



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101583605 B

(45) 授权公告日 2013.06.19

(21) 申请号 200780049963.9

A61K 31/4196(2006.01)

(22) 申请日 2007.12.11

A61P 35/00(2006.01)

(30) 优先权数据

102007002715.1 2007.01.18 DE

(56) 对比文件

WO 2006055760 A9, 2006.09.21,

WO 2006087077 A2, 2006.08.24,

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009.07.16

审查员 夏凤娟

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2007/010775 2007.12.11

(87) PCT申请的公布数据

W02008/086857 DE 2008.07.24

(73) 专利权人 默克专利有限公司

地址 德国达姆施塔特

(72) 发明人 H-M·埃根韦莱 M·沃尔夫

H-P·布赫施塔勒 C·西伦贝格

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 林柏楠

(51) Int. Cl.

C07D 249/12(2006.01)

C07F 9/09(2006.01)

C07H 15/26(2006.01)

权利要求书3页 说明书35页 附图1页

(54) 发明名称

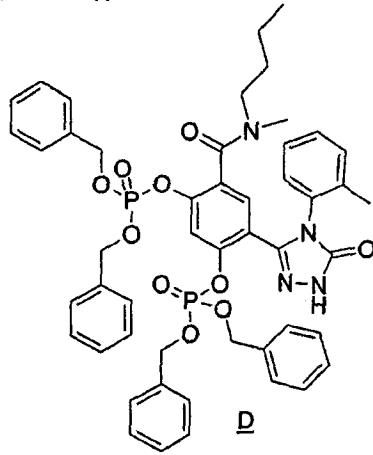
作为 HSP90 抑制剂的三唑衍生物

(57) 摘要

5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺是一种 HSP90 抑制剂,可以用于制备治疗其中 HSP90 的抑制、调节和/或调控起作用的疾病的药物。

1. 化合物 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和其药学上可用的衍生物、盐和互变异构体,包括它们的任何比例的混合物,其中药学上可用的衍生物选自单-和二磷酸酯衍生物、5-硫代衍生物、单-和二葡萄糖醛酸苷衍生物。

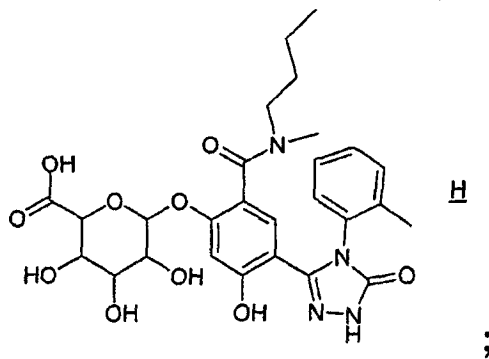
2. 根据权利要求 1 的药学上可用的衍生物,其选自:

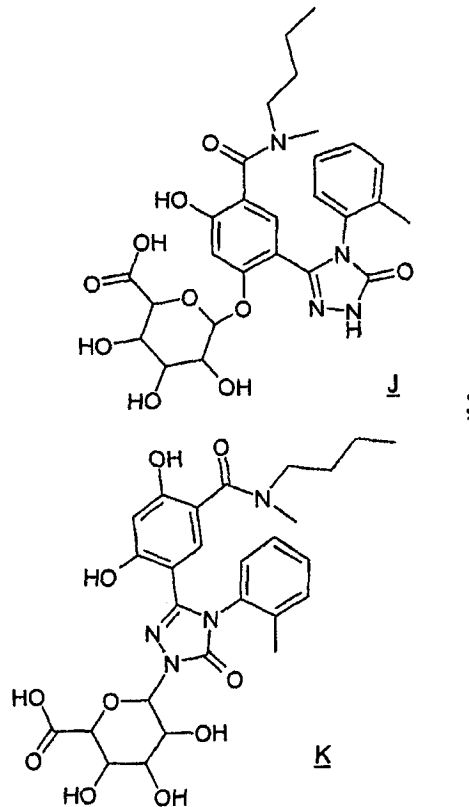


[4-(丁基甲基氨基甲酰基)-2-(5-氧代-4-邻甲苯基-4,5-二氢-1H-1,2,4-三唑-3-基)-5-磷酸氧基苯基]单磷酸酯;

[4-(丁基甲基氨基甲酰基)-5-羟基-2-(5-氧代-4-邻甲苯基-4,5-二氢-1H-1,2,4-三唑-3-基)苯基]单磷酸酯;

N-丁基-2,4-二羟基-N-甲基-5-(5-硫代-4-邻-甲苯基-4,5-二氢-1H-1,2,4-三唑-3-基)苯甲酰胺;





3. 药物,该药物包含根据权利要求1-2任一项的5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和/或其药学上可用的衍生物、盐和互变异构体,包括它们的任何比例的混合物,以及任选的辅助剂。

4. 根据权利要求1-2任一项的5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和其药学上可用的衍生物、盐和互变异构体,包括它们的任何比例的混合物,在制备药物中的用途,所述药物用于治疗或预防肿瘤疾病、病毒性疾病、移植中的免疫抑制、炎症诱导的疾病、与血管生成相关的疾病、传染性疾病、自身免疫疾病、局部缺血、纤维生成性疾病,

用于促进神经再生,

用于保护正常细胞对抗化疗引起的毒性,

用于治疗其中错误的蛋白折叠或聚集为主要致病因素的疾病。

5. 根据权利要求4的用途,其中肿瘤疾病为纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、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、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、骨髓癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、维尔姆斯瘤、宫颈癌、睾丸瘤、肺癌、膀胱癌、上皮细胞癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、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、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症和重链病。

6. 根据权利要求4的用途,其中病毒性疾病的病毒病原体选自甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、流感病毒、水痘病毒、腺病毒、单纯性疱疹I型病毒(HSV-I)、单纯性

疱疹 II 型病毒 (HSV-II)、牛瘟病毒、鼻病毒、埃可病毒、轮状病毒、呼吸道合胞病毒 (RSV)、乳头瘤病毒、乳多孔病毒、巨细胞病毒、棘状病毒、虫媒病毒、汉坦病毒、柯萨奇病毒、流行性腮腺炎病毒、麻疹病毒、风疹病毒、脊髓灰质炎病毒、人免疫缺陷病毒 I 型 (HIV-I) 和人免疫缺陷病毒 II 型 (HIV-II)。

7. 根据权利要求 4 的用途,其中炎症诱导的疾病为类风湿性关节炎、哮喘、多发性硬化症、1 型糖尿病、红斑狼疮、银屑病和炎性肠疾病。

8. 根据权利要求 4 的用途,其中与血管生成相关的疾病为糖尿病性视网膜病、血管瘤、子宫内膜异位和肿瘤血管生成。

9. 根据权利要求 4 的用途,其中纤维生成性疾病为硬皮病、多发性肌炎、系统性狼疮、肝硬化、疤痕疙瘩形成、间质性肾炎和肺纤维化。

10. 根据权利要求 4 的用途,其中错误的蛋白折叠或聚集为主要致病因素的疾病为瘙痒病、克雅氏病、亨廷顿病或阿尔茨海默病。

11. 药物,该药物包含根据权利要求 1-2 任一项的 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和/或其药学上可用的衍生物、盐和互变异构体,包括它们任何比例的混合物,以及至少一种另外的药物活性成分。

12. 套盒,该套盒包含独立包装的

(a) 有效量的根据权利要求 1-2 任一项的 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和/或其药学上可用的衍生物、盐和互变异构体,包括它们任何比例的混合物,以及

(b) 有效量的另外的药物活性成分。

作为 HSP90 抑制剂的三唑衍生物

[0001] 发明背景

[0002] 本发明的目的是寻找具有有价值的性质的新化合物,特别是能够用于制备药物的那些化合物。

[0003] 本发明涉及在 HSP90 的抑制、调节和 / 或调控中起作用的化合物,还涉及包含该化合物的药物组合物,以及所述化合物在治疗其中 HSP90 起作用的疾病中的用途。

[0004] 细胞中蛋白质的正确折叠和构象由分子伴侣来保证,并且蛋白质的正确折叠和构象对调控蛋白质合成和降解的平衡而言十分重要。分子伴侣对细胞的许多重要功能例如细胞增殖和凋亡的调节来讲,是非常重要的 (Jolly 和 Morimoto, 2000 ;Smith 等人, 1998 ; Smith, 2001)。

[0005] 热休克蛋白 (HSPs)

[0006] 组织的细胞对例如热、缺氧、氧化应激或毒性物质如重金属或醇的外部应激产生反应,同时激活许多公知术语为“热休克蛋白”(HSPs) 的分子伴侣。

[0007] HSPs 的活化保护细胞避免上述应激因素引起的损伤,加快生理状态的恢复并导致细胞处于应激耐受状态。

[0008] 除了最初发现的由 HSPs 对抗外部应激引发的保护机制外,随着时间的推移,人们还对正常无应激情况下各种 HSPs 的重要分子伴侣功能进行了描述。因此,各种 HSPs 可以调节,例如大量生物学重要的细胞蛋白质的正确折叠、细胞内定位和功能或受控的降解。

[0009] HSPs 形成具有不同基因产物的基因家族,这些基因产物在不同细胞中的细胞表达、功能和定位不同。在该家族内根据它们的分子量进行命名和分类,例如 HSP27、HSP70、HSP90。

[0010] 一些人类疾病是由错误的蛋白质折叠导致的 (见综述,例如 Tytell 等人, 2001 ; Smith 等人, 1998)。因此,开发涉及分子伴侣依赖性的蛋白质折叠机制的治疗方案在某些情况中可能是有用的。例如,在阿尔茨海默病、朊病毒疾病或亨廷顿综合征的情况中,错误折叠的蛋白质导致蛋白质聚集,引起神经变性。错误的蛋白折叠还可导致野生型功能丧失,这可能产生错误地调节分子功能和生理功能的后果。

[0011] 还已对 HSPs 在肿瘤疾病中的重要性进行了描述。例如有迹象表明某些 HSPs 的表达与肿瘤进展阶段有关 (Martin 等人, 2000 ;Conroy 等人, 1996 ;Kawanishi 等人, 1999 ; Jameel 等人, 1992 ;Hoang 等人, 2000 ;Lebeau 等人, 1991)。

[0012] HSP90 在细胞中许多重要的致癌信号途径中起作用以及某些具有抑癌活性的天然产物以 HSP90 为靶点的事实,致使人们提出抑制 HSP90 的功能可以治疗肿瘤疾病的概念。一种 HSP90 抑制剂,格尔德霉素衍生物,即 17-烯丙基氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素 (17AAG),目前正在临床实验。

[0013] HSP90

[0014] HSP90 约占细胞蛋白质总质量的 1-2%。它在细胞中通常以二聚体形式存在,并伴随有许多所谓辅分子伴侣的蛋白质 (参见,例如 Pratt, 1997)。对于细胞的活力而言,HSP90 至关重要 (Young 等人, 2001),并且 HSP90 通过与许多已经被外部应激 (例如热休克) 改变

了正常折叠的蛋白相互作用而在对细胞应激的响应中起关键作用,以恢复原始的折叠或防止蛋白聚集 (Smith 等人,1998)。

[0015] 还有迹象表明,HSP90 是对抗突变作用的重要缓冲物质,推测其通过校正由突变引起的错误的蛋白折叠来实现此作用 (Rutherford 和 Lindquist,1998)。

[0016] 另外,HSP90 还具有调节的重要作用。在生理条件下,HSP90 与其在内质网中的同系物 GRP94 一起,在确保各种关键的客户 (client) 蛋白的构象稳定和成熟的细胞平衡中起作用。可以将上述客户蛋白分为三类:甾类激素受体、Ser/Thr 或酪氨酸激酶 (例如 ERBB2、RAF-1、CDK4 和 LCK) 以及多种蛋白质的集合,例如突变的 p53 或端粒末端转移酶 hTERT 的催化亚单位。这些蛋白质中的每一种都在细胞的生理和生化过程的调节中起关键作用。

[0017] 在人类中保存的 HSP90 家族包含四种基因,胞质 HSP90 α 、诱导型 HSP90 β 亚型 (Hickey 等人,1989)、内质网中的 GRP94 (Argon 等人,1999) 和线粒体基质中的 HSP75/TRAP1 (Felts 等人,2000)。人们假设该家族内的所有成员有相似的作用模式,但是由于它们在细胞中的位置不同,它们结合到不同的客户蛋白上。例如,已发现 ERBB2 是 GRP94 的特异性客户蛋白 (Argon 等人,1999),而肿瘤坏死因子的 1 型受体 (TNFR1) 或成视网膜细胞瘤蛋白 (Rb) 为 TRAP1 的客户蛋白 (Song 等人,1995;Chen 等人,1996)。

[0018] HSP90 参与了多种与大量客户蛋白和调节蛋白之间的复杂相互作用 (Smith, 2001)。尽管精确的分子细节还仍没有得到阐明,但是近年来借助于 X 射线晶体学进行的生化实验和研究已经逐渐能够译解 HSP90 的分子伴侣功能的详情 (Prodromou 等人,1997; Stebbins 等人,1997)。因此,HSP90 是 ATP 依赖性的分子伴侣 (Prodromou 等人,1997),对于 ATP 水解而言其二聚化是重要的。ATP 的结合导致形成环形的二聚体结构,其中两个 N-末端结构域彼此密切接触并作为构象的开关 (Prodromou 和 Pearl,2000)。

[0019] 已知的 HSP90 抑制剂

[0020] 已发现的第一类 HSP90 抑制剂是包括除莠霉素 A 和格尔德霉素的苯醌安莎霉素类化合物。最初,用它们测定由 v-Src 致癌基因转化诱导的成纤维细胞恶性表型的逆转 (Uehara 等人,1985)。

[0021] 后来,它们的强抗肿瘤活性在体外 (Schulte 等人,1998) 和体内 (Supko 等人,1995) 动物模型中得以证明。

[0022] 接着,对亲和基质的免疫沉淀和观察显示格尔德霉素的主要作用机制包括与 HSP90 结合 (Whitesell 等人,1994;Schulte 和 Neckers,1998)。此外,X 射线晶体研究显示格尔德霉素竞争 ATP 结合位点,并抑制 HSP90 固有的 ATP 酶活性 (Prodromou 等人,1997; Panaretou 等人,1998)。这阻止了多聚化的 HSP90 复合物的形成,该复合物具有作为客户蛋白的分子伴侣的性质。结果,通过泛素-蛋白酶体途径将客户蛋白降解。

[0023] 在细胞培养物和异种移植肿瘤模型中,格尔德霉素衍生物 17-烯丙基氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素 (17AAG) 显示了在抑制 HSP90、降解客户蛋白和抗肿瘤活性方面未改变的性质 (Schulte 等人,1998;Kelland 等人,1999),但是与格尔德霉素相比肝毒性显著降低 (Page 等人,1997)。目前 17AAG 正在进行 I/II 期临床实验。

[0024] 根赤壳菌素是一种大环抗生素,其同样表现出修正 v-Src 和 v-Ha-Ras 诱导的成纤维细胞的恶性表型 (Kwon 等人,1992;Zhao 等人,1995)。由于抑制 HSP90,根赤壳菌素降解了许多信号蛋白 (Schulte 等人,1998)。X 射线晶体学研究显示根赤壳菌素同样结合到 HSP90

的 N- 末端区域, 并且抑制固有的 ATP 酶活性 (Roe 等人, 1998)。

[0025] 众所周知, 香豆素型抗生素结合细菌中的 HSP90 同系物 DNA 促旋酶的 ATP 结合位点。香豆素类化合物新生霉素结合到 HSP90 的羧基末端, 即, 结合到 HSP90 中与苯醌 - 安莎霉素类和根赤壳菌素不同的位点, 苯醌 - 安莎霉素类和根赤壳菌素结合在 HSP90 的 N- 末端 (Marcu 等人, 2000b)。

[0026] 新生霉素对 HSP90 的抑制导致大量 HSP90 依赖的信号蛋白的降解 (Marcu 等人, 2000a)。

[0027] 信号蛋白 (例如 ERBB2) 的降解用衍生自嘌呤的 HSP90 抑制剂 PU3 进行证明。PU3 引起细胞周期停滞, 并在乳腺癌细胞系中引起分化 (Chiosis 等人, 2001)。

[0028] HSP90 作为治疗靶点

[0029] 由于 HSP90 参与调节大量在肿瘤表型中非常重要的信号传导途径, 并且发现某些天然产物通过抑制 HSP90 的活性而发挥其生物学效应, 所以目前将 HSP90 作为开发肿瘤治疗剂的新靶点进行试验 (Neckers 等人, 1999)。

[0030] 格尔德霉素、17AAG 和根赤壳菌素的主要作用机制包括抑制 ATP 结合到蛋白质 N- 末端的 ATP 结合位点, 从而抑制 HSP90 固有的 ATP 酶活性 (参见, 例如 Prodromou 等人, 1997; Stebbins 等人, 1997; Panaretou 等人, 1998)。抑制 HSP90 的 ATP 酶活性阻止辅分子伴侣的募集并帮助 HSP90 杂复合物的形成, 其导致客户蛋白通过泛素 - 蛋白酶体途径降解 (参见, 例如 Neckers 等人, 1999; Kelland 等人, 1999)。用 HSP90 抑制剂处理肿瘤细胞导致在例如细胞增殖、细胞周期的调节和凋亡等过程中具有基础重要性的重要蛋白的选择性降解。这些过程在肿瘤中经常失控 (参见, 例如 Hostein 等人, 2001)。开发 HSP90 抑制剂的吸引人的原因是, 可以通过同时降解与转化表型相关的多种蛋白来达到强的肿瘤治疗作用。

[0031] 具体而言, 本发明涉及抑制、调节和 / 或调控 HSP90 的化合物以及包含这些化合物的组合物和它们用于治疗 HSP90 诱导的疾病的方法, 所述疾病例如肿瘤疾病; 病毒性疾病, 例如乙型肝炎 (Waxman, 2002); 移植中的免疫抑制 (Bijlmakers, 2000 和 Yorgin, 2000); 炎症诱导的疾病 (Bucci, 2000), 例如类风湿性关节炎、哮喘、多发性硬化症、1 型糖尿病、红斑狼疮、银屑病和炎性肠疾病; 囊性纤维化 (Fuller, 2000); 与血管生成相关的疾病 (Hur, 2002 和 Kurebayashi, 2001), 例如糖尿病性视网膜病、血管瘤、子宫内膜异位和肿瘤血管生成; 传染性疾病; 自身免疫疾病; 局部缺血; 促进神经再生 (Rosen 等人, WO 02/09696; Degranco 等人, WO 99/51223; Gold, US 6, 210, 974B1); 纤维生成性疾病, 例如硬皮病、多发性肌炎、系统性狼疮、肝硬化、疤痕疙瘩形成、间质性肾炎和肺纤维化 (Strehlow, WO02/02123)。

[0032] 本发明还涉及根据本发明的化合物在保护正常细胞对抗化疗引起的毒性中的用途, 以及在错误的蛋白折叠或聚集为主要致病因素的疾病中的用途, 所述疾病例如瘙痒病、克雅氏病、亨廷顿病或阿尔茨海默病 (Sittler, 人类分子遗传学 (Hum. Mol. Genet.), 10, 1307, 2001; Tratzelt 等人, 美国国家科学院学报 (Proc. Nat. Acad. Sci.), 92, 2944, 1995; Winklhofer 等人, 生物化学杂志 (J. Biol. Chem.), 276, 45160, 2001)。WO 01/72779 描述了嘌呤化合物和它们在治疗 GRP94 (HSP90 的同系物或旁系同源物) 诱导的疾病中的用途, 所述疾病例如肿瘤疾病, 其中癌组织包括选自纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、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、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、骨髓瘤、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎瘤、维尔姆斯瘤、宫颈癌、睾丸瘤、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮细胞癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、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、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症和重链病等的肉瘤或癌。

[0033] A. Kamal 等人在分子医学趋势 (Trends in Molecular Medicine), 卷10No. 6, 2004 年 6 月中描述了 HSP90 活化的治疗和诊断应用, 特别是治疗中枢神经系统疾病和心血管疾病。

[0034] 因此, 发现特异性抑制、调节和 / 或调控 HSP90 的小分子化合物是需要的, 并且是本发明的目的。

[0035] 已发现 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和其盐具有非常有价值的药理学性质, 同时可以被很好地耐受。

[0036] 特别地, 它们具有抑制 HSP90 的性质。

[0037] 因此, 本发明涉及作为治疗和 / 或预防所述疾病的药物和 / 或药物活性成分的 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺, 涉及 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺在制备治疗和 / 或预防所述疾病的药物中的用途, 以及治疗所述疾病的方法, 该方法包括向需要这类给药的患者施用 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺。

[0038] 宿主或患者可以属于任何哺乳动物物种, 例如灵长类物种, 特别是人类; 啮齿类动物, 包括小鼠、大鼠和仓鼠; 兔; 马; 牛; 狗; 猫等。用来进行实验研究的动物模型是令人感兴趣的, 在此它们提供了治疗人类疾病的模型。

现有技术

[0039] WO 2006/087077 公开了其他用作 HSP90 抑制剂的三唑衍生物。

[0040] 本发明应当被视为其的选择发明。

[0041] 应当被提及的最接近的现有技术是化合物 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丙基-苯甲酰胺 (“A47”)。

[0042] WO 00/53169 描述了用香豆素或香豆素衍生物抑制 HSP90。

[0043] WO 03/041643A2 公开了抑制 HSP90 的泽拉诺 (zearalano1) 衍生物。

[0044] 抑制 HSP90 的 3- 或 5- 位为芳基取代的吡唑衍生物在 WO 2004/050087A1 和 WO 2004/056782A1 中公开。

[0045] WO 03/055860A1 描述了作为 HSP90 抑制剂的 3,4-二芳基吡唑类。

[0046] 具有 HSP 抑制特性的嘌呤衍生物公开在 WO 02/36075A2 中。

[0047] WO 01/72779 描述了嘌呤化合物和它们在治疗 GRP94 (HSP90 的同系物或旁系同源物) 诱导的疾病中的用途, 所述疾病例如肿瘤疾病, 其中癌组织包括选自纤维肉瘤、粘液肉

瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、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、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、骨髓癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、维尔姆斯瘤、宫颈癌、睾丸瘤、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮细胞癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、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、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症和重链病等的肉瘤或癌。

[0048] WO 01/72779 进一步公开了其中提到的化合物在治疗病毒性疾病中的用途,其中病毒病原体选自甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、流感病毒、水痘病毒、腺病毒、单纯性疱疹 I-型病毒 (HSV-I)、单纯性疱疹 II-型病毒 (HSV-II)、牛瘟病毒、鼻病毒、埃可病毒、轮状病毒、呼吸道合胞病毒 (RSV)、乳头瘤病毒、乳多孔病毒、巨细胞病毒、棘状病毒 (equinovirus)、虫媒病毒、汉坦病毒 (hantavirus)、柯萨奇病毒、腮腺炎病毒、麻疹病毒、风疹病毒、脊髓灰质炎病毒、人类免疫缺陷病毒 I 型 (HIV-I) 和人类免疫缺陷病毒 II 型 (HIV-II)。

[0049] 此外,WO 01/72779 还描述了其中提到的化合物在 GRP94 调控中的用途,其中调控的 GRP94 生物学活性在个体中导致免疫反应、从内质网中的蛋白质转运、从低氧 / 缺氧应激中恢复、从营养不良中恢复、从热应激恢复或上述的组合,和 / 或其中病症为癌症、传染性疾病、与扰乱的从内质网中的蛋白质转运相关的病症、与局部缺血 / 再灌注相关的病症或它们的组合,其中与局部缺血 / 再灌注相关的病症是由心脏停搏、心搏停止和延迟型室性心律失常、心脏手术、心肺搭桥术、器官移植、脊髓创伤、头创伤、中风、血栓栓塞性中风、出血性中风、脑血管痉挛、张力减退、低血糖、癫痫持续状态、癫痫发作、焦虑症、精神分裂症、神经变性病症、阿尔茨海默病、亨廷顿病、肌萎缩性侧索硬化 (ALS) 或新生儿应激造成的后果。

[0050] 最后,WO 01/72779 描述了有效量的 GRP94 蛋白调节剂在制备用于改变个体中组织部位的局部缺血状态后的细胞反应的药物中的用途,上述改变是通过用 GRP94 蛋白调节剂处理上述组织部位处的细胞,以使细胞中的 GRP94 活性增加到可使局部缺血状态后的细胞反应发生改变的程度来实现的,其中所述的后续缺血病症优选为心脏停搏、心搏停止和延迟型室性心律失常、心脏手术、心肺搭桥术、器官移植、脊髓创伤、头创伤、中风、血栓栓塞性中风、出血性中风、脑血管痉挛、张力减退、低血糖、癫痫持续状态、癫痫发作、焦虑症、精神分裂症、神经变性病症、阿尔茨海默病、亨廷顿病、肌萎缩性侧索硬化 (ALS) 或新生儿应激等造成的后果,或者其中所述的组织部位是移植的供体组织。

[0051] 以下提及的说明书描述了 HSP90 抑制剂格尔德霉素与其他药物活性成分的组合:WO 2004/108080A2、WO 2005/002506A2、WO 2005/000211A2、WO 2005/000212A2、WO 2005/000213A2、WO 2005/000214A2、WO 2005/000314A1。

[0052] 其它参考文献

[0053] Argon Y 和 Simen BB. 1999 Grp94, 具有与蛋白质和肽结合性质的 ER 分子伴侣 (“Grp94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties”), 细胞发育生物学研讨会 (Semin. Cell Dev. Biol.), Vol. 10, 495-505 页。

[0054] Bijlmakers M-JJE, Marsh M. 2000 Hsp90 是 Src- 激酶 p56lck 的合成和继后的膜连接而不是维持所必需的 (“Hsp90 is essential for the synthesis and subsequent membrane association, but not the maintenance, of the Src-kinase p56lck”), 分子细胞生物学 (Mol. Biol. Cell), Vol. 11(5), 1585-1595 页.

[0055] Bucci M; Roviezzo F; Cicala C; Sessa WC, Cirino G. 2000 介导信号转导的热休克蛋白 90 (Hsp90) 抑制剂格尔德霉素具有抗炎作用并在体内与糖皮质激素受体相互作用 (“Geldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90 (Hsp90) mediated signal transduction has anti-inflammatory effects and interacts with glucocorticoid receptor in vivo”), 英国药理学杂志 (Brit. J. Pharmacol.), Vol. 131(1), 13-16 页.

[0056] Carreras CW, Schirmer A, Zhong Z, Santi VS. 2003 格尔德霉素 - 热休克蛋白 90 相互作用的滤膜结合试验 (“Filter binding assay for the geldanamycin-heat shock protein 90 interaction”), 分析生物化学 (Analytical Biochem.), Vol. 317, 40-46 页.

[0057] Chen C-F, Chen Y, Dai KD, Chen P-L, Riley DJ 和 Lee W-H. 1996 分子伴侣 hsp90 家族的新成员在有丝分裂期间和热休克后与视网膜母细胞瘤蛋白的相互作用 (“A new member of the hsp90 family of molecular chaperones interacts with the retinoblastoma protein during mitosis and after heat shock”), 分子细胞生物学 (Mol. Biol. Cell), Vol. 16, 4691-4699 页.

[0058] Chiosis G, Timaul MN, Lucas B, Munster PN, Zheng FF, Sepp-Loenzino I 和 Rosen N. 2001 设计的结合至 HSP90 的腺嘌呤核苷酸口袋的小分子引起 Her2 降解以及乳腺癌细胞生长停止和分化 (“A small molecule designed to bind to the adenine nucleotide pocket of HSP90 causes Her2 degradation and the growth arrest and differentiation of breast cancer cells”), 化学生物学杂志 (Chem. Biol.), Vol. 8, 289-299 页.

[0059] Chiosis G, Lucas B, Shtil A, Huezio H, Rosen N. 2002 抑制癌细胞增殖和诱导 her2 酪氨酸激酶降解的具有嘌呤骨架的新类型的 HSP90 结合剂的进展 (“Development of a purine-scaffold novel class of HSP90 binders that inhibit the proliferation of cancer cells and induce the degradation of her2 tyrosine kinase”). 生物有机和药物化学 (Bioorganic Med. Chem.), Vol. 10, 3555-3564 页.

[0060] Conroy SE 和 Latchman DS. 1996 热休克蛋白在乳腺癌中起作用吗? (“Do heat shock proteins have a role in breast cancer?”), 英国癌症杂志 (Brit. J. Cancer), Vol. 74, 717-721 页.

[0061] Felts SJ, Owen BAL, Nguyen P, Trepel J, Donner DB 和 Toft DO. 2000 HSP90- 相关蛋白 TRAP1 是具有特殊功能性质的线粒体蛋白 (“The HSP90-related protein TRAP1 is a mitochondrial protein with distinct functional properties”), 生物化学杂志 (J. Biol. Chem.), Vol. 5, 3305-3312 页.

[0062] Fuller W, Cuthbert AW. 2000 格尔德霉素对 δ -F508 囊性纤维化跨膜转导调节因子 (CFTR)- 分子伴侣复合物的翻译后破坏能稳定兔网织红细胞裂解物中的 δ -F508CFTR (“Post-translational disruption of the delta F508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-molecular chaperone complex with

geldanamycin stabilises delta F508 CFTR in the rabbit reticulocyte lysate”),生物化学杂志 (J. Biol. Chem.), Vol. 275(48), 37462-37468 页.

[0063] Hickey E, Brandon SE, Smale G, Lloyd D 和 Weber LA. 1999 编码人 89-千道尔顿热休克蛋白的基因的序列和调节 (“Sequence and regulation of a gene encoding a human 89-kilodalton heat shock protein”), 分子细胞生物学 (Mol. Biol. Cell), Vol. 9, 2615-2626 页.

[0064] Hoang AT, Huang J, Rudra-Gonguly N, Zheng J, Powell WC, Rabindron SK, Wu C 和 Roy-Burman P. 2000 人热休克转录因子 1 (HSF1) 和前列腺癌之间的新关联 (“A novel association between the human heat shock transcription factor 1 (HSF1) and prostate adenocarcinoma”), 美国病理学杂志 (Am. J. Pathol.), Vol. 156, 857-864 页.

[0065] Hostein I, Robertson D, Di Stefano F, Workman P 和 Clarke PA. 2001 HSP90 抑制剂 17-烯丙氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素抑制信号转导导致使白细胞郁积和凋亡 (“Inhibition of signal transduction by the HSP90 inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin results in cytostasis and apoptosis”), 癌症研究 (Cancer Res.), Vol. 61, 4003-4009 页.

[0066] Hur E, Kim H-H, Choi SM, Kim JH, Yim S, Kwon HJ, Choi Y, Kim DK, Lee M-O, Park H. 2002 通过用 90-kDa 热休克蛋白抑制剂根赤壳菌素抑制缺氧诱导因子-1 α /芳基烃受体核转位分子 DNA 结合减少缺氧诱导的转录 (“Reduction of hypoxia-induced transcription through the repression of hypoxia-inducible factor-1 α /aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator DNA binding by the 90-kDa heat-shock protein inhibitor radicicol”), 分子药理学 (Mol. Pharmacol.), Vol. 62(5), 975-982 页.

[0067] Jameel A, Skilton RA, Campbell TA, Chander SK, Coombes RC 和 Luqmani YA. 1992 “Clinical Jolly C 和 Morimoto RI. 2000 热休克反应和分子伴侣在肿瘤形成和细胞死亡中的作用 (“Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death”), 国立癌症研究所杂志 (J. Natl. Cancer Inst.), Vol. 92, 1564-1572 页.

[0068] Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, Sakita I, Inoue M, Yano M, Tsujinata T, Shamma A 和 Monden M. 1999 热休克蛋白 27 和 70 在患有食道鳞状细胞癌的患者中的预后意义 (“Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus”), 癌症 (Cancer), Vol. 85, 1649-1657 页.

[0069] Kelland LR, Abel G, McKeage MJ, Jones M, Goddard PM, Valenti M, Murrer BA 和 Harrap KR. 1993 口服活性的铂类药物双乙缩醛-氨基-二氯-环己胺合铂 (IV) 的临床前抗肿瘤评价 (“Preclinical antitumor evaluation of bisacetalo-amino-dichlorocyclohexylamine platinum(IV): an orally active platinum drug”), 癌症研究 (Cancer Research), Vol. 53, 2581-2586 页.

[0070] Kelland LR, Sharp SY, Rogers PM, Myers TG 和 Workman P. 1999 DT-心肌黄酶的表达和肿瘤细胞对热休克蛋白 90 抑制剂 17-烯丙氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素的敏感性 (“DT-diaphorase expression and tumor cell sensitivity to 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90”), 国立癌症研究所杂志

(J. Natl. Cancer Inst.), Vol. 91, 1940-1949 页.

[0071] Kurebayashi J, Otsuki T, Kurosumi M, Soga S, Akinaga S, Sonoo, H. 2001 根赤壳菌素衍生物 KF58333 抑制缺氧诱导因子 1 α 和血管内皮生长因子的表达及人乳腺癌异种移植物的血管发生和生长 (“A radicicol derivative, KF58333, inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascularendothelial growth factor, angiogenesis and growth of human breastcancer xenografts”), 日本癌症研究杂志 (Jap. J. Cancer Res.), Vol. 92(12), 1342-1351.

[0072] Kwon HJ, Yoshida M, Abe K, Horinouchi S 和 Bepple T. 1992 根赤壳菌素, 一种诱导 src- 转化形成的成纤维细胞的转化表型逆转的物质 (“Radicicol, an agent inducing the reversal of transformed phenotype ofsrc-trans-formed fibroblasts”), 生物科学、生物技术、生物化学 (Biosci., Biotechnol., Biochem.), Vol. 56, 538-539 页.

[0073] Lebeau J, Le Cholony C, Prosperi MT 和 Goubin G. 1991 被 EJE24Harvey-ras 癌基因转化成致瘤表型的 HBL100 乳腺细胞系中的 89kDa 热休克蛋白基因的组成型过表达 (“Constitutive overexpression of 89 kDaheat shock protein gene in the HBL100 mammary cell line converted to atumorigenic phenotype by the EJE24 Harvey-ras oncogene”), 癌基因 (Oncogene), Vol 6, 1125-1132 页.

[0074] Marcu MG, Chadli A, Bouhouche I, Catelli M 和 Neckers L. 2000a 热休克蛋白 90 拮抗剂新生霉素与分子伴侣的以前未识别的羧基末端 ATP- 结合结构域相互作用 (“The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interactswith a previously unrecognised ATP-binding domain in the carboxylterminus of the chaperone”), 生物化学杂志 (J. Biol. Chem.), Vol. 275, 37181-37186 页.

[0075] Marcu MG, Schulte TW 和 Neckers L. 2000b 新生霉素和相关香豆素及热休克蛋白 90- 依赖的信号蛋白的衰竭 (“Novobiocin and related coumarinsand depletion of heat shock protein 90-dependent signaling proteins”), 国立癌症研究所杂志 (J. Natl. Cancer Inst.), Vol. 92, 242-248 页.

[0076] Martin KJ, Kritzman BM, Price LM, Koh B, Kwan CP, Zhang X, MacKayA, O' Hare MJ, Kaelin CM, Mutter GL, Pardee AB 和 Sager R. 2000 将基因表达模式与乳腺癌治疗组相关联 (“Linking gene expression patterns totherapeutic groups in breast cancer”), 癌症研究 (Cancer Res.), Vol. 60, 2232-2238 页.

[0077] Neckers L, Schulte TW 和 Momnaugh E. 1999 作为有效抗癌物质的格尔德霉素: 它的分子靶点和生化活性 (“Geldanamycin as a potentialanti-cancer agent :its molecular target and biochemical activity”), 研究中的新药 (Invest. New Drugs), Vol. 17, 361-373 页.

[0078] Page J, Heath J, Fulton R, Yalkowsky E, Tabibi E, Tomaszewski J, SmithA 和 Rodman L. 1997 在大鼠中比较格尔德霉素 (NSC-122750) 和 17- 烯丙氨基格尔德霉素 (NSC-330507D) 的毒性 (“Comparison of geldanamycin (NSC-122750) and 17-allylaminogeldanamycin (NSC-330507D) toxicity inrats”), 美国癌症研究协会学报 (Proc Am. Assoc. Cancer Res.), Vol. 38, 308 页.

[0079] Panaretou B, Prodromou C, Roe SM, OBrien R, Ladbury JE, Piper PW 和 Pearl

LH. 1998 ATP 结合和水解是体内 HSP90 分子伴侣功能所必需的 (“ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the HSP90 molecular chaperone in vivo”), 欧洲分子生物学组织杂志 (EMBO J.), Vol. 17, 4829-4836 页.

[0080] Pratt WB. 1997 基于 HSP90 的分子伴侣体系在核受体信号转导和 MAP 激酶受体信号发出中的作用 (“The role of the HSP90-based chaperone system in signal transduction by nuclear receptor and receptors signaling via MAP kinase”), 药理学和毒理学年鉴 (Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.), Vol. 37, 297-326 页.

[0081] Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW 和 Pearl LH. 1997 HSP90 分子伴侣中的 ATP/ADP-结合位点的识别和结构鉴定 (“Identification and structural characterisation of the ATP/ADP-binding site in the HSP90 molecular chaperone”), 细胞 (Cell), Vol. 90, 65-75 页.

[0082] Prodromou C, Panaretou B, Chohan S, Siligardi G, O'Brien R, Ladbury JE, Roe SM, Piper PW 和 Pearl LH. 2000 HSP90 的 ATP 酶循环通过 N-末端结构域的暂态二聚作用驱动分子“夹” (“The ATPase cycle of HSP90 drives a molecular “clamp” via transient dimerisation of the N-terminal domains”), 欧洲分子生物学组织杂志 (EMBO J.), Vol. 19, 4383-4392 页.

[0083] Roe SM, Prodromou C, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW 和 Pearl LH. 1999 抗肿瘤抗生素根赤壳菌素和格尔德霉素抑制 HSP90 分子伴侣的结构基础 (“Structural basis for inhibition of the HSP90 molecular chaperone by the antitumour antibiotics radicicol and geldanamycin”), 药物化学杂志 (J. Med. Chem.), Vol. 42, 260-266 页.

[0084] Rutherford SL 和 Lindquist S. 1998 作为形态学进化电容器的 HSP90 (“HSP90 as a capacitor for morphological evolution”). 自然 (Nature), Vol. 396, 336-342 页.

[0085] Schulte TW, Akinaga S, Murakata T, Agatsuma T, Sugimoto S, Nakano H, Lee YS, Simen BB, Argon Y, Felts S, Toft DO, Neckers LM 和 Sharma SV.

[0086] 1999 根赤壳菌素与分子伴侣热休克蛋白 90 家族成员的相互作用 (“Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90 family of molecular chaperones”), 分子内分泌学 (Mol. Endocrinology), Vol. 13, 1435-1448 页.

[0087] Schulte TW, Akinaga S, Soga S, Sullivan W, Sensgard B, Toft D 和 Neckers LM. 1998 抗生素根赤壳菌素结合至 HSP90 的 N-末端结构域并具有与格尔德霉素一样的重要生物活性 (“Antibiotic radicicol binds to the N-terminal domain of HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin”), 细胞应激和分子伴侣 (Cell Stress and Chaperones), Vol. 3, 100-108 页.

[0088] Schulte TW 和 Neckers LM. 1998 苯醌安沙霉素 17-烯丙氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素结合到 HSP90 并具有与格尔德霉素一样的重要生物活性 (“The benzoquinone ansamycin 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin binds to HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin”), 癌症化疗药理学 (Cancer Chemother. Pharmacol.), Vol. 42, 273-279 页.

[0089] Smith DF. 2001 信号转导中的分子伴侣 (“Chaperones in signal transduction”), 细胞中的分子伴侣 (Molecular chaperones in the cell) (PLund,

编者;牛津大学出版社 (Oxford University Press), 牛津和纽约 (Oxford and NY)), 165-178 页.

[0090] Smith DF, Whitesell L 和 Katsanis E. 1998 分子伴侣:生物学及药理学干预的展望 (“Molecular chaperones: Biology and prospects for pharmacological intervention”), 药理学综述 (Pharmacological Reviews), Vol. 50, 493-513 页.

[0091] Song HY, Dunbar JD, Zhang YX, Guo D 和 Donner DB. 1995 与结合 1 型肿瘤坏死因子受体的 hsp90 同源的蛋白质的识别 (“Identification of a protein with homology to hsp90 that binds the type 1 tumour necrosis factor receptor”), 生物化学杂志 (J. Biol. Chem.), Vol. 270, 3574-3581 页.

[0092] Stebbins CE, Russo A, Schneider C, Rosen N, Hartl FU 和 Pavletich NP. 1997 抗肿瘤物质的蛋白分子伴侣靶点:HSP90- 格尔德霉素复合物的晶体结构 (“Crystal structure of an HSP90-geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent”), 细胞 (Cell), Vol. 89, 239-250 页.

[0093] Supko JG, Hickman RL, Grever MR 和 Malspeis L. 1995 抗肿瘤物质格尔德霉素的临床前药理学评估 (“Preclinical pharmacologic evaluation of geldanamycin as an antitumor agent”), 癌症化疗药理学 (Cancer Chemother. Pharmacol.), Vol. 36, 305-315 页.

[0094] Tytell M 和 Hooper PL. 2001 热休克蛋白:开发细胞保护治疗的新钥匙 (“Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies”), 正在显现的治疗靶点 (Emerging Therapeutic Targets), Vol. 5, 267-287 页.

[0095] Uehara U, Hori M, Takeuchi T 和 Umezawa H. 1986 苯醌安莎霉素类诱导的从转化型到正常型的表型改变伴随 Rous 肉瘤病毒感染的大鼠肾脏细胞中的 p60src 失活 (“Phenotypic change from transformed to normal induced by benzoquinoid ansamycins accompanies inactivation of p60src in rat kidney cells infected with Rous sarcoma virus”), 分子细胞生物学 (Mol. Cell. Biol.), Vol. 6, 2198-2206 页.

[0096] Waxman, Lloyd H. 抑制丙型肝炎病毒加工和复制 (Inhibiting hepatitis C virus processing and replication). (Merck & Co., Inc., USA). PCT 国际申请 (2002), WO 0207761

[0097] Whitesell L, Mimnaugh EG, De Costa B, Myers CE 和 Neckers LM. 1994 苯醌安莎霉素类抑制热休克蛋白 HSP90-pp60v-src 杂蛋白复合物形成:对致癌转化中的应激蛋白的重要作用 (“Inhibition of heat shock protein HSP90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation”), 美国国立科学院学报 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA.), Vol. 91, 8324-8328 页.

[0098] Yorgin 等人. 2000 热休克蛋白 90- 结合物质格尔德霉素对 T 细胞功能和 T 细胞非受体蛋白酪氨酸激酶的作用 (“Effects of geldanamycin, a heat-shock protein 90-binding agent, on T cell function and T cell nonreceptor protein tyrosine kinases”), 免疫学杂志 (J. Immunol.), Vol. 164(6), 2915-2923 页.

[0099] Young JC, Moarefi I 和 Hartl FU. 2001 HSP90: 特异但必不可少的蛋白折叠工具

(“HSP90 :a specialised but essential protein-folding tool”),细胞生物学杂志 (J. Cell. Biol.), Vol. 154, 267-273 页.

[0100] Zhao JF, Nakano H 和 Sharma S. 1995 根赤壳菌素抑制 RAS 和 MOS 的转化 (“Suppression of RAS and MOS transformation by radicicol”), 癌基因 (Oncogene), Vol. 11, 161-173 页.

[0101] 发明概述

[0102] 本发明涉及化合物 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和其药学上可用的衍生物、盐、溶剂化物、互变异构体和立体异构体,包括它们的任何比例的混合物。

[0103] 具体而言,本发明涉及化合物 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和其药学上可用的衍生物、互变异构体和立体异构体,包括它们的任何比例的混合物。

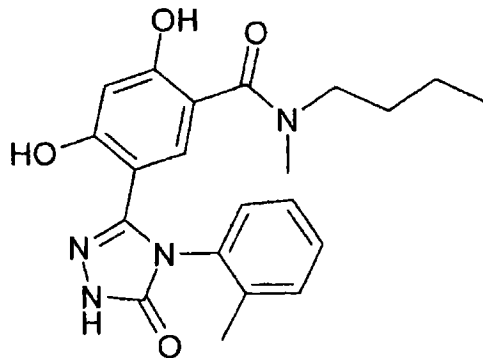
[0104] 本发明特别优选地涉及化合物 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺以及单-和二磷酸衍生物、硫代衍生物、单-和二葡萄糖醛酸衍生物、其互变异构体和立体异构体,包括它们的任何比例的混合物。

[0105] 本发明非常特别优选地涉及化合物 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺。

[0106] 本发明还涉及这些化合物的水合物及溶剂化物。化合物的溶剂化物是指惰性溶剂分子加合在所述化合物上的加合物,该加合物是通过它们之间的相互吸引力形成的。溶剂化物例如是单或二水合物或醇化物。

[0107] 本发明的化合物也可以以下述互变异构形式存在:

[0108]



[0109] 药学上可用的衍生物是指,例如本发明化合物的盐,还指所谓的前药化合物。

[0110] 前药衍生物是指已经被例如烷基或酰基、糖或寡肽修饰的本发明化合物,其在有机体中迅速裂解从而提供活性的本发明化合物。

[0111] 前药衍生物还包括本发明化合物的生物可降解的聚合物的衍生物,例如在国际药剂学杂志 (Int. J. Pharm.) 115, 61-67 (1995) 中所描述的。

[0112] 特别优选的前药是磷酸酯衍生物,例如单-和/或二磷酸酯衍生物;糖衍生物,例如单-和/或二葡萄糖醛酸苷或 5-硫代衍生物。

[0113] “有效量”的表述指在组织、系统、动物或人类中引起例如研究者或医师所寻求或

期望的生物学或医学响应的药物或药物活性成分的量。

[0114] 此外，“治疗有效量”的表述指与没有接受该量的相应的个体相比，具有下列后果的量：改善的治愈性治疗；康复；预防或消除疾病、病象 (disease picture)、疾病状态、不适 (complaint)、病症或副作用；或减缓疾病、不适或病症的进程。

[0115] 术语“治疗有效量”还包括对增强正常生理功能有效的量。

[0116] 本发明还涉及本发明化合物的混合物，例如两种非对映异构体的混合物，例如其比例为 1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 10、1 : 100 或 1 : 1000。

[0117] 所述混合物特别优选立体异构的化合物的混合物。

[0118] 此外，本发明化合物和用于制备它们的起始原料是按照如文献（例如标准著作，例如 Houben-Weyl, Methoden der organischen chemie [有机化学方法 (Methods of Organic Chemistry)], Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart) 中所述的其本身已知的方法，在公知的和适合进行该反应的精确反应条件下制备的。也可以采用本身已知的变通方法，在此不再详细说明。

[0119] 如果需要的话，起始原料还可以在原位形成，不将它们从反应混合物中分离，而是立即将它们进一步转化为本发明化合物。

[0120] 一般而言，起始化合物是已知的。但是，如果它们是新的，则它们可以通过本身已知的方法制备。

[0121] 本发明化合物按照如 WO 2006/087077 所述的方法进行制备。

[0122] 用本领域技术人员公知的方法进行反应。

[0123] 反应在适当的惰性溶剂中进行。

[0124] 适当的惰性溶剂的示例是烃类，例如己烷、石油醚、苯、甲苯或二甲苯；氯代烃类，例如三氯乙烯、1,2-二氯乙烷、四氯化碳、氯仿或二氯甲烷；醇类，例如甲醇、乙醇、异丙醇、正丙醇、正丁醇或叔丁醇；醚类，例如乙醚、异丙醚、四氢呋喃 (THF) 或二噁烷；乙二醇醚类，例如乙二醇单甲醚或单乙醚、乙二醇二甲醚 (二甘醇二甲醚)；酮类，例如丙酮或丁酮；酰胺类，例如乙酰胺、二甲基乙酰胺或二甲基甲酰胺 (DMF)；腈类，例如乙腈；亚砷类，例如二甲基亚砷 (DMSO)；二硫化碳；羧酸类，例如甲酸或乙酸；硝基化合物类，例如硝基甲烷或硝基苯；酯类，例如乙酸乙酯；或上述溶剂的混合物。

[0125] 特别优选的溶剂是例如四氢呋喃。

[0126] 根据所用的条件，反应时间为几分钟到 14 天，反应温度范围为约 -30°C 到 140°C ，通常为 -10°C 到 130°C ，特别为约 30°C 到约 125°C 。

[0127] 保护基团可通过本领域技术人员公知的方法除去。

[0128] 醚例如甲醚的裂解在如上文所述的适当溶剂中进行，优选地加入三溴化硼。

[0129] 所述反应特别优选在二氯甲烷中进行，反应温度在约 -30°C 至 50°C 之间，通常在 -20°C 至 20°C 之间，特别是在约 -15°C 至约 0°C 之间。

[0130] 本发明的化合物还可以通过溶剂解、尤其是水解作用或氢解作用，将它们从其官能衍生物中释放来获得。

[0131] 用于溶剂解或氢解反应的优选的起始原料是那些包含相应的被保护的氨基和 / 或羟基基团，而非一个或多个游离氨基和 / 或羟基基团的化合物，这些化合物优选地在 N 原子上带有氨基保护基团而非 H 原子，例如那些符合式 I、但其包含 NHR' 基团（其中 R' 代表

氨基保护基团,例如 BOC 或 CBZ) 来代替 NH₂ 基团的化合物。

[0132] 还优选带有羟基保护基团来代替羟基上的 H 原子的起始原料,例如那些符合式 I、但其包含 R'' O- 苯基基团(其中 R'' 代表羟基保护基团)来代替羟基苯基基团的化合物。

[0133] 还可能有多种(相同或不同的)被保护的氨基和/或羟基基团存在于起始原料的分子中。如果存在彼此不同的保护基团,其在很多情况下可以选择性地被脱去。

[0134] 术语“氨基保护基团”是已知的通用术语,涉及适用于保护(阻断)氨基基团避免发生化学反应,但在分子的其它位置所需要的化学反应完成后易于脱去的基团。具体而言,通常的此类基团是未取代或取代的酰基、芳基、芳烷氧基甲基或芳烷基基团。由于所述氨基保护基团是在所需反应(或反应次序)后脱去,因此其类型和大小不是决定性的;然而,优选那些具有 1-20 个、尤其是 1-8 个碳原子的保护基团。术语“酰基基团”应当理解为在最广泛的意义上与本方法相关。其包括衍生自脂肪族、芳香脂肪族、芳族或杂环的羧酸或磺酸,并且特别是烷氧基羰基、芳氧基羰基,并且尤其是芳烷氧基羰基的酰基基团。此类酰基基团的实例是链烷酰基,例如乙酰基、丙酰基和丁酰基;芳烷酰基,例如苯乙酰基;芳酰基,例如苯甲酰基和甲苯甲酰基;芳氧基烷酰基,例如 POA;烷氧基羰基,例如甲氧基羰基、乙氧基羰基、2,2,2-三氯乙氧基羰基、BOC 和 2-碘乙氧基羰基;芳烷氧基羰基,例如 CBZ(“苄氧基羰基”)、4-甲氧基苄氧基羰基和 Fmoc;以及芳基磺酰基,例如 Mtr、Pbf 或 Pmc。优选的氨基保护基团是 BOC 和 Mtr,以及 CBZ、Fmoc、苄基和乙酰基。

[0135] 术语“羟基保护基团”同样是已知的通用术语,涉及适用于保护羟基基团避免发生化学反应,但在分子的其它位置所需要的化学反应完成后易于脱去的基团。通常的此类基团是上文所述的未取代或取代的芳基、芳烷基或酰基基团,此外还包括烷基基团。因为其在所需化学反应或反应次序后脱去,因此所述羟基保护基团的性质和大小不是决定性的;优选那些具有 1-20 个、尤其是 1-10 个碳原子的保护基团。羟基保护基团的实例尤其是苄基、对-硝基苯甲酰基、对-甲苯磺酰基、叔丁基和乙酰基,其中特别优选苄基和叔丁基。COOH 基团优选以其叔丁基酯的形式保护。

[0136] 将本发明的化合物从其官能衍生物中释放出来,取决于所用的保护基团,例如用强酸,有利地使用 TFA 或高氯酸,也可以使用其它强无机酸,例如盐酸或硫酸,强有机羧酸,例如三氯乙酸,或者磺酸,例如苯磺酸或对甲苯磺酸。反应可能存在额外的惰性溶剂,但并不总是必需的。适合的惰性溶剂优选有机溶剂,例如羧酸如乙酸,醚类如四氢呋喃或二噁烷,酰胺类如 DMF,卤代烃如二氯甲烷,此外还有醇类,如甲醇、乙醇或异丙醇,以及水。此外上述溶剂的混合物也是适合的溶剂。优选过量地使用 TFA 而不加入其它溶剂,而高氯酸优选以乙酸和 70%高氯酸以 9:1 的比例的混合物形式来使用。用于裂解的反应温度有利地在约 0°C 至约 50°C 之间,优选 15-30°C(室温)。

[0137] 例如,BOC、OBut、Pbf、Pmc 和 Mtr 基团可以优选地使用 TFA 的二氯甲烷溶液或者使用大约 3-5N 的 HCl 的二噁烷溶液,在 15-30°C 下脱去,而 Fmoc 基团可以使用大约 5-50%的二甲胺、二乙胺或哌啶在 DMF 中的溶液在 15-30°C 下脱去。

[0138] 可以通过催化氢化除去的保护基团(例如 CBZ 或苄基)可以例如在催化剂(例如贵金属催化剂,例如钯,其有利地在支持物例如炭上)的存在下通过用氢气处理脱去。此处合适的溶剂是那些上文指出的溶剂,具体而言,例如醇类如甲醇或乙醇,或者酰胺类如 DMF。一般而言,氢解是在约 0-100°C 的温度下和约 1-200 巴的压力下进行,优选在 20-30°C 和

1-10 巴下进行。例如, CBZ 的氢解反应在 5-10% 的 Pd/C 上在甲醇中完成, 或者使用甲酸铵 (代替氢气) 在 Pd/C 上在甲醇 /DMF 中于 20-30°C 下完成。

[0139] 药用盐和其它形式

[0140] 所述的本发明化合物可以以其最终的非盐形式使用。另一方面, 本发明还包括药学上可接受的盐形式的该化合物的用途, 可以根据本领域公知的方法从各种有机和无机酸和碱衍生得到上述盐。药学上可接受的盐形式的本发明化合物大部分通过常规方法制备。可以通过将该化合物与适当的碱反应得到相应的碱加成盐, 从而生成该化合物的适当的盐。所述的碱为, 例如碱金属氢氧化物, 包括氢氧化钾、氢氧化钠和氢氧化锂; 碱土金属氢氧化物, 例如氢氧化钡和氢氧化钙; 碱金属的醇盐, 例如乙醇钾和丙醇钠; 和各种有机碱, 例如哌啶、二乙醇胺和 N- 甲基 - 谷氨酰胺。本发明化合物的铝盐同样也包括在内。也可以通过用药学上可接受的有机或无机酸处理该化合物而形成酸加成盐, 所述酸例如卤化氢, 例如氯化氢、溴化氢或碘化氢; 其它无机酸和其相应的盐, 例如硫酸盐、硝酸盐或磷酸盐等; 烷基和单芳基磺酸盐, 例如乙磺酸盐、甲苯磺酸盐和苯磺酸盐; 和其它有机酸及其相应的盐, 例如乙酸盐、三氟乙酸盐、酒石酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、水杨酸盐、抗坏血酸盐等。因此, 本发明化合物的药学上可接受的酸加成盐包括下列盐: 乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、精氨酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸氢盐、溴化物、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、辛酸盐、氯化物、氯苯甲酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、磷酸二氢盐、二硝基苯甲酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、半乳糖二酸盐 (得自半乳糖二酸)、半乳糖醛酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、谷氨酰胺盐、甘油磷酸盐、半琥珀酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、马尿酸盐、盐酸盐、氢溴化物、氢碘化物、2- 羟基乙磺酸盐、碘化物、羟乙磺酸盐、异丁酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、偏磷酸盐、甲磺酸盐、甲基苯甲酸盐、磷酸一氢盐、2- 萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、油酸盐、扑酸盐 (palmoate)、果胶酸盐、过硫酸盐、苯乙酸盐、3- 苯基丙酸盐、磷酸盐、膦酸盐、邻苯二甲酸盐, 但这不表示对本发明的限制。

[0141] 此外, 本发明化合物的碱盐包括铝、铵、钙、铜、铁 (III)、铁 (II)、锂、镁、锰 (III)、锰 (II)、钾、钠和锌盐, 但这不意味着限制本发明。在上面提到的盐中, 优选铵盐; 钠和钾碱金属盐; 及钙和镁碱土金属盐。由药学上可接受的有机非毒性碱衍生的本发明化合物的盐包括与下列碱形成的盐, 所述碱包括: 伯、仲和叔胺, 取代的胺, 还包括天然存在的取代的胺、环胺和碱性离子交换树脂, 例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、氯普鲁卡因、胆碱、N, N' - 二苄基乙二胺 (benzathine)、二环己胺、二乙醇胺、二乙胺、2- 二乙氨基乙醇、2- 二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N- 乙基 - 吗啉、N- 乙基 - 哌啶、葡糖胺 (glucamine)、葡糖胺 (glucosamine)、组胺、哈胺、异丙胺、利多卡因、赖氨酸、葡甲胺、N- 甲基 -D- 葡糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙醇胺、三乙胺、三甲胺、三丙胺和三 (羟甲基) 甲基胺 (氨基丁三醇), 但这不意味着限制本发明。

[0142] 可以用下列试剂将含有碱性的含氮基团的本发明化合物季铵化, 所述试剂例如 (C₁-C₄) 烷基卤化物, 例如甲基、乙基、异丙基和叔丁基氯化物、溴化物和碘化物; 二 (C₁-C₄) 烷基硫酸酯, 例如二甲基、二乙基和二戊基硫酸酯; (C₁₀-C₁₈) 烷基卤化物, 例如癸基、十二烷基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基氯化物、溴化物和碘化物; 和芳基 (C₁-C₄) 烷基卤化物, 例如苄基氯和溴乙基苯。用这些盐可以制备在水和油中都可溶的本发明化合物。

[0143] 优选的上面提到的药用盐包括乙酸盐、三氟乙酸盐、苯磺酸盐、柠檬酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、半琥珀酸盐、马尿酸盐、盐酸盐、氢溴化物、羟乙磺酸盐、扁桃酸盐、葡甲胺盐、硝酸盐、油酸盐、膦酸盐、新戊酸盐、磷酸钠盐、硬脂酸盐、硫酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、硫代苹果酸盐、甲苯磺酸盐和氨基丁三醇盐,但这并不意味着限制本发明。

[0144] 本发明化合物的酸加成盐可以按照常规方法将游离碱形式的该化合物与足量的所需酸接触而制备。可以通过将盐形式与碱接触,并用常规方法分离游离的碱而重新得到游离的碱。就某些物理性质例如在极性溶剂中的溶解性而言,游离的碱形式与其相应的盐形式在某些方面不同;然而,就本发明目的而言,盐与其相应的游离碱形式是相同的。

[0145] 如上所述,本发明化合物的药学上可接受的碱加成盐是与金属或胺形成的,例如与碱金属和碱土金属或有机胺形成的。优选的金属为钠、钾、镁和钙。优选的有机胺是N, N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、N-甲基-D-葡糖胺和普鲁卡因。

[0146] 可以以常规方法通过将游离的酸形式与足量的所需碱接触而形成盐,从而制备本发明化合物的碱加成盐。可以将盐形式与酸接触,并用常规方法分离游离的酸,从而重新得到游离的酸。就某些物理性质例如在极性溶剂中的溶解性而言,游离的酸形式与其相应的盐形式在某些方面不同;然而,就本发明目的而言,盐与其相应的游离酸形式是相同的。

[0147] 就上述来讲,可以明白,本发明中的“药学上可接受的盐”的表述是指包括某种盐形式的本发明化合物的活性成分,特别是在如果该盐形式与活性成分的游离形式或以前所用的该活性成分的任何盐形式相比,活性成分的药物动力学性质得以改善的情况下。活性成分的药学上可接受的盐形式还可以首次提供该活性成分从前没有、但又需要的药物动力学性质,就其在体内的疗效而言,它甚至可以对活性成分的药效学有积极的影响。

[0148] 此外,本发明涉及本发明的化合物和/或其生理上可接受的盐在制备药物(药物组合物)中的用途,特别是通过非化学方法。在此可以将它们与至少一种固体、液体和/或半液体的赋形剂或辅助剂,以及如果需要的话还有一种或多种另外的活性成分,一起转化为适当的剂型。

[0149] 此外,本发明还涉及药物,该药物包含5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和/或其药学上可用的衍生物、盐、溶剂化物、互变异构体和立体异构体(包括它们任何比例的混合物),以及任选的赋形剂和/或辅助剂。

[0150] 药物制剂可以以每剂量单位包含预定量的活性成分的剂量单位形式给药。根据所治疗的疾病情况、给药方法和患者的年龄、体重和状况,该剂量单位可以包含例如0.1mg至3g、优选1-700mg、特别优选5-100mg的本发明化合物,或者可以以每剂量单位包含预定量的活性成分的剂量单位形式施用药物制剂。优选的剂量单位制剂包含如上所示的日剂量或部分剂量或活性成分的其相应部分。而且,该类型的药物制剂可以用药理学领域众所周知的方法制备。

[0151] 药物制剂可以调配为通过任何所需的适当方法给药,例如经口(包括含服或舌下)、直肠、鼻、局部(包括颊、舌下或经皮)、阴道或胃肠外(包括皮下、肌内、静脉内或皮内)的方法。这些制剂可以使用所有药理学领域公知的方法通过例如将活性成分与赋形剂或辅助剂混合来制备。

[0152] 适合于口服给药的药物制剂可以以分离的单位给药,例如胶囊或片剂;散剂或颗

粒剂；在水性或非水性液体中的溶液剂或混悬剂；可食用的泡沫剂或泡沫食品；或水包油型的液体乳剂或油包水型的液体乳剂。

[0153] 因此，例如在片剂或胶囊的口服给药情况中，活性成分组分可以与口服的非毒性的及药学上可接受的惰性赋形剂例如乙醇、甘油、水等混合。散剂是通过将化合物研细至适当微细尺寸，并将其与用相似方法研细的药用赋形剂混合而制备，所述赋形剂例如可食用的碳水化合物，例如淀粉或甘露醇。也可以存在矫味剂、防腐剂、分散剂和染料。

[0154] 胶囊是通过制备如上面所述的粉末混合物并随后填装进成形的明胶壳中来制备的。在填装操作前可以向粉末混合物中加入助流剂和润滑剂，例如高分散的硅酸、滑石粉、硬脂酸镁、硬脂酸钙或固体形式的聚乙二醇。同样可以加入崩解剂或助溶剂，例如琼脂、碳酸钙或碳酸钠，以提高胶囊服用后的药物利用度。

[0155] 另外，如果需要或必要的话，也可以向混合物中掺入适当的粘合剂、润滑剂和崩解剂及染料。适当的粘合剂包括淀粉；明胶；天然的糖，例如葡萄糖或 β -乳糖；由玉米制得的甜味剂；天然和合成的橡胶，例如阿拉伯胶、黄蓍胶；或藻酸钠；羧甲基纤维素；聚乙二醇；蜡等。在这些剂型中所用的润滑剂包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。崩解剂包括但不限于淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶等。片剂是通过下面方法制备的，所述方法包括例如制备粉末混合物、制粒或干燥压制该混合物、加入润滑剂和崩解剂并将全部的混合物压片得到片剂。粉末混合物是通过将用适当方法研细的化合物与如上面所述的稀释剂或基质以及任选的以下物质混合制得的，所述物质包括粘合剂，例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶或聚乙烯吡咯烷酮；溶出缓速剂，例如石蜡；吸收促进剂，例如季盐；和/或吸收剂，例如膨润土、高岭土或磷酸二钙。可以如下将粉末混合物制粒：将其用粘合剂例如糖浆、淀粉糊、阿拉伯胶(acacia)胶浆或者纤维素或多聚物材料的溶液润湿，并将其压过筛网。制粒的另一方法是，可以将粉末混合物通过制片机，得到非规则形状的块，将其打碎形成颗粒。可以向这些颗粒中加入硬脂酸、硬脂酸盐、滑石粉或矿物油进行润滑，以防止其粘附在片剂铸型中。然后，将润滑的混合物压制成片剂。本发明化合物还可以与自由流动的惰性赋形剂组合，然后不经制粒或干压步骤，直接压成片剂。还可以存在透明的或遮光的保护层，其包括虫胶封装层、糖或多聚物材料层和光泽的蜡层。可以向这些包衣中加入染料，以便能够区别不同的剂量单位。

[0156] 口服液体，例如溶液剂、糖浆剂和酏剂，可以以剂量单位形式制备，以使其包含指定量的化合物。可以将化合物溶解在含有适当矫味剂的水溶液中制得糖浆剂，而酏剂可以用非毒性的醇溶媒制得。可以通过将化合物分散于无毒溶媒中来制备混悬剂。同样可以加入增溶剂和乳化剂，例如乙氧化的异硬脂醇和聚氧乙烯山梨醇醚；防腐剂；矫味添加剂，例如薄荷油；或天然甜味剂或糖精；或其它人工甜味剂等。

[0157] 如果需要的话，用于口服的剂量单位制剂可以装入微胶囊中。还可以通过例如将颗粒原料包衣或包埋在聚合物、蜡等材料中，以制备释放延长释放或延缓释放的制剂。

[0158] 本发明化合物和/或其药学上可接受的衍生物、盐、溶剂化物、互变异构体和立体异构体（包括它们所有比例的混合物），和任选的赋形剂和/或辅助剂和盐、溶剂化物和生理学上的功能衍生物还可以以脂质体递药系统形式给药，例如小单层微囊、大单层微囊和多层微囊。脂质体可以用各种磷脂例如胆固醇、硬脂胺或磷脂酰胆碱形成。

[0159] 本发明化合物和其盐、溶剂化物和生理学上的功能衍生物还可以用单克隆抗体作

为个体载体进行递送,该载体上偶联着上述化合物分子。还可以将化合物偶联在作为靶向药物载体的可溶性多聚物上。所述多聚物可以包括聚乙烯吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟丙基甲基丙烯酸酯氨基苯酚、聚羟乙基天冬酰胺基苯酚或聚环氧乙烷聚赖氨酸,其被棕榈酰基取代。此外还可以将这些化合物偶联至适合于控制药物释放的一类生物可降解的聚合物上,例如聚乳酸、聚-ε-己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛、聚二羟基吡喃、聚氰基丙烯酸酯和交联或两亲的水凝胶嵌段共聚物。

[0160] 适合于经皮给药的药物制剂可以以与受者的表皮发生扩展的密切接触的独立贴剂进行给药。因此,例如可以通过电离子透入疗法从贴剂中递送活性成分,如在药学研究(Pharmaceutical Research),3(6),318(1986)的一般术语中所描述的。

[0161] 适合于局部给药的药物化合物可以制成软膏剂、乳膏剂、混悬剂、洗剂、散剂、溶液剂、糊剂、凝胶剂、喷雾剂、气雾剂或油剂。

[0162] 对于治疗眼或其它外部组织,例如口腔和皮肤而言,制剂优选以局部的软膏剂或乳膏剂使用。在制剂为软膏剂的情况下,活性成分可以与石蜡或与水混溶的乳膏基质一起应用。或者,可以将活性成分与水包油型乳膏基质或油包水型基质一起制成乳膏剂。

[0163] 适合于眼局部用药的药物制剂包括滴眼剂,其中将活性成分溶解或混悬在适当的载体、特别是水性溶剂中。

[0164] 适合于口腔局部用药的药物制剂包括锭剂、软锭剂和漱口剂。

[0165] 适合于直肠给药的药物制剂可以以栓剂或灌肠剂形式给药。

[0166] 载体物质为固体的适合于鼻腔给药的药物制剂包含粒度为例如 20-500 微米的粗粉末,该粗粉末通过鼻吸入的方式给药,即从靠近鼻子的含有该粉末的容器中通过鼻道快速吸入。由液体作为载体物质的用于鼻喷雾剂或滴鼻剂给药的合适制剂包括活性成分的水或油溶液。

[0167] 适合于吸入给药的药物制剂包含微细颗粒的粉尘或雾,它们可以由如气雾器、喷雾器或吹入器的不同类型的加压分散器产生。

[0168] 适合于阴道给药的药物制剂可以以阴道栓剂、卫生栓、乳膏剂、凝胶剂、糊剂、泡沫剂或喷雾剂给药。

[0169] 适合于胃肠外给药的药物制剂包括水性或非水性的无菌注射溶液,该溶液包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和溶解物,这些溶解物使制剂与所治疗的受者的血液等渗;以及水性或非水性的无菌混悬剂,其包含混悬介质和增稠剂。制剂可以以单剂量或多剂量的容器例如密封的安瓿和管形瓶给药,并以冷冻干燥(冻干)状态保存,以便在使用前只需立即加入无菌载体液体例如注射用水即可。

[0170] 根据配方制备的注射溶液和混悬液可以由无菌的粉末、颗粒或片制备。

[0171] 无需说明,除了上面特别提到的成分外,制剂还可以包含用于特定类型制剂的其它在本领域中常用的物质;因此,例如,适合于口服给药的制剂可以包含矫味剂。

[0172] 本发明化合物的治疗有效量依赖于很多因素,包括例如人或动物的年龄和体重、需要治疗的精确的疾病状况和其严重程度、制剂的性质和给药方法,并且最终由主治医生或兽医确定。然而,本发明化合物的有效量通常为每天 0.1-100mg/kg 受者(哺乳动物)体重,特别是每天 1-10mg/kg 体重。因此,对于体重 70kg 的成年哺乳动物的每天实际用量通常为 70-700mg,其中,该量可以以每天单次剂量给药或通常以每天一系列的分份剂量(例

如二、三、四、五或六次) 给药,但总的日剂量是相同的。可以将其盐或溶剂化物或生理学上的官能衍生物的有效量按照本发明化合物本身的有效量的部分进行确定。可以假定对于治疗上面提到的其它病症而言,类似的剂量是合适的。

[0173] 此外,本发明还涉及药物,该药物包含至少一种本发明化合物和 / 或其药学上可用的衍生物、溶剂化物和立体异构体 (包括其任何比例的混合物),以及至少一种另外的药物活性成分。

[0174] 另外的药物活性成分优选化疗剂,特别是抑制血管生成并因此抑制肿瘤细胞生长和扩散的化疗剂;此处优选 VEGF 受体抑制剂,包括针对 VEGF 受体的核酶和反义物质,以及血管生成抑制因子和内皮抑素。

[0175] 可以与本发明化合物组合使用的抗肿瘤药的实例通常包括烷化剂、抗代谢药;表鬼臼毒素;抗肿瘤酶;拓扑异构酶抑制剂;丙卡巴肼;米托蒽醌或铂配位络合物。

[0176] 抗肿瘤药优选地选自下面类别的化合物:葱环类、长春花属药物、丝裂霉素类、博来霉素类、细胞毒的核苷类、埃坡霉素类、浙皮海绵内酯类 (discormolides)、蝶啶类、diynenes 和鬼臼毒素类。

[0177] 上述类别化合物中特别优选例如洋红霉素、柔红霉素、氨基蝶呤、甲氨蝶呤、甲基叶酸、二氯甲氨蝶呤、丝裂霉素 C、泊非霉素、5- 氟尿嘧啶、5- 氟脱氧尿嘧啶单磷酸盐、阿糖胞苷、5- 氮杂胞苷、硫鸟嘌呤、硫唑嘌呤、腺苷、喷司他丁、赤式羟基壬基腺嘌呤、克拉屈滨、6- 巯基嘌呤、吉西他滨、阿糖胞苷、鬼臼毒素或鬼臼毒素衍生物 (例如依托泊苷、磷酸依托泊苷或替尼泊苷)、美法仑、长春碱、长春瑞滨、长春新碱、异长春碱、长春地辛、长春罗新、多西紫杉醇和紫杉醇。其它优选的抗肿瘤药选自 discormolide、埃坡霉素 D、磷雌氮芥、卡铂、顺铂、奥沙利铂、环磷酰胺、博来霉素、吉西他滨、异环磷酰胺、美法仑、六甲密胺、塞替派、idatrexate、三甲曲沙、达卡巴嗪、L- 天冬酰胺酶、喜树碱、CPT-11、托泊替康、阿糖胞苷、比卡鲁胺、氟他胺、亮丙瑞林、吡啶并苯并咪唑衍生物、干扰素和白介素。

[0178] 另外的药物活性成分优选抗生素。优选的抗生素选自更生霉素、柔红霉素、伊达比星、表柔比星、米托蒽醌、博来霉素、光神霉素、丝裂霉素。

[0179] 另外的药物活性成分优选酶抑制剂。优选的酶抑制剂选自组蛋白去乙酰抑制剂 (例如辛二酰苯胺异羟肟酸 [SAHA]) 和酪氨酸激酶抑制剂 (例如 ZD1839 [Iressa])。

[0180] 另外的药物活性成分优选核输出抑制剂。核输出抑制剂阻止生物聚合体 (例如 RNA) 从细胞核输出。优选的核输出抑制剂选自 Callystatin、来普霉素 B、Ratjadone。

[0181] 另外的药物活性成分优选核输出抑制剂。核输出抑制剂阻止生物聚合体 (例如 RNA) 从细胞核输出。优选的核输出抑制剂选自 Callystatin、来普霉素 B、Ratjadone。

[0182] 另外的药物活性成分优选免疫抑制剂。优选的免疫抑制剂选自雷帕霉素、CCI-779 (惠氏 (Wyeth) 公司)、RAD001 (诺华 (Novartis) 公司)、AP23573 (Ariad 制药公司)。

[0183] 本发明还涉及套盒 (药盒),该套盒包含独立包装的

[0184] (a) 有效量的本发明化合物和 / 或其药学上可用的衍生物、溶剂化物和立体异构体,包括它们任何比例的混合物,和

[0185] (b) 有效量的另外的药物活性成分。

[0186] 该套盒包含适当的容器,例如盒子、单独的瓶、袋或安瓿。该套盒可以例如包含分

离的安甌,每个安甌中包含溶解或冻干形式的有效量的本发明化合物和 / 或其药学上可用的衍生物、溶剂化物和立体异构体 (包括它们的所有比例的混合物) 以及有效量的另外的药物活性成分。

[0187] 用途

[0188] 本发明化合物适合于作为治疗哺乳动物特别是人类中 HSP90 起作用的疾病的药物活性成分。

[0189] 因此,本发明涉及 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和其药学上可用的衍生物、溶剂化物和立体异构体 (包括它们的任何比例的混合物) 在制备治疗其中 HSP90 的抑制、调节和 / 或调控起作用的疾病的药物中的用途。

[0190] 本发明包括 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺及其药学上可用的衍生物、溶剂化物和立体异构体 (包括它们的任何比例的混合物) 在制备治疗下列疾病的药物中的用途:肿瘤疾病,例如纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、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、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、骨髓癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、维尔姆斯瘤、宫颈癌、睾丸瘤、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮细胞癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、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、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症和重链病;

[0191] 病毒性疾病,其中病毒病原体选自甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、流感病毒、水痘病毒、腺病毒、单纯性疱疹 I 型病毒 (HSV-I)、单纯性疱疹 II 型病毒 (HSV-II)、牛痘病毒、鼻病毒、埃可病毒、轮状病毒、呼吸道合胞病毒 (RSV)、乳头瘤病毒、乳多孔病毒、巨细胞病毒、棘状病毒、虫媒病毒、汉坦病毒、柯萨奇病毒、腮腺炎病毒、麻疹病毒、风疹病毒、脊髓灰质炎病毒、人免疫缺陷病毒 I 型 (HIV-I) 和人免疫缺陷病毒 II 型 (HIV-II);

[0192] 用于移植中的免疫抑制;炎症诱导的疾病,例如类风湿性关节炎、哮喘、多发性硬化症、1 型糖尿病、红斑狼疮、银屑病和炎性肠疾病;囊性纤维化;与血管生成相关的疾病,例如糖尿病性视网膜病、血管瘤、子宫内膜异位、肿瘤血管生成;传染性疾病;自身免疫疾病;局部缺血;神经再生的促进;纤维生成性疾病,例如硬皮病、多发性肌炎、系统性狼疮、肝硬化、疤痕疙瘩形成、间质性肾炎和肺纤维化;

[0193] 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺可以抑制特别是癌、肿瘤细胞和肿瘤转移灶的生长,因此适合于肿瘤治疗。

[0194] 此外,本发明包括 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和 / 或其生理上可接受的盐和溶剂化物在制备保护正常细胞对抗化疗引起的毒性的药物以及治疗错误的蛋白折叠或聚集是主要致病因素的疾病 (例如瘙痒病、克雅氏病、亨廷顿病或阿尔茨海默病) 的药物中的用途。

[0195] 本发明还涉及 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和/或其生理上可接受的盐和溶剂化物在制备治疗中枢神经系统疾病、心血管病和恶病质的药物中的用途。

[0196] 在另外的实施方案中,本发明还涉及 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和/或其生理上可接受的盐和溶剂化物在制备用于 HSP90 调控的药物中的用途,其中调控的 HSP90 生物活性引起个体的免疫反应、从内质网中的蛋白质转运、从低氧/缺氧应激中恢复、从营养不良中恢复、从热应激中恢复或上述的组合,和/或其中病症为癌症、传染性疾病、与扰乱的从内质网中的蛋白质转运相关的病症、与局部缺血/再灌注相关的病症或它们的组合,其中与局部缺血/再灌注相关的病症是由心脏停搏、心搏停止和延迟型室性心律失常、心脏手术、心肺搭桥术、器官移植、脊髓创伤、头创伤、中风、血栓栓塞性中风、出血性中风、脑血管痉挛、张力减退、低血糖、癫痫持续状态、癫痫发作、焦虑症、精神分裂症、神经变性病症、阿尔茨海默病、亨廷顿病、肌萎缩性侧索硬化(ALS)或新生儿应激造成的后果。

[0197] 在另外的实施方案中,本发明还涉及 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺和/或其生理上可接受的盐和溶剂化物在制备治疗局部缺血的药物中的用途,所述局部缺血是由心脏停搏、心搏停止和延迟型室性心律失常、心脏手术、心肺搭桥术、器官移植、脊髓创伤、头创伤、中风、血栓栓塞性中风、出血性中风、脑血管痉挛、张力减退、低血糖、癫痫持续状态、癫痫发作、焦虑症、精神分裂症、神经变性病症、阿尔茨海默病、亨廷顿病、肌萎缩性侧索硬化(ALS)或新生儿应激造成的后果。

[0198] 测定 HSP90 抑制剂的实验方法

[0199] 可以利用格尔德霉素或 17-烯丙基氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素(17AAG)与 HSP90 的结合以及它们的竞争性抑制作用,测定本发明化合物的抑制活性(Carreras 等人,2003;Chiosis 等人,2002)。

[0200] 在具体的方案中,使用放射性配体过滤结合实验。此处所用的放射性配体是氘标记的 17-烯丙基氨基格尔德霉素,[3H]17AAG。该过滤结合实验可用于靶向寻找干扰 ATP 结合位点的抑制剂。

[0201] 材料:

[0202] 重组人 HSP90 α (大肠杆菌表达,95%纯度);

[0203] [3H]17AAG(17-烯丙基氨基格尔德霉素,[烯丙基氨基-2,3-³H])。比活性: 1.11×10^{12} Bq/mmol (Moravek, MT-1717);

[0204] HEPES 过滤缓冲液 (50mM HEPES, pH 7.0, 5mM MgCl₂, BSA0.01%)

[0205] Multiscreen FB(1 μ m) 过滤板 (Millipore, MAFBNOB 50)。

[0206] 方法:

[0207] 首先将 96-孔微滴定过滤板用 0.1% 聚乙烯亚胺冲洗和涂覆。

[0208] 在下面的条件下进行实验:

[0209] 反应温度 22°C

[0210] 反应时间:30 分钟,在 800rpm 下振荡

[0211] 实验体积:50 μ l

[0212] 终浓度：

[0213] 50mM HEPES HCl, pH 7.0, 5mM MgCl₂, 0.01% (w/v) BSA

[0214] HSP90 : 1.5 μg / 试验

[0215] [3H] 17AAG : 0.08 μM。

[0216] 在反应终止时,用多头真空仪器 (Multiscreen Separation System, Millipore) 通过吸取将过滤板中的上清液除去,并将滤板洗涤两次。

[0217] 然后在 β 计数器 (Microbeta, Wallac) 下用闪烁器 (Microscint 20, Packard) 测定滤板。

[0218] 根据“每分钟计数”的值确定“对照的百分数 (%)”,并由此计算出化合物的 IC₅₀ 值。

[0219] 下表显示本发明化合物与最接近的现有技术的化合物“A47”的比较测定。本发明的化合物“C1”在抑制 HSP90 方面具有高出约 10 倍的活性。

[0220] 试验结果：

[0221] 表 1

[0222] HSP90 的抑制作用

[0223]

化合物	IC ₅₀ [mol/l]
5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丙基-苯甲酰胺 (“A47”)	1.60E-07
5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基-苯甲酰胺 (“C1”)	2.90E-08

[0224] 在上下文中,所有的温度是以℃为单位表示的。在下面的实施例中,“常规后处理”是指:如果需要的话,加入水,如果需要的话,根据终产物的组成调节 pH 至 2-10,将混合物用乙酸乙酯或二氯甲烷萃取,分离各相,将有机相用硫酸钠干燥并蒸发,产物通过硅胶色谱法和 / 或通过结晶纯化。Rf 值为在硅胶上的值;洗脱剂:乙酸乙酯 / 甲醇 9 : 1。

[0225] LC-MS 条件

[0226] 采用具有下列特征的 HP 1100 系列 Hewlett Packard System:离子源:电喷雾(阳极模式);扫描:100-1000m/e;断裂电压:60V;气体温度:300℃,DAD:220nm。

[0227] 流速:2.4ml/min。在 DAD 后,所用的分流器将对于 MS 的流速减至 0.75ml/min。

[0228] 柱:Chromolith SpeedROD RP-18e 50-4.6

[0229] 溶剂:来自 Merck KGaA 的 LiChrosolv 级

[0230] 溶剂 A:H₂O (0.01% TFA)

[0231] 溶剂 B:ACN (0.008% TFA)

[0232] 梯度:

[0233] 20%的 B → 100%的 B:0 分钟至 2.8 分钟

[0234] 100%的 B :2.8 分钟至 3.3 分钟

[0235] 100%的 B → 20%的 B :3.3 分钟至 4 分钟

[0236] 在下面的实施例中所述的保留时间 R_f 或 R_t [min] 和 $M+H^+$ 数据 MW 为 LC-MS 的测定结果。

[0237] 参考实施例 1

[0238] 制备 5-(2,4-二羟基-5-苯乙基苯基)-4-(2-氟苯基)-3-羟基-4H-1,2,4-三唑 (“A1”) :

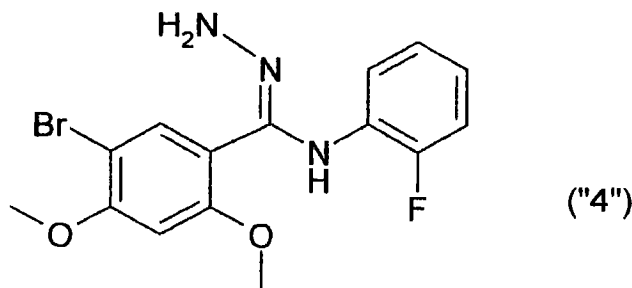
[0239] 1.1 将 15g 的 5-溴-2,4-二羟基苯甲酸、14.4ml 碘甲烷和 62.9g 碳酸铯在 100ml 的 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 中回流加热 16 小时。将该混合物进行常规后处理,得到 16.7g 的 5-溴-2,4-二甲氧基苯甲酸 (“1”)。

[0240] 1.2 将 4g 的 “1” 和 2 滴 DMF 在 40ml 亚硫酸氯中的混合物在室温下搅拌 16 小时。除去溶剂得到 4.3g 的 5-溴-2,4-二甲氧基苯甲酰氯 (“2”), R_f 1.610 ;MW 280.5。该产物不需进一步纯化直接进行反应。

[0241] 1.3 将 3.8g 的 “2” 在 25ml 二氯甲烷中的溶液在冰冷却下逐滴加入 1.314ml 的 2-氟苯胺和 1.13ml 吡啶在 25ml 二氯甲烷的溶液中,并将该混合物在室温下搅拌 5 小时。常规后处理并从异丙醇中结晶得到 4.5g 的 5-溴-N-(2-氟苯基)-2,4-二甲氧基苯甲酰胺 (“3”), R_f 2.217 ;MW 355.2。

[0242] 1.4 将 2.9g 的 PCl_5 在氮气中加入 4.5g 的 “3” 在 60ml 甲苯的溶液中,并将该混合物回流加热 3 小时。除去溶剂,将残余物溶于 100ml 的 THF 中,并将该溶液在 0°C 下逐滴加至 138ml 的 1M 肼在 THF 的溶液中。再搅拌该混合物 16 小时,进行常规后处理并从异丙醇中结晶,得到 3.6g 的 N-(2-氟苯基)-3-溴-4,6-二甲氧基苯甲酰胺脒 (“4”), R_f 0.952 ;MW 369.2

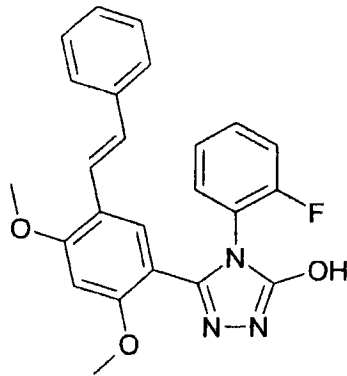
[0243]



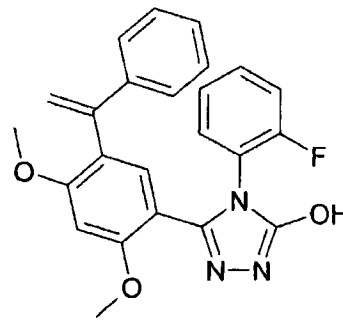
[0244] 1.5 将 1.86g 的 1,1'-羰基二咪唑 (“5”) 加至 3.6g 的 “4” 在 300ml 的 THF 的溶液中,并将该混合物再搅拌 16 小时。将该混合物进行常规后处理,残余物与 MTB 醚共沸并冷却,分离结晶,得到 700mg 的 5-(2,4-二甲氧基-5-溴苯基)-4-(2-氟苯基)-3-羟基-4H-1,2,4-三唑 (“6”), R_f 1.413 ;MW 395.2。

[0245] 1.6 将 600mg 的 “6”、178.4 μ l 苯乙烯 (稳定化的)、430.2 μ l 三乙胺、14.1mg 醋酸钨 (II) (47%的钨)、19.17mg 三-邻甲苯基膦和 4ml 乙腈装入一个 10ml 的小瓶中。将该混合物在 170°C 下在微波中照射 30 分钟。加入少量催化剂,并将该混合物再进行第二次照射。将甲苯加入该混合物中,其随后用水萃取多次。将有机相干燥并蒸发。残余物经 RP 色谱纯化,得到 140mg 的 “7”, R_f 1.765 ;MW 418.4, 以及 40mg 的 “8”

[0246]



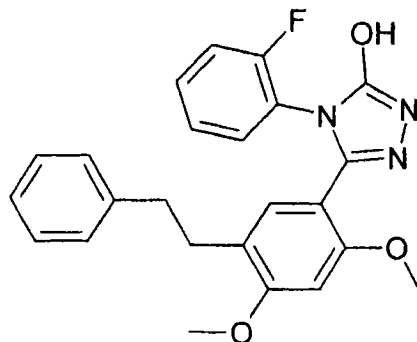
"7"



"8"

[0247] 1.7 将 140mg 的“7”在标准条件下在 10ml THF 中在 0.14g 的 Pt/C(5%) 存在下氢化。随后分离除去催化剂,进行常规后处理,得到 140mg 的“9”, R_f 1.920 ;MW 420.5

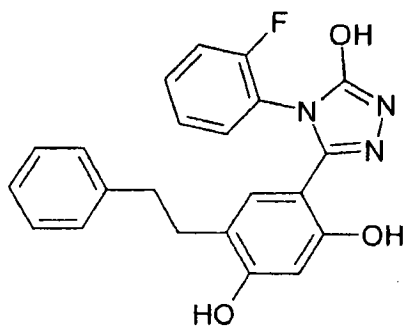
[0248]



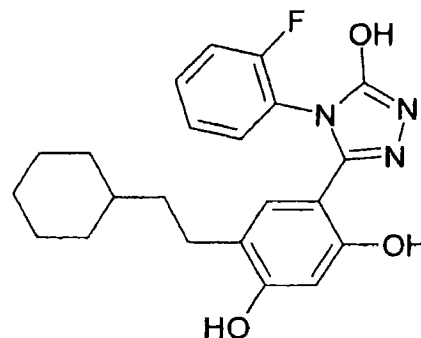
"9"

[0249] 1.8 将 158.5 μ l 三溴化硼在 -10°C 下加至 140mg 的“9”在 2ml 二氯甲烷的溶液中,并将该混合物在室温下再搅拌 16 小时。在 0°C 下加入甲醇,分离溶剂,并将残余物经 RP 色谱纯化,得到 74mg 的“A1”, R_f 1.537 ;MW 392.4,以及 27mg 的“A2”, R_f 1.884 ;MW 398.4

[0250]



"A1"



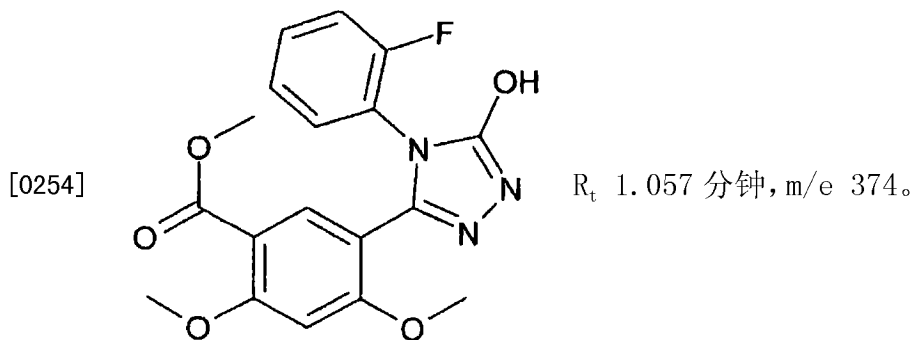
"A2"

[0251] 参考实施例 2

[0252] 制备 5-[4-(2-氟苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丙基苯甲酰胺 (“A46”)

[0253] 2.1 将 100mg 的 5-(2,4-二甲氧基-5-溴苯基)-4-(2-氟苯基)-3-羟基-4H-1,2,4-三唑 (“6”)、7mg 的 [(R)-(+)-2,2'-二-(二苯基膦基)-1,1'-联萘基]氯化钨(II)、5.7ml 一氧化碳和 35 μ l 三乙胺在 20ml 甲醇中的溶液在 100°C 和 7.5 巴的条件下在

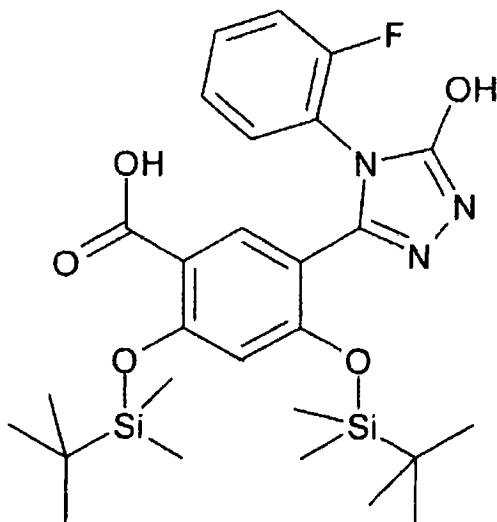
高压锅中处理 20 小时。随后将所得溶液浓缩并在乙醇中结晶,得到 91mg 的 5-[4-(2-氟苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二甲氧基苯甲酸甲酯



[0255] 2.2 与实施例 1.8 类似,90mg 的 5-[4-(2-氟苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二甲氧基苯甲酸甲酯的反应得到 57.2mg 的化合物 5-[4-(2-氟苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基苯甲酸, R_t 0.598 分钟, m/e 332。

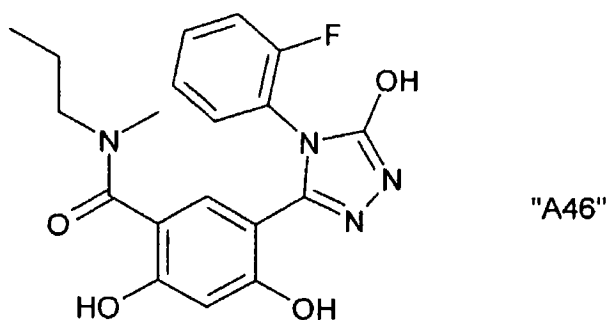
[0256] 2.3 将 55mg 的 5-[4-(2-氟苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基苯甲酸、2 摩尔当量的叔丁基二甲基氯硅烷和 3 摩尔当量的咪唑在 2ml 的 THF 中的溶液在室温下搅拌 3 小时,得到

[0257]



[0258] 2.4 将 2.3 中所得的产物溶于 1.5ml 的 THF 中,并加入 2 当量的 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸化物。室温下 1 小时后,加入 1.2 当量的丙基甲基胺,将该混合物再搅拌 18 小时。然后加入 3 当量的四甲基氟化铵,将该混合物在室温下搅拌 2 小时。浓缩后,分离产物,得到 42mg 的“A46”; R_t 1.139 分钟, m/e 387 ;MW 386

[0259]



[0260] 以下化合物采用类似方法获得：

[0261] 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丙基苯甲酰胺 (“A47”), MW 383.4。

[0262] 实施例 1

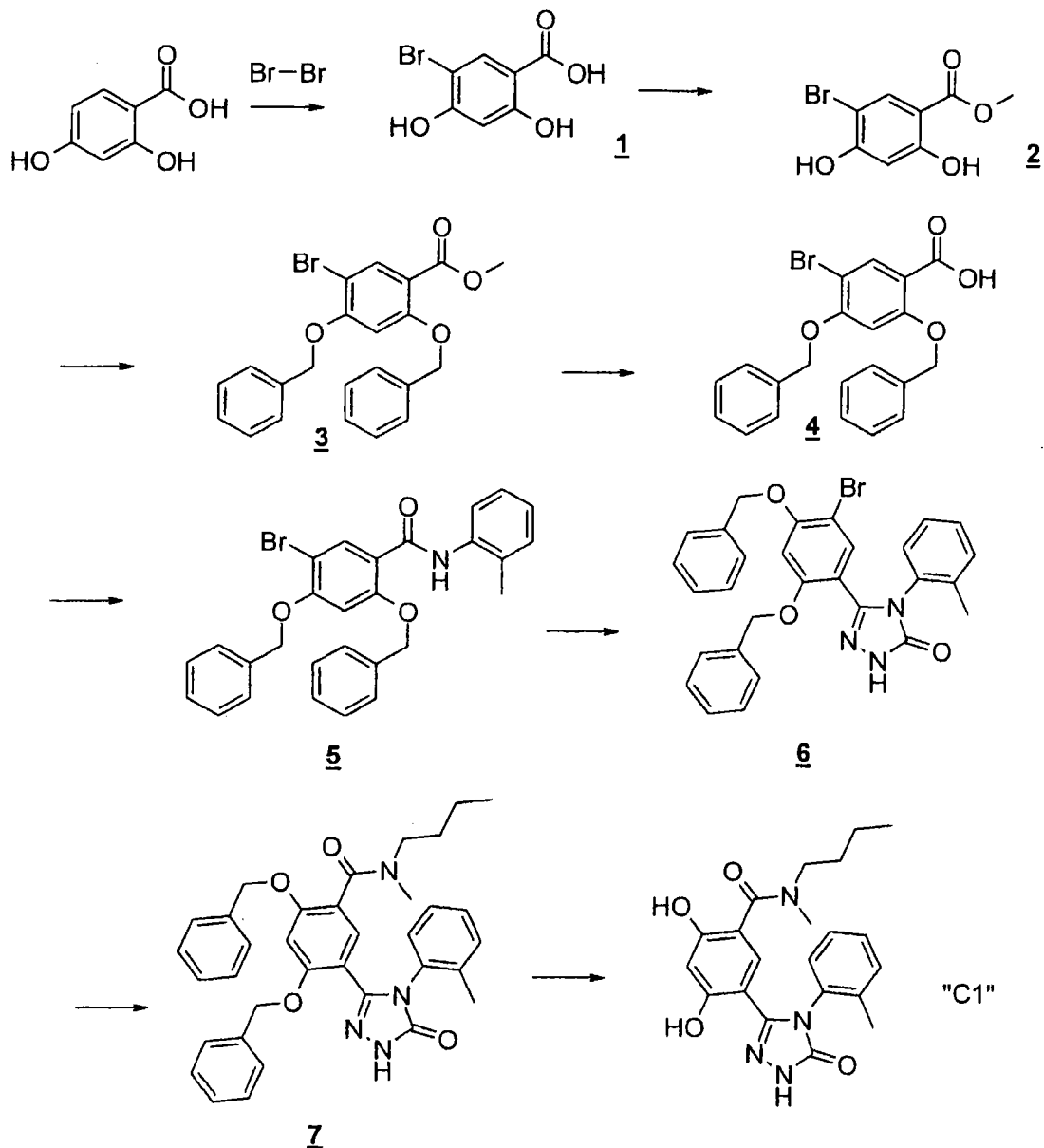
[0263] 本发明化合物 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基苯甲酰胺 (“C1”) 采用与制备“A47”类似的方法获得；

[0264] ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 11.86 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 7.28-7.23 (m, 2H), 7.14-7.10 (m, 1H), 7.03-7.01 (m, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.26 (s, 1H), 3.16 (宽 m, 2H), 2.73 (宽 s, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.40 (宽 m, 2H), 1.15 (宽 m, 2H), 0.81 (宽 m, 3H)。

[0265] 实施例 2

[0266] “C1”的合成可以按照下式进行：

[0267]



[0268] 2. 15- 溴 -2,4- 二羟基苯甲酸 (1) :

[0269] 将 3.55kg 的 2,4- 二羟基苯甲酸溶于 30 升冰醋酸中。随后在 15°C 下历经 8 小时逐滴加入 1060ml 溴在 10 升冰醋酸中的溶液。然后在 20°C 下继续搅拌 16 小时,将该混合物真空蒸发,将该结晶状残余物在 20 升二氯甲烷中浆体化并搅拌 1 小时。过滤并在空气中干燥,得到 4.9kg 白色粗产物。在 30 升甲苯 / 乙腈 (1 : 1) 中重结晶并干燥,得到 3.549kg (66% 产率) 的 5- 溴 -2,4- 二羟基苯甲酸 (熔点 210-211.5°C ;MW 233.0)。

[0270] 2. 25- 溴 -2,4- 二羟基苯甲酸甲酯 (2) :

[0271] 将 8.9kg 的 5- 溴 -2,4- 二羟基苯甲酸溶于 70 升甲醇中并加热至 55°C。然后定量加入 800ml 硫酸 (w = 95-98%),并将该混合物在温和回流下搅拌 4 天,每天额外加入 500ml 硫酸 (w = 95-98%) (3 次)。将该反应混合物加入 9kg 碳酸氢钠在 100 升水的冷却溶液中并搅拌。过滤并在 50°C 真空干燥,得到 7.87kg (83%) 的 5- 溴 -2,4- 二羟基苯甲酸甲酯 (白色结晶),MW 247.1。

[0272] 2. 32,4- 二苄氧基 -5- 溴苯甲酸甲酯 (3) :

[0273] 在 0°C 下将 7.86kg (83%) 的 5- 溴 -2,4- 二羟基苯甲酸甲酯和 9.65g 碳酸钾

悬浮于 100 升乙腈中。随后将该混合物加热至 80℃,并通过滴液漏斗历经 40 分钟加入 7575ml 苄基溴。在 80℃下搅拌 16 小时后,过滤该混合物,并将收集的滤液在真空中蒸发: 12.95kg(95%)的 2,4-二苄氧基-5-溴苯甲酸甲酯(淡黄色结晶);MW 427.3。

[0274] 2.42,4-二苄氧基-5-溴苯甲酸(4):

[0275] 将 6.4kg 的 2,4-二苄氧基-5-溴苯甲酸甲酯在 18 升 THF 中的溶液加入 3kg 氢氧化钠在 30 升水的溶液中。在 68℃下搅拌过夜后,将该混合物冷却至 10℃,并通过滴液漏斗加入 7.5 升 HCl(w:37%)(pH 1)。将该混合物搅拌 1 小时并随后过滤。将残余物在 60℃真空干燥至恒重;5.687kg(91%)的 2,4-二苄氧基-5-溴苯甲酸(熔点 150-152℃;MW 413.3)。

[0276] 2.52,4-二苄氧基-5-溴-N-邻-甲苯基苯甲酰胺(5):

[0277] 将 80ml 的 DMF 加入 42 升亚硫酸氯。将该混合物冷却至 2-9℃,并历经 1 小时加入 11.55kg 的 2,4-二苄氧基-5-溴苯甲酸。在此温度下继续搅拌 1 小时,然后在 25℃下搅拌 16 小时。然后在真空中(300 毫巴,46℃)蒸馏去亚硫酸氯。向所得残余物中加入 3 升甲苯,并将该混合物再次蒸发至干,并将该方法再重复两次。所得产物不需进一步纯化直接用于以下反应。13.6kg(含甲苯)。

[0278] 在 3℃下将 2.8 升邻-甲苯胺和 2.5 升吡啶加入 50 升二氯甲烷中。将悬浮在 35 升二氯甲烷中的 13.6kg 的 2,4-二苄氧基-5-溴苯甲酰氯(含有甲苯)历经 2 小时加入该溶液中。随后将该混合物在 23℃下搅拌过夜,滤出固体,并用二氯甲烷冲洗(2× 每次 5 升)。将该方法所得的粗产物(8kg)溶于 40 升二氯甲烷中,并连续用 40 升蒸馏水、50 升盐酸(约 1mol/l;从 5 升 HCl w:37%和 50 升水制备)萃取。随后用 50 升水洗涤有机相。用 6kg 硫酸钠干燥有机相 3 天。用抽滤漏斗抽滤除去干燥剂,并将滤液在旋转蒸发器中蒸发至干。从乙醇(35 升,65℃)中重结晶并干燥(50℃/35 毫巴)至恒重,得到 10.84kg(82%)的 2,4-二苄氧基-5-溴-N-邻-甲苯基苯甲酰胺(熔点 174.5℃-176℃;MW 502.4)。

[0279] 2.65-(2,4-二苄氧基-5-溴苯基)-4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-1,2,4-三唑(6):

[0280] 在 3℃下将 1.75kg 五氯化磷加入 3.5kg 的 2,4-二苄氧基-5-溴-N-邻-甲苯基苯甲酰胺在 60 升甲苯的溶液中。然后将该混合物在 135℃下加热 4 小时,并在 25℃继续搅拌 16 小时。真空蒸发,得到 3.6kg 结晶物质。将后者溶于 18 升 THF 中并在 3℃下历经 1.5 小时加入到 1.38kg 的 Boc-肼在 30 升 THF 的溶液中。加温至 25℃并搅拌 16 小时后,抽滤出该产物(4.3kg 白色产物-含 THF)并直接用于以下反应。

[0281] 将该产物溶于 30 升 THF 中,在 1℃下历经 20 分钟加入 7 升盐酸(w:37%)。在 23℃搅拌该混合物 16 小时并冷却至 -5℃,历经 1.5 小时逐滴加入 7.5 升氢氧化钠溶液(w:32%)。两相分离,用 25 升饱和氯化钠溶液(用 8.75kg 氯化钠和 25 升水制备)洗涤有机相。用 6kg 硫酸钠干燥有机相,抽滤出干燥剂,并将滤液在旋转蒸发器中蒸发至干。将 2×5 升的甲苯加入残余物,并进行“剧烈(sharp)”蒸馏来“夹带”除去剩余的水分。该方法所得的残余物直接用于进一步的反应。

[0282] 将 1.3kg 羰基二咪唑(CDI)溶于 100 升 THF 中。冷却至 3℃后,将前一反应的产物缓慢逐滴加入 25 升 THF 中。然后在 25℃下搅拌该混合物 16 小时,并用 30 升饱和氯化钠溶液萃取,然后有机相用 25 升 1N HCl 萃取。随后有机相用 25 升饱和氯化钠溶液洗涤并用

10kg 硫酸钠干燥。过滤并真空蒸发有机相得到固体残余物,将其溶于 5 升甲苯中并再次真空蒸发至干。在 70℃将其从 20 升 2-丙醇中重结晶,得到 2.7kg(76%) 的 5-(2,4-二苄氧基-5-溴苯基)-4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-1,2,4-三唑, MW 542.4。

[0283] 2.75-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二苄氧基-N-甲基-N-丁基苯甲酰胺 (7) :

[0284] 将 2kg 的 5-(2,4-二苄氧基-5-溴苯基)-4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-1,2,4-三唑、90g 的 (1,1'-二(二苯基膦基)-二茂铁)氯化钨(II)、83 升一氧化碳、479g 三乙胺和 400g 的 N-甲基丁胺在 25 升 THF 中的溶液在 120℃和 5-10 巴的条件下在高压锅中处理 20 小时。随后将所得溶液蒸发并从乙醇中结晶,得到 1.4kg(70%) 的 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二苄氧基-N-甲基-N-丁基苯甲酰胺, MW 476.7。

[0285] 2.85-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基苯甲酰胺 (“A1”) :

[0286] 将 1.1kg 的 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二苄氧基-N-甲基-N-丁基苯甲酰胺、5%的 Pd/C(50.5%的水)和 85 升氢在 10 升 THF 中的溶液在 23℃下在高压锅中处理 7 小时。随后将所得溶液蒸发并从乙醇中重结晶,得到 738g(95%) 的 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-2,4-二羟基-N-甲基-N-丁基苯甲酰胺 (“C1”);MW 396.5。

[0287] 可以分离到本发明的化合物“C1”的两种多晶型物 A1 和 A2。

[0288] 熔点 :

[0289] 晶型 A1 :熔点 $238.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$ (n = 6)

[0290] 晶型 A2 :熔点 $209.6 \pm 0.2^\circ\text{C}$ (n = 6)

[0291] 晶型 A1 是热力学上更稳定的晶型。

[0292] 两种多晶型物的粉末 X-射线衍射光谱如图 1 所示。

[0293] 晶型 A2 可以转化为 A1,例如通过在例如甲醇、乙醇、丙酮、DMF、乙酸、甲酸、THF 或异丙醇的溶剂中搅拌来进行。

[0294] 多晶型物 A1 和 A2 的粉末 XRD 光谱数据 :

[0295] 10 个特征峰各自用于评价。

[0296]

样品	XRD 原始数据
第 7 批,晶型 A1	RT 162-07
第 12 批,晶型 A2	RT 2214-07

[0297] 方法和结果 :

[0298] X-射线粉末衍射 (XRD)

[0299] 用 XRD 检测全部样品

[0300] RT 162-07 :

[0301] ● D5000 衍射仪 [Bruker AXS]

- [0302] ●传递模式
- [0303] ●发生器功率 30kV/40mA
- [0304] ● CuK α 1- 辐射**1.5406Å** (初级单色仪)
- [0305] ●位置敏感检测器
- [0306] XRD 检测条件:
- [0307] 范围 :3-65° 2 θ
- [0308] 分辨率 :0.05° 2 θ
- [0309] 步进时间 :1.4 秒
- [0310] RT 2214-07 :
- [0311] ● Stoe 粉末 X- 射线衍射仪系统 STADIP 611KL
- [0312] ●传递模式
- [0313] ●发生器功率 40kV/40mA
- [0314] ● Cu-K α 1 辐射**1.5406Å** (初级单色仪)
- [0315] ●位置敏感检测器
- [0316] XRD 检测条件:
- [0317] 范围 :3-65° 2 θ
- [0318] 分辨率 :0.5° 2 θ
- [0319] 步进时间 :15 秒
- [0320] 晶型 A1 ;RT 162-07 :
- [0321]

编号	d[Å]	2 θ	I/I ₀
1	9,3	9,5	100
2	6,8	13,0	43
3	5,3	16,8	60
4	4,7	18,9	50
5	4,6	19,5	75
6	4,1	21,8	15
7	3,6	24,7	96
8	3,4	26,4	21
9	3,2	27,8	16
10	2,5	36,6	11

[0322] 晶型 A2 ;RT 2214-07 :

[0323]

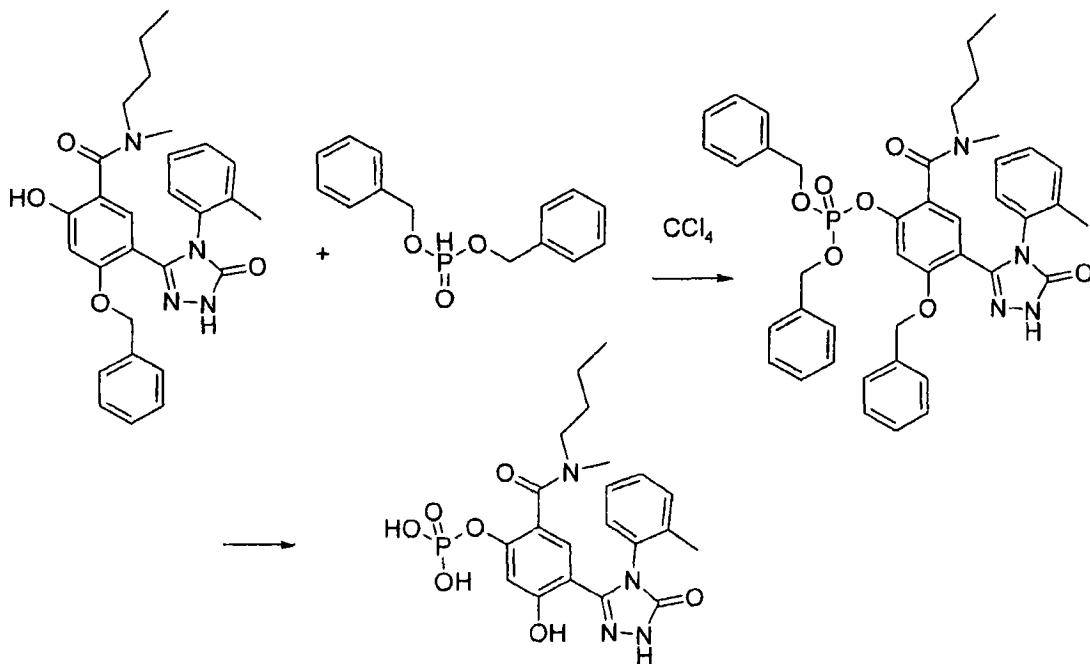
编号	d[Å]	2θ	I/I ₀
1	11,8	7,5	38
2	8,4	10,5	100
3	5,4	16,4	32
4	4,4	20,2	60
5	4,2	20,9	64
6	4,0	22,4	46
7	3,8	23,5	28
8	2,9	31,2	11
9	2,3	38,8	13
10	2,2	41,3	9

[0324] 前药化合物的制备

[0325] 实施例 3

[0326] 制备 [2-(丁基甲基氨基甲酰基)-5-羟基-4-(5-氧代-4-邻甲苯基-4,5-二氢-1H-1,2,4-三唑-3-基)苯基]单磷酸酯

[0327]



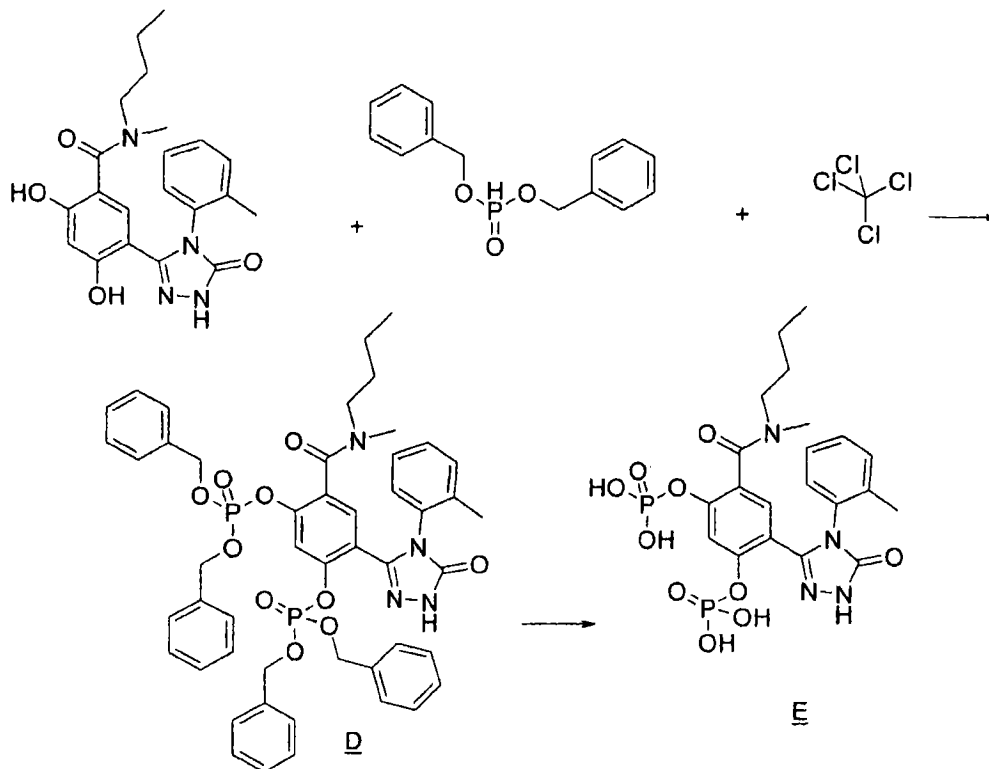
[0328] 首先将 700mg 的 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-4-苄氧基-2-羟基-N-甲基-N-丁基苯甲酰胺加入冷却的 20ml 乙腈中,并加入 10ml 四氯化碳。然后在 -10°C 下缓慢逐滴加入 0.5ml 的 N-乙基二异丙基胺和 50mg 的 4-(二甲氨基)吡啶和 326 μl 亚磷酸二苄酯。在此温度下搅拌该混合物 30 分钟,加入 10ml 的 0.5M KH₂PO₄ 水溶液,并用乙醚萃取该混合物,用硫酸钠干燥,过滤并蒸发。柱色谱纯化得到 550mg (51%) 的 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-4-苄氧基-2-(二苄基磷酰氧基)-N-甲基-N-丁基苯甲酰胺 (R_f 2.196 分钟;MW 746.8)。

[0329] 将 550mg 的 5-[4-(2-甲基苯基)-3-羟基-4H-[1,2,4]三唑-5-基]-4-苄氧基-2-(二苄基磷酰氧基)-N-甲基-N-丁基苯甲酰胺、5%的 Pd/C(50.5%的水)和 49.5ml 氢在 10ml 的 THF 中的溶液在 23°C 下在高压锅中处理 19 小时。然后将所得溶液蒸发,并从乙醚中结晶;280mg(79.8%)的 [2-(丁基甲基氨基甲酰基)-5-羟基-4-(5-氧代-4-邻甲苯基-4,5-二氢-1H-1,2,4-三唑-3-基)苯基]单磷酸酯 (Rf 0.645 分钟;MW 476.4)。

[0330] 实施例 4

[0331] 制备 [4-(丁基甲基氨基甲酰基)-2-(5-氧代-4-邻甲苯基-4,5-二氢-1H-1,2,4-三唑-3-基)-5-磷酰氧基苯基]单磷酸酯 (E)

[0332]

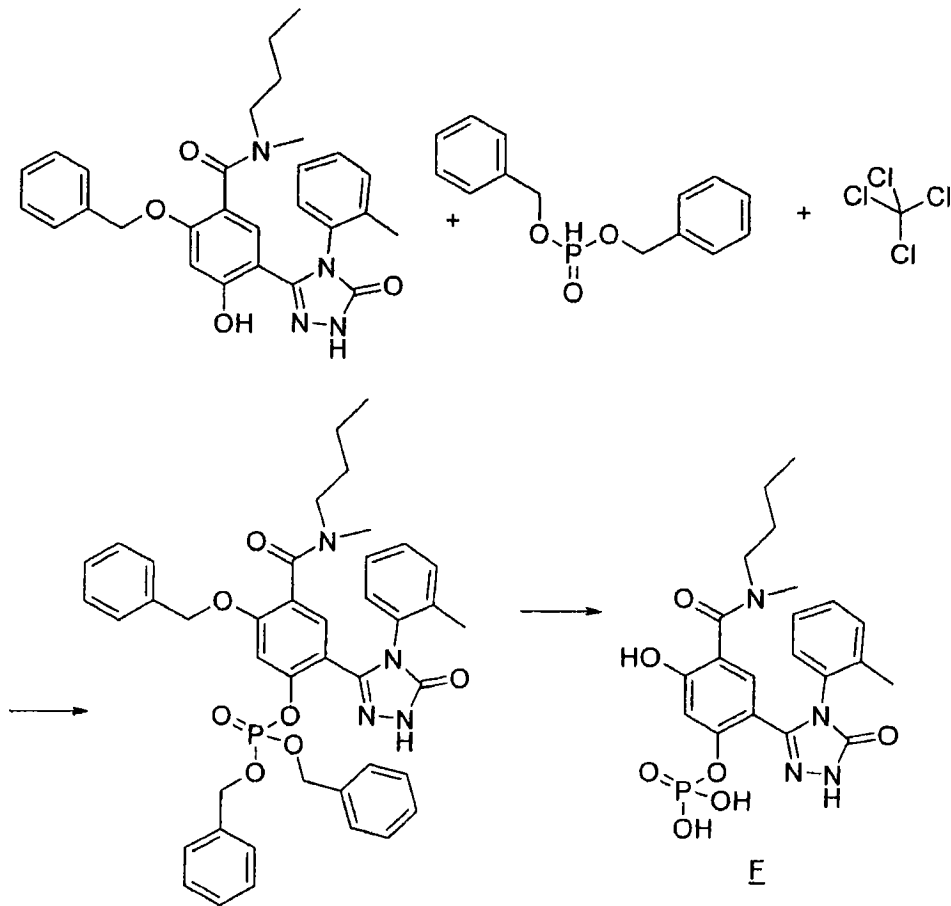


[0333] 采用与实施例 3 类似的方法进行合成;D:MW 916;Rf 2.335 分钟;E:MW 556.4;Rf 0.883 分钟。

[0334] 实施例 5

[0335] 制备 [4-(丁基甲基氨基甲酰基)-5-羟基-2-(5-氧代-4-邻甲苯基-4,5-二氢-1H-1,2,4-三唑-3-基)苯基]单磷酸酯 (E)

[0336]



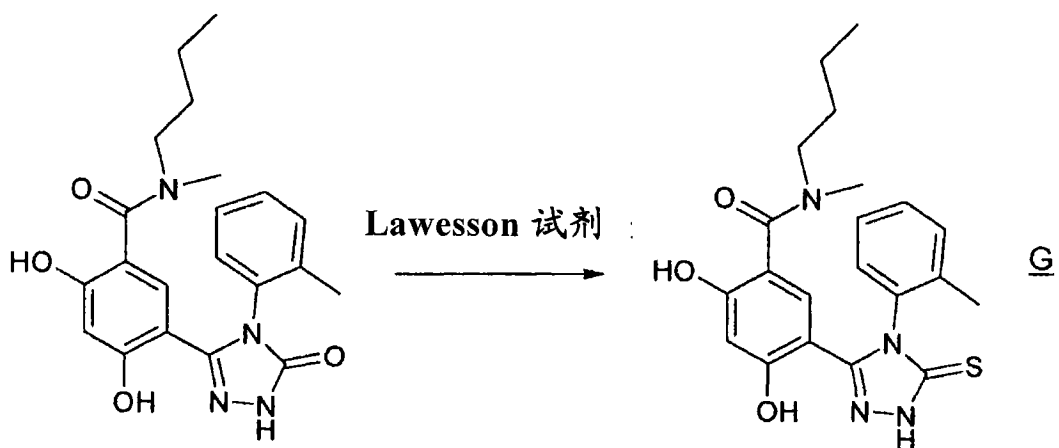
[0337] 采用与实施例 3 类似的方法进行合成：

[0338] E: MW 476.4 ; Rf 1.321 分钟。

[0339] 实施例 6

[0340] 制备 N-丁基-2,4-二羟基-N-甲基-5-(5-硫代-4-邻-甲苯基-4,5-二氢-1H-1,2,4-三唑-3-基)苯甲酰胺 (G)

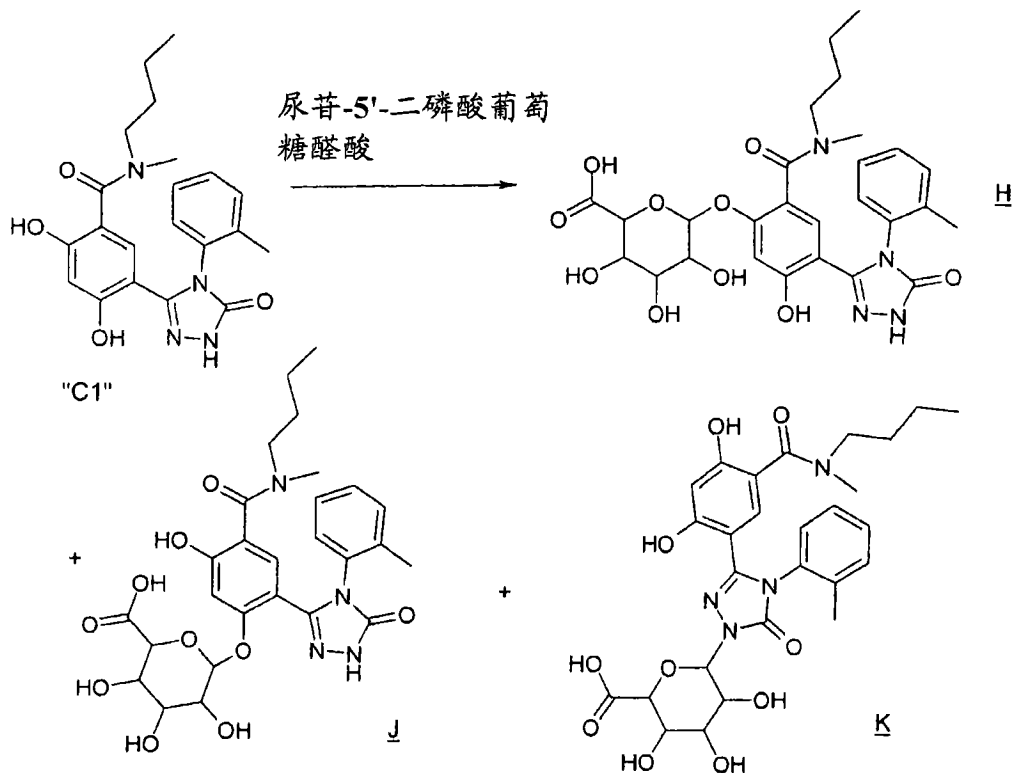
[0341]



[0342] 实施例 7

[0343] 制备“C1”的葡萄糖醛酸衍生物

[0344]



[0345] 将 4ml 磷酸钾缓冲液 (0.1M/pH7.4, 含 1.0mM $MgCl_2$)、100mg 尿苷-5'-二磷酸葡萄糖醛酸钠盐、10mg 的“C1” (悬浮于 1ml 的 20% 乙腈中) 和 1ml 猪肝匀浆物加入样品瓶中。将该批样品在 37°C 孵育。24 小时后, 加入乙腈, 将该混合物离心, 然后将上清蒸发至干。

[0346] 使用 LC-MS 来进行三种位置异构体的分离和分析。

[0347] LC-MS 条件

[0348] 具有以下特征的 Hewlett Packard HP 1100 系列系统: 离子源: 电喷雾 (阳极模式); 扫描: 100-1000m/e;

[0349] 断裂电压: 60V

[0350] 气体温度: 300°C

[0351] DAD: 220nm。

[0352] 流速: 2.4ml/min。所用的分流器在 DAD 之后将用于 MS 的流速降低为 0.75ml/min。

[0353] 柱: Chromolith SpeedROD RP-18e 50-4.6

[0354] 溶剂: 来自 Merck KGaA 的 LiChrosolv 级

[0355] 溶剂 A: H_2O (0.01% TFA)

[0356] 溶剂 B: 乙腈 (0.008% TFA)

[0357] 极性梯度:

[0358] 5% 的 B → 100% 的 B: 0 分钟至 3.0 分钟

[0359] 100% 的 B: 3.0 分钟至 3.3 分钟

[0360] 100% 的 B → 20% 的 B: 3.3 分钟至 4 分钟。

[0361] 对于相同质量的三种化合物, 检测出以下 R_T 值:

[0362] 1.307、1.406 和 1.465 分钟。

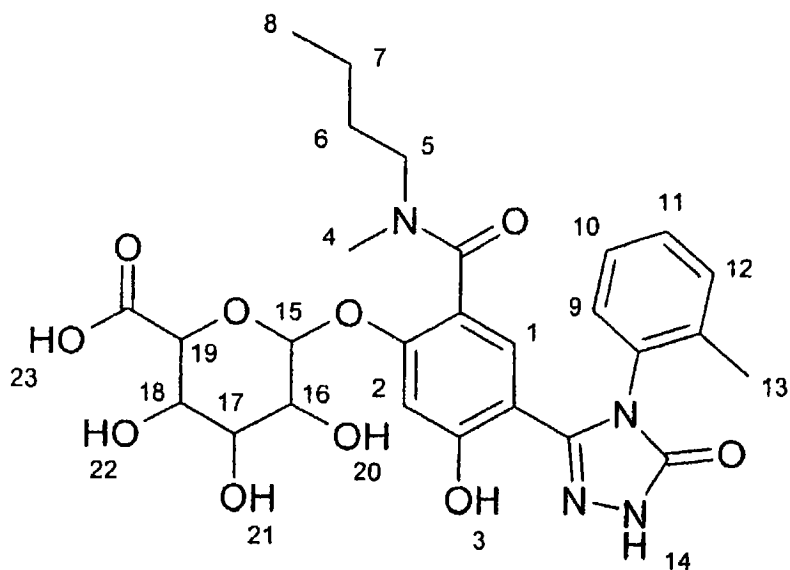
[0363] 异构体 H 通过 NMR 波谱法进行了明确的鉴定。

[0364] 一维 1H -NMR 谱和二维 HSQC、HMBC 和 ROESY 谱在以下条件下获得: Bruker DRX 500

波谱仪 ;DMSO-d₆, 303K, TMS 作为标准物。

[0365] ¹H-NMR 谱的归属 :

[0366]



[0367]

δ (1H) [ppm]	峰裂度	强度	峰的归属
11.97	s	1H	H14
10.2	宽峰	1H	H3
7.35-7.0	m	4H	H9, H10, H11, H12
6.99, 6.94	s	1H	H1
6.50	s	1H	H2
5.30-5.05	宽峰	2H	糖环的两个羟基基团
4.88	d	1H	H15
3.76	d	1H	H19
3.60-3.10	m	5H	H5, H16, H17, H18, H ₂ O
2.95	m	1H	H5'
2.87, 2.63	s	3H	H4
2.50	m		DMSO-d ₅

2.17, 2.16, 2.14	s	3H	H13
1.55-0.95	m	4H	H6, H7
0.91, 0.69	m	3H	H8
0.00	s		TMS

[0368] 下面的实施例涉及药物组合物：

[0369] 实施例 A：注射小瓶剂

[0370] 用 2N 盐酸将 100g 本发明的活性成分和 5g 磷酸氢二钠的 3L 双蒸水溶液调至 pH 为 6.5，无菌过滤，转移至注射小瓶中，在无菌条件下冻干，并在无菌条件下封口。每个注射小瓶中含有 5mg 活性成分。

[0371] 实施例 B：栓剂

[0372] 将 20g 本发明的活性成分与 100g 大豆卵磷脂和 1400g 可可脂的混合物熔化，倾倒入模具中并使其冷却。每一栓剂含有 20mg 活性成分。

[0373] 实施例 C：溶液剂

[0374] 将 1g 本发明的活性成分、9.38g 的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、28.48g 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和 0.1g 苯扎氯铵溶于 940ml 双蒸水中，制得溶液。将该溶液 pH 调至 6.8，并使溶液定容至 1L，照射灭菌。该溶液可以以滴眼剂形式使用。

[0375] 实施例 D：软膏剂

[0376] 在无菌条件下，将 500mg 本发明的活性成分与 99.5g 凡士林混合。

[0377] 实施例 E：片剂

[0378] 将 1kg 本发明的活性成分、4kg 乳糖、1.2kg 土豆淀粉、0.2kg 滑石粉和 0.1kg 硬脂酸镁的混合物用常规方法压片，得到每片含有 10mg 活性成分的片剂。

[0379] 实施例 F：糖锭剂

[0380] 根据类似于实施例 E 的方法压制片剂，接着按常规方法用包含蔗糖、土豆淀粉、滑石粉、黄蓍胶和染料的包衣材料进行包衣。

[0381] 实施例 G：胶囊剂

[0382] 用常规方法，将 2kg 本发明的活性成分装入硬明胶胶囊中，每个胶囊中含有 20mg 的活性成分。

[0383] 实施例 H：安瓿剂

[0384] 将 1kg 本发明的活性成分在 60L 双蒸水中的溶液无菌过滤，转移至安瓿中，在无菌条件下冻干，并在无菌条件下封口。每一安瓿中含有 10mg 的活性成分。

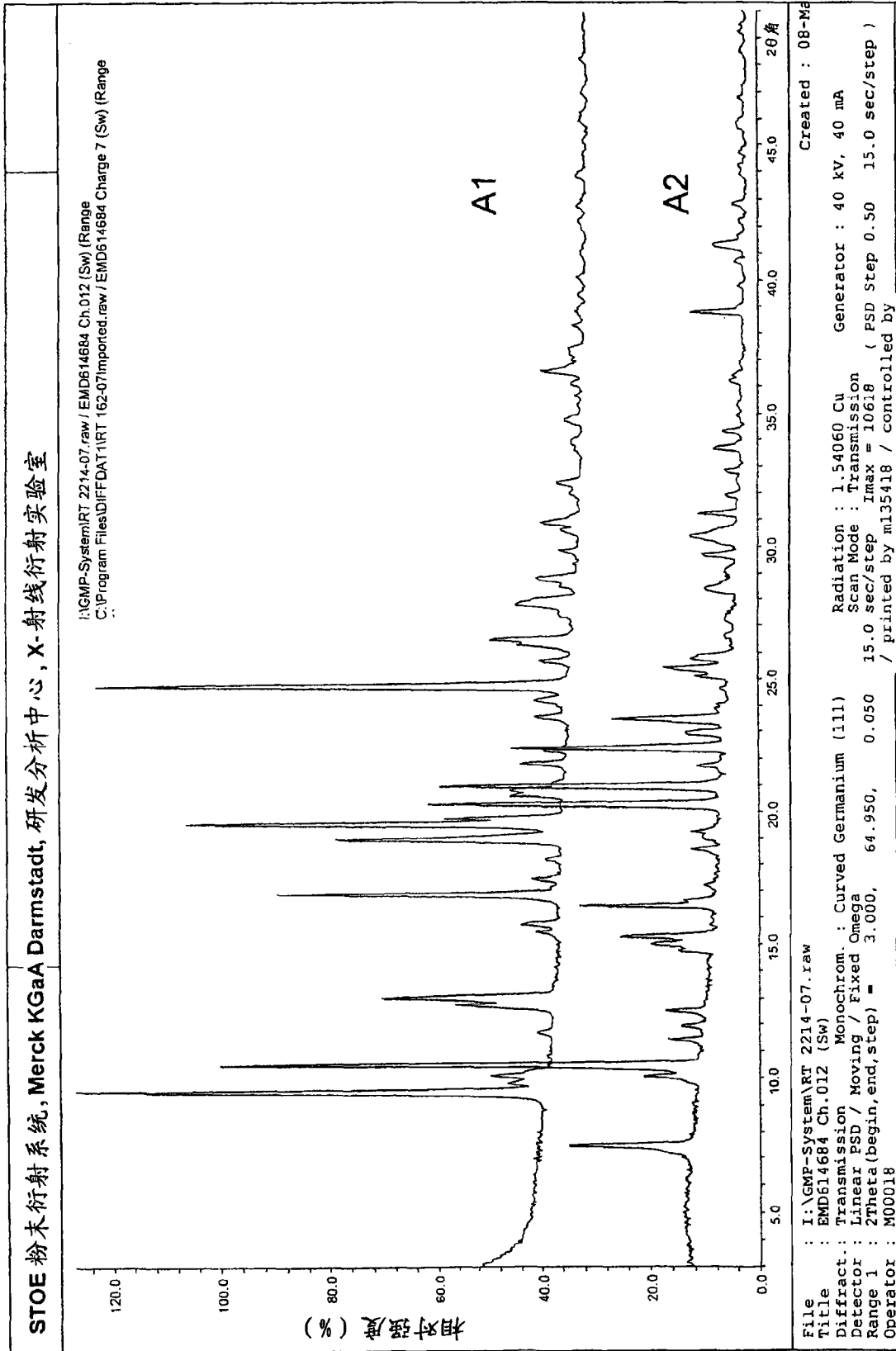


图 1 " C1 " 的晶型 A1 和 A2 的粉末 X-射线衍射图