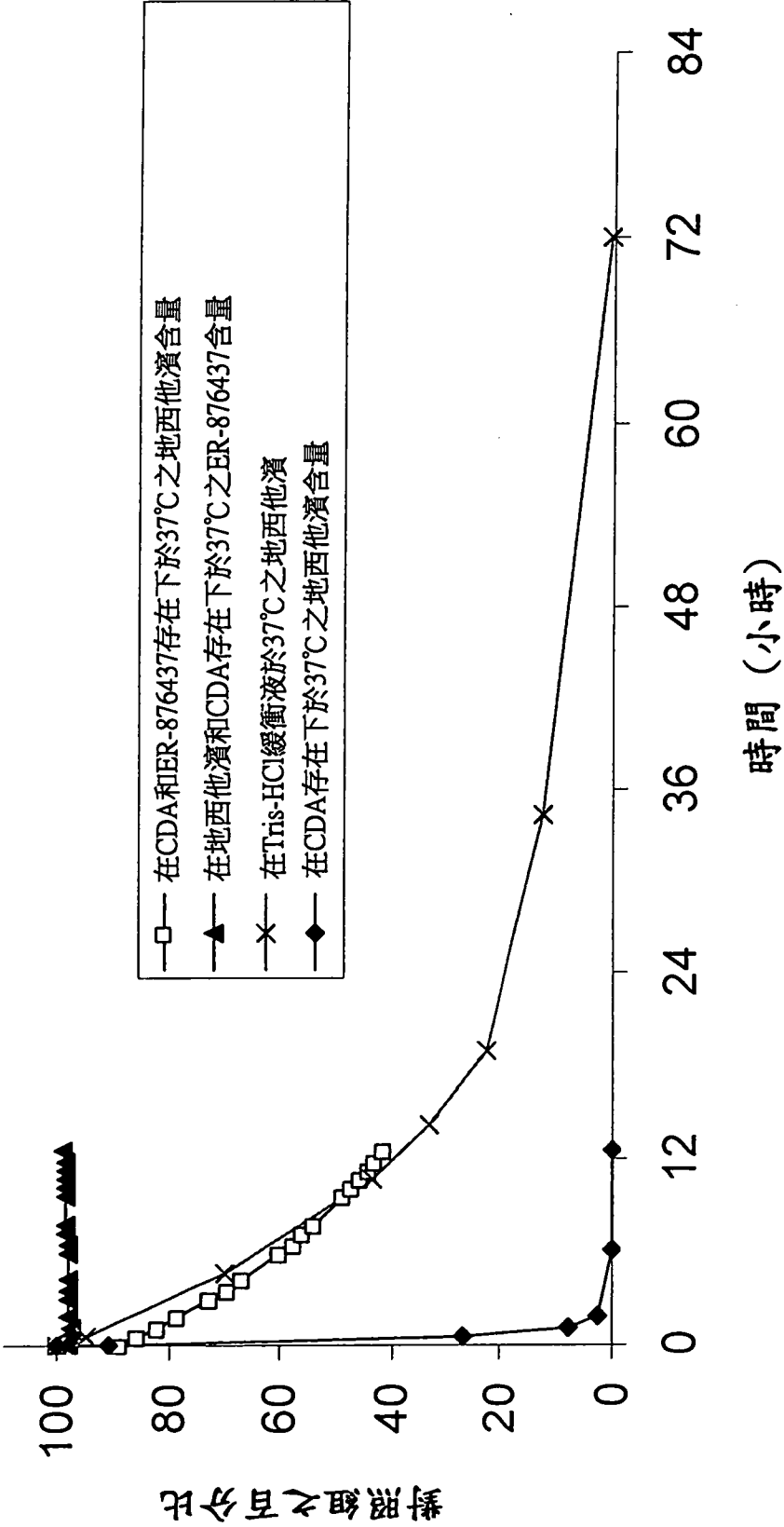


圖6