



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102256949 B

(45) 授权公告日 2014. 09. 24

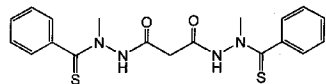
(21) 申请号 200980151296. 4
 (22) 申请日 2009. 10. 21
 (30) 优先权数据
 61/196, 943 2008. 10. 22 US
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2011. 06. 17
 (86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2009/061491 2009. 10. 21
 (87) PCT国际申请的公布数据
 W02010/048293 EN 2010. 04. 29
 (73) 专利权人 辛塔医药品有限公司
 地址 美国马萨诸塞州
 (72) 发明人 永井雅纯 沈建华
 (74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所
 11256
 代理人 陈文平 尚继栋

(51) Int. Cl.
 C07D 231/00 (2006. 01)
 A01N 37/18 (2006. 01)
 C07C 327/00 (2006. 01)
 (56) 对比文件
 CN 101242820 A, 2008. 08. 13, 说明书第
 1-39 页.
 US 2008/0226588 A1, 2008. 09. 18, 说明书第
 1-21 页.
 审查员 李享

权利要求书1页 说明书37页 附图14页

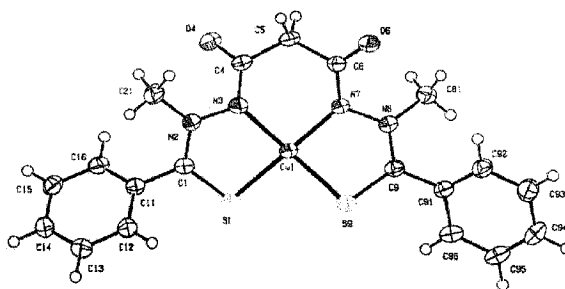
(54) 发明名称
 双 [硫代酰肼酰胺] 化合物的过渡金属络合物

(57) 摘要
 本发明涉及一种化合物, 该化合物包含与过渡金属阳离子络合的双 [硫代酰肼酰胺] 或其去质子化形式, 其中, 所述双 [硫代酰肼酰胺] 由结构式 (I) 表示:

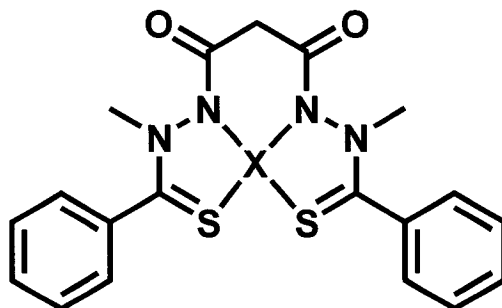


或其前药、异
 (1)

构体、酯、盐、水合物、溶剂化物、多晶型或去质子化形式。本发明还提供一种包含本发明的化合物的药物组合物和其使用方法。

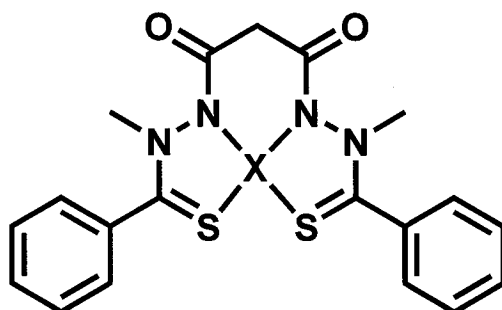


1. 一种化合物,由如下结构式表示:



其中, X 是 Cu^{2+} 或 Zn^{2+} 。

2. 权利要求 1 的化合物,其中,所述化合物的纯度大于 50 重量%。
3. 权利要求 1 的化合物,其中,所述化合物的纯度大于 90 重量%。
4. 权利要求 3 的化合物,其中, X 是 Cu^{2+} 。
5. 一种药物组合物,其包含由如下结构式表示的化合物:



和药学可接受的载体或稀释剂,其中 X 是 Cu^{2+} 或 Zn^{2+} 。

6. 权利要求 5 的药物组合物,其中所述过渡金属阳离子是 Cu^{2+} 。
7. 有效量的权利要求 1 的化合物或权利要求 5 的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。
8. 权利要求 7 的用途,其中,所述癌症是黑素瘤。
9. 有效量的紫杉醇或紫杉醇类似物和有效量的权利要求 1 的化合物或权利要求 5 的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中所述紫杉醇类似物是指具有基本紫杉烷骨架并促进微管形成的化合物。
10. 权利要求 9 的用途,其中,所述癌症是黑色素瘤。

双 [硫代酰肼酰胺] 化合物的过渡金属络合物

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于 2008 年 10 月 22 日提交的美国临时申请 No. 61/196, 943 的优先权, 该临时申请以引用的方式结合于此。

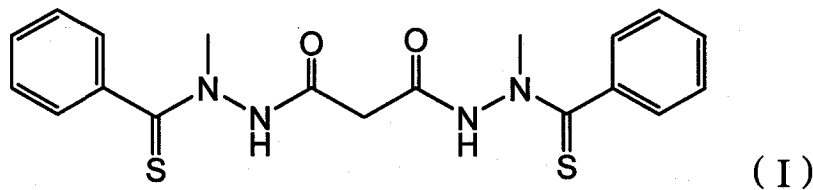
背景技术

[0003] 在美国专利 6, 800, 660、6, 762, 204、7, 037, 940、7, 001, 923 和 6, 924, 312 中已经报道某些双 [硫代酰肼酰胺] 化合物显著增强紫杉醇和紫杉醇类似物的抗癌活性。特别是, 已经证明相对于单独用紫杉醇治疗的患者, N- 丙二酰基 - 双 (N- 甲基 - 硫代苯甲酰肼) 与紫杉醇组合延长了患有 4 期转移性黑素瘤的患者在疾病进展之前的时间。具有更具活性的双 [硫代酰肼酰胺] 抗癌化合物将是有利的。

发明内容

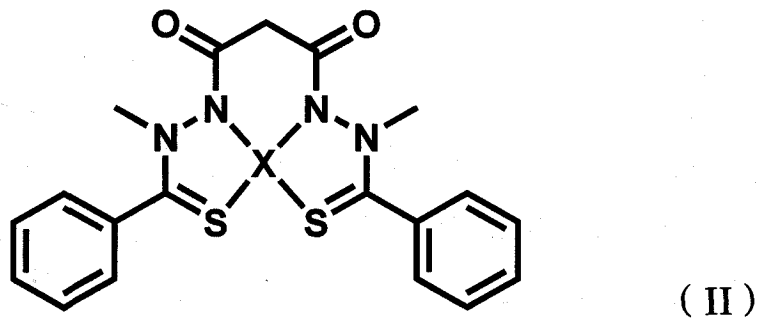
[0004] 本发明涉及一种化合物, 该化合物包含与过渡金属阳离子络合、配位或螯合的由结构式 (I) 所表示的双 [硫代酰肼酰胺]:

[0005]



[0006] 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物、多晶型或去质子化形式。这种类型化合物的一个实例由结构式 (II) 表示:

[0007]



[0008] 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物或多晶型, 其中 X 是具有 +2 电荷的过渡金属阳离子。

[0009] 另一个实施方式是包含本发明的化合物和药学可接受的载体和稀释剂的药物组合物。该药物组合物可用于治疗, 例如作为抗增生剂 (例如, 抗癌药)。另外, 该药物组合物可用于治疗对 Hsp70 诱导有反应的病症的治疗中, 或该药物组合物可用于治疗对自然杀伤细胞诱导有反应的病症, 如细菌感染、真菌感染、病毒感染或寄生虫感染的治疗中。该药物组合物还可用于治疗、减少或抑制有此需要的受试者中的血管生成的治疗中。

[0010] 本发明还提供一种治疗癌症患者、治疗患有 Hsp70 反应性 (responsive) 疾病的患者、治疗患有自然杀伤细胞诱导反应性疾病的患者或治疗、减少或抑制有此需要的患者的血管生成的方法。该方法包括将有效量的本发明化合物或本发明的药物组合物给药于患者。在一种实施方式中,本发明的化合物与紫杉醇 (Taxol[®]) 或紫杉醇类似物一起给药。

[0011] 本发明还提供本发明的化合物用于制造药物的用途,该药物用于治疗癌症患者,用于治疗患有 Hsp70 反应性疾病的患者,用于治疗患有自然杀伤细胞诱导反应性疾病的患者,或用于治疗、减少或抑制有此需要的患者的血管生成。

[0012] 本发明还涉及本发明化合物用于治疗癌症患者、用于治疗患有 Hsp70 反应性疾病的患者、用于治疗患有自然杀伤细胞诱导反应性疾病的患者或用于治疗、减少或抑制有此需要的患者的血管生成中的用途。

附图说明

[0013] 图 1 是紫杉醇 (Taxol[®]) 的结构。

[0014] 图 2 是多西紫杉醇 (Taxotere[®]) 的结构。

[0015] 图 3-23 是紫杉醇类似物的各自结构。

[0016] 图 24 是包含从聚合物骨架上悬出的紫杉醇类似物基团的聚合物的结构。该聚合物是所示三个单体单元的三元共聚物。

[0017] 图 25 显示化合物 1 和 2 对汇合 M14 细胞的细胞毒性。

[0018] 图 26 是化合物 1 的 ORTEP 图,显示 50% 的热椭圆体 (thermalellipsoid)。

具体实施方式

[0019] 本发明涉及由结构式 (I) 所表示的双 [硫代酰肼酰胺] 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物、多晶型或去质子化形式的过渡金属络合物 (配合物或螯合物)。这种类型的络合物的一个例子如上述结构式 (II) 所示。

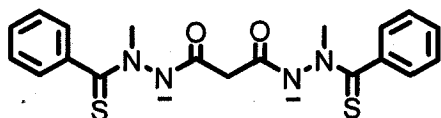
[0020] 在此所用的“络合的”是指双 [硫代酰肼酰胺] 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物、多晶型或去质子化形式通过一个或多个配位共价键或配位键与过渡金属离子连接。

[0021] 在此所用的“螯合的”是指双 [硫代酰肼酰胺] 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物、多晶型或去质子化形式通过配位共价键或配位键与过渡金属离子在两个或多个连接点结合。

[0022] 在此所用的“配位”、“配位的”、“配位共价键”和“配位键”具有本领域普通技术人员通常已知的含义。

[0023] 在此所用的双 [硫代酰肼酰胺] 的“去质子化形式”是指一种分子,其中从该双 [硫代酰肼酰胺] 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物或多晶型中去掉了一个或多个质子。例如,结构式 (I) 的双 [硫代酰肼酰胺] 的去质子化形式由如下结构式所表示:

[0024]

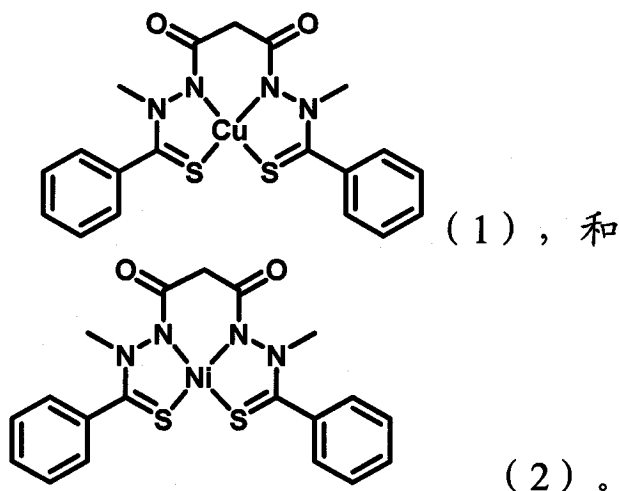


(Ia)

[0025] “过渡金属阳离子”是指元素周期表第 3-12 族金属的带正电荷的离子。例子包括 Ni^{2+} 、 Cu^+ 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Co^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Pt^{2+} 、 Pd^{2+} 、 V^{4+} 、 V^{5+} 、 Cr^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Cr^{4+} 、 Mn^{2+} 、 Mn^{3+} 、 Mn^{4+} 和 Mn^{5+} 。在一具体实施方式中,过渡金属阳离子具有 +2 电荷。例子包括 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pt^{2+} 和 Pd^{2+} 。在一具体实施方式中,过渡金属阳离子是 Cu^+ 、 Cu^{2+} 或 Ni^{2+} 。在一更具体的实施方式中,过渡金属阳离子是 Cu^{2+} 。在本段所述的双 [硫代酰肼酰胺] 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物、多晶型或去质子化形式与过渡金属阳离子的摩尔比,例如等于或大于 0.5 且等于或小于 2.0 (即 $0.5 \leq \text{比值} \leq 2.0$) 或 1.1。

[0026] 本发明的化合物的例子包括化合物 1 和化合物 2 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物或多晶型:

[0027]



(1), 和

(2)。

[0028] 有利地,本发明的化合物基本上是纯的,例如纯度大于 50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、99%、99.5% 或 99.9% (重量)。“重量百分比纯度”是指化合物的重量除以化合物加杂质的重量再乘以 100%。

[0029] 本发明的化合物可以通过将结构式 (I) 表示的双 [硫代酰肼酰胺] 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物、多晶型或去质子化形式与过渡金属盐反应而制备。该过渡金属盐可以是过渡金属阳离子的任何无机或有机盐。例如,氯化盐、硝酸盐、硫酸盐、醋酸盐等可与在此所述的双 [硫代酰肼酰胺] 或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物、多晶型或去质子化形式反应以得到本发明的化合物。在一种实施方式中,过渡金属盐是铜 (II) 盐,如 CuCl_2 。在另一种实施方式中,过渡金属盐是镍 (II) 盐,如 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 。

[0030] 所用的双 [硫代酰肼酰胺] 与过渡金属阳离子源的比通常是 0.5-2.0 或 0.8-1.2。在一种实施方式中,该比是约 1。

[0031] 溶剂,如二氯甲烷、乙腈、丙酮、醇类 (如甲醇、乙醇)、四氢呋喃和水可用于双 [硫代酰肼酰胺] 衍生物与过渡金属盐的反应中。在一种实施方式中,溶剂是乙醇。

[0032] 用于制备所述化合物的双 [硫代酰肼酰胺] 可以根据记载在美国专利 No. 6, 800, 660、6, 762, 204 和 6, 825, 235 以及美国公开专利申请 No. 2008/0146842 中的方法

制备。这些专利和出版物的全部教导以引用的方式结合于此。

[0033] 本发明的某些化合物可以作为不同的异构体（例如立体异构体、配位异构体、连接异构体、水合异构体等）获得。本发明包括所述化合物的异构体形式和两种纯异构体及其混合物，包括外消旋混合物。异构体可以利用任何适宜的方法，如色谱法分离。

[0034] 本发明的化合物可包含一个或多个手性中心和 / 或双键，并因此作为立体异构体存在，如双键异构体（即几何异构体）、对映异构体或非对映异构体。根据本发明，在此描述的包括本发明化合物的化学结构包括所有相应的化合物对映异构体、非对映异构体和几何异构体，即，立体化学纯的形式（例如，几何纯、对映体纯或非对映体纯）和异构体混合物（例如，对映异构体、非对映异构体和几何异构体混合物）。在一些情形中，一种对映异构体、非对映异构体或几何异构体将比其他异构体具有更高的活性或改进的毒性或动力学特征。在这些情形中，优选本发明化合物的这种对映异构体、非对映异构体和几何异构体。

[0035] 在此所用的术语“多晶型”是指在此所述的本发明化合物的固体结晶形状。同一化合物的不同多晶型可以具有不同的物理、化学和 / 或光谱性质。不同的物理性质包括，但不限于稳定性（例如对热或光的稳定性）、可压缩性和密度（在制剂和产品制造中重要）和溶出速率（其可影响生物利用度）。稳定性的不同可能是由于化学反应性的变化（例如不同的氧化，使得当由一种多晶型构成时比由另一种多晶型构成时剂型变色更快）或机械特性的变化（例如由于动力学有利的多晶型转化为热力学更稳定的多晶型，片剂在储存时破碎）或两者（例如一种多晶型的片剂在高湿度下更易崩解）。多晶型的不同物理性质可影响其加工。例如，一种多晶型可以比另一种更容易形成溶剂化物或更难以过滤或洗掉杂质，例如由于其颗粒的形状或粒度分布。

[0036] 在此所用的术语“溶剂化物”是指在此所述的本发明的化合物还包括通过非共价分子间力结合的化学量或非化学量的溶剂。

[0037] 在此所用的术语“水合物”是指在此所述的本发明的化合物还包括通过非共价分子间力结合的化学量或非化学量的水。

[0038] 在此所用的术语“前药”是指一种化合物的衍生物，它在生物学条件下（体外或体内）可以水解、氧化或以其他方式反应以提供本发明的化合物。前药可以在生物学条件下在这种反应后成为具有活性的，或者可在其未反应形式下具有活性。

[0039] 本发明的化合物或在此所述的双[硫代酰肼酰胺]可以盐的形式存在。在一种实施方式中，本发明化合物的盐是指非毒性“药学可接受的盐”。在另一实施方式中，盐还包括非药学可接受的盐，如三氟醋酸盐。

[0040] 药学可接受的盐形式包括药学可接受的酸式 / 阴离子盐或碱式 / 阳离子盐。

[0041] 药学可接受的酸式 / 阴离子盐包括，但不限于醋酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、碳酸氢盐、酒石酸氢盐、溴化物、依地酸钙、右旋樟脑磺酸盐、碳酸盐、氯化物、柠檬酸盐、二盐酸盐、依地酸盐、乙二磺酸盐、丙酸酯月桂硫酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸盐、庚糖酸盐 (glyceptate)、葡糖酸盐、谷氨酸盐、乙二醇对氨基苯砷酸盐 (glycollylarsanilate)、己基间苯二酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、羟基萘甲酸盐、碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、粘酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、双羟萘酸盐、泛酸盐、磷酸盐 / 二磷酸盐、聚半乳糖醛酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、碱式乙酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、丹宁酸盐、酒石酸盐、茶绿酸盐、甲苯磺酸盐和三乙基碘化物盐。

[0042] 本发明的化合物包括药学可接受的阴离子盐形式,其中阴离子盐包括醋酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、碳酸氢盐、酒石酸氢盐、溴化物、依地酸钙、右旋樟脑磺酸盐、碳酸盐、氯化物、柠檬酸盐、二盐酸盐、依地酸盐、乙二磺酸盐、丙酸酯月桂硫酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸盐、庚糖酸盐、葡糖酸盐、谷氨酸盐、乙二醇对氨基苯肿酸盐、己基间苯二酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、羟基萘甲酸盐、碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、粘酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、双羟萘酸盐、泛酸盐、磷酸盐 / 二磷酸盐、聚半乳糖醛酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、碱式乙酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、丹宁酸盐、酒石酸盐、茶绿酸盐、甲苯磺酸盐和三乙基碘化物盐。

[0043] 本发明的一种实施方式涉及治疗具有增生性疾病的患者的方法,该方法包括将有效量的所述化合物或药物组合物给药于患者。癌症,包括多重耐药性癌症,是一种增生性疾病,其可用本发明的化合物治疗。非恶性增生性疾病也包括在本发明中。

[0044] “治疗癌症患者”包括部分或基本达到以下一种或多种:抑制癌症的生长或扩散,减少肿瘤的程度(例如减少肿瘤的大小或减少受影响部位的数目),抑制癌症的增长速度,缓解或改善临床症状或与癌症有关的指标(如组织或血清成分)和/或减少切除或缓解后癌症复发的可能性。

[0045] 令人惊奇地发现,在此记载的过渡金属螯合、配位或络合化合物显示足够的抗癌活性,使其适合用于单一治疗,以及与其他抗增生或抗癌治疗结合或协同治疗。特别是,发现 N-丙二酰基-双(N-甲基-N-硫代苯甲酰基酰肼)或其前药、异构体、酯、盐、水合物、溶剂化物、多晶型或去质子化形式的过渡金属螯合物、配合物或络合物可具有足够的抗癌活性,以使其适合用于单一治疗或与其他抗增生或抗癌治疗如紫杉醇结合或协同治疗。

[0046] 其他抗增生或抗癌治疗可以与本发明的化合物或药物组合物联合以治疗增生性疾病和癌症。例子包括与其他抗癌药物、手术、放射治疗(包括,但不限于 γ 放射、中子束放射治疗、电子束放射治疗、质子治疗、短距离放射治疗和全身性放射活性同位素)、热治疗(例如,参见美国公开专利申请 No. 2008/0119440,其全部教导以引用的方式结合于此)和内分泌治疗的联合治疗。可与本发明的化合物或药物组合物联合使用的其他抗癌药包括生物反应修饰剂(包括,但不限于干扰素、白介素和肿瘤坏死因子(TNF))、高温治疗和冷冻治疗、减弱任何不良反应的药物(例如止吐药)以及其他经批准的化学治疗药物。抗癌药物的具体例子在以下详述。优选地,共同给药的抗癌药物是使微管稳定的药物,如紫杉醇或紫杉醇类似物。

[0047] 可通过本发明方法治疗或预防的癌症包括,但不限于人类肉瘤和癌,例如,纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、成骨性肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤因氏瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺瘤、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝细胞瘤、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、韦尔姆斯氏瘤、子宫颈癌、睾丸瘤、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜细胞瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、黑色素瘤、神经母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、白血病,例如急性淋巴细胞性白血病和急性髓细胞白血病(髓母细胞、早幼粒细胞、髓单核细胞、单核细胞和红白血病)、慢性白血病(慢性髓细胞(粒细胞)白血病和慢性淋巴细胞性白血病)、和真性红细

胞增多症、淋巴瘤（何杰金病和非何杰金病）、多发性骨髓瘤、Waldenstrom 巨球蛋白血症和重链病。

[0048] 白血病的其他实例包括急性和 / 或慢性白血病,例如,淋巴细胞白血病(例如,如 p388(鼠)细胞系例示的)、大颗粒淋巴细胞白血病、和淋巴母细胞白血病;T-细胞白血病,例如 T-细胞白血病(例如,如 CEM, Jurkat 和 HSB-2(急性)、YAC-1(鼠)细胞系所例示的)、T-淋巴细胞白血病、和 T-成淋巴细胞白血病;B 细胞白血病(例如,如由 SB(急性)细胞系例示的)、和 B-淋巴细胞白血病;混合细胞白血病,例如 B 和 T 细胞白血病和 B 和 T 淋巴细胞白血病;骨髓白血病,例如粒细胞白血病、髓细胞白血病(例如,如由 HL-60(前髓细胞)细胞系例示的)、和骨髓性白血病(例如,如由 K563(慢性)细胞系例示的);中性粒细胞白血病;嗜酸性细胞白血病;单核细胞白血病(例如,如由 THP-1(急性)细胞系例示的);髓单核细胞性白血病;Naegeli-型髓样白血病;和非淋巴细胞白血病。白血病的其他例子记载在 The Chemotherapy Sourcebook 的第 60 章,Michael C. Perry Ed., Williams & Williams(1992) 和 Holland Frie Cancer Medicine 的第 36 节,第五版, Bast 等人 Eds., B. C. Decker Inc. (2000) 中。其全部教导以引用的方式结合于此。

[0049] 其他可通过本发明的方法治疗或预防的癌症包括,但不限于口腔癌和咽癌,包括舌、口、咽和其他口腔癌;消化系统癌,包括食道、小肠、直肠、肛门、肛管、肛门直肠、肝和肝内胆管、胆囊和其他胆道、胰腺和其他消化器官;呼吸系统癌,包括喉和支气管;骨和关节癌;软组织(包括心脏)癌;生殖系统癌,包括子宫颈、子宫体、卵巢、外阴、阴道和其他女性生殖器、睾丸、阴茎和其他男性生殖器;泌尿系统癌,包括肾和肾盂、和输尿管和其他泌尿器官;眼和眼眶癌;白血病,包括急性骨髓性白血病和慢性骨髓性白血病。

[0050] 在一种实施方式中,相信所公开的方法在治疗非实体瘤如多发性骨髓瘤患者中特别有效。在另一种实施方式中,相信所述方法对 T-白血病(例如由 Jurkat 和 CEM 细胞系例示的);B-白血病(例如由 SB 细胞系例示的);前髓细胞(例如由 HL-60 细胞系例示的);子宫肉瘤(例如由 MES-SA 细胞系例示的);单核细胞白血病(例如由 THP-1(急性)细胞系例示的);以及淋巴瘤(例如由 U937 细胞系例示的)特别有效。

[0051] 在另一种实施方式中,相信所述方法在治疗黑色素瘤患者中特别有效。

[0052] 在另一种实施方式中,相信所述方法在治疗肾细胞癌患者中特别有效。

[0053] 在另一种实施方式中,相信所述方法在其癌症已成为“抗药性”的患者的治疗中特别有效。当抗癌药对于治疗癌症患者不再有效时,最初对该抗癌药有反应的癌症变得对该抗癌药有抗性。例如,许多肿瘤最初对抗癌药物治疗有反应,表现为大小减少或甚至缓解,只不过逐步发展为对该药物的抗性。抗药性肿瘤的特征是,在表面上缓解后,尽管以增加的剂量给予抗癌药物,但其重新开始生长和 / 或复发。将已对两种或多种抗癌药物产生抗性的癌症称为“多重抗药性”。例如,常见的是癌症对三种或以上抗癌药物,甚至五种或以上抗癌药物以及有时对十种或以上抗癌药物产生抗性。

[0054] 许多非癌症疾病包括过度的或过度增生的细胞生长,被称为增生(hyperplasia)。在此所用的术语“增生性疾病”、“过度增生性疾病”和“细胞增生疾病”通常可交替地使用,是指涉及细胞的病理性生长的疾病或医学状况。这些疾病包括癌症。

[0055] 非癌增生性疾病包括平滑肌细胞增生、系统性硬化症、肝硬化、成人型呼吸窘迫综合征、特发性心肌病、红斑狼疮、视网膜病例如糖尿病视网膜病或其他视网膜病、心脏增生、

生殖系统相关疾病如良性前列腺增生和卵巢囊肿、肺纤维症、子宫内膜异位、纤维瘤、错构瘤、淋巴管瘤、肉状瘤病、硬纤维瘤等。

[0056] 平滑肌细胞增生包括增生性脉管疾病,例如,内膜平滑肌细胞增生、动脉再狭窄和血管闭塞,特别是生物学或机械介导的血管损伤(例如与气囊血管成形术或血管狭窄有关的血管损伤)后的狭窄。而且,内膜平滑肌细胞增生可包括在平滑肌而不是脉管系统中的增生,例如在胆管堵塞中的增生、哮喘患者肺的支气管气道中的增生,肾间质性纤维化患者的肾中的增生等。

[0057] 非癌性增生性疾病还包括皮肤细胞的过度增生,如牛皮癣及其各种临床形式,莱特尔氏综合征、毛发红糠疹和角质化疾病的过度增生变形(例如光化性角化症、老年角化病)、硬皮病等。

[0058] 可与本发明的化合物联合使用以治疗增生性疾病如癌症患者或减少增生性疾病如癌症复发可能性的药物包括但不限于:20-表-1,25-二羟基维生素D3;5-乙炔基尿嘧啶;阿比特龙;阿柔比星;酰基富烯;十烯醇(adecyphenol);阿多来新;阿地白介素;ALL-TK拮抗剂;六甲蜜胺;氨莫司汀;氨基草酰(amidox);氨磷汀;氨基酮戊酸;氨柔比星;安吡啶;阿那格雷;阿那曲唑;穿心莲内酯;血管生成抑制剂;拮抗剂D;拮抗剂G;安雷利克斯(Antarelix);抗背部化形态发生蛋白-1(anti-dorsalizing morphogenetic protein-1);抗雄激素;前列腺癌;抗雌激素;抗肿瘤物质;反义寡核苷酸;阿非科林甘氨酸酯;凋亡基因调节剂;凋亡调节剂;脱嘌呤核酸;ara-CDP-DL-PTBA;精氨酸脱氨酶;asulacrine;阿他美坦;阿莫司汀;axinastatin 1;axinastatin 2;axinastatin 3;阿扎司琼;阿扎毒素(azatoxin);氮杂酪氨酸;浆果赤霉素III衍生物;balanol;巴马司他;BCR/ABL拮抗剂;苯并二氢卟吩;苯甲酰基星形孢菌素; β -内酰胺衍生物; β -alethine; β -霉素B(betaclamycin B);桦木酸;bFGF抑制剂;比卡鲁胺;比生群;双氮丙啶基精胺;双萘法德;bistratene A;比折来新;breflate;溴匹立明;布度钛;丁硫氨酸硫酸亚胺(buthionine sulfoximine);卡泊三醇;钙感光蛋白C;喜树碱衍生物;金丝雀痘IL-2;卡培他滨;羧胺-氨基-三唑;羧胺三唑;CaRest M3;CARN 700;软骨衍生抑制剂;卡折来新;酪蛋白激酶抑制剂(ICOS);澳栗精胺;杀菌肽B;西曲瑞克;chlorIns;氯代喹啉磺胺(chloroquinoxaline sulfonamide);西卡前列素;顺卞啉;克拉屈滨;氯米芬类似物;克霉唑;科利斯霉菌素A;科利斯霉菌素B;考布他汀A4;考布他汀类似物;科纳配基(conagenin);甘蓝海绵(crambescidin)816;克立那托;缩酚酸肽(cryptophycin)8;缩酚酸肽A衍生物;curacin A;环戊蒽醌(cyclopentantraquinones);cycloplatam;莎草霉菌素(cypemycin);阿糖胞苷十八烷基磷酸盐(cytarabine ocfosfate);细胞溶解因子;细胞抑制剂(cytostatin);达西单抗;地西他滨;脱氢膜海鞘素B(dehydrodidemnin B);地洛瑞林;地塞米松;右异环磷酰胺;右丙亚胺;右维拉帕米;地吡醌;膜海鞘素B;didox;二乙基去甲精胺;二氢-5-氮杂胞苷;9-二氧霉素(9-dioxamycin);二苯基螺莫司汀;二十二醇;多拉司琼;去氧氟尿苷;屈洛昔芬;屈大麻酚;多卡米星SA;依布硒林;依考莫司汀;依地福新;依决可单抗;依洛尼塞;榄烯;乙噻替氟;表柔比星;爱普列特;雌氮芥类似物;雌激素激动剂;雌激素拮抗剂;依他硝唑;磷酸依托泊苷;依西美坦;法倔唑;法扎拉滨;芬维A胺;非格司亭;非那司提;黄酮吡醇;氟卓斯汀;fluasterone;氟达拉滨;氟柔红霉素盐酸盐(flurodaunorunicin hydrochloride);福酚美克;福美坦;福司曲星;福替

目丁;钇 texaphyrin;硝酸镓;加洛他滨;加尼瑞克;明胶酶抑制剂;吉西他滨;谷胱甘肽抑制剂;hepsulfam;神经生长因子 (heregulin);六亚甲基-双乙酰胺;金丝桃素;伊班膦酸;伊达比星;碘昔芬;伊决孟酮;伊莫福新;伊洛马司他;咪唑吡啶酮;咪喹莫特;免疫刺激剂肽;胰岛素样生长因子-1 受体抑制剂;干扰素激动剂;干扰素;白细胞介素;碘苜蓿;碘阿霉素;甘薯苦醇,4-;伊罗普拉;伊索格拉定;isobenzazole;isohomohalicondrin B;伊他司琼;jasplakinolide;kahalalide F;片螺素-N 三醋酸酯;兰乐肽;新生霉素;来格司亭;硫酸香菇多糖;leptolstatin;来曲唑;白血病抑制因子;白细胞 α 干扰素;亮丙瑞林+雌激素+孕酮;亮丙瑞林;左咪唑;利阿唑;线型聚酰胺类似物;亲脂性二糖肽;亲脂性铂化合物类;lissoclinamide 7;洛铂;蚯蚓磷脂;洛美曲索;氯尼达明;洛索萘醌;洛伐他汀;罗唑利宾;勒托替康;镳 texaphyrin;lysofylline;裂解肽;美坦辛;甘露他汀 A(mannostatin A);马马司他;马丙考;乳腺丝氨酸蛋白酶抑制物(maspin);基质溶解因子抑制剂;基质金属蛋白酶抑制剂;美诺立尔;麦尔巴隆;美替瑞林;甲硫氨酸酶;灭吐灵;MIF 抑制剂;米非司酮;米替福新;米立司亭;配错双链 RNA;丙米腓;二溴卫矛醇;丝裂霉素类似物;米托萘胺;丝裂毒素(mitotoxin)成纤维细胞生长因子-皂草素;米托萘醌;莫法罗汀;莫拉司汀;单克隆抗体,人绒毛膜促性腺激素;单磷酸脂质 A+ 肌细菌细胞壁骨架;莫哌达醇;多重耐药基因抑制剂;基于多肿瘤抑制剂 1 的治疗;芥菜抗癌药;印度洋海绵 B;分枝杆菌细胞壁提取物;myriaporone;N-乙酰基地那林;N-取代的苯甲酰胺;纳法瑞林;nagrestip;纳洛酮+戊唑辛;napavin;萘萘二醇(naphterpin);纳托司亭;奈达铂;奈莫柔比星;奈立膦酸;中性肽链内切酶;尼鲁米特;尼萨霉素;氧化一氮调节剂;氧化氮抗氧化剂;nitrullyn;06-苄基鸟嘌呤;奥曲肽;okicenone;寡核苷酸;奥那司酮;奥坦西隆;昂丹司琼;oracin;口服细胞因子诱导剂;奥马铂;奥沙特隆;奥沙利铂;oxaunomycin;palauamine;palmitoylrhizoxin;帕米膦酸;人参三醇;帕诺米芬;parabactin;帕折普汀;培天冬酶;培得星;戊聚硫钠;喷司他丁;pentrozole;潘氟隆;过磷酸胺;紫苏子醇;吩嗪霉菌素(phenazinomycin);乙酸苯酯;膦酸酶抑制剂;毕西巴尼;盐酸匹鲁卡品;吡柔比星;吡曲克辛;placetin A;placetin B;血纤维蛋白溶酶原活化抑制剂;铂络合物;铂化合物;铂-三胺络合物;吡吩姆钠;泊非霉素;强的松;丙基双吡啶酮;前列腺素 J2;蛋白酶体抑制剂;基于蛋白 A 的免疫调节剂;蛋白激酶 C 抑制剂;蛋白激酶 C 抑制剂,微藻;蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂;嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂;羟基茜草素;吡唑啉吡啶;吡哆醛化的血红蛋白聚氧乙烯偶联物;raf 拮抗剂;雷替曲塞;雷莫司琼;ras 法尼基蛋白转移酶抑制剂;ras 抑制剂;ras-GAP 抑制剂;脱甲基的瑞替普汀;铈 Re186 依替膦酸盐;根霉素;核酶;RII 视网膜酰胺;洛太米特;罗希吐碱;胞壁酰基二肽;罗喹美克;rubiginone B1;ruboxyl;沙芬戈;saintopin;SarCNU;肌植醇 A;沙莫司亭;Sdi 1 模拟体;司莫司汀;衰老衍生抑制剂 1;有义寡核苷酸;信号转导抑制剂;信号转导调节剂;信号链抗原结合蛋白;西佐喃;索布佐生;硼卡钠;苯乙酸钠;solverol;生长调节素结合蛋白;索纳明;膦门冬酸;spicamycin D;螺莫司汀;脾脏五肽;spongistatin 1;角鲨胺;干细胞抑制剂;干细胞分裂抑制剂;stipiamide;基质降解酶抑制剂;sulfinosine;强效血管活性肠肽拮抗剂;suradista;苏拉明;苦马豆素;合成葡糖氨基聚糖;他莫司汀;他莫西芬甲硫碘化物;牛磺莫司汀;他扎罗汀;替可加兰钠;喃氟啶;tellurapyrylium;端粒酶抑制剂;替莫泊芬;替莫唑胺;替尼泊昔;四氯十烷氧化物(tetrachlorodecaoxide);tetrazomine;

菌体胚素 (thaliblastine) ; 噻可拉林 ; 促血小板生成素 ; 促血小板生成素模拟物 ; 胸腺法新 ; 促胸腺生成素受体激动剂 ; 胸腺曲南 ; 促甲状腺激素 ; 本紫红素乙酯锡 (tin ethyl etiopurpurin) ; 替拉扎明 ; 环戊二烯钛 ; topsentin ; 托瑞米芬 ; 全能干细胞因子 ; 翻译抑制剂 ; 维甲酸 ; 三乙酰基尿苷 ; 曲西立滨 ; 曲美沙特 ; 曲普瑞林 ; 托烷司琼 ; 妥罗雄脲 ; 酪氨酸激酶抑制剂 ; 酪氨酸磷酸化抑制剂 ; UBC 抑制剂 ; 乌苯美司 ; 泌尿生殖窦衍生长抑制因子 ; 尿激酶受体拮抗剂 ; 伐普肽 ; variolinB ; 载体系统, 红细胞基因治疗 ; 维拉雷锁 ; 藜芦明 ; 冲绿蛋白 (verdins) ; 维替泊芬 ; 长春瑞滨 ; vinxaltine ; 整合素拮抗剂 (vitaxin) ; 伏氯唑 ; 扎诺特龙 ; 泽尼铂 ; 亚苾维 (zilascorb) ; 以及净司他丁酯。优选的抗癌药物是 5- 氟尿嘧啶和亚叶酸。

[0059] 可与本发明的化合物联合应用以治疗增生性疾病如癌症, 或减少增生性疾病如癌症的复发可能性的治疗性抗体的例子包括, 但不限于: 赫赛汀® (HERCEPTIN®) (曲妥单抗) (Genentech, CA), 其是用于治疗转移性乳癌患者的人源化抗-HER2 单克隆抗体; REOPRO® (阿昔单抗) (Centocor), 其是用于预防血块形成的血小板上的抗糖蛋白 IIb/IIIa 受体; ZENAPAX® (达克珠单抗) (RochePharmaceuticals, Switzerland), 其是用于预防肾移植急性排斥的免疫抑制性的、人源化的抗-CD25 单克隆抗体; PANOREX™, 其是鼠抗-17-IA 细胞表面抗原 IgG2a 抗体 (Glaxo Wellcome/Centocor); BEC2, 其是鼠抗-独特型 (GD3 表位) IgG 抗体 (ImClone System); IMC-C225, 其是嵌合型抗-EGFR IgG 抗体 (ImClone System); VITAXIN™, 其是人源化的抗- α V β 3 整合蛋白抗体 (Applied Molecular Evolution/MedImmune); Campath 1H/LDP-03, 其是人源化的抗 CD52 IgG1 抗体 (Leukosite); Smart M195, 其是人源化的抗-CD33 IgG 抗体 (Protein Design Lab/Kanebo); RITUXAN™, 其嵌合型抗-CD20 IgG1 抗体 (IDEC Pharm/Genentech, Roche/Zettyaku); LYMPHOCIDE™, 其是人源化的抗-CD22 IgG 抗体 (Immunomedics); LYMPHOCIDE™Y-90 (Immunomedics); Lymphoscan (Tc-99m 标记的; 放射成像; Immunomedics); Nuvion (抗 CD3; Protein Design Labs); CM3 是人源化的抗-ICAM3 抗体 (ICOS Pharm); IDEC-114 是灵长类动物化的抗-CD80 抗体 (IDEC Pharm/Mitsubishi); ZEVALIN™ 是放射性标记的鼠抗-CD20 抗体 (IDEC/Schering AG); IDEC-131 是人源化的抗-CD40L 抗体 (IDEC/Eisai); IDEC-151 灵长类动物化的抗-CD4 抗体 (IDEC); IDEC-152 灵长类动物化的抗-CD23 抗体 (IDEC/Seikagaku); SMART 抗-CD3 是人源化的抗-CD3 IgG (Protein Design Lab); 5G1.1 是人源化的抗补体因子 5 (C5) 抗体 (Alexion Pharm); D2E7 是人源化的抗-TNF- α 抗体 (CAT/BASF); CDP870 是人源化的抗-TNF- α Fab 片段 (Celltech); IDEC-151 是灵长类动物化的抗-CD4 IgG1 抗体 (IDEC Pharm/SmithKline Beecham); MDX-CD4 是人抗-CD4 IgG 抗体 (Medarex/Eisai/Genmab); CD20- 链霉抗生物素蛋白 (+ 生物素-钇 90; NeoRx); CDP571 是人源化的抗-TNF- α IgG4 抗体 (Celltech); LDP-02 是人源化的抗- α 4 β 7 抗体 (LeukoSite/Genentech); OrthoClone OKT4A 是人源化的抗-CD4 IgG 抗体 (Ortho Biotech); ANTOVA™ 是人源化的抗-CD40L IgG 抗体 (Biogen); ANTEGREN™ 是人源化的抗-VLA-4 IgG 抗体 (Elan); 以及 CAT-152 是人抗-TGF- β 2 抗体 (Cambridge AbTech)。

[0060] 可与本发明的化合物联合应用以治疗增生性疾病如癌症患者或减少增生性疾病如癌症的复发可能性的化疗药包括, 但不限于烷基化剂、抗代谢物、天然产物或激素。

[0061] 在本发明的方法和组合物中对于治疗或预防（减少发展可能性或复发可能性）增生性疾病如癌症有用的烷基化剂的例子包括，但不限于氮芥类（例如氮芥、环磷酰胺、苯丁酸氮芥、苯并氨酸氮芥等）、乙烯亚胺和甲基蜜胺类（例如六甲蜜胺、噻替派）、烷基磺酸酯类（例如白消安）、亚硝基脲类（例如卡莫司汀、洛莫司汀、司莫司汀、链佐星等）、或三氮烯类（氮烯咪胺等）。在本发明的方法和组合物中对治疗或预防（减少发展可能性或复发可能性）癌症有用的抗代谢物的例子包括，但不限于叶酸类似物（例如甲氨蝶呤）、或嘧啶类似物类（例如氟尿嘧啶、氟尿苷（floxouridine）、阿糖胞苷）、嘌呤类似物类（例如巯基嘌呤、硫鸟嘌呤、喷司他丁）。在本发明的方法和组合物中对治疗或预防（减少发展的可能性或复发可能性）癌症有用的天然产物的例子包括，但不限于长春花生物碱类（例如长春碱、长春新碱）、表鬼臼毒素类（例如依托泊苷、替尼泊苷）、抗生素类（例如放射菌素 D、柔红霉素、多柔比星、博来霉素、普卡霉素、丝裂霉素）、酶类（例如 L-天冬酰胺酶）、或生物反应修饰剂类（例如干扰素 α ）。在本发明的方法和组合物中对治疗或预防（减少发展可能性或复发可能性）癌症有用的激素和拮抗剂的例子包括，但不限于肾上腺皮质类固醇类（例如强的松）、孕激素类（例如羟基孕酮己酸酯、甲地孕酮醋酸酯、甲羟孕酮醋酸酯）、雌激素类（例如二乙基己烯雌酚、乙炔基雌二醇）、抗雌激素（例如三苯氧胺）、雄激素类（例如丙酸睾酮、氟甲睾酮）、抗雄激素（例如氟他胺）、促性腺素释放激素类似物（例如亮丙瑞林）。可用于本发明的方法和组合物中治疗或预防（减少发展可能性或复发可能性）癌症的其他物质包括铂配位络合物类（例如顺铂、卡铂）、蒽二酮（例如米托蒽醌）、取代的脲（例如羟基脲）、甲基胍衍生物（例如丙卡巴胍）、肾上腺皮质抑制剂（例如米托坦、氨鲁米特）。

[0062] 在一种实施方式中，本发明的化合物可与治疗增生性疾病如癌症或减少增生性疾病如癌症复发可能性的免疫治疗药联合使用。免疫治疗（也称生物反应修饰剂治疗、生物学治疗、生物治疗、免疫治疗或生物学治疗）是使用免疫系统的部分对抗疾病的治疗。免疫治疗可帮助免疫系统识别癌细胞或增强针对癌细胞的反应。免疫治疗包括主动和被动的免疫治疗。主动免疫治疗刺激身体自有的免疫系统，而被动免疫系统通常使用在体外生成的免疫系统组成。

[0063] 主动免疫治疗的例子包括：癌症疫苗类、肿瘤细胞疫苗类（自体的同种异体的）、树突细胞疫苗类、抗原疫苗类、抗独特型疫苗类、DNA 疫苗类、淋巴因子激活的杀伤（LAK）细胞治疗、或肿瘤浸润淋巴细胞（TIL）疫苗和白细胞介素 -2（IL-2）。主动免疫治疗目前用于治疗或被试验用于治疗各种类型的癌症，包括黑色素瘤、肾（肾脏）癌、膀胱癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠直肠癌、肺癌、白血病、前列腺癌、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、头颈癌、肝癌、恶性脑瘤和晚期黑色素瘤。

[0064] 被动免疫治疗的例子包括：单克隆抗体类和含毒素的靶向治疗类。单克隆抗体类包括裸抗体和偶联抗体（也称标记的、标签的或负载的抗体类）。裸单克隆抗体类没有连接药物或放射性物质，而偶联单克隆抗体类是与化学治疗药（化学标记的）、放射性颗粒（放射性标记的）或毒素（免疫毒素）偶联的。很多裸单克隆抗体药物已经批准用于治疗癌症，这些药物包括：

[0065] 利妥昔单抗（Rituxan），用于治疗 B 细胞非霍奇金淋巴瘤的抗 CD20 抗原的抗体；曲妥珠单抗（赫赛汀），用于治疗晚期乳腺癌的抗 HER2 蛋白的抗体；阿仑珠单抗（Campath），用于治疗 B 细胞慢性淋巴细胞白血病（B-CLL）的抗 CD52 抗原的抗体；西妥昔

单抗(爱必妥(Erbix)),与伊立替康联合用于治疗晚期结肠直肠癌以及治疗头颈癌的抗EGFR蛋白的抗体;贝伐珠单抗(Bevacizumab)(阿瓦斯汀(Avastin)),其是针对VEGF蛋白的抗血管生成治疗剂并与化学治疗药联合使用以治疗转移性结肠直肠癌。很多偶联的单克隆抗体已经批准用于治疗癌症,其包括:放射性标记抗体替伊莫单抗(Zevalin),其向恶性B淋巴细胞直接传递放射性并用于治疗B细胞非霍奇金淋巴瘤;放射性标记的抗体托西莫单抗(Bexxar),其用于治疗某些类型的非霍奇金淋巴瘤;以及免疫毒素吉妥珠单抗奥佐米星(Gemtuzumab ozogamicin(Mylotarg)),其包含加利车霉素(calicheamicin)并用于治疗急性骨髓性白血病(AML)。BL22是偶联的单克隆抗体,目前在试验用于治疗毛细胞白血病并且有几项用于治疗白血病、淋巴瘤和脑瘤的免疫毒素临床试验正在进行。还有几种批准的放射性标记抗体,用于检测癌症,其包括用于检测结肠直肠癌和卵巢癌的OncoScint以及用于检测前列腺癌的ProstaScint。包含毒素的靶向治疗剂是与生长因子连接的毒素且不包含抗体。批准的包含毒素的靶向治疗剂的例子是地尼白介素2(denileukin diftitox)(Ontak),其用于治疗一种类型的皮肤淋巴瘤(皮肤T细胞淋巴瘤)。

[0066] 辅助免疫治疗剂的例子包括:细胞因子类,如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、粒细胞-集落刺激因子(G-CSF)、巨噬细胞炎症蛋白(MIP)-1- α 、白细胞介素类(包括IL-1、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21和IL-27)、肿瘤坏死因子类(包括TNF- α)和干扰素类(包括IFN- α 、IFN- β 和IFN- γ);氢氧化铝(明矾);卡介苗(Bacille Calmette-Guérin, BCG);匙孔蛾血蓝蛋白(Keyhole limpet hemocyanin, KLH);不完全弗氏佐剂(IFA);QS-21;DETOX;左咪唑;以及二硝基苯(DNP)。临床研究已经显示将IL-2与其他细胞因子如IFN- α 组合可导致协同反应。

[0067] 几种类型的免疫治疗正在用于治疗黑色素瘤患者。IFN- α 和IL-2被批准用于治疗患有转移性黑色素瘤的人。BCG在进行与黑色素瘤疫苗和其他免疫治疗结合的试验。肿瘤浸润淋巴细胞在I期临床试验中已经显示缩小了黑色素瘤。人抗神经节苷脂抗原单克隆抗体已经显示使皮肤复发的黑色素瘤复原。也已经显示一些自体的和同种异体的肿瘤细胞疫苗类、抗原疫苗类(包括多价抗原疫苗类)、病毒疫苗类和树突细胞疫苗类使得肿瘤缩小。对于这些以及其他黑色素瘤免疫治疗的临床试验在继续。具有高IgM反应的黑色素瘤患者通常比没有引发或引发低IgM抗体的那些患者生存得更好(Morton等人,1992)。已经显示联合的IL-12/TNF- α 免疫治疗与对照组和单独用细胞因子治疗的小鼠相比显著延迟三种小鼠肿瘤模型(B16F10黑色素瘤、刘易斯肺(LL/2)癌和L1肉瘤)中肿瘤的生长。IFN- α 被批准用于治疗恶性黑色素瘤、慢性骨髓性白血病(CML)、毛细胞白血病和卡波西肉瘤。

[0068] 几种类型的免疫治疗用于治疗肾癌患者。IFN- α 和IL-2被批准用于治疗转移性肾(肾脏)癌患者。使用IL-2、干扰素和化学治疗的联合治疗正在进行治疗肾癌的试验。已经显示用肿瘤细胞疫苗加佐剂BCG治疗使一些晚期肾癌患者中的肿瘤缩小。DNA疫苗和肿瘤浸润淋巴细胞也在进行治疗肾癌患者的试验。已经显示嵌合的双特异性G250/抗-CD3单克隆抗体通过克隆的人CD8+T细胞或通过IL-2刺激的外周血淋巴细胞介导肾细胞癌细胞系的细胞裂解。

[0069] 在此所用的“微管蛋白稳定剂”是指通过因微管的稳定化将细胞阻滞在G2-M期来起作用的抗癌药。作为微管蛋白稳定剂的药物可与本发明的化合物联合使用以治疗患有增生性疾病如癌症的患者,或减少增生性疾病如癌症复发的可能性。微管蛋白稳定剂的例

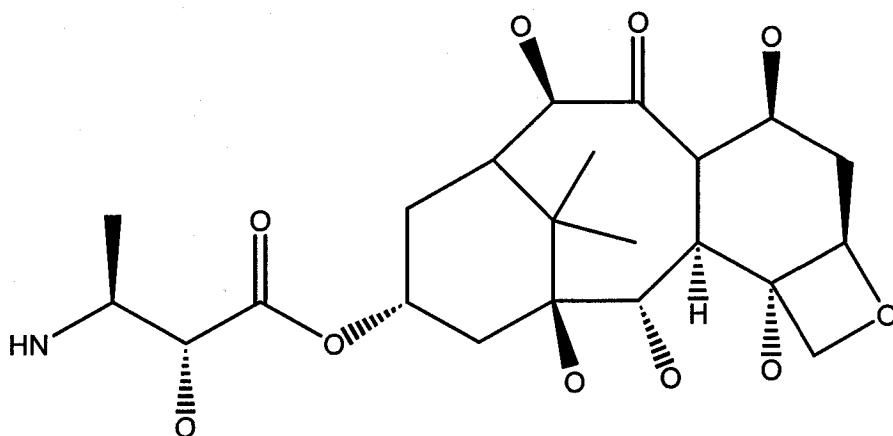
子包括紫杉醇和紫杉醇类似物。微管蛋白稳定剂的其他例子包括,但不限于如下市售的药物和开发中的药物:Discodermolide(还称为 NVP-XX-A-296);埃博霉素类,如埃博霉素 A、埃博霉素 B、埃博霉素 C(还称为脱氧埃博霉素 A 或 dEpoA);埃博霉素 D(还称为 KOS-862、dEpoB 和脱氧埃博霉素 B);埃博霉素 E;埃博霉素 F;埃博霉素 B N-氧化物;埃博霉素 A N-氧化物;16-氮杂-埃博霉素 B;21-氨基埃博霉素 B(还称为 BMS-310705);21-羟基埃博霉素 D(还称为脱氧埃博霉素 F 和 dEpoF)、26-氟代埃博霉素);FR-182877(藤泽,还称为 WS-9885B)、BSF-223651(BASF,还称为 ILX-651 和 LU-223651);AC-7739(味之素,还称为 AVE-8063A 和 CS-39.HCl);AC-7700((味之素,还称为 AVE-8062、AVE 8062A、CS-39-L-Ser.HCl、和 RPR-258062A);Fijianolide B;Laulimalide;Caribaeoside;Caribaeolin;Taccalonolide;Eleutherobin;Sarcodictyin;Laulimalide;Dictyostatin-1;假白榄酮型(jatrophone)酯及其类似物和衍生物。

[0070] 在此所用的“微管蛋白抑制剂”是指通过抑制微管蛋白聚合或微管蛋白装配起作用的抗癌药物。作为微管蛋白抑制剂的药物可与本发明的化合物联合使用以治疗患有增生性疾病如癌症的患者,或减少增生性疾病如癌症的复发可能性。微管蛋白抑制剂的例子包括,但不限于如下市售的药物和开发中的药物:厄布洛唑(Erbulazole)(还称为 R-55104);多拉司他汀(Dolastatin)10(还称为 DLS-10 和 NSC-376128);羟乙基磺酸米伏布林(Mivobulin isethionate)(还称为 I-980);长春新碱;NSC-639829;ABT-751(Abbot,还称为 E-7010);Altorhyrtins(如 Altorhyrtin A 和 Altorhyrtin C);Spongistatins(如 Spongistatin 1、Spongistatin 2、Spongistatin 3、Spongistatin 4、Spongistatin 5、Spongistatin 6、Spongistatin 7、Spongistatin 8 和 Spongistatin 9);盐酸西马多丁(Cemadotin hydrochloride)(还称为 LU-103793 和 NSC-D-669356);Auristatin PE(还称为 NSC-654663);索利多丁(Soblidotin)(还称为 TZT-1027)、LS-4559-P(Pharmacia,还称为 LS-4577);LS-4578(Pharmacia,还称为 LS-477-P);LS-4477(Pharmacia)、LS-4559(Pharmacia);RPR-112378(Aventis);硫酸长春新碱;DZ-3358(Daiichi);GS-164(Takeda);GS-198(Takeda);KAR-2(Hungarian Academy of Sciences);SAH-49960(Lilly/Novartis);SDZ-268970(Lilly/Novartis);AM-97(Armad/Kyowa Hakko);AM-132(Armad);AM-138(Armad/Kyowa Hakko);IDN-5005(Indena);Cryptophycin 52(还称为 LY-355703)、Vitilevuamide;Tubulysin A;Canadensol;矢车菊黄素(Centaureidin)(还称为 NSC-106969);T-138067(Tularik,还称为 T-67、TL-138067 和 TI-138067);COBRA-1(Parker Hughes Institute,还称为 DDE-261 和 WHI-261);H10(Kansas State University);H16(Kansas State University);Oncocidin A1(还称为 BTO-956 和 DIME);DDE-313(Parker Hughes Institute);SPA-2(Parker Hughes Institute);SPA-1(Parker Hughes Institute,还称为 SPIKET-P);3-IAABU(Cytoskeleton/Mt.Sinai School of Medicine,还称为 MF-569);那可丁(Narcosine)(还称为 NSC-5366);Nascapine、D-24851(Asta Medica)、A-105972(Abbott);Hemiasterlin;3-BAABU(Cytoskeleton/Mt.Sinai School of Medicine,还称为 MF-191);TMPN(Arizona State University);二茂钒乙酰丙酮(Vanadocene acetylacetonate);T-138026(Tularik);Monsatrol;Inanocine(还称为 NSC-698666);3-IAABE(Cytoskeleton/Mt.Sinai School of Medicine);

A-204197 (Abbott); T-607 (Tularik, 还称为 T-900607); RPR-115781 (Aventis); Eleutherobins (如 Desmethyleleutherobin、Desaetyeleutherobin、Isoeleutherobin A 和 Z-Eleutherobin); Halichondrin B; D-64131 (Asta Medica); D-68144 (Asta Medica); Diazonamide A; A-293620 (Abbott); NPI-2350 (Nereus); TUB-245 (Aventis); A-259754 (Abbott); Diozostatin; (-)-Phenylahistin (还称为 NSCL-96F037); D-68838 (Asta Medica); D-68836 (Asta Medica); Myoseverin B; D-43411 (Zentaris, 还称为 D-81862); A-289099 (Abbott); A-318315 (Abbott); HTI-286 (还称为 SPA-110, 三氟醋酸盐) (Wyeth); D-82317 (Zentaris); D-82318 (Zentaris); SC-12983 (NCI); Resverastatin 磷酸钠; BPR-0Y-007 (National Health Research Institutes); SSR-250411 (Sanofi); 考布他汀 (Combretastatin) A4; 及其类似物和衍生物。

[0071] 紫杉醇也称为“泰素® (Taxol®)”, 是已知的抗癌药物, 其通过促进和稳定微管形成起作用。紫杉醇的结构如图 1 所示。紫杉醇的很多类似物是已知的, 包括多西紫杉醇, 其结构如图 2 所示。多西紫杉醇也称“泰索帝® (Taxotere®)”。其他紫杉醇类似物的结构如图 3-23 所示。这些化合物具有作为共有结构特征的基本紫杉烷骨架, 并且还显示能够由于稳定化微管而将细胞阻滞在 G2-M 期。因此, 从图 3-23 看出, 众多的取代基可修饰该紫杉烷骨架而对生物学活性没有相反影响。还可以看出, 紫杉醇类似物的环己烷环的零个、一个或两个可在所示的位置具有双键。为了清楚起见, 基本紫杉烷骨架如下显示为结构式 (XXVI):

[0072]



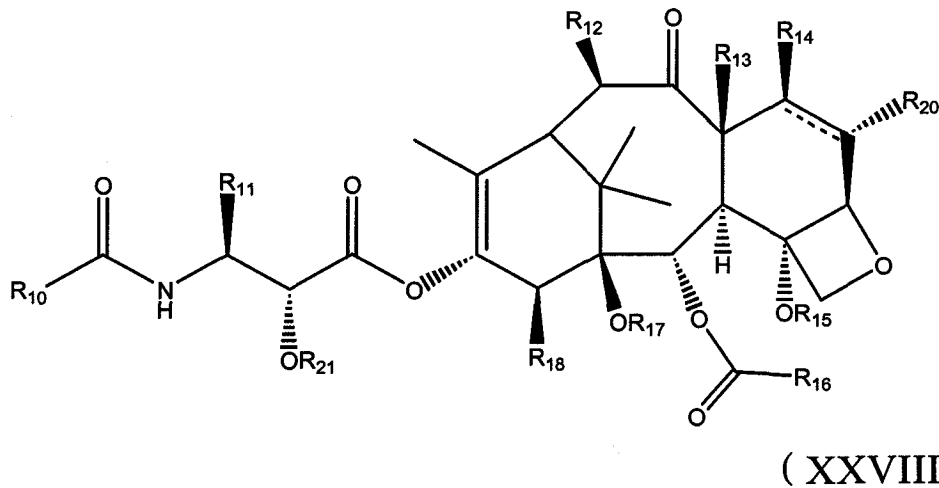
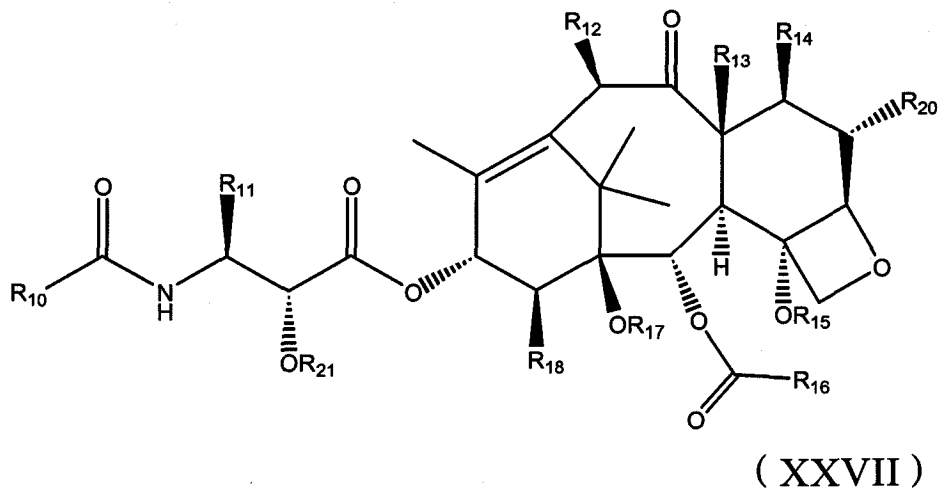
(XXVI)

[0073] 结构式 (XXVI) 所示的紫杉烷骨架中的环己烷环中省略了双键。如图 3-23 和如下结构式 (XXVII) 和 (XXVIII) 所示的, 该基本紫杉烷骨架可在一个或两个环己烷中包括零个或一个双键。结构式 (XXVI) 中也已经省略了很多原子以显示在紫杉醇类似物中通常发生结构变化的位置。例如, 在紫杉烷骨架上简单地用氧原子的取代表示在该位置通常发现羟基、酰基、烷氧基或其他含氧取代基。可在不失去促进和稳定微管形成的能力的前提下在紫杉烷骨架上进行这些和其他取代。因此, 术语“紫杉醇类似物”在此定义为是指具有基本紫杉烷骨架并促进微管形成的化合物。紫杉醇类似物可以制成纳米颗粒胶体组合物以改善输注时间以及不需要传递含克列莫佛的药物, 克列莫佛在有些患者中引起超敏性反应。制成纳米颗粒胶体组合物的紫杉醇类似物的例子是 Abraxane, 它是将在盐水中重配的蛋白质稳

定化紫杉醇的纳米颗粒胶体组合物。

[0074] 通常,在此所用的紫杉醇类似物由结构式 (XXVII) 或 (XXVIII) 表示:

[0075]



[0076] R_{10} 是低级烷基、取代的低级烷基、苯基、取代的苯基、 $-SR_{19}$ 、 $-NHR_{19}$ 或 $-OR_{19}$ 。

[0077] R_{11} 低级烷基、取代的低级烷基、芳基或取代的芳基。

[0078] R_{12} 是 $-H$ 、 $-OH$ 、低级烷基、取代的低级烷基、低级烷氧基、取代的低级烷氧基、 $-O-C(O)-($ 低级烷基 $)$ 、 $-O-C(O)-($ 取代的低级烷基 $)$ 、 $-O-CH_2-O-($ 低级烷基 $)$ 、 $-S-CH_2-O-($ 低级烷基 $)$ 。

[0079] R_{13} 是 $-H$ 、 $-CH_3$, 或与 R_{14} 一起为 $-CH_2-$ 。

[0080] R_{14} 是 $-H$ 、 $-OH$ 、低级烷氧基、 $-O-C(O)-($ 低级烷基 $)$ 、取代的低级烷氧基、 $-O-C(O)-($ 取代的低级烷基 $)$ 、 $-O-CH_2-O-P(O)(OH)_2$ 、 $-O-CH_2-O-($ 低级烷基 $)$ 、 $-O-CH_2-S-($ 低级烷基 $)$, 或与 R_{20} 一起为双键。

[0081] R_{15} 是 $-H$ 、低级酰基、低级烷基、取代的低级烷基、烷氧基甲基、烷硫基甲基 (alkthiomethyl)、 $-OC(O)-O($ 低级烷基 $)$ 、 $-OC(O)-O($ 取代的低级烷基 $)$ 、 $-OC(O)-NH($ 低级烷基 $)$ 或 $-OC(O)-NH($ 取代的低级烷基 $)$ 。

[0082] R_{16} 是苯基或取代的苯基。

[0083] R_{17} 是 $-H$ 、低级酰基、取代的低级酰基、低级烷基、取代的低级烷基、(低级烷氧基)甲基或(低级烷基)硫代甲基 ((lower alkyl) thiomethyl)。

[0084] R_{18} 是 -H、-CH₃，或与 R_{17} 以及 R_{17} 和 R_{18} 所键合的碳原子一起是五元或六元非芳香杂环。

[0085] R_{19} 是低级烷基、取代的低级烷基、苯基、取代的苯基。

[0086] R_{20} 是 -H 或卤素。

[0087] R_{21} 是 -H、低级烷基、取代的低级烷基、低级酰基或取代的低级酰基。

[0088] 优选地，结构式 (XXVII) 和 (XXVIII) 中的变量定义如下： R_{10} 是苯基、叔丁氧基、-S-CH₂-CH-(CH₃)₂、-S-CH(CH₃)₃、-S-(CH₂)₃CH₃、-O-CH(CH₃)₃、-NH-CH(CH₃)₃、-CH=C(CH₃)₂ 或对氯苯基； R_{11} 是苯基、(CH₃)₂CHCH₂-、-2- 咪喃基、环丙基或对甲苯酰基； R_{12} 是 -H、-OH、CH₃CO- 或 -(CH₂)₂-N- 吗啉代； R_{13} 是甲基，或 R_{13} 和 R_{14} 一起是 -CH₂-；

[0089] R_{14} 是 -H、-CH₂SCH₃ 或 -CH₂-O-P(O)(OH)₂； R_{15} 是 CH₃CO-；

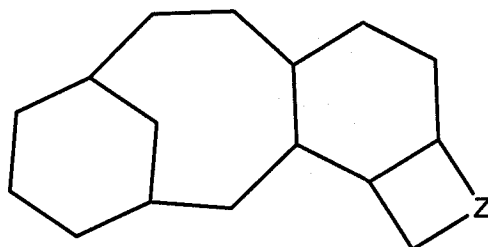
[0090] R_{16} 是苯基； R_{17} 是 -H，或 R_{17} 和 R_{18} 一起是 -O-CO-O-；

[0091] R_{18} 是 -H； R_{20} 是 -H 或 -F；以及 R_{21} 是 -H、-C(O)-CHBr-(CH₂)₁₃-CH₃ 或 -C(O)-(CH₂)₁₄-CH₃；-C(O)-CH₂-CH(OH)-COOH、-C(O)-CH₂-O-C(O)-CH₂CH(NH₂)-CONH₂、-C(O)-CH₂-O-CH₂CH₂OCH₃ 或 -C(O)-O-C(O)-CH₂CH₃。

[0092] 紫杉醇类似物也可键合到药学可接受的聚合物上或成为药学可接受的聚合物的侧基，该聚合物例如是聚丙烯酰胺。这种类型的聚合物的一个例子如图 24 所示。在此所用的术语“紫杉醇类似物”包括这类聚合物。

[0093] 在一些实施方式中，紫杉醇类似物具有如结构式 XXIX 所示的紫杉烷骨架，其中 Z 是 O、S 或 NR。具有如结构式 XXIX 所示的紫杉烷骨架的紫杉醇类似物可以具有各种连接到该紫杉烷骨架上的取代基，并且可以在该的例如图 3-23 所示的环己胺环的零个、一个或两个上具有双键。

[0094]



(XXIX)

[0095] 各种紫杉醇类似物和紫杉醇制剂记载在 Hennenfent 等人，(2006) *Annals of Oncology* 17 :735-749 ; Gradishar (2006) *Expert Opin. Pharmacother.* 7 (8) :1041-53 ; Attard 等人，(2006) *Pathol Biol* 54(2) :72-84 ; Straubinger 等人，(2005) *Methods Enzymol.* 391 :97-117 ; TenTije 等人，(2003) *Clin Pharmacokinet.* 42(7) :665-85 ; 以及 Nuijen 等人，(2001) *Invest New Drugs.* 19(2) :143-53 中，其全部教导以引用的方式结合于此。

[0096] “烷基”是饱和的直链或支链线型或环状烃基。通常，直链或支链烷基具有 1 到约 20 个，优选 1 到约 10 个碳原子，环状烷基具有 3 到约 10 个，优选 3 到约 8 个碳原子。优选地，烷基是直链或支链烷基，例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基、庚基或辛基，或具有 3 到约 8 个碳原子的环烷基。C₁-C₈ 的直链或支链烷基或 C₃-C₈ 环烷基也称为“低级烷基”。烷基的适合的取代基是那些基本不干扰所述化合

物的抗癌活性的取代基。适合的取代基如以下对于脂族基所述。烷基上的优选取代基包括 -OH、-NH₂、-NO₂、-CN、-COOH、卤素、芳基、C₁-C₈ 烷氧基、C₁-C₈ 卤代烷氧基和 -CO(C₁-C₈ 烷基)。烷基上的更优选的取代基包括 -OH、卤素、苯基、苄基、吡啶基和 C₁-C₈ 烷氧基。烷基上的更优选的取代基包括 -OH、卤素和 C₁-C₄ 烷氧基。

[0097] 术语“低级烷氧基”和“低级酰基”分别是指 -O-(低级烷基)、-C(O)-(低级烷基)。术语“取代的低级烷氧基”和“取代的低级酰基”分别是指 -O-(取代的低级烷基)和 -C(O)-(取代的低级烷基)。

[0098] 脂族基是完全饱和或包含一个或一个以上的不饱和单元的直链、支链或环状非芳香烃。通常,直链或支链脂族基具有 1 到约 20 个,优选 1 到约 10 个碳原子,环状脂族基具有 3 到约 10 个,优选 3 到约 8 个碳原子。优选地,脂族基是直链或支链烷基,例如,甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基、戊基或辛基,或具有 3 到约 8 个碳原子的环烷基。C₁-C₈ 的直链或支链烷基或 C₃-C₈ 环烷基也称为“低级烷基”。

[0099] 术语“芳族基”可与“芳基”、“芳环”、“芳香环”、“芳基基团”和“芳香基团”互换使用。芳族基包括碳环芳族基团,如苯基、萘基和蒽基,以及杂芳基,如咪唑基、噻吩基、呋喃基、吡啶基、嘧啶基、吡喃基、吡唑基、吡咯基、吡嗪基、噻唑基、噁唑基和四唑基。术语“杂芳基基团”与“杂芳基”、“杂芳环”、“杂芳香族环”和“杂芳香族基团”可互换使用。杂芳基是在环结构中包含一个或一个以上杂原子如硫、氧和氮的芳族基。优选地,杂芳基包含一个到四个杂原子。

[0100] 芳族基也包含稠合多环芳香环体系,其中碳环芳香环或杂芳环与一个或一个以上的其他杂芳环稠合。例子包括苯并噻吩基、苯并呋喃基、吲哚基、喹啉基、苯并噻唑、苯并噁唑、苯并咪唑、喹啉基、异喹啉基和异吲哚基。

[0101] 非芳香杂环是在环中包含一个或一个以上杂原子如氮、氧或硫的非芳香环。该环可以是五元、六元、七元或八元环。优选地,杂环基包含 1 个到约 4 个杂原子。例子包括四氢呋喃基、四氢噻吩基、吗啉代、硫代吗啉代、吡咯烷基、哌嗪基、哌啶基、噻唑烷基。

[0102] 适合的取代基的例子包括 -R^a、-OH、-Br、-Cl、-I、-F、-OR^a、-O-COR^a、-COR^a、-CN、-NO₂、-COOH、-SO₃H、-NH₂、-NHR^a、-N(R^aR^b)、-COOR^a、-CHO、-CONH₂、-CONHR^a、-CON(R^aR^b)、-NHCOR^a、-NR^cCOR^a、-NHCONH₂、-NHCONR^aH、-NHCON(R^aR^b)、-NR^cCONH₂、-NR^cCONR^aH、-NR^cCON(R^aR^b)、-C(=NH)-NH₂、-C(=NH)-NHR^a、-C(=NH)-N(R^aR^b)、-C(=NR^c)-NH₂、-C(=NR^c)-NHR^a、-C(=NR^c)-N(R^aR^b)、-NH-C(=NH)-NH₂、-NH-C(=NH)-NHR^a、-NH-C(=NH)-N(R^aR^b)、-NH-C(=NR^c)-NH₂、-NH-C(=NR^c)-NHR^a、-NH-C(=NR^c)-N(R^aR^b)、-NR^dH-C(=NH)-NH₂、-NR^d-C(=NH)-NHR^a、-NR^d-C(=NH)-N(R^aR^b)、-NR^d-C(=NR^c)-NH₂、-NR^d-C(=NR^c)-NHR^a、-NR^d-C(=NR^c)-N(R^aR^b)、-NHNH₂、-NHNHR^a、-NHR^aR^b、-SO₂NH₂、-SO₂NHR^a、-SO₂NR^aR^b、-CH=CHR^a、-CH=CR^aR^b、-CR^c=CR^aR^b、-CR^c=CHR^a、-CR^c=CR^aR^b、-CCR^a、-SH、-SR^a、-S(O)R^a、-S(O)₂R^a。

[0103] R^a-R^d 各自独立地是烷基、芳基、非芳族杂环基或 -N(R^aR^b)，一起形成非芳族杂环基。

[0104] 在与一种或一种以上其他治疗药(例如紫杉醇或紫杉醇类似物)联合的协同治疗中,在此描述的化合物或药物组合物可与其他治疗药同时或分别给药。给药的具体细节取决于两种物质在彼此存在下的药代动力学,而且如果药代动力学适合,则可包括基本同时给药以及一种物质在另一种物质给药的某个时间段内(例如在 24 小时内)给药。适合的

给药方案的设计对于本领域技术人员是常规的。在具体的实施方式中,两种物质将基本同时给药,即,彼此在几分钟内给药,或以包含两种物质的单一组合物给药。

[0105] 在一种实施方式中,本发明涉及一种治疗患有 Hsp70 反应性疾病的患者的方法。该方法包括将有效量的在此描述的化合物或药物组合物给药于该患者。

[0106] 在此所用的“Hsp70”包括具有约 70 千道尔顿分子量的热激蛋白的家族的每个成员,包括如组成型的、同源的、细胞特异性的、葡萄糖调节的、可诱导的等形式。特异性 Hsp70 蛋白的例子包括 hsp70、hsp70hom、hsc70、Grp78/BiP、mt-hsp70/Grp75 等)。通常,所述的方法提高可诱导的 Hsp70 的表达。在功能上,该 70-kDa HSP (HSP70) 家族是有助于蛋白质在细胞质、线粒体和内质网中折叠、转运和装配的一组伴侣蛋白。在人类中,该 Hsp70 家族包括至少 11 种编码一组高度相关蛋白质的基因。例如参见 Tavarria 等人, *CellStress Chaperones*, 1996 ;1 (1) :23-28 ;Todryk 等人, *Immunology*. 2003, 110 (1) :1-9 ;以及 Georgopoulos and Welch, *Annu Rev Cell Biol*. 1993 ;9 :601-634 ;这些文献的全部教导以引用的方式结合于此。

[0107] 在此所用的“Hsp70 反应性疾病”是一种医学状态,其中受到应激的细胞可通过增加 Hsp70 表达来治疗。这类疾病可由多种细胞应激源引起,包括但不限于阿尔茨海默症 ;亨廷顿病 ;帕金森病 ;脊髓性 / 延髓性肌萎缩症 (例如肯尼迪氏病)、脊髓小脑共济失调疾病及其他神经肌肉萎缩症 ;家族性肌萎缩性侧索硬化症 ;局部缺血 ;癫痫 ;体温过低 ;体温过高 ;烧伤创伤 ;动脉粥样硬化症 ;放射照射 ;青光眼 ;毒素暴露 ;机械性损伤 ;炎症 ;自身免疫疾病 ;感染 (细菌、病毒、真菌或寄生虫) 等。

[0108] 在一些实施方式中,该 Hsp70 反应性疾病是神经退行性疾病。在此所用的,神经退行性疾病包括神经元的退化,如大脑、脊髓和外周神经元 (例如在神经肌肉接头处) 的退化,更典型地,大脑和脊髓神经元的退化,或者在优选的实施方式中,大脑神经元的退化。神经退行性疾病可包括阿尔茨海默症 ;亨廷顿病 ;帕金森病 ;脊髓性 / 延髓性肌萎缩症和其他神经肌肉萎缩症 ;和家族性肌萎缩性侧索硬化症或其他与超氧化物歧化酶 (SOD) 突变有关的疾病。神经退行性疾病还可包括由局部缺血、癫痫、热应激、放射、毒素暴露、感染、损伤等引起的神经元退化。

[0109] 在一些实施方式中,该 Hsp70 反应性疾病是蛋白聚集 / 错折叠的疾病,如阿尔茨海默症、亨廷顿病、帕金森病、海绵状脑病等。

[0110] 在另一种实施方式中,该 Hsp70 反应性疾病是引起或可能引起神经损害的治疗或状况。在本发明的方法中所用的化合物可用于减少或防止 (抑制其发作) 患者的神经损害 (即提供神经保护), 1) 该患者患有引起或可能引起神经损害的疾病,或 2) 该患者接受了引起或可能引起神经损害的治疗。一方面,引起或可能引起神经损害的治疗是放射治疗。另一方面,该治疗是化学治疗。在一方面,该化学治疗包括施用抗有丝分裂药 (例如长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇或紫杉醇类似物)。在一方面,化学治疗包括施用紫杉醇。在另一方面,化学治疗包括施用铂衍生物 (例如顺铂、卡铂或奥沙利铂)。在一些实施方式中,用于本发明方法的化合物可作为与引起或可能引起神经损害的治疗的联合治疗同时施用。在其他实施方式中,用于本发明方法的化合物可在引起或可能引起神经损害的治疗之前或之后施用。在一些实施方式中,用于本发明方法的化合物可在引起或可能引起神经损害的治疗之前或之后的 30 分钟到 12 小时之间,在 1 小时到 6 小时之间施用。

[0111] 神经损害可能由许多治疗引起,包括但不限于,放射治疗;化学治疗,例如顺铂、卡铂、奥沙利铂、长春新碱、长春碱、长春瑞滨、长春地辛、异环磷酰胺、甲胺蝶呤、克拉屈滨、六甲蜜胺、氟达拉滨、甲基苄肼、噻替派、替尼泊苷、三氧化二砷、阿仑珠单抗、卡培他滨、达卡巴嗪、地尼白介素 2、干扰素 α 、柔红霉素脂质体、维 A 酸、依托泊苷 /VP-16、阿糖胞苷、六甲蜜胺、苏拉明、紫杉醇、多西紫杉醇、吉西他滨 (gemcitabine)、沙利度胺和硼替佐米;心脏或血压药物,例如胺碘酮 (amiodarone)、肼屈嗪 (hydralazine)、地高辛和哌克昔林 (perhexiline);抗感染药物,例如甲硝哒唑、呋喃妥因、沙利度胺和 INH;治疗皮肤疾病的药物,例如氨基苄砒;抗惊厥药物,例如苯妥英;解酒药,例如二硫龙;HIV 药物,例如齐多夫定、地达诺新 (didanosine)、司他夫定、扎西他滨、利托那韦、d4T、ddC、ddI 和氨普那韦 (amprenavir);胆固醇药物,例如洛伐他汀、普伐他汀、呋达帕胺、辛伐他汀、氟伐他汀、阿托伐他汀、西立伐他汀和吉非罗齐;抗风湿药,例如氯喹、秋水仙素 (colchicine)、有机金和青霉胺;氧化亚氮;锂;以及麦角碱。

[0112] 在一些实施方式中,Hsp70 反应性疾病是局部缺血。局部缺血可通过多种途径损伤组织,包括氧耗尽、葡萄糖耗尽、再灌注后的氧化应激和 / 或谷氨酸盐毒性等。局部缺血可由内因性疾病 (例如中风、心脏病发作等) 引起,由意外的机械性损伤引起,由外科手术损伤引起 (例如移植器官的再灌注应激) 等。另外,可因局部缺血损伤的组织包括神经元、心肌、肝组织、骨骼肌、肾组织、肺组织、胰腺组织等。在一优选的实施方式中,Hsp70 反应性疾病是大脑或脊髓局部缺血。在另一优选的实施方式中,Hsp70 反应性疾病是心脏局部缺血。

[0113] 在各种实施方式中,Hsp70 反应性疾病是癫痫,例如癫痫发作、损伤诱发的癫痫、化学诱发的癫痫等。

[0114] 在一些实施方式中,Hsp70 反应性疾病是由于热应激引起的。热应激包括高热症 (例如由发烧、中暑、烧伤等引起) 和体温过低。在优选的实施方式中,该疾病是高热症。在另一优选的实施方式中,Hsp70 反应性疾病是烧伤创伤。

[0115] 在优选的实施方式中,Hsp70 反应性疾病是动脉粥样硬化。

[0116] 在各种实施方式中,Hsp70 反应性疾病是放射性损伤,例如由于可见光、紫外光、微波、宇宙射线、 α 辐射、 β 辐射、 γ 辐射、X-射线等引起的损伤。例如,该损伤可以通过放射疗法治疗癌症的患者的非癌组织的辐射损伤。在优选的实施方式中,Hsp70 反应性疾病是由可见光或紫外光引起的辐射损伤。

[0117] 在各种实施方式中,Hsp70 反应性疾病是机械性损伤,例如,由外科手术、意外事故、某些疾病病症 (例如在青光眼中的压力损伤) 等引起的外伤。在优选的实施方式中,Hsp70 反应性疾病是大脑或脊髓损伤。在另一种优选的实施方式中,Hsp70 反应性疾病是青光眼 (引起对视网膜神经节的压力损伤)。

[0118] 在各种实施方式中,Hsp70 反应性疾病是毒素暴露。在优选的实施方式中,Hsp70 反应性疾病是神经毒素暴露,该神经毒素选自甲基苯丙胺、抗逆转录病毒 HIV 治疗 (例如核苷逆转录酶抑制剂)、重金属 (例如汞、铅、砷、镉及其化合物等)、氨基酸类似物、化学氧化剂、乙醇、谷氨酸盐 (或酯)、代谢抑制剂、抗生素等。

[0119] 本发明还提供一种治疗患有自然杀伤细胞反应性疾病的患者的方法,其中该方法包括将有效量的在此描述的本发明化合物或组合物给药于所述患者。

[0120] 本发明的某些化合物还提高自然杀伤 (NK) 细胞的活性。在此所用的“NK 细胞反

应性疾病”是通过提高 NK 细胞的活性可以被改善的医学病症。例如,患有 NK 细胞反应性疾病的患者因感染或感染的可能性可能需要加强免疫系统。在一些实施方式中,这类患者可能已经感染(或已经暴露于存在病原体的传染性环境,例如在医院),其症状可通过在此描述的方法减轻。例如,需要治疗的患者可能已经感染(细菌、病毒、真菌或寄生虫(原生动 物)),在此描述的活化 NK 细胞的方法可以是对感染的治疗。

[0121] 在一些实施方式中,患有 NK 细胞反应性疾病的患者具有免疫缺陷。这种受试者需要预防性治疗或可从预防性治疗中获益,例如具有不完全的、破坏的或以其他方式损害的抗感染防御的受试者,或暴露于传染性环境的受试者等。例如,患者可以处于存在病原体的传染性环境中,例如在医院,可有开放性创伤或烧伤创伤,可有遗传的或获得性免疫缺陷(例如重度联合免疫缺陷或“气泡男孩”综合征、多样性免疫缺陷综合征、获得性免疫缺陷综合征(AIDS)等),因身体状况、年龄、毒素暴露、药物影响(免疫抑制剂,例如移植接受者中)或副作用(例如因抗癌药)等原因可具有降低的免疫系统。

[0122] 在一些实施方式中,可在以下病症中具有降低的或不足的 NK 细胞活性的受试者中增强 NK 细胞活性,这些病症例如是慢性疲劳综合征(慢性疲劳免疫障碍综合征)或 EB 病毒感染、病毒感染后疲劳综合征、移植后综合征(特别是同种异体移植)或移植植物抗宿主病、暴露于药物如抗癌药或一氧化氮合酶抑制剂、自然老化,以及各种免疫缺陷病如重度联合免疫缺陷、多样性免疫缺陷综合征等。

[0123] 在一些实施方式中,患有 NK 细胞反应性疾病的受试者需要对菌血症治疗。菌血症是血流中细菌感染的疾病。脓毒性休克包括伴有全身炎症的严重局部性或菌血症感染,即,液体疗法难以医治的伴有灌注不足和低血压的脓毒症。脓毒症或全身炎症反应综合征可引起急性炎症的各种严重状况,如感染、胰腺炎、烧伤、创伤。脓毒性休克通常与由革兰氏阴性生物、葡萄球菌或脑膜炎双球菌感染有关。脓毒性休克的特征可以是急性循环衰竭,常伴有血压过低和多器官衰竭。

[0124] 短暂性菌血症可由外科手术或外伤创伤引起。革兰氏阴性菌血症可以是间歇的和机会性的;尽管其可能对健康人没有影响,但可能对因潜在疾病而衰弱、化学治疗后以及营养失调状态的免疫功能低下患者有严重影响。感染通常发生在肺部、泌尿生殖道(GU)或胃肠道(GI)中,或在软组织中,例如褥疮性溃疡患者的皮肤,高危患者的口腔溃疡,以及心脏瓣膜病患者,人工心脏瓣膜或其他植入的假体。

[0125] 通常,革兰氏阴性菌血症可在慢性病和免疫功能低下患者中表现。在这类患者中,也可由需氧性杆菌、厌氧性生物和真菌引起血流感染。拟杆菌可导致腹部和盆腔感染并发症,特别是在女性中。短暂性菌血症或持续性菌血症可通常导致脑膜或浆膜腔例如心包膜或较大关节的转移性感染。肠球菌、葡萄球菌或真菌可导致心内膜炎,但很少与革兰氏阴性菌血症共存。葡萄球菌菌血症可以是第四期用药者的典型代表,而且可以是革兰氏阳性菌心内膜炎的典型原因。

[0126] 部分由于免疫系统受损受试者的数量增加,系统性真菌感染的发病率已经显著增加,特别是在人类中,这些受试者例如是年龄较大的 AIDS 患者、经历化学治疗的患者、烧伤患者、糖尿病酮症酸中毒患者和使用免疫抑制药物的移植患者。研究发现住院期间获得的感染引起的死亡中有约 40%是由于真菌病;参见 Sternberg 等人, *Science*, 266 卷, (1994), 1632-1634 页,其全部教导以引用的方式结合于此。

[0127] 在各种实施方式中, NK 细胞反应性疾病患者可能需要治疗真菌感染, 如致病性皮肤真菌、致病性丝状真菌和 / 或致病性非丝状真菌, 例如酵母等。致病性皮肤真菌可包括, 例如发癣菌属 (*Trichophyton*)、癣属 (*Tinea*)、小孢子菌属 (*Microsporum*)、表面癣菌属 (*Epidermophyton*) 等属的种。致病性丝状真菌可包括, 例如曲霉属、组织胞浆菌属、隐球菌属、小孢子菌属等属的种。致病性非丝状真菌, 例如酵母, 可包括, 例如假丝酵母属、马拉色霉菌属、毛孢子菌属、红酵母属、球拟酵母属、芽生菌属、副球孢子菌属、球孢子菌属等属的种。在各种实施方式中, 可治疗受试者由曲霉属或发癣菌属的种引起的真菌感染。发癣菌属的种可包括, 例如, 须发癣菌 (*Trichophyton mentagrophytes*)、红色发癣菌 (*Trichophyton rubrum*)、许兰发癣菌 (*Trichophyton schoenleinii*)、断发癣菌 (*Trichophyton tonsurans*)、疣状发癣菌 (*Trichophyton verrucosum*) 和紫色毛癣菌 (*Trichophyton violaceum*)。曲霉属 (*Aspergillus*) 的种可包括, 例如烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*)、黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、阿姆斯特丹曲霉 (*Aspergillus amstelodami*)、白曲霉 (*Aspergillus candidus*)、肉色曲霉 (*Aspergillus carneus*)、沟巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*)、米曲霉 (*A. oryzae*)、局限曲霉 (*Aspergillus restrictus*)、聚多曲霉 (*Aspergillus sydowi*)、土曲霉 (*Aspergillus terreus*)、焦曲霉 (*Aspergillus ustus*)、杂色曲霉 (*Aspergillus versicolor*)、浅蓝灰曲霉 (*Aspergillus caesiellus*)、棒曲霉 (*Aspergillus clavatus*)、燕麦曲霉 (*Aspergillus avenaceus*) 和弯头曲霉 (*Aspergillus deflectus*)。在一些实施方式中, 可治疗患者的致病性皮肤真菌引起的真菌感染, 这些致病性皮肤真菌例如是发癣菌 (例如红色发癣菌)、癣、小孢子菌或表面癣菌; 或隐球菌 (例如新型隐球菌 (*Cryptococcus neoformans*))、假丝酵母 (例如白假丝酵母 (*Candida albicans*))、副球孢子菌 (例如巴西副球孢子菌 (*Paracoccidioides brasiliensis*)) 或球孢子菌 (例如粗球孢子菌 (*Coccidioides immitis*))。在具体实施方式中, 可治疗患者的红色发癣菌、新型隐球菌、白假丝酵母、巴西副球孢子菌和粗球孢子菌引起的真菌感染。

[0128] 因此, 在各种实施方式中, 受试者可能具有由选自发癣菌属、癣属、小孢子菌属、表面癣菌属、曲霉属、组织胞浆菌属、隐球菌属、小孢子菌属、假丝酵母属、马拉色霉菌属、毛孢子菌属、红酵母属、球拟酵母属、芽生菌属、副球孢子菌属和球孢子菌属的真菌引起的感染。在一些实施方式中, 受试者可能具有由选自发癣菌属、癣属、小孢子菌属、表面癣菌属、隐球菌属、假丝酵母属、副球孢子菌属和球孢子菌属的真菌引起的感染。在某些实施方式中, 受试者可能具有由选自红色发癣菌、新型隐球菌、白假丝酵母、巴西副球孢子菌和粗球孢子菌的真菌引起的感染。

[0129] 在各种实施方式中, NK 细胞反应性疾病患者可需要治疗例如由以下属的细菌引起的细菌感染, 这些细菌属选自闪杆菌属 (*Allochromatium*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、弯曲杆菌属 (*Campylobacter*)、衣原体属 (糖原) (*Chlamydia*)、衣原体属 (非糖原) (*Chlamydophila*)、梭菌属 (*Clostridium*)、柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*)、埃希氏菌属 (*Escherichia*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、肠球菌属 (*Enterococcus*)、弗朗西斯氏菌属 (*Francisella*)、嗜血菌属 (*Haemophilus*)、螺杆菌属 (*Helicobacter*)、克雷伯菌属 (*Klebsiella*)、李斯特菌属 (*Listeria*)、莫拉菌属 (*Moraxella*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、微球菌属 (*Micrococcus*)、奈瑟球菌属 (*Neisseria*)、变形杆

菌属 (*Proteus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、沙门氏菌属 (*Salmonella*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*)、志贺氏菌属 (*Shigella*)、窄食单胞属 (*Stenotrophomonas*)、葡萄球菌属 (*Staphylococcus*)、链球菌属 (*Streptococcus*)、聚球藻属 (*Synechococcus*)、弧菌属 (*Vibrio*) 和耶尔森氏菌属 (*Yersinia*)；或厌氧细菌属，如消化链球菌属 (*Peptostreptococci*)、卟啉单胞菌属 (*Porphyromonas*)、放线菌属 (*Actinomyces*)、梭菌属 (*Clostridium*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、普雷沃菌属 (*Prevotella*)、厌氧螺菌属 (*Anaerobiospirillum*)、梭杆菌属 (*Fusobacterium*) 和嗜胆菌属 (*Bilophila*)。在一些实施方式中，患有 NK 细胞反应性疾病的患者可需要治疗以下细菌的细菌感染：*Allochromatium vinosum*、鲍氏不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*)、炭疽杆菌 (*Bacillus anthracis*)、胎儿空肠曲杆菌 (*Campylobacter jejuni*)、沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*)、肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*)、梭菌属的种 (*Clostridium spp.*)、柠檬酸杆菌属的种 (*Citrobacter spp.*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、肠杆菌属的种 (*Enterobacter spp.*)、粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)、屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*)、土拉热弗朗西斯氏菌 (*Francisella tularensis*)、流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*)、克雷伯菌属的种 (*Klebsiella spp.*)、单核细胞增多性李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*)、粘膜炎莫拉菌 (*Moraxella catarrhalis*)、结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、脑膜炎奈瑟球菌 (*Neisseria meningitidis*)、淋病奈瑟球菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)、奇异变形杆菌 (*Proteus mirabilis*)、普通变形杆菌 (*Proteus vulgaris*)、绿脓假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、沙门氏菌属的种 (*Salmonella spp.*)、沙雷氏菌属的种 (*Serratia spp.*)、志贺氏菌属的种 (*Shigella spp.*)、嗜麦芽窄食单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*)、鼠疫耶尔森氏菌 (*Yersinia pestis*) 和小肠结肠炎耶尔森氏菌 (*Yersinia enterocolitica*) 等；或不解糖消化链球菌 (*Peptostreptococci asaccharolyticus*)、大消化链球菌 (*Peptostreptococci magnus*)、微小消化链球菌 (*Peptostreptococci micros*)、普氏消化链球菌 (*Peptostreptococci prevotii*)、不解糖卟啉单胞菌 (*Porphyromonas asaccharolytica*)、犬嘴卟啉单胞菌 (*Porphyromonas canoris*)、狗齿龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、*Porphyromonas macaccae*、衣氏放线菌 (*Actinomyces israelii*)、溶齿放线菌 (*Actinomyces odontolyticus*)、无害梭菌 (*Clostridium innocuum*)、梭形梭菌 (*Clostridium clostridioforme*)、难辨梭菌 (*Clostridium difficile*)、隐蔽拟杆菌 (*Bacteroides tectum*)、解脲拟杆菌 (*Bacteroides ureolyticus*)、薄壁拟杆菌 (*Bacteroides gracilis* (纤细弯曲杆菌 *Campylobacter gracilis*))、中间普雷沃菌 (*Prevotella intermedia*)、解肝素普雷沃菌 (*Prevotella heparinolytica*)、口颊普雷沃菌 (*Prevotella oris buccae*)、二路普雷沃菌 (*Prevotella bivia*)、产黑素普雷沃菌 (*Prevotella melaninogenica*)、舟形梭杆菌 (*Fusobacterium naviforme*)、坏死梭杆菌 (*Fusobacterium necrophorum*)、变形梭杆菌 (*Fusobacterium varium*)、溃疡梭杆菌 (*Fusobacterium ulcerans*)、鲁斯氏梭杆菌 (*Fusobacterium russii*)、沃氏噬胆菌 (*Bilophila wadsworthia*)、杜氏噬血菌 (*Haemophilus ducreyi*)；肉

芽肿鞘杆菌 (*Calymmatobacterium granulomatis*) 等。

[0130] 本发明的化合物或药物组合物可特别用于治疗具有细胞内感染的受试者。本领域中通常认为 NK 细胞对抗细胞内感染特别有效。细胞内感染是受试者细胞内存在一部分感染病原体的那些感染。

[0131] 例如,细胞内感染可由一种或一种以上选自以下的细菌引起:埃里希氏体 (*Ehrlichia*) (例如可作为小细胞质包涵体在淋巴细胞和噬中性粒细胞中出现的专性细胞内细菌,如腺热埃里希氏体 (*Ehrlichia sennetsu*)、犬埃里希氏体 (*Ehrlichia canis*)、恰菲埃里希氏体 (*Ehrlichia chaffeensis*)、嗜巨噬细胞埃里希氏体 (*Ehrlichia phagocytophilia*) 等;李斯特菌 (*Listeria*) (例如单核细胞增生李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*));军团菌 (*Legionella*) (例如嗜肺军团菌 (*Legionella pneumophila*));立克次体 (*Rickettsiae*) (例如普氏立克次体 (*Rickettsiae prowazekii*)、伤寒立克次体 (*Rickettsiae typhi*) (莫氏立克次体 (*Rickettsiae mooseri*))、立氏立克次体 (*Rickettsiae rickettsii*)、恙虫立克次体 (*Rickettsiae tsutsugamushi*)、西伯利亚立克次体 (*Rickettsiae sibirica*);澳大利亚立克次体 (*Rickettsiae australis*);斑疹热立克次体 (*Rickettsiae conorii*);螞立克次体 (*Rickettsiae akari*);伯氏立克次体 (*Rickettsiae burnetii*));衣原体 (*Chlamydia*) (例如鹦鹉热衣原体 (*Chlamydia psittaci*);肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*);沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*) 等);分枝杆菌 (*Mycobacterium*) (结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*);海分枝杆菌 (*Mycobacterium marinum*);鸟复合分枝杆菌 (*Mycobacterium Avium Complex*);牛分枝杆菌 (*Mycobacterium bovis*);淋巴结核分枝杆菌 (*Mycobacterium scrofulaceum*);溃疡分枝杆菌 (*Mycobacterium ulcerans*);麻风分枝杆菌 (*Mycobacterium leprae* (麻风病、汉森杆菌 (*Leprosy, Hansen's Bacillus*)));布鲁氏菌 (*Brucella*) (例如马尔他布鲁氏菌 (*Brucella melitensis*);流产布鲁氏菌 (*Brucella abortus*);猪布鲁氏菌 (*Brucella suis*);犬布鲁氏菌 (*Brucella canis*));考克斯氏体属 (*Coxiella*) (例如伯氏考克斯氏体 (*Coxiella burnetii*)) 等。因此,在一些实施方式中,受试者可具有由选自埃里希氏体、李斯特菌、军团菌、立克次体、衣原体、分枝杆菌、布鲁氏菌和考克斯氏体的细菌引起的细胞内细菌感染。

[0132] 在各种实施方式中,具有 NK 细胞反应性疾病的受试者可需要治疗由一种或一种以上上呼吸道细菌引起的细菌感染。上呼吸道细菌的例子包括属于如军团菌属、假单胞菌属等的那些。在一些实施方式中,细菌可以是铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)。在具体实施方式中,该细菌可以是侵肺军团菌 (*Legionella pneumophila*) (例如包括血清群 1、2、3、4、5、6、7、8)、杜氏军团菌 (*Legionella dumoffli*)、长滩军团菌 (*Legionella longbeacheae*)、麦氏军团菌 (*Legionella micdadei*)、橡树岭军团菌 (*Legionella oakridgensis*)、菲氏军团菌 (*Legionella feelei*)、茴香军团菌 (*Legionella anisa*)、赫伦荒原军团菌 (*Legionella sainthelensi*)、博氏军团菌 (*Legionella bozemanii*)、戈氏军团菌 (*Legionella gormanii*)、沃氏军团菌 (*Legionella wadsworthii*)、约旦军团菌 (*Legionella jordanis*) 或戈氏军团菌 (*Legionella gormanii*)。

[0133] 在一些实施方式中,具有 NK 细胞反应性疾病的受试者可以需要治疗由引起受试者的慢性支气管炎急性细菌性恶化 (ABECB) 的细菌引起的细菌感染。通常,ABECB 可由肺炎

链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*)、副流感嗜血杆菌 (*Haemophilus parainfluenzae*) 或粘膜炎莫拉菌 (*Moraxella catarrhalis*) 引起。

[0134] 在一些实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可以需要治疗由引起受试者的急性社区获得性肺炎 (CAP) 的细菌引起的细菌感染。通常,CAP可由肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、粘膜炎莫拉菌、肺炎支原体 (*Mycoplasma pneumoniae*)、肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*) 引起。在具体实施方式中,CAP可由抗药细菌例如肺炎链球菌的多重抗药性菌株引起。

[0135] 在各种实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可以需要治疗由肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、粘膜炎莫拉菌、肺炎支原体、肺炎衣原体、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、鲁沃夫不动杆菌 (*Acinetobacter lwoffii*)、产酸克雷伯菌 (*Klebsiella oxytoca*)、侵肺军团菌 (*Legionella pneumophila*) 或普通变形杆菌 (*Proteus vulgaris*) 引起的细菌感染。

[0136] 在各种实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可以需要治疗由上颌窦致病菌引起的细菌感染。在此所用的上颌窦致病菌是一种从急性或慢性上颌窦炎分离的菌株,或例如金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、嗜血杆菌、粘膜炎莫拉菌的上颌窦分离物,非发酵革兰氏阴性杆菌、脑膜炎奈瑟球菌 (*Neisseria meningitidis*) 或 β -溶血性链球菌 (β -haemolytic *Streptococcus*) 的厌氧菌株。在各种实施方式中,上颌窦致病菌可包括从急性或慢性上颌窦炎分离的菌株;金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、嗜血杆菌、粘膜炎莫拉菌的上颌窦分离物,非发酵革兰氏阴性杆菌、脑膜炎奈瑟球菌、 β -溶血性链球菌、流感嗜血杆菌、肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*)、非发酵革兰氏阴性杆菌、肺炎链球菌、酿脓链球菌、甲氧西林抗性葡萄球菌、侵肺军团菌、支原体和衣原体、流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、消化链球菌、拟杆菌和解脲拟杆菌 (*Bacteroides urealyticus*) 的厌氧菌株。

[0137] 在各种实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可以需要治疗引起受试者中尿路感染 (UTI) 的细菌感染。UTI的例子包括尿道炎、膀胱炎、前列腺炎、肾盂肾炎 (急性、慢性和黄色肉芽肿性) 和造血 UTI (例如由具有毒性细菌如沙门氏菌、金黄色葡萄球菌等的菌血症引起的)。通常 UTI 可由革兰氏阴性需氧菌引起,例如埃希氏菌 (例如大肠杆菌)、克雷伯菌、变形杆菌、肠杆菌、假单胞菌和沙雷氏菌;革兰氏阴性厌氧菌;革兰氏阳性菌,例如肠球菌 (例如粪肠球菌) 和葡萄球菌 (例如腐生葡萄球菌 (*Staphylococcus saprophyticus*)、金黄色葡萄球菌等);结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*);和性传播的细菌感染 (例如沙眼衣原体、淋病奈瑟球菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) 等))。

[0138] 在一些实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可以需要治疗引起性传播疾病的微生物的感染,该微生物例如是苍白密螺旋体 (*Treponema pallidum*)、阴道毛滴虫 (*Trichomonas vaginalis*)、念珠菌 (白色念珠菌 (*Candida albicans*))、淋病奈瑟球菌、沙眼衣原体、生殖器支原体 (*Mycoplasma genitalium*)、解脲支原体 (*Ureaplasma urealyticum*)、杜氏嗜血菌 (*Haemophilus ducreyi*)、肉芽肿鞘杆菌 (*Calymmatobacterium granulomatis*) (以前称为肉芽肿多诺万氏菌 (*Donovania granulomatis*))、单纯疱疹病毒 (HSV-1 或 HSV-2)、人乳头瘤病毒 [HPV]、人类免疫缺陷病毒 (HIV)、各种细菌 (志贺氏菌 (*Shigella*)、弯曲杆菌 (*Campylobacter*) 或沙门氏菌 (*Salmonella*))、病毒 (甲型肝炎)

或寄生虫的(贾第虫(*Giardia*)或变形虫(*amoeba*),例如不相称内阿米巴(*Entamoeba dispar*)(以前称为溶组织内阿米巴(*Entamoeba histolytica*))等。

[0139] 因此,在各种实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可需要治疗导致上呼吸道感染、慢性支气管炎的急性细菌性恶化;急性社区获得性肺炎、上颌窦致病菌;尿路感染;或性传播感染。

[0140] 本发明的化合物和药物组合物可以对治疗病毒感染受试者特别有效。因此,在各种实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可需要治疗以下病毒引起的感染:如小核糖核酸病毒(*Picornaviruses*)(例如脊髓灰质炎病毒(*Polio Virus*)、鼻病毒(*rhinoviruses*)和某些艾可病毒(*echoviruses*)和柯萨奇病毒(*coxsackieviruses*));细小病毒科(*Parvoviridae*)(人细小病毒B19);肝炎例如嗜肝DNA病毒(*Hepadnavirus*)(乙型肝炎);乳多泡病毒(*Papovavirus*)(JC病毒);腺病毒(*Adenovirus*)(人类腺病毒);疱疹病毒(*Herpesvirus*)(例如巨细胞病毒(*Cytomegalovirus*)、EB病毒(*Epstein Barr Virus*)(单核细胞增多症(*Mononucleosis*))、单核细胞增多症样综合征、婴儿玫瑰疹(*Roseola Infantum*)、水痘带状疱疹病毒(*Varicella Zoster Virus*)(水痘(*Chicken Pox*))、带状疱疹(*Herpes Zoster*)(*Shingles*)、单纯疱疹病毒(*Herpes Simplex Virus*)(口腔疱疹、生殖器疱疹))、痘病毒(*Poxvirus*)(天花(*Smallpox*));杯状病毒(*Calicivirus*)(诺瓦克病毒)、虫媒病毒(例如披膜病毒(风疹病毒、登革病毒)、黄病毒(黄热病病毒)、布尼亚病毒(加利福尼亚脑炎病毒)、呼肠孤病毒(轮状病毒));冠状病毒(冠状病毒);逆转录病毒(人类免疫缺陷病毒1、人类免疫缺陷病毒2);棒状病毒(狂犬病病毒)、丝状病毒(马尔堡病毒、埃博拉病毒、其他出血性病毒疾病);副粘病毒(麻疹病毒、腮腺炎病毒);正粘病毒(流感病毒);沙粒病毒(拉沙热);人类嗜T淋巴细胞病毒I型和II型(*HTLV-I*、*HTLV II*);人类乳头瘤病毒[HPV]等。因此,在各种实施方式中,受试者可具有由选自以下的病毒引起的感染:小核糖核酸病、细小病毒、肝炎病毒、乳多泡病毒、腺病毒、疱疹病毒、痘病毒、杯状病毒、虫媒病毒、冠状病毒、逆转录病毒、棒状病毒、副粘病毒、正粘病毒、沙粒病毒、人类嗜T淋巴细胞病毒、人乳头瘤病毒;和人类免疫缺陷病毒。

[0141] 在一些实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可需要治疗由病毒或其感染引起的感染,该病毒或其感染如人类免疫缺陷病毒1、人类免疫缺陷病毒2、巨细胞病毒、EB病毒、单核细胞增多症样综合征、婴儿玫瑰疹、水痘带状疱疹病毒、带状疱疹、单纯疱疹病毒或肝炎。

[0142] 相信本发明的方法对治疗寄生虫感染患者特别有效。因此,在各种实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可需要治疗以下寄生虫引起的感染:疟原虫(例如恶性疟原虫、间日疟原虫(*Plasmodia vivax*)、卵形疟原虫(*Plasmodia ovale*)和三日疟原虫(*Plasmodia malariae*),通常由按蚊传播)、利什曼原虫(由白蛉传播和由专性细胞内原虫引起,例如杜氏利什曼原虫、婴儿利什曼原虫、查格斯利什曼原虫、墨西哥利什曼原虫、亚马逊河利什曼原虫、委内瑞拉利什曼原虫、热带利什曼原虫、硕大利什曼原虫(*Leishmania major*)、埃塞俄比亚利什曼原虫;和圭亚那(*Viannia*)亚属、圭亚那利什曼原虫巴西亚种、圭亚那利什曼原虫圭亚那亚种(*Leishmania Viannia guyanensis*)、圭亚那利什曼原虫巴拿马亚种(*Leishmania Viannia panamensis*)和圭亚那利什曼原虫秘鲁亚种;锥虫(例如由布氏锥虫冈比亚亚种和布氏锥虫罗德西亚亚种引起的昏睡病);纳氏虫属或棘阿米巴

属的阿米巴虫；病原体如内阿米巴属（溶组织内阿米巴虫和不相称内阿米巴虫）；兰伯氏贾第虫；隐孢子虫；等孢子球虫（*Isospora*）；环孢子虫（*Cyclospora*）；小孢子虫；似蚯蚓线虫（*Ascarislumbricoides*）；以下属的血吸虫感染：裂体吸虫（*Schistosoma*）（例如埃及血吸虫（*S. haematobium*）、曼蚊血吸虫（*S. mansoni*）、日本血吸虫（*S. japonicum*）、湄工血吸虫（*S. mekongi*）、黑质血吸虫（*S. intercalatum*））；弓形体（例如鼠弓形体（*Toxoplasma gondii*））；苍白密螺旋体（*Treponema pallidum*）；阴道毛滴虫等。

[0143] 在一些实施方式中，具有NK细胞反应性疾病的受试者可具有由选自以下的原生动动物引起的感染：鼠弓形体、布氏锥虫冈比亚亚种、布氏锥虫罗坦西斯亚种、杜氏利什曼原虫、婴儿利什曼原虫、查格斯利什曼原虫、墨西哥利什曼原虫、亚马逊河利什曼原虫、委内瑞拉利什曼原虫、热带利什曼原虫、硕大利什曼原虫、埃塞俄比亚利什曼原虫，以及圭亚那亚属，圭亚那利什曼原虫巴西亚种、圭亚那利什曼原虫圭亚那亚种、亚属利什曼原虫巴拿马亚种、圭亚那利什曼原虫秘鲁亚种、恶性疟原虫、间日疟原虫、卵形疟原虫和三日疟原虫。

[0144] 在上世纪开发了抗生素使得死亡率显著降低。不幸地，广泛使用已导致抗生素耐药性细菌增加，例如甲氧西林耐药性金黄色葡萄球菌（MRSA）、万古霉素耐药性肠道球菌（VRE）和青霉素耐药性肺炎链球菌（PRSP）。一些细菌耐受一定范围的抗生素，例如结核分枝杆菌的菌株耐受异烟肼、利福平、乙胺丁醇、链霉素、乙硫异烟肼、卡那霉素和利福布汀。除了耐药性以外，全球旅行已经将相对未知的细菌从隔离的区域扩散到新的群体。而且，具有将细菌作为生物武器的威胁。用现有的抗生素不容易对付这些细菌。

[0145] 本发明的化合物和药物组合物可特别有效地治疗患者的耐药性病原体，例如对其无药可用的耐药性细菌或病原体，例如很多病毒。不希望受限于理论，认为本发明的化合物通过提高NK细胞活性起作用，因此NK细胞可通过化合物直接作用于病原体或被感染的细胞来分别杀死传染性的微生物或被感染的细胞。因此，相信本发明的化合物可具有至少一种作用模式，这种模式与通常直接作用在细菌本身上的典型抗感染药物如抗生素分开。

[0146] 耐药性病原体可耐受至少一种以及通常多种药物，例如耐药细菌可耐受一种抗生素或通常至少两种抗生素如青霉素、甲氧西林、第二代头孢菌素（例如头孢呋辛等）、大环内酯类、四环素、甲氧苄啶嘧啶 / 甲氧唑、万古霉素等。例如，在一些实施方式中，可对受试者的选自以下多重耐药性菌株的细菌进行治疗：肺炎链球菌（MDRSP，以前称为青霉素耐药性肺炎链球菌 PRSP）、万古霉素耐药性肠球菌、甲氧西林耐药性金黄色葡萄球菌、青霉素耐药性肺炎球菌、抗生素耐药性沙门氏菌、耐药性以及多重耐药性淋病奈瑟球菌（例如耐受四环素、青霉素、氟喹诺酮类、头孢菌素类、头孢曲松（Rocephin）、头孢克肟（Suprax）、阿奇霉素等中的一种或两种或多种）、以及耐药性和多重耐药性结核（例如耐受异烟肼、利福平、乙胺丁醇、吡嗪酰胺、氨基糖苷、卷曲霉素、环丙沙星、氧氟沙星、吉米沙星（gemifloxacin）、环丝氨酸、乙硫异烟肼、对氨基水杨酸等中的一种或两种或多种）。

[0147] 在一些实施方式中，可提高具有免疫缺陷的受试者中的NK细胞活性。在各种实施方式中，这可以是由于降低的或不足的NK细胞活性引起的。在一些实施方式中，免疫缺陷可以是任何已知的免疫缺陷，甚至是那些不直接影响NK细胞的。不希望受限于理论，相信增强NK细胞活性可加强很多免疫缺陷状态中的免疫功能，以至少部分地“补充”与NK细胞活性直接有关的那些方面分离的免疫缺陷方面。

[0148] 在各种实施方式中，免疫缺陷疾病可包括感染易感性增加的疾病，例如一种或多

种选自以下的疾病：循环和系统性疾病（镰状细胞疾病、糖尿病、肾病、静脉曲张、先天性心脏缺陷），阻塞型疾病（输尿管或尿道狭窄、支气管哮喘、支气管扩张、过敏性鼻炎、耳咽管阻塞），外皮缺陷（湿疹、烧伤、颅骨骨折、中间窦道（midline sinus tracts）、纤毛异常），原发性免疫缺陷（X-链锁丙种球蛋白缺乏血症、DiGeorge 异常、慢性肉芽肿病、C3 缺陷），继发性免疫缺陷（营养失调、早熟、淋巴瘤、脾切除术、尿毒症、免疫抑制治疗、蛋白丢失性肠病、慢性病毒性疾病），不常见的微生物因素（抗生素过度、耐药生物的慢性感染、连续再感染（污染的水源、传染性接触、污染的吸入治疗设备）），外来物体、外伤（心室分流、中心静脉导管、人工心脏瓣膜、尿管、吸入的异物）、同种异体移植、移植物抗宿主病、子宫功能障碍（例如子宫内膜异位）等。

[0149] 在各种实施方式中，免疫缺陷疾病可包括，例如：婴儿一过性低丙种球蛋白血症、选择性 IgA 缺陷、X-链锁丙种球蛋白缺乏血症（布鲁顿无丙种球蛋白血症、先天性布鲁顿无丙种球蛋白血症）、普通可变量免疫缺陷（获得性无丙种球蛋白血症）、高-IgM 免疫缺陷、IgG 亚类缺陷、慢性粘膜皮肤念珠菌病、联合免疫缺陷、Wiskott-Aldrich 综合征、共济失调性毛细管扩张症、X-链锁淋巴细胞增生综合征、高-IgE 综合征（Job-Buckley 综合征）、慢性粒细胞疾病、白细胞粘附缺陷（MAC-1/LFA-1/CR3 缺陷）等。

[0150] 在各种实施方式中，免疫缺陷疾病可包括原发性免疫缺陷疾病，例如：B-细胞（抗体）缺陷（X-链锁丙种球蛋白缺乏血症、高-IgM(XL) 的 Ig 缺陷、IgA 缺陷）、IgG 亚类缺陷、具有正常或增加的 Ig 的抗体缺陷、具有胸腺瘤（thymoma）的免疫缺陷、普通可变量免疫缺陷、婴儿一过性低丙种球蛋白血症、T-细胞（细胞的）缺陷（主要 T-细胞缺陷：DiGeorge 异常、慢性粘膜皮肤念珠菌病、具有 Ig 的联合免疫缺陷（内泽洛夫综合征）、核苷磷酸化酶缺陷（AR）、自然杀伤细胞缺陷、特发性 CD4 淋巴细胞减少、组合的 T-和 B-细胞缺陷：严重的联合免疫缺陷（AR 或 XL）、腺苷脱氨酶缺陷（AR）、网状细胞发育不全、裸淋巴细胞综合征、共济失调性毛细管扩张症（AR）、Wiskott-Aldrich 综合征（XL）、短肢侏儒症、XL 淋巴增生综合征）；吞噬细胞缺陷（细胞运动缺陷：高免疫球蛋白血症 E 综合征、白细胞粘附缺陷 1 型（AR）、微生物活性缺陷：慢性肉芽肿病（XL 或 AR）、嗜中性粒细胞 G6PD 缺陷、髓过氧化物酶缺陷（AR）、白细胞异常色素减退综合征（AR））；补体紊乱（补体成分缺陷：C1q 缺陷、调控蛋白缺陷：C1 抑制剂缺陷（D1）、因子 I（C3b 灭活剂）缺陷（ACD）、因子 H 缺陷（ACD）、因子 D 缺陷（ACD）、备解素缺陷（XL））等。

[0151] 在各种实施方式中，免疫缺陷疾病可包括继发性免疫缺陷疾病，例如，一种或一种以上选自以下的疾病：早产和新生儿（因不成熟的免疫系统导致的生理性免疫缺陷）；遗传和代谢疾病（染色体异常（例如唐氏综合征）、尿毒症、糖尿病（即糖尿病并发症如与外周循环和神经功能紊乱有关的坏疽）、营养不良、维生素和矿物质不足、蛋白质丢失性肠病、肾病综合征、肌强直营养不良、镰状细胞病）；免疫抑制剂（辐射、免疫抑制药物、皮质类固醇、抗淋巴细胞或抗胸腺细胞球蛋白、抗-T-细胞单克隆抗体）；传染性疾病（先天性风疹、病毒疹（例如麻疹、水痘）、HIV 感染、巨细胞病毒感染、传染性单核细胞增多症、急性细菌性疾病、严重的分枝杆菌或真菌病）；浸润性和血液性疾病（组织细胞增多症、肉状瘤病、霍奇金病和淋巴瘤、白血病、骨髓瘤、粒细胞缺乏和再生障碍性贫血）；外科手术和外伤（烧伤、脾切除术、麻醉、创伤）；以及杂病（系统性红斑狼疮、慢性活动性肝炎、酒精性肝硬化、老化、抗惊厥药物、移植物抗宿主病）等。

[0152] 在一些实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可需要治疗烧伤或创伤。通常这种创伤或烧伤是给受试者的免疫防御机制带来重大负担的严重伤害。例如,在一些实施方式中,治疗二度或三度烧伤的受试者,烧伤覆盖受试者身体表面积的至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、75%或以上。在一些实施方式中,还治疗受试者的创伤或多种创伤,例如至少约1cm²、2cm²、5cm²、10cm²、20cm²、50cm²或以上,或受试者身体表面积的1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%或以上的开放性创口,或一个或多个穿透皮肤的切口,总计至少1cm、2cm、3cm、4cm、5cm、7cm、10cm、20cm、25cm、50cm长度;切断手术等。

[0153] 在各种实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可具有由抗生素耐药性细菌引起的感染。在一些实施方式中,受试者可具有由细菌引起的感染,该细菌选自多重耐药性肺炎链球菌、万古霉素耐药性肠球菌、甲氧西林耐药性金黄色葡萄球菌、青霉素耐药性肺炎球菌、抗生素耐药性沙门氏菌、耐药性/多重耐药性淋病奈瑟球菌和耐药性/多重耐药性结核。在一些实施方式中,受试者可具有耐受至少一种选自以下的抗生素的细菌感染:青霉素、甲氧西林、第二代头孢菌素、大环内酯类、四环素、甲氧苄氨嘧啶/甲氧唑、万古霉素、四环素、氟喹诺酮类、头孢曲松、头孢克肟、阿奇霉素、异烟肼、利福平、乙胺丁醇、吡嗪酰胺、氨基糖苷、卷曲霉素、环丙沙星、氧氟沙星、吉米沙星、环丝氨酸、乙硫异烟胺和对氨基水杨酸。

[0154] 因此,在各种实施方式中,具有NK细胞反应性疾病的受试者可具有免疫缺陷疾病。在一些实施方式中,受试者可具有原发性免疫缺陷疾病。在一些实施方式中,受试者可具有继发性免疫缺陷疾病。

[0155] 在一些实施方式中,免疫缺陷疾病可包括尿毒症、糖尿病(其感染性并发症、营养不良、维生素和矿物质不足、蛋白丢失性肠病、肾病综合征、肌强直性营养不良、镰状细胞病等)。

[0156] 在一些实施方式中,免疫缺陷疾病可由免疫抑制剂引起或部分由免疫抑制剂引起,例如辐射、免疫抑制药物、皮质类固醇、抗淋巴细胞球蛋白或抗胸腺细胞球蛋白、抗-T-细胞单克隆抗体等。

[0157] 在一些实施方式中,免疫缺陷疾病可由或部分由外科手术和外伤引起,例如烧伤、脾切除术、麻醉、创伤、植入的医疗装置等。

[0158] 在一些实施方式中,免疫缺陷疾病可包括慢性疲劳综合征(慢性疲劳免疫功能障碍综合征);EB病毒感染、病毒感染后疲劳综合征、移植后综合征(宿主抗移植物病)、暴露于一氧化氮合酶抑制剂、老化、严重的联合免疫缺陷、可变性免疫缺陷综合征等。

[0159] 提高NK细胞活性还将有利于治疗具有包括但不限于神经退行性疾病的病症的受试者。在此所用的神经退行性疾病包括神经元,如大脑、脊髓和外周神经元(例如在神经肌肉接头处)退化,更典型地大脑和脊髓神经细胞的退化。神经退行性疾病可包括阿尔茨海默症、亨廷顿病、帕金森病、脊髓/延髓肌萎缩症(例如肯尼迪病)、脊髓小脑共济失调病和其他神经肌肉萎缩症、家族性肌萎缩性侧索硬化症、局部缺血、癫痫、低体温、高热症、烧伤损伤、动脉粥样硬化、辐射暴露、青光眼、毒素暴露、机械性损伤、炎症、癫痫发作、损伤诱导的癫痫、化学诱导的癫痫发作或其它与超氧化物歧化酶(SOD)变异有关的疾病等。神经退行性疾病还可包括由局部缺血、癫痫、热应激、辐射、毒素暴露、感染、损伤等引起的神经元细胞退化。局部缺血可通过多种途径损害组织,包括氧气损耗、葡萄糖损耗、基于再灌流的氧化应激和/或谷氨酸盐毒性等。局部缺血可由内源性疾病(例如中风、心脏病发作

等),由意外机械性损伤,由外科手术损伤(例如移植器官上的再灌流应激)等引起。另外,可由局部缺血伤害的组织包括神经元、心肌、肝组织、骨骼肌、肾组织、肺组织、胰腺组织等。

[0160] 提高NK细胞活性将有利的其他病症包括因热应激引起的病症,(热应激包括高热症(例如由发烧、中暑、烧伤等引起)和低体温)、辐射损伤,例如,由于可见光、紫外光、微波、宇宙射线、 α 辐射、 β 辐射、 γ 辐射、X射线等,(例如该损害可以通过辐射疗法治疗癌症的受试者中非癌组织的损害),机械性损伤,例如外科手术、意外事件、某些疾病状况(例如青光眼中的压力损害)等引起的损伤,以及暴露于毒素,例如暴露于选自以下的神经毒素:甲基苯丙胺、抗逆转录病毒HIV治疗(例如核苷逆转录酶抑制剂、重金属(例如汞、铅、砷、镉、其化合物等)、氨基酸类似物、化学氧化剂、乙醇、谷氨酸盐、代谢抑制剂、抗生素等。

[0161] 在一些实施方式中,本发明提供一种治疗或抑制需要的受试者中的血管生成的方法,该方法包括将有效量的所述化合物给药于受试者。在此所用的“血管生成”是指在组织或器官中生成新血管的基本过程。血管生成涉及或与很多疾病或状况有关,包括但不限于:癌症、眼部新生血管性疾病、年龄相关性黄斑变性、糖尿病视网膜病变、早产儿视网膜病变、角膜移植排斥反应、新生血管性青光眼、晶体后纤维组织形成、流行性角膜结膜炎、维生素A缺乏症、隐形眼镜过度磨损、特应性角膜炎、上边缘角膜炎、翼状胬肉干燥性角膜炎(ptyerygium keratitis sicca)、干燥综合征、酒糟鼻、疣、湿疹、小水泡病(phlyctenulosis)、梅毒、分枝杆菌感染、脂质变性、化学烧伤、细菌性溃疡、真菌性溃疡、单纯疱疹感染、带状疱疹感染、原虫感染、卡波西肉瘤、角膜侵蚀性溃疡、边缘性角膜变性、边缘性角蛋白溶解、风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多动脉炎、创伤、韦格纳肉芽肿、巩膜炎、史-约综合征、类天疱疮、放射状角膜切开术、角膜移植排斥、糖尿病性视网膜病、黄斑变性、镰状细胞性贫血、肉状瘤、梅毒、弹性纤维假黄瘤、佩吉特病、静脉闭塞、动脉闭塞、颈动脉阻塞性疾病、慢性葡萄膜炎/玻璃体炎、分枝杆菌感染、莱姆病、系统性红斑狼疮、早产儿视网膜病、伊尔斯病、白塞病、引起视网膜炎或脉络膜炎的感染、假定的眼组织胞浆菌病、贝斯特病变、近视、视盘小凹、斯特格病变、扁平部睫状体炎、慢性视网膜脱离、高粘滞综合征、弓形体病、损伤和激光后并发症、与虹膜发红有关的疾病(角的新生血管形成)、由包括以下所有形式的维管或纤维组织的异常增生引起的疾病:增生性玻璃体视网膜病变、风湿性关节炎、骨关节炎、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、巴尔通氏体病、动脉粥样硬化、奥斯勒-韦伯-朗迪病、遗传性出血性毛细管扩张症、肺部血管瘤、初期子痫、子宫内膜异位、肝和肾的纤维化、发育异常(器官形成)、皮肤变色(例如血管瘤、焰色痣或单纯痣)、伤口愈合、肥厚性瘢痕即瘢痕瘤、创面肉芽、血管粘连、猫抓病(Rochela ninalia quintosa)、溃疡(幽门螺杆菌)、角膜结膜炎、齿龈炎、牙周疾病、龈瘤、肝炎、扁桃腺炎、肥胖、鼻炎、喉炎、气管炎、支气管炎、细支气管炎、肺炎、肺间质纤维化、肺水肿、神经性皮炎、甲状腺炎、甲状腺肿大、子宫内膜异位、肾小球性肾炎、胃炎、炎症性骨和软骨破坏、血栓栓塞病和Buerger疾病。可通过任何本领域技术人员已知的方法证明抗血管生成,如在本文的实施例10和11中记载的方法。

[0162] “受试者”是哺乳动物,优选是人类,但也可以是需兽医治疗的动物,例如伴生动物(例如狗、猫等)、家畜(例如牛、羊、猪、马等)以及实验动物(例如大鼠、小鼠、豚鼠等)。

[0163] 适合的药学可接受载体或稀释剂可包含不抑制在此所述化合物的生物活性的情

性成分。药学可接受载体或稀释剂应是生物相容的,即,无毒、非炎性、非免疫原性以及在接受于受试者后没有其他不期望的反应。可使用标准的药制剂技术,如记载在 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA 的那些技术。待给药的化合物的制剂将根据选择的给药途径而变化(例如溶液、乳液、胶囊)。适合于肠胃外给药的药物载体包括,例如无菌水、生理盐水、抑菌盐水(含有约 0.9% mg/ml 苯醇的盐水)、磷酸盐缓冲盐水、汉克斯溶液、林格液乳酸盐等。组合物胶囊化方法(如用硬明胶或环糊精包衣)是本领域已知的(Baker 等人, "Controlled Release of Biological Active Agents", John Wiley and Sons, 1986)。

[0164] “有效量”是当化合物给药于受试者时获得有益临床结果的化合物量。例如,当本发明的化合物给药于患癌症的受试者时,“有益的临床结果”包括与未治疗的受试者相比,肿瘤质量减小,转移减少,与癌症有关的症状的严重性降低,和/或受试者的寿命延长。当将本发明的化合物给药于具有 Hsp70 反应性疾病或 NK 细胞反应性疾病的受试者时,“有益的临床结果”包括与没有治疗的受试者相比,与该疾病有关的症状的严重性或数量降低、感染消除或受试者的寿命延长。给药于受试者的化合物的精确量将取决于疾病或症状的类型和严重性以及受试者的特征,如,一般健康、年龄、性别、体重和对药物的耐受性。还也可取决于癌症的程度、严重性和类型。本领域技术人员将能够根据这些和其他因素确定适合的剂量。所公开的化合物的有效量通常在每天约 1mg/mm² 和约 10g/mm² 之间,优选为每天 10mg/mm² 和约 5g/mm² 之间。在一些实施方式中,所公开的化合物的有效量包括每千克受试者或样品重量为微克到毫克的化合物量(例如约 1 μg/kg 到约 500mg/kg, 约 500 μg/kg 到约 250mg/kg, 约 1mg/kg 到约 100mg/kg, 约 10mg/kg 到约 50mg/kg 等)。当与另一种治疗癌症的抗癌药物共同给药时,第二抗癌药物的“有效量”将取决于所用药物的类型。适合的剂量对于批准的抗癌药物是已知的且可由本领域技术人员根据受试者的状况、所治疗的癌症的类型和所用的本发明化合物进行调整。

[0165] 在此所述的化合物和药物组合物通过任何适合的途径给药,包括例如胶囊、悬浮液或片剂形式口服或通过肠胃外给药。肠胃外给药可包括,例如,全身给药,如通过肌肉内、静脉内、皮下或腹膜内注射。在此所述的化合物和药物组合物还可口服给药(例如饮食)、局部、通过吸入(例如支气管内、鼻内、口腔吸入或鼻内滴入)或直肠给药,取决于治疗的癌症的类型。口服和肠胃外给药是优选的给药模式。

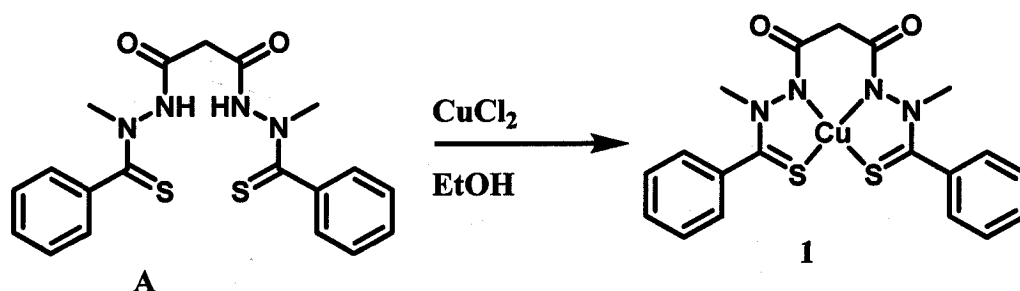
[0166] 通过以下实施例说明本发明,但并非意在以任何方式进行限定。

[0167] 例证

[0168] 实施例 1:化合物的合成

[0169] 化合物 1 的合成

[0170]



[0171] 将氯化亚铜 (II) (277mg, 2.0mmol) 加到双 [硫代酰肼酰胺]A (800mg, 2.0mmol) 在 EtOH(10.0mL) 的溶液中。在室温下搅拌该混合物 20 分钟。然后加水。过滤后收集固体。用二氯甲烷溶解该固体。用水清洗 (2X) 得到的溶液, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤和浓缩得到固态粗产物。用丙酮清洗该产物得到纯化合物 1 (600mg)。通过用乙腈再结晶得到单晶固体。MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 462. MP : 198–202°C (分解的)。分析计算为 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{CuN}_4\text{O}_2\text{S}_2$: C, 49.39%; H, 3.93%; N, 12.13%; 实测: C, 49.36%; H, 3.68%; N, 11.92%。

[0172] 化合物 1 的键距 (埃 (Armstrong)) 的表格

[0173]

| 原子 1 | 原子 2 | 键距 | 原子 1 | 原子 2 | 键距 |
|------|------|-----------|------|------|----------|
| Cu1 | N7 | 1.944(2) | C12 | H12 | 0.950 |
| Cu1 | N3 | 1.948(2) | C13 | C14 | 1.389(4) |
| Cu1 | S1 | 2.2346(7) | C13 | H13 | 0.950 |
| Cu1 | S9 | 2.2375(7) | C14 | C15 | 1.389(4) |
| S1 | C1 | 1.694(3) | C14 | H14 | 0.950 |
| S9 | C9 | 1.707(3) | C15 | C16 | 1.384(4) |
| O4 | C4 | 1.231(3) | C15 | H15 | 0.950 |
| O6 | C6 | 1.227(3) | C16 | H16 | 0.950 |
| N2 | C1 | 1.321(3) | C21 | H21A | 0.980 |
| N2 | N3 | 1.405(3) | C21 | H21B | 0.980 |
| N2 | C21 | 1.482(3) | C21 | H21C | 0.980 |
| N3 | C4 | 1.370(3) | C81 | H81A | 0.980 |
| N7 | C6 | 1.363(3) | C81 | H81B | 0.980 |
| N7 | N8 | 1.414(3) | C81 | H81C | 0.980 |
| N8 | C9 | 1.316(3) | C91 | C92 | 1.391(4) |
| N8 | C81 | 1.481(3) | C91 | C96 | 1.403(3) |
| C1 | C11 | 1.479(4) | C92 | C93 | 1.388(4) |
| C4 | C5 | 1.510(4) | C92 | H92 | 0.950 |

| | | | | | |
|-----|-----|----------|-----|-----|----------|
| C5 | C6 | 1.519(4) | C93 | C94 | 1.382(4) |
| C5 | H51 | 0.94(4) | C93 | H93 | 0.950 |
| C5 | H52 | 1.01(3) | C94 | C95 | 1.393(4) |
| C9 | C91 | 1.481(4) | C94 | H94 | 0.950 |
| C11 | C12 | 1.392(3) | C95 | C96 | 1.384(4) |
| C11 | C16 | 1.394(3) | C95 | H95 | 0.950 |
| C12 | C13 | 1.383(4) | C96 | H96 | 0.950 |

[0174] 圆括号中的数值是估计的最低有效位的标准偏差。

[0175] 化合物 1 的键角 (度) 的表格

[0176]

| 原子 1 | 原子 2 | 原子 3 | 角度 | 原子 1 | 原子 2 | 原子 3 | 角度 |
|------|------|------|------------|------|------|------|----------|
| N7 | Cu1 | N3 | 96.27(8) | C11 | C12 | H12 | 120.20 |
| N7 | Cu1 | S1 | 161.69(6) | C12 | C13 | C14 | 120.7(3) |
| N3 | Cu1 | S1 | 86.92(6) | C12 | C13 | H13 | 119.60 |
| N7 | Cu1 | S9 | 86.58(6) | C14 | C13 | H13 | 119.60 |
| N3 | Cu1 | S9 | 158.38(6) | C13 | C14 | C15 | 119.6(3) |
| S1 | Cu1 | S9 | 97.10(3) | C13 | C14 | H14 | 120.20 |
| C1 | S1 | Cu1 | 96.53(9) | C15 | C14 | H14 | 120.20 |
| C9 | S9 | Cu1 | 96.97(9) | C16 | C15 | C14 | 119.9(2) |
| C1 | N2 | N3 | 118.7(2) | C16 | C15 | H15 | 120.00 |
| C1 | N2 | C21 | 122.7(2) | C14 | C15 | H15 | 120.00 |
| N3 | N2 | C21 | 116.67(19) | C15 | C16 | C11 | 120.4(2) |
| C4 | NS | N2 | 112.6(2) | C15 | C16 | H16 | 119.80 |
| C4 | N3 | Cu1 | 118.96(18) | C11 | C16 | H16 | 119.80 |
| N2 | N3 | Cu1 | 115.96(14) | N2 | C21 | H21A | 109.50 |

| | | | | | | | |
|-----|----|-----|------------|------|-----|------|--------|
| C6 | N7 | N8 | 113.3(2) | N2 | C21 | H21B | 109.50 |
| C6 | N7 | Cu1 | 120.48(17) | H21A | C21 | H21B | 109.50 |
| N8 | N7 | Cu1 | 116.52(14) | N2 | C21 | H21C | 109.50 |
| C9 | N8 | N7 | 118.6(2) | H21A | C21 | H21C | 109.50 |
| C9 | N8 | C81 | 123.2(2) | H21B | C21 | H21C | 109.50 |
| N7 | N8 | C81 | 115.93(19) | N8 | C81 | H81A | 109.50 |
| N2 | C1 | C11 | 120.7(2) | N8 | C81 | H81B | 109.50 |
| N2 | C1 | S1 | 121.3(2) | H81A | C81 | H81B | 109.50 |
| C11 | C1 | S1 | 118.07(17) | N8 | C81 | H81C | 109.50 |
| 04 | C4 | N3 | 125.2(2) | H81A | C81 | H81C | 109.50 |
| 04 | C4 | C5 | 119.7(2) | H81B | C81 | H81C | 109.50 |

[0177]

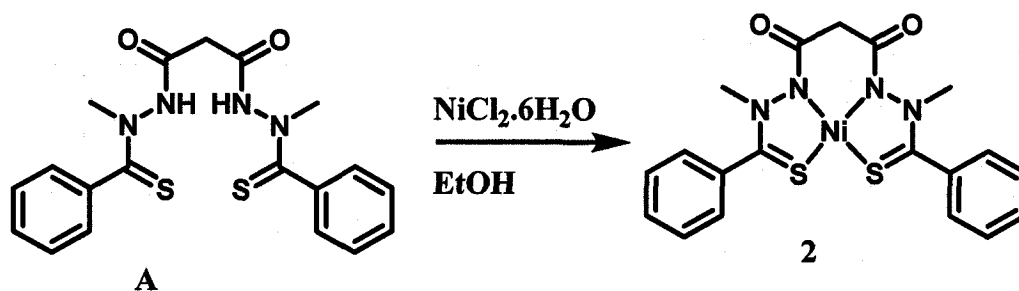
| | | | | | | | |
|-----|----|-----|-----------|-----|-----|-----|----------|
| N3 | C4 | C5 | 114.5(2) | C92 | C91 | C96 | 119.1(2) |
| C4 | C5 | C6 | 124.5(2) | C92 | C91 | C9 | 121.6(2) |
| C4 | C5 | H51 | 111(2) | C96 | C91 | C9 | 119.1(2) |
| C6 | C5 | H51 | 106(2) | C93 | C92 | C91 | 120.6(2) |
| C4 | C5 | H52 | 101.6(19) | C93 | C92 | H92 | 119.70 |
| C6 | C5 | H52 | 111.1(19) | C91 | C92 | H92 | 119.70 |
| H51 | C5 | H52 | 99(3) | C94 | C93 | C92 | 120.1(3) |
| 06 | C6 | N7 | 125.4(2) | C94 | C93 | H93 | 119.90 |
| 06 | C6 | C5 | 118.8(2) | C92 | C93 | H93 | 119.90 |
| N7 | C6 | C5 | 115.6(2) | C93 | C94 | C95 | 119.8(3) |
| N8 | C9 | C91 | 121.6(2) | C93 | C94 | H94 | 120.10 |

| | | | | | | | |
|-----|-----|-----|------------|-----|-----|-----|----------|
| N8 | C9 | S9 | 120.7(2) | C95 | C94 | H94 | 120.10 |
| C91 | C9 | S9 | 117.68(18) | C96 | C95 | C94 | 120.5(2) |
| C12 | C11 | C16 | 119.6(2) | C96 | C95 | H95 | 119.80 |
| C12 | C11 | C1 | 119.8(2) | C94 | C95 | H95 | 119.80 |
| C16 | C11 | C1 | 120.5(2) | C95 | C96 | C91 | 119.9(3) |
| C13 | C12 | C11 | 119.7(2) | C95 | C96 | H96 | 120.00 |
| C13 | C12 | H12 | 120.20 | C91 | C96 | H96 | 120.00 |

[0178] 圆括号中的数值是估计的最低位数的标准偏差。

[0179] 化合物 2 的合成

[0180]



[0181] 与上述化合物 1 的制备类似的方法用双 [硫代酰肼酰胺] A 与氯化镍 (II) 六水合物制备化合物 2。MS (ESI) [M+H]⁺: 457. ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.58-7.44 (m, 10H), 3.61 (s, 6H), 3.59 (s, 2H)。

[0182] 实施例 2 : 化合物 1 的生物活性

[0183] 将 M14 黑色素瘤细胞以 96-孔板每个孔 50,000 个细胞的密度接种到补充有 10% 胎牛血清的 100 μl 的 Dulbecco 基本必需培养基 (DMEM) 中。将细胞在 37°C 和 5% CO₂-95% 空气下培养。孵育 16 个小时后, 将试验化合物加到细胞培养物中。首先用 100% 二甲基亚砜 (DMSO) 稀释该化合物到试验实际所用最终浓度的 400 倍。用培养液将该 DMSO 溶液再稀释 20 倍, 然后, 最后再稀释 20 倍加到测定孔中。测定基质包含 0.25% DMSO 指示浓度的试验化合物。用 CCK8 测定法 (如 Technical Manual for Cell Counting Kit-8, Product#CK0411, CK04-13 and CK04-20, Dojindo Molecular Technologies, Inc. MD; Tantalur, I. S. 等人 Tropical Medicine and International Health, 8(6), 569-574, 2003 所述) 在与试验细胞孵育 48 小时后的最后 15 分钟内测定细胞的生存力。将化合物 1 和 2 的数据与化合物 A 比较, 显示在图 25 中。图中的每个柱表示相对于载体 (0.25% DMSO) 对照 (n = 4) 的平均抑制百分比。误差条显示标准偏差。化合物 A 和化合物 2 的 IC₅₀ 值大于 12.5 μM, 而化合物 1 的 IC₅₀ 值为 0.8 μM。

[0184] 实施例 3-7

[0185] 在各种应激条件下诱导热激蛋白 (Hsp) 并与其他蛋白结合以防止其变性。Hsp 可

防止细胞凋亡。诱导产生 Hsp70 的物质可具有对抗宽范围损害的保护活性并且在神经系统疾病方面特别有用。本发明的 Hsp70 诱导化合物的神经保护活性可以在各种动物神经疾病模型上进行评价。具体地,中风、肌萎缩性侧索硬化症、亨廷顿病、帕金森病和阿尔茨海默症的动物模型是效能测试的适合设置。下面提供了一些动物模型的实例。

[0186] 实施例 3:脑缺血(中风)

[0187] 所公开的用本发明的 Hsp70 诱导化合物进行治疗的益处可以在啮齿动物中风模型上进行评价。例如可使用记载在 Longa 等人 (Longa, E. Z., Weinstein, P. R., Carlson, S., and Cummins, R. (1989) Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 20:84-91) 中的中风模型。

[0188] 用氯胺酮麻醉大鼠,然后通过颅外血管闭塞诱发梗塞。将 4-0 尼龙腔内缝线置于颈内颈动脉内并在颅内前进以阻断流入大脑中动脉的血流。通过阻断外部颈动脉的所有支流和内部颈动脉的所有颅外支流减少侧支血流。本发明的化合物可在诱发梗塞之前或之后立即给药。例如,剂量可以是 10-100mg/kg 体重,每周给药一次,每周三次,或每日一次,通过任何常规模式给药,例如口服或静脉内给药。可分析神经缺损、死亡率、大体病理学(梗塞尺寸)和组织化学染色以评价该化合物的效用。因为这是非常急性的模型,常常在梗塞三天后观察到死亡,因此该模式可仅由一次给药组成。

[0189] 实施例 4:家族性肌萎缩性侧索硬化症(ALS)

[0190] 本发明化合物在治疗 ALS 中的有效性可利用 SOD 1 转基因小鼠模型 (Gurney, M. E., Pu, H., Chiu, A. Y., Dal Canto, M. C., Polchow, C. Y., Alexander, D. D., Caliendo, J., Hentati, A., Kwon, Y. W., 和 Deng, H. X. (1994) Motor neuron degeneration in mice that express a human CuZn superoxide dismutase mutation. *Science* 264:1772-1775) 进行模拟。在患有家族性 ALS 的患者中发现了人类 CuZn 超氧化物歧化酶(SOD)的突变。在氨基酸 93 上包含甘氨酸到丙氨酸的置换的人类 SOD 基因的表达在转基因小鼠中导致运动神经元疾病。由于脊髓丧失运动神经元,小鼠瘫痪并在 5 到 6 个月后死亡。

[0191] 为了测试本发明 Hsp70 诱导化合物的有效性,用该化合物治疗具有 SOD1 突变(SOD1^{G93A})的转基因小鼠并监测对疾病的效果。这些 2.5-3 个月龄的动物的临床症状明显。可在此刻开始给予该化合物。例如,剂量可以是 10-100mg/kg 体重,每周给药一次或每周三次,通过口服或静脉内途径。终点包括运动机能的功能性损伤以及组织学变化。后一终点包括评价运动神经元变性的脑和脊髓的组织病理学和脊髓运动神经元中出现富含神经丝的内含物。如果长期给药,则可评价对小鼠生存率的影响。

[0192] 实施例 5:亨廷顿病(HD)

[0193] 存在 HD 的转基因小鼠模型,可以在该疾病设置中测试本发明 Hsp70 诱导化合物的功效 (Mangiarini, L., Sathasivam, K., Seller, M., Cozens, B., Harper, A., Hetherington, C., Lawton, M., Trotter, Y., Lehrach, H., Davies, S. W., and Bates, G. P. (1996) Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* 87:493-506; Carter, R. J., Lione, L. A., Humby, T., Mangiarini, L., Mahal, A., Bates, G. P., Dunnett, S. B., and Morton, A. J. (1999) Characterization of progressive motor deficits in mice transgenic for the human Huntington's disease mutation. *J. Neuroscience* 19:3248-3257)。HD 由

CAG/聚谷氨酸重复延伸引起。这些转基因小鼠(R6/2转基因)具有含(CAG)115-(CAG)150重复延伸的人类HD基因的5'末端。该小鼠显示与HD类似的进行性神经系统疾病,包括反常和不自主的运动、震颤和癫痫发作。

[0194] 这些转基因小鼠在大约8周龄时显示明显的行为变化。早在5到6周龄时,它们在运动机能上就显示较微妙的缺陷。本发明的Hsp70诱导化合物可通过静脉内或口服给药,剂量为每公斤体重10-100mg,可在不同的时间开始给药(例如在5-6月龄)。可根据多种不同的剂量进度表给予化合物(例如每周一次或每周三次)。可进行一种或多种啮齿动物运动测试,如小游泳池、梁行走、转棒装置和足迹测试(参见Carter等人1999)以评价该化合物在预防HD小鼠的神经功能丧失中的活性。

[0195] 实施例6:帕金森病(PD)

[0196] 有两种广泛采用的PD模型,其中疾病是化学治疗诱导的。它们是6-OHDA(Zigmond, M. J. and Stricker, E. M. (1984) Parkinson's disease: studies with an animal model. *Life Sci.* 35:5-18; Sauer, H. and Oertel, W. H. (1994) Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. *Neuroscience* 59:401-415)和MPTP(Langston, J. W., Forno, L. S., Rebert, C. S., and Irwin, I. (1984) Selective nigral toxicity after systemic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the squirrel monkey. *Brain Res.* 292:390-4)模型。描述了采用6-OHDA测试本发明的Hsp70诱导化合物的实施例。

[0197] 通过立体定向注射到脑中的纹状体来给年轻成年雄性大鼠注射荧光金(FG)以易于观察黑质中(PD的部位)的神经元。在麻醉下,将0.2 μ l的4%FG溶液通过立体定向注射给药(前卤前面1mm、侧面3mm,以及从硬脑膜向两纹状体内腹侧4.5mm)。在注射FG后一星期,大鼠接受6-OHDA向大脑一侧的纹状体中的立体注射(20 μ g溶解在4 μ l盐水中, Sigma),在与FG注射相同的坐标处。本发明的Hsp70诱导化合物可以每公斤体重10-100mg的剂量通过静脉内或口服给药。该化合物可在注射6-OHDA的同时给药或在6-OHDA治疗后的一些时间(例如2-4周)给药。在注射6-OHDA后的8和16周杀死大鼠。该模型的终点是:1)通过传统神经学系统读数评价旋转(转动)行为,在生命中的不同时间监测到行为变化,以及2)杀死后去脑,利用低温恒温器制成薄片,如Zigmond and Stricker(1984)所述进行免疫组织化学检查。通过旋转行为的减少以及黑质多巴胺能神经元的缺失的减少证明了本发明的Hsp70诱导化合物的功效。

[0198] 实施例7:阿尔茨海默症(AD)

[0199] 有几种AD的转基因小鼠模型。广泛用于测试药物在AD中的功效的一种这样的模型由Holcomb等人(Holcomb, L., Gordon, M. N., McGowan, E., Yu, X., Benkovic, S., Jantzen, P., Wright, K., Saad, I., Mueller, R., Morgan, D., Sanders, S., Zehr, C., O'Campo, K., Hardy, J., Prada, C. M., Eckman, C., Younkin, S., Hsiao, K., and Duff, K. (1998) Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. *Nature Medicine* 4:97-100)记载。该模型包含两种不同的与AD有关的基因。一种是淀粉样前体蛋白(APP)

的突变。突变 APP (K670N, M671L) 转基因系 Tg2576 在早期就具有提高的淀粉样 β -蛋白水平, 后来发生细胞外 AD-型 $A\beta$ 在大脑中的沉积。另一种基因是突变的早衰蛋白-1 (PS1) 基因。Tg2576 和 PS1 突变 PS1M146L 转基因系之间杂交产生的双转基因后代远早于其单转基因 Tg2576 小鼠发生大量纤维 $A\beta$ 在大脑皮层以及海马中的沉积。

[0200] 本发明的 Hsp70 诱导化合物可在不同的时间给药于小鼠。小鼠在开始给药时的年龄可以不同。例如, 治疗开始时间可以在 3 个月龄, 在此时可首次检测到大脑沉积物。例如, 剂量可以通过口服或静脉内途径每周一次或每周三次给药 10-100mg/kg 体重。可通过测量大脑中的 AD 型沉积物以及通过在迷津测验中评价小鼠的功能来评定药物治疗的效果。

[0201] 实施例 8: 热激蛋白 70 (Hsp70) 的测量

[0202] 可通过夹心 ELISA 试剂盒 (Stressgen Bioreagents Victoria, British Columbia, CANADA) 按照修订的方案在室内测量血浆 Hsp70。简言之, 将血浆标本中的 Hsp70 和系列浓度的 Hsp70 标准捕集到抗-Hsp70 抗体包被的 96 孔板上。然后用生物素化的抗-Hsp70 抗体检测捕集的 Hsp70, 之后与铈偶联的链霉抗生素蛋白孵育。在每次孵育后, 清洗去除未结合的物质。最后, 通过对铈进行时间分辨荧光分析 (time resolved fluorometry) 测定抗体-Hsp70 复合物。由标准曲线计算 Hsp70 的浓度。

[0203] 实施例 9: 自然杀伤细胞的细胞毒活性测定

[0204] 可以采用以下过程检测受试者中的 NK 细胞活性。该过程修改自 Kantakamalakul W, Jaroenpool J, Pattanapanyasat K. A novel enhanced green fluorescent protein (EGFP)-K562 flow cytometric method for measuring natural killer (NK) cell cytotoxic activity. *J Immunol Methods*. 2003 Jan 15; 272:189-197, 其全部教导以引用的方式结合于此。

[0205] 材料和方法: 人类红白血病细胞系 K562 从美国典型培养物保藏中心 (CCL-243, American Type Culture Collection, Manassas, VA) 得到, 并在 RPMI-1640 培养基 (Cat#11875-093 Gibco Invitrogen Corp, Carlsbad, CA) 中在 37°C 和 5% CO_2 下培养, 该培养基中补充有 10% 热灭活胎牛血清 (Gibco)、2mM L-谷氨酰胺、100 μ g/ml 链霉素和 100IU/ml 青霉素。用编码绿色荧光蛋白 (eGFP) 的逆转录病毒载体转导 K562 细胞。通过抗生素 G418 选择稳定的细胞系。约 99.6% 的 G418 抗性细胞在选择后是 eGFP 阳性的。

[0206] 由临床研究地制备受试者的外周血单核细胞 (PBMCs) 并收集在装有肝素钠的 BD Vacutainer 细胞制备管 (产品编号: 362753, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) 中。

[0207] 将开始浓度为 1×10^6 细胞/mL 的 800 μ l 效应细胞 (患者的 PBMC) 的两倍连续稀释液放入四个分别的聚苯乙烯 12 \times 75-mm 管中。用培养基 (RPMI-1640) 将对数期生长的靶细胞 (K562/eGFP) 调节为 1×10^5 细胞/mL 浓度, 然后将 100 μ l 靶细胞加到管中以提供 80 : 1, 40 : 1, 20 : 1, 10 : 1 的效应细胞 / 靶细胞 (E/T) 比。单独的效应细胞和单独的靶细胞作为对照。将所有管在 37°C、5% CO_2 下孵育约 3.5 小时。将浓度为 1mg/mL 的 10 微升碘化丙啶 (PI) 加到每个管中, 包括效应细胞和靶细胞对照管, 然后在室温下孵育 15 分钟。

[0208] 用 FACSCalibur 流式细胞仪 (Becton Dickinson) 分析细胞毒活性。得到前向和侧向散射 (FSC/SSC) 信号的线性放大, 以及在绿色和红色荧光中的 eGFP 和 PI 发射的对数放大。不带取样口的每个样品管收集一万个事件用于分析。使用 CELLQuest (Becton

Dickinson Biosciences) 软件对 eGFP 相对于 PI 的两参数点图进行数据分析以计算活的和死亡的靶细胞。通过设置前向光散射的阈值将碎片和死细胞排除在外。

[0209] 实施例 10 :HUVEC 细胞迁移的抑制

[0210] 为了研究本发明化合物是否影响内皮细胞功能,在本发明化合物存在下进行体外人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 迁移试验。在 12-孔板上培养 HUVEC 细胞 (通道数为 4) 并用活细胞成像系统在供给 6-7% CO₂ 的倒置显微镜上进行时移成像。温度保持在 37°C。使用 2 倍物镜每 30 分钟采集图像,最多 106 个小时,或使用 20 倍物镜每 60 秒采集图像共 30 分钟。类似地刮擦汇合的 HUVEC 培养物以形成空白区域,然后在 HUVEC 培养基中培养 15 小时,而不进行处理。按照每个孔的时移顺序成像的迁移区域作为标准化 / 校正迁移速率的基础。然后,将不同处理下的细胞迁移成像,以生成每个孔的时移图像顺序。通过测量迁移细胞覆盖的面积进一步分析时移移动。在实验过程中,通过 VEGF 和碱性 FGF 的存在活化 HUVEC 细胞。预期本发明的化合物 (例如 100nM 和 1 μ M) 完全阻止 HUVEC 细胞迁移到空白区域,表明本发明化合物对由 VEGF 和碱性 FGF 体外诱导的活化 HUVEC 细胞的迁移具有强抑制作用。

[0211] 在上述处理过程中,还可能追踪 HUVEC 的行为。预期 HUVEC 细胞在用本发明化合物处理 24 小时后将开始萎缩。

[0212] 实施例 11 :HUVEC 细胞的增强的 VE-钙粘着蛋白连接

[0213] 通过使用抗 -VE-钙粘着蛋白抗体进行荧光免疫研究来检测 HUVEC 细胞之间的 VE-钙粘着蛋白连接。用 DMSO 或本发明化合物 (例如 10、100 和 1000nM) 处理 HUVEC 细胞 24 小时并固定用于免疫染色。对于所有处理,DMSO 浓度是 1 : 100。为了加强免疫荧光信号,用 2 种多克隆抗 -人 VE-钙粘着蛋白抗体的混合物使细胞染色,然后用荧光第二抗体的混合物染色。与 DMSO 处理的培养物相比,预期使用本发明化合物的 VE-钙粘着蛋白染色在细胞 - 细胞连接区域 (而不是非接触区域) 极强。预期很可能是通过诱导连接处 VE-钙粘着蛋白分子的积聚,本发明化合物可提高活化的人类内皮细胞的细胞 - 细胞连接的装配。该效果可导致有限的细胞运动性并减少内皮渗透性,因此对本发明化合物的细胞迁移抑制和潜在抗血管生成效应起作用。

[0214] 已经通过参考实施方式实例具体显示和描述了本发明,但应了解本领域技术人员在不脱离所附权利要求书限定的本发明范围的前提下可在形式和细节上进行各种变化。

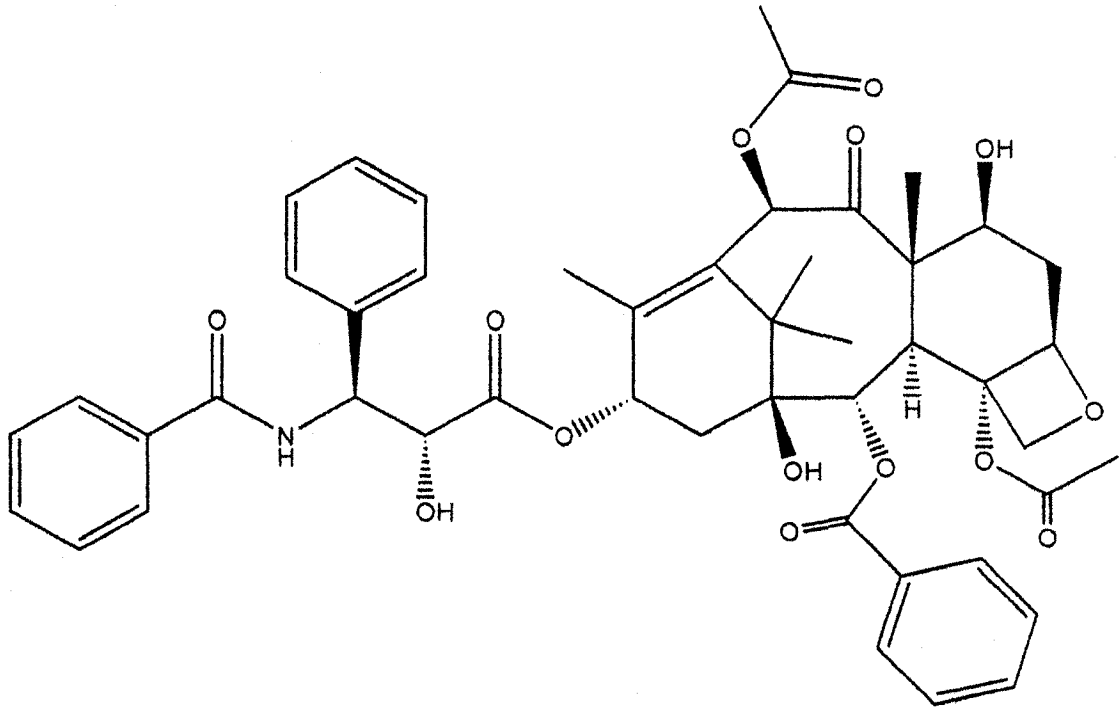


图 1

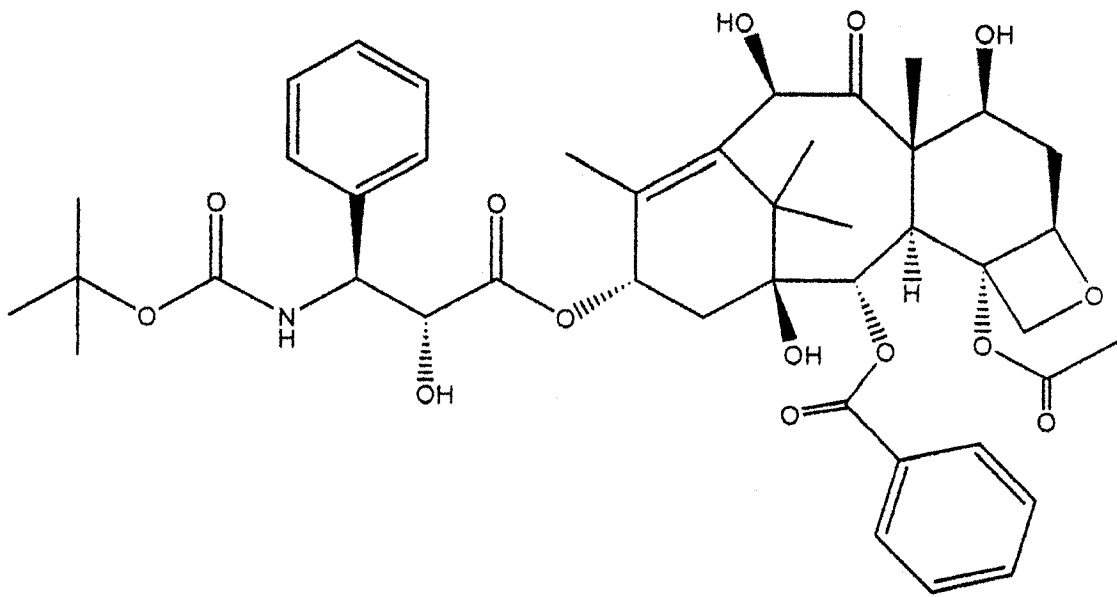


图 2

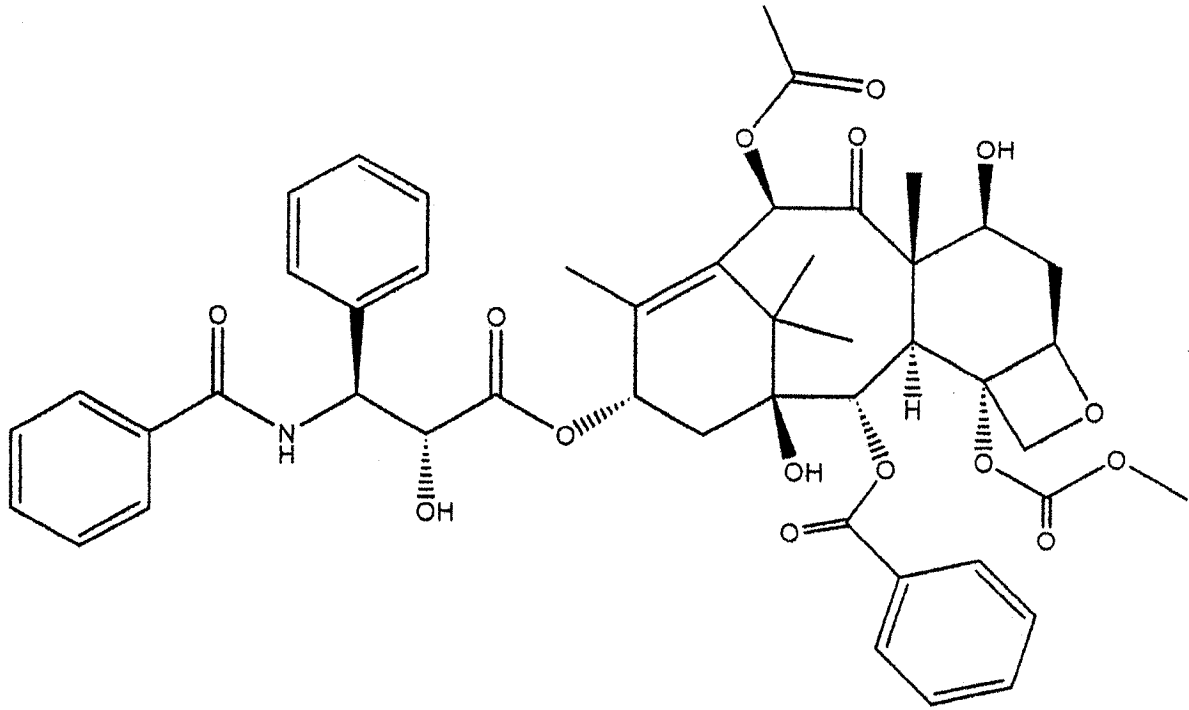


图 3

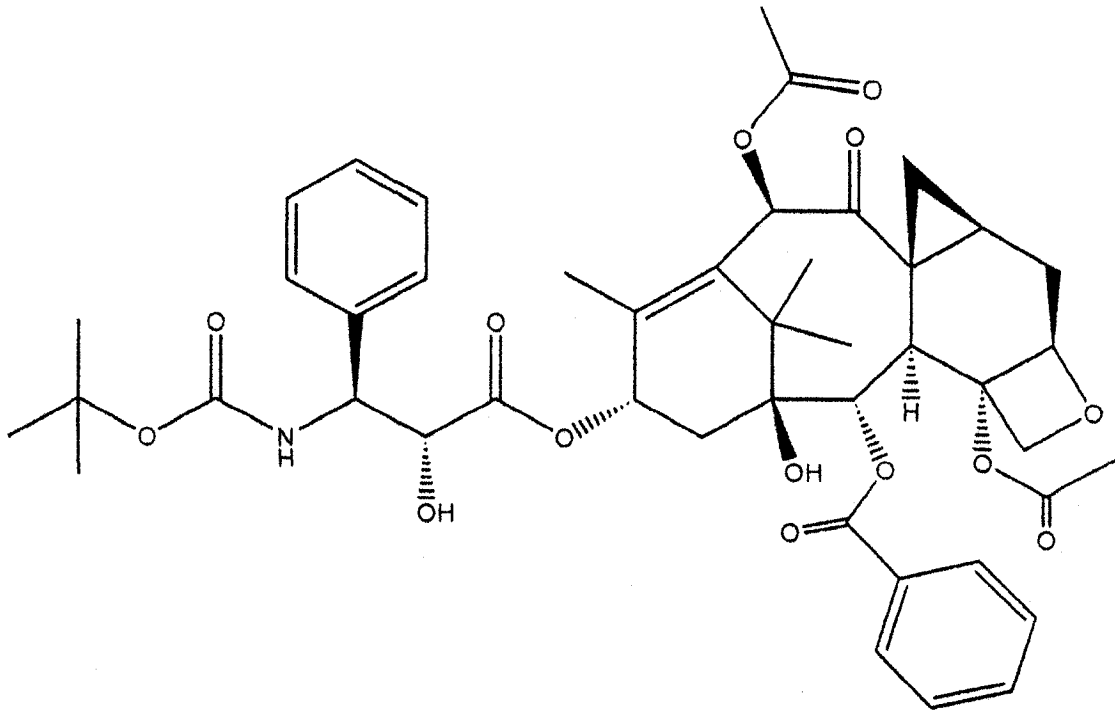


图 4

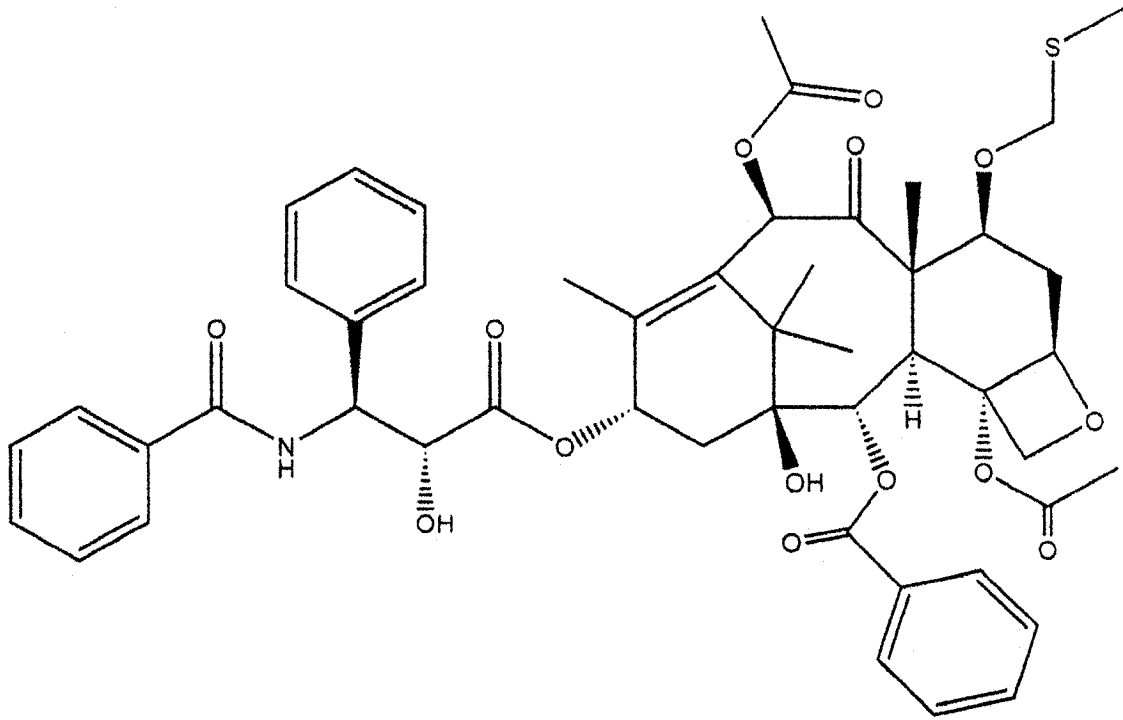


图 5

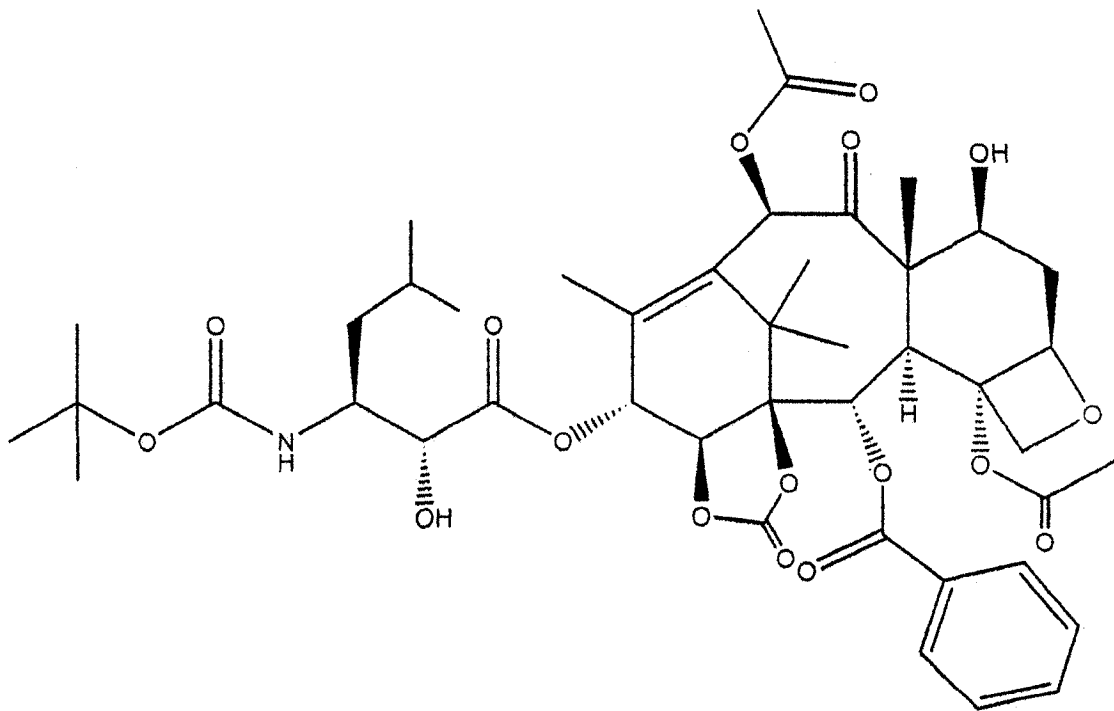


图 6

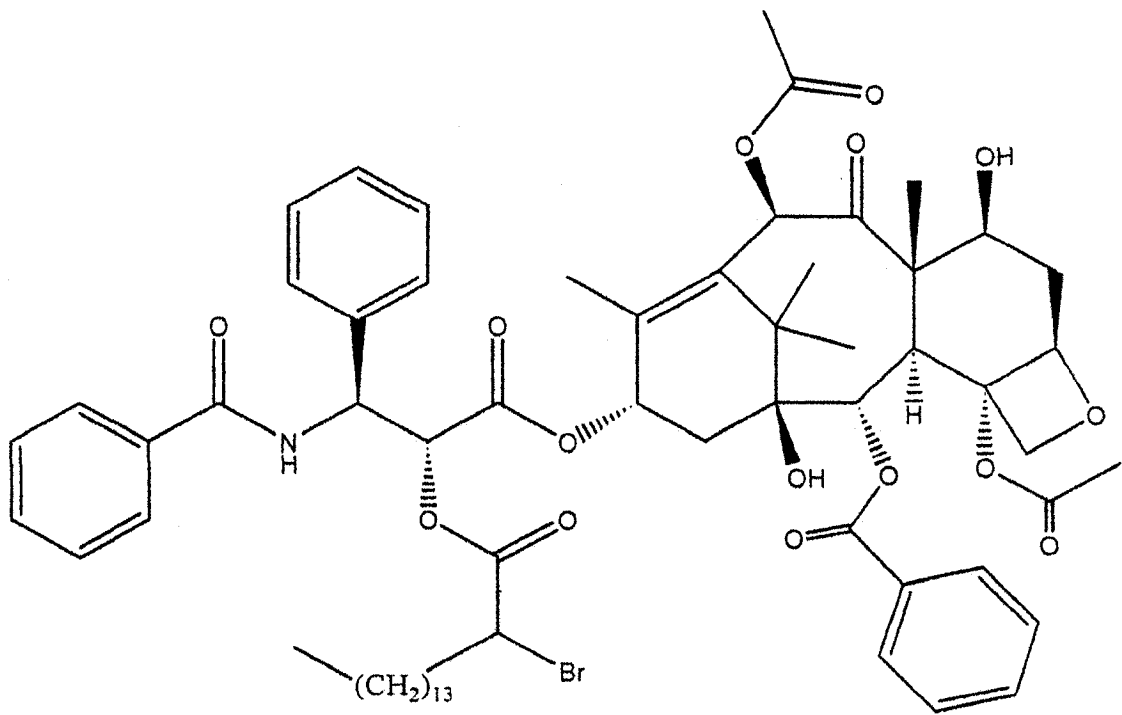


图 7

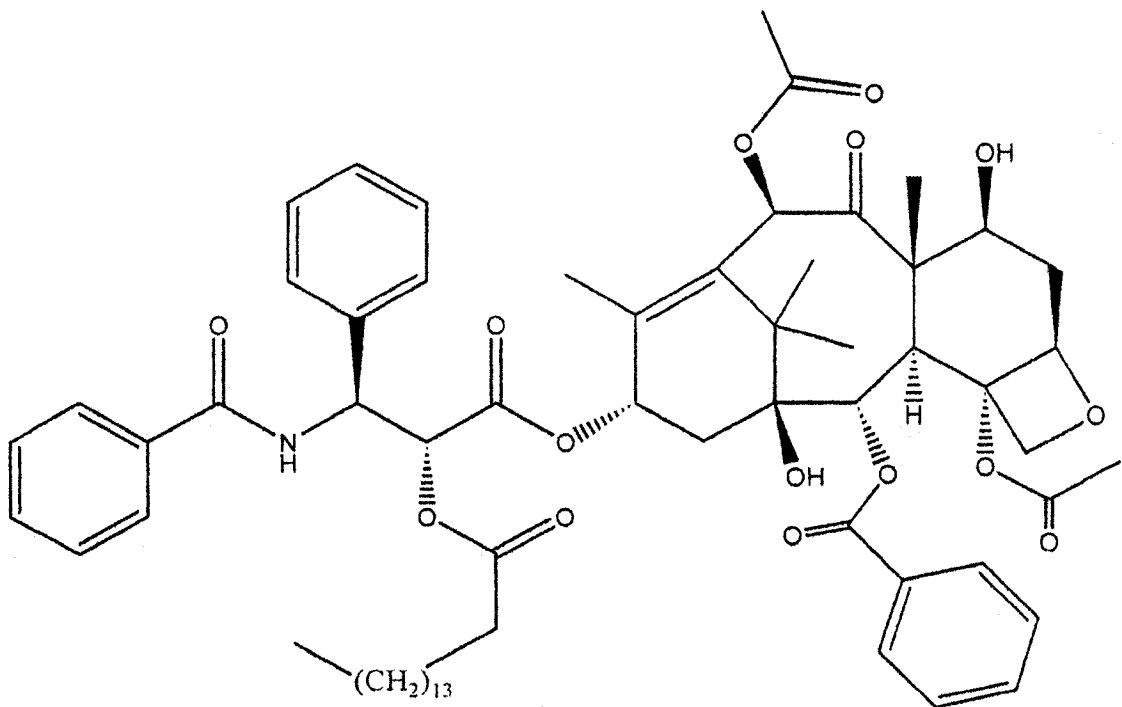


图 8

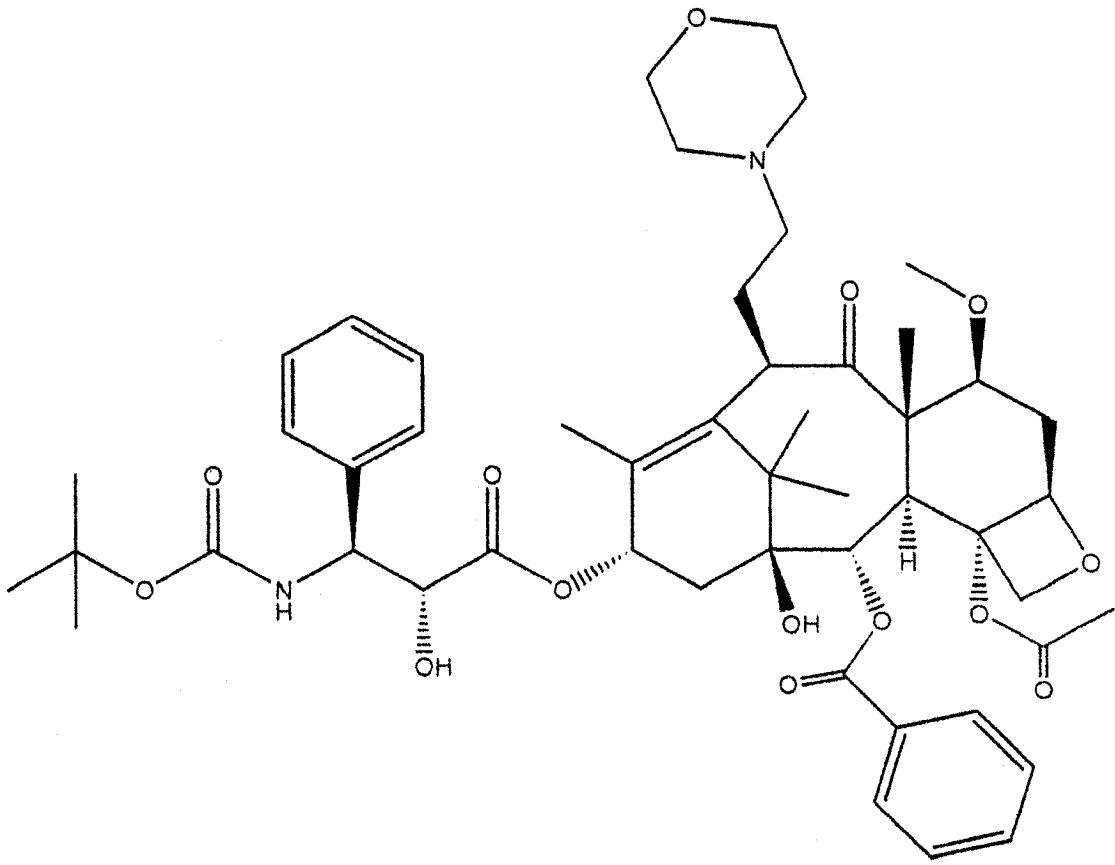


图 9

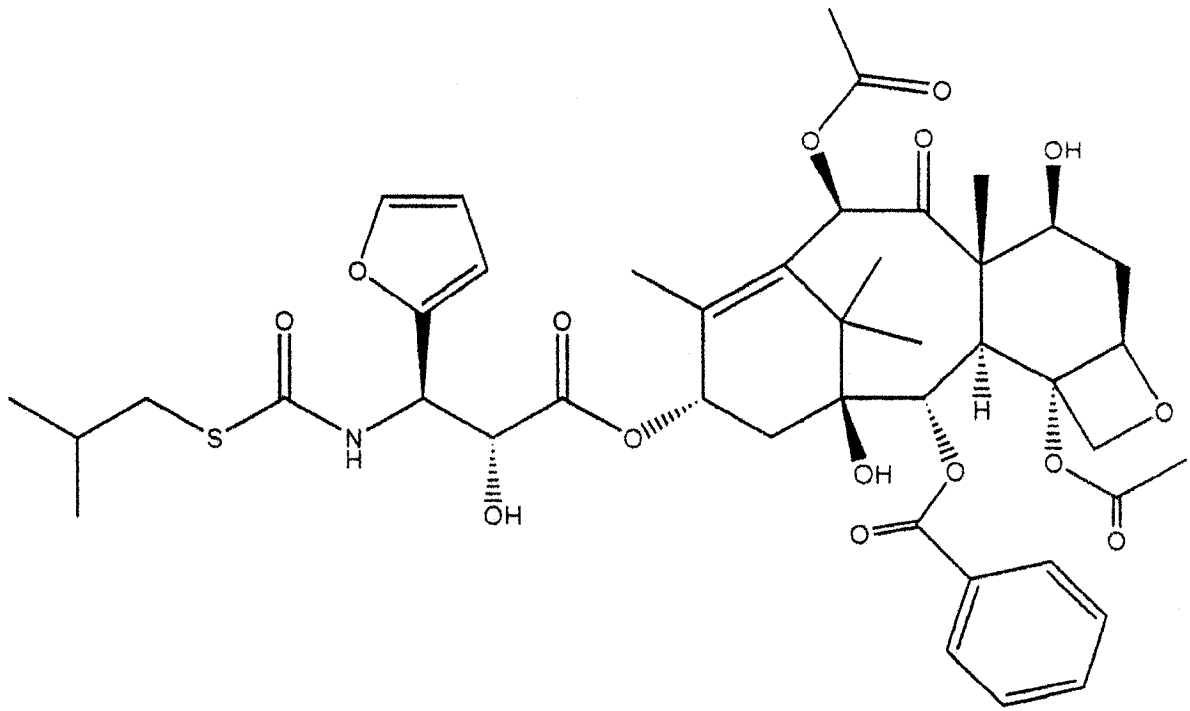


图 10

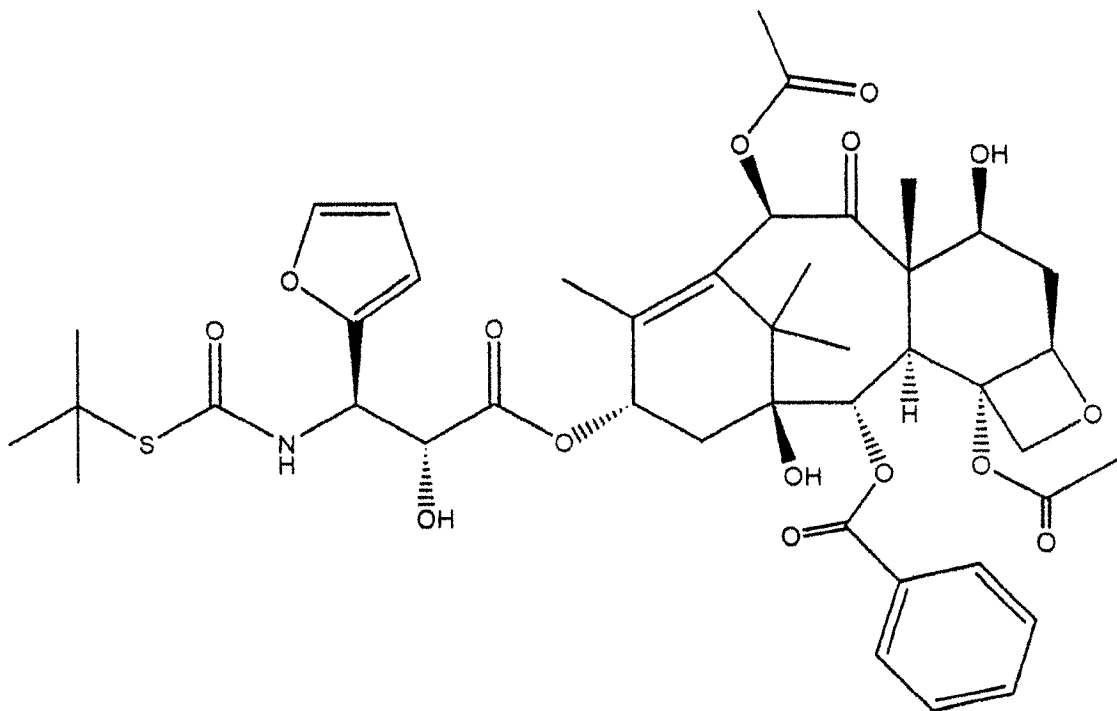


图 11

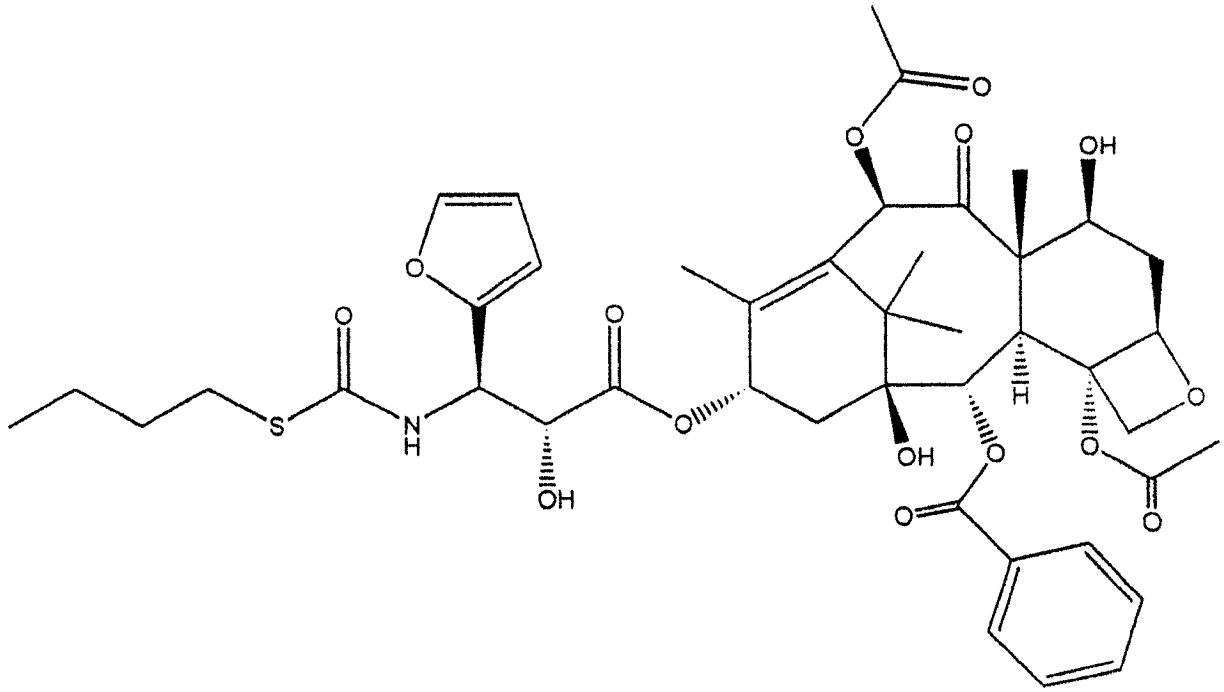


图 12

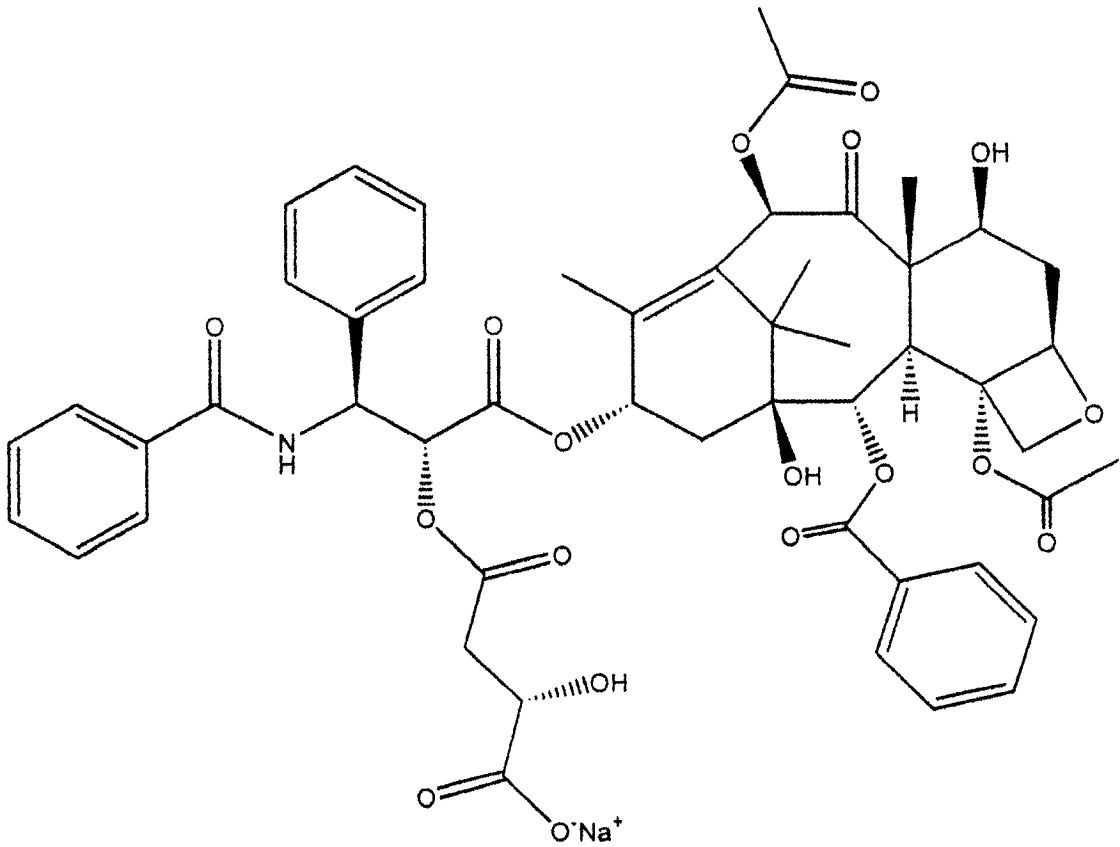


图 13

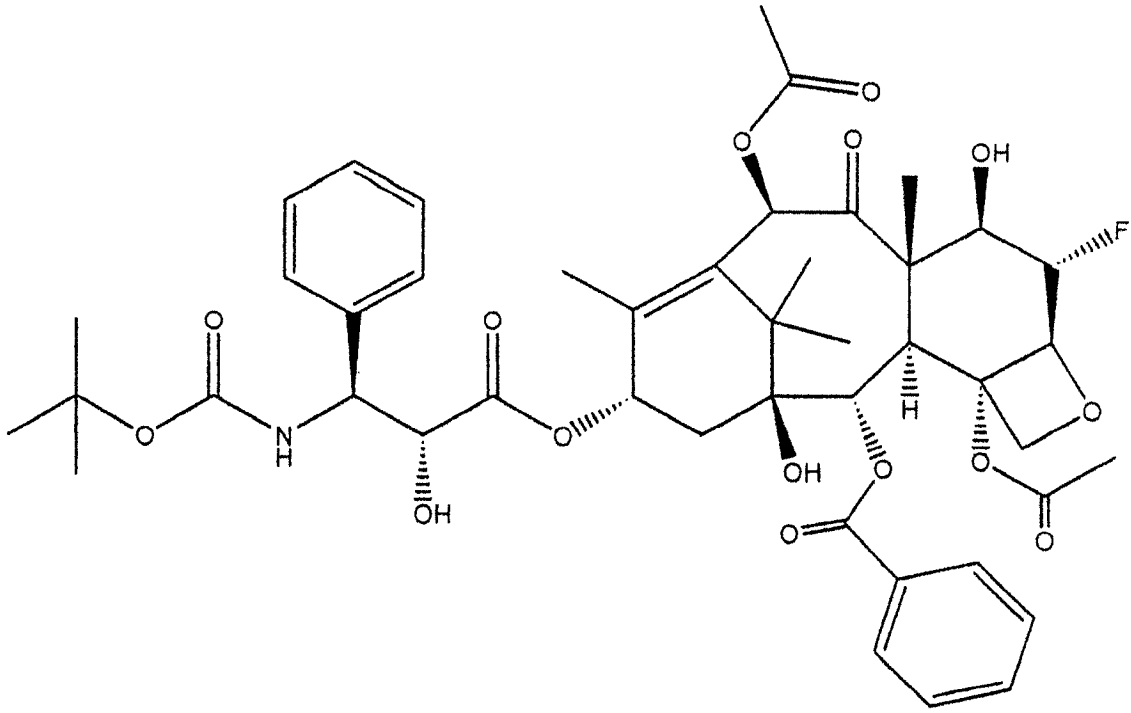


图 14

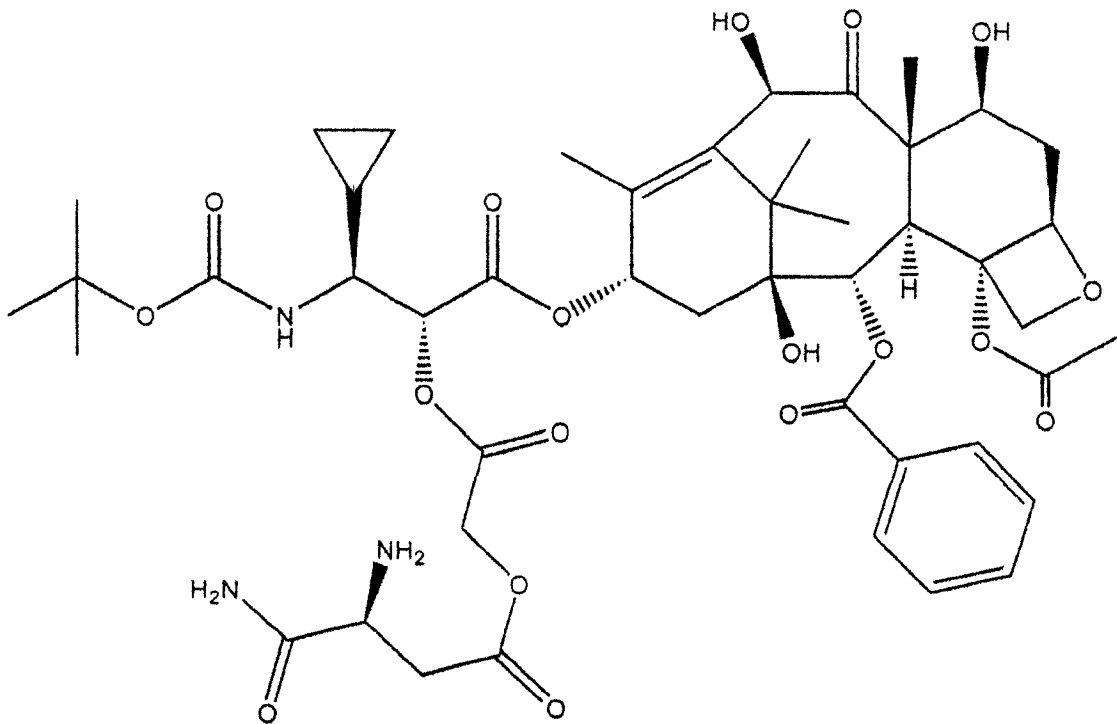


图 15

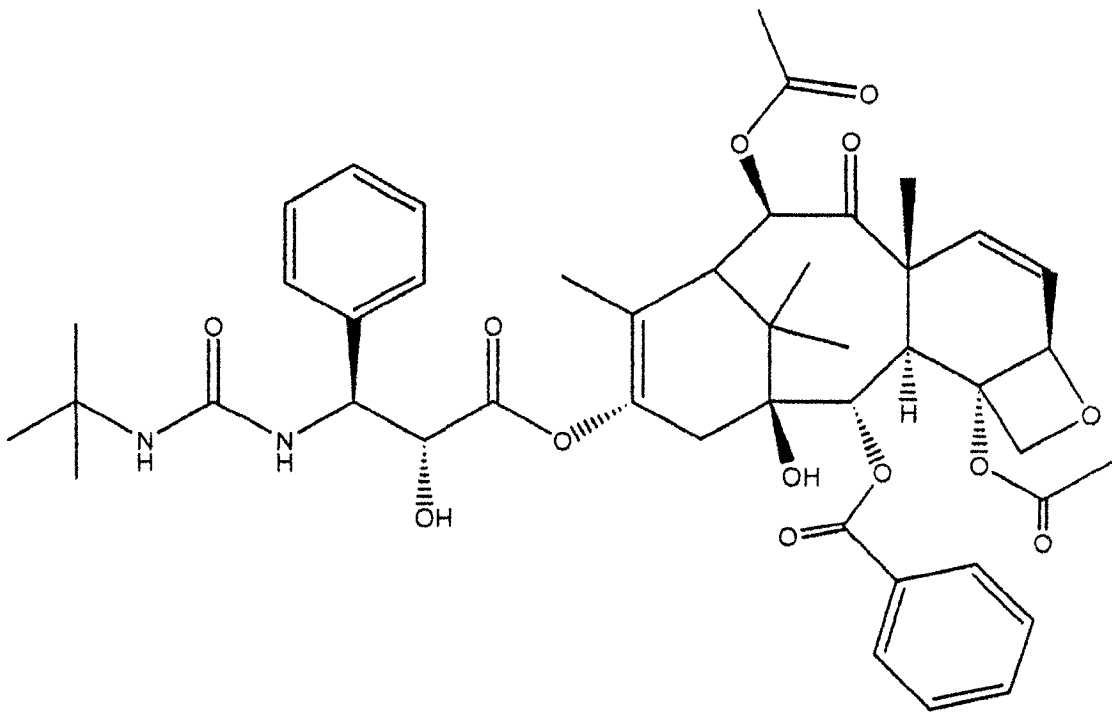


图 16

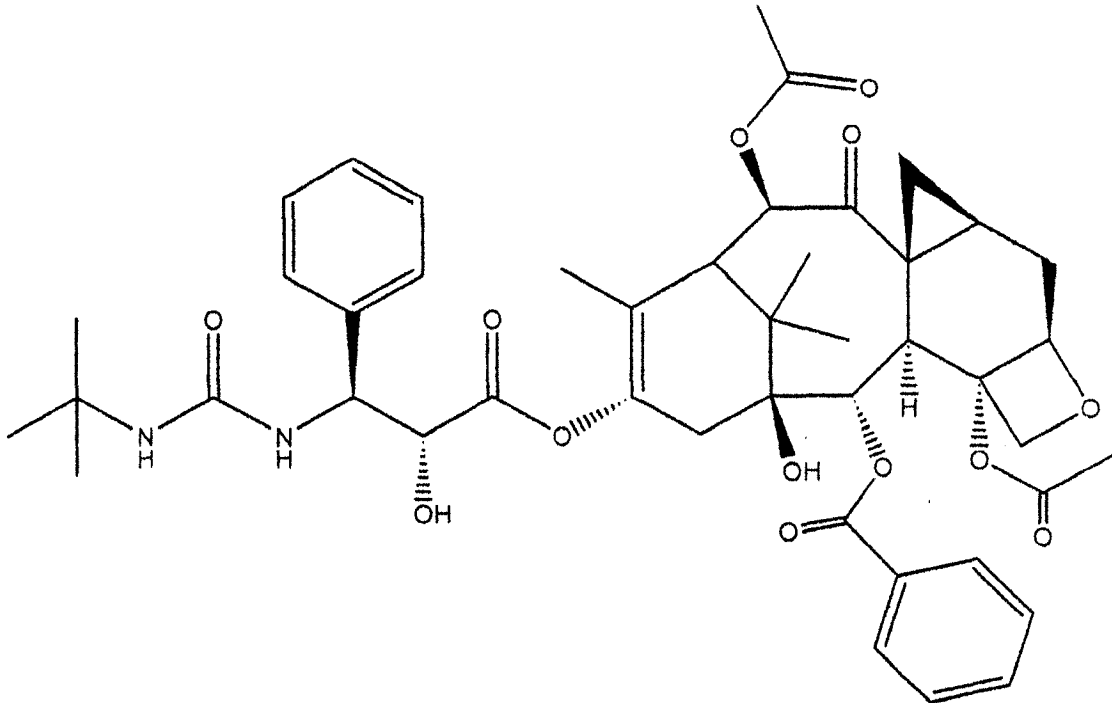


图 17

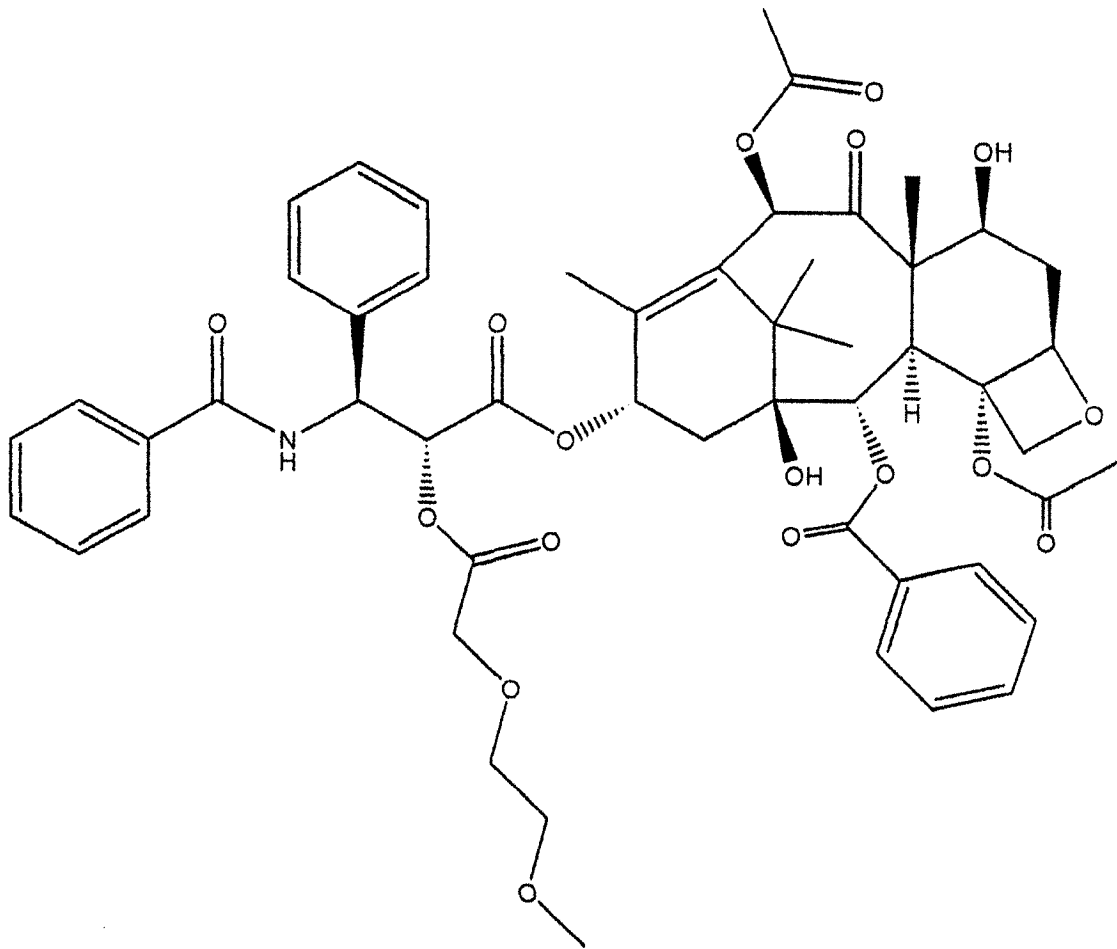


图 18

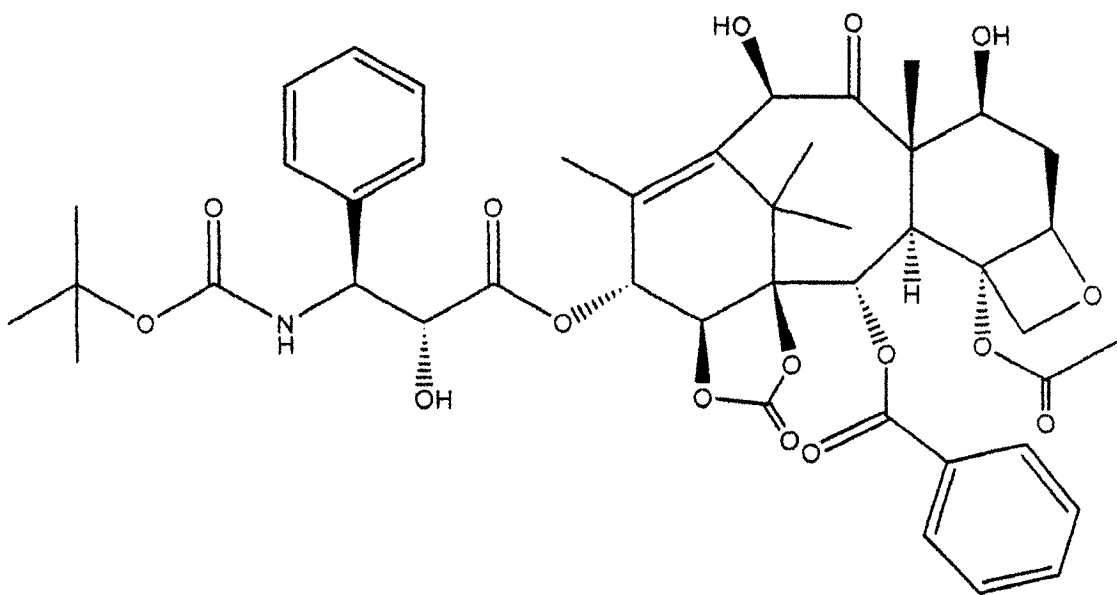


图 19

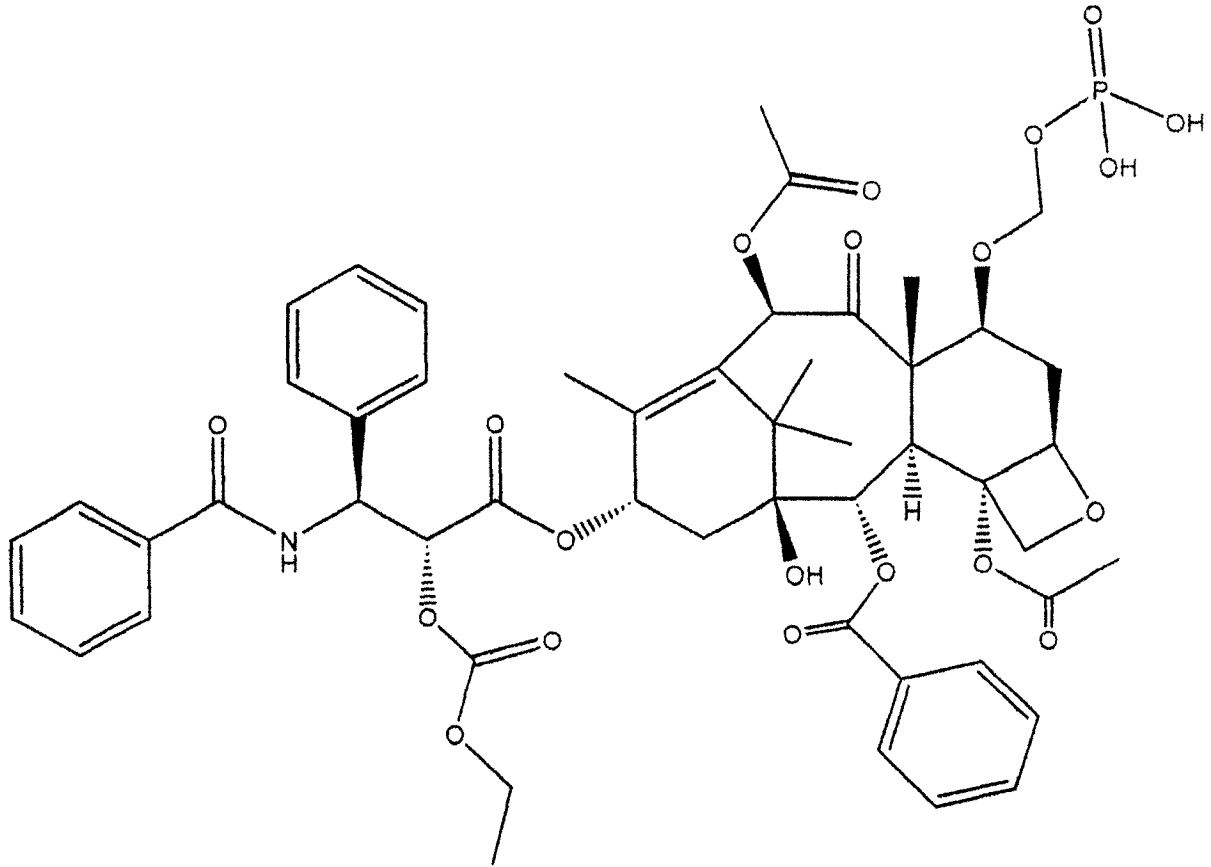


图 20

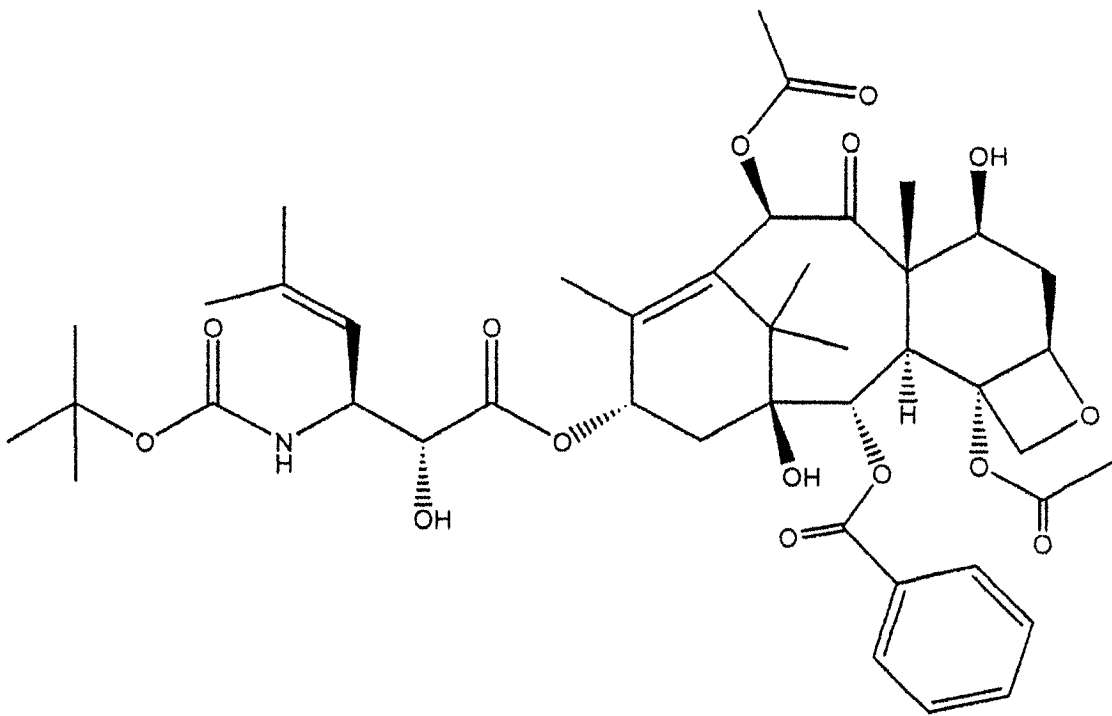


图 21

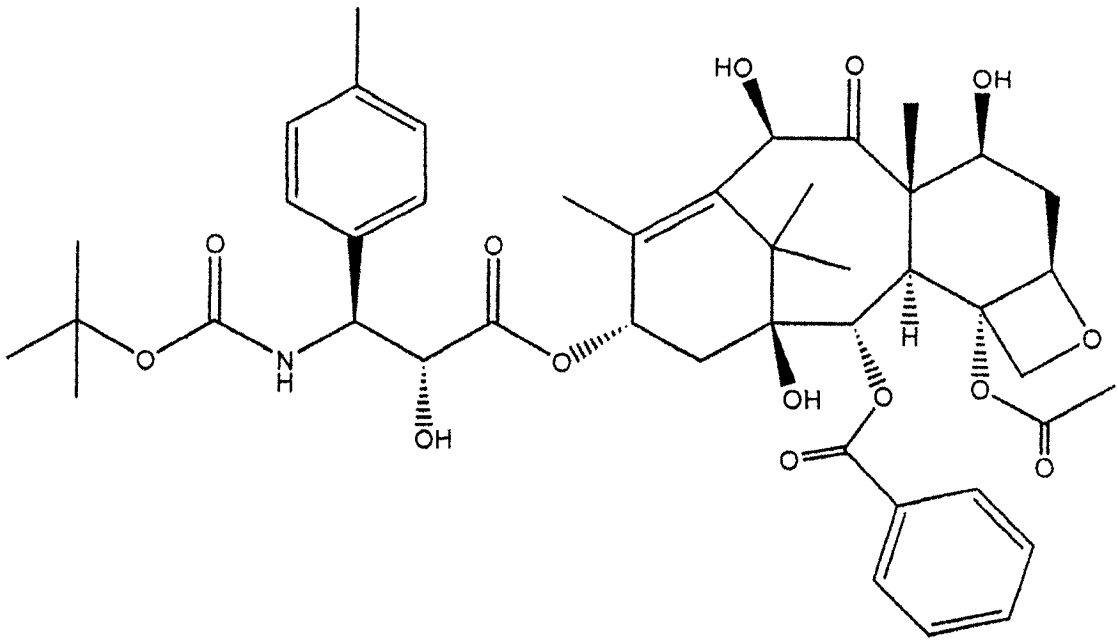


图 22

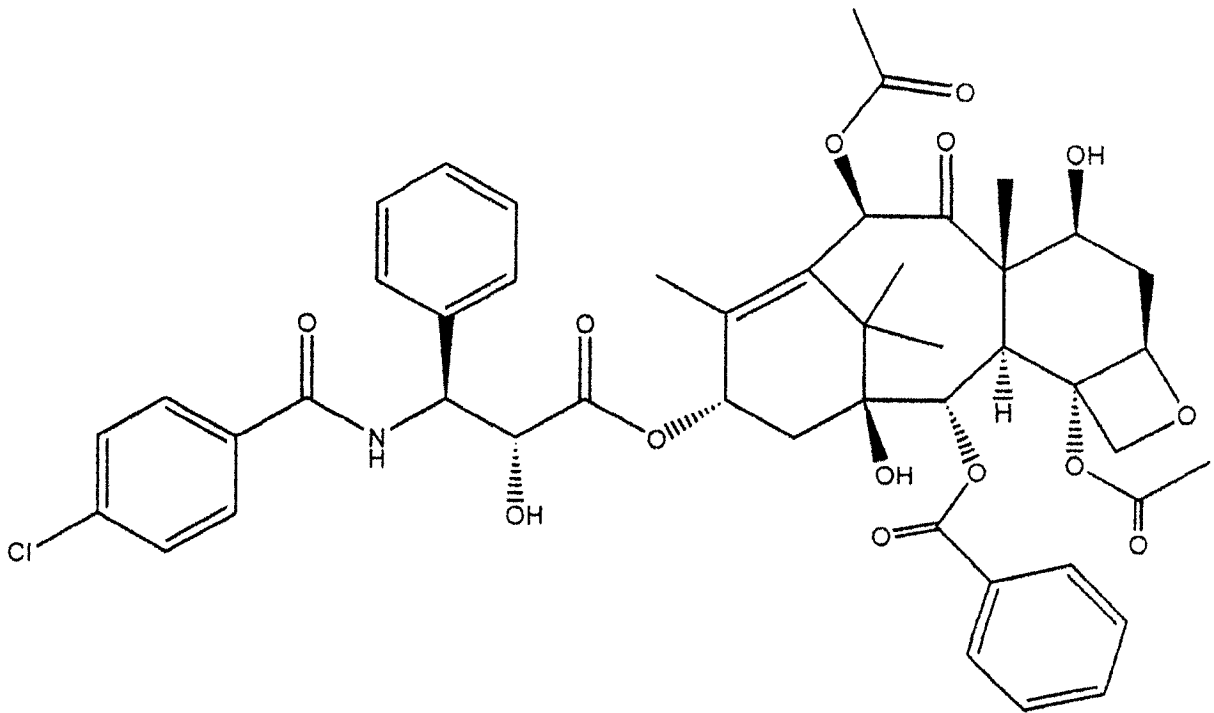


图 23

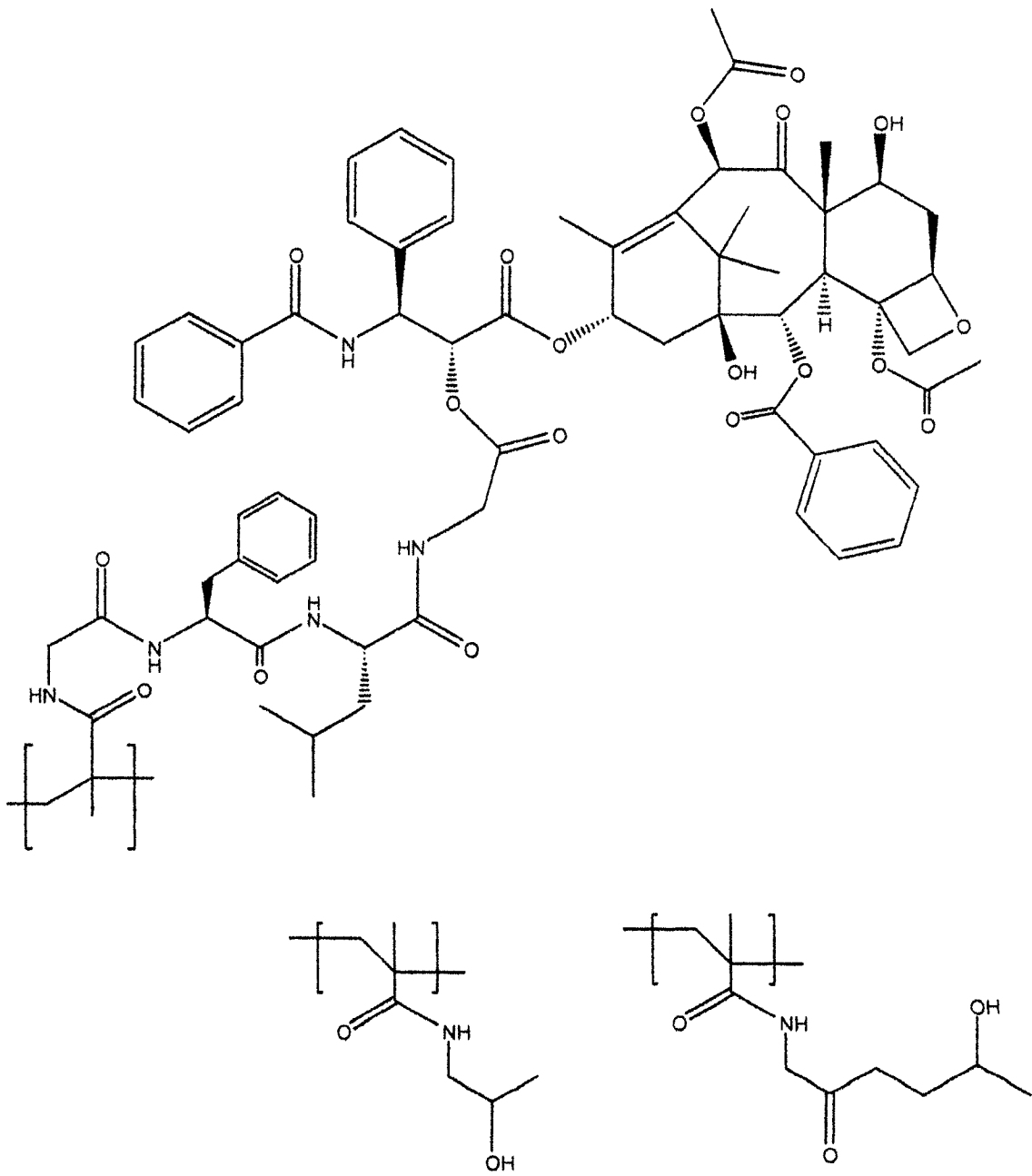


图 24

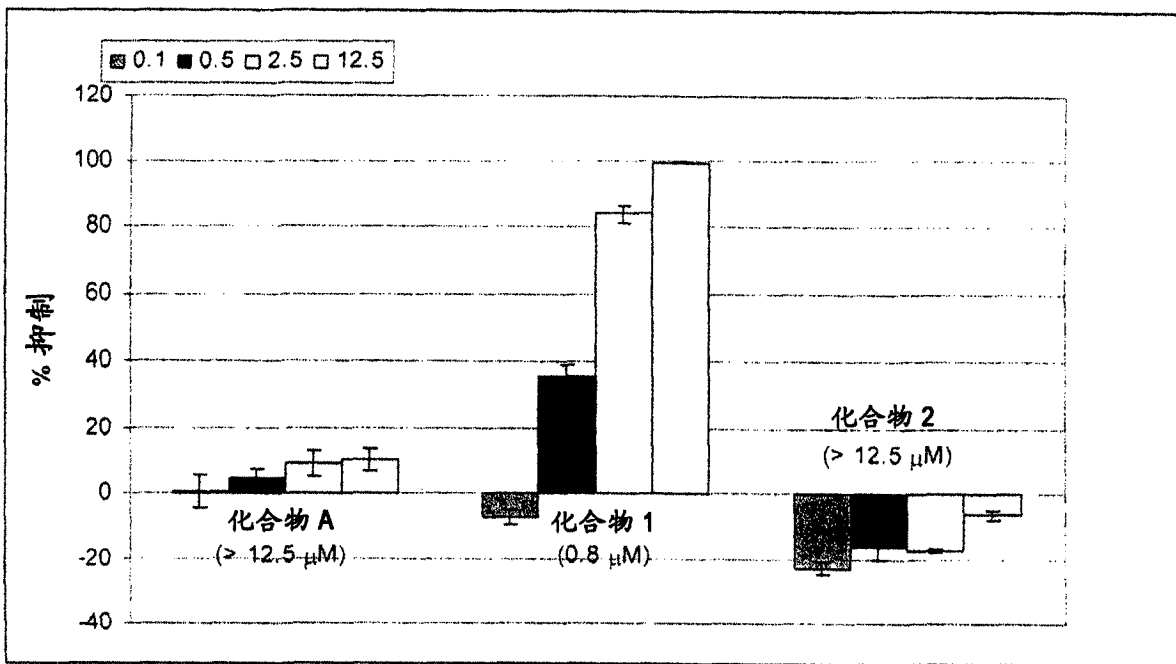


图 25

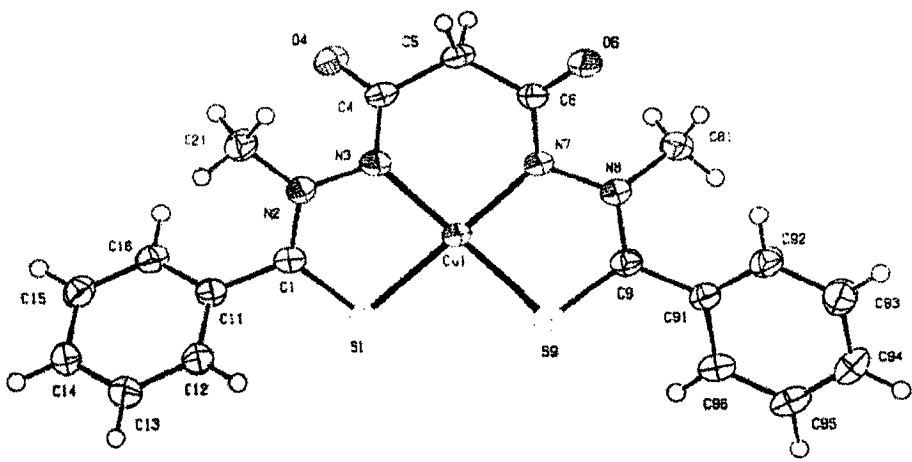


图 26