I409069

公告本

發明專利說明書

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號： 97123154

※ 申請日期： 97.6.20 ※IPC 分類： A61K31/4745 (2006.01)
C07D471/06 (2006.01)
A61P35/00 (2006.01)

一、發明名稱：（中文/英文）

吡咯啶酮、吡咯啶-2,5-二酮、吡咯啶及硫代琥珀醯亞胺之衍生物，供治療癌症用之組成物及方法

PYRROLIDINONE, PYRROLIDINE-2, 5-DIONE, PYRROLIDINE AND THIOSUCCINIMIDE DERIVATIVES, COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATMENT OF CANCER

二、申請人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

阿奎爾股份有限公司 / ARQULE, INC.

代表人：（中文/英文）

徐揚 / XU, YANG

住居所或營業所地址：（中文/英文）

美國麻州渥本・普瑞希登瑟道 19 號

19 Presidential Way, Woburn, MA 01801, U.S.A.

國　籍：（中文/英文）

美國 / U.S.A.

三、發明人：（共 6 人）

姓　名：（中文/英文）

1. 王建強 / WANG, JIANQIANG
2. 阿利　塞德 M. / ALI, SYED M.
3. 凱勒赫　尤金 / KELLEHER, EUGENE
4. 劉彥彬 / LIU, YANBIN
5. 希爾　傑森 / HILL, JASON
6. 亞西威爾　馬克 A. / ASHWELL, MARK A.

[5]

國　籍：(中文/英文)

1. 中國 / CHINA
2. 印度 / INDIA
3. 愛爾蘭 / IRELAND
4. 中國 / CHINA
5. 英國 / ENGLAND
6. 英國 / ENGLAND

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其事實發生日期為：。

☑ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號　順序註記】

☑ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國、　2007/06/22、　60/945,834

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號　順序註記】

☑ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料　【格式請依：寄存機構、日期、號碼　順序註記】

國外生物材料　【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼　順序註記】

☑ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

本發明係關於吡咯啶-2-酮、吡咯啶-2,5-二酮、吡咯啶及硫代琥珀醯亞胺化合物及此等化合物之製備方法。本發明亦係關於包含吡咯啶-2-酮、吡咯啶-2,5-二酮、吡咯啶及硫代琥珀醯亞胺化合物之藥學組成物。本發明提供經由對有需要之個體投予治療有效量之本發明化合物或吡咯啶-2-酮、吡咯啶-2,5-二酮、吡咯啶及硫代琥珀醯亞胺化合物用以治療細胞增殖病症諸如癌症之方法。

六、英文發明摘要：

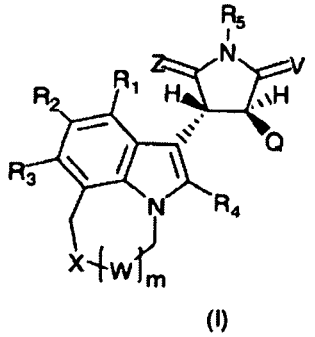
The present invention relates to pyrrolidin-2-one, pyrrolidin-2,5-dione, pyrrolidine and thiosuccinimide compounds, and methods of preparation of these compounds. The present invention also relates to pharmaceutical compositions comprising pyrrolidin-2-one, pyrrolidin-2,5-dione, pyrrolidine and thiosuccinimide compounds. The present invention provides methods of treating a cell proliferative disorder, such as a cancer, by administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of a compound of pyrrolidin-2-one, pyrrolidin-2,5-dione, pyrrolidine and thiosuccinimide compound of the present invention.

七、指定代表圖：

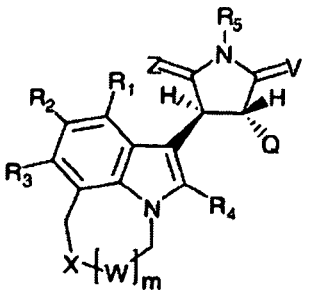
(一)本案指定代表圖為：第（　　）圖。（無）

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

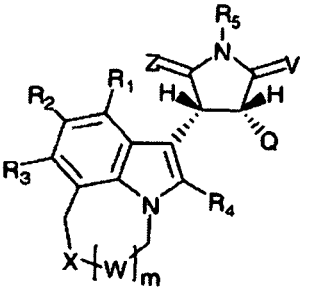
八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



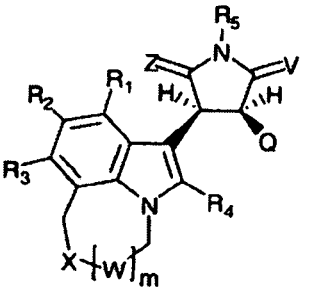
(I)



(II)



(III)



(IV)

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

相關申請案之交互參照

本案請求美國臨時專利申請案第60/945,834號，申請日2007年6月22日之權益，該案全文以引用方式併入此處。

本發明係為一種吡咯啶酮、吡咯啶-2,5-二酮、吡咯啶及硫代琥珀醯亞胺之衍生物，供治療癌症用之組成物及方法。

【先前技術】

發明背景

癌症為全美第二大死因，僅次於心臟病(癌症事實與數據2004，美國癌症學會公司)。儘管晚近於癌症之診斷及治療方面有進展，若能早期發現癌症則手術及放射性治療可能治癒癌症，但目前用於轉移癌症之藥物治療大部分為姑息療法，罕見提供長期痊癒。即使有新穎化學治療進入市場，但仍然持續需要有可有效單獨用於治療，或組合現有藥劑用作為第一線治療，以及用於抗藥性腫瘤的治療上，作為第二線及第三線治療之新穎藥物。

癌細胞就定義上為異質性。舉例言之，於單一組織或單一細胞類型中，多項突變「機轉」可能導致癌症的發生。如此異質性經常存在於源自於不同個體，取自相同組織及相同細胞類別之腫瘤之癌細胞間。經常觀察得與若干癌症相關聯之突變「機轉」，於不同組織類別間可能不同(例如導致大腸癌之常見突變「機轉」可能與導致血癌之常見突

變「機轉」不同)。因此經常難以預測某一種特定癌症是否將對特定化學治療劑有反應(癌症藥物，第5版，Bast等人編輯，B.C.戴克公司(B.C. Decker Inc)，安大略省漢明頓)。

乳癌為女性最常被診斷的非皮膚癌症，於女性的癌症死因中排名第二，僅次於肺癌(癌症事實與數據2004，美國癌症學會公司)。目前用於乳癌之治療選項包括手術、放射性治療、及使用諸如塔莫西芬(tamoxifen)、芳香化酶抑制劑、賀癌停(HERCEPTIN) (塔吐祖馬(trastuzumab))、塔克索(TAXOL) (太平洋紫杉醇(paclitaxel))、環磷醯胺(cyclophosphamide)、胺甲喋呤(methotrexate)、朵索魯賓辛(doxorubicin) (阿黴素(adriamycin))及5-氟尿嘧啶等藥劑之化學治療/激素治療。儘管於癌症之診斷及治療上的進步，自1980年以來乳癌發生率持續升高。2004年預期女性約出現215,000個新乳癌病例，及男性預期約發生1,450個新乳癌病例。如此，需要有用於治療乳癌之新穎化合物及新穎方法。

調節正常細胞之生長與分化之細胞信號轉導徑路之各組分失調時，可能導致細胞增殖病症及癌症的發生。細胞發訊蛋白質突變，可能造成此等蛋白質於細胞週期之不適當層面或於不適當時間變成表現或活化，其又可能導致細胞-細胞附接性質之未經控制的細胞生長或改變。舉例言之，經由突變、基因重排、基因擴增、及受體與配體二者之過度表現造成受體酪胺酸激酶之失調可能導致人類癌症的發生及進行。

c-Met受體酪胺酸激酶為肝細胞生長因子(HGF) (也稱作為散佈因子)之唯一已知的高度親和力受體。HGF結合至c-Met胞外配體結合功能部位，導致受體之倍增及c-Met胞內部分多個酪胺酸殘基之磷酸化。c-Met之活化導致配接子蛋白質諸如Gab-1、Grb-2、Shc、及c-Cbl之結合及磷酸化，以及隨後導致信號轉導子諸如PI3K、PLC-γ、STATs、ERK1及2及FAK之活化。c-Met及HGF於多種組織表現，其表現通常主要係侷限於上皮及間葉來源之細胞。於人類癌症中c-Met及HGF失調，促成細胞生長失調、腫瘤細胞的散播以及疾病進行與轉移期間的腫瘤入侵(例如參考臨床研究期刊109：863-867(2002)及癌細胞5-6頁2004年7月)。於多種癌症c-Met及HGF相較於周圍組織高度表現，而其表現與病人預後不良有交互關聯(例如參考細胞生物化學期刊86：665-677 (2002)；國際癌症期刊(Pred.Oncol.) 74：301-309 (1997)；臨床癌症研究9：1480-1488 (2003)；及癌症研究62：589-596 (2002))。不欲受理論所限，c-Met及HGF可保護腫瘤對抗由DNA損傷劑所誘發之細胞死亡，如此可能促成腫瘤之化學抗性及放射線抗性。不欲受任何理論所限，c-Met抑制劑可用於增殖病症包括乳癌之治療上作為治療劑(例如參考癌症與轉移綜論22：309-325 (2003))。

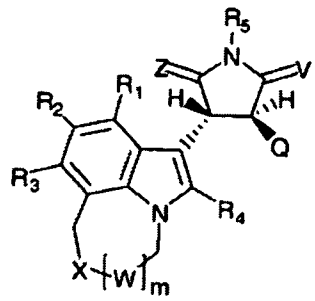
WO 2006/086484揭示吡咯-2,5-二酮化合物及吡咯啶-2,5-二酮化合物及此等化合物之製備方法。該等化合物可選擇性抑制c-Met之活性且可用於治療細胞增殖病症諸如癌症。需要發展更多種用於癌症治療之c-Met抑制劑。

此處引用之參考文獻絕非承認該等文獻為本案所請發明之先前技術。

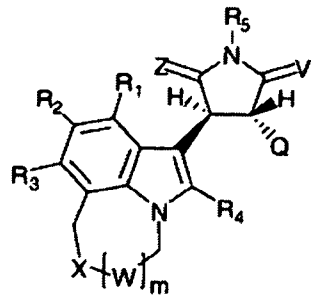
【發明內容】

發明概要

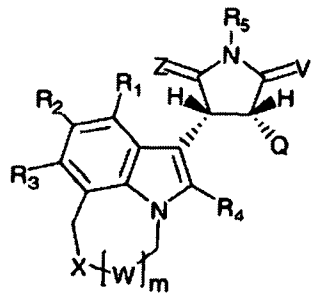
本發明提供一種式I、II、III、或IV之化合物或其藥學上可接受之鹽：



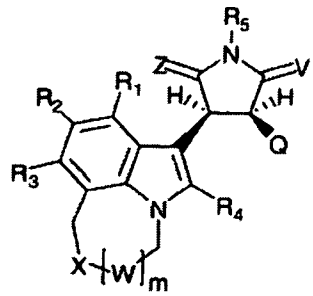
(I)



(II)



(III)



(IV)

其中：

R1、R2及R3分別係選自於由H、F、Cl、Br、I、-NR7R8、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-O-(C_3-C_9)環烷基、及-O-(C_3-C_9)經取代之環烷基、芳基、雜芳基、及雜環基所組成之組群；

R4為選自於H、-(C_1-C_4)烷基、及-(C_1-C_4)經取代之烷基所組成之組群；

R5係選自於由H、-(C_1-C_6)烷基、-CH_2R6、-CONHR9、-COR10及-SO_2R11所組成之組群；

R6係選自於由-O-P(=O)($OH)_2$、-O-P(=O)(-OH)(-O-(C_1-C_6)烷基)、-O-P(=O)(-O-(-(C_1-C_6)烷基)$_2$、-O-P(=O)(-OH)(-O-(CH_2)-苯基)、-O-P(=O)(-O-(CH_2)-苯基)$_2$、羧酸基、胺基羧酸基、及胜肽所組成之組群；

R7及R8分別係選自由H及-(C_1-C_6)烷基所組成之組群；

R9、R10、及R11係選自於H、NHR12、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、芳基、雜芳基、及雜環基所組成之組群；

Q係選自於由吲哚基、經取代之吲哚基、芳基、雜芳基、雜環基、及烷基所組成之組群；

V及Z分別係選自於由O、S及H_2所組成之組群；當V及Z皆為O時，R4為-(C_1-C_4)烷基或-(C_1-C_4)經取代之烷基；當Z及V非為H_2時，R5為H、-(C_1-C_6)烷基、或-CH_2R6；

X係選自於由-CH_2-、-NR12、S、O、及鍵結所組成之組群；

R12係選自於由H、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-C(=O)-O-(C_1-C_6)烷基、及-C(=O)-O-(C_1-C_6)經取代之烷基所組成之組群；

W係選自於由-CH_2-、CO及鍵結所組成之組群；

m為0、1或2。

於一個實施例中，Q為吲哚基或經以選自於下列所組成

之組群中之一個或多個取代基所取代之吲哚基：F、Cl、Br、I、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經氟取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經氟取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-O-(C_1-C_6)經氟取代之烷基、-O-(C_3-C_9)環烷基、及-O-(C_3-C_9)經氟取代之環烷基、-芳基、-O-芳基、-O-(C_1-C_4)烷基-芳基、-O-(C_1-C_4)烷基-雜環基、及-S(=O)$_2$-(C_1-C_6)烷基。

於一個實施例中，V為O及Z為O、S或H_2；當Z為O時，R4為-(C_1-C_4)烷基或-(C_1-C_4)經取代之烷基。於另一個實施例中，V為S及Z為O或H_2。於又一個實施例中，V為H_2及Z為O、S或H_2。

於一個實施例中，W為-CH_2-。於又一個實施例中，m為1。於又另一個實施例中，X為鍵結。

於一個實施例中，R5為H。

本發明也提供一種藥學組成物包含如申請專利範圍第1項定義之式I、II、III、或IV之化合物或其藥學上可接受之鹽連同一種或多種藥學上可接受之載劑或賦形劑。於一個實施例中，藥學組成物進一步包含第二化學治療劑。

本發明進一步提供一種治療細胞增殖病症之方法，該方法包含對一有需要之個體投予治療有效量之如申請專利範圍第1項定義之式I、II、III、或IV之化合物或其藥學上可接受之鹽或其前驅藥或其代謝物，組合藥學上可接受之載劑，其中該細胞增殖病症接受治療。

於一個實施例中，細胞增殖病症為癌前病變或癌症。於又一個實施例中，該癌症係選自於由肺癌、大腸癌、乳

癌、胰癌、攝護腺癌、慢性骨髓性白血病、骨髓癌及卵巢癌所組成之組群。

於一個實施例中，式I、II、III、或IV化合物或其藥學上可接受之鹽或其前驅藥或代謝物係與第二化學治療劑組合投予。

於一個實施例中，治療癌症包含腫瘤大小的縮小或轉移癌細胞入侵之抑制或二者。

於一個實施例中，患有增殖病症之細胞含有編碼c-Met之DNA。於又一個實施例中，該細胞具有組成性加強之c-Met活性。

本發明之其它特徵及優點由本文提供之額外說明包括不同實例將更為彰顯。所提供之實例舉例說明可用於實施本發明之不同組分及方法。該等實例並非限制本案所請之發明。基於本揭示，熟諳技藝人士可識別及採用用於實施本發明之其它組分及方法。

圖式簡單說明

第1A圖顯示藉met siRAN帶有及未帶有ZvAD-FMK凋亡蛋白酶(caspase)抑制作用用於HT29細胞抑制c-Met徑路之效果。

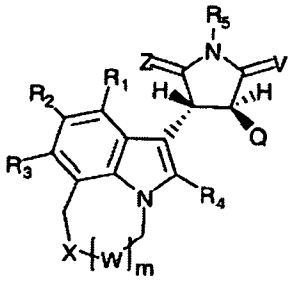
第1B圖顯示met siRAN用於HT29細胞中之GAPDH及c-Met擊倒之效果。

【實施方式】

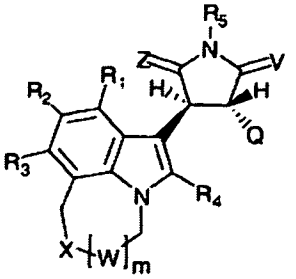
較佳實施例之詳細說明

1.吡咯啶-2-酮、吡咯啶-2,5-二酮、吡咯啶及硫代琥珀醯亞胺

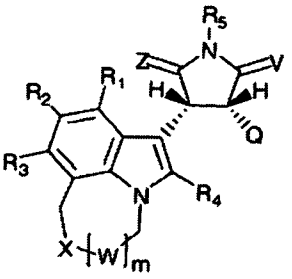
本發明提供式I、II、III、或IV化合物之吡咯啶-2-酮、吡咯啶-2,5-二酮、吡咯啶及硫代琥珀醯亞胺化合物及式I、II、III、或IV化合物之製備方法。



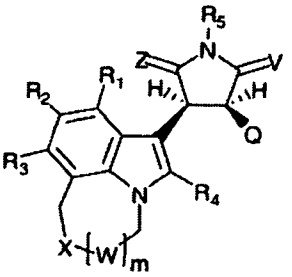
(I)



(II)



(III)



(IV)

其中：

R1、R2及R3分別係選自於由H、F、Cl、Br、I、-NR7R8、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-O-(C_3-C_9)環烷基、及-O-(C_3-C_9)經取代之環烷基、芳基、雜芳基、及雜環基所組成之組群；

R4為選自於H、-(C_1-C_4)烷基、及-(C_1-C_4)經取代之烷基所組成之組群；

R5係選自於由H、-(C_1-C_6)烷基、-CH_2R6、-CONHR9、-COR10及-SO_2R11所組成之組群；

R6係選自於由-O-P(=O)($OH)_2$、-O-P(=O)(-OH)(-O-(C_1-C_6)烷基)、-O-P(=O)(-O-(-(C_1-C_6)烷基$)_2$、

-O-P(=O)(-OH)(-O-(CH_2)- 苯基)、-O-P(=O)(-O-(CH_2)- 苯基)$_2$、羧酸基、胺基羧酸基、及胜肽所組成之組群；

R7及R8分別係選自由H及-(C_1-C_6)烷基所組成之組群；

R9、R10、及R11係選自於H、NHR12、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、芳基、雜芳基、及雜環基所組成之組群；

Q係選自於由吲哚基、經取代之吲哚基、芳基、雜芳基、雜環基、及烷基所組成之組群；

V及Z分別係選自於由O、S及H_2所組成之組群；當V及Z皆為O時，R4為-(C_1-C_4)烷基或-(C_1-C_4)經取代之烷基；當Z及V非為H_2時，R5為H、-(C_1-C_6)烷基、或-CH_2R6；

X係選自於由-CH_2-、-NR12、S、O、及鍵結所組成之組群；

R12係選自於由H、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-C(=O)-O-(C_1-C_6)烷基、及-C(=O)-O-(C_1-C_6)經取代之烷基所組成之組群；

W係選自於由-CH_2-、CO及鍵結所組成之組群；

m為0、1或2。

於一個實施例中，V為O及Z為O、S或H_2；當Z為O時，R4為-(C_1-C_4)烷基或-(C_1-C_4)經取代之烷基。

於一個實施例中，V為S及Z為O或H_2。

於一個實施例中，V為H_2及Z為O、S或H_2。

於一個實施例中，W為-CH_2-。於又一個實施例中，m

為1。於又另一個實施例中，X為鍵結。

於一個實施例中，R5為H。

於一個實施例中，本發明化合物係選自於由4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮、(3R,4R)-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮、(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮、(±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮、(3R,4R)-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-5-硫酮基-吡咯啶-2-酮、(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-5-硫酮基-吡咯啶-2-酮、1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉、(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸乙醯胺、1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-1-(丙-2-磺醯基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉、及環丁基-[(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-基]-甲酮、(±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(3-三氟甲基-苯基)-吡咯啶-2-酮、(±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(3-甲氧基-苯基)-吡咯啶-2-酮、1-[(3R,4R)-1-苯磺醯基-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉、及1-[(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]

喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-基]-3,3-二甲基-丁-1-酮所組成之組群。

「烷基」一詞係指含有碳及氫而不含不飽和度之基團。烷基可為直鏈或分支。烷基基團之實例包括但非限於甲基、乙基、丙基、異丙基、己基、第三丁基、第二丁基等。烷基可以範圍表示，如此例如(C_1-C_6)烷基為直鏈或分支烷基主鏈中含1至6個碳原子之烷基。經取代之及未經取代之烷基可分別為(C_1-C_5)烷基、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_{10})烷基、(C_3-C_{10})烷基、或(C_5-C_{10})烷基。除非明白陳述，否則「烷基」一詞不包括「環烷基」。

「環烷基」係指於該「環部分」具有所指示之碳原子數目之環狀烷基，其中該「環部分」可含有一個或多個呈稠合環、螺環、或橋接環結構之環結構。例如，C3至C6環烷基(例如(C_3-C_6)環烷基)為環中含3至6個碳原子之環結構。當未舉出範圍時，則環烷基於環部分含有3至9個碳原子((C_3-C_9)環烷基)。環烷基之實例包括但非限於環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、及金剛烷基。較佳環烷基於環結構中具有3、4、5、6、7、8、9、或由3至9個碳原子。

「經取代之烷基」及「經取代之環烷基」等詞係指經以分別係選自於由氟、芳基、雜芳基、-O-(C_1-C_6)烷基、及-NR7R8 (此處R7及R8分別係選自於由氫及-(C_1-C_6)烷基所組成之組群)所組成之組群中之一個或多個取代基取代之如前文所定義之烷基及環烷基。

「芳基」一詞係指具有1、2、或3個芳香環之芳香族碳環基。芳基之實例包括但非限於苯基、萘基等。芳基包括與一個或多個含4-9成員之額外非芳香族碳環系環或雜環系環稠合之1、2、或3個芳香環。經稠合之芳基之實例包括苯并環丁基、四氫茚基、四氫萘基、1,2,3,4-四氫菲基、四氫蒽基、1,4-二氫-1,4-甲撐萘基、苯并二噁呃基。

「雜芳基」一詞係指具有1、2、或3個芳香環而於芳香環中含有1-4個雜原子(包括氮、硫、或氧)之雜芳香族基(雜芳基)。雜芳基包括含1-4個雜原子之1、2、或3個芳香環結構稠合一個或多個含4-9個成員之額外非芳香環。於芳香環中含有單一類雜原子之雜芳基係以其所含之雜原子類別標示，如此，含氮雜芳基、含氧雜芳基、及含硫雜芳基分別表示含有一個或多個氮、氧或硫原子之雜芳香族基。雜芳基之實例包括但非限於吡啶基、嘧啶基、三唑基、喹啉基、喹唑啉基、噻唑基、苯并[b]噻吩基、呋喃基、咪唑基、吲哚基等。

「雜環基」或「雜環」等詞係指飽和或未飽和安定的非芳香環結構，其可經稠合、螺接或橋接而形成額外的環。各雜環包含一個或多個碳原子及選自於由氮、氧及硫所組成之組群之1個至4個雜原子。「雜環基」或「雜環」包括安定的非芳香族3-7員單環雜環系環結構及8-11員二環雜環系環結構。雜環基基團可附接於任何環內碳原子或氮原子結果導致穩定結構之形成。較佳雜環包括3-7員單環雜環(更佳為5-7員單環雜環)及8-10員雙環雜環。此等基團之實例包括

哌啶基、哌啡基、哌喃基、吡咯啶基、味啉基、硫味啉基、酮基哌啶基、酮基吡咯啶基、酮基吖呼基、吖呼基、異噁唑基、四氫哌喃基、四氫呋喃基、二噁吩基、二噁啡基、噁噻吩基、二噻吩基、四亞甲碸基、二噁烊基、二噁陳基、四氫呋喃并二氫呋喃基、四氫哌喃并二氫呋喃基、二氫哌喃基、四氫呋喃并呋喃基、四氫哌喃并呋喃基、哢啶基(1-吖二環[2.2.2]辛基)及托哔基(tropanyl) (8-甲基-8-吖二環[3.2.1]辛基)。

「吲哚基」或「經取代之吲哚基」等詞係指吲哚基或經以選自於下列所組成之組群中之一個或多個取代基所取代之吲哚基：F、Cl、Br、I、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經氟取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經氟取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-O-(C_1-C_6)經氟取代之烷基、-O-(C_3-C_9)環烷基、及-O-(C_3-C_9)經氟取代之環烷基、-芳基、-O-芳基、-O-(C_1-C_4)烷基-芳基、-O-(C_1-C_4)烷基-雜環基、及-S(=O)$_2$-(C_1-C_6)烷基。

用於R6取代基，「羧酸基」一詞係指-O-C(=O)-(C_1-C_6)烷基、-O-C(=O)-(C_3-C_9)環烷基、-O-C(=O)-芳基、-O-C(=O)-雜芳基、-O-C(=O)-雜環基、-O-C(=O)-(C_1-C_6)烷基-芳基、-O-C(=O)-(C_1-C_6)烷基-雜芳基、或-O-C(=O)-(C_1-C_6)烷基-雜環基形式之基團。包括於「羧酸基」為經以分別係選自於由下列所組成之組群中之一個或多個取代基所取代之-O-C(=O)-(C_1-C_6)烷基、-O-C(=O)-(C_3-C_9)環烷基、-O-C(=O)-芳基、-O-C(=O)-雜芳基、-O-C(=O)-雜環基、-O-C(=O)-(C_1-C_6)

烷基-芳基、-O-C(=O)-(C_1-C_6)烷基-雜芳基、或-O-C(=O)-(C_1-C_6)烷基-雜環基形式之基團：F、Cl、Br、I、-OH、-SH、-NR5'R6'、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-O-(C_1-C_6)經取代之烷基、-S-(C_1-C_6)烷基、-O-(C_3-C_9)環烷基、-O-(C_3-C_9)經取代之環烷基、-芳基、-O-芳基、-O-(C_1-C_4)烷基-芳基、雜芳基、雜環基、-O-(C_1-C_4)烷基-雜環基、-($S(=O)_2$)-(C_1-C_6)烷基、-NH-C(=NH)-NH_2(亦即胍基)、-COOH、及-C(=O)-NR5'R6'，此處R5'及R6'分別係選自於由氫及-(C_1-C_6)烷基所組成之組群。此外，用於R6取代基，「胺基羧酸基」一詞係指一種羧酸基，包括經以前述取代基中之一者或多者取代之羧酸基，其帶有一個或多個分別選擇之-NR5'R6'形式之胺基，此處R5'及R6'分別係選自於由氫及(C_1-C_6)烷基所組成之組群。

於本發明之一個實施例中，R6為α胺基酸或亞胺基酸，包括但非限於丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬酸、半胱胺酸、麩胺、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、蛋胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸、纈胺酸或其立體異構物或其外消旋混合物。於本發明之另一個實施例中，R6為選自於由L-丙胺酸、L-精胺酸、L-天冬醯胺、L-天冬酸、L-半胱胺酸、L-麩胺、L-麩胺酸、L-甘胺酸、L-組胺酸、L-異白胺酸、L-白胺酸、L-離胺酸、L-蛋胺酸、L-苯丙胺酸、L-脯胺酸、L-絲胺酸、L-蘇胺酸、L-色胺酸、L-酪胺酸、L-纈胺酸所組

成之組群中之α胺基酸或亞胺基酸。

用於R6取代基，「胜肽」一詞係指二胜肽、三胜肽、四胜肽或五胜肽，其當水解時分別可釋放2、3、4、或5個胺基酸或亞胺基酸(例如脯胺酸)。用於R6，胜肽係經由酯鍵聯而鏈接至分子之其餘部分。於一個實施例中，R6之胜肽包含α胺基酸或亞胺基酸，包括但非限於丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬酸、半胱胺酸、麩胺、麩胺酸、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、蛋胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸、纈胺酸或其立體異構物或其外消旋混合物；及於本實施例之更佳版本中，涉及酯鍵聯之羧基為胜肽之羧基端COOH基而與支鏈羧基相對。於本發明之另一個實施例中，R6為選自於由L-丙胺酸、L-精胺酸、L-天冬醯胺、L-天冬酸、L-半胱胺酸、L-麩胺、L-麩胺酸、L-甘胺酸、L-組胺酸、L-異白胺酸、L-白胺酸、L-離胺酸、L-蛋胺酸、L-苯丙胺酸、L-脯胺酸、L-絲胺酸、L-蘇胺酸、L-色胺酸、L-酪胺酸、L-纈胺酸所組成之組群中之α胺基酸或亞胺基酸；以及於本較佳實施例之更佳版本中，涉及酯鍵聯之羧基為胜肽之羧基端COOH基而與支鏈羧基相對。

預期涵蓋全部本發明化合物之立體異構物無論係呈混合物或呈純質形式或實質上純質形式，包括外消旋混合物之結晶形式及個別異構物之結晶形式。根據本發明化合物之定義涵蓋全部可能之立體異構物(例如各個非對稱中心之R及S組態)及其混合物。極為特別涵蓋具有特定活性之外

消旋形式及經單離之光學異構物。外消旋形式可藉物理方法作光學分割，例如分段結晶、非對映異構物衍生物之分離或結晶、藉對掌管柱層析術分離或超臨界流體層析術。個別光學異構物可藉習知方法例如使用旋光性酸形成鹽接著結晶而由外消旋物獲得。此外，全部幾何異構物，諸如於雙鍵之E及Z組態除非另行陳述否則皆屬於本發明之範圍。本發明之若干化合物係呈互變異構形式。全部此等化合物之互變異構形式除非另行陳述否則皆屬本發明之範圍。本發明也包括一種或多種類似物或衍生物之區域異構混合物。

如此處使用，「鹽」一詞為藥學上可接受之鹽，可包括酸加成鹽包括氫氯酸鹽、氫溴酸鹽、磷酸鹽、硫酸鹽、硫酸氫鹽、烷基硫酸鹽、芳基硫酸鹽、乙酸鹽、苯甲酸鹽、檸檬酸鹽、順丁烯二酸鹽、反丁烯二酸鹽、琥珀酸鹽、乳酸鹽、及酒石酸鹽；鹼金屬陽離子諸如Na^+、K^+、Li^+、鹼土金屬鹽諸如諸如Mg或Ca或有機胺鹽。

如此處使用，「代謝物」一詞係指本發明化合物之代謝產物或其藥學上可接受之鹽、類似物或衍生物其於活體內具有類似於本發明化合物之活性。

如此處使用，「前驅藥」一詞表示共價鏈接至一個或多個前驅部分諸如胺基酸部分或其它水溶性部分之本發明化合物。本發明化合物可藉由水解、氧化、及/或催化釋放機轉而由前驅部分釋放。於一個實施例中，本發明之前驅藥組成物具有水中溶解度提高、安定性改良、及藥力學輪廓

資料改進等額外優點。前驅部分可經選擇來獲得期望之前驅藥特性。例如前驅部分例如胺基酸部分或其它水溶性部分諸如R5內部之磷酸根可基於溶解度、安定性、生物利用性、及/或活體內遞送或吸收而選用。

2.吡咯啶-2-酮、吡咯啶及硫代琥珀醯亞胺之合成

有機分子之製備及官能能轉換與操縱包括保護基之使用之標準合成方法及程序可得自相關科學參考文獻或得自業界之標準參考教科書。雖然並非限於任何來源或若干來源，已經確認之有機合成參考教科書包括：Smith, M. B.；March，J.March先進有機化學：反應、機轉及結構，第5版，約翰威利父子公司：紐約，2001年；及Greene, T.W.；Wuts, P.G. M.有機合成保護基，第3版；約翰威利父子公司：紐約，1999年。後文合成方法之說明係設計用於舉例說明但非限制本發明化合物之大致製備程序。

本發明提供式I、II、III、或IV化合物之吡咯啶-2-酮、吡咯啶及硫代琥珀醯亞胺化合物。

2.1. 式I、II、III、或IV化合物此處Z及V不可皆為O或H_2之製備之大致程序

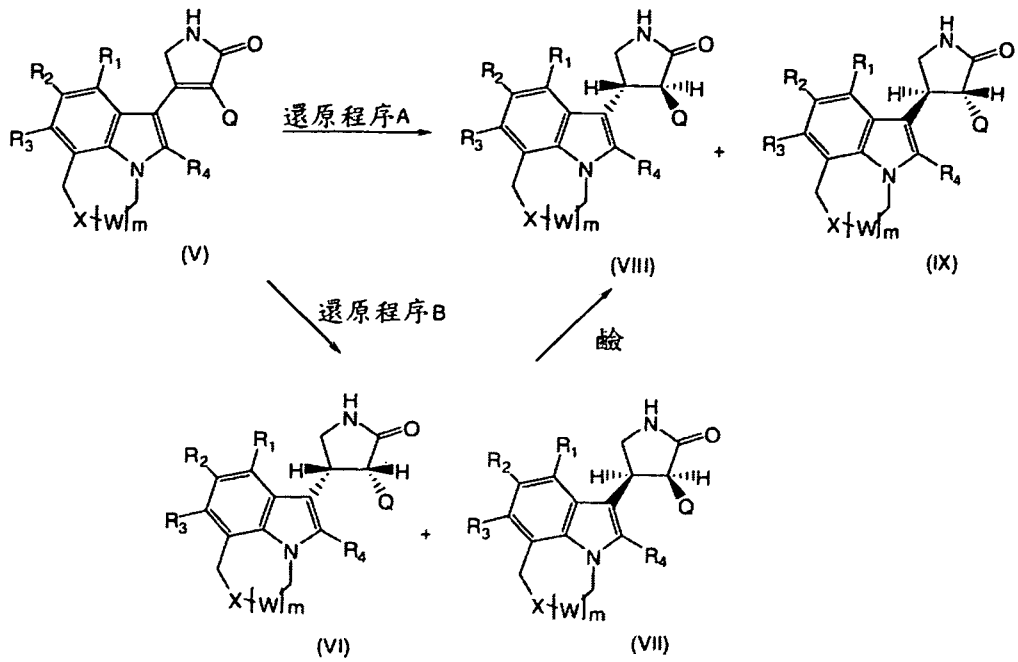
式I、II、III、或IV化合物此處Z及V不可皆為O或H_2之製備可藉式V或X化合物之還原以反應圖1及2而達成。

2.1.1 由式V化合物製備式VI、VII、VIII、IX化合物

式V化合物還原成式VI、VII、VIII及IX化合物可使用多種程序進行，該等程序諸如但非限於以金屬於醇還原(還原程序A)、催化氫化(還原程序B)、或催化氫化(還原程序

B)接著為以鹼異構化藉反應圖1進行。

反應圖1



還原程序A

式V化合物可還原成式VIII及IX化合物，係經由與適當還原金屬諸如但非限於鈉、鈣或鎂於適當無水溶劑諸如但非限於甲醇、乙醇、正丙醇及異丙醇，於由50℃至混合物沸點之溫度，於惰性氣氛下反應0.5至12小時進行。時間及溫度二者可依據所使用之化合物上存在的特定取代基而變更。於一個特定實施例中，反應使用鎂金屬於甲醇回流約6小時，如實例1、步驟10所述。

還原程序B

式V化合物可還原成式VI及VII化合物，係經由以貴金屬催化劑諸如氧化鉑、鈀/碳、銠或銥於至少1大氣壓氫氣

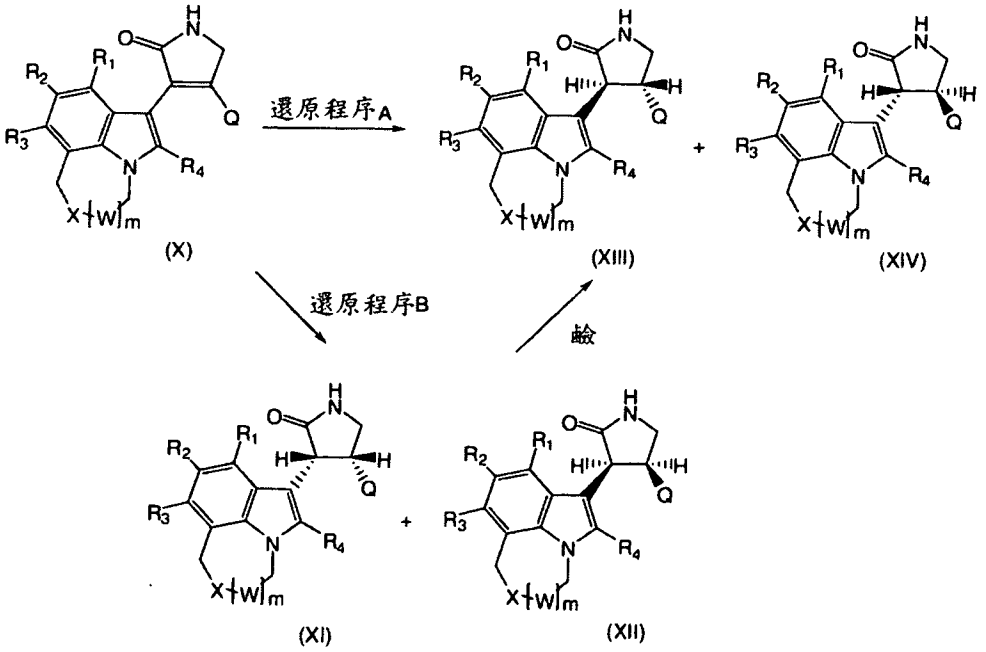
下，於適當溶劑諸如但非限於乙醇、甲醇、四氫呋喃(THF)或N,N-二甲基甲醯胺(DMF)，於20-100℃範圍之溫度經歷1-48小時進行催化氫化。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式VIII及IX化合物也可經由式VI及VII化合物之異構化而製備，係經由使用適當鹼諸如但非限於第三丁氧化鉀、氫氧化鉀或甲氧化鈉於適當溶劑諸如但非限於THF、第三丁醇或DMF，於由周圍溫度至混合物之沸點範圍之溫度歷1-48小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

2.1.2 由式X化合物製備式XI、XII、XIII、XIV化合物

反應圖2中由式X化合物製備式XI、XII、XIII及XIV化合物可使用2.1.1章節說明之大致程序完成。

反應圖2

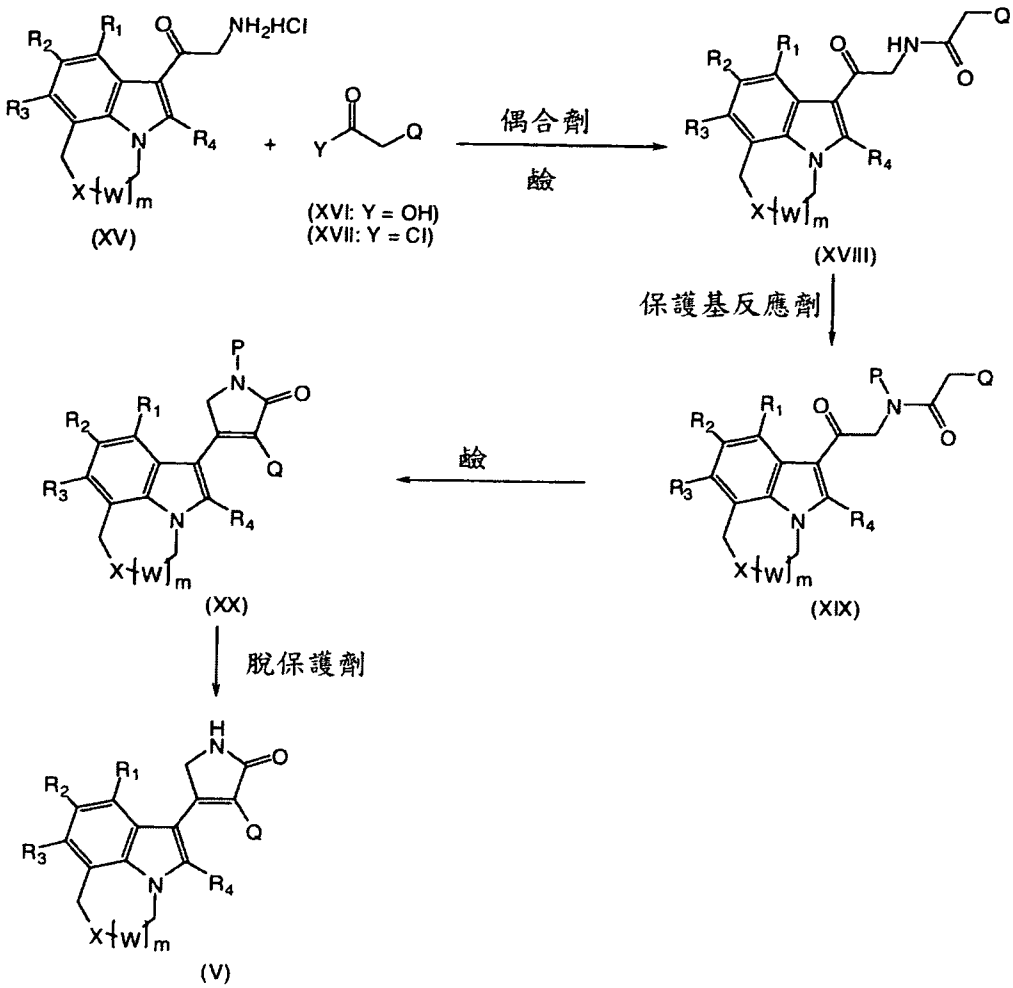


2.1.3. 由式XV化合物製備式V化合物

式V化合物可由式XV化合物製備，係經由式XV化合物與式XVI或XVII之酸或醯氯偶合，接著如反應圖3所示保護、使用鹼環化及脫保護進行，此處P為保護基。

式XV化合物與式XVI或XVII酸或醯氯偶合而製造式XVIII化合物可於任一種適當無水溶劑諸如但非限於THF、二氯甲烷(DCM)、1,2-二氯乙烷(DCE)或DMF使用酸適當偶合劑諸如但非限於羰基二咪唑(CDI)、O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基茂鎓六氟磷酸鹽(HBTU)或二環己基甲二醯亞胺(DCC)其視需要使用適當鹼諸如但非限於三乙基胺、二異丙基乙基胺(DIPEA)或吡啶，於0℃至100℃範圍之溫度歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

反應圖3



式XVIII化合物經保護來製造式XIX化合物可於任一種適當溶劑諸如但非限於THF、DCM或DMF，使用適當保護基諸如但非限於二碳酸二第三丁酯及若有所需，使用鹼諸如但非限於氫氧化鈉、碳酸氫鈉、4-二甲基胺基吡啶(DMAP)，於由0℃至60℃之溫度歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式XIX化合物環化而製造式XX化合物可於任一種適當無水溶劑諸如但非限於THF、DMF或N,N-二甲基甲醯胺(DMA)使用適當鹼諸如但非限於1,8-二吖二環[5.4.0]十一碳-7-烯(DBU)、氫化鈉、六甲基二矽胺烷鋰(LiHMDS)或第三丁氧化鉀(tBuOK)，於由-78℃至130℃範圍之溫度歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

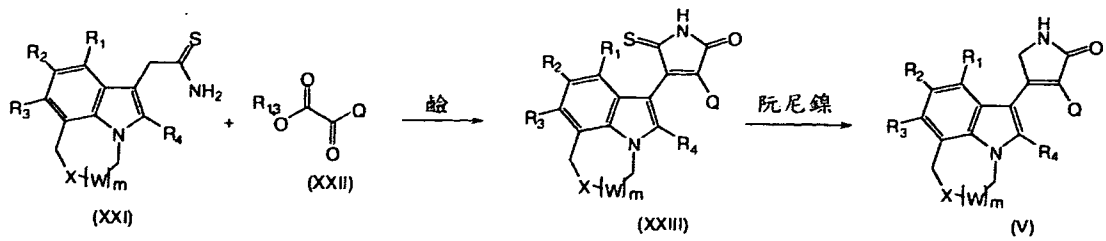
式XX化合物脫保護而製造式V化合物可於任一種適當溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷、DCM、甲醇、DMF或DMA，使用適當脫保護基諸如但非限於三氟乙酸(TFA)、鹽酸或哌啶，於由0℃至50℃範圍之溫度歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

2.1.4 由式XXI化合物製備式V化合物

式V化合物可得自式XXI化合物，經由式XXI化合物與式XXII酮基酯此處R13為(C_1-C_4)烷基縮合而形成式XXIII化合物，接著遵照反應圖4去除硫羰基進行。

式XXI化合物與式XXII酮基酯之縮合而形成式XXIII化合物可於任一種適當無水溶劑諸如但非限於THF或乙醚，於適當鹼諸如但非限於氫化鈉、LiHMDS或tBuOK存在下，於由-78℃至25℃範圍之溫度歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

反應圖4

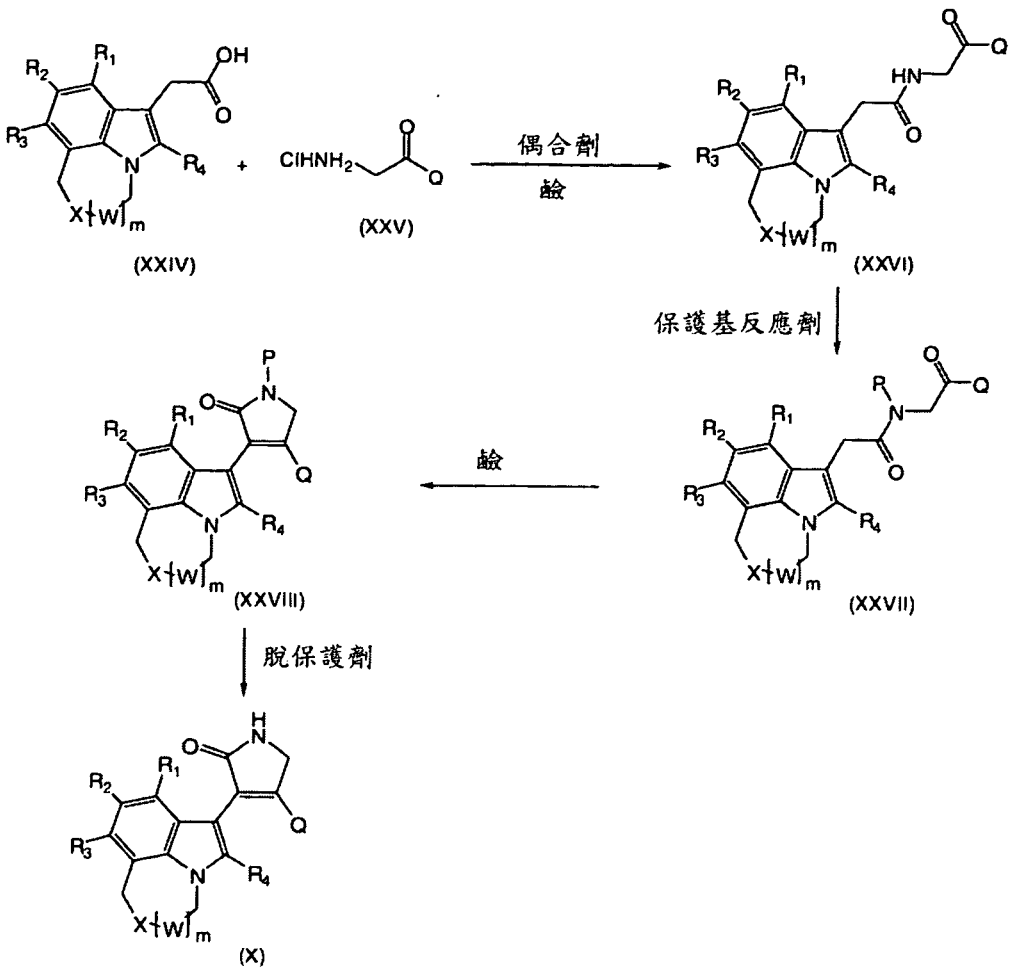


式XXIII化合物可轉成式V化合物，係經由與可移除硫羰基之還原劑諸如但非限於阮尼鎳，於適當溶劑諸如但非限於乙醇或甲醇，於由25℃至反應混合物之沸點之溫度反應歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

2.1.5 由式XXV化合物製備式X化合物

式X化合物可根據章節2.1.3反應圖5所述之大致程序而由式XXV化合物製備。

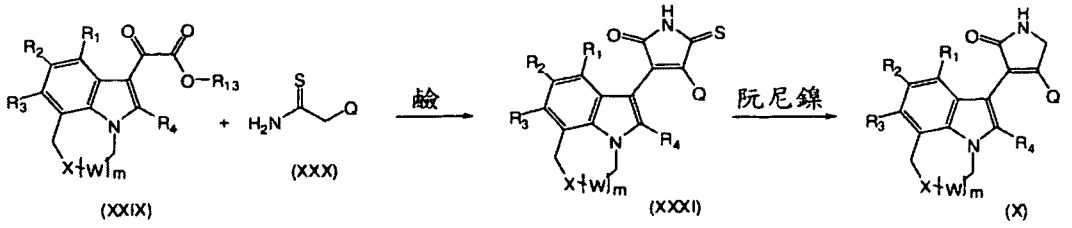
反應圖5



2.1.6 由式XXX化合物製備式X化合物

式X化合物可根據章節2.1.4反應圖6所述之大致程序而由式XXX化合物製備。

反應圖6



2.2 式I、II、III、或IV化合物此處Z及V不可皆為O或S及式I、II、III、或IV化合物此處Z及V不可皆為O或H_2之製備

式I、II、III、或IV化合物此處Z及V不可皆為O或S可如WO2006086484所述而由式XXXII-XXXV化合物製備，該反應係經由使用可將羰基轉成硫羰基之反應劑進行；以及式I、II、III、或IV化合物此處Z及V不可皆為O或H_2可經由遵照反應圖7去除硫羰基而由式XXXVI-XLIII化合物獲得。

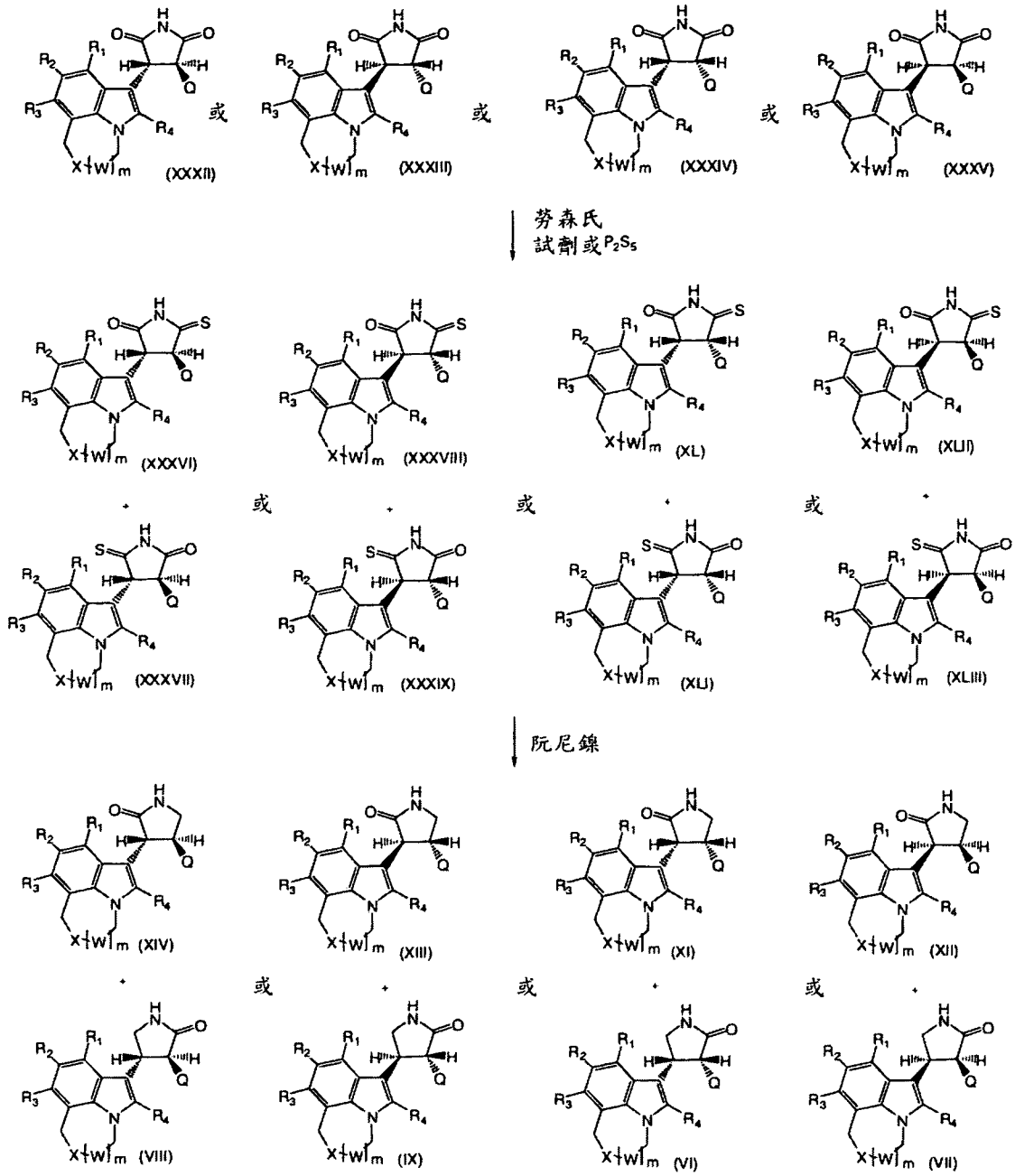
2.2.1 式XXXVI-XLIII化合物之製備

式XXXVI-XLIII化合物可由式XXXII-XXXV化合物製備，係經由使用可將羰基轉成硫羰基之試劑諸如但非限於勞森氏試劑(Lawesson's reagent)或五硫化磷於適當溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷或甲苯，於由25℃至反應混合物之沸點之溫度處理歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

2.2.2 由式XXXVI-XLIII化合物製備式VI-IX及XI-XIV化合物

由式XXXVI-XLIII化合物製備式VI-IX及XI-XIV化合物可經由與可移除硫羰基之還原劑諸如但非限於阮尼鎳，於適當溶劑諸如但非限於乙醇或甲醇，於由25℃至反應混合物之沸點之溫度反應歷0.5-24小時而達成。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

反應圖7



2.3 式I、II、III、或IV化合物此處Z及V皆為H_2之製備

經由遵照反應圖8，藉還原且隨後與異氰酸酯、酸或醯氯、磺醯氯或烷化劑反應，可由式XXXII、XXXIII、XXXIX、或XXXV化合物製備式I、II、III、或IV化合物此處Z及V皆

為H_2之製備。

2.3.1 由式XXXII-XXXV化合物製備式XLIV及XLVI化合物

式XLIV化合物可由式XXXII-XXXV化合物製備，係經由使用適當還原劑諸如但非限於氫化鋰鋁於適當溶劑諸如但非限於THF或1,4-二噁烷，於由25℃至反應混合物之沸點之溫度還原歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式XLVI化合物可由式XLIV化合物製備，係經由首先轉成式XLV化合物進行，經由使用適當保護劑諸如但非限於二碳酸二第三丁酯以及若有所需鹼諸如但非限於氫氧化鈉、碳酸氫鈉或DMAP於適當溶劑諸如但非限於THF、DMF或DCM，於由0℃至60℃範圍之溫度處理歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式XLV化合物可轉成式XLVI化合物，係經由使用適當脫保護劑諸如但非限於TFA、鹽酸或哌啶於適當溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷、DCM、甲醇、DMF或DMA，於由0℃至50℃範圍之溫度脫保護歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

2.3.2 式XLVII、XLVIII、XLIX及LX化合物之製備

式XLVII化合物可由式XLVI化合物製備，係經由與適當異氰酸酯諸如但非限於異氰酸乙酯、異氰酸環丙酯、異氰酸苯酯、異氰酸苄酯於適當溶劑諸如但非限於THF、1,4-

二噁烷、DCM、甲醇或DMF以及若有所需適當鹼諸如但非限於三乙基胺、DIPEA或哌啶，於由0℃至60℃範圍之溫度反應歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

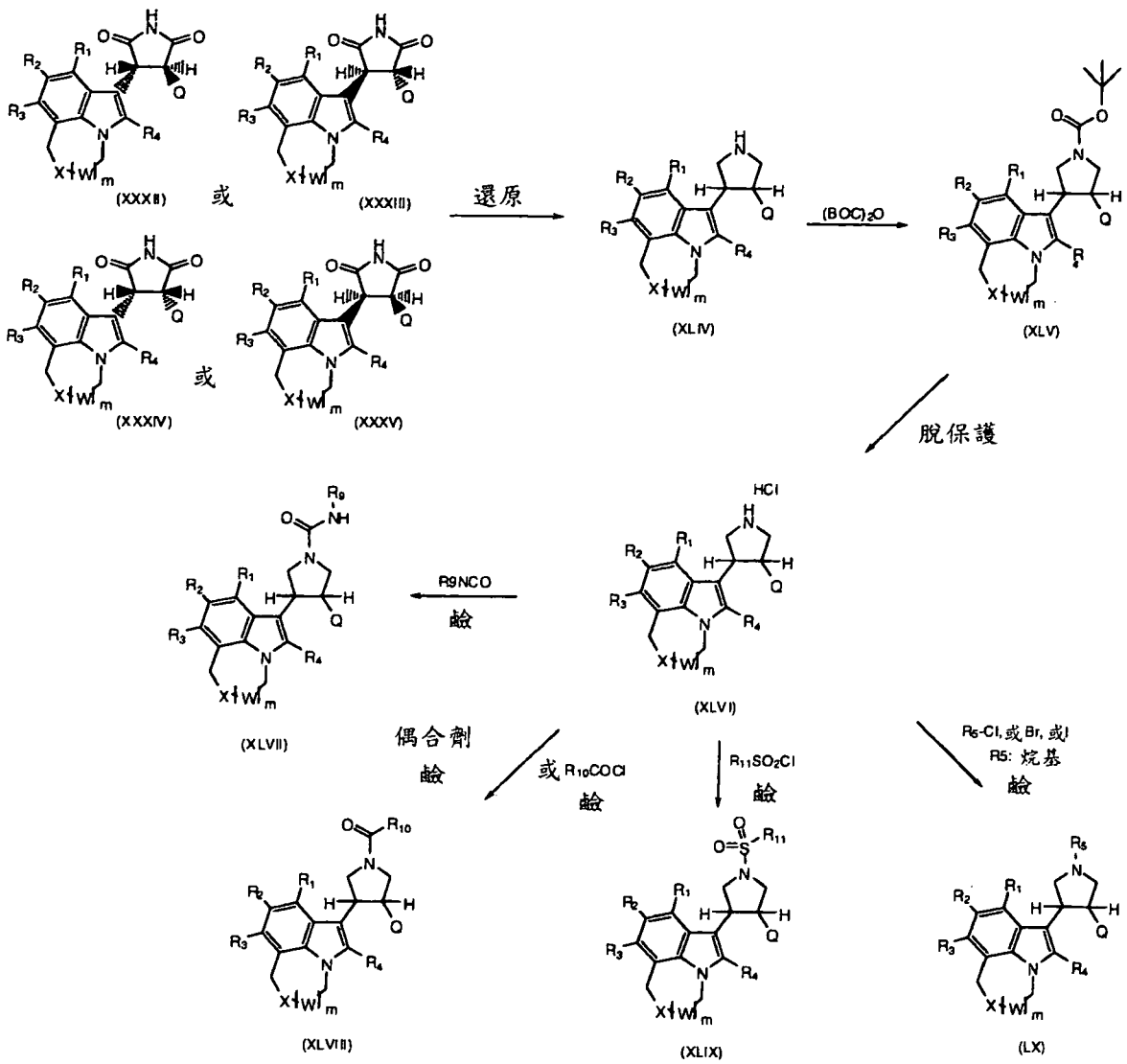
式XLVIII化合物之製法，係經由式XLVI化合物與酸諸如但非限於苯甲酸、菸鹼酸、乙酸或醯氯諸如但非限於環丁基羰基氯、第三丁基乙醯氯，於適當無水溶劑諸如但非限於THF、DCM、DMF或DMA，於適當偶合劑(僅用於酸)諸如但非限於CDI、HBTU或DCC以及視需要，適當鹼諸如但非限於三乙基胺、DIPEA或吡啶，於由0℃至100℃範圍之溫度縮合歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式XLIX化合物可由式XLVI化合物製備，係經由式XLVI化合物與適當磺醯氯諸如但非限於異丙基磺醯氯、苯磺醯氯、甲磺醯氯、對甲苯磺醯氯於適當溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷、吡啶或DCM，於適當鹼諸如但非限於三乙基胺、DIPEA或吡啶存在下，於由0℃至100℃範圍之溫度反應歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式LX化合物可由式XLVI化合物製備，該製法係經由使用適當烷基鹵諸如但非限於苄基溴、氯乙醯胺、甲基碘、丁基碘於適當溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷、DCM、DMF或DMA於適當鹼諸如但非限於三乙基胺、DIPEA、吡啶、氫化鈉、碳酸銫或碳酸鉀存在下，於由0℃至100℃範

圍之溫度反應歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

反應圖8



2.4 由式A化合物製備式XV、XXI、XXIV及XXIX化合物

式XV、XXI、XXIV及XXIX化合物可藉多種途徑而由式A化合物獲得，式A化合物為市售或述於WO2006086484及報告四面體函件1997,38(30),5379-5382；雜環化學期刊1988,25(3),937-942；生物有機及醫藥化學函件

2004,24(12),3217-3220(反應圖9)。

2.4.1 由式A化合物製備式XXIV及XXIX化合物

式XXIX化合物可得自式A化合物，其獲得方式係經由使用草醯氯於適當無水溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷或DCM，於由0℃至25℃之溫度還原歷0.5-24小時，接著添加適當醇諸如但非限於乙醇、甲醇或異丙醇，於由0℃至25℃之溫度反應歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式B化合物可得自式XXIX化合物，係經由使用還原劑諸如但非限於次亞硫酸鈉及鈀/碳，於適當無水溶劑混合物諸如但非限於THF/水或1,4-二噁烷/水，於由60℃至混合物沸點之溫度處理歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式XXIV化合物可得自式B化合物，係經由使用鹼諸如但非限於氫氧化鈉、氫氧化鉀或氫氧化鋰，於適當無水溶劑混合物諸如但非限於THF/水、1,4-二噁烷/水、乙醇/水或甲醇/水，於由20℃至混合物沸點之溫度水解歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

2.4.2 由式A化合物製備式XXI化合物

式XXI化合物可藉反應圖9之多種合成途徑而由式A化合物獲得。

式C化合物可得自式A化合物，係糾由與草醯氯於適當無水溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷或DCM，於由0℃

至25℃範圍之溫度反應歷0.5-24小時，接著添加氨於適當溶劑諸如但非限於水、乙醇、甲醇或異丙醇，於由0℃至25℃範圍之溫度反應歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

根據章節2.4.1所述，由式XXIX化合物或由式XXIV化合物獲得式B化合物之程序，可由式C化合物獲得式D化合物，係經由使用活化劑諸如但非限於CDI、HBTU或草醯氯於適當無水溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷或DCM，於由0℃至25℃之溫度處理歷0.5-24小時，接著添加氨於適當溶劑諸如但非限於水、乙醇、甲醇或異丙醇於由0℃至25℃之溫度反應0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式E化合物可得自式D化合物，係經由使用適當脫水劑諸如但非限於博傑斯(Burgess)試劑於適當無水溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷、或DCM，於由0℃至25℃範圍之溫度處理歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

經由使用硫代乙酸於乙酸於由60℃至120℃範圍之溫度處理歷0.5-24小時，可由式E化合物獲得式XXI化合物。

2.4.3　由式A化合物製備式XV化合物

藉反應圖9四步驟順序，可由式A化合物獲得式XV化合物。

經由與2-氯-N,N-二甲基乙醯胺及磷醯氯於由0℃至100℃範圍之溫度反應0.5-6小時，可由式A化合物獲得式F化合

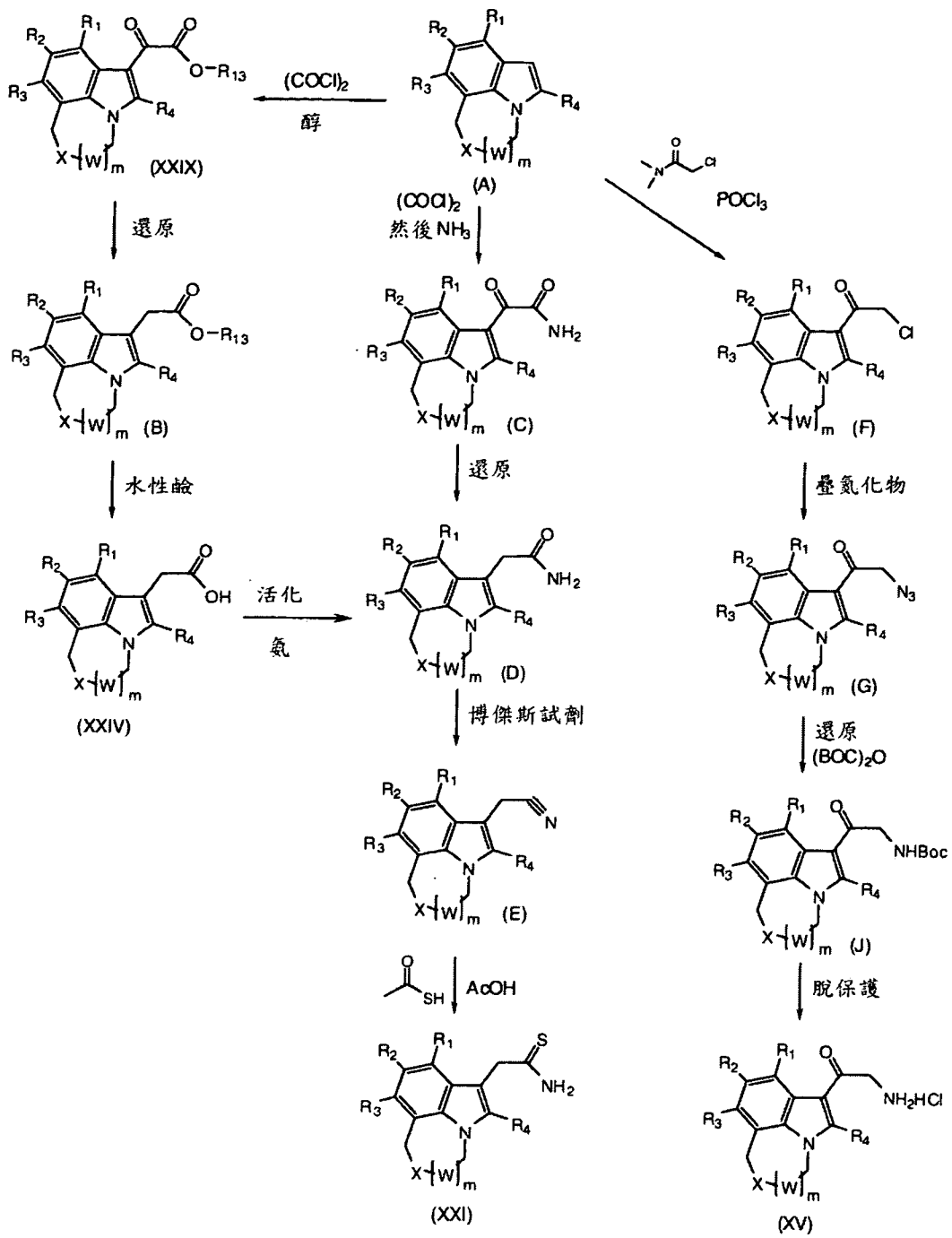
物。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式G化合物可得自式F化合物，係經由於無機疊氮化物諸如但非限於疊氮化鈉或疊氮化鋰，於適當溶劑諸如但非限於DMF、DMF/水、DCM/水、THF/水，於由0℃至80℃範圍之溫度反應0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式J化合物可得自式G化合物，係經由於二碳酸二第三丁酯之存在下，於適當溶劑諸如但非限於正丙醇、異丙醇、乙醇或甲醇，使用貴金屬催化劑諸如但非限於氧化鉑、鈀/碳、乙酸銠或氯化銥於至少1大氣壓氫氣下，於由20℃至80℃範圍之溫度催化還原歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

式XV化合物可得自式J化合物，係經由使用適當脫保護劑諸如但非限於鹽酸或三氟乙酸，於適當溶劑諸如但非限於THF、1,4-二噁烷、DCM或甲醇，於由0℃至100℃範圍之溫度處理歷0.5-24小時進行。時間及溫度可依據存在於所使用之化合物上之特定取代基而變更。

反應圖9



5 2.5 式I、II、III及IV化合物之分離

若期望分離具有式I、II、III及IV結構式之個別產物時，

產物可於一種或多種層析介質上藉層析術分離。層析術可以製備性規模或分析規模進行來測定樣本中所存在之產物身分及純度。雖然任一種適當層析介質皆可優異地用於製備，包括但非限於二氧化矽、C18二氧化矽、反相、離子交換、對掌層析介質、或其任一種組合，但特定層析介質及具有式I、II、III及IV產物之分離條件之適合性將取決於化合物上所存在之取代基。於較佳實施例中，採用HPLC進行層析分離。於其它更佳實施例中，使用超臨界流體層析術進行分離。當採用超臨界流體層析術時，二氧化碳或二氧化碳與其它溶劑包括乙腈(ACN)、甲醇、乙醇、異丙醇、或己烷之混合物為較佳動相，以二氧化碳與甲醇之混合物為最佳。多種層析介質(靜相)可用於超臨界流體層析術，包括但非限於凱羅賽爾(ChiralCel) OA、OB、OD、或OJ；凱羅派克(ChiralPak) AD或AS；賽羅邦(Cyclobond) I、II或III；及凱羅拜爾堤克(Chirobiotic) T、V、及R介質。

於另一個較佳實施例中，當產物為式I、II、III及IV之個別異構物時，可經由於對掌介質上使用超臨界流體層析術分離含有兩種或多種異構形式之混合物。於一個更佳實施例中，分離係於凱羅派克AD管柱(戴索美國公司(Daicel (U.S.A.) Inc.)紐澤西州福利)進行。於該實施例中，產物係施用至AD管柱於甲醇與乙腈之混合物或於乙腈及該管柱隨後以甲醇於二氧化碳洗提。

式I、II、III及IV化合物之個別外消旋形式可藉物理方法例如非對映異構物衍生物之分段結晶或結晶而光學分

割。此外，藉習知方法諸如使用旋光性酸形成鹽當適用時接著為結晶化而由外消旋混合物中獲得個別光學異構物。

3. 治療方法

如此處使用，「個體」可為任一種哺乳類，例如人類、靈長類、小鼠、大鼠、犬、貓、牛、馬、豬、羊、山羊、駱駝。於一個較佳面相中，個體為人類。

如此處使用，「有需要之個體」為患有細胞增殖病症之個體或相較於大部分族群具有較高發生細胞增殖病症風險之個體。於一個面相中，有需要之個體患有癌前病變。於較佳態樣中，有需要之個體患有癌症。

如此處使用，「細胞增殖病症」一詞係指可能導致非期望之病情或疾病(可能為或可能非為癌性)出現之細胞不受調節的或異常的生長或二者之狀況。於一個面相中，細胞增殖病症包括非癌性病變例如類風濕性關節炎；發炎；自體免疫病；淋巴增殖病變；肢端肥大症；類風濕性脊椎炎；骨關節炎；痛風、其它關節病變；敗血病；敗血性休克；內毒性休克；格蘭氏陰性敗血病；毒性休克症候群；氣喘；成人呼吸窘迫症候群；慢性阻塞性肺疾；慢性肺發炎；發炎性腸病；克隆氏病；乾癬；濕疹；潰瘍性大腸炎；胰纖維化；肝纖維化；急性及慢性腎病；腸躁症；熱病；血管再狹窄；腦瘧症；中風及缺血性傷害；神經創傷；阿茲海默氏病；杭丁頓氏病；巴金森氏病；急性及慢性疼痛；過敏性鼻炎；過敏性結膜炎；慢性心臟衰竭；急性冠狀症候群；惡病體質；瘧疾；麻瘋；利什曼原蟲病；萊姆病；萊

特氏症候群；急性滑膜炎；肌肉退化；滑囊炎；腱炎；腱滑膜炎；椎間盤赫尼亞、破裂、或突出症候群；骨硬化症；血栓；血管再狹窄；矽肺病；肺肉樣瘤病；骨質吸收病諸如骨質疏鬆症；移植片對宿主反應；多發性硬化症；狼瘡；纖維肌痛；愛滋病及其它病毒性疾病諸如帶狀疱疹、單純疱疹I或II、流行性感冒病毒及細胞巨病毒；及糖尿病。於另一個面相中，細胞增殖病症包括癌前期或癌前病變。於另一個面相中，細胞增殖病症包括癌症。欲治療之多種癌症包括但非限於乳癌、肺癌、大腸直腸癌、胰癌、卵巢癌、攝護腺癌、腎癌、肝腫瘤、腦癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、慢性骨髓性白血病、血液方面腫瘤、及淋巴腫瘤包括於原發性腫瘤位置遠端的其它組織或器官之腫瘤轉移病灶。欲治療之癌症包括但非限於肉瘤、癌瘤、及腺癌。於一個面相中，「前癌細胞」或「癌前細胞」為表現屬於前癌或癌前病變之細胞增殖病症之細胞。於另一個面相中，「癌細胞」或「癌化細胞」為表現出屬於癌症之細胞增殖病症之細胞。任一種可重複再現的措施手段皆可用來鑑別癌細胞或癌前細胞。於較佳面相中，癌細胞或癌前細胞係藉組織樣本(例如活體組織樣本)之組織學定型或分級來鑑別。於另一個面相中，癌細胞或癌前細胞係經由使用適當分子標記來鑑別。

「血液系統之細胞增殖病症」為涉及血液系統細胞之細胞增殖病症。於另一個面相中，血液系統之細胞增殖病症包括淋巴瘤、白血病、骨髓腫瘤、肥大細胞腫瘤、骨髓發育不良、良性單株球蛋白症、類淋巴肉芽腫病、類淋巴

丘診病、真性紅血球增多症、慢性骨髓細胞性白血病、原因不明性骨髓化生、及原發性血小板增多症。於另一個面相中，血液系統之細胞增殖病症包括血液系統之增生、發育不良、及化生。於較佳面相中，本發明組成物可用於治療選自於由本發明之血液系統癌症或本發明之血球增殖病症所組成之組群之癌症。於一個面相中，本發明之血癌包括多發性骨髓瘤、淋巴瘤(包括何杰金氏淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、兒童期淋巴瘤及淋巴細胞起源及皮膚起源之淋巴瘤)、白血病(包括兒童期白血病、絲狀細胞白血病、急性淋巴細胞性白血病、急性骨髓細胞性白血病、慢性淋巴細胞性白血病、慢性骨髓細胞性白血病、慢性骨髓性白血病、及肥大細胞白血病、骨髓腫瘤及肥大細胞腫瘤。

「肺臟之細胞增殖病症」為涉及肺臟細胞之細胞增殖病症。於一個面相中，肺臟之細胞增殖病症包括影響肺臟細胞之全部細胞增殖病症類型。於一個面相中，肺臟之細胞增殖病症肺癌、肺之前癌或癌前病變、肺之良性生長或病灶、及肺之惡性生長或病灶、及肺臟以外身體其它組織及器官之轉移病灶。於較佳面相中，本發明組成物可用於治療肺癌或肺細胞增殖病症。於一個面相中，肺癌包括各類型肺臟癌症。於另一個面相中，肺癌包括惡性肺腫瘤、原位癌瘤、典型癌性腫瘤、及非典型癌性腫瘤。於另一個面相中，肺癌包括小細胞肺癌(「SCLC」)、非小細胞肺癌(「NSCLC」)、鱗狀細胞癌、腺癌、小細胞癌、大細胞癌、腺鱗狀細胞癌、及間質瘤。於另一個面相中，肺癌包括「結

痂癌瘤」、支氣管肺泡癌、巨細胞癌、紡錘狀細胞癌、及大細胞神經內分泌癌。於另一個面相中，肺癌包括有組織異質性及超結構異質性(例如混合細胞類型)之肺腫瘤。

於另一個面相中，肺臟之細胞增殖病症包括影響肺細胞之各型細胞增殖病症。於一個面相中，肺之細胞增殖病症包括肺癌、肺之癌前病變。於一個面相中，肺之細胞增殖病症包括肺之增生、化生、及發育不良。於另一個面相中，肺之細胞增殖病症包括石棉誘發之過度增生、鱗狀細胞化生、及良性反應性間質化生。於另一個面相中，肺之細胞增殖病症包括以層狀鱗狀上皮置換柱狀上皮及黏膜發育不良。於另一個面相中，暴露於吸入有害環境因子諸如香煙及石棉之個體可能有較高發生肺臟細胞增殖病症之風險。於另一個面相中，先前有肺病可能促成個體容易發生肺細胞增殖病症包括慢性間質肺病、壞死性肺病、硬皮病、類風濕病、肉狀瘤病、間質性肺炎、肺結核、重複性肺炎、特發性肺纖維化、肉芽腫、矽肺病、纖維硬變之肺泡炎、及何杰金氏病。

「大腸之細胞增殖病症」為涉及大腸細胞之細胞增殖病症。於一個較佳面相中，大腸之細胞增殖病症為大腸癌。於較佳面相中，本發明組成物可用於治療大腸癌或大腸之細胞增殖病症。於一個面相中，大腸癌包括各類型大腸癌。於另一個面相中，大腸癌包括偶發性大腸癌及遺傳性大腸癌。於另一個面相中，大腸癌包括惡性大腸腫瘤、原位癌典型癌性腫瘤及非典型癌性腫瘤。於另一個面相中，大腸

癌包括腺癌、鱗狀細胞癌、及腺鱗狀細胞癌。於另一個面相中，大腸癌係與選自於由遺傳性非息肉症大腸直腸癌、家族性腺瘤性息肉症、嘉能氏症候群(Gardner's syndrome)、佩杰格症候群(Peutz-Jeghers syndrome)、吐考特氏症候群(Turcot's syndrome)及幼年型息肉症所組成之組群之遺傳性症候群相關聯。於另一個面相中，大腸癌係由選自於由遺傳性非息肉症大腸直腸癌、家族性腺瘤性息肉症、嘉能氏症候群、佩杰格症候群、吐考特氏症候群及幼年型息肉症之遺傳性症候群所引發。

於另一個面相中，大腸之細胞增殖病症包括各類型影響大腸細胞之細胞增殖病症。於一個面相中，大腸之細胞增殖病症包括大腸癌、大腸癌前病變、大腸之腺瘤性息肉症、及大腸之後時序病灶。於一個面相中，大腸之細胞增殖病症包括腺瘤。於一個面相中，大腸之細胞增殖病症係以大腸之增生、化生、及發育不良為特徵。於另一個面相中，先前的大腸疾病可能促成該等個體好發大腸之細胞增殖病症包括先前大腸癌。於另一個面相中，目前疾病包括克隆氏病及潰瘍性大腸炎可能促成該等個體好發大腸之細胞增殖病症。於一個面相中，大腸之細胞增殖病症係與選自於p53、ras、FAP及DCC所組成之組群中之基因突變相關。於另一個面相中，由於選自於p53、ras、FAP及DCC所組成之組群之基因存在有基因突變，個體有發生大腸之細胞增殖病症之較高風險。

「攝護腺之細胞增殖病症」為涉及攝護腺細胞之細胞

增殖病症。於一個面相中，攝護腺之細胞增殖病症包括各型影響攝護腺細胞之細胞增殖病症。於一個面相中，攝護腺之細胞增殖病症包括攝護腺癌、攝護腺前癌及癌前病變、攝護腺良性生長或病灶、及攝護腺惡性生長或病灶、及攝護腺以外之身體組織及器官之轉移病灶。於另一個面相中，攝護腺之細胞增殖病症包括攝護腺之增生、化生、及發育不良。

「皮膚之細胞增殖病症」為涉及皮膚細胞之細胞增殖病症。於一個面相中，皮膚之細胞增殖病症包括各型影響皮膚細胞之細胞增殖病症。於一個面相中，皮膚之細胞增殖病症包括皮膚前癌及癌前病變、皮膚良性生長或病灶、黑素瘤、惡性黑素瘤、及皮膚之其它惡性生長或病灶、及皮膚以外之身體組織及器官之轉移病灶。於另一個面相中，皮膚之細胞增殖病症包括皮膚之增生、化生、及發育不良。

「卵巢之細胞增殖病症」為涉及卵巢細胞之細胞增殖病症。於一個面相中，卵巢之細胞增殖病症包括各型影響卵巢細胞之細胞增殖病症。於一個面相中，卵巢之細胞增殖病症包括卵巢前癌及癌前病變、卵巢良性生長或病灶、卵巢癌、卵巢惡性生長或病灶、及卵巢以外之身體組織及器官之轉移病灶。於另一個面相中，卵巢之細胞增殖病症包括卵巢之增生、化生、及發育不良。

「乳房之細胞增殖病症」為涉及乳房細胞之細胞增殖病症。於一個面相中，乳房之細胞增殖病症包括各型影響

乳房細胞之細胞增殖病症。於一個面相中，乳房之細胞增殖病症包括乳癌、乳房前癌及癌前病變、乳房良性生長或病灶、及乳房惡性生長或病灶、及乳房以外之身體組織及器官之轉移病灶。於另一個面相中，乳房之細胞增殖病症包括乳房之增生、化生、及發育不良。

於一個面相中，乳房之細胞增殖病症為乳房之癌前病變。於一個面相中，本發明組成物可用於治療乳房之癌前病變。於一個面相中，乳房之癌前病變包括乳房之非典型增生、原位乳管癌(DCIS)、乳管內癌、原位乳小葉癌(LCIS)、乳小葉腫瘤、及乳房之零期或零級生長或病灶(例如零期或零級乳癌或原位癌)。於另一個面相中，乳房之癌前病變係根據美國癌症聯合委員會(AJCC)所採用之TNM分類體系分期，此處原發性腫瘤(T)標示為T0或Tis期；以及區域淋巴結(N)標示為N0期；以及遠端轉移(M)標示為M0期。

於較佳面相中，乳房之細胞增殖病症為乳癌。於較佳面相中，本發明組成物可用於治療乳癌。於一個面相中，乳癌包括各類型乳癌。於一個面相中，乳癌包括原發性上皮乳癌。於另一個面相中，乳癌包括乳房涉及其它腫瘤例如淋巴瘤、肉瘤或黑素瘤之癌症。於另一個面相中，乳癌包括乳房癌瘤、乳管癌、乳小葉癌、未分化之乳癌、乳房之葉狀柄囊肉瘤、乳房之血管肉瘤、及原發性乳房淋巴瘤。於一個面相中，乳癌包括I、II、IIIA、IIIB、IIIC及IV期乳癌。於一個面相中，乳管癌包括侵襲性癌、主要帶有管內成分之原位侵襲性癌、發炎性乳癌、以及帶有選自於粉刺、

黏液(膠體)、髓質、帶有淋巴細胞浸潤之髓質、乳頭狀、纖維硬變、及管狀所組成之組群之組織學類型之乳管癌。於一個面相中，乳小葉癌包括主要帶有原位成分之侵襲性小葉癌、侵襲性小葉癌及浸潤性小葉癌。於一個面相中，乳癌包括巴吉特氏病(Paget's disease)、帶有乳管內癌之巴吉特氏病及帶有侵襲性小葉癌之巴吉特氏病。於另一個面相中，乳癌包括有組織學異質性及超結構異質性(例如混合細胞型)之乳房腫瘤。

於較佳面相中，本發明化合物可用於治療乳癌。於一個面相中，欲治療之乳癌包括家族性乳癌。於另一個面相中，欲治療之乳癌包括偶發性乳癌。於一個面相中，欲治療之乳癌可能發生於男性。於一個面相中，欲治療之乳癌可能發生於女性。於一個面相中，欲治療之乳癌可能發生於停經前女性或停經後女性。於一個面相中，欲治療之乳癌可能發生於等於或大於30歲個體或小於30歲個體。於一個面相中，欲治療之乳癌可能發生於等於或大於50歲個體或小於50歲個體。於一個面相中，欲治療之乳癌可能發生於等於或大於70歲個體或小於70歲個體。

於一個面相中，欲治療之乳癌經過定型鑑別為BRCA1、BRCA2、或p53之家族性突變或自發性突變。於一個面相中，欲治療之乳癌定型為具有HER2/neu基因擴增，過度表現HER2/neu，或有低度、中度或高度HER2/neu表現。於另一個面相中，欲治療之乳癌已經對選自於由雌激素受體(ER)、黃體素受體(PR)、人表皮生長因子受體-2、

Ki-67、CA15-3、CA 27-29、及c-Met所組成之組群之標記定型。於一個面相中，欲治療之乳癌已經就ER-未知、ER-豐富或ER-匱乏定型。於另一個面相中，欲治療之乳癌已經定型為ER-陰性或ER-陽性。乳癌之ER定型可藉任一種可重複再現的手段進行。於較佳面相中，乳癌之ER定型可如腫瘤學27：175-179 (2004)所述進行。於一個面相中，欲治療之乳癌已經被定型為PR-未知、PR-豐富或PR-匱乏。於另一個面相中，欲治療之乳癌已經定型為PR-陰性或PR-陽性。於另一個面相中，欲治療之乳癌已經定型為受體陽性或受體陰性。於一個面相中，欲治療之乳癌已經就與CA 15-3或CA 27-29或二者之血中濃度升高相關作定型。

於一個面相中，欲治療之乳癌包括侷限性乳房腫瘤。於一個面相中，欲治療之乳癌包括與前哨淋巴結(SLN)活體組織檢查呈陰性相關之乳房腫瘤。於一個面相中，欲治療之乳癌包括與前哨淋巴結(SLN)活體組織檢查呈陽性相關之乳房腫瘤。於另一個面相中，欲治療之乳癌包括與一個或多個陽性腋下淋巴結相關之乳房腫瘤，此處該等腋下淋巴結已經藉任一種適用方法分期。於另一個面相中，欲治療之乳癌包括已經定型為淋巴結陰性狀態(例如淋巴結陰性)或淋巴結陽性狀態(例如淋巴結陽性)之乳房腫瘤。於另一個面相中，欲治療之乳癌包括已經轉移至身體其它部位的乳房腫瘤。於一個面相中，欲治療之乳癌係歸類為已經轉移至選自於骨骼、肺、肝、或腦所組成之組群之一個部位之乳房腫瘤。於另一個面相中，欲治療之乳癌係根據選

自於由轉移性、侷限性、區域性、局部區域性、局部惡化性、遠端、多中心、兩側、單側、對側、新診斷、復發、及無法手術所組成之組群中之特徵分類。

於一個面相中，本發明化合物可用於相較於大多數族群有較高乳癌發生風險之個體治療或預防乳房細胞增殖病症或治療或預防乳癌。於一個面相中，相較於大多數族群有較高乳癌發生風險之個體為有家族史或個人乳癌病史之女性個體。於另一個面相中，相較於大多數族群有較高乳癌發生風險之個體為於BRCA1或BRCA2或二者有生殖系列突變或自生突變之女性個體。於一個面相中，相較於大多數族群有較高乳癌發生風險之個體為有乳癌家族病史及於BRCA1或BRCA2或二者有生殖系列突變或自生突變之女性個體。於另一個面相中，相較於大多數族群有較高乳癌發生風險之個體為大於30歲、大於40歲、大於50歲、大於60歲、大於70歲、大於80歲、或大於90歲之女性。於一個面相中，相較於大多數族群有較高乳癌發生風險之個體為患有非典型乳房增生、原位乳管癌(DCIS)、乳管內癌、原位乳小葉癌(LCIS)、乳小葉增生、或乳房之零期生長或病灶(例如零期或零級乳癌或原位癌瘤)之個體。

於另一個面相中，欲治療之乳癌係根據史考夫-布姆-瑞查森(Scarff-Bloom-Richardson)系統做組織學分級，其中乳房腫瘤具有1、2、或3之有絲分裂計數分數；1、2、或3之核多形性分數；1、2、或3之微細管形成分數；及3至9間之史考夫-布姆-瑞查森總分。於另一個面相中，欲治療之乳

癌已經根據國際乳癌治療共識評審被評分以選自於1級、1-2級、2級、2-3級、或3級所組成之組群之腫瘤等級。

於一個面相中，欲治療之癌症已經根據美國癌症聯合委員會(AJCC) TNM分類系統分期，此處腫瘤(T)被分成TX、T1、T1mic、T1a、T1b、T1c、T2、T3、T4、T4a、T4b、T4c、或T4d期；以及此處區域淋巴結(N)被分類為NX、N0、N1、N2、N2a、N2b、N3、N3a、N3b、或N3c期；以及此處遠端轉移(M)被分類為MX、M0或M1期。於另一個面相中，欲治療之癌症已經根據美國癌症聯合委員會(AJCC)分類為I期、IIA期、IIB期、IIIA期、IIIB期、IIIC期、或IV期。於另一個面相中，欲治療之癌症已經根據AJCC分類分為GX級(或無法評估的等級)、1級、2級、3級或4級。於另一個面相中，欲治療之癌症已經根據AJCC病理分類(pN)分期為pNX、pN0、pN0 (I-)、PN0 (I+)、PN0 (mol-)、PN0 (mol+)、PN1、PN1 (mi)、PN1a、PN1b、PN1c、pN2、pN2a、pN2b、pN3、pN3a、pN3b、或pN3c。

於一個面相中，欲治療之癌症包括已經判定為直徑小於或等於約2厘米之腫瘤。於另一個面相中，欲治療之癌症包括已經判定為直徑由約2厘米至約5厘米之腫瘤。於另一個面相中，欲治療之癌症包括已經判定為直徑大於或等於約3厘米之腫瘤。另一個面相中，欲治療之癌症包括已經判定為直徑大於5厘米之腫瘤。於另一個面相中，欲治療之癌症藉顯微鏡檢外觀分類為良好分化、中等分化、不良分化或未分化。於另一個面相中，欲治療之癌症係就有絲分裂

計數數目(例如細胞分裂數量)或核多形性(例如細胞之改變)藉顯微鏡檢外觀分類。於另一個面相中，欲治療之癌症係關聯壞死面積(例如瀕死細胞或變性中的細胞面積)藉顯微鏡檢外觀分類。於一個面相中，欲治療之癌症係分類為具有異常的染色體核型、具有異常的染色體數目、或有外觀異常之一個或多個染色體。於一個面相中，欲治療之癌症係分類為非整倍數染色體、三倍體、四倍體、或具有變更的染色體倍數。於一個面相中，欲治療之癌症係分類為具有染色體轉位或整個染色體之刪失或倍增，或染色體部分之刪失、倍增或擴增區。

於一個面相中，欲治療之癌症係藉DNA細胞計量術、流動細胞計量術或影像細胞計量術評估。於一個面相中，欲治療之癌症定型為於細胞分裂之合成期(例如於細胞分裂之S期)具有10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、或90%細胞。於一個面相中，欲治療之癌症定型為具有低S-期分量或高S-期分量。

如此處使用，「正常細胞」為無法分類為「細胞增殖病症」之一部分之細胞。於一個面相中，正常細胞缺乏可能導致非期望的病情或疾病之失調生長或異常生長或二者。例如，正常細胞具有發揮正常功能之細胞週期檢查哨控制機轉，該機轉防止失調生長或異常生長。

如此處使用，「接觸一細胞」係指該化合物或其它物質組成物直接接觸細胞，或足夠接近來誘發細胞之期望的生物效應。

如此處使用，「候選者化合物」係指於一項或多項試管內或活體內生物檢定分析中已經經過測試或將測試之本發明化合物，來判定該化合物於細胞、組織、系統、動物或人體可能提引出研究學者或臨床醫師所尋求之期望的生物反應或醫療反應。於一個面相中，候選者化合物為式I化合物；於另一個面相中，候選者化合物為式II、III或IV化合物。於較佳面相中，生物反應或醫藥反應為癌症之治療。於另一個面相中，生物反應或醫藥反應為細胞增殖病症之治療或預防。於一個面相中，試管內或活體內生物檢定分析包括但非限於酶催化活性檢定分析、電泳活動力位移檢定分析、通報子基因檢定分析、試管內細胞存活率檢定分析，及本文實例11-13所陳述之檢定分析。

如此處使用，「單一治療」係指將單一活性化合物或治療性化合物投予有需要之個體。較佳，單一治療涉及投予治療有效量之活性化合物。例如，使用(±)-順-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯啶-2-酮癌症單一治療包含將治療有效量之(±)-順-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯啶-2-酮或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物投予有需要治療癌症之個體。單一治療可與組合治療成對比，組合治療中投予多種活性化合物之組合物，較佳組合物中之各個成分係以治療活性量存在。於一個面相中，使用本發明化合物之單一治療比組合治療用於誘發期望之生物效果更有效。

如此處使用，「治療」一詞說明用於對抗疾病、病情或病症之病人之管理與照護，治療包括投予本發明化合物來預防症狀或併發症之發生，減輕症狀或併發症，或清除疾病、病情或病症。

於一個面相中，治療癌症導致腫瘤大小的縮小。腫瘤大小的縮小也稱作為「腫瘤退行」。較佳於治療後，相較於治療前，腫瘤大小縮小5%；更佳腫瘤大小縮小10%或以上；更佳縮小20%或以上；更佳縮小30%或以上；更佳縮小40%或以上；又更佳縮小50%或以上；及最佳縮小大於75%或以上。腫瘤大小可藉任一種可重複再現的測量手段測定。於較佳面相中，腫瘤大小可以腫瘤直徑測定。

於另一個面相中，腫瘤癌症導致腫瘤體積的縮小。較佳，於治療後，相較於治療前，腫瘤體積縮小5%；更佳腫瘤體積縮小10%或以上；更佳縮小20%或以上；更佳縮小30%或以上；更佳縮小40%或以上；又更佳縮小50%或以上；及最佳縮小大於75%或以上。腫瘤體積可藉任一種可重複再現的測量手段測定。

於另一個面相中，治療癌症導致腫瘤數目的減少。較佳，於治療後，相較於治療前之數目，腫瘤數目縮小5%；更佳腫瘤數目縮小10%或以上；更佳縮小20%或以上；更佳縮小30%或以上；更佳縮小40%或以上；又更佳縮小50%或以上；及最佳縮小大於75%或以上。於較佳面相中，腫瘤數目可藉裸眼目測或以特定放大倍率計算腫瘤數目測定。於較佳面相中，特定放大倍率為2x、3x、4x、5x、10x、或50x。

於另一個面相中，治療腫瘤導致於距離原發性腫瘤位置遠端的其它組織或器官中之轉移病灶數目的減少。較佳，於治療後，相較於治療前之數目，轉移病灶數目縮小5%；更佳轉移病灶數目縮小10%或以上；更佳縮小20%或以上；更佳縮小30%或以上；更佳縮小40%或以上；又更佳縮小50%或以上；及最佳縮小大於75%或以上。於較佳面相中，轉移病灶數目可藉裸眼目測或以特定放大倍率計算轉移病灶數目測定。於較佳面相中，特定放大倍率為2x、3x、4x、5x、10x、或50x。

於另一個面相中，治療癌症導致接受治療個體族群比較單獨接受載劑之族群，平均存活時間延長。較佳平均存活時間延長超過30日；更佳超過60日；更佳超過90日；及最佳超過120日。族群之平均存活時間延長可藉任一種可重複再現手段測定。於較佳面相中，例如於使用活性化合物開始治療後，經由計算族群之平均存活時間長度，可測定族群之平均存活時間的延長。於另一個較佳面相中，例如經由計算使用活性化合物之第一回合治療完成後族群平均存活時間長度，也可測定族群之平均存活時間的延長。於較佳面相中，例如於使用活性化合物開始治療後，經由計算族群之平均存活時間長度，可測定族群之平均存活時間的延長。

於另一個面相中，治療癌症導致接受治療個體族群比較未接受治療個體族群之平均存活時間延長。較佳平均存活時間延長超過30日；更佳超過60日；更佳超過90日；及

最佳超過120日。族群之平均存活時間延長可藉任一種可重複再現手段測定。於較佳面相中，例如於使用活性化合物開始治療後，經由計算族群之平均存活時間長度，可測定族群之平均存活時間的延長。於另一個較佳面相中，例如經由計算使用活性化合物之第一回合治療完成後族群平均存活時間長度，也可測定族群之平均存活時間的延長。於較佳面相中，例如於使用活性化合物開始治療後，經由計算族群之平均存活時間長度，可測定族群之平均存活時間的延長。

於另一個面相中，治療癌症導致接受治療個體族群比較接受藥物單一治療族群而該藥物非屬本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物之平均存活時間延長。較佳平均存活時間延長超過30日；更佳超過60日；更佳超過90日；及最佳超過120日。族群之平均存活時間延長可藉任一種可重複再現手段測定。於較佳面相中，例如於使用活性化合物開始治療後，經由計算族群之平均存活時間長度，可測定族群之平均存活時間的延長。於另一個較佳面相中，例如經由計算使用活性化合物之第一回合治療完成後族群平均存活時間長度，也可測定族群之平均存活時間的延長。於較佳面相中，例如於使用活性化合物開始治療後，經由計算族群之平均存活時間長度，可測定族群之平均存活時間的延長。

於另一個面相中，治療癌症導致接受治療個體族群比較單獨接受載劑族群之死亡率降低。於另一個面相中，治

療癌症導致接受治療個體族群比較未接受治療族群之死亡率降低。於又一個面相中，治療癌症導致接受治療個體族群比較接受藥物單一治療族群而該藥物非屬本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物之死亡率降低。較佳死亡率降低大於2%；更佳大於5%；更佳大於10%；及最佳大於25%。於較佳面相中，接受治療個體族群之死亡率降低可藉任一種可重複再現之手段測定。於另一個較佳面相中，族群死亡率之降低例如可經由計算族群於使用活性化合物開始治療後，每單位時間之疾病相關死亡平均數目測定。於另一個較佳面相中，族群死亡率之降低例如可經由計算族群於使用活性化合物接受第一回合治療完成後，每單位時間之疾病相關死亡平均數目測定。

於另一個面相中，治療癌症導致腫瘤生長速率之降低。較佳於治療後，相較於治療前之數目，腫瘤生長速率降低至少5%；更佳腫瘤生長速率降低至少10%；更佳降低至少20%；更佳降低至少30%；更佳降低至少40%；更佳降低至少50%；又更佳降低至少60%；及最佳降低至少75%。腫瘤生長速率可藉任一種可重複再現之測量手段測定。於較佳面相中，腫瘤生長速率係根據每單位時間之腫瘤直徑變化測定。

於另一個面相中，治療癌症導致腫瘤再成長的減少。較佳於治療後，腫瘤再成長少於5%；更佳腫瘤再成長少於10%；更佳少於20%；更佳少於30%；更佳少於40%；更佳

少於50%；又更佳少於60%；及最佳少於75%。腫瘤再成長可藉任一種可重複再現之測量手段測定。於較佳面相中，經由測量於治療後先前之腫瘤縮小後腫瘤直徑的增加來測定。於另一個較佳面相中，腫瘤再成長的減少係以治療停止後腫瘤無法復發作指標。

於另一個面相中，治療或預防細胞增殖病症導致細胞增殖速率之減低。較佳於治療後，細胞增殖速率降低至少5%；更佳至少10%；更佳至少20%；更佳至少30%；更佳至少40%；更佳至少50%；又更佳至少60%；及最佳至少75%。細胞增殖速率可藉任一種可重複再現之測量手段測定。於較佳面相中，細胞增殖速率例如係經由測量每單位時間組織樣本中分裂中的細胞數目測定。

於另一個面相中，治療或預防細胞增殖病症導致增殖中的細胞比例降低。較佳於處理後，增殖中的細胞比例減少至少5%；更佳至少10%；更佳至少20%；更佳至少30%；更佳至少40%；更佳至少50%；又更佳至少60%；及最佳至少75%。增殖中的細胞比例可藉任一種可重複再現之測量手段測定。於較佳面相中，經由相較於組織樣本中之非分裂中的細胞數目，定量分裂中的細胞數目而測定。於另一個較佳面相中，增殖中的細胞比例係等於有絲分裂指數。

於另一個面相中，治療或預防細胞增殖病症導致細胞增殖區或區段大小的縮小。較佳相較於治療前之大小，細胞增殖區或區段之大小縮小至少5%；更佳縮小至少10%；更佳縮小至少20%；更佳縮小至少30%；更佳縮小至少

40%；更佳縮小至少50%；又更佳縮小至少60%；及最佳縮小至少75%。細胞增殖區或區段之大小可藉任一種可重複再現之測量手段測定。於較佳面相中，細胞增殖區或區段大小可以細胞增殖區或區段之直徑或寬度測定。

於另一個面相中，治療或預防細胞增殖病症導致有異常外觀或形態之細胞數目或比例的減少。較佳於治療後，有異常形態之細胞數目相較於治療前減少至少5%；更佳減少至少10%；更佳減少至少20%；更佳減少至少30%；更佳減少至少40%；更佳減少至少50%；又更佳減少至少60%；及最佳減少至少75%。異常細胞外觀或形態可藉任一種可重複再現之測量手段測定。於一個面相中，異常細胞形態係藉顯微鏡檢例如使用反相組織培養顯微鏡測定。於一個面相中，異常細胞形態係呈現核多形性形式。

如此處使用，「選擇性」一詞表示於一個族群比於另一個族群之出現頻率更高。於一個面相中，比較的族群為細胞族群。於較佳面相中，本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物選擇性作用於癌細胞或癌前細胞，但不會作用於正常細胞。於另一個較佳面相中，本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物選擇性作用於調控一種細胞標靶(例如c-Met)，但不會顯著調控另一種細胞標靶(蛋白質激酶C)。於另一個較佳面相中，本發明提供一種選擇性抑制酶諸如激酶之活性之方法。較佳一個事件發生於族群A比發生於族群B更頻繁大於兩倍，則該事件相對於族群B係選擇性

發生於族群A。更佳若一個事件於族群A之發生機率更頻繁超過5倍，則該事件為選擇性發生。更佳若一個事件於族群A之發生機率更頻繁超過10倍，則該事件為選擇性發生；更佳於族群A之發生頻率比較族群B大於50倍；又更佳大於100倍；及最佳大於1000倍。例如若細胞死亡出現於癌細胞比較正常細胞之機率大兩倍，則謂細胞死亡選擇性發生於癌細胞。

於較佳面相中，本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物調控分子標靶(例如c-Met之活性)。於一個面相中，調控係指刺激或抑制分子標靶之活性。較佳相較於於相同條件但只缺乏該化合物之存在之條件下分子標靶之活性，本發明化合物調控分子標靶之活性因而刺激或抑制該分子標靶之活性達至少2倍。更佳相較於於相同條件但只缺乏該化合物之存在之條件下分子標靶之活性，本發明化合物調控分子標靶之活性因而刺激或抑制該分子標靶之活性達至少5倍、至少10倍、至少20倍、至少50倍、至少100倍。分子標靶之活性可藉任一種可重複再現之手段測定。分子標靶之活性可於試管內或活體內測定。例如，分子標靶之活性可於試管內藉酶催化活性檢定分析或DNA結合檢定分析測定，或分子標靶之活性可於活體內經由檢定分析通報子基因之表現測定。

於一個面相中，若相較於於相同條件但只缺乏該化合物之存在下的分子標靶之活性，若添加該化合物並未刺激或抑制該分子標靶之活性達高於10%，則本發明化合物或

其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物並未顯著調控該分子標靶之活性。

如此處使用，「同功酶選擇性」係指比較酶之第二同功型，偏好抑制或刺激酶之第一同功型(例如比較激酶同功酶β，偏好抑制或刺激激酶同功酶α)。較佳本發明化合物驗證於要求達成生物效果之劑量至少4倍差異，較佳10倍差異，更佳15倍差異。較佳，本發明化合物跨抑制範圍驗證此項差異，對感興趣之分子標靶差異係以IC_{50}亦即50%抑制舉例說明。

於較佳實施例中，投予本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物至有需要之細胞或個體，結果導致c-Met活性之調控(亦即刺激或抑制)。如此處使用，c-Met活性係指由c-Met所執行之任一種生物功能或活性。例如，c-Met功能包括下游標靶蛋白質之磷酸化。c-Met之其它功能包括配接子蛋白質諸如Gab-1、Grb-2、Shc、SHP2及c-Cb1之自動磷酸化、結合，及信號轉導子諸如Ras、Src、PI3K、PLC-γ、STATs、ERK1及2及FAK之活化。

於較佳實施例中，投予本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物至有需要之細胞或個體，導致ERK1或ERK2或二者之調控(亦即刺激或抑制)。如此處使用，ERK1或ERK2之活性係指由ERK1或ERK2所執行之任一種生物功能。例如ERK1或ERK2之功能包括下游標靶蛋白質之磷酸化。

於一個面相中，活化係指將物質組成物(例如蛋白質或核酸)置於適合執行期望之生物功能之狀態。於一個面相中，可被活化之物質組成物也具有非活化態。於一個面相中，已活化之物質組成物具有抑制性或刺激性生物功能或二者。

於一個面相中，升高係指物質組成物(例如蛋白質或核酸)之期望生物活性之增高。於一個面相中，升高可經由物質組成物濃度之增加發生。

如此處使用，「細胞週期檢查哨徑路」係指涉及細胞週期檢查哨之調控之生化徑路。細胞週期檢查哨徑路對包含細胞週期檢查哨之一項或多項功能可具有刺激效果或抑制效果或二者。細胞週期檢查哨徑路包含至少兩種物質組成物，較佳為蛋白質，二者促成細胞週期檢查哨之調控。細胞週期檢查哨徑路可透過細胞週期檢查哨徑路中之一個或多個成員之活化而活化。較佳，細胞週期檢查哨徑路為生化發訊徑路。

如此處使用，「細胞週期檢查哨調節劑」係指於細胞週期檢查哨之調控上可發揮功能至少部分發揮功能之一種物質組成物。細胞週期檢查哨調節劑對包含細胞週期檢查哨之一項或多項功能可具有刺激效果或抑制效果或二者。於一個面相中，細胞週期檢查哨調節劑為蛋白質。於另一個面相中，細胞週期檢查哨調節劑非為蛋白質。

於一個面相中，治療癌症或細胞增殖病症導致細胞死亡，且較佳細胞死亡導致族群中之細胞數目減少至少

10%。更佳，細胞死亡表示減少至少20%；更佳減少至少30%；更佳減少至少40%；更佳減少至少50%；最佳減少至少75%。族群中之細胞數目可藉任一種可重複再現之手段測定。於一個面相中，族群中之細胞數目係藉螢光活化細胞分選(FACS)測定。於另一個面相中，族群中之細胞數目係藉免疫螢光顯微術測定。於另一個面相中，族群中之細胞數目係藉光學顯微術測定。於一個面相中，細胞死亡之測量方法顯示於Li等人，(2003) Proc Natl Acad Sci U S A. 100(5)：2674-8。於一個面相中，細胞死亡係藉細胞凋亡而發生。

於較佳面相中，有效量之本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物對正常細胞不具有顯著胞毒性。若以治療有效量投予化合物並未導致細胞死亡大於10%之正常細胞，則治療有效量之該化合物對正常細胞不具有顯著胞毒性。若以治療有效量投予化合物並未導致細胞死亡大於10%之正常細胞，則治療有效量之該化合物不會顯著影響正常細胞的存活。

於一個面相中，細胞與本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物接觸於癌細胞選擇性誘導或活化細胞死亡。較佳有需要之個體投予本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物於癌細胞選擇性誘導或活化細胞死亡。於另一個面相中，細胞與本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物接觸於受細胞增殖病症

影響之一個或多個細胞選擇性誘導細胞死亡。較佳有需要之個體投予本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物於受細胞增殖病症影響之一個或多個細胞選擇性誘導細胞死亡。於較佳面相中，本發明係關於一種經由將本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物投予有需要之個體而治療或預防癌症之方法，此處投予本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物導致下列之一項或多項作用：於細胞週期之G1期及/或S期之細胞積聚，透過癌細胞之細胞死亡而正常細胞並無顯著量細胞死亡之胞毒性，於動物體具有治療指示至少為2之抗腫瘤活性，及細胞週期檢查哨之活化。如此處使用，「治療指數」為最大耐受劑量除以有效劑量。

熟諳技藝人士係指有關此處討論之已知技術或相當技術之詳細說明之一般參考文章。此等文章包括Ausubel等人，分子生物學之目前方案，約翰威利父子公司；Sambrook等人，分子轉殖，實驗室手冊(第3版)，冷泉港出版社，冷泉港，紐約(2000)；Coligan等人，免疫學之目前方案，約翰威利父子公司，紐約；Enna等人，藥理學之目前方案，約翰威利父子公司，紐約；Fingl等人，治療學之藥理基礎(1975)，雷明頓製藥科學，默克出版公司，賓州伊士頓，第18版(1990)。此等文章當然於製作或使用本發明之面相時也有參照。

於額外面相中，本發明化合物或其藥學上可接受之

鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物可組合第二化學治療劑投予。第二化學治療劑可為但非限制性紫杉烷、芳香化酶抑制劑、蒽環素(anthracycline)、微細管靶定藥物、拓樸異構酶毒性藥物、靶定單株抗體或多株抗體、分子標靶或酶之抑制劑(例如激酶抑制劑)、或胞苷類似藥物。於較佳面相中，化學治療劑可為但非限於塔莫西芬、拉羅西芬(raloxifene)、阿那史左(anastrozole)、伊希美斯坦(exemestane)、里特左(letrozole)、賀癌停(塔吐祖馬)、葛烈菲(GLEEVEC)(伊馬塔尼(imatanib))、塔克索(太平洋紫杉醇)、環磷醯胺、羅法史塔丁(lovastatin)、米諾辛(minosine)、araC、5-氟尿嘧啶(5-FU)、胺甲喋呤(MTX)、塔索堤爾(TAXOTERE)(朵西塔賽(docetaxel))、左拉戴(ZOLADEX)(葛色瑞林(goserelin))、文克利斯丁(vincristin)、文布拉斯汀(vinblastin)、諾可達左(nocodazole)、坦尼普賽(teniposide)、伊妥普賽(etoposide)、健澤(GEMZAR)(健西塔濱(gemcitabine))、伊普席龍(epothilone)、那福濱(navelbine)、喜樹鹼、道諾尼賓辛(daunonibicin)、達堤諾黴素(dactinomycin)、米妥山左(mitoxantrone)、安薩克林(amsacrine)、朵索魯賓辛(阿黴素)、伊皮魯賓辛(epirubicin)、或伊達魯賓辛(idarubicin)或www.cancer.org/docroot/cdg/cdg_0.asp所列舉之藥劑。於另一個面相中，第二化學治療劑可為細胞激素諸如G-CSF(粒狀細胞群落刺激因子)。於另一個面相中，本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物可組合放射性治療投予。於又另一個面相中，本發明化合

物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物可組合標準化學治療組合物投予，該組合物諸如但非限於CMF(環磷醯胺、胺甲喋呤及5-氟尿嘧啶)、CAF(環磷醯胺、阿黴素及5-氟尿嘧啶)、AC(阿黴素及環磷醯胺)、FEC(5-氟尿嘧啶、伊皮魯賓辛及環磷醯胺)、ACT或ATC(阿黴素、環磷醯胺及太平洋紫杉醇)、或CMFP(環磷醯胺、胺甲喋呤、5-氟尿嘧啶及普尼松(prednisone))。

本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物可摻混入適合供投藥用之藥學組成物。此等組成物典型包含化合物(亦即包括活性化合物及藥學上可接受之賦形劑或載劑)。如此處使用，「藥學上可接受之賦形劑」或「藥學上可接受之載劑」意圖包括與藥物投予上可相容之任一種及全部溶劑、分散介質、包衣、抗菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑等。適當載劑說明於雷明頓製藥科學業界之標準參考教科書之最新版本。此等載劑或稀釋劑之較佳實例包括但非限於水、食鹽水、林格氏溶液、葡萄糖溶液、及5%人血清白蛋白。藥學上可接受之載劑包括固體載劑諸如乳糖、石膏粉、蔗糖、滑石、明膠、瓊脂、果膠、金合歡膠、硬脂酸鎂、硬脂酸等。液體載劑之實例包括糖漿、花生油、橄欖油、水等。同理，載劑或稀釋劑可包括技藝界已知之時間延遲材料，諸如一硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯單獨或帶有蠟、乙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、甲基丙烯酸甲酯等。其它填充劑、賦形劑、矯味劑及其它諸如技藝界已知之添加劑也可

含括於根據本發明之藥學組成物。也可使用微脂粒及非水性載媒劑諸如固定油。用於藥學上活性物質之此等介質及作用劑之使用為技藝界眾所周知。除了至目前為止於活性化合物不可相容之習知介質或作用劑，否則預期皆涵蓋於組成物之使用。補充性活性化合物也可摻混於組成物。

於一個面相中，本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物係呈適當劑型投予，劑型之製備方法係根據標準程序(亦即藉由製造本發明之藥學組成物之標準程序)，組合治療有效量(例如經由腫瘤生長之抑制、腫瘤細胞之殺滅、細胞增殖病症之治療或預防等足夠達成期望之治療效果之有效濃度)之本發明化合物或其藥學上可接受之鹽、前驅藥、代謝物、類似物或衍生物(作為活性成分)與標準藥學載劑或稀釋劑而製備。此等程序涉及若屬適當，將各成分混合、造粒、及壓縮或溶解來達成期望之製劑。

本發明之藥學組成物調配成與其期望之投藥途徑為可相容性。投藥途徑之實例包括腸道外例如靜脈、皮內、皮下、經口(例如吸入)、經皮(局部)、以及經黏膜投予。供腸道外、皮內、或皮下施用之溶液劑或懸浮液劑包括下列組分：無菌稀釋劑諸如注射用水、食鹽水溶液、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶劑；抗菌劑諸如苄醇或對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑諸如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑諸如伸乙基二胺四乙酸；緩衝劑諸如乙酸鹽、檸檬酸鹽、或磷酸鹽，及張力調節劑諸如氯化鈉或葡萄糖。

pH可以酸或鹼諸如鹽酸或氫氧化鈉調整。腸道外製劑可封裝於玻璃或塑膠製成之安瓿、拋棄式注射器或多劑小瓶。

本發明化合物或藥學組成物可以目前用於化學治療性處理之多種眾所周知之方法投予個體。舉例言之，用於癌症之治療，本發明化合物可直接注射入腫瘤，注射入血流或體腔或口服或使用貼片劑經皮膚施用。選用之劑量須足夠組成有效治療但又不會過高而造成非期望之副作用。疾病(例如癌症、癌症前期等)病情狀態及病人健康於治療期間以及治療後之一段合理期間也須密切監控。

如此處使用，「治療有效量」係指治療、改善或預防所識別之疾病或病情或具有可檢測之治療功效或抑制功效之藥劑。效果可藉技藝界已知之任一種檢測方法檢測。個體之精確有效量將取決於個體體重、身材及健康狀況；疾病本質及嚴重程度；及選用於投藥之治療或治療組合。一種給定情況之治療有效量可由於臨床醫師之技巧及判斷範圍內藉例行實驗判定。於較佳面相中，欲治療之疾病或病症為癌症。於另一個面相中，欲治療之疾病或病症為細胞增殖病症。

對任一種化合物，治療有效量最初係於細胞培養檢定分析例如腫瘤細胞或於動物模型通常為大鼠、小鼠、兔、犬、或豬評估。動物模型也可用於測定適當濃度範圍及投藥途徑。然後此等資訊用來判定供人類投藥之有用劑量及途徑。治療/預防功效及毒性係於細胞培養或實驗動物體藉標準藥學程序測定，例如ED_{50}(對50%族群之有效治療劑量)

及LD_{50}(對50%族群之致死劑量)。治療效果與毒性效果間之劑量比為治療指數，可以比值LD_{50}/ED_{50}表示。以具有較大的治療指數之藥學組成物為較佳。依據所採用之劑型、病人之敏感度及投藥途徑而定，劑量可於此範圍內改變。

劑量及投藥經調整而提供足夠濃度之活性劑或維持期望效果。可列入考慮之因素包括病情嚴重度、個體全面健康狀況、年齡、體重、及個體性別、飲食、投藥時間及頻率、藥物組合物、反應敏感度、及對治療之耐受性/反應。依據特定配方之半生期及清除率而定，長效藥學組成物可每三日或每四日、每週或每兩週投藥一次。

4. 藥學組成物及調配物

含有本發明之活性化合物之藥學組成物可以一般已知方式製造，例如利用習知之混合、溶解、造粒、製造糖衣錠、磨光、乳化、囊封、捕捉、或凍乾程序製造。藥學組成物可以習知方式調配，使用包含賦形劑及/或輔劑之一種或多種藥學上可接受之載劑協助將活性化合物加工成為可作為藥物使用之製劑。當然，適當配方係依據所選之投藥途徑決定。

適合供注射用之藥學組成物包括臨時用於製備無菌注射溶液劑或分散液劑之無菌水性溶液(當為水溶性)或分散液劑及無菌粉末。用於靜脈投藥，適當載劑包括生理食鹽水、制菌水、奎莫福(Cremophor) EL (巴斯夫公司(BASF)，紐澤西州巴西潘尼)或磷酸鹽緩衝食鹽水(PBS)。於各種情況下，組成物必須為無菌且須為流體至容易注射的程度。

於製造及儲存條件下須為安定，且必須保藏對抗微生物諸如細菌及真菌之污染作用。載劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、及液體聚乙二醇等)及其適當混合物之溶劑或分散介質。經由使用包衣諸如卵磷脂，於分散液之情況下經由維持要求的粒徑以及經由使用界面活性劑，可維持適當流動性。藉多種抗菌劑及抗真菌劑例如對羥基苯甲酸酯類、氯丁醇、酚、抗壞血酸、硫柳汞等可達成對微生物作用之預防效果。於多種情況下，較佳於組成物內包括等張劑例如糖類、多元醇類諸如甘露糖醇、山梨糖醇、氯化鈉。經由於組成物內包括延遲吸收劑例如一硬脂酸鋁及明膠可獲得注射用組成物之延長吸收。

經由將活性化合物以需要量摻混於適當溶劑，若有所需可結合前文列舉之各項成分中之一者或其組合，接著為過濾滅菌，可製備無菌注射用組成物。大致上，分散液劑之製法係經由將活性化合物摻混於含有基礎分散介質及得自前文列舉之所需其它成分之無菌載媒劑而製備。於用於製備無菌注射用溶液劑之無菌粉末之情況下，製備方法為真空乾燥及凍乾，獲得活性成分加上得自先前經過滅菌過濾之溶液中之任何額外期望的成分。

口服組成物通常包括無菌稀釋劑或食用藥學上可接受之載劑。可封裝於明膠膠囊內或壓縮成為錠劑。供口服治療性投藥，活性化合物可與賦形劑摻混且以錠劑、菱形錠、或膠囊劑之形式使用。口服組成物也可使用流體載劑製備而用作為漱口水，其中於流體載劑中之化合物係經口施用

及漱口後吐出或吞嚥。藥學上可相容之結合劑及/或輔劑材料包括作為組成物之一部分。錠劑、丸劑、膠囊劑、菱形錠等可含有下列任一種成分或具有類似性質之化合物：黏結劑諸如微晶纖維素、西黃著膠或明膠；賦形劑諸如澱粉或乳糖；崩散劑諸如褐藻酸、普姆膠(Primogel)、或玉米澱粉；潤滑劑諸如硬脂酸鎂或史特羅(Sterotes)；滑動劑諸如膠體二氧化矽；甜味劑諸如蔗糖或糖精；或矯味劑諸如薄荷、水楊酸甲酯、或柳橙口味。

用於藉吸入投藥，化合物係呈氣溶膠噴射劑劑型而由加壓容器或配送器其中含有適當推進劑例如氣體諸如二氧化碳或霧化器投予。

也可藉經黏膜或經皮手段達成系統性投藥。用於經黏膜或經皮投藥，適合欲穿透之障壁之穿透劑用於調配物。此等穿透劑為技藝界一般所已知，例如包括經黏膜投予、清潔劑、膽鹽、及梭鏈孢酸(fusidic acid)衍生物。經黏膜投藥可透過使用鼻噴霧劑或栓劑來達成。用於經皮投藥，如技藝界一般已知，活性化合物係調配成軟膏劑、油膏劑、膠漿劑、或乳膏劑。

於一個面相中，活性化合物係使用可保護化合物免於快速被體內清除之藥學上可接受之載劑製備，諸如控制式釋放調配物包括植體及微包囊遞送系統。生物可分解、生物可相容之聚合物皆可使用，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酐類、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯類及聚乳酸。此等調配物之製法為熟諳技藝人士顯然易知。材料於市面上也可

得自阿薩公司(Alza Corporation)及諾瓦藥品公司(Nova Pharmaceuticals, Inc.)。微脂粒懸浮液(包括使用抗病毒抗原之單株抗體而靶定於受感染細胞之微脂粒)也可用作為藥學上可接受之載劑。此等製劑可根據熟諳技藝人士已知方法例如述於美國專利案第4,522,811號之方法製備。

特佳為了容易投藥及劑量之均勻度係將口服或腸道外組成物調配成為單位劑型。此處使用之單位劑型係指適合呈單一劑量用於欲治療之個體之實體上分開的單位；各個單位含有經過計算可產生期望之療效之預定量之活性成分結合所需藥學組成物。本發明之單位劑型之規格係依據活性化合物之獨特特徵及欲達成之特定療效指示且直接決定。

於治療用途中，於多項其它影響所選用之劑量之因素中，根據本發明所使用之藥學組成物之劑量係依據接受者病人之使用藥劑、年齡、體重、及臨床狀況以及臨床醫師或投予該治療之執業醫師之經驗及判定決定。大致上，劑量須足夠導致腫瘤生長的減慢且較佳為退行，同時也較佳造成癌症的完全退行。劑量可於由每日約0.01毫克/千克至每日約3000毫克/千克之範圍。於較佳面相中，劑量可於每日約1毫克/千克至每日約1000毫克/千克之範圍。於一個面相中，劑量係於約0.1毫克/日至約50克/日；約0.1毫克/日至約25克/日；約0.1毫克/日至約10克/日；約0.1毫克/日至約3克/日；或約0.1毫克/日至約1克/日，以單劑、平分多劑、或連續劑量投藥(劑量可依據病人體重，單位千克、體表面

積，單位平方米，及年齡，單位歲調整)。有效量之藥劑為如臨床醫師或其它合格觀察員發現客觀可識別之改善。舉例言之，病人之腫瘤退行可參照腫瘤直徑測定。腫瘤直徑縮小係指示腫瘤退行。退行也於治療後不再發生腫瘤指示。如此處使用，「劑量有效方式」一詞係指於個體或細胞可產生期望之生物效果之活性化合物用量。

藥學組成物可連同投藥指示含括於容器、包裝、或配送器內。

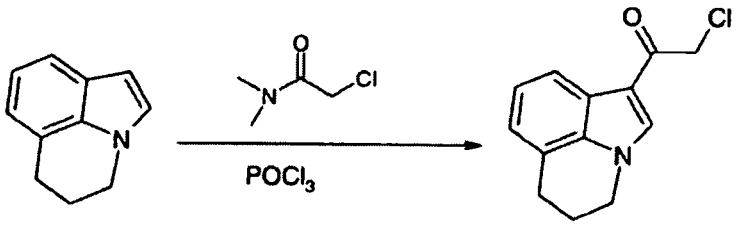
此處引用之全部專利案、專利申請案、及參考案全文皆係以引用方式併入此處。

實例

實例提供如下以供進一步舉例說明本發明之不同特徵。實例也舉例說明實施本發明之有用方法。此等實例並未限制本案所請求專利之發明。

實例1. 4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮之製備

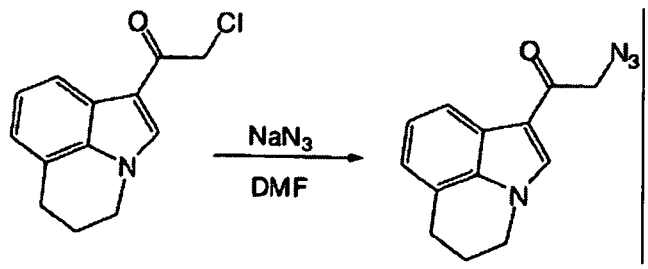
步驟1



於2-氯-N,N-二甲基乙醯胺之以冰冷卻之溶液(10毫

升，97.5毫莫耳)內加入$POCl_3$ (14毫升，149.5毫莫耳)。澄清混合物於室溫攪拌20分鐘。加入5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉(10.20克，65.0毫莫耳，其製備請參考WO06086486A1)。混合物於80℃攪拌2小時。混合物傾倒至冰(200毫升)及二氯甲烷(300毫升)上。添加水性氫氧化鈉調整至pH>12。二氯甲烷層經分離，以水(300毫升)洗滌，以硫酸鈉脫水，過濾及蒸發獲得深色固體。固體溶解於DCM及藉二氧化矽凝膠管柱層析術純化(洗提劑：0%至1% EtOAc於DCM)。於使用乙酸乙酯濕磨後獲得2-氯-1-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-乙酮，呈灰白色固體(10.82克，71%)。M.p.= 118-119 °C；^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ：8.00 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.23 (m, 1H), 7.03 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.21 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.01 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.27 (m, 2H). LCMS：*m/e* 234.03 [M+H]。

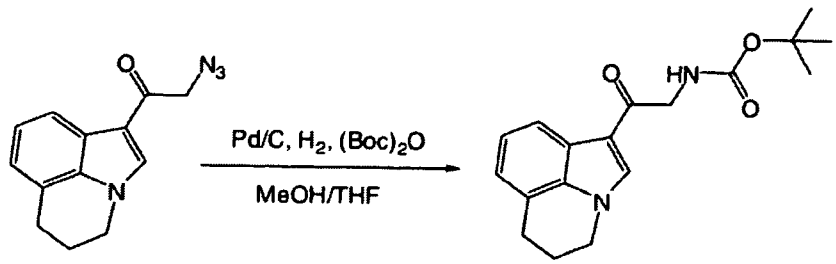
步驟2



2-氯-1-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-乙酮(5.04克，21.6毫莫耳)及疊氮化鈉(1.47克，22.7毫莫耳)於DMF(20毫升)之溶液於室溫振搖16小時。加水(200毫升)及

乙酸乙酯(200毫升)。分離乙酸乙酯層，以水(200毫升)洗兩次，以硫酸鈉脫水，過濾及濃縮。殘餘物藉急速管柱層析術純化(SiO_2，淨DCM)，獲得2-疊氮基-1-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-乙酮，呈灰白色固體(4.70克，90%)。M.p.= 92-93 °C；^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ：7.99 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.23 (m, 1H), 7.04 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.35 (s, 2H), 4.21 (t, J = 5.6Hz, 2H), 3.01 (t, J = 6.4Hz, 2H), 2.27 (m, 2H). LCMS：*m/e* 241.07 [M+H]。

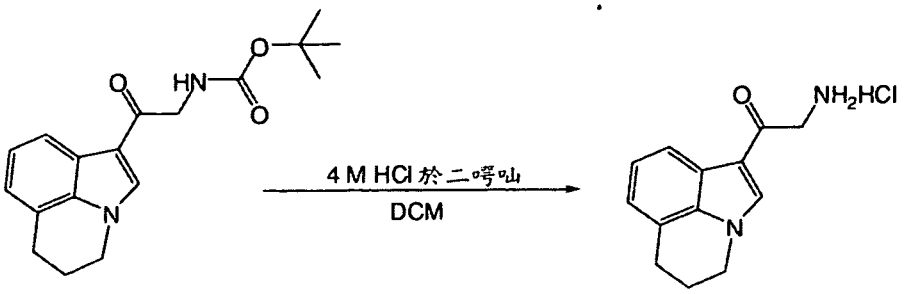
步驟3



2-疊氮基-1-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-乙酮(4.70克，19.58毫莫耳)，$(BOC)_2O$ (4.48克，20.56毫莫耳)，Pd/C(10%)於THF(30毫升)/MeOH(20毫升)之溶液於氫氣(60 psi)下振搖隔夜。混合物通過西萊特(Celite)襯墊過濾及濃縮獲得殘餘物，藉二氧化矽凝膠管柱層析術純化(洗提劑：2/1 hex/EtOAc)。獲得[2-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-2-酮基-乙基]-胺基甲酸第三丁酯，呈白色固體(2.82克，46%)。M.p.= 175-177 °C；^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：8.35 (s, 1H), 7.86 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.12 (t, J

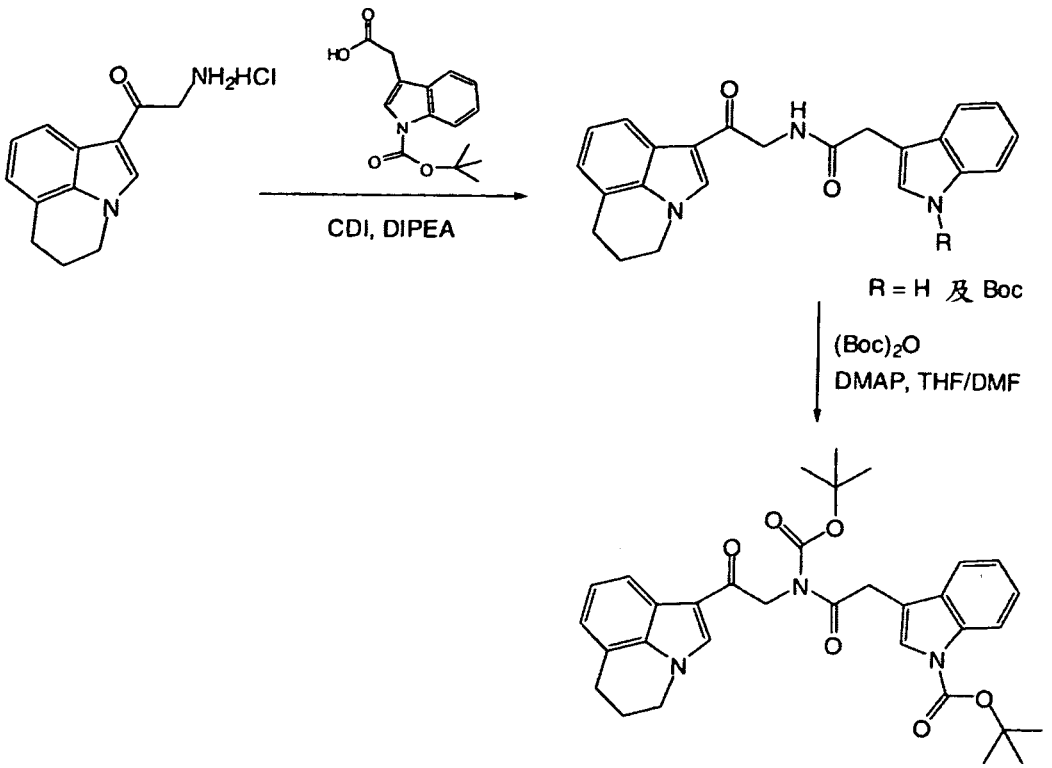
= 7.6Hz, 1H), 6.99 (m, 2H), 4.27 (d, *J* = 6.0Hz, 2H), 4.23 (t, *J* = 6.0Hz, 2H), 2.94 (t, *J* = 6.4Hz, 2H), 2.14 (m, 2H), 1.41 (s, 9H). LCMS：*m/e* 315.21 [M+H], 259.17 [M-56]。

步驟4



於[2-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-2-酮基-乙基]-胺基甲酸第三丁酯(1.35克，4.30毫莫耳)於DCM(50毫升)之溶液內於室溫添加鹽酸(4M於二㗁烷，11毫升，44毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌2小時。所形成之沉澱通過濾紙過濾，以DCM洗滌及於減壓下乾燥獲得2-胺基-1-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-乙酮鹽酸鹽(1.06克，99%)，呈白色固體。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ：8.50 (s, 1H), 8.42 (brs, 3H), 7.88 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.28 (m, 4H), 2.95 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.15 (m, 2H). LCMS：*m/e* 215.21 [M+H]。

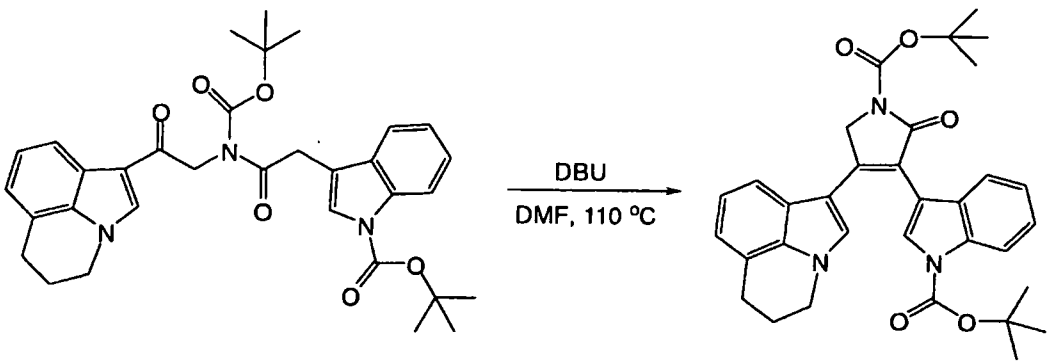
步驟6及7



於3-羧基甲基-吲哚-1-羧酸第三丁酯(1.35克，4.95毫莫耳)於無水DCM(40毫升)之溶液內於室溫加入CDI(0.98克，6.03毫莫耳)。混合物於室溫攪拌2小時，然後冷卻至0℃及以冷水性碳酸氫鈉洗滌。DCM層以硫酸鎂脫水，過濾及濃縮。殘餘物溶解於DCM(10毫升)及甲苯(10毫升)及蒸發。於此殘餘物內加入無水THF(20毫升)/DMF(20毫升)，DIPEA(2.5毫升，14.85毫莫耳)，接著加入2-胺基-1-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-乙酮鹽酸鹽(1.26克，5.04毫莫耳)。混合物於室溫攪拌隔夜。反應混合物分溶於乙酸乙酯(200毫升)及水(150毫升)。乙酸乙酯層以水性碳酸氫鈉、食鹽水洗滌，以硫酸鎂脫水，濃縮及直接用於次一步

驟。於殘餘物於DCM(20毫升)及DMF(10毫升)之懸浮液內加入$(Boc)_2O$(3.23克，14.85毫莫耳)及DMAP(催化用量)。反應混合物於室溫攪拌隔夜。反應混合物經濃縮，殘餘物藉二氧化矽凝膠管柱層析術純化(洗提劑：3/1然後2/1己烷/乙酸乙酯)。獲得3-(2-{第三丁氧羰基-[2-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-2-酮基-乙基]-胺基}-2-酮基-乙基)-吲哚-1-羧酸第三丁酯，呈灰黃色固體(2.10克，二步驟共74%)。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：8.44 (s, 1H), 8.05 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.54 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.13 (dd, $J_1 = J_2$ = 8.0 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.37 (s, 2H), 4.24 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.95 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.15 (m, 2H), 1.62 (s, 9H), 1.39 (s, 9H). LCMS：*m/e* 572.20 [M+H]。

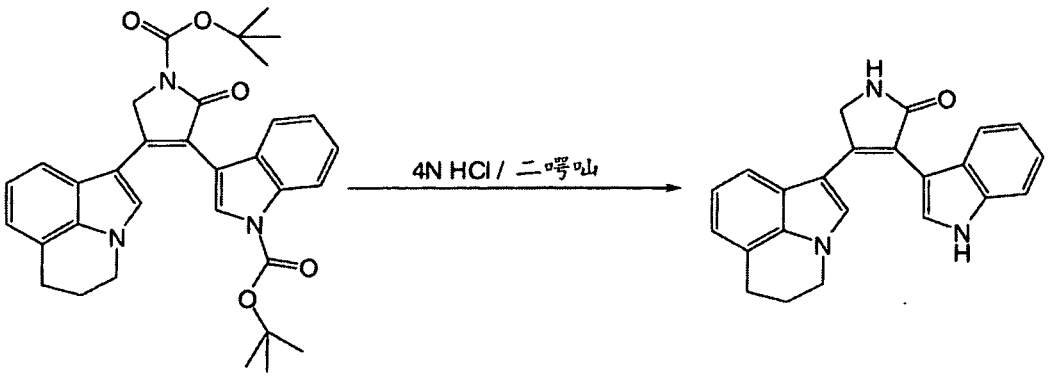
步驟8



3-(2-{第三丁氧羰基-[2-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-2-酮基-乙基]-胺基}-2-酮基-乙基)-吲哚-1-羧酸

第三丁酯(1.04克，1.82毫莫耳)及DBU (0.27毫升，1.91毫莫耳)於無水DMF (20毫升)之混合物於110℃攪拌2小時。混合物經冷卻及蒸發。殘餘物藉二氧化矽凝膠管柱層析術純化(洗提劑：4/1然後3/1己烷/乙酸乙酯)獲得3-[1-第三丁氧羰基-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-2-酮基-2,5-二氫-1H-吡咯-3-基]-吲哚-1-羧酸第三丁酯，呈黃色泡沫狀固體(0.64克，64%)。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：8.13 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.05 (m, 3H), 6.89 (m, 2H), 5.00 (s, 2H), 4.03 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.88 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.03 (m, 2H), 1.65 (s, 9H), 1.54 (s, 9H). LCMS：*m/e* 554.21 [M+H]。

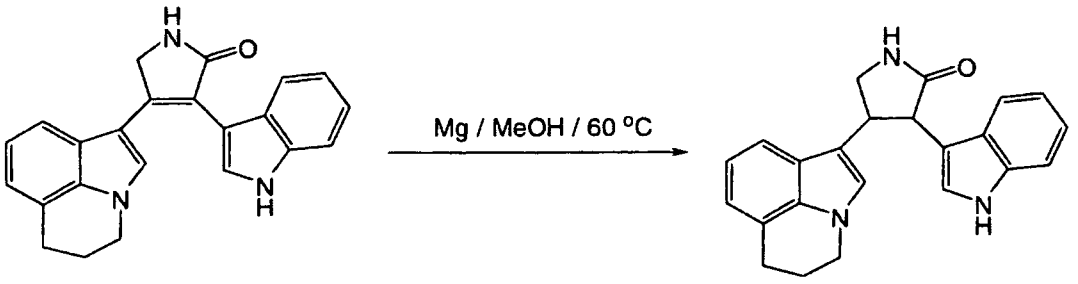
步驟9



3-[1-第三丁氧羰基-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-2-酮基-2,5-二氫-1H-吡咯-3-基]-吲哚-1-羧酸第三丁(408毫克，738微莫耳)與4M鹽酸於二㗁烷(15毫升)之混合物於室溫振搖16小時。溶劑經去除，殘餘物分溶於EtOAc

及2N NaOH。有機層經濃縮及殘餘物藉急速管柱層析術純化(SiO_2，DCM/MeOH)。所得固體由DCM再結晶，獲得4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-1,5-二氫-吡咯-2-酮，呈灰黃色固體(159毫克，61%)。M.p.= 260-262 °C；^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：11.22 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.44-7.39 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.05-6.95 (m, 3H), 6.82-6.74 (m, 3H), 4.51 (s, 2H), 4.00 (t, *J* = 5.6Hz, 2H), 2.86 (t, *J* = 6.0Hz, 2H), 2.05 (t, *J* = 5.2Hz, 2H). LCMS：*m/e* 354.12 [M+H]。

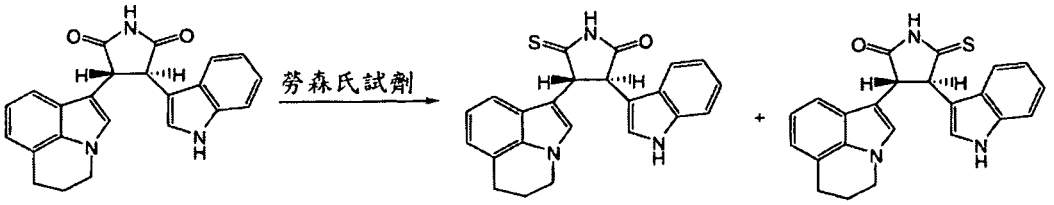
步驟10(還原程序A)



4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-1,5-二氫-吡咯-2-酮(95毫克，270微莫耳)，鎂鏇屑(1.3克，54毫莫耳)及甲醇(15毫升)之混合物於60℃加熱3小時。加水至反應混合物，以濃鹽酸將pH調整至1。混合物於乙酸乙酯萃取及以飽和碳酸鈉溶液洗滌。有機層經脫水(硫酸鎂)，過濾及蒸發獲得淺褐色固體，固體於熱EtOAc濕磨，獲得4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮，呈白色固體(15毫克，16%，由^{1}H NMR

得知順/反：1/3.7)。^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) *trans*-δ：7.42 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.06 (m, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.93 (m, 1H), 6.82 (m, 2H), 4.14-4.05 (m, 4H), 3.85 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 2.90 (t, *J* = 6.0 Hz, 2 H), 2.12 (m, 2H). LCMS：*m/e* 356.13 [M+H]。

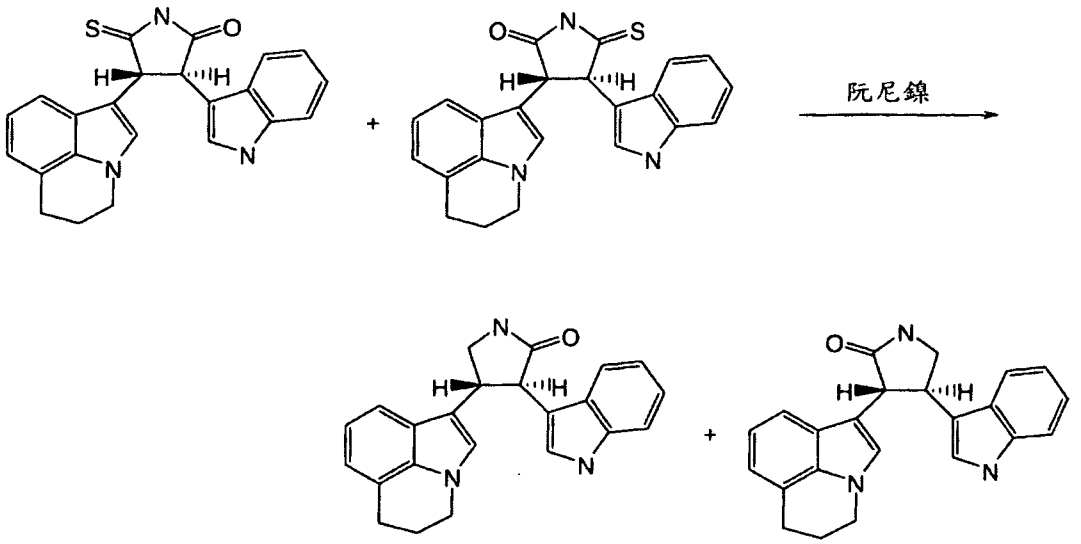
實例2. (3R,4R)-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-5-硫酮基-吡咯啶-2-酮及(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-5-硫酮基-吡咯啶-2-酮(1/1混合物)之製備



於(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2,5-二酮(1.1克，2.71毫莫耳)於無水四氫呋喃(20毫升)之溶液內加入勞森氏試劑(1.0克，2.7毫莫耳)。反應混合物加熱至回流17小時，然後冷卻至室溫。於減壓下去除溶劑，殘餘物藉急速管柱層析術純化(SiO_2，乙酸乙酯：己烷；40：60)獲得區域異構物(3R,4R)-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-5-硫酮基-吡咯啶-2-酮及(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-5-硫酮基

-吡咯啶-2-酮之1/1混合物(470毫克，44%)。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ：13.09 (s, 1H), 11.4(d, J = 18.4 Hz, 1H), 7.35 (m. 3H), 7.32 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.07 (m, 1H), 6.95 (t, , J = 7.6 Hz, 2H), 6.87 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 6.84 (m, 1H), 4.65 (dd, J = 6.4 and 16.4 Hz, 1H), 4.51 (dd, J = 6.4 and 10.0 Hz, 1H), 4.08 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.88 (t, J = 9.6 Hz 2H), 2.10 (brs, 2H). LCMS：386 [M+H]。

實例3. (3R,4R)-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮及(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮(1/1混合物)之製備

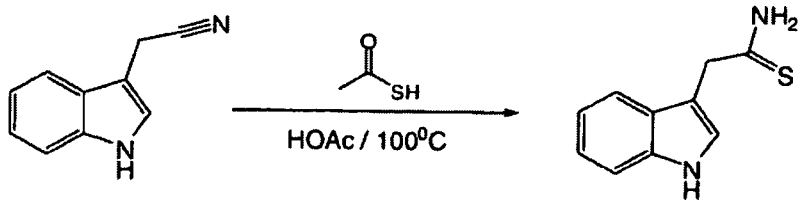


(3R,4R)-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮(0.070克，0.181毫莫耳)於甲醇(15毫升)之溶液以過量阮尼鎳處理。混合物於室溫攪拌15分鐘。反應混合物於氮下通過西萊特襯墊過濾及溶劑

於減壓下去除。殘餘物藉急速層析術純化(乙酸乙酯：甲醇；98：2)，獲得區域異構物(3R,4R)-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮及(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮之混合物(1/1) (22毫克，34%)。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ：10.84 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 7.91 (brs, 1H), 7.46 (dd, J = 7.7 and 13.6 Hz, 1H), 7.30-7.16 (m, 4H), 7.02 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.84-6.78 (m, 3H), 4.04 (brs, 2H), 4.0 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 3.35 (brs, 2H), 2.86 (brm, 2H), 2.07 (brm, 2H). LCMS：356 [M+H]。

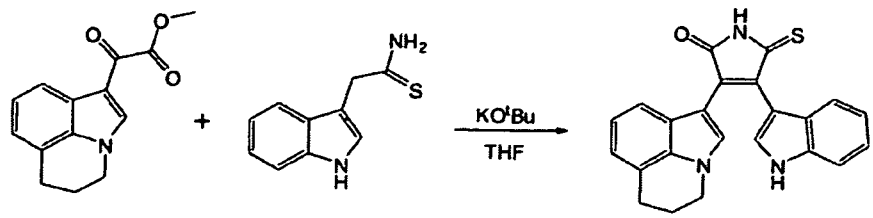
實例4. (±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮之製備

步驟1



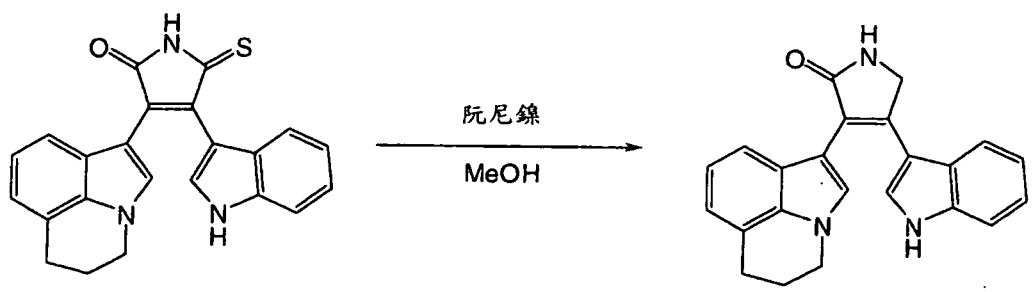
(1H-吲哚-3-基)-乙腈(5.0克，32毫莫耳)，巰基乙酸(6.8毫升，96毫莫耳)及冰醋酸(25毫升)之溶液於100℃攪拌4小時。冷卻至室溫後，反應混合物以乙酸乙酯稀釋，以水洗兩次及以食鹽水洗滌。然後有機層於減壓下濃縮及藉管柱層析術純化(SiO_2，EtOAc/己烷類)，獲得2-(1H-吲哚-3-基)-硫代乙醯胺，呈橙色固體(2.9克，48%)。

步驟2



於(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-酮基-乙酸甲酯(3.4克，14毫莫耳)及2-(1H-吲哚-3-基)-硫代乙醯胺(2.9克，15毫莫耳)於無水THF(34毫升)之溶液內，於-30℃於氮下逐滴加入1M tBuOK於THF(42毫升，42毫莫耳)。讓反應混合物以2小時時間溫熱至室溫。反應混合物冷卻至0℃及徐緩添加濃鹽酸(42毫升)。讓混合物經1小時時間以攪拌溫熱至室溫隨後以乙酸乙酯及水稀釋。有機層經分離，以食鹽水洗滌及蒸發獲得深色殘餘物。殘餘物藉管柱層析術純化(SiO_2，EtOAc/己烷類)。獲得3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-5-硫酮基-1,5-二氫-吡咯-2-酮，呈深色泡沫體(4.7克，87%)。

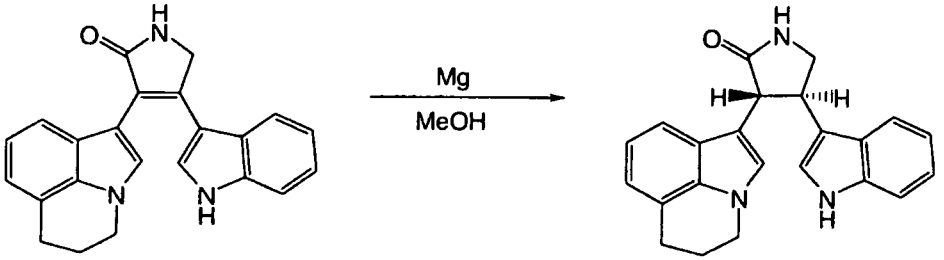
步驟3



於3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲

唑-3-基)-5-硫酮基-1,5-二氫-吡咯-2-酮(4.7毫克，12毫莫耳)於甲醇(75毫升)之溶液內於氮下藉攪拌加入阮尼鎳。混合物於氮下過濾，濾液經蒸發。所得殘餘物藉管柱層析術純化(SiO_2，EtOAc/己烷類)，獲得3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲唑-3-基)-1,5-二氫-吡咯-2-酮，呈灰白色固體(2.2克，6毫莫耳，51%)。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ：11.33 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.37 (dd, *J* = 8.0, 6.0Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 2.8Hz, 1H), 7.07 (t, *J* = 7.6Hz, 1H), 6.90 (t, *J* = 8.0Hz, 1H), 6.76 (d, *J* = 6.4Hz, 1H), 6.62 (m, 2H), 4.53 (s, 2H), 4.20 (t, *J* = 5.6Hz, 2H), 2.94 (t, *J* = 5.6Hz, 2H), 2.17 (m, 1H), 1.17 (m, 1H)；LCMS：354 [M+H]。

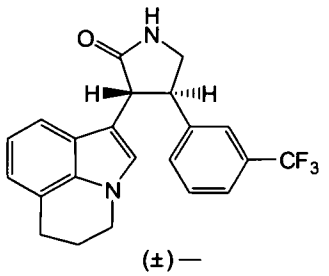
步驟4



3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲唑-3-基)-1,5-二氫-吡咯-2-酮(700毫克，2毫莫耳)，甲醇(25毫升)及鎂鏇屑(963毫克，40毫莫耳)之混合物於60℃加熱4小時。然後讓反應混合物冷卻至室溫及蒸發。殘餘物於1M鹽酸(70毫升)攪拌15分鐘及以乙酸乙酯萃取兩次。有機層經蒸發及殘餘物使用管柱層析術純化(SiO_2，EtOAc/MeOH)。使

用熱乙酸乙酯濕磨獲得(±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮，呈灰白色粉末(190毫克，27%)。M.p.= 241-243 °C；^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：10.86 (d, *J* = 1.6Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.44 (d, *J* = 7.6Hz, 1H), 7.33-7.23 (m, 3H), 7.17 (s, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.86-6.78 (m, 2H), 4.03 (m, 4H), 3.81 (m, 1H), 3.31 (m, 1H), 2.87 (t, *J* = 6.4Hz, 2H), 2.08 (m, 2H)；LCMS：356 [M+H]。

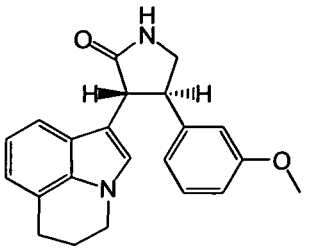
實例5. (±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(3-三氟甲基-苯基)-吡咯啶-2-酮之製備



(±)—

如實例4步驟1-4所示製備，但使用2-(3-(三氟甲基)苯基)乙腈替代(1H-吲哚-3-基)-乙腈。獲得(±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(3-三氟甲基-苯基)-吡咯啶-2-酮，呈灰白色固體。M.p.= 82-85 °C；^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：7.95 (s, 1H), 7.74 (m, 2H), 7.53 (m, 2H), 7.15 (m, 2H), 6.80 (m, 2H), 4.05 (m, 3H), 3.90 (m, 1H), 3.67 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 3.33 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.87 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.08 (m, 2H)；LCMS：385 [M+H]。

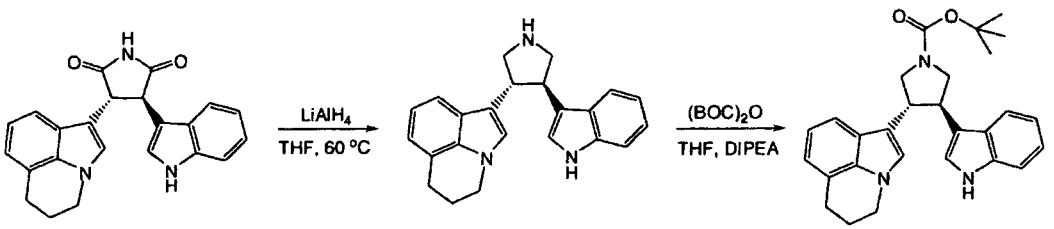
實例6. (±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(3-甲氧基-苯基)-吡咯啶-2-酮之製備



如實例4步驟1-4所示製備，但使用2-(3-甲氧基苯基)乙腈替代(1H-吲哚-3-基)-乙腈。獲得(±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(3-甲氧基-苯基)-吡咯啶-2-酮，呈白色固體。M.p.= 191-194 °C；^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ: 7.86 (s, 1H), 7.27 (m, 2H), 7.16 (m, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.80 (m, 4H), 4.06 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.89 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.62 (m, 1H), 3.25 (m, 1H), 2.87 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.07 (m, 2H)；LCMS：347 [M+H].

實例7. 1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉之製備

步驟1

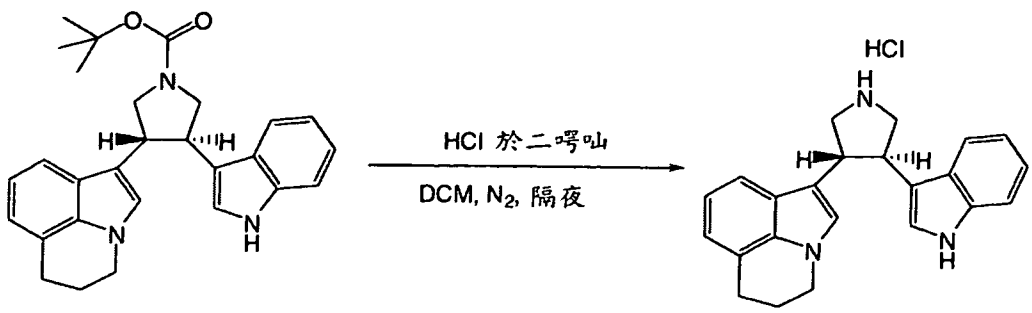


(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2,5-二酮(WO2006086484A1，8.34克，22.6毫莫耳)於無水THF(400

毫升)之溶液以氮氣掃除及冷卻至0℃。逐滴添加$LiAlH_4$(226毫升，1M於THF，226毫莫耳)。反應混合物於60℃攪拌隔夜。混合物以冰水浴冷卻及於氮氣氣氛下加水(40毫升)來淬熄過量$LiAlH_4$。加水(500毫升)。混合物以4M HCl酸化至pH<2。添加2M NaOH來調整至pH>9。混合物以EtOAc (2 X 800毫升)萃取。組合乙酸乙酯層以飽和水性氯化鈉溶液洗滌，以硫酸鈉脫水及濃縮獲得1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉，呈橙/黃色固體。

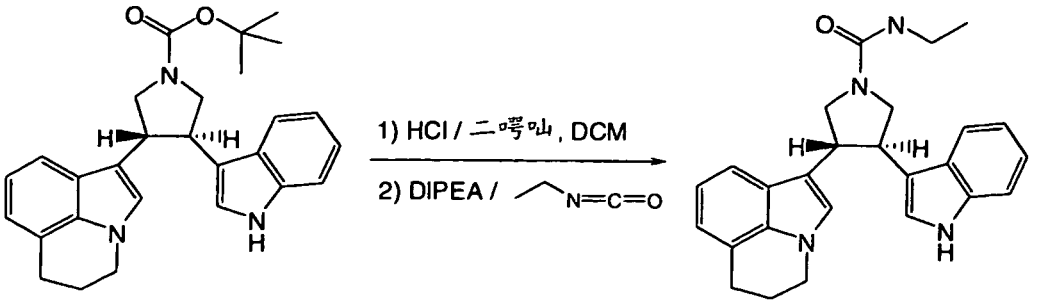
1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉溶解於THF(150毫升)及添加二碳酸二第三丁酯(5.17克，23.7毫莫耳)及DIPEA(11.8毫升，67.8毫莫耳)。然後混合物於室溫攪拌16小時。於減壓下去除溶劑，殘餘物藉急速管柱層析術純化(SiO_2，洗提劑：2% EtOAc於DCM)。所得固體由DCM/EtOAc再結晶，獲得(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸第三丁酯，呈白色固體(6.09克，61%)。M.p.= 239-240 °C；^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：10.81 (s, 1H), 7.56 (dd, J = 8.0 and 4.8Hz, 1H), 7.39 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.22-7.18 (m, 2H), 7.02 (t, J = 7.2Hz, 1H), 6.92 (m, 1H), 6.84 (m, 1H), 6.77 (d, J = 7.2Hz, 1H), 4.03-3.88 (m, 6H), 3.44-3.29 (m, 2H), 2.84 (t, J = 6.0Hz, 2H), 2.04 (m, 2H), 1.42 (s, 9H). LCMS：*m/e* 386.12 [M-56]。

步驟2



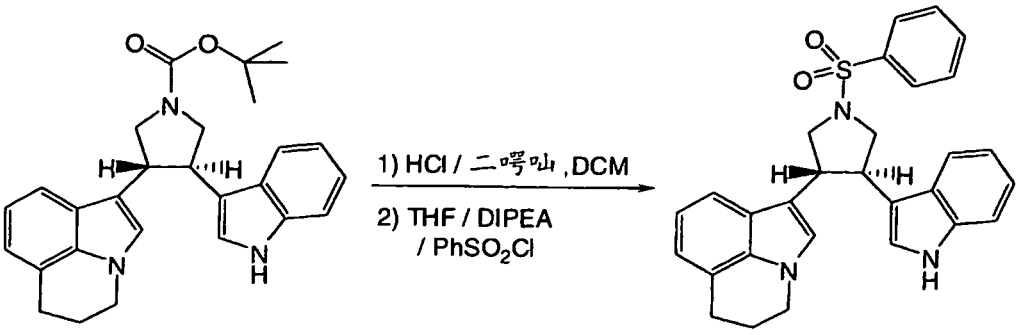
於(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸第三丁酯(0.205 克，0.46 毫莫耳)於 DCM(10 毫升)之溶液內於氮氣氣氛下加入 4M 鹽酸於二噁烷(1.15 毫升，4.6 毫莫耳)。混合物於室溫攪拌隔夜。於減壓下去除溶劑，殘餘物以 DCM 洗滌。由乙醇再結晶獲得 1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉鹽酸鹽，呈白色固體。M.p.= dec.>70 °C；^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：10.95 (s, 1H), 9.24 (s, 1H), 7.54 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.39 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.32-7.26 (m, 3H), 7.05 (t, J = 7.6Hz, 1H), 6.94 (t, J = 7.6Hz, 1H), 6.87 (t, J = 7.6Hz, 1H), 6.80 (d, J = 7.2Hz, 1H), 4.03 (m, 4H), 3.85 (br s, 1H), 3.52-3.35 (m, 3H), 2.85 (t, J = 6.0Hz, 2H), 2.05 (m, 2H). LCMS：*m/e* 342.17 [M+H]。

實例8. (3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸乙醯胺之製備



於(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸第三丁酯(0.20克，0.45毫莫耳)於DCM(5毫升)之溶液內加入4M鹽酸於二㗁烷(1.7毫升，6.8毫莫耳)。2小時後，反應混合物經濃縮，殘餘物攝取於DCM(5毫升)。加入DIPEA (0.32毫升，1.70毫莫耳)及異氰酸乙酯(42微升，0.53微莫耳)，及反應混合物於室溫攪拌隔夜。過濾出固體及以DCM洗滌，獲得(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸乙醯胺，呈白色晶體(88毫克，47%)。M.p.= 278-279 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ: 10.80 (s, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 7.6Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.20 (d, J = 2.4Hz, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.02 (t, *J* = 8.0Hz, 1H), 6.93 (t, *J* = 7.2Hz, 1H), 6.85 (t, *J* = 7.6Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 6.8Hz, 1H), 6.14 (t, *J* = 5.6Hz, 1H), 4.03-3.94 (m, 6H), 3.41-3.32 (m, 2H), 3.11-3.04 (m, 2H), 2.84 (t, *J* = 6.0Hz, 2H), 2.04 (t, *J* = 5.2Hz, 2H), 1.03 (t, *J* = 7.2Hz, 3H). LCMS：*m/e* 413.16 [M+H]。

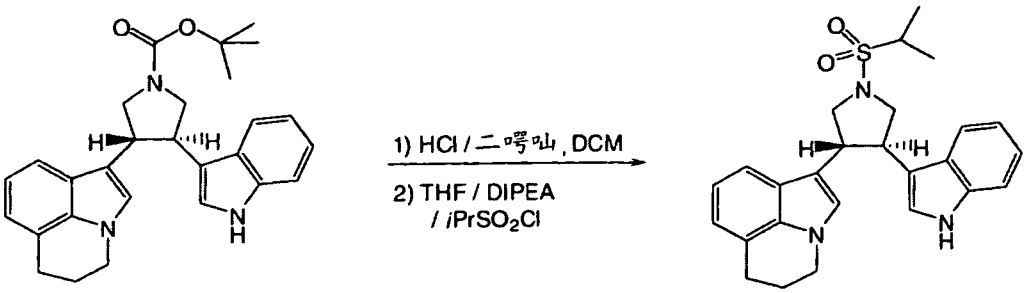
實例9. 1-[(3R,4R)-1-苯磺醯基-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉之製備



於(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸第三丁酯(200毫克，450微莫耳)於DCM(5毫升)之溶液內於氮氣氣氛下添加4M鹽酸於二噁烷(1.7毫升，6.8毫莫耳)。混合物於室溫攪拌2小時。於減壓下去除溶劑，殘餘物溶解於DCM(5毫升)。加入DIPEA(320微升，1.8毫莫耳)及苯磺醯氯(95毫克，0.54微莫耳)，混合物於室溫攪拌16小時。於減壓下去除溶劑。殘餘物溶解於DCM，以飽和碳酸鈉溶液及水洗滌及蒸發。殘餘物藉管柱層析術純化(SiO_2，EtOAc/己烷類)，獲得1-[(3R,4R)-1-苯磺醯基-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉，呈白色固體(135毫克，57%)。M.p.= 115-125 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ: 10.81 (s, 1H), 7.96 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.86 (t, J = 7.6Hz, 1H), 7.75 (t, J = 8.0Hz, 2H), 7.26 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.16 (d, J = 7.6Hz, 1H), 7.09 (d, J = 6.4Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.00 (t, J = 7.6Hz, 1H), 6.92 (dd, J = 7.2, 2.0Hz, 1H), 6.86 (t, J =

7.6Hz, 1H), 6.79-6.74 (m, 2H), 4.00-3.90 (m, 4H), 3.78-3.69 (m, 2H), 3.39-3.29 (m, 2H), 2.81 (t, *J* = 6.0Hz, 2H), 2.01 (m, 2H). LCMS：*m/e* 482.09 [M+H].

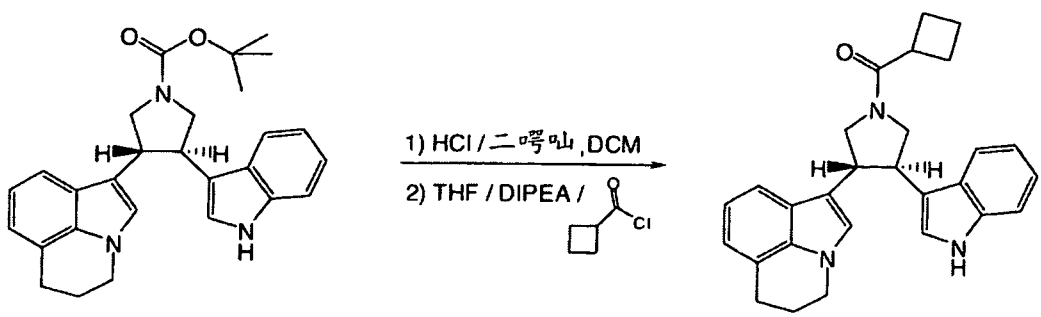
實例10. 1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-1-(丙-2-磺醯基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉之製備



於(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸第三丁酯(200毫克，450微莫耳)於DCM(5毫升)之溶液內於氮氣氣氛下添加4M鹽酸於二㗁烷(1.7毫升，6.8毫莫耳)。混合物於室溫攪拌2小時。於減壓下去除溶劑，殘餘物溶解於DCM(5毫升)。加入DIPEA(320微升，1.8毫莫耳)及異丙基磺醯氯(77毫克，0.54微莫耳)，混合物於室溫攪拌16小時。於減壓下去除溶劑。殘餘物溶解於DCM，以飽和碳酸鈉溶液及水洗滌及蒸發。殘餘物藉管柱層析術純化(SiO_2，EtOAc/己烷類)，獲得1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-1-(丙-2-磺醯基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉，呈白色固體(101毫克，50%)。M.p.= 100-115 °C；^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：10.85 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.26 (d, *J* = 2.4Hz, 1H), 7.23 (s,

1H), 7.03 (t, J = 7.2Hz, 1H), 6.94 (t, J = 7.2Hz, 1H), 6.86 (t, J = 7.6Hz, 1H), 6.78 (d, J = 7.2Hz, 1H), 4.07-3.95 (m, 6H), 3.55-3.46 (m, 3H), 2.84 (t, J = 6.0Hz, 2H), 2.05 (t, J = 5.6Hz, 2H), 1.32 (m, 6H). LCMS：*m/e* 448.13 [M+H].

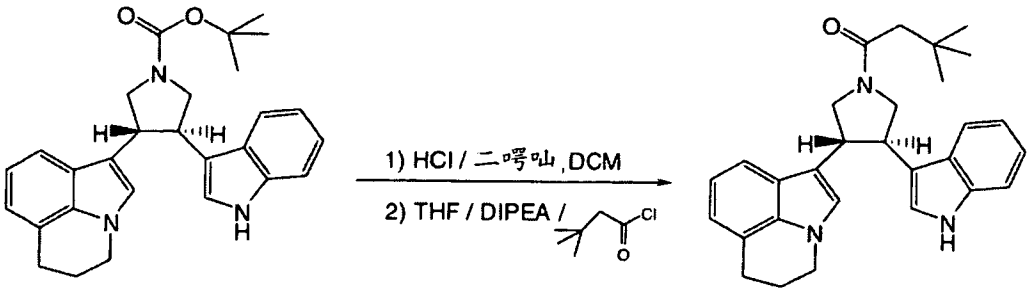
實例11. 環丁基-[(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-基]-甲酮之製備



於(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸第三丁酯(200毫克，450微莫耳)於DCM(5毫升)之溶液內於氮氣氣氛下添加4M鹽酸於二㗁烷(1.7毫升，6.8毫莫耳)。混合物於室溫攪拌2小時。於減壓下去除溶劑，殘餘物溶解於DCM(5毫升)。加入DIPEA(320微升，1.8毫莫耳)及環丁基羰基氯(64毫克，0.54微莫耳)，混合物於室溫攪拌16小時。於減壓下去除溶劑。殘餘物溶解於DCM，以飽和碳酸鈉溶液及水洗滌及蒸發。殘餘物藉管柱層析術純化(SiO_2，EtOAc/己烷類)，及由甲醇再結晶獲得環丁基-[(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-基]-甲酮，呈白色固體(82毫克，43%)。M.p.= 253-255 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ：10.80 (dd, J = 8.0 and 2.0Hz, 1H), 7.54

(dd, J = 17.6 and 8.0Hz, 1H), 7.36 (dd, J = 18.0, 8.0Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.20-7.16 (m, 2H), 7.01 (t, J = 7.6Hz, 1H), 6.93-6.88 (m, 1H), 6.86-6.81 (m, 1H), 6.76 (m, 1H), 4.10-3.87 (m, 6H), 3.52-3.29 (m, 3H), 2.82 (t, J = 6.0Hz, 2H), 2.24-2.00 (m, 6H), 1.87 (m, 1H), 1.75 (m, 1H). LCMS：*m/e* 424.16 [M+H]。

實例12. 1-[(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-基]-3,3-二甲基-丁-1-酮之製備



於(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸第三丁酯(200毫克，450微莫耳)於DCM(5毫升)之溶液內於氮氣氣氛下添加4M鹽酸於二噁烷(1.7毫升，6.8毫莫耳)。混合物於室溫攪拌2小時。於減壓下去除溶劑，殘餘物溶解於DCM(5毫升)。加入DIPEA(320微升，1.8毫莫耳)及3,3-二甲基丁醯氯(72毫克，0.54微莫耳)，混合物於室溫攪拌16小時。於減壓下去除溶劑。殘餘物溶解於DCM，以飽和碳酸鈉溶液及水洗滌及蒸發。殘餘物藉管柱層析術純化(SiO_2，EtOAc/己烷類)。所得固體由甲醇再結晶獲得1-[(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡

咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-基]-3,3-二甲基-丁-1-酮，呈白色固體(106毫克，53%)。M.p.= 202-204 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d6*) δ: 10.82 (dd, J = 7.2 and 1.6Hz, 1H), 7.56 (dd, J = 14.0 and 8.0Hz, 1H), 7.38 (dd, J = 13.6 and 8.0Hz, 1H), 7.30-7.18 (m, 3H), 7.02 (t, J = 8.0Hz, 1H), 6.93 (m, 1H), 6.86 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 4.21-3.89 (m, 6H), 3.65-3.36 (m, 2H), 2.83 (t, J = 5.6Hz, 2H), 2.21 (s, 2H), 2.04 (m, 2H), 1.04 (s, 9H). LCMS：*m/e* 440.20 [M+H]。

實例13.

呈指數狀生長之HT29細胞以每孔5,000細胞接種於黑色96孔孔板內於含10% FBS之培養基培養隔夜。次日，細胞使用達摩FECT(DharmaFECT) 4試劑帶有一池四個met-特異性21-核苷酸RNA寡核苷酸形成19-bp雙顯性核心帶有2-核苷酸3'外懸組合(達摩康公司(Dharmacon, Inc)，科羅拉多州拉法葉)短暫轉移感染2日。於相同條件下平行進行gapdh及siRNA(達摩康公司)之轉移感染及非靶定siRNA之轉移感染作為對照(達摩康公司)。然後細胞於不存在有或存在有遞增濃度之ZvAD-FMK一種不可逆之凋亡蛋白酶抑制劑存在下又培養1日。細胞於標記溶液(10 mM HEPES, 140 mM NaCl及6 mM $CaCl_2$)培養至少10分鐘，該標記溶液含有2微克/毫升赫司特(Hoechst) 33342(藍色通道；分子探針/因維左金公司(Molecular Probes/Invitrogen Corp.)，麻省那堤克)，500倍稀釋之接合素V-福羅斯(Annexin V-Fluos) (綠色

通道；羅氏應用科學公司(Roche Applied Science)，印地安那州印地安那波麗)及1微克/毫升碘化丙錡(propidium iodide) (紅色通道，羅氏應用科學公司)。高內容影像拍攝與分析係使用貝克曼庫特(Beckman Coulter)IC100細胞儀進行。程式設定為每孔拍攝4張影像。曝光時間對DAPI、FITC及若丹明通道分別設定為16.7毫秒/10%增益、500毫秒/35%增益、及300毫秒/30%增益。影像經處理，各通道及各種條件之陽性細胞數目使用Cytoshop 2.1軟體(貝克曼庫特公司)測定。於以met siRNA轉移感染之HT29細胞觀察藉接合素V-福羅斯染色呈陽性之細胞百分比測定之細胞死亡數量比較對照組(gapdh siRNA及非靶定siRNA轉移感染細胞)的增加。此外，存在有較高濃度ZvAD-FMK可降低細胞死亡的程度，指示c-Met基因剔除誘導HT29細胞之凋亡蛋白酶相依性細胞凋亡。此等資料進一步指出HT29細胞至少部分依賴c-Met路徑來存活，因此為測試c-Met抑制劑化合物之良好模型。例如參考第1A圖。

平行使用恰好相同條件進行相同實驗來檢驗於HT29細胞中使用siRNA之有效剔除GAPDH及c-Met。經3日轉移感染後，全細胞萃取物於細胞溶解緩衝液(細胞發訊技術公司(Cell Signaling Technology))中準備，緩衝液中含有20 mM Tris-HCl[pH 7.5], 150 mM NaCl, 1 mM Na_2EDTA, 1 mM EGTA, 1%崔頓(Triton), 2.5 mM焦磷酸鈉, 1 mM β-甘油基磷酸, 1 mM Na_3VO_4, 1微克/毫升亮肽素(leupeptin)及1 mM PMSF。蛋白質濃度係根據製造商指示使用拜雷

(Bio-Rad)試劑(拜雷公司，加州赫克立士)藉布萊福(Bradford)檢定分析測定。於還原條件下樣本(共50微克蛋白質)藉SDS-7.5%聚丙烯醯胺明膠電泳(PAGE)光學分割及轉移至聚亞乙烯二氟膜(米里普公司(Millipore Corp.)，麻省拜雷卡)上。膜於TBS-T (50 mM Tris-HCl[pH 7.6], 200 mM NaCl, 0.1%吞恩(Tween) 20)與3%牛血清白蛋白於4℃培養隔夜。經由膜與兔多株抗-c-Met抗體(sc-10；聖塔庫司生技公司(Santa Cruz Biotechnology)，加州聖塔庫司)及抗GAPDH(達摩康公司)及抗β-激動蛋白(因維左金公司，加州卡斯貝)之單株抗體於TBS-T含3%牛血清白蛋白培養，測定c-Met、GAPDH及β-激動蛋白表現濃度。於TBS-T徹底洗滌後，加入二次辣根過氧化酶軛合抗體(阿默山生科公司(Amersham Biosciences Corp.)，紐澤西州匹茲卡威)之1：5,000稀釋液歷1小時，根據製造商指示，使用加強化學發光檢測系統(柏金艾瑪檢測系統公司(PerkinElmer Detection Systems)，麻省沃本)目測觀察特定蛋白質帶。例如參考第1B圖。

實例14. c-Met 33P檢定分析

購自歐瑞金技術公司(Origen Technologies)之全長c-Met之cDNA用作為PCR擴增之樣板。編碼激酶功能部位之DNA片段(1038-1346)插入諾瓦金(Novagen)載體pet28a之NcoI與SalI位置間。引子經設計含有6-組胺酸標籤於N端。為了表現去磷酸化之c-Met激酶蛋白質，酪胺酸磷酸酶PTP1B (1-283)循序接合至所製成之構成體之SalI與NotI位

置間。第二核糖體結合位置合併入SalI位置後方之PTP1B引子內。N端His-加標籤蛋白質表現於循環成長(Circlegrow)培養醪(Q-拜爾金公司(Q-Biogen))。已轉形的大腸桿菌(E. Coli)細胞系BL21(DE3)RIL(史塔金公司(Stratagene))於37℃培養至OD=0.8，於12℃使用0.3 mM IPTG誘導隔夜。共同表現之蛋白質藉金屬螯合層析術純化，接著藉陰離子管柱及陽離子管柱純化。簡言之，於含20 mM MOPS pH=6.5, 200 mM NaCl, 7.5%甘油,0.1%艾吉普(Igepal),伴以供應1 mM PMSF之140毫升緩衝液內藉超音波振盪分解。於50,000 g離心30分鐘獲得上清液，接著使用8毫升Ni-NTA喜斯班(His Bind)樹脂(諾瓦金公司)於4℃培養1小時。初步使用溶解緩衝液洗滌後，施用第二步驟50毫升洗滌(帶有100 mM NaCl及5 Mm咪唑)。蛋白質係藉200 mM咪唑,pH=8.5, 100 mM NaCl及7.5%甘油洗提，藉通過10毫升QFF管柱直接清潔。流過之蛋白質之鹽濃度及pH值係藉稀釋調整為50 mM及7.5，然後載荷至1毫升SP FF管柱。蛋白質於20 mM TrisHCl pH=8.5, 150 mM NaCl, 7.5%甘油及2 mM DTT之平衡緩衝液內進一步經凝膠過濾。單體未經磷酸化之c-Met蛋白質濃縮至30毫克/毫升供於-80℃儲存。

包含殘基1038-1346之重組未經磷酸化之c-Met (12.5奈克)於室溫與遞增濃度之化合物共同培養15分鐘。與化合物前培養後，100 μM IGF-1Rtide酶基質及100 μM ATP含2.5 μCi [^{33}P-γATP]添加至混合物。反應於含8 mM MOPS-NaOH pH=7.0, 200μM EDTA, 5 mM乙酸鎂, 200 μM二硫赤絲醇

(DTT)及10 mM Na_3VO_4之反應緩衝液內進行30分鐘。然後以10微升3%磷酸結束反應。10微升轉移至過濾板上，以1%磷酸洗3次；使用微貝它計數器讀取計數值，對各化合物測定c-Met抑制作用之IC_{50}。

實例15. MTS檢定分析

HT29細胞以1,800細胞/孔播種於96孔孔板內於含10% FBS之培養基內隔夜。次日，細胞於37℃以遞增濃度之化合物處理24小時。於處理後，移出含化合物之培養基，細胞以PBS洗兩次，又於含10% FBS之不含藥培養基中培養48小時。以2毫克/毫升及0.92毫克/毫升濃度分別添加MTS及PMS歷4小時後，藉分光光譜術於λ=490奈米量化結果，測定各化合物之IC_{50}。

實例號碼	HT-29；IC_{50}	c-Met；p33檢定分析；IC_{50}
1	A	C
2	A	A
3	A	C
4	A	B
5	C	
6	C	
7	A	C
8	C	C
9	C	C
10	C	C
11	C	C
12	C	C

A≤1μM；B=1-10μM；C≥10μM

其它實施例係屬於如下申請專利範圍。雖然已經顯示及說明若干實施例，但可未悖離本發明之精髓及範圍做出多項修改。

【圖式簡單說明】

第1A圖顯示藉met siRAN帶有及未帶有ZvAD-FMK凋亡蛋白酶(caspase)抑制作用用於HT29細胞抑制c-Met徑路之效果。

第1B圖顯示met siRAN用於HT29細胞中之GAPDH及c-Met擊倒之效果。

【主要元件符號說明】

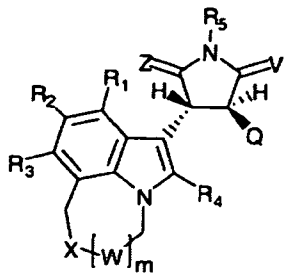
(無)

公告本 102年4月19日修正本 99-105頁

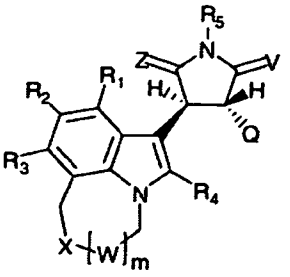
第97123154號專利申請案申請專利範圍替換本 102.4.19

十、申請專利範圍：

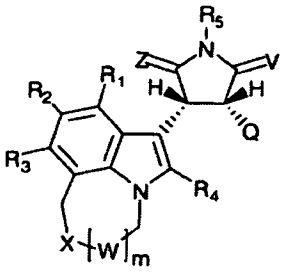
1. 一種式I、II、III或IV化合物或其藥學上可接受之鹽：



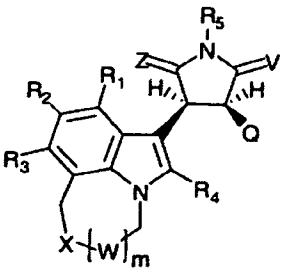
(I)



(II)



(III)



(IV)

其中：

R1、R2及R3分別係選自於由H、F、Cl、Br、I、-NR7R8、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-O-(C_3-C_9)環烷基、及-O-(C_3-C_9)經取代之環烷基、芳基、雜芳基及雜環基所組成之組群；

R4為選自於H、-(C_1-C_4)烷基、及-(C_1-C_4)經取代之烷基所組成之組群；

R5係選自於由H、-(C_1-C_6)烷基、-CH_2R6、-CONHR9、-COR10及-SO_2R11所組成之組群；

R6係選自於由-O-P(=O)($OH)_2$、-O-P(=O)(-OH)(-O-(C_1-C_6)烷基)、-O-P(=O)(-O-(-(C_1-C_6)烷基)$_2$、

-O-P(=O)(-OH)(-O-(CH_2)-苯基)、-O-P(=O)(-O-(CH_2)-苯基)$_2$、羧酸基、胺基羧酸基及胜肽所組成之組群；

R7及R8分別係選自由H及-(C_1-C_6)烷基所組成之組群；

R9、R10、及R11係選自於H、NHR12、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、芳基、雜芳基及雜環基所組成之組群；

Q係選自於由吲哚基、經取代之吲哚基、芳基、雜芳基、雜環基及烷基所組成之組群；

V及Z分別係選自於由O、S及H_2所組成之組群；其條件係V及Z中至少一個為H_2；

X係選自於由-CH_2-、-NR12、S、O及鍵結所組成之組群；

R12係選自於由H、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-C(=O)-O-(C_1-C_6)烷基及-C(=O)-O-(C_1-C_6)經取代之烷基所組成之組群；

W係選自於由-CH_2-、CO及鍵結所組成之組群；

m為0、1或2。

2. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中Q為吲哚基或經以分別係選自於由下列所組成之組群中之一個或多個取代基取代之吲哚基：F、Cl、Br、I、-(C_1-C_6)烷基、-(C_1-C_6)經氟取代之烷基、-(C_3-C_9)環烷基、-(C_3-C_9)經氟取代之環烷基、-O-(C_1-C_6)烷基、-O-(C_1-C_6)經氟取代之烷基、

-O-(C_3-C_9)環烷基、及-O-(C_3-C_9)經氟取代之環烷基、-芳基、-O-芳基、-O-(C_1-C_4)烷基-芳基、-O-(C_1-C_4)烷基-雜環基及-S(=O)$_2$-(C_1-C_6)烷基。

3. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中V為O。

4. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中Z為O及R4為H。

5. 如申請專利範圍第4項之化合物，其中RI、R2、R3及R5為H。

6. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中V為S。

7. 如申請專利範圍第5項之化合物，其中X為-CH_2-且m為0。

8. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中V為H_2。

9. 如申請專利範圍第8項之化合物，其中Z為O、S或H_2。

10. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中W為-CH_2-。

11. 如申請專利範圍第10項之化合物，其中m為1。

12. 如申請專利範圍第11項之化合物，其中X為鍵結。

13. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中R5為H。

14. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中該化合物係選自於由4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮、(3R,4R)-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮、(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮、(±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-2-酮、(3R,4R)-4-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉

-1-基)-3-(1H-吲哚-3-基)-5-硫酮基-吡咯啶-2-酮、(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-5-硫酮基-吡咯啶-2-酮、1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉、(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-羧酸乙醯胺、1-[(3R,4R)-4-(1H-吲哚-3-基)-1-(丙烷-2-磺醯基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉、及環丁基-[(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-基]-甲酮、(±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(3-三氟甲基-苯基)-吡咯啶-2-酮、(±)-反-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(3-甲氧基-苯基)-吡咯啶-2-酮、1-[(3R,4R)-1-苯磺醯基-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-3-基]-5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉、及1-[(3R,4R)-3-(5,6-二氫-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)-吡咯啶-1-基]-3,3-二甲基-丁-1-酮所組成之組群。

15. 一種藥學組成物，包含如申請專利範圍第1項定義之式I、II、III或IV化合物或其藥學上可接受之鹽，連同一種或多種藥學上可接受之載劑或賦形劑。

16. 如申請專利範圍第15項之藥學組成物，進一步包含一種第二化學治療劑。

17. 如申請專利範圍第16項之藥學組成物，其中該第二化學

治療劑係選自於由塔莫西芬(tamoxifen)、拉羅西芬(raloxifene)、阿那史左(anastrozole)、伊希美斯坦(exemestane)、里特左(letrozole)、塔吐祖馬(trastuzumab)、伊馬塔尼(imatanib)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、羅法史塔丁(lovastatin)、米諾辛(minosine)、健西塔濱(gemcitabine)、araC、5-氟尿嘧啶、胺甲喋呤(methotrexate)、朵西塔賽(docetaxel)、葛色瑞林(goserelin)、文克利斯丁(vincristin)、文布拉斯汀(vinblastin)、諾可達左(nocodazole)、坦尼普賽(teniposide)、伊妥普賽(etoposide)、健西塔濱(gemcitabine)、伊普席龍(epothilone)、那福濱(navelbine)、喜樹鹼(camptothecin)、道諾尼賓辛(daunonibicin)、達堤諾黴素(dactinomycin)、米妥山左(mitoxantrone)、安薩克林(amsacrine)、朵索魯賓辛(doxorubicin)、伊皮魯賓辛(epirubicin)、或伊達魯賓辛(idarubicin)所組成之組群。

18. 一種如申請專利範圍第1項定義之式I、II、III或IV之化合物或其藥學上可接受之鹽於製造一藥劑之用途，該藥劑係用於治療細胞增殖病症，其組合以藥學上可接受之載劑。

19. 如申請專利範圍第18項之用途，其中該細胞增殖病症為癌前病變。

20. 如申請專利範圍第18項之用途，其中該細胞增殖病症為癌症。

21. 如申請專利範圍第20項之用途，其中該癌症為肺癌、大腸癌、乳癌、胰癌、攝護腺癌、慢性骨髓性白血病、黑素瘤、或卵巢癌。

22. 如申請專利範圍第18項之用途，其中該細胞增殖病症為乳房之細胞增殖病症。

23. 如申請專利範圍第22項之用途，其中該乳房之細胞增殖病症為乳房之癌前病變。

24. 如申請專利範圍第23項之用途，其中該乳房之癌前病變係選自於由非典型乳房過度增生、原位乳管癌、及原位乳小葉癌所組成之組群。

25. 如申請專利範圍第22項之用途，其中該乳房之細胞增殖病症為乳癌。

26. 如申請專利範圍第25項之用途，其中該乳癌為雌激素受體陰性乳癌。

27. 如申請專利範圍第18項之用途，其中該式I、II、III、IV之化合物或其藥學上可接受之鹽係組合一種第二化學治療劑投予。

28. 如申請專利範圍第27項之用途，其中該第二化學治療劑係選自於由塔莫西芬、拉羅西芬、阿那史左、伊希美斯坦、里特左、塔吐祖馬、伊馬塔尼、太平洋紫杉醇、環磷醯胺、羅法史塔丁、米諾辛、健西塔濱、araC、5-氟尿嘧啶、胺甲喋呤、朵西塔賽、葛色瑞林、文克利斯丁、文布拉斯汀、諾可達左、坦尼普賽、伊妥普賽、健西塔濱、伊普席龍、那福濱、喜樹鹼、道諾尼賓辛、達堤諾

徵素、米妥山左、安薩克林、朵索魯賓辛、伊皮魯賓辛、或伊達魯賓辛所組成之組群。

29. 如申請專利範圍第18項之用途，其中該治療癌症包含腫瘤大小的縮小。

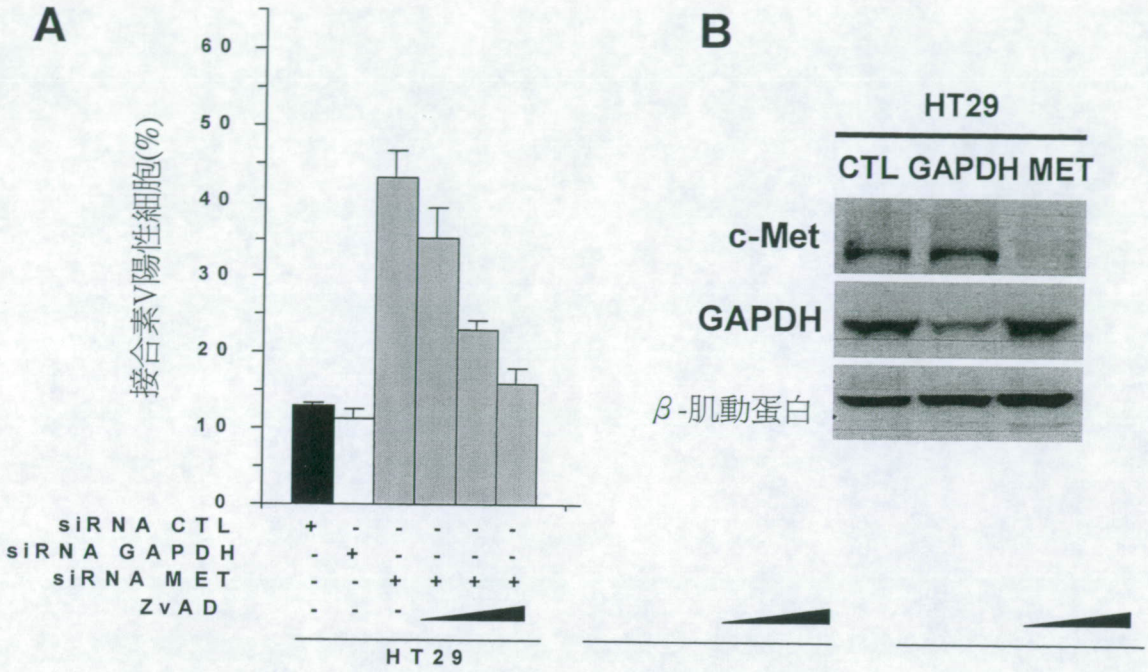
30. 如申請專利範圍第20項之用途，其中該癌症為轉移癌。

31. 如申請專利範圍第30項之用途，其中該治療癌症包含轉移癌細胞入侵之抑制。

32. 如申請專利範圍第18項之用途，其中患有該增殖病症之細胞含有編碼c-Met之DNA。

33. 如申請專利範圍第32項之用途，其中該等細胞具有持續性加強之c-Met活性。

公告本


A
接合素V陽性細胞(%)
60
50
40
30
20
10
0
siRNA CTL
siRNA GAPDH
siRNA MET
ZvAD
HT29
B
HT29
CTL GAPDH MET
c-Met
GAPDH
β-肌動蛋白

第1圖