



(10) 授权公告号 CN 111093658 B

(45) 授权公告日 2022.10.14

(21) 申请号 201880048242.4

(22) 申请日 2018.05.18

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111093658 A

(43) 申请公布日 2020.05.01

(30) 优先权数据
62/508,997 2017.05.19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.01.19

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/033544 2018.05.18

(87) PCT国际申请的公布数据
WO2018/213807 EN 2018.11.22

(73) 专利权人 恩福莱克逊治疗有限公司
地址 美国马塞诸塞州

(72) 发明人 J·金凯德 M·邓克顿

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266
专利代理师 马莉华 徐迅

(51) Int.Cl.
A61K 31/4365 (2006.01)
A61K 31/4355 (2006.01)
C07D 495/04 (2006.01)
C07D 491/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件
WO 2007088345 A1, 2007.08.09
WO 2008024724 A1, 2008.02.28
WO 2008024725 A1, 2008.02.28
WO 2006130160 A2, 2006.12.07
WO 2009013462 A1, 2009.01.29
AKINTUNDE AKINLEYE等.MEK and the
inhibitors:from bench to bedside.《JOURNAL
OF HEMATOLOGY & ONCOLOGY》.2013,第6卷(第1
期),27.

审查员 段炼

权利要求书5页 说明书87页 附图2页

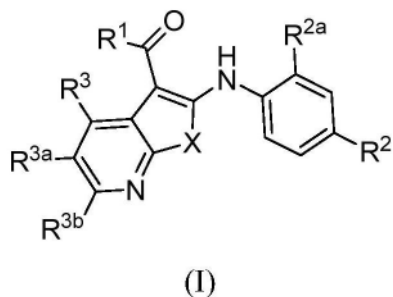
(54) 发明名称

用于治疗皮肤疾病的稠合杂芳环-苯胺化合物

(57) 摘要

本发明提供化合物、包含所述化合物的药物组合物、制备所述化合物的方法以及使用所述化合物和组合物治疗需要MEK抑制剂的受试者的疾病或病症的方法,其中所述化合物是根据式(I),其中X、R¹、R²、R^{2a}、R³、R^{3a}和R^{3b}如本发明所述。

1. 式 (I) 化合物:



其中,

R^1 是 $-NR^{5a}$;

R^{2a} 是卤素或 C_1-C_6 烷基;

R^2 是 $-S-(C_1-C_6)$ 烷基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或卤素;

X 为 $-S-$;

当 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 为氢时, 则 R^2 为 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或 $-S-(C_1-C_6)$ 烷基;

R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 独立地是氢、 C_1-C_6 烷基、卤素或 C_1-C_6 烷氧基;

R^5 是 $-OR^{5b}$;

R^{5a} 是氢; 以及

R^{5b} 是 C_3-C_8 环烷基- (C_1-C_6) 烷基或直链 C_1-C_6 羟烷基;

或其 N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1-C_6 烷基、卤素或 C_1-C_6 烷氧基。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 之一是甲基。

4. 如权利要求 3 所述的化合物, 其特征在于, R^{3b} 是甲基且 R^3 和 R^{3a} 各自是氢。

5. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 之一是甲氧基。

6. 如权利要求 5 所述的化合物, 其特征在于, R^{3b} 是甲氧基且 R^3 和 R^{3a} 各自是氢。

7. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 之一是氟。

8. 如权利要求 7 所述的化合物, 其特征在于, R^{3b} 是氟并且 R^3 和 R^{3a} 各自是氢。

9. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢。

10. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, R^3 和 R^{3a} 各自为氢且 R^{3b} 为 C_1-C_6 烷基、卤素或 C_1-C_6 烷氧基。

11. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, R^3 和 R^{3b} 各自为氢且 R^{3a} 为 C_1-C_6 烷基、卤素或 C_1-C_6 烷氧基。

12. 如权利要求 11 所述的化合物, 其特征在于, R^3 和 R^{3b} 各自为氢且 R^{3a} 为甲基、氟或甲氧基。

13. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, R^{3a} 是甲基且 R^3 和 R^{3b} 各自是氢。

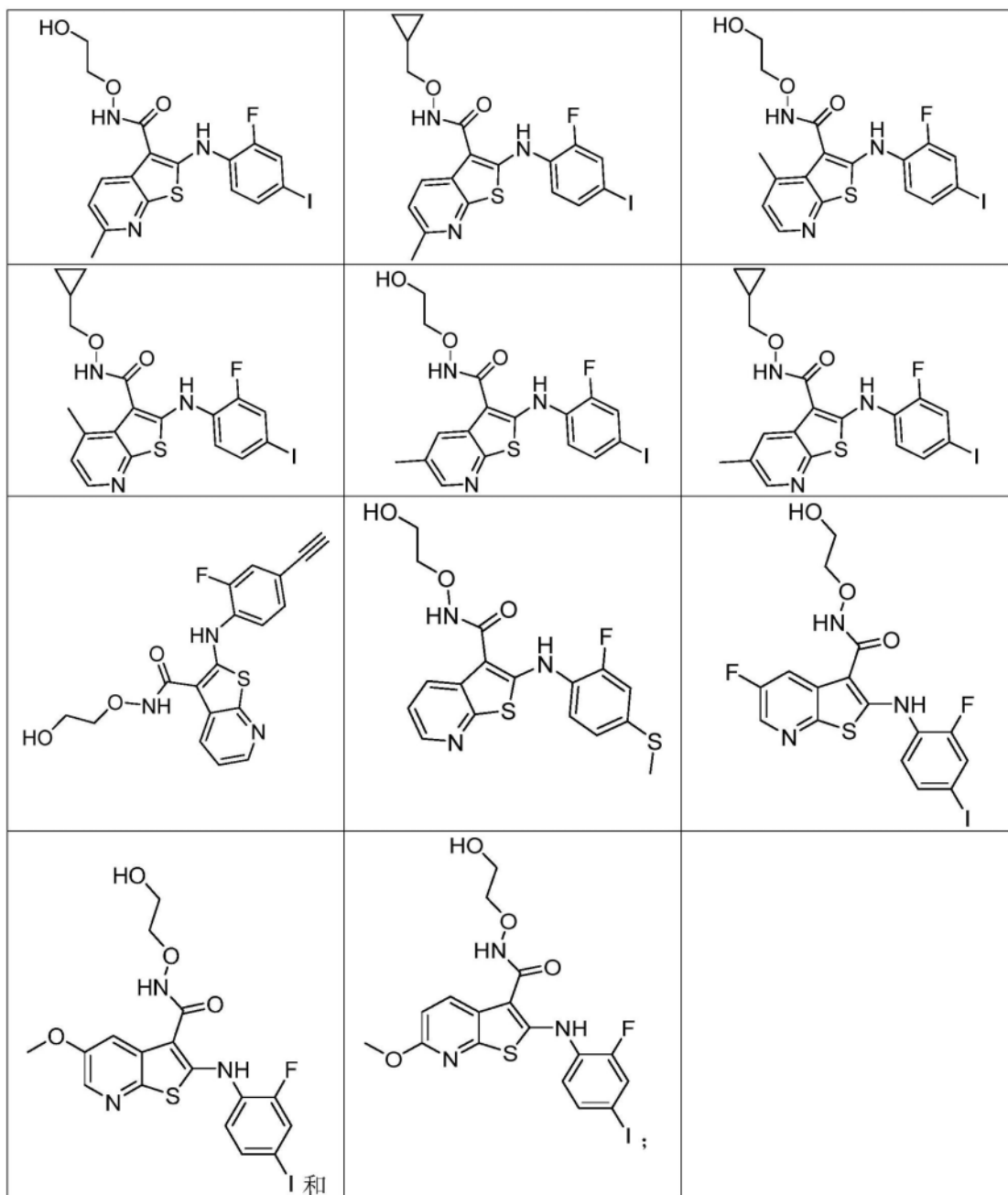
14. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, R^{3a} 是甲氧基且 R^3 和 R^{3b} 各自是氢。

15. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, R^{3a} 是氟且 R^3 和 R^{3b} 各自是氢。

16. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其特征在于, R^2 为 $-S-(C_1-C_6)$ 烷基。

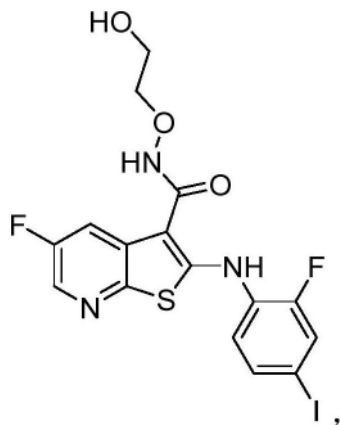
17. 如权利要求 16 所述的化合物, 其特征在于, R^2 是 $-SCH_3$ 。

18. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^2 为 C_1-C_6 烷基。
19. 如权利要求18所述的化合物,其特征在于, R^2 是 $-CH_3$ 。
20. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^2 为 C_2-C_6 烯基。
21. 如权利要求20所述的化合物,其特征在于, R^2 是 C_2-C_4 烯基。
22. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^2 为 C_2-C_6 炔基。
23. 如权利要求22所述的化合物,其特征在于, R^2 是 C_2-C_3 炔基。
24. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^2 是卤素。
25. 如权利要求24所述的化合物,其特征在于, R^2 是碘。
26. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^{2a} 是 C_1-C_6 烷基。
27. 如权利要求26所述的化合物,其特征在于, R^{2a} 是甲基。
28. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^{2a} 是卤素。
29. 如权利要求28所述的化合物,其特征在于, R^{2a} 是氟。
30. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^{5b} 是 C_3-C_8 环烷基- (C_1-C_6) 烷基。
31. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^{5b} 是直链 C_1-C_6 羟烷基,其中 C_1-C_6 羟烷基中的 C_1-C_6 烷基被一个羟基取代。
32. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^1 为 $-NH-O-CH_2CH_2OH$ 。
33. 如权利要求1或2所述的化合物,其特征在于, R^1 为 $-NH-O-CH_2-$ 环丙基。
34. 如权利要求1所述的化合物,其选自下组:



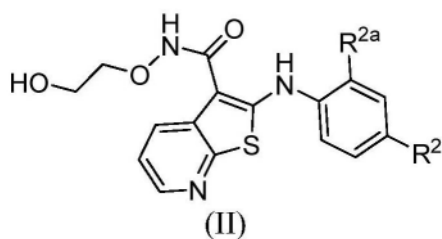
或其立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。

35. 如权利要求1所述的化合物, 其特征在于, 具有如下式所示的结构:



或其药学上可接受的盐。

36. 式 (II) 化合物:



其中,

R^{2a} 是卤素或 C_1-C_6 烷基; 和

R^2 是 -S- (C_1-C_6) 烷基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或卤素;

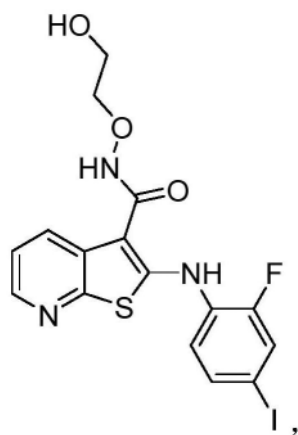
或其 N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。

37. 如权利要求 36 所述的化合物, 其特征在于, R^2 为 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 炔基或卤素。

38. 如权利要求 36 或 37 所述的化合物, 其特征在于, R^2 和 R^{2a} 独立地是卤素。

39. 如权利要求 38 所述的化合物, 其特征在于, R^2 是碘且 R^{2a} 是氟。

40. 如权利要求 36 所述的化合物, 其特征在于, 具有如下式所示的结构:



或其药学上可接受的盐。

41. 如权利要求 1 所述的化合物, 其半衰期小于或等于 60 分钟。

42. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 其半衰期小于或等于 45 分钟。

43. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 其半衰期小于或等于 30 分钟。

44. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 其半衰期小于或等于 20 分钟。

45. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 所述半衰期是使用如生物学实施例 3 中所述的测定法测量的, 使用人肝 S9 组分。

46. 一种药物组合物, 其包含权利要求 1 所述的化合物和药学上可接受的载体。

47. 一种如权利要求 1 所述的化合物或如权利要求 46 所述的药物组合物的用途, 其特征在于, 用于制备治疗 MEK 抑制剂响应性皮肤病或 MEK 介导的皮肤病的药物。

48. 如权利要求 47 所述的用途, 其特征在于, 所述 MEK 抑制剂响应性皮肤病或 MEK 介导的皮肤病选自下组: 皮肤 RAS 病、1 型神经纤维瘤病、皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤和浅表丛状神经纤维瘤。

49. 如权利要求 47 所述的用途, 其特征在于, 所述 MEK 抑制剂响应性皮肤病或 MEK 介导的

皮肤病是1型神经纤维瘤病。

50. 如权利要求47所述的用途,其特征在于,所述MEK抑制剂响应性皮肤病或MEK介导的皮肤病是皮肤神经纤维瘤。

51. 如权利要求47所述的用途,其特征在于,所述MEK抑制剂响应性皮肤病或MEK介导的皮肤病是皮下神经纤维瘤。

52. 如权利要求47所述的用途,其特征在于,所述MEK抑制剂响应性皮肤病或MEK介导的皮肤病是浅表丛状神经纤维瘤。

53. 如权利要求47所述的用途,其特征在于,所述MEK抑制剂响应性皮肤病或MEK介导的皮肤病是皮肤RAS病。

54. 如权利要求53所述的用途,其特征在于,所述皮肤RAS病选自下组:牛皮癣、角化棘皮瘤(KA)、角化过度、乳头状瘤、努南综合征(NS)、心脏面部皮肤综合征(CFC)、科斯特洛综合征、眼皮表皮综合征、咖啡牛乳色斑和多发性雀斑综合征(以前称为豹皮综合征)。

55. 如权利要求47-54中任一项所述的用途,其特征在于,所述化合物或组合物通过局部、皮下、透皮、皮内或病变内施用。

用于治疗皮肤疾病的稠合杂芳环-苯胺化合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2017年5月19日提交的美国临时申请62/508,997的权益,其内容通过引用整体并入本文。

[0003] 领域

[0004] 本文提供了化合物、包含所述化合物的药物组合物以及使用所述化合物和组合物的方法,所述化合物和组合物可用于治疗与之相关的皮肤病症或皮肤疾病。本文还提供了在哺乳动物中治疗疾病或病症的方法,其包括向哺乳动物施用治疗或预防有效量的本文所公开的化合物或组合物。

[0005] 背景

[0006] 1型神经纤维瘤病(NF1)的发生率约为1:3,500出生人数,是影响人类神经功能的最常见的常染色体显性单基因病症之一。在临床上,NF1疾病的特征是在良性周围神经肿瘤,称为神经纤维瘤,涉及在NF1基因中具有双等位基因突变的雪旺细胞,以及其他肿瘤和非肿瘤表现。(Jousma等人,小儿科血液癌(Pediatr.Blood Cancer)62:1709-1716,2015)。NF1与几种皮肤病症有关,包括皮肤神经纤维瘤或真皮神经纤维瘤;丛状神经纤维瘤;咖啡牛乳色斑;以及腋窝和腹股沟雀斑。超过95%的NF1患者发生皮肤神经纤维瘤或真皮神经纤维瘤,可出现在身体的任何地方,引起瘙痒、刺激、感染、身体疼痛和毁容。此外,皮肤神经纤维瘤或真皮神经纤维瘤与社会隔离和焦虑有关。

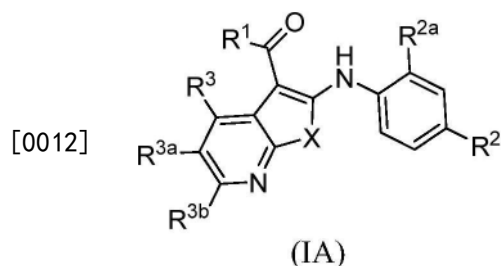
[0007] NF1是由NF1(一种使RAS通路失活的基因)中的一种或多种种系突变引起的。由于NF1基因编码Ras-GAP蛋白,因此NF1丢失导致高Ras-GTP。因此,NF1的研究集中于在Ras信号通路中测试抑制剂,包括Ras-MAPK级联反应。(Jousma等人,小儿科血液癌(Pediatr.Blood Cancer)62:1709-1716,2015)。根据其MAPK模块已经识别并命名了四个不同的MAPK级联。(Akinleye等人,血液与肿瘤学杂志(Journal of Hematology&Oncology)6:27,2013)。MEK蛋白属于一种酶家族,其在四个MAP激酶信号传导途径中的每个中都位于其特定MAPK靶标的上游。这些MEK蛋白中的两个,MEK1和MEK2,密切相关,并参与该信号通路的级联。已显示MEK1和MEK2抑制剂可有效抑制Ras下游的MEK信号传导,因此可为治疗NF1时靶向MEK提供理论基础。(Rice等人,医药化学通讯(Medicinal Chemistry Letters)3:416-421,2012)。

[0008] 当前可用的MEK抑制剂被设计为具有用于全身递送的口服生物利用度,并伴有明显的副作用,包括降低的左心室射血分数、肌酸磷酸激酶升高、肺炎、肾衰竭、腹泻、感染、荨麻疹和斑状丘疹,所有这些都有剂量限制或需要永久停药。此外,临床试验表明长时间大剂量施用MEK抑制剂有副作用。(Huang等人,眼科药理学与治疗学(J.Ocul.Pharmacol.Ther.)25:519-530,2009)。例如,PD0325901,一种经过临床测试的MEK抑制剂,已表现出与共济失调、意识模糊和晕厥有关的神经系统副作用。此外,全身暴露于MEK抑制剂还观察到许多其他副作用,包括:痤疮样皮疹、CPK升高、恶心、呕吐、腹泻、腹痛和疲劳。因此,需要限制了这些严重副作用中的一种或多种的抑制MEK以治疗NF1相关的皮肤神经纤维瘤或真皮神经纤维瘤的疗法。

[0009] 概要

[0010] 本文提供了化合物、包含所述化合物的药物组合物以及使用所述化合物和组合物用于治疗与其相关的皮肤疾病或皮肤病症的方法。本文还提供了在哺乳动物中治疗疾病或病症的方法,其包括向哺乳动物施用治疗或预防有效量的本文所公开的化合物或组合物。在一实施方式中,哺乳动物是人。

[0011] 在一方面,提供式 (IA) 化合物:



[0013] 其中,

[0014] R^1 是 $-OR^4$ 、 $-NR^5R^{5a}$, 或 N-连接的杂环烷基, 其中 N-连接的杂环烷基任选地被一个或两个 R^{10} 取代;

[0015] R^{2a} 是卤素或 C_1-C_6 烷基;

[0016] R^2 是 $-S-C_1-C_6$ -烷基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或卤素;

[0017] X 为 $-S-$ 或 $-O-$; 当 X 为 $-S-$ 且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 为氢时, 则 R^2 为 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或 $-S-C_1-C_6$ 烷基;

[0018] R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 独立地是氢、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 $-S-C_1-C_6$ 烷基、卤素、 C_1-C_6 -烷氧基; C_3-C_8 -环烷氧基; 杂环烷氧基; 杂芳氧基或苯氧基, 其中每个苯基和杂芳基独立地任选地被 1、2 或 3 个 R^6 取代;

[0019] R^4 为氢、任选被一个杂环烷基取代的 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、 C_3-C_8 环烷基烷基、 C_1-C_6 羟烷基或 C_1-C_6 烷氧基烷基;

[0020] R^5 是氢、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、 C_3-C_8 环烷基- C_1-C_6 -烷基、 C_1-C_6 羟烷基、 C_1-C_6 烷氧基- C_1-C_6 -烷基或 $-OR^{5b}$;

[0021] R^{5a} 是氢或 C_1-C_6 烷基;

[0022] R^{5b} 是氢、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、 C_3-C_8 环烷基- C_1-C_6 -烷基、 C_1-C_6 羟烷基或 C_1-C_6 烷氧基- C_1-C_6 -烷基;

[0023] 每个 R^6 独立地选自下组: 羧基、 C_1-C_6 -烷氧羰基、 C_1-C_6 -烷基、 C_1-C_6 -卤代烷基、 C_1-C_6 -烷氧基- C_1-C_6 -烷基、 C_3-C_8 环烷基、杂环烷基、 $OC(O)R^7$ 、 $-OS(O)_2R^7$ 、 $-O-C_1-C_6$ -卤代烷基、 C_3-C_8 环烷氧基、杂环烷氧基、芳氧基、杂芳氧基、氨基、 C_1-C_6 -烷基氨基、二- C_1-C_6 -烷基氨基、 $-NR^{8a}S(O)_2R^8$ 、 $-NR^{8a}C(O)R^8$ 、 $-S(O)_2R^8$ 、 $-S(O)_2NR^{8a}R^8$ 、 $-C(O)R^8$ 、 $-C(O)NR^{8a}R^8$ 和 $-C_1-C_6$ -亚烷基- R^{6a} ;

[0024] 每个 R^{6a} 独立选自下组: C_3-C_8 环烷基、杂环烷基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_1-C_6-烷基)$ 、 $-N(C_1-C_6-烷基)_2$ 、 $-NR^{9a}S(O)_2R^9$ 、 $-NR^{9a}C(O)R^9$ 、 $-S(O)_2R^9$ 、 $-S(O)_2NR^{9a}R^9$ 、 $-C(O)R^9$ 和 $-C(O)NR^{9a}R^9$;

[0025] 每个 R^7 独立地选自下组: 氨基、 C_1-C_6 -烷基氨基、二- C_1-C_6 -烷基氨基、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、 C_1-C_6 -烷氧基、杂环烷基、芳基和杂芳基;

[0026] 每个 R^{8a} 和 R^{9a} 独立地为 H 或 C_{1-6} 烷基;

[0027] 每个 R^8 和 R^9 独立地为 C_1-C_6 烷基、芳基、杂芳基、 C_3-C_8 环烷基或杂环烷基; 和

[0028] 每个 R^{10} 独立地为氢、卤素、羟基、氧代、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 -羟基烷基、卤代- C_1-C_6 -烷基、氨基- C_1-C_6 -烷基、 C_1-C_6 -烷基氨基- C_1-C_6 -烷基、二- C_1-C_6 -烷基氨基- C_1-C_6 -烷基、 C_1-C_6 -烷氧基、 C_3-C_8 环烷基、杂环烷基或杂芳基；

[0029] 或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。

[0030] 在另一方面，本文提供适合用于治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病的药物组合物、单一单位剂型和药盒，其包含治疗或预防有效量的本文提供的化合物，例如，一些或任何实施方式中的，本文及权利要求书所述的式(IA)、式(I)、式(I-P)、式(Ia)-(Iu)或式(II)的，以及实施方式A中的化合物。

[0031] 在一个方面，提供了一种治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法，所述方法包括向有此需要的个体施用治疗或预防有效量的本文所述的化合物，例如，一些或任何实施方式中的，本文和权利要求中所述的式(IA)、式(I)、式(I-P)、式(Ia)-(Iu)或式(II)的，以及实施方式A中的化合物。

[0032] 附图的简要说明

[0033] 图1显示用局部凝胶制剂(1%)中的实施例8化合物处理后在人皮肤神经纤维瘤外植体中的p-ERK的抑制。

[0034] 图2显示用局部凝胶制剂(1%)中的实施例8化合物处理后在人皮肤神经纤维瘤外植体中的p-ERK的抑制。

具体实施方式

[0035] 本文提供化合物、包含所述化合物的药物组合物以及使用所述化合物和组合物治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法。本文还提供了在哺乳动物中治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法，该方法包括给哺乳动物施用治疗或预防有效量的化合物或组合物。在一实施方式中，哺乳动物是人。

[0036] 定义

[0037] 当提及本文提供的化合物时，除非另有说明，否则以下术语具有以下含义。除非另有定义，否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常所理解的含义。如果本文的一个术语有多个定义，除非另有说明，否则以本节中的定义为准。除非另有说明，否则在将术语定义为被取代的情况下，取代基列表中的基团本身未被取代。例如，取代的烷基可以，例如被环烷基取代，并且除非另有说明，否则环烷基不被进一步取代。

[0038] 除非另有说明，否则本文所用的“烯基”是指具有至少一个双键的直链或支链烃基。在某些实施方式中，烯基包括两个至十个碳原子，即 C_2-C_{10} 烯基。在某些实施方式中，烯基为 C_2-6 烯基。在一些实施方式中，烯基为乙烯基、丙烯基、1-丁-3-烯基、1-戊-3-烯基或1-己-5-烯基。

[0039] “炔基”是指具有至少一个三键的直链或支链烃基。在某些实施方式中，炔基包含两个至十个碳原子，即 C_2-C_{10} 炔基。在某些实施方式中，炔基为 C_2-6 炔基。在一些实施方式中，

炔基为乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔-2-基等。

[0040] 除非另有说明,否则本文所用的术语“烷基”是指饱和的直链或支链烃。在某些实施方式中,烷基是伯、仲或叔烃。在某些实施方式中,烷基包括1至10个碳原子,即 C_1-C_{10} 烷基。在某些实施方式中,烷基是 C_{1-6} 烷基。在某些实施方式中,烷基选自下组:甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、异戊基、新戊基、己基、异己基、3-甲基戊基、2,2-二甲基丁基和2,3-二甲基丁基。

[0041] 除非另有说明,否则本文所用的术语“烷氧基”是指基团 $-OR'$,其中 R' 是烷基。在某些实施方式中,烷氧基包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基、正己氧基、1,2-二甲基丁氧基等。

[0042] 除非另有说明,否则本文所用的术语“烷氧基烷基”是指被本文所定义的1、2、3或4个烷氧基取代的烷基。在某些实施方式中,烷氧基烷基是烷氧基- C_{1-6} 烷基。在某些实施方式中,烷氧基烷基是被一个、两个或三个烷氧基取代的 C_{1-6} 烷基,在一些实施方式中被一个或两个烷氧基取代,在一些实施方式中被一个烷氧基取代。

[0043] 除非另有说明,否则本文所用的术语“烷氧基羰基”是指 $-C(O)R$ 基团,其中 R 是本文所定义的烷氧基。

[0044] 除非另有说明,否则本文所用的术语“烷基氨基”是指 NHR 基团,其中 R 是本文所定义的烷基,或其 N 氧化物衍生物。在一些实施方式中,烷基氨基为甲基氨基、乙基氨基,正-、异-丙基氨基,正-、异-、叔丁基氨基或甲基氨基- N -氧化物等。

[0045] 除非另有说明,否则本文所用的术语“烷硫基”是指基团 $-SR'$,其中 R' 是 C_{1-10} 烷基。在一些实施方式中,烷硫基为 C_{1-6} 烷硫基。在一些实施方式中,烷硫基是甲硫基。

[0046] 除非另有说明,否则本文所用的术语“氨基”是指 $-NH_2$ 。

[0047] 除非另有说明,否则本文所用的术语“芳基”是指单价六至十四元的单或双碳环,其中单环为芳香的且双环中的至少一个环是芳香的。在一些实施方式中,芳基是苯基、萘基或茚满基。

[0048] 除非另有说明,否则本文所用的术语“氨基烷基”是指被一个或两个 NH_2 取代的烷基。

[0049] 除非另有说明,否则本文所用的术语“烷基氨基烷基”是指被一个或两个 $-NH$ (烷基)基团取代的烷基。

[0050] 除非另有说明,否则本文所用的术语“二烷基氨基烷基”是指被一个或两个 $-N$ (烷基) $_2$ 基团取代的烷基。

[0051] 除非另有说明,否则本文所用的术语“芳氧基”是指 $-OR$ 基团,其中 R 是本文所定义的芳基。

[0052] 除非另有说明,否则本文所用的术语“环烷基”是指单价,饱和或部分不饱和(但不是芳族)的单环或多环烃。在某些实施方式中,环烷基可以是桥连或非桥连、螺环或非螺环和/或稠合或非稠合双环基团。在某些实施方式中,环烷基包括三至十个碳原子,即, C_3-C_{10} 环烷基。在一些实施方式中,环烷基具有3至15个(C_{3-15})、3至10个(C_{3-10})、3至8个(C_{3-8})或3至7个(C_{3-7})碳原子。在某些实施方式中,环烷基为单环或双环。在某些实施方式中,环烷基是单环的。在某些实施方式中,环烷基是双环的。在某些实施方式中,环烷基是三环的。在某些实施方式中,环烷基是完全饱和的。在某些实施方式中,环烷基是部分不饱和的。在某些实

施方式中,环烷基为环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、双环[2.1.1]己基、双环[2.2.1]庚基、十氢化萘基或金刚烷基。

[0053] 除非另有说明,否则本文所用的术语“环烷基烷基”是指被一个或两个本文所定义的环境烷基取代的本文所定义的烷基(在一个实施方式中, C_1-C_6)。

[0054] 除非另有说明,否则本文所用的术语“环烷氧基”是指-OR基团,其中R是本文所定义的环境烷基。

[0055] 除非另有说明,否则本文所用的术语“二烷基氨基”是指-NRR'基及其N-氧化物,其中R和R'独立地是本文所定义的烷基。在一些实施方式中,二烷基氨基是二甲基氨基、二乙基氨基、N,N-甲基丙基氨基或N,N-甲基乙基氨基等。

[0056] 除非另有说明,否则本文所用的术语“卤代烷基”是指被1、2、3、4或5个卤素取代的烷基。在某些实施方式中,卤代烷基是卤代- C_{1-6} 烷基。

[0057] 除非另有说明,否则本文所用的术语“卤素”和“卤”是同义词,并且是指氯、溴、氟或碘。

[0058] 除非另有说明,否则本文所用的术语“杂芳氧基”是指-OR基团,其中R是本文所定义的杂芳基。

[0059] 除非另有说明,否则本文所用的术语“杂环”是指包含至少一个非芳族环的单价单环非芳族环系统和/或多环系统;其中一个或多个(在某些实施方式中为1、2、3或4个)非芳族单环环原子为独立地选自O、S(O)₀₋₂和N的杂原子,其余的环原子为碳原子;其中多环系统中任何一个或多个环原子(在某些实施方式中为1、2、3或4个)为独立地选自O、S(O)₀₋₂和N的杂原子,其余的环原子是碳。在某些实施方式中,杂环包含一个或两个为氮的杂原子。在某些实施方式中,杂环是多环并且在非芳族环中包含一个杂原子,或者在芳族环中包含一个杂原子,或者在芳族环中包含两个杂原子,或者包含两个杂原子其中一个在芳族环中,另一个在非芳香环中。在某些实施方式中,杂环基具有3至20、3至15、3至10、3至8、4至7或5至6个环原子。在某些实施方式中,杂环是单环、双环、三环或四环环系统。在某些实施方式中,杂环基可以是桥连或非桥连、螺环或非螺环和/或稠合或非稠合双环基团。氮和硫原子中的一个或多个可任选被氧化,氮原子中的一个或多个可任选被季铵化,碳原子中的一个或多个可任选被取代。如果杂环不是完全芳族的,则某些环可以是部分或完全饱和的,也可以

是芳族的。单环和多环杂环可以在任何杂原子或碳原子上连接至主结构,从而形成稳定的化合物。多环杂环可通过其任何环(包括任何芳族或非芳族环)连接至主结构,而与该环是否包含杂原子无关。在某些实施方式中,杂环为“杂环烷基”,其是1) 饱和或部分不饱和(但不是芳族)单价单环杂环基,其包含至少一个如本文所述的环杂原子,或2) 饱和或部分不饱和(但不是芳族)单价二或三环杂环基,其中至少一个环包含至少一个本文所述的杂原子。在某些实施方式中,杂环是“杂芳基”,其是包含至少一个环杂原子的芳族杂环,如本文所述。当杂环、杂芳基和杂环烷基被取代时,它们可以在任何环上,即在由杂环、杂芳基和杂环烷基组成的任何芳族或非芳族环上被取代。在某些实施方式中,这样的杂环包括但不限于:咪唑基、噻吩基、呋喃基、吡唑基、吡咯基、噻唑基、噁唑基、噁二唑基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、喹啉基、吡嗪基、吡啶基、二氢苯并呋喃基、苯并二噁烷基、苯并二噁唑基、苯并呋喃酮基、苯并吡喃酮基、苯并吡喃基、二氢苯并呋喃基、苯并四氢噻吩基、苯并噻喃基、苯并噻吩基、

β -咔啉基、苯并二氢吡喃基、色酮基、噌嗪基(cinnoliny1)、香豆素基、十氢喹啉基、十氢异喹啉基、二氢苯并异噻嗪基、二氢苯并恶嗪基、二氢呋喃基、二氢异吡啶基、二氢吡喃基、二氢吡啶基、二氢吡嗪基、二氢吡啶基、二氢嘧啶基、二氢吡咯基、二氧戊环基、1,4-二噻吩基、呋喃酮基、咪唑烷基、2,4-二氧代-咪唑烷基、咪唑啉基、吡啶基、2-氧代-吡啶基、异苯并四氢呋喃基、异苯并四氢噻吩基、异色满基、异香豆素基、异吡啶基、1-氧代-异吡啶基、1,3-二氧代异吡啶基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、3-氧代异噁唑烷基、吗啉基、3,5-二氧-吗啉基、八氢吡啶基、八氢异吡啶基、1-氧-八氢异吡啶基、1,3-二氧-六氢异吡啶基、噁唑烷酮基、噁唑烷基、环氧乙烷基(oxirany1)、哌嗪基、2,6-二氧-哌嗪基、哌啶基、2,6-二氧-哌啶基、4-哌啶酮基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡咯烷基、吡咯啉基、2-氧吡咯烷基、2,5-二氧吡咯烷基、喹啉基、四氢呋喃基、四氢异喹啉基、四氢吡喃基、四氢噻吩基、噻吗啉基、硫代吗啉基、3,5-二氧-硫吗啉基、噻唑烷基、2,4-二氧-噻唑烷基、四氢喹啉基、吩噻嗪基、吩噻嗪基、咕吨基和1,3,5-三噻烷基。在一些或任何实施方式中,杂环为苯并-1,4-二噁烷基、苯并二噁唑基、吡啶基、2-氧代吡啶基、吡咯烷基、哌啶基、2,3-二氢苯并呋喃基或十氢喹啉基。

[0060] 除非另有说明,否则本文所用的术语“杂芳氧基”是指-OR基团,其中R是本文所定义的杂环烷基。

[0061] 除非另有说明,否则本文所用的术语“杂环烷氧基”是指-OR基团,其中R是本文所定义的杂环烷基。

[0062] 除非另有说明,否则本文所用的术语“羟烷基”是指被1、2、3或4个羟基取代的烷基。在某些实施方式中,羟烷基是羟基- C_{1-6} 烷基。在某些实施方式中,羟烷基是被一个、两个或三个羟基取代的 C_{1-6} 烷基,在一些实施方式中被一个或两个羟基取代,在一些实施方式中被一个羟基取代。

[0063] 如本文所用,术语“苯氧基”是指-OR基团,其中R为如本文所定义的苯基。苯基如本文所述任选地被取代。

[0064] 除非另有说明,否则本文所用的术语“保护基”是指加到氧、氮或磷原子上以防止其进一步反应或用于其他目的的基团。有机合成领域的技术人员已知多种氧和氮保护基。(例如参见在Greene,等人,有机合成中的保护基团,约翰威利和儿子们出版社(John Wiley and Sons),第四版,2006,中描述的那些,通过引用并入本文)。在一些实施方式中,氮保护基团(例如对于 PG^1 和 PG^2)是9-苄基甲氧羰基(Fmoc)、叔丁氧羰基(Boc)、苄氧羰基(CBz)、乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、 $C(O)OCH_2CCl_3$ (Troc)、对甲氧基苄基、苄基、对甲氧基苄基、对甲氧基苄基羰基、三苯甲基、亚苄基、2,2,2-三氯乙氧基磺酰基(Tces)、对甲氧基苯磺酰基(Mbs)或对甲苯磺酰基-(tosyl)。在一些实施方式中,氧保护基团(例如对于 X^1)是甲氧基甲基(MOM)、乙氧基乙基、甲氧基乙氧基甲基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、甲基、叔丁基、烯丙基、苄基、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、乙酰基、新戊基、苯甲酰基、二甲氧基三苯甲基、三苯甲基、甲氧基三苯甲基、对甲氧基苄基或甲硫基甲基。

[0065] 除非另有说明,否则本文所用的术语“药学上可接受的盐”是指本文提供的化合物的任何盐,其保留其生物学特性并且无毒或对于药学用途而言是合乎需要的。这样的盐可以衍生自本领域众所周知的多种有机和无机抗衡离子。这样的盐包括但不限于:(1)与有机或无机酸形成的酸加成盐,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、氨基磺酸、乙酸、三氟乙酸、

三氯乙酸、丙酸、己酸、环戊基丙酸、乙醇酸、戊二酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、山梨酸、抗坏血酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、苦味酸、肉桂酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、月桂酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑、樟脑磺酸、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡庚酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔-丁基乙酸、月桂基硫酸、葡萄糖酸、苯甲酸、谷氨酸、羟萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、环己基氨基磺酸、奎宁酸、粘康酸等酸；(2) 碱加成盐，当母体化合物中存在的酸性质子(a)被金属离子(例如，碱金属离子、碱土离子或铝离子)或碱金属或碱土金属氢氧化物，例如钠、钾、钙、镁、铝、锂、锌和钡的氢氧化物、氨代替，或(b)与有机碱，例如脂肪族、脂环族或芳族有机胺，例如氨、甲胺、二甲胺、二乙胺、甲基吡啶、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、乙二胺、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、胆碱、N,N'-二苄乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、普鲁卡因、N-苄基苯乙胺、N-甲基葡萄糖胺哌嗪、三(羟甲基)-氨基甲烷、氢氧化四甲基铵等配位。

[0066] 在某些实施方式中，药学上可接受的盐还包括(但不限于)钠、钾、钙、镁、铵、四烷基铵盐等。当化合物包含碱性官能团时，是无毒的有机或无机酸的盐，例如氢卤化物，例如盐酸盐和氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、氨基磺酸盐、硝酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、三氯乙酸盐、丙酸盐、己酸盐、环戊基丙酸盐、乙醇酸盐、戊二酸盐、丙酮酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、山梨酸盐、抗坏血酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸盐、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸盐、苦味酸盐、肉桂酸盐、扁桃酸盐、邻苯二甲酸盐、月桂酸盐、甲磺酸盐(甲磺酸盐)、乙磺酸盐、1,2-乙烷-二磺酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、苯基磺酸盐(苯磺酸盐)、4-氯苯磺酸盐、2-萘磺酸盐、4-甲苯磺酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸盐、葡庚糖酸盐、3-苯基丙酸盐、三甲基乙酸盐、叔丁基乙酸盐、月桂基硫酸盐、葡萄糖酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、羟萘甲酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、环己基氨基磺酸盐、奎宁酸盐、粘康酸盐等。

[0067] 对于组合物，术语“基本上不含”或“基本上不存在”立体异构体是指这样的组合物，其包含按重量计至少85%或90%，在某些实施方式中为95重量%、98重量%、99重量%或100重量%的指定的化合物立体异构体于组合物中。在某些实施方式中，在本文提供的方法和化合物中，所述化合物基本上不含立体异构体。

[0068] 类似地，就组合物而言，术语“分离的”是指组合物包含按重量计至少85、90%、95%、98%、99%至100%的特定化合物，其余包括其他化学物质或立体异构体。

[0069] 除非另有说明，否则本文所用的术语“溶剂化物”是指本文所提供的化合物或其盐，其还包括通过非共价分子间力结合的化学计量或非化学计量的溶剂。当溶剂是水时，溶剂化物是水合物。

[0070] 除非另有说明，否则本文所用的术语“同位素组成”是指给定原子存在的每种同位素的量，“天然同位素组成”是指给定原子的天然同位素组成或丰度。包含其天然同位素组成的原子在本文中也可以称为“非富集”原子。除非另有指定，否则本文所述化合物的原子意在表示该原子的任何稳定同位素。例如，除非另有说明，否则当将位置具体指定为“H”或“氢”时，该位置应理解为具有以其天然同位素组成的氢。

[0071] 除非另有说明，否则本文所用的术语“同位素富集”是指在分子中给定原子上取代该原子天然同位素丰度的特定同位素的掺入百分比。在某些实施方式中，给定位置的1%氘

富集是指给定样品中1%的分子在指定位置含有氘。因为氘的天然分布约为0.0156%，所以使用未富集的起始原料合成的化合物中任何位置的氘富集度约为0.0156%。可以使用本领域普通技术人员已知的常规分析方法来确定本文提供的化合物的同位素富集，包括质谱法和核磁共振光谱法。

[0072] 除非另有说明，否则本文所用的术语“同位素富集的”是指具有不同于该原子的天然同位素组成的同位素组成的原子。“同位素富集的”也可以指含有至少一个原子的化合物，该原子的同位素组成不同于该原子的天然同位素组成。

[0073] 如本文所用，“烷基”、“环烷基”、“烷氧基”、“杂环烷基”、“杂环”和“杂芳基”基团任选地在存在氢原子的一个或多个位置上包括氘，并且其中一个或多个原子的氘组成不同于天然同位素组成。

[0074] 同样如本文所用，“烷基”、“环烷基”、“烷氧基”、“杂环烷基”、“杂环”和“杂芳基”基团任选地包含与天然同位素组成不同的量的碳-13。

[0075] 如本文所用，除非另有说明，否则术语“IC₅₀”是指在测量此类反应的测定中实现最大反应的50%抑制的特定测试化合物的量、浓度或剂量。

[0076] 如本文所用，术语“受试者”和“患者”可互换使用。术语“受试者”和“受试者们”是指动物，例如哺乳动物，包括非灵长类动物（例如，牛、猪、马、猫、狗、大鼠和小鼠）和灵长类动物（例如，猴子，例如食蟹猴、黑猩猩和人），在某些实施方式中，是人。在某些实施方式中，受试者是农场动物（例如，马、牛、猪等）或宠物（例如，狗或猫）。在某些实施方式中，受试者是人。

[0077] 如本文所用，术语“治疗剂”和“治疗剂（复数）”是指可用于治疗或预防疾病或其一种或多种症状的任何一种或多种药剂。在某些实施方式中，术语“治疗剂”包括本文提供的化合物。在某些实施方式中，治疗剂是已知可用于或已经或目前用于治疗或预防疾病或其一种或多种症状的药剂。

[0078] “治疗有效量”是指化合物或组合物在施用于对象以治疗病况时足以对病况进行这种治疗的量。治疗有效量可以根据尤其，化合物、疾病或病症及其严重性、要治疗的病变的大小以及要治疗的受试者的年龄、体重等而变化。

[0079] 在某些实施方式中，任何疾病或病症的“治疗的”或“治疗”是指改善受试者中存在的疾病或病症，包括预防性地。在另一个实施方式中，“治疗的”或“治疗”包括改善至少一个物理参数，该物理参数可能是受试者无法分辨的。在又一个实施方式中，“治疗的”或“治疗”包括物理地（例如，使可识别的症状稳定）或生理地（例如，使物理参数稳定）或两者调节疾病或病症。在又一个实施方式中，“治疗的”或“治疗”包括延迟疾病或病症的发作。在又一个实施方式中，“治疗的”或“治疗”包括减少或消除疾病或病症（例如MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病）或疾病或病症的一种或多种症状（例如MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病）发生，或延缓疾病或病症（例如MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病）或疾病或病症（例如MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病）的一种或多种症状的进展，或降低疾病或病症（例如MEK抑制剂响应性病症或疾病、

MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病)或疾病或病症(例如MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病)的一种或多种症状的严重程度。在另一个实施方式中,“治疗的”或“治疗”包括预防性地施用本文所述的化合物。

[0080] “局部”是指将合适的化合物(例如活性剂)或包含化合物(例如活性剂)的组合物施用于皮肤以治疗或预防皮肤疾病或病变。“透皮”是指将合适的化合物(例如活性剂)或包含化合物(例如活性剂)的组合物施用于皮肤,以使活性剂可以穿透皮肤中的各层以到达皮肤或皮下层之外,包括例如全身递送。“皮下”意味着将合适的化合物(例如活性剂)或包含化合物(例如活性剂)的组合物施加至表皮和真皮下方的层。“皮内”是指在皮肤或皮下层中施用合适的化合物(例如活性剂)或包含化合物(例如活性剂)的组合物。“病变内”是指在病变部位注射合适的化合物(例如活性剂)或包含化合物的组合物(例如活性剂)。

[0081] 在一些实施方式中,“局部”是指对皮肤应用合适的化合物(例如活性剂)或包含化合物(例如活性剂)的组合物使其充分渗透表皮或真皮以治疗或预防表皮和/或真皮病变或疾病。在局部应用的一些实施方式中,所述化合物或组合物穿透表皮或真皮而没有明显的全身暴露,也无意于治疗或预防另一种器官系统的疾病。在一些实施方式中,“透皮”是指将合适的化合物(例如,活性剂)或包含化合物(例如,活性剂)的组合物施用于皮肤以达到全身治疗水平的目的。在透皮应用的一些实施方式中,活性剂将穿透皮肤中的层达到超过真皮或皮下层以外,包括例如全身递送。在一些实施方式中,“皮下”是指将合适的化合物(例如,活性剂)或包含化合物的组合物(例如,活性剂)注射到表皮和真皮下方的层中。在一些实施方式中,“真皮内”是指将化合物(例如活性剂)或包含化合物(例如活性剂)的组合物注射到真皮层中以达到全身治疗水平的目的。在一些实施方式中,“病变内”是指将化合物(例如活性剂)或包含化合物(例如活性剂)的组合物直接注射到病变中,例如肿瘤或患病组织,以达到治疗或预防疾病或病变的目的。

[0082] 本申请化合物的独特性和优点

[0083] 与MEK技术中的化合物相比,本申请的化合物被设计为以不同且出乎意料的方式使用。MEK抑制剂发现和开发的历史聚焦于使用可接受的口服给药方案,使口服生物利用的化合物具有足够的体内稳定性来抑制肿瘤中的MEK1酶,因此有利于选择具有代谢稳定性的化合物。

[0084] 与提供稳定的MEK化合物的本领域目标一致,以前在临床试验中使用的MEK抑制剂CI-1040的开发由于其不利的稳定性而中止了。具有更高代谢稳定性的化合物PD-0325901被选择进行进一步开发。对此的公开说明指出:“CI-1040由于溶解性差和清除快而遭受不良的暴露,结果该化合物的开发被终止。”(Barret等人,生物有机和药物化学快报(Bioorganic&Medicinal Chemistry) 2008,18,6501-6504)。MEK抑制剂发现的其他文献资料表明,优化代谢稳定性是鉴定临床使用化合物的目标。最后,经FDA批准的曲美替尼对代谢具有显著的稳定性,从而在人体内具有3.9至4.8天的出色的半衰期(请参阅Infante等人,柳叶刀(The Lancet) 2012,第13(8)卷,773-78;还有药品标签,可在accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/204114s0001b1.pdf上获得)。

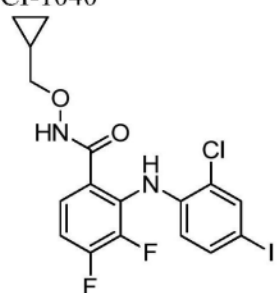
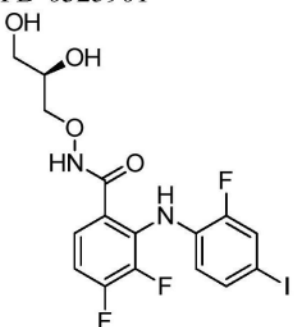
[0085] 很明显,从MEK抑制剂的发现和发展的上述描述中,通过微粒体稳定性(或本领域中常规使用的一些其他测定法)或啮齿类动物体内药代动力学实验测量的高全身清除率是

不良特征,导致某些化合物的停用以及此类化合物的进一步优化以增强代谢稳定性。相反,申请人提供了设计成具有明显的代谢不稳定性的化合物。

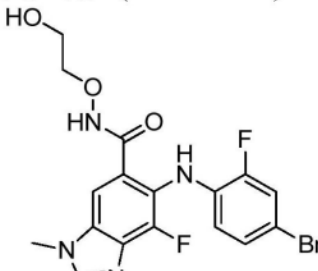
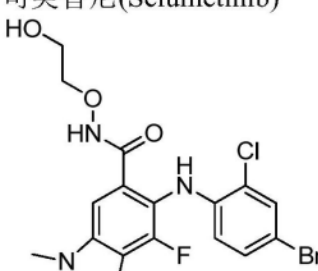
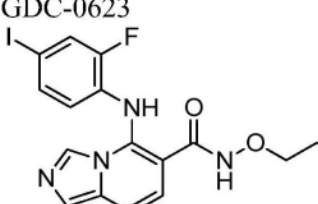
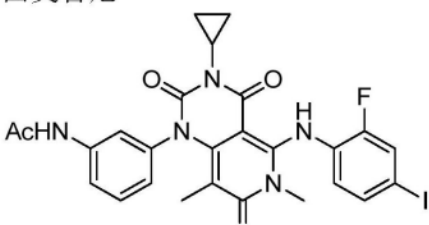
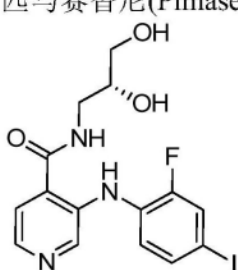
[0086] 下表1提供了MEK领域中许多化合物以及本申请化合物在人肝S9组分中的半衰期。表1中的数据是应申请人的要求,使用生物学实施例3中的测定方法(使用人肝S9组分)生成的。从数据可以明显看出,人肝S9组分的半衰期在不同化合物之间有很大差异。

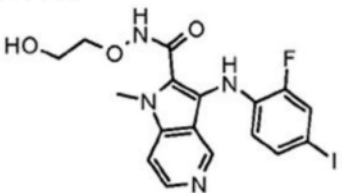
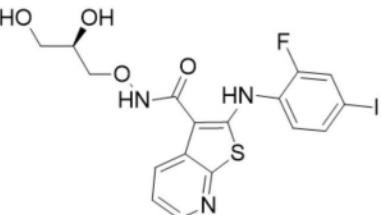
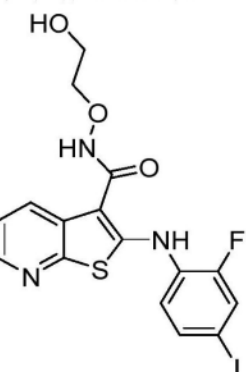
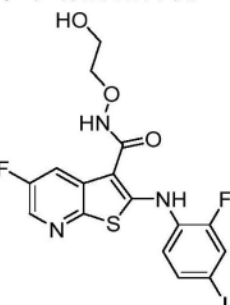
[0087] 表格1

[0088]

化合物	肝 S9 $t_{1/2}$ (分钟)	CL _{int} (μ L/min/mg 蛋白质)
CI-1040 	33	10.37
PD-0325901 	340	1.02

[0089]

化合物	肝 S9 t _{1/2} (分钟)	CL _{int} (μL/min/mg 蛋白质)
贝尼替尼(Binemetinib) 	277	1.25
司美替尼(Selumetinib) 	138	2.50
GDC-0623 	50	6.98
曲美替尼 	402	0.86
匹马赛替尼(Pimasertib) 	268	1.29

化合物	肝 S9 t _{1/2} (分钟)	CL _{int} (μL/min/mg 蛋白质)
化合物 C8 	66	5.27
化合物 C9 	158	2.20
[0090] 本申请的化合物 	26	13.35
本申请的化合物 	6	57.15

[0091] 与本领域的化合物形成鲜明对比的是,本申请的化合物被设计用于局部、皮下、皮内或病变内施用,从而抑制了真皮层和表皮层(或病变)中的MEK活性以用于治疗某些皮肤病症。在用于治疗皮肤或病变之后,在一些实施方式中,将化合物设计为代谢不稳定的,以便通过限制化合物在末梢循环中的停留时间来限制局部、皮下、透皮、皮内或病变内施用后的全身毒性。本申请提供了一种具有证明能够渗透皮肤并抑制磷酸化-ERK的化合物的治疗皮肤病症的解决方案。

[0092] 在一些实施方式中,“软MEK抑制剂”是抑制MEK1和/或2的化合物,其特征在于,在皮肤中达到其治疗作用后可预测和可控制的新陈代谢/降解为无毒且生物学上较不活跃或不活跃的(即不抑制或较小程度地抑制MEK1和/或2)产物。

[0093] 如本文所用,“硬MEK抑制剂”是指本领域已知的MEK抑制剂。在一个实施方式中,硬

MEK抑制剂被设计为为了口服生物利用度。这对于通过全身递送将治疗有效水平的MEK抑制剂递送至周围病变是必要的。在一些实施方式中,硬MEK抑制剂包括,例如PD0325901、PD184161、SMK-17、AS703026(匹马赛替尼, MSC1936369)、R0-4987655、司美替尼(AZD6244, ARRY142886)、贝尼替尼(MEK162, ARRY-162, ARRY-438162)、瑞法替尼(Refametinib)、柯美替尼(GDC-0973, XL518)、GDC-0623、AZD8330(ARRY-424704)、曲美替尼、PD198306和PD318088。在一些实施方式中,硬MEK抑制剂包括,例如PD0325901、AS703026(匹马赛替尼, MSC1936369)、司美替尼(AZD6244, ARRY142886)、贝尼替尼(MEK162, ARRY-162, ARRY-438162)和曲美替尼。

[0094] 尽管不希望受到理论的束缚,但据信软MEK抑制剂,例如,如本文所述的软MEK抑制剂,比已知的“硬”MEK抑制剂在代谢上更加不稳定。由于其固有的代谢不稳定性,例如,在到达体循环时会降解,因此“软”MEK抑制剂,例如,如本文所述的“软”MEK抑制剂,具有皮肤活性,但是在局部或非全身性施用全身暴露较低,例如局部、皮下、透皮、皮内或病变内施用,因为它们在暴露于血浆或血液或肝代谢酶后可能会更快地降解。与“软”MEK抑制剂不同,已知的MEK抑制剂历来是为实现良好的口服生物利用度而设计的,这需要在血浆或血液中具有稳定的稳定性,以及对肝代谢具有良好的稳定性,以便能够以治疗有效水平全身递送,并且可能更易于产生一种或更多不良副作用并增加毒性。结果,软MEK抑制剂,例如本文所述的软MEK抑制剂,可能具有较低的全身毒性。

[0095] 在一些实施方式中,软Mek抑制剂具有小于或等于约90分钟、小于或等于约75分钟、小于或等于约60分钟、小于或等于约55分钟、小于或等于约50分钟、小于或等于约45分钟、小于或等于约40分钟、小于或等于约35分钟、小于或等于约30分钟、小于或等于约25分钟、小于或等于约20分钟、小于或等于约15分钟或小于或等于约10分钟的半衰期。在一些实施方式中,硬Mek抑制剂具有大于或等于约90分钟、大于或等于约105分钟、大于或等于约2小时、大于或等于约2.5小时、大于或等于约3小时、大于或等于约5小时、大于或等于约8小时、大于或等于约10小时、大于或等于约16小时、大于或等于约24小时、大于或等于约36小时、或大于或等于约48小时的半衰期。在一些实施方式中,使用诸如基本上如生物学实施例3或4中所述的测定法测量肝代谢半衰期。在一些实施方式中,使用诸如基本上如生物学实施例3中所述的测定法,使用人肝S9组分来测定肝代谢半衰期。

[0096] 在一些或任何实施方式中,术语“真皮神经纤维瘤”与“皮肤神经纤维瘤”可互换使用。在一些或任何实施方式中,术语“皮肤神经纤维瘤”是“真皮神经纤维瘤”的实施方式。

[0097] 本公开提供了“软”MEK抑制剂、包含“软”MEK抑制剂的组合物,以及使用MEK抑制剂,例如“软”MEK抑制剂治疗和/或预防皮肤病(例如,MEK-抑制剂响应性皮肤病或MEK介导的皮肤病,例如,皮肤RAS病(rasopathy),例如,与1型神经纤维瘤病(NF1)相关的皮肤疾病,例如,真皮神经纤维瘤、皮肤神经纤维瘤,皮下神经纤维瘤或浅表丛状神经纤维瘤)的方法。例如,本文所述的方法提供了MEK抑制剂,例如,“软”MEK抑制剂,例如本文所述的软MEK抑制剂,的施用,例如,局部、非全身性,例如,局部、皮下、透皮、皮内或病变内的施用,其显著降低了全身性暴露所表现出的一种或多种副作用,例如设计用于全身递送的MEK抑制剂所表现出的一种或多种已知的副作用。

[0098] 在一个实施方式中,施用包括使软MEK抑制剂与受试者的皮肤,例如皮肤的患病区域,例如具有与1型神经纤维瘤病(NF1)(例如,真皮神经纤维瘤,皮肤神经纤维瘤或浅表丛

状神经纤维瘤)相关的肿瘤的的皮肤区域接触,例如,通过局部或非全身性应用(例如,局部、皮下、透皮、真皮内或病变内应用)软MEK抑制剂。

[0099] 在一个实施方式中,施用包括通过局部或非全身性施用软MEK抑制剂,例如通过局部、皮下、透皮、真皮内或病变内应用或通过栓剂应用,使所述软MEK抑制剂与受试者的皮肤、粘膜、阴道、阴茎、喉、外阴、宫颈或肛门接触。

[0100] 在一个实施方式中,与1型神经纤维瘤病(NF1)有关的肿瘤,例如真皮神经纤维瘤,皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤或浅丛状神经纤维瘤被减小,例如相对于参考标准,肿瘤大小或总肿瘤体积减小至少约15%(例如,从约15%至约60%),从而治疗受试者。在一个实施方式中,参考标准是未经治疗的对照(例如,来自相同受试者或不同受试者)的大小或总肿瘤体积。

[0101] 在一个实施方式中,相对于参考标准,与1型神经纤维瘤病(例如,真皮神经纤维瘤、皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤或浅表丛状神经纤维瘤)相关的肿瘤的大小或总肿瘤体积减少至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%。在一个实施方式中,参考标准是未经治疗的对照(例如,来自相同受试者或不同受试者)的大小或总肿瘤体积。

[0102] 在一个实施方式中,该方法包括用磁共振成像(MRI),或光学成像,或高频超声,或硅酮模具或卡尺来评估受试者,例如评估从受试者获得的肿瘤的体积,例如,治疗前、治疗中和/或治疗后。

[0103] 所施用的化合物具有第一水平的MEK抑制。在代谢/降解之后,所施用化合物的残留物具有较低水平的MEK抑制(例如,与代谢/降解前的化合物相比,MEK抑制水平低至少约2倍、低至少约3倍、低至少约4倍、至少低约5倍、低至少约10倍、低至少约15倍、低至少约20倍、低至少约30倍、低至少约40倍、低至少约50倍、低至少约60倍、低至少约70倍、低至少约80倍、低至少约90倍、低至少约100倍、低至少约200倍、至少低约500倍、至少低约1,000倍)。

[0104] 在一个实施方式中,在代谢/降解后,本文公开的化合物的任何残留物具有较低水平的MEK抑制,例如,与化合物被代谢/降解之前相比,MEK抑制水平低约2倍、低约3倍、低约4倍、低约5倍,低约10倍、低约20倍、低约50倍、低约100倍、低约200倍、低约500倍、低约1000倍。

[0105] 在某些此类实施方式中,在代谢/降解后,本文公开的化合物的任何残留物具有较低水平的MEK抑制,例如,与化合物被代谢/降解之前相比,MEK抑制水平低约5倍、低约10倍、低约20倍、低约30倍、低约40倍、低约50倍、低约100倍、低约200倍、低约500倍、低约1,000倍。

[0106] 在一个实施方式中,MEK抑制剂的半衰期在离开皮肤后,例如在全身暴露后,可具有小于约24小时、小于约18小时、小于约14小时、小于约10小时、小于约9小时、小于约8小时、小于约7小时、小于约6小时、小于约5小时、小于约4小时、小于约3小时、小于约2小时、少于约1小时、少于约30分钟、少于约20分钟、少于约10分钟、少于约5分钟或少于约1分钟的半衰期。

[0107] 在一个实施方式中,MEK抑制剂的半衰期可以在体外引入后,例如在血液、血清或血浆中体外暴露后,具有少于约24小时、少于约18小时、少于约14小时、少于约10小时、少于约9小时、少于约8小时、少于约7小时、少于约6小时、少于约5小时、少于约4小时、少于约3小

时、小于约2小时、小于约1小时、小于约30分钟、小于约20分钟、小于约10分钟、小于约5分钟或小于约1分钟的半衰期。

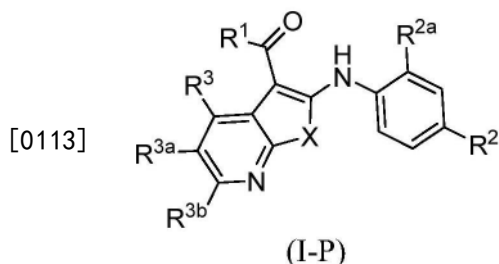
[0108] 在一些实施方式中,MEK抑制剂的半衰期具有小于或等于约90分钟、小于或等于约75分钟、小于或等于约60分钟、小于或等于约55分钟、小于或等于约50分钟、小于或等于约45分钟、小于或等于约40分钟、小于或等于约35分钟、小于或等于约30分钟、小于或等于约25分钟、小于或等于约20分钟、小于或等于约15分钟、或小于或等于约10分钟的半衰期。在一些实施方式中,使用生物学实施例3使用人肝S9组分测量MEK抑制剂的半衰期。

[0109] 化合物

[0110] 本文提供了可以调节与MEK有关的疾病或病症的活性的化合物。该化合物可以如本文所述形成,并用于治疗需要抑制MEK的疾病或病症。在某些实施方式中,所述疾病或病症是1型神经纤维瘤病。在某些实施方式中,所述疾病或病症选自下组:皮肤RAS病、1型神经纤维瘤病、真皮神经纤维瘤、皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤、浅表丛状神经纤维瘤、牛皮癣、角化棘皮瘤(KA)、角化过度、乳头状瘤、努南综合征(NS)、心脏面部皮肤综合征(CFC)、科斯特洛(Costello)综合症(面皮骨骼综合征或FCS综合症)、眼皮表皮综合征(oculoectodermal syndrome)、咖啡牛乳色斑和多发性雀斑综合征(以前称为豹皮综合征)。

[0111] 本文所述的实施方式包括所列举的化合物以及其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、立体异构体、互变异构体或其混合物。

[0112] 在一方面,提供式(I-P)的化合物:



[0114] 其中,

[0115] R^1 是 OR^4 、 $-NR^5R^{5a}$,或N-连接的杂环烷基,其中N-连接的杂环烷基任选地被一个或两个 R^{10} 取代;

[0116] R^{2a} 是卤素或 C_1-C_6 烷基;

[0117] R^2 是 $-S-C_1-C_6$ -烷基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或卤素;

[0118] X为-S-或-O-;当X为-S-且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 为氢时,则 R^2 为 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或 $-S-C_1-C_6$ 烷基;当X为-S-且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 为氢时, R^1 不是任选被一个或两个 R^{10} 取代的N-连接的杂环烷基;

[0119] R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 独立地是氢、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 $-S-C_1-C_6$ 烷基、卤素、 C_1-C_6 -烷氧基、 C_3-C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基或苯氧基,其中每个苯基和杂芳基独立地任选地被1、2或3个 R^6 取代;

[0120] R^4 是 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、 C_3-C_8 环烷基烷基、 C_1-C_6 羟烷基或 C_1-C_6 烷氧基烷基;

[0121] R^5 是氢、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、 C_3-C_8 环烷基- C_1-C_6 -烷基-、 C_1-C_6 羟烷基、 C_1-C_6 烷氧基- C_1-C_6 -烷基或 $-OR^{5b}$;

[0122] R^{5a} 是氢或 C_1 - C_6 烷基；

[0123] R^{5b} 是 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_8 环烷基- C_1 - C_6 -烷基、 C_1 - C_6 羟烷基或 C_1 - C_6 烷氧基- C_1 - C_6 -烷基；

[0124] 每个 R^6 独立地选自下组：羧基、 C_1 - C_6 -烷氧羰基、 C_1 - C_6 -烷基、 C_1 - C_6 -卤代烷基、 C_1 - C_6 -烷氧基- C_1 - C_6 -烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环烷基、-OC(O) R^7 、-OS(O) $_2R^7$ 、-O- C_1 - C_6 -卤代烷基、 C_3 - C_8 环烷氧基、杂环烷氧基、芳氧基、杂芳氧基、氨基、 C_1 - C_6 -烷基氨基、二- C_1 - C_6 -烷基氨基、-NR^{8a}S(O) $_2R^8$ 、-NR^{8a}C(O) R^8 、-S(O) $_2R^8$ 、-S(O) $_2$ NR^{8a}R⁸、-C(O) R^8 、-C(O)NR^{8a}R⁸和- C_1 - C_6 -亚烷基- R^{6a} ；

[0125] 每个 R^{6a} 独立选自下组： C_3 - C_8 环烷基、杂环烷基、-NH₂、-NH(C_1 - C_6 -烷基)、-N(C_1 - C_6 -烷基)₂、-NR^{9a}S(O) $_2R^9$ 、NR^{9a}C(O) R^9 、-S(O) $_2R^9$ 、-S(O) $_2$ NR^{9a}R⁹、-C(O) R^9 和-C(O)NR^{9a}R⁹；

[0126] 每个 R^7 独立地选自下组：氨基、 C_1 - C_6 -烷基氨基、二- C_1 - C_6 -烷基氨基、 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_1 - C_6 -烷氧基、杂环烷基、芳基和杂芳基；

[0127] 每个 R^{8a} 和 R^{9a} 独立地为H或 C_{1-6} 烷基；

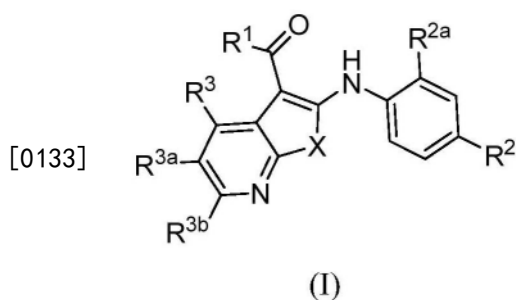
[0128] 每个 R^8 和 R^9 独立地为 C_1 - C_6 烷基、芳基、杂芳基、 C_3 - C_8 环烷基或杂环烷基；和

[0129] 每个 R^{10} 独立地为氢、卤素、羟基、氧代、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 -羟烷基、卤代- C_1 - C_6 -烷基、氨基- C_1 - C_6 -烷基、 C_1 - C_6 -烷基氨基- C_1 - C_6 -烷基、二- C_1 - C_6 -烷基氨基- C_1 - C_6 -烷基、 C_1 - C_6 -烷氧基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环烷基或杂芳基；

[0130] 或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。

[0131] 在一些或任何实施方式中、提供式 (IA)、式 (Ia)、式 (Ib) 或式 I-P 的化合物，其中当 X 为-S-且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 为氢时，则 R^1 不是任选地被一个或两个 R^{10} 取代的N-连接的杂环烷基；所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中，提供式 (IA)、式 (Ia)、式 (Ib) 或式 I-P 的化合物，其中-OR⁴或-NR⁵R^{5a}以及所有基团在本文所述的任何方面或实施方式中均如本文所定义。

[0132] 在一个实施方式中，本文提供式 (I) 的化合物



[0134] 其中

[0135] R^1 是-OR⁴或-NR⁵R^{5a}；

[0136] R^{2a} 是卤素或 C_1 - C_6 烷基；

[0137] R^2 是-S- C_1 - C_6 -烷基、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基或卤素；

[0138] X为-S-或-O-；当X为-S-且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 为氢时，则 R^2 为 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基或-S- C_1 - C_6 烷基；

[0139] R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 独立地是氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、-S- C_1 - C_6 烷基、卤素、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_3 - C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基或苯氧基，其中每个苯基和杂芳基独立地

任选地被1、2或3个 R^6 取代；

[0140] R^4 是 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_8 环烷基烷基、 C_1 - C_6 羟烷基或 C_1 - C_6 烷氧基烷基；

[0141] R^5 是氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_8 环烷基- C_1 - C_6 -烷基、 C_1 - C_6 羟烷基、 C_1 - C_6 烷氧基- C_1 - C_6 -烷基或-OR^{5b}；

[0142] R^{5a} 是氢或 C_1 - C_6 烷基；

[0143] R^{5b} 是 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_8 环烷基- C_1 - C_6 -烷基、 C_1 - C_6 羟烷基或 C_1 - C_6 烷氧基- C_1 - C_6 -烷基；

[0144] 每个 R^6 独立地选自下组：羧基、 C_1 - C_6 -烷氧羰基、 C_1 - C_6 -烷基、 C_1 - C_6 -卤代烷基、 C_1 - C_6 -烷氧基- C_1 - C_6 -烷基、 C_3 - C_8 环烷基、杂环烷基、-OC(O) R^7 、-OS(O) R^7 、-O- C_1 - C_6 -卤代烷基、 C_3 - C_8 环烷基氧基、杂环烷基氧基、芳氧基、杂芳氧基、氨基、 C_1 - C_6 -烷基氨基、二- C_1 - C_6 -烷基氨基、-NR^{8a}S(O) R^8 、-NR^{8a}C(O) R^8 、-S(O) R^8 、-S(O) R^8 NR^{8a} R^8 、-C(O) R^8 、-C(O)NR^{8a} R^8 和- C_1 - C_6 -亚烷基- R^{6a} ；

[0145] 每个 R^{6a} 独立选自下组： C_3 - C_8 环烷基、杂环烷基、-NH₂、-NH(C_1 - C_6 -烷基)、-N(C_1 - C_6 -烷基)₂、-NR^{9a}S(O) R^9 、-NR^{9a}C(O) R^9 、-S(O) R^9 、-S(O) R^9 NR^{9a} R^9 、-C(O) R^9 和-C(O)NR^{9a} R^9 ；

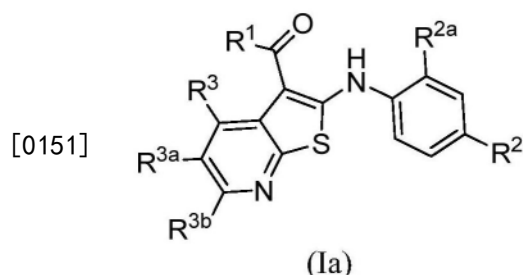
[0146] 每个 R^7 独立地选自下组：氨基、 C_1 - C_6 -烷基氨基、二- C_1 - C_6 -烷基氨基、 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_1 - C_6 -烷氧基、杂环烷基、芳基和杂芳基；

[0147] 每个 R^{8a} 和 R^{9a} 独立地为H或 C_1 - C_6 烷基；和

[0148] 每个 R^8 和 R^9 独立地为 C_1 - C_6 烷基、芳基、杂芳基、 C_3 - C_8 环烷基或杂环烷基；

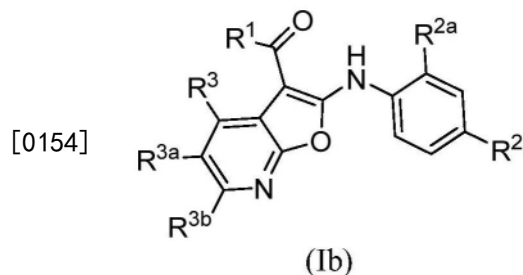
[0149] 或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。

[0150] 在一些或任何实施方式中，提供式 (Ia) 的化合物：



[0152] 且所有基团如本文所述的任何方面或实施方式中所定义，包括式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 和式 (II)。

[0153] 在一些或任何实施方式中，提供式 (Ib) 的化合物：



[0155] 且所有基团在本文所述的任何方面或实施方式中如本文所定义，包括式 (IA)、式 (I) 和式 (I-P)。

[0156] 在一些或任何实施方式中，提供了式 (IA)、式 (I) 或式 (I-P) 的化合物，其中X是-O-或-S-，并且当X是-S-时， R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢，那么 R^2 是 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基或-S- C_1 - C_6 烷基；所

有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I) 或式 (I-P) 的化合物,其中X是-O-或-S-,并且当X是-S-时,则 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢,且 R^2 是 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基或-S- C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I) 或式 (I-P) 的化合物,其中X为-O-或-S-,并且当X为-S-时,则 R^3 、 R^{3a} 、 R^{3b} 为氢,且 R^2 为 C_2 - C_6 炔基或-S- C_1 - C_6 烷基;且所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I) 或式 (I-P) 的化合物,其中X为-O-或-S-,并且当X为-S-时,则 R^3 、 R^{3a} 、 R^{3b} 为氢,且 R^2 为 C_2 - C_3 炔基或-S- C_1 - C_3 烷基;且所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I) 或式 (I-P) 的化合物,其中X为-O-或-S-,并且当X为-S-时,则 R^3 、 R^{3a} 、 R^{3b} 为氢,且 R^2 为 C_2 - C_3 炔基或-SCH₃;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0157] 在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X是-S-,并且当 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢时,则 R^2 是 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基或-S- C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X为-S-; R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢; R^2 是 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基或-S- C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X为-S-; R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢; R^2 是 C_2 - C_3 烯基、 C_2 - C_3 炔基或-S- C_1 - C_3 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X为-S-; R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢; R^2 是 C_2 - C_6 炔基或-S- C_1 - C_6 烷基;所有其他基团在本文所述的-任何方面或实施方式中均如本文所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X为-S-; R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢; R^2 是 C_2 - C_3 炔基或-S- C_1 - C_3 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X为-S-; R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢;且 R^2 是 C_2 - C_3 烯基、 C_2 - C_3 炔基或-SCH₃;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X为-S-; R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 是氢;且 R^2 是 C_2 - C_3 炔基或-SCH₃;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X是-S-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、-S- C_1 - C_6 烷基、卤素、 C_1 - C_6 -烷氧基、 C_3 - C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基或苯氧基,其中各苯基或杂芳基各自独立地任选地被1、2或3个 R^6 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X是-S-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 烷氧基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X是-S-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是甲基或甲氧基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中X是-S-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 (I-P) 或式 (Ia) 的化合物,其中

X是-S-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是甲基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0158] 在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式(I-P)或式(Ib)的化合物,其中X为-O-;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式(I-P)或式(Ib)的化合物,其中X是-O-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、-S- C_1 - C_6 烷基、卤素、 C_1 - C_6 -烷氧基、 C_3 - C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基或苯氧基,其中各苯基或杂芳基各自独立地任选地被1、2或3个 R^6 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式(I-P)或式(Ib)的化合物,其中X是-O-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 烷氧基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式(I-P)或式(Ib)的化合物,其中X是-O-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是甲基或甲氧基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式(I-P)或式(Ib)的化合物,其中X是-O-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式(I-P)或式(Ib)的化合物,其中X是-O-,并且 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是甲基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0159] 在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为-S- C_1 - C_3 烷基、 C_1 - C_3 烷基、 C_2 - C_4 烯基、 C_2 - C_3 炔基或卤素;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0160] 在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为-S- C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为-S- C_1 - C_3 烷基;所有其他基团在本文所述的任何方面或实施方式中均如本文所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为-S- CH_3 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0161] 在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为 C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为 C_1 - C_3 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为 CH_3 ;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0162] 在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为 C_2 - C_6 烯基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为 C_2 - C_4 烯基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0163] 在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为 C_2 - C_6 炔基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^2 为 C_2 -

[0168] 在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{2a} 为 C_1-C_6 烷基且 R^2 为卤素;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{2a} 为卤素且 R^2 为卤素;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{2a} 为卤素且 R^2 为 C_2-C_6 炔基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{2a} 为卤素且 R^2 为 $-S-C_1-C_6$ 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{2a} 为 $-CH_3$ 且 R^2 为卤素;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{2a} 为卤素且 R^2 为卤素;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{2a} 为卤素且 R^2 为 C_2-C_3 炔基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{2a} 为卤素且 R^2 为 $-S-C_1-C_3$ 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{2a} 为卤素且 R^2 为 $-SCH_3$;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0169] 在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 为氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1-C_6 烷基或 C_1-C_6 烷氧基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是甲基或甲氧基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1-C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是甲基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0170] 在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的一个或两个是氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的两个为氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 之一为 C_1-C_6 烷基或 C_1-C_6 烷氧基,其余为氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 之一为甲基或甲氧基,其他是氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0171] 在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合

物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 中的至少一个是 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、-S- C_1 - C_6 烷基、卤素、 C_1 - C_6 -烷氧基、 C_3 - C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基或苯氧基,其中各苯基或杂芳基各自独立地任选地被1、2或3个 R^6 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^3 为 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、-S- C_1 - C_6 烷基、卤素、 C_1 - C_6 -烷氧基、 C_3 - C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基或苯氧基,其中每个苯基和杂芳基独立地任选地被1、2或3个 R^6 取代; R^{3a} 和 R^{3b} 是氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^{3a} 为 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、-S- C_1 - C_6 烷基、卤素、 C_1 - C_6 -烷氧基、 C_3 - C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基或苯氧基,其中每个苯基和杂芳基独立地任选地被1、2或3个 R^6 取代; R^{3a} 和 R^{3b} 是氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^{3b} 为 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、-S- C_1 - C_6 烷基、卤素、 C_1 - C_6 -烷氧基、 C_3 - C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基或苯氧基,其中每个苯基和杂芳基独立地任选地被1、2或3个 R^6 取代; R^{3a} 和 R^{3b} 是氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0172] 在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 独立地选自氢、卤素、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 -烷氧基、 C_3 - C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基,其中杂芳基任选被1、2或3个 R^6 取代,以及苯氧基,其中苯基任选被1、2或3个 R^6 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 独立地选自氢、卤素和 C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^3 、 R^{3a} 和 R^{3b} 独立地选自 C_1 - C_6 -烷氧基、 C_3 - C_8 -环烷氧基、杂环烷氧基、杂芳氧基,其中杂芳基任选地被1、2或3个 R^6 取代,以及苯氧基,其中苯基任选地被1、2或3个 R^6 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0173] 在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)中的任何一个的化合物,其中 R^4 和 R^5 为 C_3 - C_8 环烷基- C_1 - C_6 -烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)中的任一个的化合物,其中 R^4 和 R^5 是 C_1 - C_6 羟烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)中的任何一个的化合物,其中 R^4 和 R^5 是 C_1 - C_6 烷氧基烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0174] 在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^1 为-OR⁴或-NR⁵R^{5a};所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^4 和 R^5 为 C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^4 和 R^5 为 C_3 - C_8 环烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式(I)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中 R^4 和 R^5 为 C_3 - C_8 环

基- C_1-C_6 -烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^4 和 R^5 为 C_1-C_6 羟烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^4 和 R^5 是 C_1-C_6 烷氧基烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0175] 在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-OR^4$;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-OR^4$ 且 R^4 为 C_1-C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-OR^4$ 且 R^4 为 C_3-C_8 环烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-OR^4$ 且 R^4 为 C_3-C_8 环烷基- C_1-C_6 -烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-OR^4$ 且 R^4 为 C_1-C_6 羟烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-OR^4$ 且 R^4 为 C_1-C_6 烷氧基烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0176] 在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^5R^{5a}$;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^5R^{5a}$ 且 R^5 为氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (Ia) - (Ic) 中的任何一个的化合物,其中 R^1 是 $-NR^5R^{5a}$ 并且 R^5 是被一个杂环烷基取代的 C_1-C_6 烷基(在一些实施方式中,是2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基);所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^5R^{5a}$,且 R^5 为 C_1-C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^5R^{5a}$,且 R^5 为 C_3-C_8 环烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^5R^{5a}$,且 R^5 为 C_3-C_8 环烷基- C_1-C_6 -烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^5R^{5a}$,且 R^5 为 C_1-C_6 -羟烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^5R^{5a}$,且 R^5 为 C_1-C_6 烷氧基- C_1-C_6 -烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^5R^{5a}$,且 R^5 为 $-OR^{5b}$;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^5R^{5a}$, R^5 为 $-OR^{5b}$,且 R^{5b} 为 C_1-C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (Ia) - (Ic) 中的任何一个的化合

物,其中 R^1 -是 $NR^{5a}R^{5b}$, R^5 是 $-OR^{5b}$,且 R^{5b} 是氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^{5a}R^{5b}$, R^5 为 $-OR^{5b}$,且 R^{5b} 为 C_3 - C_8 环烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^{5a}R^{5b}$, R^5 为 $-OR^{5b}$,且 R^{5b} 为 C_3 - C_8 环烷基- C_1 - C_6 -烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^{5a}R^{5b}$, R^5 为 $-OR^{5b}$,且 R^{5b} 为 C_1 - C_6 羟烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为 $-NR^{5a}R^{5b}$, R^5 为 $-OR^{5b}$,且 R^{5b} 为 C_1 - C_6 烷氧基- C_1 - C_6 -烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

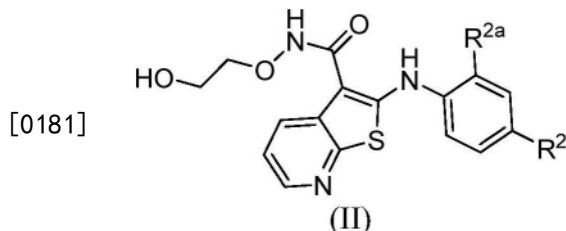
[0177] 在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{5a} 是氢;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供了式 (IA)、式 (I)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^{5a} 为 C_1 - C_6 烷基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0178] 在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 是N-连接的杂环烷基,其中N-连接的杂环烷基任选地被一个或两个 R^{10} 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 为N-连接的氮杂环丁烷基、N-连接的吡咯烷基、N-连接的哌啶基或N-连接的吗啶基,其中所述N-连接的杂环烷基任选地被一个或两个 R^{10} 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 是N-连接的氮杂环丁烷基,其中N-连接的杂环烷基任选地被一个或两个 R^{10} 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 是N-连接的吡咯烷基,其中N-连接的杂环烷基任选地被一个或两个 R^{10} 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 是N-连接的哌啶基,其中N-连接的杂环烷基任选地被一个或两个 R^{10} 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中 R^1 是N-连接的吗啶基,其中N-连接的杂环烷基任选地被一个或两个 R^{10} 取代;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0179] 在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中一个 R^6 为 $-NR^{8a}S(O)_2R^8$;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中一个 R^6 为 $-NR^{8a}C(O)R^8$;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中一个 R^6 为氨基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib) 的化合物,其中一个 R^6 为 $-S(O)_2NR^{8a}R^8$;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式 (IA)、式 I-P、式 (Ia) 或式 (Ib)

的化合物,其中一个 R^6 为 $-C(O)NR^{8a}R^8$;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中一个 R^6 为羧基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在一些或任何实施方式中,提供式(IA)、式I-P、式(Ia)或式(Ib)的化合物,其中一个 R^6 为 C_1-C_6 -烷氧基羰基;所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0180] 在另一方面,提供了式(II)的化合物:



[0182] 其中

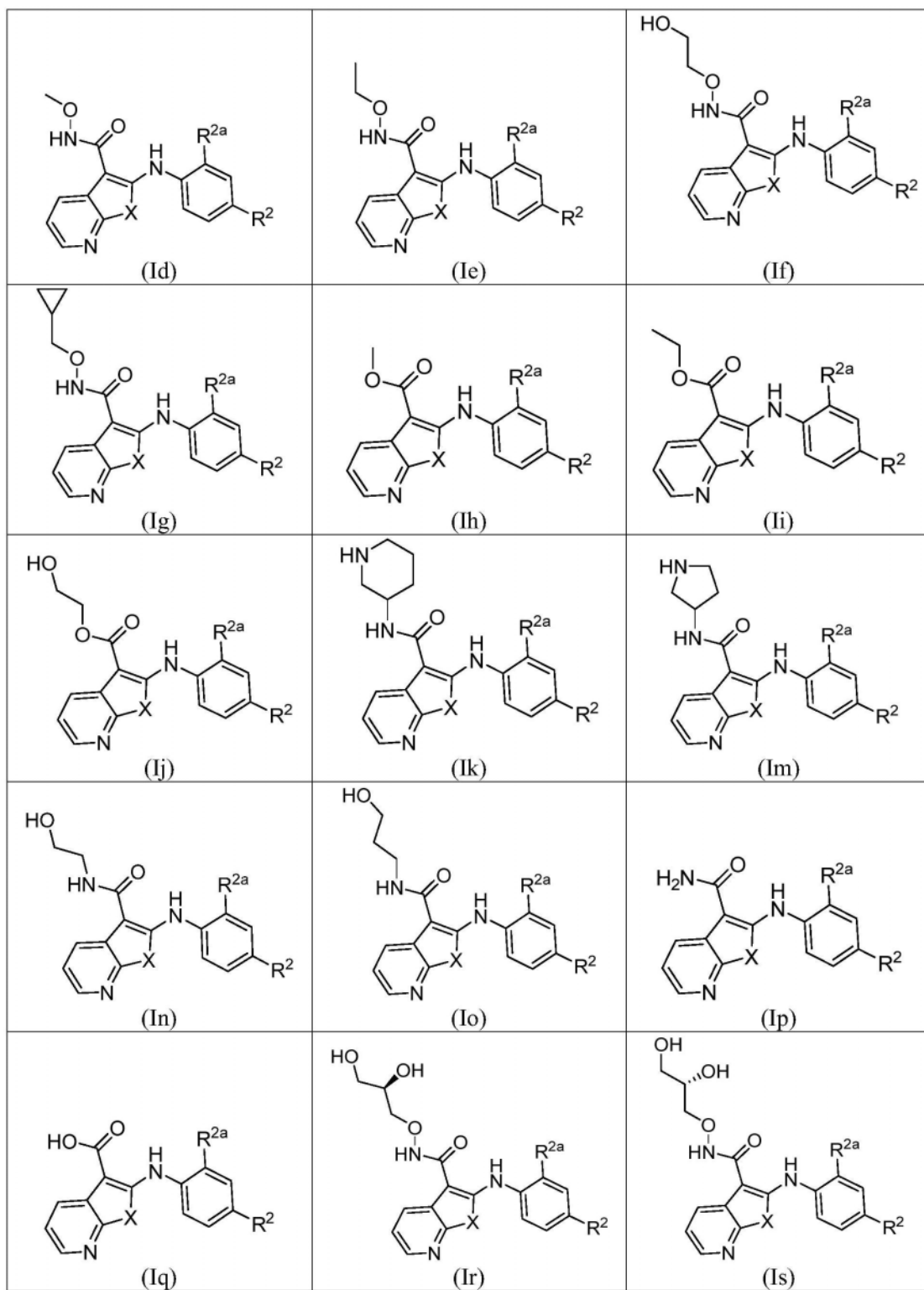
[0183] R^{2a} 是卤素或 C_1-C_6 烷基;和

[0184] R^2 是 $-S-C_1-C_6$ -烷基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基或卤素;

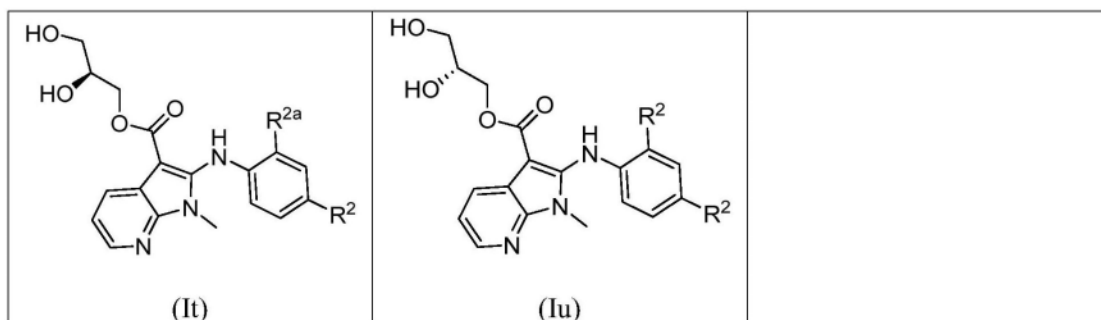
[0185] 或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^2 是 C_1-C_6 烷基或卤素;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^2 和 R^{2a} 独立地是卤素;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^2 是碘且 R^{2a} 是氟;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^{2a} 是氟且 R^2 是碘、 R^{2a} 是甲基且 R^2 是碘、 R^{2a} 是氟且 R^2 是乙炔基、 R^{2a} 是甲基且 R^2 是乙炔基、 R^{2a} 是氟且 R^2 是甲硫基、或 R^{2a} 为甲基且 R^2 为甲硫基;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^{2a} 是氟且 R^2 是碘;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^{2a} 是甲基且 R^2 是碘;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^{2a} 是氟且 R^2 是乙炔基;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^{2a} 为甲基且 R^2 为乙炔基;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^{2a} 是氟并且 R^2 是甲硫基;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。在式(II)的一些或任何实施方式中, R^{2a} 为甲基且 R^2 为甲硫基;或其N-氧化物、立体异构体、立体异构体的混合物和/或其药学上可接受的盐。

[0186] 在一些或任何实施方式中,式(I)化合物是根据以下的任一式:

[0187]



[0188]



[0189] 在上述结构的一些或任何实施方式中, X为S; 所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在以上结构的一些或任何实施方式中, R^{2a} 是氟且 R^2 是碘、 R^{2a} 是甲基且 R^2 是碘、 R^{2a} 是氟且 R^2 是乙炔基、 R^{2a} 是甲基且 R^2 是乙炔基、 R^{2a} 是氟且 R^2 是甲硫基、或 R^{2a} 为甲基且 R^2 为甲硫基; 所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在以上结构的一些或任何实施方式中, R^{2a} 是氟且 R^2 是碘; 所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在以上结构的一些或任何实施方式中, R^{2a} 为甲基且 R^2 为碘; 所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在以上结构的一些或任何实施方式中, R^{2a} 为氟且 R^2 为乙炔基; 所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在以上结构的一些或任何实施方式中, R^{2a} 是甲基且 R^2 是乙炔基; 所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在以上结构的一些或任何实施方式中, R^{2a} 为氟且 R^2 为甲硫基; 所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。在以上结构的一些或任何实施方式中, R^{2a} 是甲基且 R^2 是甲硫基; 所有其他基团如在本文所述的任何方面或实施方式中所定义。

[0190] 在一些实施方式中, 本文提供:

[0191] (a) 如本文所述的化合物, 例如, 式 (IA)、式 (I)、式 (I-P)、式 (Ia) - (Iu) 或式 (II)、权利要求以及实施方式A中的化合物, 和药学上可接受的盐及其组合物;

[0192] (b) 如本文所述的化合物, 例如, 式 (IA)、式 (I)、式 (I-P)、式 (Ia) - (Iu) 或式 (II)、权利要求以及实施方式A中的化合物, 和药学上可接受的盐及其组合物, 用于给有需要的对象治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病, 或MEK介导的皮肤病症或疾病。

[0193] (c) 制备本文所述的化合物的方法, 例如, 式 (IA)、式 (I)、式 (I-P)、式 (Ia) - (Iu) 或式 (II), 权利要求书和实施例A中的化合物, 如本文其他地方更详细地描述的;

[0194] (d) 药物制剂, 其包含本文所述的化合物, 如权利要求中所述的式 (IA)、式 (I)、式 (I-P)、式 (Ia) - (Iu) 或式 (II) 的化合物和实施方式A中的化合物, 或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体或稀释剂;

[0195] (e) 一种用于治疗需要其的受试者的病症的方法, 该方法包括给予治疗或预防有效量的本文所述的化合物, 例如式 (IA)、式 (I)、(I-P)、式 (Ia) - (Iu) 或式 (II), 权利要求和实施方式A中的化合物, 其药学上可接受的盐或组合物;

[0196] (f) 一种在受试者中治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病, 或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法, 包括给予治疗或预防有效量的本文所述的化合物, 例如式 (IA)、式 (I)、式 (I-P)、式 (Ia) - (Iu) 或式 (II), 权利要求和实施方式A中的化合物, 其药学上可接受的盐或组合物;

[0197] (g) 药物制剂,其包含本文所述的化合物,如式 (IA)、式 (I)、式 (I-P)、式 (Ia) - (Iu) 或式 (II)、权利要求、实施方式A中的化合物或其药学上可接受的盐,以及一种或多种其他有效药剂一起用于治疗需要其的受试者的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病,任选地包含在药学上可接受的载体或稀释剂中;

[0198] (h) 在受试者中治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法,包括给予治疗或预防有效量的本文所述的化合物,例如式 (IA)、式 (I)、式 (I-P)、式 (Ia) - (Iu) 或式 (II)、权利要求,和实施方式A中的化合物,其药学上可接受的盐或组合物,与一种或多种用于治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的药剂组合或交替;和

[0199] (i) 一种用于治疗需要其的受试者的病症的方法,该方法包括给予治疗或预防有效量的本文所述的化合物,例如式 (IA)、式 (I)、实施方式A中的式 (I-P)、式 (Ia) - (Iu) 或式 (II)、权利要求和实施方式A中的化合物,或其药学上可接受的盐或组合物,与一种或多种用于治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的药剂组合或交替。

[0200] 旋光化合物

[0201] 应当理解,本文提供的化合物具有几个手性中心,并且可以以旋光和外消旋形式存在和分离。应当理解,本文提供的化合物的任何外消旋的、旋光的、非对映异构的、互变异构的或立体异构的形式,或其混合物,具有本文所述的有用的性质,都在本发明的范围内。在本领域中众所周知如何制备旋光形式(在某些实施方式中,通过重结晶技术拆分外消旋形式、通过旋光原料的合成、通过手性合成,或使用手性固定相进行色谱分离)。另外,本文所述的化合物可在某些条件下在C11位置上差向异构。这样的差向异构体在本文提供的实施方式之内。

[0202] 在某些实施方式中,获得旋光材料的方法是本领域已知的,并且至少包括以下内容。

[0203] i) 晶体的物理分离-一种将各个立体异构体的宏观晶体手动分离的技术。如果存在单独的立体异构体的晶体,即,材料为团块且晶体在视觉上是不同的,则可以使用此技术。

[0204] ii) 同时结晶-从外消旋体溶液中单独结晶出各个立体异构体的一种技术,仅当后者是固态团块时才有可能;

[0205] iii) 酶促拆分-通过立体异构体与酶的不同反应速率将外消旋物部分或完全分离的技术;

[0206] iv) 酶促不对称合成-一种其中合成的至少一个步骤使用酶促反应来获得所需立体异构体的立体异构纯或富集的合成前体的合成技术;

[0207] v) 化学不对称合成-一种可以从手性前体在疾病或病症下合成所需的立体异构体的合成技术,在产品中产生不对称(即手性),这可以使用手性催化剂或手性助剂来实现;

[0208] vi) 非对映异构体分离-一种外消旋化合物与对映体纯试剂(手性助剂)反应的技术,该试剂将单个对映体转化为非对映体。然后,通过它们现在更明显的结构差异,通过色

谱法或结晶分离得到的非对映异构体,然后除去手性助剂,得到所需的对映异构体。

[0209] vii) 一阶-和二阶-不对称转化-一种使外消旋体的非对映异构体平衡,从而在所需对映异构体的非对映异构体溶液中占优势的技术,或者所需对映异构体的优先结晶扰动平衡,使得最终原则上所有材料都从所需对映异构体转化为结晶非对映异构体。然后将所需的对映异构体从非对映异构体中释放出来;

[0210] viii) 动力学拆分-该技术是指在动力学条件下通过立体异构体与手性、非外消旋试剂或催化剂的不相等的反应速率实现外消旋物的部分或完全拆分(或部分拆分的化合物的进一步拆分);

[0211] ix) 从非外消旋前体的立体定向合成-一种合成技术,其中所需的立体异构体是从非手性原料获得的,并且在合成过程中立体化学完整性没有受到或仅受到最小影响;

[0212] x) 手性液相色谱法-凭借它们与固定相的不同相互作用而在液体流动相中分离外消旋体的立体异构体的技术。固定相可以由手性材料制成,而流动相可以包含其他手性材料以激发不同的相互作用;

[0213] xi) 手性气相色谱法-凭借它们在气相流动相中与包含固定非外消旋手性吸附剂相的色谱柱的不同相互作用而使外消旋物挥发并分离出立体异构体的技术;

[0214] xii) 用手性溶剂萃取-通过优先将一种立体异构体溶解到特定的手性溶剂中来分离立体异构体的技术;

[0215] xiii) 跨手性膜输送-一种将外消旋物与薄膜屏障接触的技术。屏障通常会分离两种可混溶的流体,其中一种包含外消旋体,而诸如浓度或压力差之类的驱动力会导致通过膜屏障的优先输送。由于膜的非外消旋手性导致分离,膜仅使外消旋体的一种立体异构体通过。

[0216] 在一些实施方式中,提供了化合物的组合物,其包含化合物的基本上纯的指定的立体异构体。在某些实施方式中,在方法和化合物中,所述化合物基本上不含其他立体异构体。在一些实施方式中,提供了一种化合物的组合物,其包含该化合物的基本上纯的指定对映体。在某些实施方式中,在方法和化合物中,所述化合物基本上不含其他对映异构体。在一些实施方式中,提供了化合物的组合物,其包含该化合物的基本上纯的指定的非对映异构体。在某些实施方式中,在方法和化合物中,所述化合物基本上不含其他非对映异构体。在一些实施方式中,提供了化合物的组合物,其包含化合物的基本上纯的几何异构体。在某些实施方式中,在方法和化合物中,所述化合物基本上不含其他几何异构体。在一些实施方式中,以重量计,组合物包含至少为85%、90%、95%、98%、99%或100%的化合物,其余包含其他化学物质或立体异构体。

[0217] 同位素富集的化合物

[0218] 本文还提供了同位素富集的化合物。先前已经用某些类型的药物证明了药物的同位素富集(在某些实施方式中,是氘代的)以改善药代动力学(“PK”),药效学(“PD”)和毒性情况。参见,例如,Lijinsky等人,Food Cosmet.Toxicol.,20:393(1982);Lijinsky等人,J.Nat.Cancer Inst.,69:1127(1982);Mangold等人,Mutation Res.308:33(1994);Gordon等人,Drug Metab.Dispos.,15:589(1987);Zello等人,Metabolism,43:487(1994);Gately等人,J.Nucl.Med.,27:388(1986);Wade D,Chem.Biol.Interact.117:191(1999)。

[0219] 在某些实施方式中,可以使用药物的同位素富集来(1)减少或消除不需要的代谢

物, (2) 延长母体药物的半衰期, (3) 减少达到期望效果所需的剂量数, (4) 减少达到期望效果所需的剂量, (5) 增加活性代谢物的形成, 如果有的话, 和/或 (6) 减少特定组织中有害代谢物的产生, 和/或为联合疗法创造出更有效的药物和/或更安全的药物, 不论联合疗法是否是有意的。

[0220] 原子取代其同位素之一通常会导致化学反应的反应速率发生变化。这种现象被称为动力学同位素效应 (“KIE”)。例如, 如果在化学反应的速率决定步骤 (即具有最高过渡态能量的步骤) 中 C-H 键断裂, 则用氘代替该氢会导致反应速率降低, 并且过程会变慢。这种现象被称为氘动力学同位素效应 (“DKIE”)。参见例如, Foster 等人, *Adv. Drug Res.*, 14 卷, 1-36 页 (1985); Kushner 等人, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 77 卷, 79-88 页 (1999)。

[0221] DKIE 的大小可以表示为 C-H 键断裂的给定反应的速率与氘取代氢的相同反应速率之间的比率。DKIE 的范围可以从大约 1 (无同位素效应) 到非常大的数字, 例如 50 或更多, 这意味着当氘代氢时, 反应可能慢 50 倍或更多倍。较高的 DKIE 值可能部分归因于被称为隧穿效应的现象, 这是不确定性原理的结果。隧穿归因于氢原子的小质量, 并且之所以发生隧穿, 是因为有时在缺少所需活化能的情况下会形成涉及质子的过渡态。因为氘的质量比氢大, 所以统计学上发生这种现象的可能性要低得多。

[0222] 氚 (“T”) 是氢的放射性同位素, 用于研究、聚变反应堆、中子发生器和放射性药物。氚是在原子核中有 2 个中子的氢原子, 原子量接近 3。它在环境中以非常低的浓度自然存在, 最常见的是 T_2O 。氚衰变缓慢 (半衰期 = 12.3 年), 并发射出一种低能的 β 粒子, 该粒子无法穿透人类皮肤的外层。内部暴露是与这种同位素有关的主要危害, 但必须大量摄入, 才能构成重大健康风险。与氘相比, 在达到危险水平之前必须消耗较少量的氚。用氚 (“T”) 代替氢可产生比氘更强的键合, 并在数值上具有更大的同位素效应。同样, 用同位素替代其他元素, 包括但不限于用 ^{13}C 或 ^{14}C 替代碳, 用 ^{33}S 、 ^{34}S 或 ^{36}S 替代硫, 用 ^{15}N 替代氮, 用 ^{17}O 或 ^{18}O 替代氧, 可能导致类似的动力学同位素效应。

[0223] 例如, 推测通过限制反应性物质 (例如三氟乙酰氯) 的产生将 DKIE 用于降低氟烷的肝毒性。但是, 此方法可能不适用于所有药物类别。例如, 掺入氘可导致代谢转换。代谢转换的概念断言, 异种素在被 I 相酶隔离时, 可能会短暂结合, 并在化学反应 (例如氧化) 之前以各种构象重新结合。许多第一阶段酶中相对较大的结合口袋和许多新陈代谢反应的混杂性质支持了这一假设。代谢转换可能会导致不同比例的已知代谢物以及新的代谢物。这种新的代谢模式可能会或多或少地产生毒性。

[0224] 动物体表达多种酶以从其循环系统中消除外来物质, 例如治疗剂。在某些实施方式中, 此类酶包括细胞色素 P450 酶 (“CYP”)、酯酶、蛋白酶、还原酶、脱氢酶和单胺氧化酶, 以及与这些外来物质反应并将其转化为极性更大的中间体或代谢物以用于肾脏排泄。药物化合物的一些最常见的代谢反应涉及碳氢键 (C-H) 氧化成碳氧 (C-O) 或碳碳 (C-C) π 键。所产生的代谢物在生理条件下可能是稳定的或不稳定的, 并且相对于母体化合物而言可能具有实质上不同的药代动力学、药效学以及急性和长期毒性。对于许多药物而言, 这种氧化是迅速的。因此, 这些药物经常需要多次或每日高剂量给药。

[0225] 因此, 与具有天然同位素组成的类似化合物相比, 本文提供的化合物的某些位置处的同位素富集将产生可检测的 KIE, 其将影响本文提供的化合物的药代动力学、药理和/或毒理学特征。

[0226] 药物组合物和给药方法

[0227] 本文提供的式I-A、式I-P、式I、式Ia、式Ib或式II的化合物或其组合可以使用本领域可用的方法和本文公开的方法配制成药物组合物。可以以合适的药物组合物提供本文公开的任何化合物,并通过合适的给药途径进行给药。

[0228] 在一些或任何实施方式中,向受试者施用本文所述的化合物可以是局部或非全身性的,例如,局部、皮下、透皮、皮内或病变内。在一个实施方式中,化合物可以通过局部给药来施用。在一个实施方式中,化合物可以通过皮内给药来施用。在一个实施方式中,化合物可以通过病变内给药来施用,例如通过病变内注射。

[0229] 本文提供的方法包括施用包含至少一种本文所述化合物的药物组合物,所述化合物包括式IA、式I-P、式I、式Ia、式Ib或式II、和权利要求书以及实施方式A中的化合物,如果合适以盐形式,可以单独使用,也可以与一种或多种相容性和药学上可接受的载体(例如稀释剂或佐剂)或与另一种用于治疗有需要的对象的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的药剂的组合形式。

[0230] 在某些实施方式中,第二药剂可以与本文提供的化合物一起配制或包装。当然,当根据本领域技术人员的判断,这种共制剂不干扰任何一种药剂的活性或给药方法时,才仅将第二种药剂与本文提供的化合物一起配制。在某些实施方式中,本文提供的化合物和第二种药剂分开配制。为了本领域技术人员的方便,它们可以包装在一起或分开包装。

[0231] 在临床实践中,本文提供的活性剂可以通过任何常规途径给药,特别是局部、皮下、透皮、皮内、病变内、口服、肠胃外、直肠或通过吸入(以气雾剂形式)给药。在某些实施方式中,本文提供的化合物通过局部、皮下、透皮、皮内或病变内施用。在某些实施方式中,本文提供的化合物是局部施用的。在某些实施方式中,本文提供的化合物是皮内施用的。在某些实施方式中,本文提供的化合物是病变内施用的。

[0232] 作为口服给药的固体组合物,可以使用片剂、丸剂、明胶硬胶囊、散剂或颗粒剂。在这些组合物中,将活性产物与一种或多种惰性稀释剂或佐剂例如蔗糖、乳糖或淀粉混合。

[0233] 这些组合物可包含稀释剂以外的物质,例如润滑剂,例如硬脂酸镁,或用于控制释放的包衣。

[0234] 作为口服给药的液体组合物,可以使用含有惰性稀释剂例如水或液体石蜡的药学上可接受的溶液、悬浮液、乳剂、糖浆和酏剂。这些组合物还可包含除稀释剂以外的物质,在某些实施方式中,为润湿、甜味或调味产品。

[0235] 对于局部施用可以使用组合物,如洗剂、酏剂、乳膏剂、乳剂、凝胶剂或软膏剂。在这些组合物中,将活性产物与一种或多种惰性赋形剂混合,所述赋形剂包括水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油及其混合物。

[0236] 用于肠胃外、病变内或皮内给药的组合物可以是乳剂或无菌溶液。可以使用作为溶剂或溶媒的丙二醇、聚乙二醇、植物油,特别是橄榄油,或可注射的有机酯,在某些实施方式中,油酸乙酯。这些组合物还可包含佐剂,特别是润湿剂、等渗剂、乳化剂、分散剂和稳定剂。在某些实施方式中,可以使用细菌过滤器,通过辐射或通过加热以几种方式进行灭菌。它们也可以以无菌固体组合物的形式制备,其可以在使用时溶解在无菌水或任何其他可注射的无菌介质中。

[0237] 用于直肠给药的组合物是栓剂或直肠胶囊,其除活性成分外还包含赋形剂,例如可可脂、半合成甘油酯或聚乙二醇。

[0238] 组合物也可以是气雾剂。为了以液体气雾剂形式使用,所述组合物可以是稳定的无菌溶液或在使用时溶解于无热原水、盐水或任何其他药学上可接受的溶媒中的固体组合物。为了以打算直接吸入的干气雾剂的形式使用,将活性成分细分并与水溶性固体稀释剂或溶媒结合,在某些实施方式中,右旋糖酐、甘露醇或乳糖。

[0239] 在某些实施方式中,本文提供的组合物是药物组合物或单一单位剂型。本文提供的药物组合物和单一单位剂型包含预防或治疗有效量的一种或多种预防或治疗剂(例如,本文提供的化合物或其他预防或治疗剂),以及通常一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。在一个具体的实施方式中,在此上下文中,术语“药学上可接受的”是指由联邦或州政府的监管机构批准或在美国药典或其他公认的药典中列出的,用于动物,尤其是人类的。术语“载体”包括与治疗剂一起施用的稀释剂,佐剂(例如,弗氏佐剂(完全和不完全))、赋形剂或溶媒。这样的药物载体可以是无菌液体,例如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的油,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当药物组合物静脉内施用,水可以用作载体。盐溶液以及葡萄糖水溶液和甘油溶液也可以用作液体载体,特别是用于注射溶液。Remington的《药学科学与实践》;制药出版社22版(2012年9月15日)中描述了合适的药物载体的例子。

[0240] 典型的药物组合物和剂型包含一种或多种赋形剂。合适的赋形剂是药学领域技术人员众所周知的,并且在某些实施方式中,合适的赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石粉、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。特定的赋形剂是否适合掺入药物组合物或剂型中取决于本领域众所周知的多种因素,包括但不限于将剂型给予受试者的方式和剂型中特定的活性成分。如果需要,该组合物或单一单位剂型还可包含少量的湿润剂或乳化剂或pH缓冲剂。

[0241] 本文提供的不含乳糖的组合物可以包含本领域众所周知的赋形剂,并且在某些实施方式中在美国药典(USP 36-NF 31 S2)中列出。通常,无乳糖组合物包含药学上相容和药学上可接受的量的活性成分、粘合剂/填充剂和润滑剂。示例性的无乳糖剂型包含活性成分、微晶纤维素、预糊化淀粉和硬脂酸镁。

[0242] 由于水可以促进某些化合物的降解,因此本文还涵盖了包含活性成分的无水药物组合物和剂型。例如,加水(例如,5%)在制药领域中被广泛接受,作为模拟长期储存的手段,以确定诸如保质期或制剂随时间的稳定性等特征。参见例如,Jens T.Carstensen,药物稳定性:原则与实践,第二版,Marcel Dekker,纽约,1995,379-80页。实际上,水和热量会加速某些化合物的分解。因此,水对制剂的影响可能具有重要意义,因为在制剂的制造、处理、包装、储存、运输和使用期间通常会遇到水分和/或湿度。

[0243] 本文提供的无水药物组合物和剂型可以使用无水或低水分含量的成分和低水分或低湿度条件来制备。如果预期在制造、包装和/或储存期间与水分和/或湿气大量接触,则包含乳糖和至少一种包含伯胺或仲胺的活性成分的药物组合物和剂型可以是无水的。

[0244] 无水药物组合物应制备和储存以保持其无水性质。因此,无水组合物可以使用已知的防止暴露于水的材料包装,使得它们可以被包括在合适的配方药盒中。在某些实施方式中,合适的包装包括但不限于气密的箔、塑料、单位剂量容器(例如,小瓶)、泡罩包装和条

状包装。

[0245] 还提供了包含一种或多种降低活性成分分解速率的化合物的药物组合物和剂型。此类化合物在本文中称为“稳定剂”，包括但不限于抗氧化剂，例如抗坏血酸、pH缓冲剂或盐缓冲剂。

[0246] 药物组合物和单一单位剂型可以采取溶液剂、混悬剂、乳剂、片剂、丸剂、胶囊剂、散剂、缓释制剂等形式。口服制剂可包括标准载体，例如药用级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。此类组合物和剂型将包含预防或治疗有效量的预防或治疗剂，在某些实施方式中，以纯化形式与合适量的载体一起，以提供用于向受试者适当给药的形式。该制剂应适合于给药方式。在某些实施方式中，药物组合物或单一单位剂型是无菌的并且以适合的形式施用给受试者，在某些实施方式中，所述受试者是动物受试者，例如哺乳动物受试者，在某些实施方式中是人类受试者。

[0247] 将药物组合物配制成与其预期的给药途径相容。在某些实施方式中，施用途径包括但不限于肠胃外，例如，静脉内、皮内、皮下、肌肉内、皮下、口服、颊、舌下、吸入、鼻内、透皮、局部、透粘膜、肿瘤内、滑膜内和直肠给药。在某些实施方式中，施用途径是皮内、透皮、局部、皮下或病变内施用。在某些实施方式中，施用途径是非全身性施用。在一个具体的实施方式中，根据常规程序将所述组合物配制成适合于静脉内、皮下、肌肉内、口服、鼻内、透皮、皮内、病变内或局部给予人的药物组合物。在一个实施方式中，根据常规程序配制药物组合物，用于向人皮下施用。通常，用于静脉内施用的组合物是在无菌等渗水性缓冲液中的溶液。必要时，该组合物还可以包含增溶剂和局部麻醉剂，例如利诺卡因，以减轻注射部位的疼痛。

[0248] 在某些实施方式中，剂型包括但不限于：片剂；囊片；和胶囊，例如软弹性明胶胶囊；扁胶囊；锭剂；含片；分散体；栓剂；软膏；巴布膏剂（膏药）；糊剂；粉末；敷料剂；乳膏剂；硬膏剂；溶液剂；贴片；气雾剂（例如，鼻喷雾剂或吸入器）；凝胶；适用于受试者口服或粘膜给药的液体剂型，包括混悬剂（例如，水性或非水性液体混悬剂、水包油乳剂或油包水乳剂），溶液剂和酏剂；适合于肠胃外给予受试者的液体剂型；以及无菌固体（例如，结晶或无定形固体），其可以被重构以提供适合于肠胃外给予受试者的液体剂型。

[0249] 本文提供的剂型的组成、形状和类型通常取决于它们的用途。在某些实施方式中，用于MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病的初始治疗中的剂型，与用于维持相同疾病或疾病的剂型相比，可以包含更大量的一种或多种它包含的活性成分。类似地，肠胃外剂型可包含比用于治疗相同疾病或病症的口服剂型更少量的一种或多种它包含的活性成分。对于本领域技术人员而言，本文所涵盖的具体剂型将彼此不同的这些和其他方式将是显而易见的。参见例如，雷明顿：药学科学与实践；制药出版社22版（2012年9月15日）。

[0250] 通常，组合物的成分以单位剂型形式单独或混合在一起提供，在某些实施方式中，作为干燥的冻干粉末或无水浓缩物在密封容器中，例如指示活性剂的量的安瓿或小药囊中。当组合物要通过输注给药时，可以用装有无菌药物级水或盐水的输液瓶分配。在通过注射施用组合物的情况下，可以提供装有无菌注射用水或盐水的安瓿，以便可以在施用之前将成分混合。

[0251] 典型的剂型包含本文提供的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物，

其范围为每天约0.1mg至约1000mg,早晨每天一次单剂量或与食物一起全天分次服用。特定剂型可具有约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0、2.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、100、200、250、500或1000mg的活性化合物。

[0252] 口服剂型

[0253] 适于口服给药的药物组合物可以以分散剂型存在,例如但不限于片剂(例如,可咀嚼的片剂)、囊片、胶囊和液体(例如调味过的糖浆)。这样的剂型包含预定量的活性成分,并且可以通过本领域技术人员众所周知的药学方法来制备。通常参见,雷明顿:药学科学与实践;制药出版社22版(2012年9月15日)。

[0254] 在某些实施方式中,口服剂型是固体,并在无水疾病或病症下与无水成分一起制备,如本文详细描述。但是,本文提供的组合物的范围超出了无水固体口服剂型。因此,本文描述了其他形式。

[0255] 根据常规药物混合技术,通过将活性成分与至少一种赋形剂紧密混合来制备典型的口服剂型。赋形剂可以采取多种形式,这取决于给药所需的制剂形式。在某些实施方式中,适用于口服液体或气雾剂剂型的赋形剂包括但不限于水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂和着色剂。在某些实施方式中,适用于固体口服剂型的赋形剂(例如,粉剂、片剂、胶囊剂和囊片剂)包括但不限于淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、制粒剂、润滑剂、粘合剂和崩解剂。

[0256] 由于易于给药,片剂和胶囊剂代表最有利的口服剂量单位形式,在这种情况下,使用固体赋形剂。如果需要,可以通过标准的水性或非水性技术将片剂包衣。这样的剂型可以通过任何药学方法制备。通常,通过将活性成分与液体载体,细碎的固体载体或两者均匀且紧密地混合,然后如有需要将产品成型为所需的形式来制备药物组合物和剂型。

[0257] 在某些实施方式中,片剂可以通过压制或模制来制备。压制片剂可以通过在合适的机器中压制自由流动形式的活性成分如粉末或颗粒,任选地与赋形剂混合来制备。模制片剂可以通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉末状化合物的混合物来制备。

[0258] 在某些实施方式中,可以用于口服剂型的赋形剂包括但不限于粘合剂、填充剂、崩解剂和润滑剂。适用于药物组合物和剂型的粘合剂包括但不限于玉米淀粉、马铃薯淀粉或其他淀粉、明胶、天然和合成胶,例如阿拉伯胶、海藻酸钠、海藻酸、其他海藻酸盐、黄蓍粉、瓜耳胶、纤维素及其衍生物(例如,乙基纤维素、乙酸钠纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠)、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、预糊化淀粉、羟丙基甲基纤维素(例如,编号2208、2906、2910)、微晶纤维素,及其混合物。

[0259] 在某些实施方式中,适用于本文公开的药物组合物和剂型的填充剂包括但不限于滑石粉,碳酸钙(例如,颗粒或粉剂)、微晶纤维素、粉状纤维素、葡萄糖结合剂(dextrates)、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨糖醇、淀粉、预糊化淀粉,及其混合物。药物组合物中的粘合剂或填充剂通常以药物组合物或剂型的约50至约99重量%存在。

[0260] 在某些实施方式中,合适形式的微晶纤维素包括但不限于以AVICEL PH 101、AVICEL PH 103、AVICEL RC 581、AVICEL PH 105(可从FMC公司,美国粘胶部门,Avicel销售公司,宾夕法尼亚州马库斯胡克市(FMC Corporation,American Viscose Division,Avicel Sales,Marcus Hook,PA)购买)销售的材料,及其混合物。特定的粘合剂是微晶纤维素和羧甲基纤维素钠的混合物,以AVICEL RC 581出售。合适的无水或低水分的赋形剂或添

加剂包括AVICEL PH 103TM和淀粉1500LM。

[0261] 崩解剂用于组合物中以提供当暴露于水性环境时崩解的片剂。包含太多崩解剂的片剂在储存中可能崩解,而崩解剂太少的片剂可能不会以所需的速率或在所需的条件下崩解。因此,应当使用既不太多也不会太少而不会有害地改变活性成分释放的足够量的崩解剂以形成固体口服剂型。崩解剂的使用量根据制剂的类型而变化,并且对于本领域普通技术人员而言是容易辨别的。典型的药物组合物包含约0.5至约15重量%的崩解剂,特别是约1至约5重量%的崩解剂。

[0262] 可用于药物组合物和剂型的崩解剂包括但不限于琼脂、海藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、交联聚维酮、波拉克林钾、淀粉羟乙酸钠、马铃薯或木薯淀粉、预糊化淀粉、其他淀粉、粘土、其他藻胶、其他纤维素、树胶,及其混合物。

[0263] 可以用于药物组合物和剂型的润滑剂包括但不限于硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨糖醇、甘露醇、聚乙二醇、其他二醇、硬脂酸、月桂基硫酸钠、滑石粉、氢化植物油(例如花生油、棉籽油、葵花籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂酸乙酯、琼脂,及其混合物。在某些实施方式中,另外的润滑剂包括Syloid硅胶(AEROSIL 200,由马里兰州巴尔的摩的WR格雷公司制造),合成二氧化硅的凝结气溶胶(由得克萨斯州普莱诺的德固赛公司出售),CAB O SIL(一种由马萨诸塞州波士顿的卡伯特公司销售的热解二氧化硅产品),及其混合物。如果都使用,润滑剂的用量通常少于掺入润滑剂的药物组合物或剂型的约1重量%。

[0264] 延迟释放剂型

[0265] 活性成分例如本文提供的化合物可以通过控释手段或通过本领域普通技术人员众所周知的递送装置来施用。在某些实施方式中,但不限于美国专利号:3,845,770、3,916,899、3,536,809、3,598,123、4,008,719、5,674,533、5,059,595、5,591,767、5,120,548、5,073,543、5,639,476、5,354,556、5,639,480、5,733,566、5,739,108、5,891,474、5,922,356、5,972,891、5,980,945、5,993,855、6,045,830、6,087,324、6,113,943、6,197,350、6,248,363、6,264,970、6,267,981、6,376,461、6,419,961、6,589,548、6,613,358和6,699,500中描述的那些,它们中的每一个均通过引用整体并入本文。这样的剂型可以用于提供一种或多种活性成分的缓慢或控制释放,在某些实施方式中,使用羟丙基甲基纤维素、其他聚合物基质、凝胶、可渗透膜、渗透系统、多层包衣、微粒、脂质体、微球或它们的组合以不同比例提供所需的释放曲线。可以容易地选择本领域普通技术人员已知的合适的控释制剂,包括本文所述的那些,以与本文提供的活性成分一起使用。因此,本文包括适用于口服给药的单一单位剂型,例如但不限于适于控释的片剂、胶囊剂、凝胶帽和囊片。

[0266] 所有控释药物产品的共同目标是改善药物治疗以超过其非控释产品所取得的药物治疗。理想地,在医学治疗中使用最佳设计的控释制剂的特征在于,在最短时间内用最少的药物来治愈或控制疾病或病症。控释制剂的优点包括延长药物活性、降低给药频率和增加受试者依从性。另外,控释制剂可用于影响作用开始的时间或其他特征,例如血药水平,并因此可影响一种或多种副(例如,不良)作用的发生。

[0267] 大多数控释制剂的设计目的是首先释放一定数量的药物(有效成分),以迅速产生所需的治疗效果,然后逐渐和连续释放其他数量的药物,以在较长的时间内保持该水平的治疗或预防效果。为了维持药物在体内的这种恒定水平,必须以一定的速率从剂型中释放

药物,其将替代被代谢和从体内排出的药物的量。活性成分的控释可以被各种疾病或病症刺激,包括但不限于pH、温度、酶、水或其他生理疾病或病症或化合物。

[0268] 在某些实施方式中,可以使用静脉内输注、可植入的渗透泵、透皮贴剂、脂质体或其他施用方式来施用药物。在某些实施方式中,可以使用泵(参见Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald等人, 外科(Surgery) 88:507 (1980); Saudek等人, 新英格兰医学杂志(N. Engl. J. Med.) 321:574 (1989))。在另一个实施方式中,可以使用聚合物材料。在又一个实施方式中,可以将控释系统放置在由技术从业者决定的受治疗者的适当部位,即,因此仅需要全身剂量的一小部分(参见,例如,Goodson, (Medical Applications of Controlled Release) 控释的医学应用,第2卷,第115-138页(1984))。Langer (科学(Science) 249:1527-1533 (1990)) 在综述中讨论了其他控释系统。活性成分可以分散在固体内部基质中,例如,聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸丁酯、增塑或未增塑的聚氯乙烯、增塑的尼龙、增塑的聚对苯二甲酸乙二醇酯、天然橡胶、聚异戊二烯、聚异丁烯、聚丁二烯、聚乙烯、乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、硅橡胶、聚二甲基硅氧烷、碳酸硅酮共聚物、亲水性聚合物,例如丙烯酸和甲基丙烯酸酯的水凝胶、胶原蛋白、交联的聚乙烯醇和交联的部分水解的聚乙酸乙烯酯,其被外部聚合物膜包围,例如、聚乙烯、聚丙烯、乙烯/丙烯共聚物、乙烯/丙烯酸乙酯共聚物、乙烯/乙酸乙烯酯共聚物、硅橡胶、聚二甲基硅氧烷、氯丁橡胶、氯化聚乙烯、聚氯乙烯、氯乙烯与乙酸乙烯酯的共聚物、偏二氯乙烯、乙烯和丙烯、离聚物聚对苯二甲酸乙二醇酯、丁基橡胶表氯醇橡胶、乙烯/乙烯醇共聚物、乙烯/乙酸乙烯酯/乙烯醇三元共聚物、和乙烯/乙烯氧基乙醇共聚物,其不溶于体液。然后,活性成分在释放速率控制步骤中扩散通过外部聚合物膜。此类肠胃外组合中活性成分的百分比高度取决于其特定性质以及受试者的需求。

[0269] 肠胃外剂型

[0270] 在某些实施方式中,提供了肠胃外剂型。在某些实施方式中,肠胃外剂型可以通过各种途径施用给受试者,所述途径包括但不限于皮下、静脉内(包括推注)、肌内和动脉内。在某些实施方式中,肠胃外剂型可以通过各种途径施用给受试者,包括但不限于局部、皮下、透皮、皮内或病变内。由于其给药通常绕过受试者对污染物的天然防御,因此肠胃外剂型通常是无菌的或能够在施用于受试者之前被灭菌。在某些实施方式中,肠胃外剂型包括但不限于准备用于注射的溶液、准备溶解或悬浮在药学上可接受的溶媒中用于注射的干燥产品、准备用于注射的悬浮液和乳剂。

[0271] 可用于提供肠胃外剂型的合适的溶媒是本领域技术人员众所周知的。在某些实施方式中,合适的溶媒包括但不限于:USP注射用水;水性溶媒,例如但不限于氯化钠注射液、林格注射液、右旋糖注射液、右旋糖和氯化钠注射液和乳酸林格氏注射液;与水混溶的溶媒,例如但不限于乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇;非水溶媒,例如但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。

[0272] 还可将增加本文公开的一种或多种活性成分的溶解度的化合物掺入肠胃外剂型中。

[0273] 透皮、局部和粘膜剂型

[0274] 还提供了透皮、局部和粘膜剂型。透皮、局部和粘膜剂型包括但不限于眼药水、喷雾剂、气雾剂、乳膏剂、洗剂、软膏、凝胶、溶液、乳剂、混悬剂或本领域技术人员已知的其他

形式。参见例如,雷明顿:药学科学与实践;制药出版社22版(2012年9月15日);和药物剂型介绍,第4版,Lea和Febiger,费城(1985)。适用于治疗口腔内粘膜组织的剂型可以配制成漱口水或口服凝胶。此外,透皮剂型包括“贮库型”或“基质型”贴剂,其可以施加到皮肤上并穿戴特定的时间以允许期望量的活性成分渗透。

[0275] 术语“药学上可接受的载体”是指药学上可接受的材料、组合物或溶媒,例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包囊材料,其参与或输送任何主题组合物或其组分。在与主题组合物及其成分相容且对患者无害的意义上,每个载体必须是“可接受的”。可以用于提供本文涵盖的透皮、局部和粘膜剂型的合适的载体(例如,赋形剂和稀释剂)和其他材料对于制药领域的技术人员是众所周知的,并且取决于给定的药物组合物或剂型将被应用的特定的组织。考虑到这一事实,典型的载体包括但不限于水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油,及其混合物以形成乳液、酏剂、乳膏剂、乳剂、凝胶剂或软膏剂,它们都为无毒且药学上可接受的。在一些实施方式中,可用作药学上可接受的载体的材料包括:(1)糖,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,例如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素及其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和纤维素乙酸酯;(4)黄蓍粉;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)赋形剂,例如可可脂和栓剂蜡;(9)油类,例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油、大豆油;(10)二醇,例如丙二醇;(11)多元醇,例如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇;(12)酯,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,例如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)海藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格溶液;(19)乙醇;(20)磷酸盐缓冲溶液;(21)药物制剂中使用的其他无毒相容性物质。如果需要,也可以将保湿剂或湿润剂添加到药物组合物和剂型中。这种附加成分的实例是本领域众所周知的。参见例如,雷明顿:药学科学与实践;制药出版社22版(2012年9月15日)。

[0276] 取决于要治疗的特定组织,可以在用提供的活性成分治疗之前、共同或之后使用其他成分。在某些实施方式中,渗透促进剂可用于协助将活性成分递送至组织。合适的渗透促进剂包括但不限于:丙酮;各种醇,例如乙醇、油基和四氢呋喃基;烷基亚砷,例如二甲基亚砷;二甲基乙酰胺;二甲基甲酰胺;聚乙二醇;吡咯烷酮,例如聚乙烯吡咯烷酮;Kollidon牌号(聚乙烯吡咯酮、聚维酮);尿素以及各种水溶性或不溶性糖酯,例如吐温80(聚山梨酯80)和斯潘60(脱水山梨糖醇单硬脂酸酯)。

[0277] 也可以调节药物组合物或剂型的pH或将药物组合物或剂型应用到的组织,以改善一种或多种活性成分的递送。类似地,可以调节溶剂载体的极性、其离子强度或张力以改善输送。还可以将化合物例如硬脂酸酯添加到药物组合物或剂型中,以有利地改变一种或多种活性成分的亲水性或亲脂性,从而改善递送。在这方面,硬脂酸酯可以用作制剂的脂质溶媒、乳化剂或表面活性剂,以及递送促进剂或渗透促进剂。活性成分的不同盐、水合物或溶剂化物可用于进一步调节所得组合物的性质。

[0278] 剂量和单位剂量形式

[0279] 在人类疗法中,医生将根据预防或治疗方法以及根据年龄、体重、疾病或疾病的阶段以及特定于待治疗对象的其他因素,确定他认为最合适的治疗方法。在某些实施方式中,成人的剂量为每天约1至约1000mg,或成人为每天约5至约250mg或每天约10至50mg。在某些实施方式中,剂量为每位成人每天约5至约400mg或每天25至200mg。在某些实施方式中,还

预期每天约50至约500mg的剂量率。

[0280] 在其他方面,提供了治疗有需要的受试者的疾病或病症,和/或受试者中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法,通过向有需要的受试者施用治疗或预防有效量的本文提供的化合物或其药学上可接受的盐。在病症或一种或多种其症状的治疗中将是治疗或预防上有效的化合物或组合物的量将随疾病或病况的性质和严重程度以及施用活性成分的途径而变化。频率和剂量也将根据针对每个受试者的特定因素而变化,这取决于所施用的特定疗法(例如,治疗或预防剂)、病症、疾病或病况的严重程度,施用途径以及年龄、体况、体重、反应以及受试者的既往病史。有效剂量可以从体外或动物模型测试系统得出的剂量响应曲线中推断出来。

[0281] 在某些实施方式中,组合物的示例性剂量包括每千克受试者或样品重量的毫克或微克量的活性化合物(例如,约10微克每千克至约50毫克每千克、约100微克每千克至约25毫克每千克,或约100微克每千克至约10毫克每千克)。对于本文提供的组合物,在某些实施方式中,基于活性化合物的重量,给予受试者的剂量为0.140mg/kg至3mg/kg受试者体重。在某些实施方式中,给予受试者的剂量为0.20mg/kg至2.00mg/kg、0.30mg/kg至1.50mg/kg、1mg/kg至100mg/kg、5mg/kg至50mg/kg、10mg/kg至50mg/kg、20mg/kg至50mg/kg、15mg/kg至40mg/kg、15mg/kg至35mg/kg、15mg/kg至30mg/kg、25mg/kg至35mg/kg、10mg/kg至30mg/kg、10mg/kg至20mg/kg、约5mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约20mg/kg、约25mg/kg、约30mg/kg、约35mg/kg、约40mg/kg、约45mg/kg或约50mg/kg受试者体重。

[0282] 在某些实施方式中,本文提供的用于本文所述的疾病或病症的组合物的推荐日剂量范围为每天约0.1mg至约1000mg,以每日一次单剂量或全天分次服用。在某些实施方式中,每日剂量以等分的剂量每天两次给药。在某些实施方式中,日剂量范围应为每天约10mg至约200mg,在其他实施方式中,应为每天约10mg至约150mg,在其他实施方式中,应为每天约25mg至约100mg。对于本领域普通技术人员显而易见的是,在某些情况下,可能有必要使用活性成分的剂量超出本文公开的范围。此外,应注意的是,临床医生或主治医师根据受试者的反应将知道如何以及何时中断、调整或终止治疗。

[0283] 如本领域普通技术人员将容易知道的,不同的治疗有效量可以适用于不同的疾病和病况。类似地,本文所述的剂量和剂量频率方案也包括足以预防、控制、治疗或改善此类疾病但不足以引起或足以减轻与本文提供的组合物相关的不良影响的量。此外,当给受试者施用多种剂量的本文提供的组合物时,并非所有剂量都需要相同。在某些实施方式中,可以增加给予受试者的剂量以改善组合物的预防或治疗效果,或者可以降低剂量以减少特定受试者正在经历的一种或多种副作用。

[0284] 在某些实施方式中,基于活性化合物的重量,本文提供的组合物在受试者中预防、治疗、控制或改善病症或其一种或多种症状的给药剂量为0.1mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、10mg/kg或15mg/kg受试者体重或更多。在另一个实施方式中,在受试者中施用以预防、治疗、控制或改善病症或其一种或多种症状的组合物或本文提供的组合物的剂量为0.1mg至200mg、0.1mg至100mg、0.1mg至50mg、0.1mg至25mg、0.1mg至20mg、0.1mg至15mg、0.1mg至10mg、0.1mg至7.5mg、0.1mg至5mg、0.1至2.5mg、0.25mg至20mg、0.25至15mg、0.25至12mg、0.25至10mg、0.25mg至7.5mg、0.25mg至5mg、0.5mg至2.5mg、1mg至

20mg、1mg至15mg、1mg至12mg、1mg至10mg、1mg至7.5mg、1mg至5mg或1mg至2.5mg的单位剂量。

[0285] 在某些实施方式中,治疗或预防可以用一个或多个负载剂量的本文提供的化合物或组合物开始,随后是一个或多个维持剂量。在这样的实施方式中,负载剂量可以是例如每天约60至约400mg,或每天约100至约200mg,持续一天至五周。负载剂量之后可以是一个或多个维持剂量。在某些实施方式中,每个维持剂量独立地为每天约10mg至约200mg、每天约25mg至约150mg、或每天约25mg至约80mg。维持剂量可以每天给药,并且可以单剂量或分剂量给药。

[0286] 在某些实施方式中,可以给予本文提供的剂量的化合物或组合物以达到受试者血液或血清中活性成分的稳态浓度。稳态浓度可以根据技术人员可用的技术通过测量来确定,或者可以基于受试者的身体特征,例如身高、体重和年龄来确定。在某些实施方式中,给予足够量的本文提供的化合物或组合物以实现受试者的血液或血清中的稳态浓度为约300至约4000ng/mL、约400至约1600ng/mL、或约600至约1200ng/mL。在一些实施方式中,可以施用负载剂量以达到稳态血液或血清浓度约1200至约8000ng/mL,或约2000至约4000ng/mL,持续1-5天。在某些实施方式中,可以给予维持剂量以使受试者的血液或血清中的稳态浓度为约300至约4000ng/mL、约400至约1600ng/mL或约600至约1200ng/mL。

[0287] 在某些实施方式中,可以重复施用相同的组合物,并且给药间隔可以是至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或6个月。在其他实施方式中,可以重复施用相同的预防剂或治疗剂,并且给药间隔可以是至少至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或6个月。

[0288] 在某些方面,本文提供了适合于给药形式的包含化合物或其药学上可接受的盐的单位剂量。这样的形式在本文中详细描述。在某些实施方式中,单位剂量包含1至1000mg、5至250mg或10至50mg的活性成分。在特定的实施方式中,单位剂量包含约1、5、10、25、50、100、125、250、500或1000mg活性成分。可以根据本领域技术人员熟悉的技术制备此类单位剂量。

[0289] 剂量可以在一定范围内变化,这取决于所采用的剂型和所采用的给药途径。对于任何化合物,最初可从细胞培养测定中估计治疗有效剂量。可以在动物模型中制定剂量,以在皮肤和病变中(例如,真皮神经纤维瘤、皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤或浅表丛状神经纤维瘤)达到包含在细胞培养中所确定的 IC_{50} 的水平(即达到症状的最大抑制一半的试验化合物的浓度)。此类信息可用于更准确地确定对人体有用的剂量。另外,为了确定全身暴露,可以例如通过高效液相色谱法测量血浆中的水平。

[0290] 还应理解,针对任何特定患者的特定剂量和治疗方案将取决于多种因素,包括所用特定化合物的活性、年龄、病变大小、病变数目、总体健康状况、性别、饮食、给药时间、药物组合以及治疗医师的判断以及所治疗的特定疾病的严重性。组合物中软MEK抑制剂,例如本文所述的软MEK抑制剂的量也将取决于组合物中特定的软MEK抑制剂。

[0291] 在一些实施方式中,局部、皮下、透皮、皮内或病变内剂量为约0.01 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.05 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.15 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.8 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 或约0.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$;或在约0.01-0.03 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.03-0.05 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.05-0.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.1-0.3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.3-0.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.5-0.8 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约0.8-1.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约1-10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约10-20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约20-30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约30-40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约

40-50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约50-60 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约60-70 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约70-80 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约80-90 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约90-100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约100-125 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约125-150 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约150-175 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约175-200 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约200-250 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约250-300 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约300-350 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约350-400 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约400-450 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约450-500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约500-550 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约550-600 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约600-650 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约650-700 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约700-750 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约750-800 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约800-850 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约850-900 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、约900-950 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 或约950-1000 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 内。

[0292] 在一些实施方式中、局部、皮下、透皮、皮内或病变内剂量在约0.5-1.0 mg/cm^2 、1.0-1.5 mg/cm^2 、1.5-2.0 mg/cm^2 、2.5-2.5 mg/cm^2 、3.0-3.5 mg/cm^2 、3.5-5.0 mg/cm^2 、5.0-7.5 mg/cm^2 、7.5-10 mg/cm^2 、1-10 mg/cm^2 、约10-20 mg/cm^2 、约20-30 mg/cm^2 、约30-40 mg/cm^2 、约40-50 mg/cm^2 、约50-60 mg/cm^2 、约60-70 mg/cm^2 、约70-80 mg/cm^2 、约80-90 mg/cm^2 、约90-100 mg/cm^2 、约100-125 mg/cm^2 、约125-150 mg/cm^2 、约150-175 mg/cm^2 、约175-200 mg/cm^2 、约200-250 mg/cm^2 、约250-300 mg/cm^2 、约300-350 mg/cm^2 、约350-400 mg/cm^2 、约400-450 mg/cm^2 、约450-500 mg/cm^2 、约500-550 mg/cm^2 、约550-600 mg/cm^2 、约600-650 mg/cm^2 、约650-700 mg/cm^2 、约700-750 mg/cm^2 、约750-800 mg/cm^2 、约800-850 mg/cm^2 、约850-900 mg/cm^2 、约900-950 mg/cm^2 或约950-1000 mg/cm^2 内。

[0293] 在某些实施方式中，本文提供了在联合疗法中使用的第二药剂的剂量。在某些实施方式中，低于过去或目前用于治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病，或MEK介导的皮肤病症或疾病的剂量用于本文提供的联合疗法中。第二药剂的推荐剂量可以从本领域技术人员的知识中获得。对于那些被批准用于临床使用的第二种药剂，推荐的剂量在以下中进行了描述：例如Hardman等人编辑，1996年，药物治疗的药理学基础 (Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics) 第9版，McGraw-Hill，纽约；医生桌上参考手册 (Physicians Desk Reference) (PDR)，第57版，2003年，医疗经济有限公司 (Medical Economics Co., Inc.)，新泽西州蒙特维尔市，它们通过引用整体并入本文。

[0294] 本公开提供了通过施用MEK抑制剂，例如在本文中描述的软MEK抑制剂，与一种或多种另外的药剂的联合治疗。在一个实施方式中，一种或多种另外的药剂选自：

[0295] 治疗痤疮的药剂（例如，维甲酸、壬二酸、过氧化苯甲酰、水杨酸）；

[0296] 镇痛药（例如，对乙酰氨基酚、辣椒素），例如，Cox2抑制剂，例如塞来昔布）；

[0297] 麻醉剂（例如，苯佐卡因、苯佐卡因/薄荷醇、地布卡因、敌百龙、利多卡因、利多卡因/普罗卡因、普莫卡因）；

[0298] 抗感染剂（例如克罗米通）；

[0299] 抗瘙痒剂 (anti-pruritus)（例如，乳酸铵、苯佐卡因、咪唑斯汀大环内酰胺，例如，吡美莫司）；

[0300] 抗瘙痒剂/5HT3受体拮抗剂（例如，恩丹西酮 (Ondansetron)）；

[0301] 抗生素（例如，克林霉素、强力霉素、红霉素、四环素）；

[0302] 抗胆碱能止吐药（例如，苯海拉明）；

[0303] 抗纤维素（例如，胶原酶、吡非尼酮）；

[0304] 抗组胺药（例如，曲普利定 (Actifed®)、非索非那定 (Allegra®, Allegra®D-12、Allegra®-24)、阿斯特罗/阿斯特林 (Astepro/Astelina) 鼻喷雾剂 (氮卓斯汀) (Dymista®)、盐

酸羟嗪(Atarax®)、苯海拉明盐酸盐(Benadryl®)、溴苯那敏(Dimetapp®感冒和过敏药)、Zyrtec®(西替利嗪)、Chlor-Trimeton®(氯苯那敏)、地索拉定(Clarinex®、Clarinex®D-12和Clarinex®D-24)、氯雷他定(Claritin®、Claritin®D-12、Claritin®D-24和Alavert®)、茶苯海明(Dramamine®)、苯海拉明(Benadryl®过敏、Nytol®、Sominex®)、多西拉敏(Vicks®NyQuil®、Alka-Seltzer®加上夜间感冒药)、赛庚啉(Periactin®)、异丙嗪(Phenergan®)、阿伐斯汀(Semprex®、Semprex®-D)、氯马斯汀(Tavist®)、多西拉敏(Unisom®)、左西替利嗪(Xyzal®);

[0305] 肥大细胞稳定剂(例如,β2-肾上腺素能激动剂、色甘酸、色甘酸钠、Gastrocrom®、酮替芬、甲基黄嘌呤、奥马珠单抗、吡嘧司特、槲黄素、酮替芬(Zaditen®));

[0306] 抗炎药(例如,NSAID(例如阿司匹林、胆碱和水杨酸镁、双氯芬酸钾(Cataflam®)、双氯芬酸钠(Voltaren®、Voltaren®XR)、双氯芬酸钠与米索前列醇(Arthrotec®)、二氟尼柳(Dolobid®)、依托度酸(Lodine®、Lodine®XL)、非诺洛芬钙(Nalfon®)、氟比洛芬(Ansaid®)、布洛芬(Advil®、Motrin®、Motrin®IB、Nuprin®)、吲哚美辛(Indocin®、Indocin®SR)、酮洛芬(Actron®、Orudis®、Orudis®KT、Oruvail®)、水杨酸镁(Arthritab、Bayer®Select、Doans丸、美根(Magan)、莫必叮(Mobidin)、莫博格思(Mobogesic))、甲氯芬那酸钠(Meclomen®)、甲芬那酸(Ponstel®)、美洛昔康(Mobic®)、萘丁美酮(Relafen®)、萘普生(Naprosyn®、Naprelan®)、萘普生钠(Aleve®、Anaprox®)、奥沙普嗪(Daypro®)、吡罗昔康(Feldene®)、罗非考昔(Vioxx®)、水杨酰水杨酸(阿米格斯(Amigesic)、Anaflex 750、Disalcid、Marthritic、单-格斯(Mono-Gesic)、Salflex、Salsitab)、水杨酸钠、舒林酸(Clinoril®)、托美汀钠(Tolectin®)、伐地考昔(Bextra®));

[0307] 受体酪氨酸激酶抑制剂(例如舒尼替尼);

[0308] 烷基化剂(例如,达卡巴嗪、卡铂);

[0309] CDK 4/6抑制剂(例如,LEE011);

[0310] PKC抑制剂(例如,AEB071);

[0311] MAPK抑制剂(例如,RAS抑制剂/法尼基转移酶抑制剂(例如替吡法尼)、Raf激酶抑制剂(例如,索拉非尼(BAY 43-9006,Nexavar)、维莫非尼、达拉菲尼、LGX818、TAK-632、MLN2480、PLX-4720)、ERK抑制剂(例如,SCH772984、VTX11e);

[0312] PI3K抑制剂(例如,LY294002);

[0313] AKT抑制剂(例如,MK 2206);

[0314] PI3K/AKT抑制剂(例如,布帕利布(buparlisib)、西妥单抗);

[0315] mTOR抑制剂(例如,局部用雷帕霉素、RAD001(依维莫司/雷帕霉素)、替莫罗莫司、西罗莫司);

[0316] 酪氨酸激酶抑制剂(例如,伊马替尼(Gleevec®))、卡波替尼(Cabozantinib)(酪氨酸激酶c-Met和VEGFR2抑制剂)、尼洛替尼(Tasigna®);

[0317] VEGF抑制剂(例如,雷珠单抗(Lucentis®)、西地尼布);

- [0318] 免疫应答调节剂(例如,局部用咪喹莫特、干扰素、PEG干扰素);
- [0319] 钙通道阻滞剂(例如,Avocil(美德玛)/15%维拉帕米、单独使用维生素D、强力霉素注射液);
- [0320] 他汀类药物(例如,洛伐他汀、甲氨蝶呤、长春碱、普瑞巴林、替莫唑胺、PLX3397);
- [0321] HDAC抑制剂(例如AR-42);
- [0322] HSP-90抑制剂(例如Ganetespib);
- [0323] 类维生素A(例如阿达帕林、异维甲酸、他扎罗汀、维甲酸);
- [0324] 类固醇(例如,阿氯米松、安西奈德、倍他米松、倍他米松二丙酸酯、倍他米松二丙酸酯、增广的(augmented)、布地奈德、氯倍他索丙酸酯、可的松、地塞尼德、地塞米松、双氟拉松二醋酸酯、氟氢松醋酸酯、氟西奈德、氟氢缩松、氟替卡松丙酸酯、卤倍他索丙酸酯、哈西奈德、氢化可的松、丁酸氢化可的松、戊酸氢化可的松、甲基强的松龙、莫米松、糠酸莫米松、泼尼卡酯、泼尼松龙、泼尼松、曲安西龙、曲安奈德);
- [0325] 局部钙调神经磷酸酶抑制剂(例如,吡美莫司(Elidel®霜1%、诺华,他克莫司(Protopic®软膏、安斯泰来));和
- [0326] 非药物干预(例如光动力疗法(Levulan Kerastick局部用+光)、电除湿(ED)、YAG激光)。
- [0327] 在各种实施方式中,施用疗法(例如,本文提供的化合物和第二药剂)间隔少于5分钟、间隔少于30分钟、间隔1小时、间隔约1小时、间隔约1至约2小时、间隔约2小时至约3小时、间隔约3小时至约4小时、间隔约4小时至约5小时、间隔约5小时至约6小时、间隔约6小时至约7小时、间隔约7小时至约8小时、间隔约8小时至约9小时、间隔约9小时至约10小时、间隔约10小时至约11小时、间隔约11小时至约12小时、间隔约12小时至18小时、间隔约18小时至24小时、间隔24小时至36小时、间隔36小时至48小时、间隔48小时至52小时、间隔52小时至60小时、间隔60小时至相隔72小时、相隔72小时至84小时、相隔84小时至96小时或相隔96小时至120小时。在各种实施方式中,间隔不超过24小时或间隔不超过48小时施用所述疗法。在某些实施方式中,在相同的患者就诊期间施用两种或更多种疗法。在其他实施方式中,本文提供的化合物和第二药剂同时施用。
- [0328] 在其他实施方式中,本文提供的化合物和第二药剂以约2至4天、约4至6天、约1周、约1至2周或超过2周的间隔施用。
- [0329] 在某些实施方式中,可以重复施用相同的药剂,并且给药间隔可以是至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或6个月。在其他实施方式中,可以重复施用相同的药剂,并且给药间隔可以是至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或6个月。
- [0330] 在某些实施方式中,将本文提供的化合物和第二药剂按顺序和在时间间隔内施用于患者,在某些实施方式中,为哺乳动物,例如人,使得本文提供的化合物可以与另一种药剂一起起作用以提供比其他施用方式更多的益处。在某些实施方式中,第二活性剂可以在不同时间点同时或以任何顺序及时给药;但是,如果不能同时给药,则应在足够近的时间内及时给药,以提供所需的治疗或预防效果。在某些实施方式中,本文提供的化合物和第二活性剂在重叠的时间发挥作用。每种第二活性剂可以以任何合适的形式和通过任何合适的途径分别给药。在其他实施方式中,本文提供的化合物在第二活性剂施用之前、同时或之后施

用。

[0331] 在某些实施方式中,将本文提供的化合物和第二药剂循环施用给患者。循环疗法涉及一段时间内施用第一试剂(例如,第一预防或治疗剂),随后一段时间内施用第二药剂和/或第三药剂(例如,第二和/或第三预防或治疗剂)并重复此顺序给药。循环疗法可以减少对一种或多种疗法的抗药性的发展,避免或减少其中一种疗法的一种或多种副作用,和/或提高治疗的功效。

[0332] 在某些实施方式中,本文提供的化合物和第二活性剂以小于约3周、约每两周一次、约每10天一次或约每周一次的周期施用。一个周期可以包括通过经每个周期约90分钟、每个周期约1小时、每个周期约45分钟通过输注来施用本文提供的化合物和第二药剂。每个周期可包括至少1周的休息、至少2周的休息、至少3周的休息。施用的周期数为约1至约12个周期,更通常为约2至约10个周期、并且更通常为约2至约8个周期。

[0333] 在其他实施方式中,疗程是同时给予患者的,即,在一定时间间隔内分开给予单独剂量的第二药剂,以使本文提供的化合物可与第二活性剂一起起作用。在某些实施方式中,一种组分可以每周施用一次,与其他组分组合使用,其他组分可以每两周施用一次或每三周施用一次。换句话说,即使疗法不同时或在同一天施用,剂量方案也可以同时进行。

[0334] 第二药剂可与本文提供的化合物叠加性地或协同地作用。在某些实施方式中,本文提供的化合物与一种或多种第二药剂在同一药物组合物中同时施用。在另一个实施方式中,本文提供的化合物与一种或多种第二药剂在分开的药物组合物中同时施用。在又一个实施方式中,本文提供的化合物在第二药剂的施用之前或之后施用。还考虑了将本文提供的化合物和第二药剂通过相同或不同的途径施用,例如口服和肠胃外。在某些实施方式中,当本文提供的化合物与可能产生不良副作用,包括但不限于,毒性的第二药剂同时给药时,第二活性剂可以有利地以低于引起不良副作用的阈值的剂量施用。

[0335] 药盒

[0336] 还提供了用于治疗在有需要的受试者中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法或MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的药盒。药盒可包括本文提供的化合物或组合物、第二药剂或组合物以及说明书,说明书向医疗保健提供者提供信息,有关用于治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的用法。可以以印刷形式或以电子介质(例如软盘、CD或DVD)形式或以可获取此类指令的网站地址形式提供说明书。本文提供的化合物或组合物,或第二药剂或组合物的单位剂量可以包括这样的剂量,使得当施用于受试者时,可以在受试者中维持该化合物或组合物的治疗或预防有效血浆水平至少1天。在一些实施方式中,化合物或组合物可以作为无菌水性药物组合物或干粉(例如,冻干的)组合物包括在内。

[0337] 在一些实施方式中,提供合适的包装。如本文所用,“包装”包括通常在系统中使用并且能够将本文提供的化合物和/或适于施用于受试者的第二药剂保持在固定限度内的固体基质或材料。这样的材料包括玻璃和塑料(例如聚乙烯、聚丙烯和聚碳酸酯)瓶、小瓶、纸、塑料和塑料箔层压的信封等。如果采用电子束灭菌技术,则包装应具有足够低的密度以允许对内含物进行灭菌。

[0338] 使用方法

[0339] 本文提供了用于治疗需要其的受试者的疾病或病症和/或受试者中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法,其包括使受试者与治疗或预防有效量的本文所公开的化合物接触,例如,式(I)和权利要求中任一的化合物以及实施方式A中的化合物,包括单个对映异构体、对映异构体对的混合物、单个非对映异构体、非对映异构体的混合物、单个立体异构体、立体异构体的混合物或其互变异构形式;或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药、磷酸盐或活性代谢物。

[0340] 在某些实施方式中,本文提供了在有需要的受试者中治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的方法。在某些实施方式中,所述方法包括以下步骤:向有需要的受试者组合施用,有效治疗有需要的受试者中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的化合物量,与有效治疗或预防有需要的受试者中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的第二药剂。该化合物可以是本文所述的任何化合物,并且第二药剂可以是本领域或本文所述的任何第二药剂。在某些实施方式中,该化合物为药物组合物或剂型的形式,如本文其他地方所述。

[0341] 在某些实施方式中,本文提供了用于治疗有需要的患者中的疾病或病症的方法。在某些实施方式中,所述方法包括以下步骤:向有需要的受试者组合施用,有效治疗有需要的受试者中的疾病或病症的治疗或预防有效量的化合物,以及有效治疗有需要的受试者中的疾病或病症的第二药剂。该化合物可以是本文所述的任何化合物,并且第二药剂可以是本领域或本文所述的任何第二药剂。在某些实施方式中,该化合物为药物组合物或剂型的形式,如本文其他地方所述。

[0342] 1型神经纤维瘤病(NF1):在一实施方式中,皮肤病症与NF1有关。NF1,也称为雷克林豪森上神经纤维瘤或周围神经纤维瘤病,发生于大约1:3,000出生人数,是最普遍的遗传疾病和最常见的神经皮肤病症之一。NF1是由于神经纤维蛋白缺乏引起的,导致多种细胞信号通路的过度激活,例如Ras和Rho,与几种皮肤疾病有关,包括真皮神经纤维瘤(DFs);皮肤神经纤维瘤;皮下神经纤维瘤;浅表丛状神经纤维瘤(PFs);皮肤神经纤维瘤(CFs);咖啡牛乳色斑;以及腋窝和腹股沟雀斑。DFs发生在95%以上的NF1患者中。DFs可以出现在身体的任何位置,其中88%的40岁以上NF1患者拥有100多个DFs。DFs可能导致严重的身体疼痛、毁容以及社交焦虑。面部DFs会在受影响的个人中引起严重的社交焦虑问题和痛苦。DFs(也称为皮肤神经纤维瘤或离散性神经纤维瘤)从皮肤或皮肤下面的小神经生长而来,通常在青春期左右开始出现小肿块。当前用于DFs的治疗选择仅限于手术切除和CO₂激光去除,两者均会引起瘢痕形成,并且均不能预防。

[0343] 其他皮肤病:在一实施方式中,皮肤疾病与Ras的活化增强有关。在一个实施方式中,皮肤病症选自:牛皮癣、角化棘皮瘤(KA)、角化过度、乳头状瘤、努南综合征(NS)、心脏面部皮肤综合征(CFC)、科斯特洛(Costello)综合症(面皮骨骼综合征或FCS综合征)、眼皮表皮综合征、咖啡牛乳色斑和多发性雀斑综合征(以前称为豹皮综合征)。

[0344] 在一些或任何实施方式中,要减轻、改善、治疗或预防的疾病不是癌症(例如黑素

瘤)。在一些或任何实施方式中,要减轻、改善、治疗或预防的疾病是癌症(例如黑素瘤)。

[0345] 在某些实施方式中,要减轻、改善、治疗或预防的疾病是癌症、皮肤RAS病、与1型神经纤维瘤病相关的皮肤疾病、真皮神经纤维瘤、皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤、浅表丛状神经纤维瘤、牛皮癣、角化棘皮瘤(KA)、角化过度、乳头状瘤、努南综合征(NS)、心脏面部皮肤综合征(CFC)、科斯特洛综合征(面皮骨骼综合征或FCS综合征)、眼皮表皮综合征、咖啡牛乳色斑和多发性雀斑综合征(以前称为豹皮综合征)。

[0346] 在某些实施方式中,要减轻、改善、治疗或预防的疾病是癌症。在某些实施方式中,要减轻、改善、治疗或预防的疾病选自下组:基底细胞癌、鳞状细胞癌、光化性角化病、卡波西氏肉瘤、皮肤淋巴瘤、宫颈癌、HPV相关鳞状细胞癌、和黑色素瘤。

[0347] 在某些实施方式中,要减轻、改善、治疗或预防的疾病是皮肤RAS病、与1型神经纤维瘤病相关的皮肤疾病、真皮神经纤维瘤、皮肤神经纤维瘤、皮下神经纤维瘤、或浅表丛状神经纤维瘤、牛皮癣、角化棘皮瘤(KA)、角化过度、乳头状瘤、努南综合征(NS)、心脏面部皮肤综合征(CFC)、科斯特洛综合征(面皮骨骼综合征或FCS综合征)、眼皮表皮综合征、咖啡牛乳色斑和多发性雀斑综合征(以前称为豹皮综合征)。

[0348] 在一些实施方式中,本文所述的化合物用于减轻MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病或有需要的受试者中的所述疾病或病症。

[0349] 在一些实施方式中,本文所述的化合物用于改善MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病或有需要的受试者中的所述疾病或病症。

[0350] 在一些实施方式中,本文所述的化合物用于预防MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病或有需要的受试者中的所述疾病或病症。

[0351] 在一些实施方式中,本文所述的化合物用于治疗MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病或有需要的受试者中的所述疾病或病症。

[0352] 测定方法

[0353] 可以以本领域技术人员已知的任何测试试验测定化合物在治疗有需要的受试者中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的功效。示例性测定方法在本文其他地方提供。

[0354] 第二治疗剂

[0355] 在某些实施方式中,本文提供的化合物和组合物可用于治疗有需要的受试者中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病,其包括进一步施用对治疗皮肤病症或疾病有效的第二药剂。第二药剂可以是本领域技术人员已知对治疗皮肤病症或疾病有效的任何药物,包括目前由美国食品和药物管理局或美国以外国家的其他类似机构批准的药物。

[0356] 在某些实施方式中,本文提供的化合物与一种第二药剂组合施用。在进一步的实施方式中,本文提供的化合物与两种第二药剂组合施用。在另外的实施方式中,本文提供的化合物与两种或更多种第二药剂组合施用。

[0357] 如本文所用,术语“组合”包括使用不止一种疗法(例如,一种或多种预防和/或治疗剂)。术语“组合”的使用不限制向患有疾病的受试者施用疗法(例如,预防和/或治疗剂)的顺序。可以对患有病症的受试者施用第二疗法(例如,预防剂或治疗剂)之前(例如,5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之前)、与此同时、或后续(例如,5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之后)施用第一治疗剂(例如,预防剂或治疗剂,例如本文提供的化合物)。

[0358] 如本文所用,术语“协同的”包括本文所提供的化合物与过去或目前用于预防、控制或治疗疾病的另一种疗法(例如,预防剂或治疗剂)的组合,其比各疗法的叠加效果更有效。疗法组合(例如,预防剂或治疗剂的组合)的协同作用允许向患有疾病的受试者使用较低剂量的一种或多种疗法和/或以较少频率施用所述疗法。利用较低剂量的疗法(例如,预防剂或治疗剂)和/或较低频繁地使用所述疗法的能力降低了与向受试者给予所述疗法相关的毒性,而没有降低所述疗法预防或治疗病症的功效。另外,协同作用可以导致药剂在预防或治疗疾病中的功效提高。最后,疗法组合(例如,预防剂或治疗剂的组合)的协同作用可以避免或减少与单独使用任一种疗法相关的一种或多种不良或不希望的副作用。

[0359] 本文提供的活性化合物可以与另一种治疗剂组合或交替施用,尤其是有效治疗有需要的受试者中的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的药剂。在组合疗法中,有效剂量的两种或多种药物一起给药,而在交替疗法或顺序步骤疗法中,有效剂量的每种药物依次或顺序给药。给定的剂量将取决于药物的吸收、失活和排泄速率以及本领域技术人员已知的其他因素。应当注意,剂量值也将随需要减轻的MEK抑制剂响应性病症或疾病、MEK抑制剂响应性皮肤病症或疾病、MEK介导的病症或疾病,或MEK介导的皮肤病症或疾病的严重性而变化。还应理解,对于任何特定的受试者,应根据个体需要和施用或监督施用组合物的人的专业判断,随时间调整特定的剂量方案和时间表。

[0360] 实施例

[0361] 本文提供的化合物可以通过本领域技术人员显而易见的任何方法制备、分离或获得。本文提供的化合物可以根据以下提供的示例性制备方案制备。示例性制备方案中未提供的反应条件、步骤和反应物对于本领域技术人员而言是显而易见的,并且是本领域技术人员已知的。如本文所用,无论是否明确定义了特定的缩写,这些过程、方案和实施例中使用的符号和约定均与当代科学文献(例如,美国化学学会杂志或生物化学杂志)中使用的那些一致。具体地但不限于,在实施例和整个说明书中可以使用以下缩写:h(小时);g(克);mg(毫克);mL(毫升); μ L(微升);mM(毫摩尔); μ M(微摩尔);Hz(赫兹);MHz(兆赫);mmol(毫摩尔);hr或hrs(小时);min(分钟);MS(质谱);ESI(电喷雾电离);TLC(薄层色谱);HPLC(高压液相色谱);THF(四氢呋喃); CDCl_3 (氘代氯仿);AcOH(乙酸);DCM(二氯甲烷);DIPEA(二异丙基乙胺);DMF(二甲基甲酰胺);DMSO(二甲基亚砜);DMSO- d_6 (氘代二甲基亚砜);EtOAc(乙酸乙酯);MeOH(甲醇);TFAA(三氟乙酸酐);UPLC-MS(超高效液相色谱-质谱)。

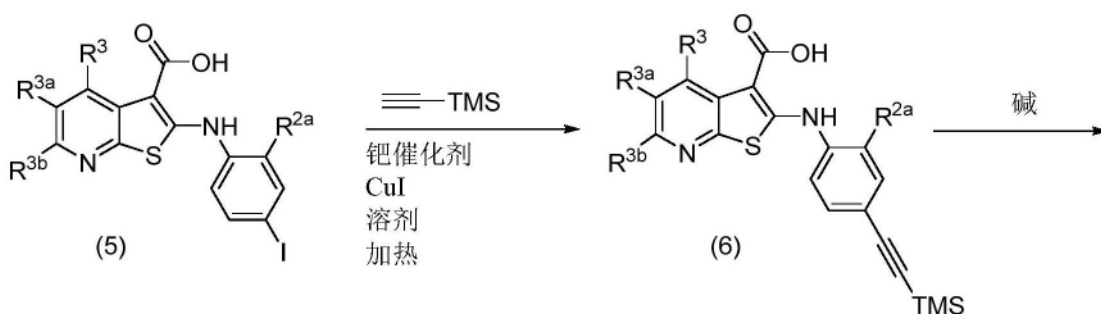
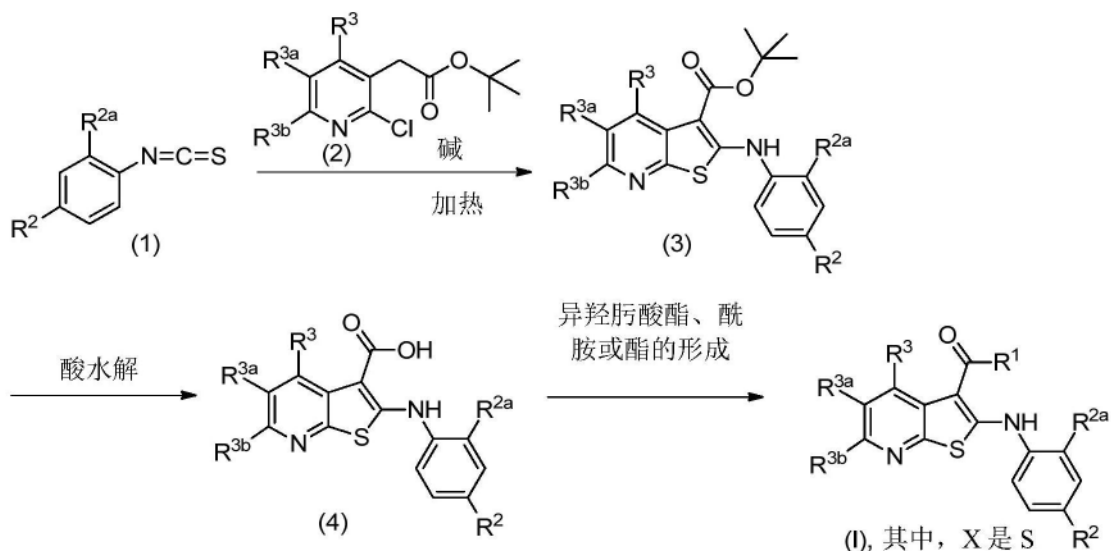
[0362] 对于以下所有实施例,可以使用本领域技术人员已知的标准后处理和纯化方法。除非另有说明,否则所有温度均以 $^{\circ}\text{C}$ (摄氏度)表示。除非另有说明,所有反应均在室温下进

行。本文所示的合成方法旨在通过使用具体实例来举例说明可应用的化学反应,并且不指示本公开的范围。

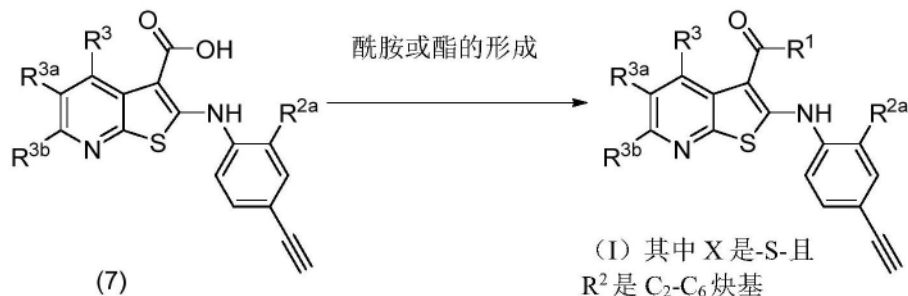
[0363] 通用方案

[0364] 化合物的制备

[0365] 方案1



[0369]

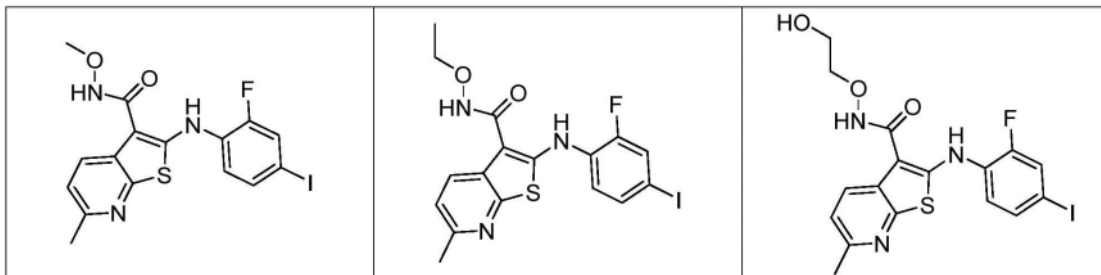


[0370] 或者,可以根据方案2制备其中X是-S-并且R²是C₂-C₆炔基的化合物,其中R²最初是碘。可以采用与药物化学杂志 (Journal of Medicinal Chemistry) 2007, 50, 5090-5102中公开的相似的反应条件,以实现从芳族碘基到炔烃的转化。可以使用本文和以上方案1所述的程序将中间体 (7) 转化为式 (I) 化合物。

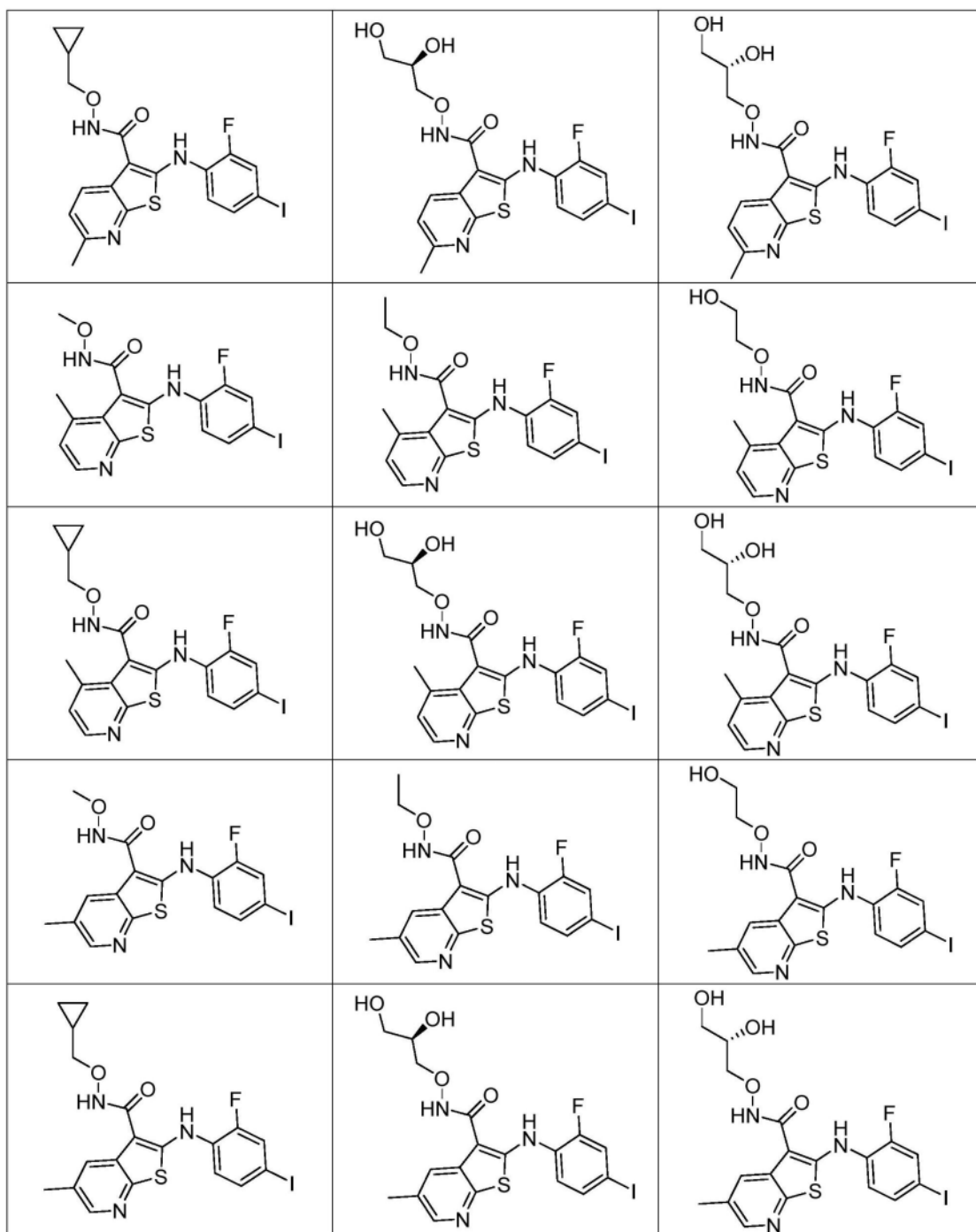
[0371] 利用以上提供的示例性制备方案和本领域普通技术人员已知的程序,可以制备实施方式A中的以下化合物。

[0372] 实施例A

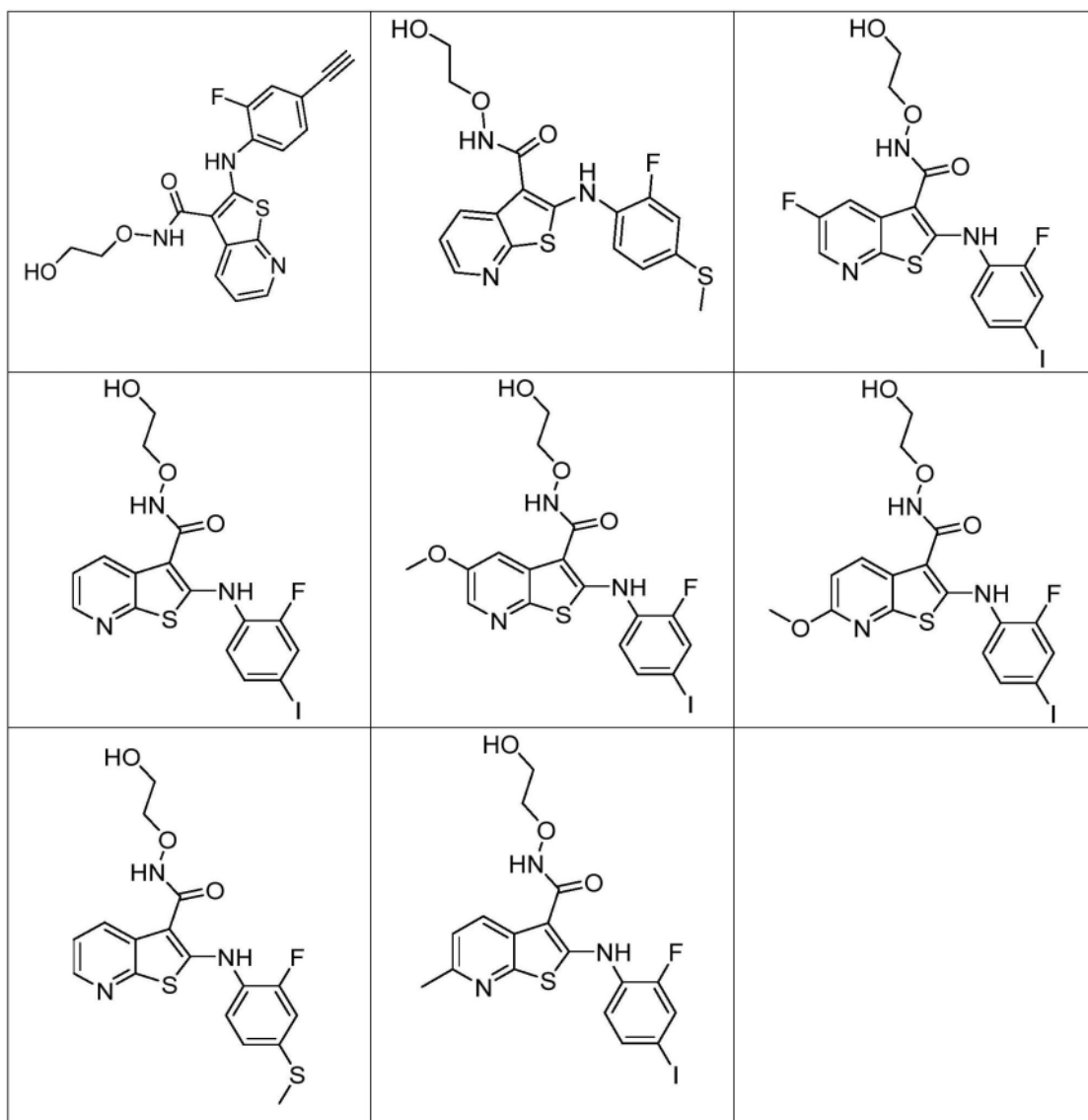
[0373]



[0374]



[0375]



[0376] 合成实施例

[0377] 通用方法

[0378] 核磁共振光谱

[0379] 以下方法用于记录实施例3-8中的¹H NMR。¹H NMR谱由布鲁克Avance III NMR波谱仪于400MHz记录。在氘代氯仿 (CDCl₃) 或二甲基亚砜 (DMSO-d₆) 中制备样品, 并使用ACD NMR软件处理原始数据。

[0380] 对于实施例1和2,¹H NMR谱由瓦里安水星 (Varion Mercury) NMR于300MHz记录。

[0381] UPLC-MS分析

[0382] 以下方法用于记录实施例3-8中的LCMS。

[0383] 在由Acquity i-Class样品管理器-FL, Acquity i-Class二元溶剂管理器和Acquity i-Class UPLC色谱柱管理器组成的沃特斯Acquity UPLC系统上进行LCMS分析。使用Acquity i-Class UPLC PDA检测器 (从210-400nm扫描) 实现UV检测, 而使用Acquity QDa检测器 (从100-1250Da的质量扫描; 同时使用正和负模式) 实现质量检测。使用沃特斯Acquity UPLC BEH C18柱 (2.1×50mm, 1.7μm) 进行分析物的分离。

[0384] 通过在1毫升的1:1 (v/v) MeCN水混合物中溶解 (超声处理或无超声处理) 来制备样

品。通过0.2μm注射过滤器过滤所得溶液,然后提交进行分析。所用的所有溶剂(包括甲酸和36%的氨溶液)均为HPLC级。

[0385] 四种不同的分析方法用于这项工作,其详细信息在下面介绍。

[0386] 酸性运行(2分钟):0.1%v/v甲酸水溶液[洗脱液A];0.1%v/v甲酸MeCN溶液[洗脱液B];流速0.8mL/min;进样量为2μL,样品之间的平衡时间为1.5分钟。

时间(分钟)	洗脱液A(%)	洗脱液B(%)
0.00	95	5
0.25	95	5
1.25	5	95
1.55	5	95
1.65	95	5
2.00	95	5

[0388] 酸性运行(4分钟):0.1%v/v甲酸水溶液[洗脱液A];0.1%v/v甲酸MeCN溶液[洗脱液B];流速0.8mL/min;进样量为2μL,样品之间的平衡时间为1.5分钟。

时间(分钟)	洗脱液A(%)	洗脱液B(%)
0.00	95	5
0.25	95	5
2.75	5	95
3.25	5	95
3.35	95	5
4.00	95	5

[0390] 碱性运行(2分钟):0.1%氨水水溶液[洗脱液A];0.1%氨MeCN溶液[洗脱液B];流速0.8mL/min;进样量为2μL,样品之间的平衡时间为1.5分钟。

时间(分钟)	洗脱液A(%)	洗脱液B(%)
0.00	95	5
0.25	95	5

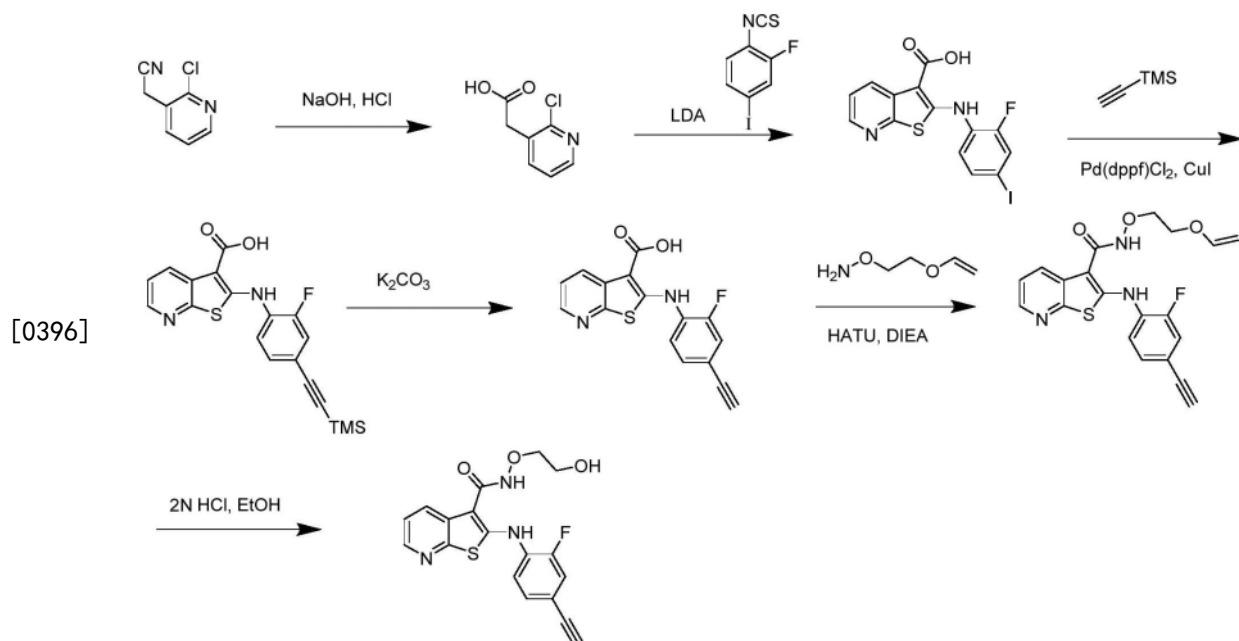
时间(分钟)	洗脱液A(%)	洗脱液B(%)
1.25	5	95
1.55	5	95
1.65	95	5
2.00	95	5

[0393] 碱性运行(4分钟):0.1%氨水水溶液[洗脱液A];0.1%氨MeCN溶液[洗脱液B];流速0.8mL/min;进样量为2μL,样品之间的平衡时间为1.5分钟。

时间(分钟)	洗脱液A(%)	洗脱液B(%)
0.00	95	5
0.25	95	5
2.75	5	95
3.25	5	95
3.35	95	5

4.00	95	5
------	----	---

[0395] 实施例1:2-((4-乙炔基-2-氟苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酰胺



[0397] 步骤1:2-氟-4-碘-1-异硫氰酸苯酯

[0398] 将硫光气(8.0g,69.6mmol)添加到快速搅拌的2-氟-4-碘苯胺(15.00g,63.3mmol)在二氯甲烷(200mL)和水(150mL)中的混合物中。将反应混合物在室温搅拌过夜。分离有机相,用饱和碳酸氢钠溶液洗涤,经硫酸钠干燥并过滤。真空除去溶剂,得到标题化合物,为米色固体(17.1g,96.8%)。¹HNMR(300MHz,DMSO-d₆): δ 7.87(dd,J=1.8Hz和1.8Hz,1H),7.60(d,J=8.1Hz,1H),7.24(t,J=8.3Hz,1H)。

[0399] 步骤2:2-(2-氯吡啶-3-基)乙酸

[0400] 将15%w/w的氢氧化钠溶液(150mL)添加至2-(2-氯吡啶-3-基)乙腈(10.0g,62.3mmol)。将混合物加热回流1小时,然后冷却至室温。将混合物进一步冷却至0~5℃,然后用浓HCl(~60mL)酸化至pH 1。将悬浮液在冰浴中静置1小时。通过过滤收集形成的沉淀物,并用冷水洗涤,然后用冷的2-丙醇(100mL×2)洗涤。真空干燥固体,得到标题化合物,为灰白色固体(10.6g,99%)。¹HNMR(300MHz,d⁶-DMSO): δ 12.63(s,1H),8.32(dd,J=4.8和1.9Hz,1H),7.86(dd,J=7.6和1.9Hz,1H),7.41(dd,J=7.5和4.5Hz,1H),3.75(s,2H)。

[0401] 步骤3:2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸

[0402] 向冷却至-15℃的搅拌的二异丙基胺(0.82mL,5.8mmol)的无水THF(5mL)溶液中缓慢加入正丁基锂(2.5M己烷中,2.3mL,5.8mmol),将烧瓶的温度保持在-10℃至0℃之间。将所得混合物在室温搅拌15分钟,然后冷却至0℃。将如此形成的LDA在0℃下添加至快速搅拌的2-(2-氯吡啶基-3-基)乙酸(500mg,2.9mmol)的无水THF(10mL)悬浮液中。将所得的亮黄色悬浮液在0℃下搅拌15分钟。然后将2-氟-4-碘-1-异硫氰酸苯酯(814mg,2.9mmol)的无水THF(10mL)溶液添加至反应混合物(棕色悬浮液)中,并加热至65℃持续18小时。冷却反应混合物,并真空除去挥发物。将得到的粗产物重新溶解在THF中,冷却至0℃,并缓慢加入10%乙酸水溶液(10mL)。缓慢加入乙腈(5mL)直至形成棕色固体,通过过滤分离固体,并用乙醚

和乙腈洗涤,得到标题化合物。LC/MS: $[M+1]^+ 415$; ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ 10.74 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.36-8.25 (m, 2H), 7.79 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.68-7.61 (m, 1H), 7.51 (t, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.42-7.31 (m, 1H)。

[0403] 步骤4: 2-((2-氟-4-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸

[0404] 氮气下,在圆底烧瓶中装入2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸(0.150g, 0.4mmol),碘化铜(3mg, 0.02mmol)双(三苯基)二氯化钼(II)(12mg, 0.02mmol)的干燥THF(10mL)溶液。将烧瓶脱气并用氮气冲洗3次。然后在10分钟的时间内非常缓慢地添加溶解在0.4mL三乙胺中的三甲基甲硅烷基乙炔(0.040g, 0.4mmol)。将悬浮液搅拌15小时。然后将反应混合物倒入乙酸乙酯(150mL)中,并用水(3×50 mL),盐水(50mL)洗涤,并经 Na_2SO_4 干燥。减压除去溶剂,残余物通过快速色谱法纯化(12g二氧化硅, 0-10%MeOH的DCM溶液),得到浅棕色油状产物(90mg, 65%)。LC/MS: $[M+1]$ 385.1。

[0405] 步骤5: 2-((4-乙炔基-2-氟苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸

[0406] 在圆底烧瓶中装入2-((2-氟-4-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸(0.090g, 0.2mmol)、甲醇(5mL)和THF(1mL),并将碳酸钾(0.065g, 0.5mmol)添加至所得悬浮液。将反应混合物在室温搅拌3小时,此时TLC和LC/MS均指示反应完成。将水加入反应混合物中,并用乙酸乙酯(3×25 mL)萃取,并将合并的有机物用盐水洗涤,并经 $MgSO_4$ 干燥。蒸发溶剂至干,得到化合物,为棕色固体(60mg, 82%)。无需进一步纯化即可用于下一步反应。LC/MS: 312.3 $[M+1]$ 。

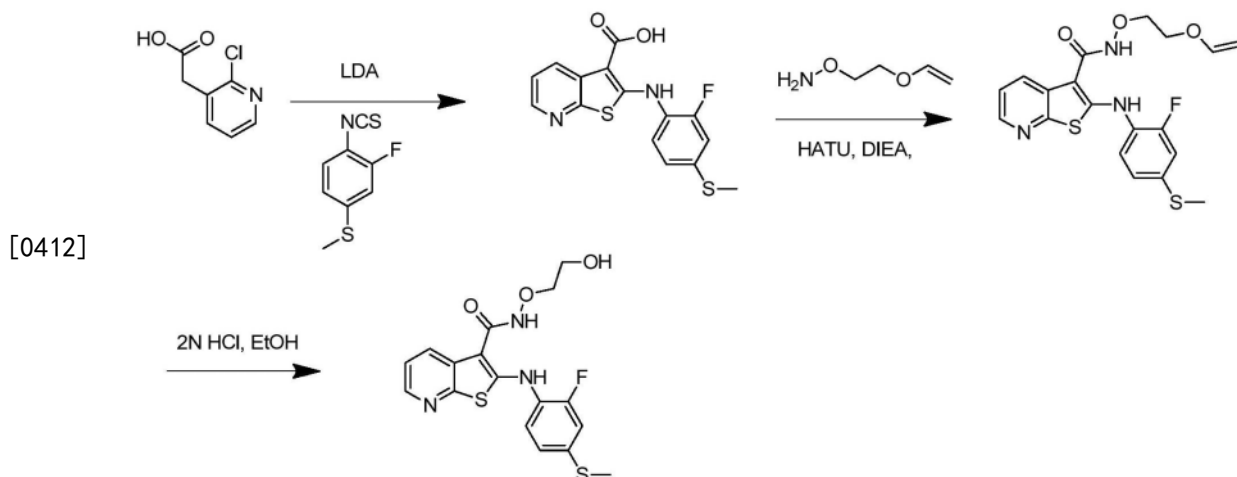
[0407] 步骤6: 2-((4-乙炔基-2-氟苯基)氨基)-N-(2-(乙烯基氧基)乙氧基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺。

[0408] 在微波小瓶中装入2-((4-乙炔基-2-氟苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸(0.060g, 0.2mmol)、O-(2-(乙烯基氧基)乙基)羟胺(0.03g, 0.3mmol)、HATU(0.11g, 0.3mmol)和二异丙基乙胺(66 μ L, 0.4mmol)的DMF(4mL)溶液。将反应混合物在室温搅拌2小时。用水(50mL)稀释反应,并用乙酸乙酯(3×25 mL)萃取。减压除去溶剂,残余物通过快速色谱法纯化(4g二氧化硅, 0-5%MeOH的DCM溶液),得到产物,为黄色固体(35mg, 46%)。LC/MS: 398.2 $[M+1]$ 。

[0409] 步骤7: 2-((4-乙炔基-2-氟苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酰胺

[0410] 在圆底烧瓶中装入2-((4-乙炔基-2-氟苯基)氨基)-N-(2-(乙烯基氧基)乙氧基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺(0.03g, 0.1mmol)、乙醇(3mL)和2N HCl(1mL),将反应混合物在室温搅拌1小时。除去溶剂,并将含水残余物用1N NaOH溶液中和至pH 7,并用乙酸乙酯(3×25 mL)萃取。用水、盐水洗涤合并的有机物,并用 $MgSO_4$ 干燥。减压除去溶剂,残余物通过快速色谱法纯化(4g, 0-10%甲醇的二氯甲烷溶液),得到产物,为浅黄色固体(13mg, 43%)。LC/MS: $[M+1]^+ 372.0$; ^1H NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ 8.47 (s, 1H), 8.36 (dd, $J=4.5$ 和1.2Hz, 1H), 7.90 (dd, $J=8.1$ 和1.2Hz, 1H), 7.1 (t, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.37-7.30 (m, 3H), 4.17-4.15 (m, 2H), 3.85 (t, $J=4.5$ Hz, 2H)。

[0411] 实施例2: 2-((2-氟-4-(甲硫基)苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺



[0413] 步骤1: (3-氟-4-异硫氰酸苯酯基) (甲基) 硫烷

[0414] 将硫光气 (5.48g, 47.7mmol) 添加至快速搅拌的 2-氟-4-(甲基磺酰基) 苯胺 (5.00g, 31.8mmol) 在 DCM (60mL) 和水 (40mL) 中的混合物中。将反应混合物在室温搅拌过夜。分离有机相, 用饱和碳酸氢钠溶液洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。真空除去溶剂, 得到标题化合物, 为黄色固体 (5g, 78.9%)。¹HNMR (300MHz, DMSO-d₆): δ7.41-7.31 (m, 2H), 7.09 (d, J=8.4Hz, 1H), 2.49 (s, 3H)。

[0415] 步骤2: 2-(2-氟-4-(甲硫基) 苯氨基) 噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸

[0416] 向冷却至 -15℃ 的二异丙基胺 (1.65mL, 11.7mmol) 的无水 THF (10mL) 搅拌溶液在 -10℃ 至 0℃ 之间缓慢加入正丁基锂 (己烷中 2.5M, 4.80mL, 12.0mmol)。将所得混合物在室温下搅拌 15 分钟, 然后冷却至 0℃。将如此形成的 LDA 溶液在 0℃ 下添加至快速搅拌的 2-(2-氯吡啶-3-基) 乙酸 (1.00g, 5.8mmol) 的无水 THF (20mL) 悬浮液中。完全加入 LDA 溶液后, 将得到的亮黄色悬浮液在 0℃ 下搅拌 15 分钟。然后将 (3-氟-4-异硫氰酸苯酯基) (甲基) 硫烷 (1.63g, 8.2mmol) 的无水 THF (10mL) 溶液添加至反应混合物, 并加热至 65℃ 持续 18 小时。将反应混合物冷却至室温, 并真空除去挥发物。将得到的棕色胶状物重新溶解在 THF 中, 冷却至 0℃, 并缓慢加入 10mL 10% 乙酸水溶液。缓慢加入乙腈 (5mL) 直至形成黄色固体, 通过过滤分离固体, 并用乙醚和乙腈洗涤, 得到标题化合物, 为黄色固体 (546mg, 20%)。LC/MS: [M+1] 335。¹HNMR (300MHz, DMSO-d₆): δ8.34 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.85-8.20 (m, 1H), 7.61 (t, J=8.6Hz, 1H), 7.39-7.30 (m, 2H), 7.21 (d, J=9.2Hz, 1H), 2.52 (s, 3H)。

[0417] 第3步: N-(2-(乙烯基氧基) 乙氧基)-2-(2-氟-4-(甲硫基) 苯氨基) 噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺

[0418] 在小瓶中装入 2-(2-氟-4-(甲硫基) 苯氨基) 噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸 (0.100g, 0.1mmol)、O-(2-(乙烯基氧基) 乙基) 羟胺 (25mg, 0.2mmol)、HATU (0.085g, 0.2mmol) 和二异丙基乙胺 (52μl, 0.3mmol) 和 DMF (4mL)。将反应混合物在室温搅拌过夜。用水淬灭反应, 并用乙酸乙酯萃取。用水, 盐水洗涤有机物, 并用硫酸钠干燥。蒸发溶剂, 得到浅黄色固体 (88mg), 其无需进一步纯化即可使用。LC/MS: [M+1] 420.0。

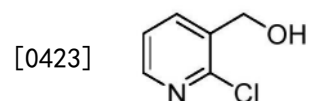
[0419] 第4步: 2-(2-氟-4-(甲硫基) 苯氨基) -N-(2-羟基乙氧基) 噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酰胺

[0420] 在微波反应瓶中装入 N-(2-(乙烯基氧基) 乙氧基)-2-(2-氟-4-(甲硫基) 苯氨基) 噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺 (0.088g)、乙醇 (2mL) 和 2N HCl (2mL)。将反应混合物在室温

搅拌1小时。用水淬灭反应,并将pH调节至8-10,然后用乙酸乙酯萃取。用水,盐水洗涤有机物,并用硫酸钠干燥。蒸发溶剂。残余物通过快速色谱法纯化(4g二氧化硅,0-5%MeOH/DCM)。收集产物组分,并真空除去溶剂。残余物通过制备型TLC(5%MeOH/DCM)再次纯化,干燥,得到浅黄色固体(12mg,24%)。LC/MS: $[M+1]: 394.19$ 。 ^1H NMR (300MHz, CDCl_3): δ 10.70 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.33-7.84 (m, 1H), 7.88-7.81 (m, 1H), 7.52 (t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.32-7.25 (m, 1H), 7.12-7.06 (m, 1H), 4.15 (t, $J=4.38\text{Hz}$, 2H), 3.85 (m, 2H), 2.46 (s, 3H)。

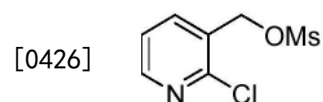
[0421] 实施例3: 2-((2-氟-4-碘代苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺的合成

[0422] 步骤1: (2-氯吡啶-3-基) 甲醇



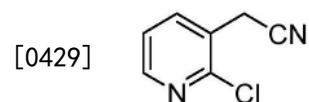
[0424] 在氮气气氛下,在0℃下,向2-氯烟酸甲酯(25g,145.71mmol)的无水THF(250mL)的搅拌溶液中,20分钟内分小批加入固体氢化铝锂(11.06g,291.41mmol)保持内部温度低于5℃。将所得的灰色悬浮液加热至50℃保持2h,然后在搅拌下冷却至室温超过16小时。然后将反应混合物冷却至0℃,并通过小心地加入饱和硫酸钠水溶液淬灭,从而形成悬浮液。使混合物通过硅藻土垫,然后用乙酸乙酯(2×50mL)洗涤垫。合并的滤液用乙酸乙酯(500mL)和洗涤水(250mL)稀释,然后用硫酸钠干燥,过滤并蒸发至干,得到粗产物,为棕色油。通过硅胶色谱法纯化,用乙酸乙酯(10至40%)的己烷溶液梯度洗脱,得到所需化合物,为浅棕色固体(7.13g,34.1%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟): $rt=0.60$ 分钟, m/z 144.0 $[M+H]^+$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm 8.28 (dd, $J=4.77\text{Hz}$, 1.76Hz, 1H), 7.93 (dt, $J=7.59\text{Hz}$, 0.97Hz, 0.97Hz, 1H), 7.29 (dd, $J=7.40\text{Hz}$, 5.14Hz, 1H), 4.79 (s, 2H), 3.23 (br, s, 1H)。

[0425] 第2步: (2-氯吡啶-3-基) 甲磺酸甲酯



[0427] 在0℃下,将甲磺酰氯(7.70mL,99.380mmol)滴加到搅拌的(2-氯吡啶-3-基)甲醇(7.134g,49.960mmol)和 Et_3N (13.85mL,99.380mmol)的二氯甲烷(50mL)溶液中,注意将内部温度保持在5℃以下。添加完成后,将反应混合物在搅拌下温热至环境温度持续2小时。用水(200mL)淬灭反应混合物,并用二氯甲烷(2×200mL)萃取。合并的有机物经 Na_2SO_4 干燥,过滤并蒸发至干,得到所需产物,为棕色油状物(12.02g,100%)。该物质无需进一步纯化即可用于下一步。UPLC-MS(酸性方法,2分钟): $rt=0.79$ 分钟, m/z 222.0 $[M+H]^+$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm 8.43-8.36 (m, 1H), 7.88-7.84 (m, 1H), 7.35-7.28 (m, 1H), 5.33 (s, 2H), 3.69 (s, 1H), 3.11 (s, 3H)

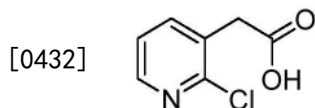
[0428] 第3步: 2-(2-氯吡啶-3-基) 乙腈



[0430] 在室温下,将氰化钠(7.98g,162.77mmol)一次性添加到(2-氯吡啶-3-基)甲磺酸甲酯(12.02g,54.24mmol)的DMF(50mL)溶液中,并将所得混合物在相同温度下搅拌2小时。

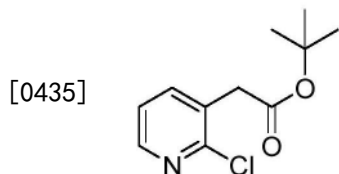
然后将反应物倒入水 (200mL) 中, 并将所得混合物用乙酸乙酯 (2×300mL) 萃取。合并的有机物经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并蒸发至干, 得到粗产物, 将其通过柱色谱法纯化, 用乙酸乙酯 (10至30%) 的己烷溶液梯度洗脱, 得到所需产物, 为浅棕色固体 (5.34g, 64.5%)。UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): $\text{rt}=0.73$ 分钟, $\text{m/z } 153.0 [\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.40 (dd, $J=4.77\text{Hz}, 1.76\text{Hz}, 1\text{H}$), 7.89 (ddt, $J=7.62\text{Hz}, 1.79\text{Hz}, 0.82\text{Hz}, 0.82\text{Hz}, 1\text{H}$), 7.34 (dd, $J=7.53\text{Hz}, 4.77\text{Hz}, 1\text{H}$), 3.87 (s, 2H)。

[0431] 步骤4: 2-(2-氯吡啶-3-基) 乙酸



[0433] 将2-(2-氯吡啶-3-基) 乙腈 (5.34g, 34.97mmol) 溶于15% (w/w) NaOH水溶液 (50mL) 中, 并将所得溶液在环境温度下搅拌60分钟。然后将反应液用浓盐酸酸化至 $\text{pH}=1$, 形成米色沉淀, 将其过滤收集, 用水 (2×25mL) 洗涤, 并在40℃的真空烘箱中干燥, 得到所需产物为米色固体 (5.57g, 92.8%)。UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): $\text{rt}=0.66$ 分钟, $\text{m/z } 172.0 [\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 12.64 (br, s, 1H), 8.33 (dd, $J=4.77\text{Hz}, 2.01\text{Hz}, 1\text{H}$), 7.86 (dd, $J=7.53\text{Hz}, 2.01\text{Hz}, 1\text{H}$), 7.41 (dd, $J=7.53\text{Hz}, 4.77\text{Hz}, 1\text{H}$), 3.76 (s, 2H)。

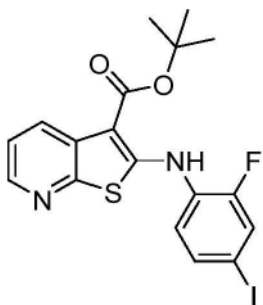
[0434] 步骤5: 2-(2-氯吡啶-3-基) 乙酸叔丁酯



[0436] 在0℃下, 向冷却的N,N'-二环己基碳二亚胺 (7.36g, 35.69mmol) 的二氯甲烷 (120mL) 溶液中加入DMAP (3.17g, 25.96mmol), 随后加入2-(2-氯吡啶-3-基) 乙酸 (5.57g, 32.45mmol), 并将得到的混合物在0℃下搅拌5分钟。然后将叔-丁醇 (9.3mL, 97.337mmol) 添加到反应中, 并在搅拌下将所得混合物温热至室温12小时。然后将反应物蒸发至干, 得到残余物, 将其溶于乙醚 (400mL) 中。然后将醚溶液通过硅藻土垫过滤, 将其用乙醚 (2×200mL) 洗涤。将合并的滤液依次用1M NaOH水溶液 (300mL)、2N HCl水溶液 (300mL)、水 (300mL) 和盐水 (200mL) 洗涤。然后将有机层经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并蒸发至干, 得到的残余物为粗产物。通过快速柱色谱纯化, 用乙酸乙酯 (5-20%) 的己烷溶液梯度洗脱, 得到所需的产物, 为米色固体 (5.25g, 71.0%)。UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): $\text{rt}=1.08$ 分钟, $\text{m/z } 228.1 [\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ ppm 8.31 (dd, $J=4.77\text{Hz}, 2.01\text{Hz}, 1\text{H}$), 7.63 (dd, $J=7.53\text{Hz}, 2.01\text{Hz}, 1\text{H}$), 7.22 (dd, $J=7.53\text{Hz}, 4.77\text{Hz}, 1\text{H}$), 3.68 (s, 2H), 1.46 (s, 9H)。

[0437] 步骤6: 2-((2-氟-4-碘苯基) 氨基) 噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯

[0438]



[0439] 向2-(2-氯吡啶-3-基)乙酸叔丁酯(5.05g, 22.16mmol, 1eq)的四氢呋喃(200mL)溶液中加入叔-丁醇钠(2.24g, 23.27mmol, 1.05当量), 所得混合物在室温下搅拌15分钟。然后将2-氟-4-碘-1-异硫氰酸苯酯(6.18g, 22.16mmol, 1eq)加入反应中, 并将所得溶液搅拌30分钟。然后将混合物在回流下搅拌16h, 然后冷却至室温, 并在乙酸乙酯(300mL)和水(300mL)之间分配。收集水层, 并用乙酸乙酯(300mL)萃取, 并将合并的有机物经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并浓缩。粗物质通过柱色谱法纯化, 用二氯甲烷洗脱, 得到期望的产物, 为米色固体(8.49g, 78.3%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min): $\text{rt}=1.54\text{min}$, $\text{m/z } 471.0[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} 10.70 (br, s, 1H), 8.25 (q, $J=1.67\text{Hz}$, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.46-7.43 (m, 2H), 7.40-7.35 (m, 1H), 7.19 (dd, $J=4.52\text{Hz}$, 3.01Hz, 1H), 1.61 (s, 9H)。

[0440] 步骤7: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸

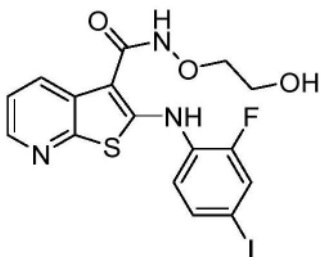
[0441]



[0442] 将2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯(1.00g, 2.13mmol)的二氯甲烷(20mL)溶液用在二噁烷(20mL)中的4N HCl处理, 并将所得混合物在室温搅拌48h。然后将溶液浓缩至干, 得到油状物, 将其与二氯甲烷($2 \times 25\text{mL}$)共同蒸馏, 得到所需产物, 为黄色固体(1.04g, 100%)。UPLC-MS(酸性方法, 2分钟): $\text{rt}=1.24\text{分钟}$, $\text{m/z } 414.9[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{ppm} 10.73 (s, 1H), 8.42 (dd, $J=8.16\text{Hz}$, 1.63Hz, 1H), 8.38 (dd, $J=4.77\text{Hz}$, 1.51Hz, 1H), 7.90 (dd, $J=10.16\text{Hz}$, 1.88Hz, 1H), 7.76-7.73 (m, 1H), 7.60 (t, $J=8.53\text{Hz}$, 8.53Hz, 1H), 7.48 (dd $J=8.28\text{Hz}$, 4.77Hz, 1H), 3.63 (s, 1H)。

[0443] 步骤8: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺

[0444]

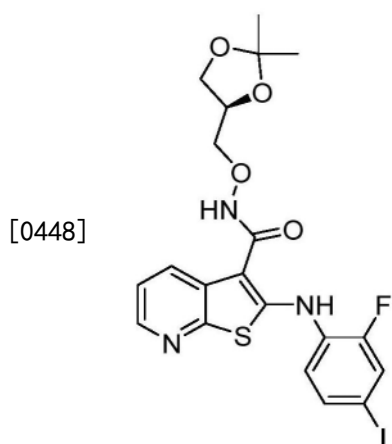


[0445] 向搅拌的2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸(1.5g, 3.62mmol, 1eq)、HATU(1.9g, 5.07, 1.4当量)和吡啶(0.59mL, 7.24mmol, 2当量)在DMF(15mL)

和DMSO (15mL) 的混合物的溶液中加入2-氨基氧乙醇 (0.56g, 7.24mmol, 2当量) 将得到的混合物在室温搅拌16小时。将反应物倒入水 (100mL) 中, 并将所得混合物用乙酸乙酯 (3×50mL) 萃取。合并的有机物用盐水 (3×50mL) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并浓缩, 得到粗品残余物。通过制备型HPLC纯化, 得到所需产物 (209mg, 12%), 为浅黄色固体。UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): rt 1.11分钟, m/z 473.9 [M+H]⁺。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm 11.29 (br s, 1H), 10.36 (br s, 1H), 8.30-8.41 (m, 1H), 8.02-8.19 (m, 1H), 7.70-7.87 (m, 1H), 7.61 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.42 (br t, J=8.7Hz, 2H), 4.63-4.86 (m, 1H), 3.94 (br d, J=4.4Hz, 2H), 3.65 (br d, J=4.6Hz, 2H)。

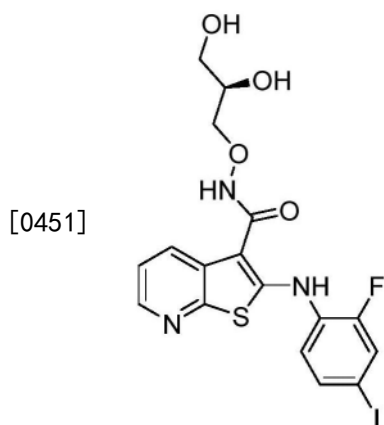
[0446] 实施例4合成 (R)-N-(2,3-二羟基丙氧基)-2-((2-氟-4-碘代苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酰胺

[0447] 步骤1: (R)-N-(((2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)甲氧基)-2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酰胺



[0449] 向磁力搅拌的在DMF中的2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸的混合物中添加HATU和TEA, 并将所得混合物搅拌15分钟。然后将(R)-O-(((2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)甲基)羟胺)添加到反应中, 并将所得混合物在室温下搅拌15小时。将反应混合物倒入水 (30mL) 中, 得到黄色沉淀, 通过过滤收集。用水 (2×25mL) 洗涤所得固体, 并在40℃下真空干燥, 得到为黄色固体的粗产物 (0.27g), 将其直接用于下一步。UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): rt 1.17分钟, m/z 544.0 [M+H]⁺

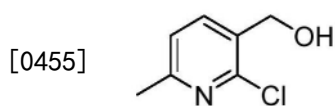
[0450] 步骤2: (R)-N-(2,3-二羟基丙氧基)-2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺



[0452] 用p-甲苯磺酸一水合物(41mg,0.21)处理(R)-N-(((2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)甲氧基)-2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺(270mg,0.50mmol)的MeOH(10mL)和乙二醇(140L)溶液,将所得混合物搅拌15小时。将混合物蒸发至干,得到胶状的粗产物,将其通过制备型HPLC纯化,得到期望的产物,为灰白色固体(70mg)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.96分钟,m/z 503.9[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 10.94-11.70(m,1H),10.06-10.79(m,1H),8.29(br s,1H),8.13(br d,J=4.39Hz,1H),7.76(br d,J=10.04Hz,1H),7.55-7.64(m,1H),7.31-7.46(m,2H),4.82-5.12(m,1H),4.51-4.72(m,1H),3.93-4.05(m,1H),3.72-3.86(m,2H),3.42(br d,J=4.77Hz,2H)

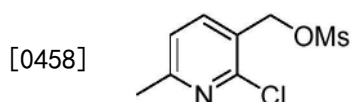
[0453] 实施例5 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-6-甲基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺的合成

[0454] 步骤1:2-氯-6-甲基吡啶-3-基)甲醇



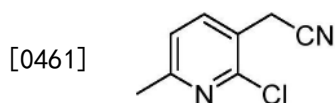
[0456] 向冷却的2-氯-6-甲基吡啶-3-羧酸甲酯(10g,53.88mmol)的无水四氢呋喃(120mL)溶液中经20分钟分批加入氢化铝锂(4.09g,107.75mmol)进行处理,注意将内部温度保持在10℃以下。添加完成后,将反应混合物在50℃下搅拌12h。然后将反应混合物在冰水浴中冷却,并通过添加Na₂SO₄饱和水溶液(100mL)淬灭,形成悬浮液,将其通过硅藻土垫过滤,用乙酸乙酯洗涤(2×300毫升)。将合并的滤液蒸发至干,得到浅橙色油,将其通过柱色谱法纯化,用乙酸乙酯(0至40%)的己烷溶液梯度洗脱,得到所需的产物,为浅黄色油(5.5g,65%)。UPLC-MS(酸性方法,2min):rt=0.70min,m/z 158.0[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 7.74(d,J=7.7Hz,1H),7.11(d,J=7.8Hz,1H),4.74(s,2H),2.52(s,3H),2.46(br s,1H)

[0457] 步骤2:(2-氯-6-甲基吡啶-3-基)甲磺酸甲酯



[0459] 在0℃下,将甲磺酰氯(5.4mL,69.8mmol)滴加到(2-氯-6-甲基吡啶-3-基)甲醇(5.5g,34.9mmol)和Et₃N(9.7mL,69.8mmol)的二氯甲烷溶液中(52mL),注意将内部温度保持在5℃以下。加完后,将反应混合物加热至室温并搅拌2小时,然后用水(200mL)淬灭,并用二氯甲烷(2×250mL)萃取。合并的有机物经Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,得到所需产物,为棕色油状物(7.9g,96%),其无需进一步纯化即可直接用于下一步。UPLC-MS(酸性方法,2min):rt=0.86min,m/z 236.0[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 7.71(t,J=7.5Hz,1H),7.14(dd,J=7.7,14.62Hz,1H),5.29(s,1H),4.65(s,1H),3.03-3.16(m,3H),2.54(d,J=6.2Hz,3H)

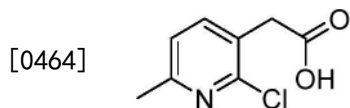
[0460] 步骤3:2-(2-氯-6-甲基吡啶-3-基)乙腈



[0462] 向(2-氯-6-甲基吡啶-3-基)甲磺酸甲酯(7.9g,33.5mmol)的DMF(48mL)溶液中加入氰化钠(4.9g,100.5mmol),将得到的混合物在室温下搅拌2小时。然后将反应物倒入水

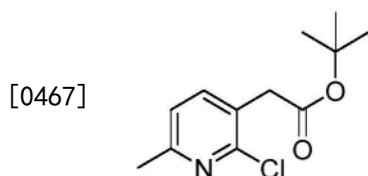
(250mL) 中, 并将所得混合物用乙酸乙酯 ($3 \times 250\text{mL}$) 萃取。合并的有机物经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并浓缩, 得到粗品残余物, 将其通过柱色谱纯化, 用乙酸乙酯 (0至30%) 的己烷溶液梯度洗脱, 得到所需产物, 为浅黄色固体 (3.2g, 58%)。UPLC-MS (酸性方法, 2min): $\text{rt}=0.84\text{min}$, m/z 167.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} 7.76 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.17 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 3.82 (s, 2H), 2.56 (s, 3H)

[0463] 步骤4: 2-(2-氯-6-甲基吡啶-3-基) 乙酸



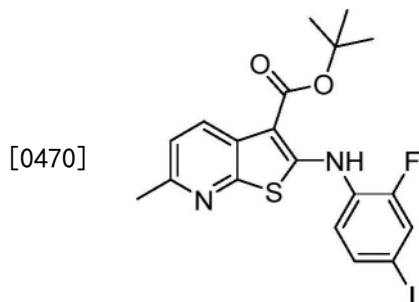
[0465] 将2-(2-氯-6-甲基吡啶-3-基) 乙腈 (3.2g, 19.2mmol) 在15% (w/w) NaOH水溶液 (32mL) 中的搅拌溶液加热回流30分钟。然后将混合物冷却至室温, 并用浓盐酸酸化至 $\text{pH}=1$, 得到米色沉淀, 通过过滤收集, 用水 ($2 \times 50\text{mL}$) 洗涤, 并在真空下干燥, 得到所需的产物, 为米色固体 (3.2g, 90%)。UPLC-MS (酸性方法, 2min): $\text{rt}=0.76\text{min}$, m/z 186.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} 7.53 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 7.09 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 3.79 (s, 2H), 2.53 (s, 3H)

[0466] 步骤5: 2-(2-氯-6-甲基吡啶-3-基) 乙酸叔丁酯



[0468] 在 0°C 下, 向搅拌的N,N'-二环己基碳二亚胺 (3.9g, 18.92mmol) 的二氯甲烷 (72mL) 溶液中加入DMAP (1.7g 13.76mmol), 随后加入2-(2-氯-6-甲基吡啶-3-基) 乙酸 (3.2g, 17.2mmol), 并将所得混合物在 0°C 下搅拌5分钟。然后将叔-丁醇 (4.9mL, 51.6mmol) 加入到反应中, 并在搅拌下在16小时内将所得混合物加热至室温。然后将反应物蒸发至干, 得到残余物, 将其溶于乙醚 (400mL) 中, 并通过硅藻土垫, 用乙醚 ($2 \times 200\text{mL}$) 洗涤。依次用1M NaOH水溶液 (300mL)、2N HCl水溶液 (300mL)、水 (300mL) 和盐水 (200mL) 洗涤合并的滤液。有机层经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并浓缩。通过柱色谱法纯化粗物质, 用乙酸乙酯 (0至30%) 的己烷溶液梯度洗脱, 得到所需的产物, 为浅黄色油状物 (3.03g, 73%)。UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): rt 1.14分钟, m/z 242.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} 7.50 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 7.05 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 3.62 (s, 2H), 2.51 (s, 3H), 1.44 (s, 9H)

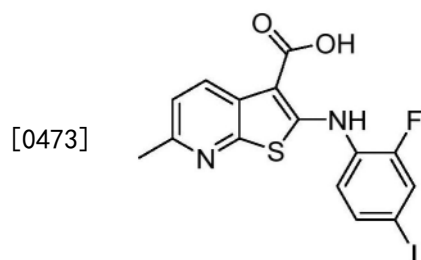
[0469] 步骤6: 2-((2-氟-4-碘苯基) 氨基) -6-甲基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯



[0471] 在氮气气氛下, 向2-(2-氯-6-甲基吡啶-3-基) 乙酸叔丁酯 (3.03g, 12.5mmol) 的四

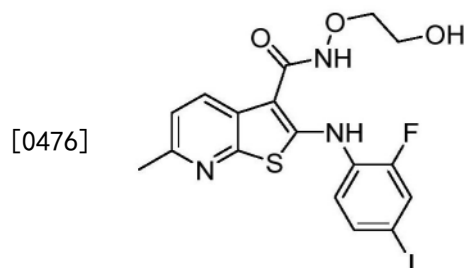
氢呋喃 (250mL) 溶液中添加叔-丁醇钠 (1.26g, 13.13mmol)。形成黄色溶液, 将其在室温下搅拌15分钟。然后加入2-氟-4-碘-1-异硫氰酸苯酯 (3.5g, 12.5mmol), 并将溶液搅拌30分钟。溶液变成浅棕色。最后, 将混合物在回流下搅拌过夜。将反应物冷却至室温, 并在乙酸乙酯 (300mL) 和水 (300mL) 之间分配。收集有机相, 水层用乙酸乙酯 (300mL) 萃取。合并的有机物经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并浓缩。粗物质通过柱色谱法纯化, 用二氯甲烷洗脱, 得到期望的产物, 为黄色固体 (2.5g, 42%)。UPLC-MS (酸性方法, 2min): $\text{rt}=1.56\text{min}$, m/z 484.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm 10.70 (br s, 1H), 8.21 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 7.49-7.54 (m, 2H), 7.42-7.48 (m, 1H), 7.13 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 2.59 (s, 3H), 1.68 (s, 9H)

[0472] 步骤7: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-6-甲基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸



[0474] 向2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-6-甲基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯 (0.26g, 0.54mmol) 的二氯甲烷 (5.5mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.55mL, 7.18mmol), 并将所得混合物在室温搅拌4h。然后将反应混合物浓缩, 得到残余物, 将其与甲苯 (3×50mL) 共蒸馏, 得到所需产物, 为黄色固体 (0.24g, 100%)。UPLC-MS (酸性方法, 4min): $\text{rt}=2.15\text{min}$, m/z 428.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 10.63 (s, 1H), 8.24 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 7.83 (dd, $J=1.9, 10.2\text{Hz}$, 1H), 7.65-7.70 (m, 1H), 7.52 (t, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 7.28 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H)

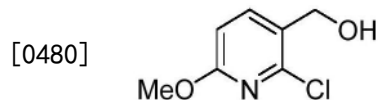
[0475] 步骤8: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-6-甲基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺



[0477] 向2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-6-甲基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸 (0.24g, 0.56mmol) 的无水四氢呋喃 (14mL) 溶液中加入PyBOP (0.41mg, 0.78mmol), 随后加入 Et_3N (0.23mL, 1.68mmol), 并将所得溶液在室温下搅拌30分钟。然后将2-(氨氧基)乙-1-醇 (65mg, 0.84mmol) 加入反应物中, 并将所得混合物在室温搅拌12h。将水 (50mL) 加入反应物中, 形成两相混合物。收集水相, 并用乙酸乙酯 (3×50mL) 萃取。合并的有机物用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并浓缩。粗物质通过制备型HPLC纯化, 得到期望的产物, 为浅黄色固体 (115mg, 42%)。UPLC-MS (酸性方法, 4min): $\text{rt}=1.84\text{min}$, m/z 487.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 11.24 (br s, 1H), 10.11-10.38 (br s, 1H), 7.93-8.06 (m, 1H), 7.67-7.80 (m, 1H), 7.58 (br d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 7.36 (br t, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 7.28 (br dd, $J=4.1, 7.2\text{Hz}$, 1H), 4.59-4.84 (br s, 1H), 3.92 (t, $J=4.9\text{Hz}$, 3H), 3.63 (br d, $J=3.8\text{Hz}$, 3H)

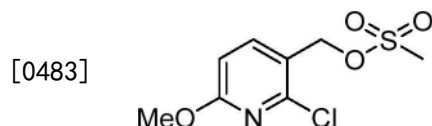
[0478] 实施例6 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-6-甲氧基嘧啶并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺

[0479] 步骤1: (2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基) 甲醇



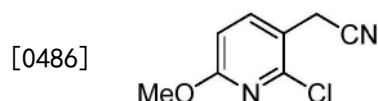
[0481] 在0℃下,向2-氯-6-甲氧基烟酸甲酯(5.0g,24.8mmol)的THF(50mL)溶液中分批加入氢化铝锂(1.88g,49.6mmol),注意保持温度低于10℃。添加完成后,将反应混合物在50℃下搅拌3h。然后将反应混合物冷却至0℃,然后通过小心加入饱和硫酸钠水溶液(50mL)将其淬灭。将得到的悬浮液搅拌20分钟,然后通过硅藻土垫过滤,用乙酸乙酯(2×50mL)洗涤。合并的有机物用无水硫酸钠干燥,过滤并蒸发至干,得到所需的产物,为橙黄色油状物(3.82g,89%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt=0.83分钟,m/z 174.0[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 7.69(d,J=8.2Hz,1H) 6.69(d,J=8.2Hz,1H) 4.70(s,2H) 3.88(s,3H)

[0482] 步骤2: (2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基) 甲磺酸甲酯



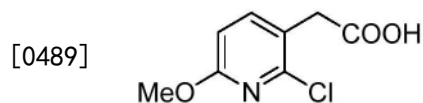
[0484] 在0℃下,将甲磺酰氯(3.4mL,44.0mmol)添加到搅拌的(2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)甲醇(3.82g,22.0mmol)的二氯甲烷(90mL)溶液中,将得到的混合物在室温搅拌3小时。将反应混合物倒入水(100mL)中,得到两相溶液。收集有机相,水相用二氯甲烷(2×50mL)萃取。合并的有机物用无水硫酸钠干燥,过滤并蒸发至干,得到所需产物,为橙色固体(4.26g,77%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt=1.13min,m/z 252.1[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 7.65(d,J=8.2Hz,1H) 6.69(d,J=8.2Hz,1H) 4.64(s,2H) 3.94(s,3H) 3.14(s,3H)

[0485] 步骤3: 2-(2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基) 乙腈



[0487] 向(2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基) 甲基磺酸甲酯(4.26g,16.9mmol)的DMF(17mL)溶液中经5min分批加入氰化钠(2.48g,50.7mmol),将所得混合物在室温下搅拌24小时。将反应物倒入水(100mL)中,并将所得混合物用乙酸乙酯(3×50mL)萃取。合并的有机物用盐水(2×200mL)洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤并蒸发至干。粗产物通过快速柱色谱纯化,用甲醇(0-5%)的二氯甲烷溶液梯度洗脱,得到所需的产物,为白色固体(1.75g,57%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.96分钟,m/z 183.0[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CHCl₃) δppm 7.69(d,J=8.2Hz,1H),6.73(d,J=8.2Hz,1H),3.94(s,3H),3.75(s,2H)。

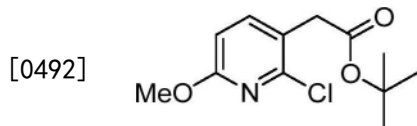
[0488] 步骤4: 2-(2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基) 乙酸



[0490] 将2-(2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基) 乙腈(1.75g,9.5mmol)在15%w/w NaOH(16mL)的水溶液中的悬浮液在60℃搅拌24h。然后将反应混合物冷却至室温,并用浓盐酸酸化pH=1。

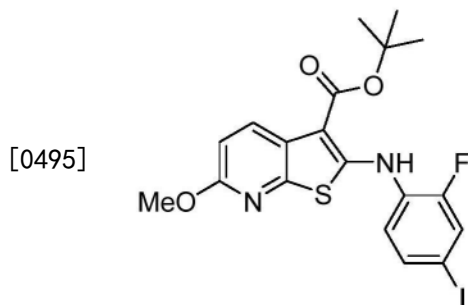
通过过滤收集所得沉淀物,并用水(2×20mL)洗涤,然后在40℃下真空干燥,得到期望的产物,为白色固体(1.50g,78%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt=0.84min,m/z 202.0[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 12.51(br s,1H),7.76(d,J=8.2Hz,1H),6.84(d,J=8.2Hz,1H),3.85(s,3H),3.66(s,2H)。

[0491] 步骤5:2-(2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)乙酸叔丁酯



[0493] 向2-(2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)乙酸(1.34g,6.65mmol)在叔丁醇(15mL)中的悬浮液中加入二碳酸二叔丁酯(2.3mL,9.97mmol),随后加入DMAP(0.082g,0.67mmol),并将得到的混合物在50℃下搅拌18h。将反应混合物冷却至室温,蒸发至干,得到残余物,将其用水(20mL)稀释,并用乙酸乙酯(2×20mL)萃取。合并的有机物用无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩,得到粗产物,将其通过快速柱色谱纯化,用乙酸乙酯(20-80%)的己烷溶液梯度洗脱,得到所需的产物,为浅黄色油状物(1.27g,69%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt=1.21min,m/z 258.1[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 7.49(d,J=8.2Hz,1H),6.65(d,J=8.2Hz,1H),3.92(s,3H),3.58(s,2H),1.45(s,9H)

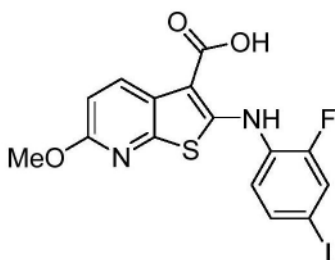
[0494] 步骤6:2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-6-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯



[0496] 将2-(2-氯-6-甲氧基吡啶-3-基)乙酸叔丁酯(1.0g,3.88mmol)和叔丁醇钠(0.41g,4.27mmol)加入微波小瓶中,随后加入THF(35mL),并将得到的混合物搅拌5分钟。随后将2-氟-4-碘-1-异硫氰酸苯酯(1.11g,3.88mmol)在THF(5mL)中的溶液添加至微波小瓶中,并将所得混合物在室温搅拌1h。然后将氟化铯(0.295g,1.94mmol)添加到小瓶中,并将反应混合物在微波辐射下于90℃加热1h。将混合物冷却至室温并蒸发至干,得到粗产物,将其通过快速柱色谱纯化,用二氯甲烷洗脱,得到期望的产物,为黄色固体(0.564g,30%)。UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt=2.95min,m/z 500.9[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 10.56(s,1H),8.25(d,J=8.8Hz,1H),7.43-7.53(m,3H),6.76(d,J=8.8Hz,1H),3.96(s,3H),1.78(s,9H)

[0497] 步骤7:2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-6-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸

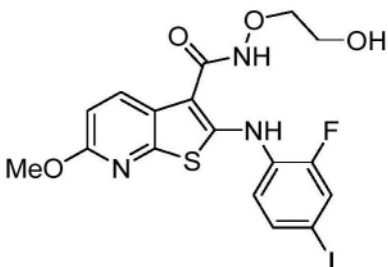
[0498]



[0499] 向2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-6-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯(0.050g, 0.10mmol)的二氯甲烷(3mL)溶液中加入三氟乙酸(0.3mL)。将得到的混合物在室温下在N₂气氛下搅拌6h。真空除去溶剂,并与甲苯(2×10mL)共蒸馏,得到所需产物,为黄色固体(0.44g, 100%),其无需进一步纯化即可用于下一步。UPLC-MS(酸性方法, 2分钟): rt=1.35分钟, m/z 445.0 [M+H]⁺

[0500] 步骤8: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-6-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺

[0501]

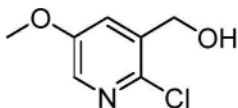


[0502] 向2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-6-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸(0.050g, 0.11mmol)在THF(2mL)中的悬浮液中添加PyBOP(0.078g, 0.15mmol)和三乙胺(0.05mL, 0.33mmol)。将得到的混合物在室温下在N₂气氛下搅拌30分钟。加入2-(氨基)乙醇(0.011mL, 0.15mmol)的THF(0.1mL)溶液,并将反应混合物在室温下在N₂气氛下搅拌1h。用水(10mL)稀释反应混合物,然后用乙酸乙酯(2×10mL)萃取。合并的有机物用无水硫酸钠干燥,过滤并蒸发至干,得到粗产物,将其通过制备型HPLC纯化,得到期望的产物,为灰白色固体(0.023g, 22%)。UPLC-MS(酸性方法, 4分钟): rt=2.10min, m/z 503.9 [M+H]⁺。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 11.30(br s, 1H), 9.77(br s, 1H), 8.11(br s, 1H), 7.70(br s, 1H), 7.53(br d, J=8.2Hz, 1H), 7.26(br d, J=8.2Hz, 1H), 6.91(br d, J=7.0Hz, 1H), 4.77(br s, 1H), 3.90(s, 3H), 3.89(br s, 2H), 3.62(br s, 2H)

[0503] 实施例7: 2-((2-氟-4-碘代苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-5-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺

[0504] 步骤1: (2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基)甲醇

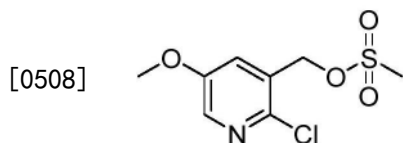
[0505]



[0506] 将2-氯-5-甲氧基烟酸甲酯(0.5g, 2.48mmol)的无水THF(5mL)溶液冷却至0℃,并分批加入氢化铝锂(0.19g, 4.96mmol)处理。添加完成后,将混合物加热至50℃保持1小时。然后将混合物冷却至0℃,并用硫酸钠水溶液处理,并将所得混合物在环境温度搅拌0.5h。将混合物用乙酸乙酯(10mL)稀释,并通过硅藻土垫过滤。用乙酸乙酯(2×20mL)洗涤该垫,

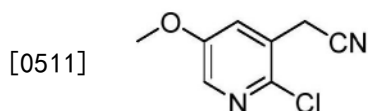
并将合并的有机相用 Na_2SO_4 干燥,过滤并真空浓缩,得到粗产物,将其通过快速柱色谱纯化,用甲醇(0-5%)的二氯甲烷溶液梯度洗脱,得到所需产物,为棕色油状物(0.368g,86%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟): $\text{rt}=0.72$ 分钟, m/z 174.0/175.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} 7.97(d, $J=3.0\text{Hz}$,1H),7.47(dt, $J=3.1,0.8\text{Hz}$,1H),4.74(s,2H),3.86(s,3H)

[0507] 步骤2:(2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基)甲磺酸甲酯



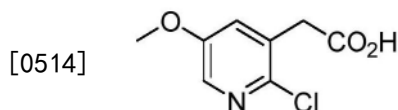
[0509] 将(2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基)甲醇(2.74g,15.84mmol)的无水二氯甲烷(60mL)溶液冷却至 0°C ,并依次用三乙胺(4.42mL,31.67mmol)甲磺酰氯(2.45mL,31.67mmol)处理,并将得到的混合物搅拌1小时缓慢升温至环境温度。用水(30mL)稀释混合物,并用二氯甲烷($2\times 30\text{mL}$)萃取。合并的有机相用盐水(30mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并真空浓缩,得到所需产物,为棕色油状物(3.99g,100%)。UPLC-MS(酸性方法,2min): $\text{rt}=0.87\text{min}$, m/z 252.0/254.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 和1.01min, m/z 192.0/194.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} 8.06-8.10(m,1H),7.35-7.43(m,1H),5.29(s,1H),4.65(s,1H),3.89(s,3H),3.14(s,1H),3.11(s,2H)

[0510] 步骤3:2-(2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基)乙腈



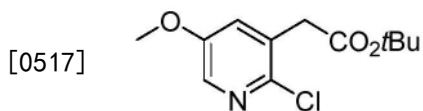
[0512] 将(2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基)甲磺酸甲酯(200mg,0.80mmol)的无水DMF(1mL)溶液用氰化钠(117mg,2.39mmol)处理,并将所得混合物在环境温度下搅拌1h。用水(5mL)稀释混合物,并用乙酸乙酯($3\times 5\text{mL}$)萃取。依次用水(5mL)和盐水(5mL)洗涤合并的有机相,然后用 Na_2SO_4 干燥,过滤并真空浓缩,得到粗产物,将其通过快速柱色谱纯化,用甲醇(0-4%)的二氯甲烷溶液梯度洗脱,得到所需产物,为黄色固体(89mg,61%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟): $\text{rt}=0.86$ 分钟, m/z 183.0/185.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} 8.07(d, $J=2.9\text{Hz}$,1H),7.41-7.44(m,1H),3.90(s,3H),3.84(s,2H)

[0513] 步骤4:2-(2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基)乙酸



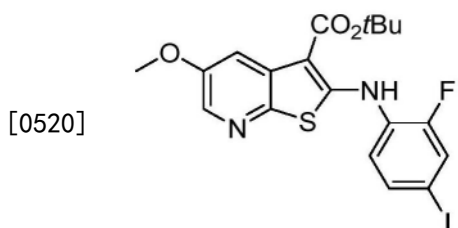
[0515] 将2-(2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基)乙腈(1.19g,6.55mmol)在15%(w/v)氢氧化钠水溶液(11.9mL)中的悬浮液加热至 100°C 搅拌2小时,得到澄清溶液。然后将反应混合物冷却至 5°C (冰浴),并用1M氯化氢水溶液小心处理,直到溶液呈酸性($\text{pH}=1$),以致形成灰白色沉淀。通过过滤收集固体,并用水洗涤直至滤液变为 pH 中性。然后将固体在真空下干燥,得到期望的产物,为米色固体(1.18g,89%)。UPLC-MS(酸性方法,2min): $\text{rt}=0.78\text{min}$, m/z 202.1/204.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{ppm} 8.03(d, $J=3.0\text{Hz}$,1H),7.52(d, $J=3.0\text{Hz}$,1H),3.82(s,3H),3.69(s,2H)

[0516] 步骤5:2-(2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基)乙酸叔丁酯



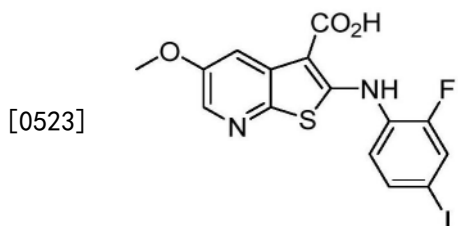
[0518] 依次用二碳酸二叔丁酯 (1.67mL, 7.28mmol) 和 4-二甲基氨基吡啶 (59mg, 0.48mmol) 处理 2-(2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基) 乙酸 (980mg, 4.80mmol) 在叔丁醇 (10.9mL) 中的悬浮液, 将得到的混合物在 50℃ 加热 2h。将混合物冷却至环境温度并真空浓缩, 得到残余物, 将其溶于乙酸乙酯 (20mL) 中。用水 (20mL) 洗涤溶液, 并用乙酸乙酯 (120mL) 萃取水相。合并的有机层经 Na₂SO₄ 干燥, 过滤并真空浓缩, 得到油状粗产物, 将其通过快速柱色谱纯化, 用乙酸乙酯 (0-15%) 的己烷溶液梯度洗脱, 得到所需产物呈黄色油状 (990mg, 79%)。UPLC-MS (酸性方法, 2 分钟): rt=1.16 分钟, m/z 258.1/260.1 [M+H]⁺。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 8.01 (d, J=3.0Hz, 1H), 7.21 (d, J=3.0Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.66 (s, 2H), 1.48 (s, 9H)

[0519] 步骤 6: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-5-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯



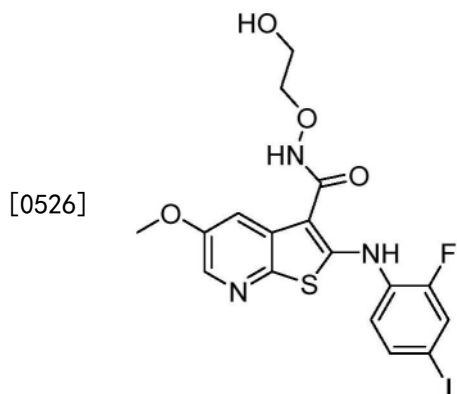
[0521] 用叔丁醇钠 (20mg, 0.213mmol) 处理 2-(2-氯-5-甲氧基吡啶-3-基) 乙酸叔丁酯 (50mg, 0.194mmol) 的无水 THF (2mL) 溶液, 所得混合物在环境温度下搅拌 5 分钟。然后将 2-氟-4-碘-1-异硫氰酸苯酯 (54mg, 0.194mmol) 的无水 THF (0.5mL) 溶液加入反应中, 并将所得混合物在环境温度下搅拌 1.5h, 然后在微波辐射下于 90℃ 加热 2 小时。将混合物冷却至环境温度并真空浓缩, 得到油状粗产物, 将其通过快速柱色谱法纯化 (二氧化硅 12g, 0-7% 乙酸乙酯的己烷溶液), 随后将所得固体与己烷一起研磨, 得到所需产物, 为浅黄色固体 (33mg, 34%)。UPLC-MS (酸性方法, 4min): rt=2.84min, m/z 500.9 [M+H]⁺。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 10.79 (br s, 1H), 8.08 (d, J=2.9Hz, 1H), 7.93 (d, J=2.8Hz, 1H), 7.45-7.56 (m, 3H), 3.90 (s, 3H), 1.71 (s, 9H)

[0522] 步骤 7: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-5-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸



[0524] 用三氟乙酸 (2.5mL) 处理 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-5-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯 (385mg, 0.77mmol) 的二氯甲烷 (25mL) 溶液, 并将所得混合物在环境温度下搅拌 18h。然后将混合物真空浓缩, 得到油状物, 将其与甲苯 (2×20mL) 共蒸馏, 得到所需产物, 为黄色固体 (342mg, 100%)。UPLC-MS (酸性方法, 4 分钟): rt=2.14 分钟, m/z 443.0 [M-H]⁻。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.69 (s, 1H), 8.06 (d, J=2.8Hz, 1H), 7.88 (d, J=2.8Hz, 1H), 7.82 (dd, J=10.2, 1.9Hz, 1H), 7.65 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.51 (t, J=8.6Hz, 1H), 3.85 (s, 3H).

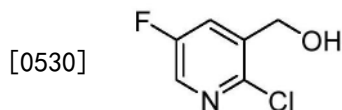
[0525] 步骤8: 2-((2-氟-4-碘代苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-5-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺



[0527] 将2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-5-甲氧基噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸(342mg, 0.77mmol)在THF(15mL)中的悬浮液依次用PyBOP(546mg, 1.05mmol)和三乙胺(0.32mL, 2.31)处理,将得到的混合物在环境温度搅拌0.5h。向反应中加入(2-氨基基)乙醇(81mg, 1.05mmol),并将所得混合物在环境温度下搅拌18小时。然后将混合物用乙酸乙酯(10mL)稀释,用水(2×10mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并浓缩,得到粗产物,将其通过制备型HPLC纯化,得到期望的产物,为黄色固体(131mg, 34%)。UPLC-MS(酸性方法, 4min): $\text{rt}=1.85\text{min}$, m/z 503.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 11.29(s, 1H), 10.43(br s, 1H), 8.09(br s, 1H), 7.77(br d, $J=10.3\text{Hz}$, 1H), 7.57-7.64(m, 2H), 7.41(t, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 4.78(br s, 1H), 3.85-3.96(m, 5H), 3.68-3.61(m, 2H)。

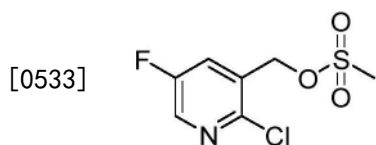
[0528] 实施例8: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-5-氟噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺

[0529] 步骤1: (2-氯-5-氟吡啶-3-基)甲醇



[0531] 将2-氯-5-氟烟酸甲酯(100mg, 0.53mmol)的无水THF(4mL)溶液冷却至 0°C ,并经5min的时间分批加入硼氢化钠(120mg, 3.17mmol)处理,并将所得混合物在 70°C 下加热15分钟。然后经15分钟逐滴加入甲醇(0.8mL),产生大量泡沫,并将得到的混合物在 70°C 加热30分钟。将混合物冷却至环境温度,并用饱和氯化铵水溶液(5mL)处理。加入乙酸乙酯(5mL),得到两相混合物,将其搅拌30分钟。收集有机相,水层用乙酸乙酯(2×5mL)萃取。然后将合并的有机相用 Na_2SO_4 干燥,过滤并真空浓缩,得到所需产物,为橙色玻璃(84mg, 99%)。UPLC-MS(酸性方法, 2分钟): $\text{rt}=0.73\text{分钟}$, m/z 162.0/164.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ ppm 8.17(d, $J=3.0\text{Hz}$, 1H), 7.71(ddt, $J=8.3, 3.0, 0.9, 0.9\text{Hz}$, 1H), 4.78(s, 2H)。

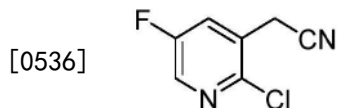
[0532] 步骤2: (2-氯-5-氟吡啶-3-基)甲磺酸甲酯



[0534] 将(2-氯-5-氟吡啶-3-基)甲醇(225mg, 1.39mmol)的无水二氯甲烷(5mL)溶液冷却

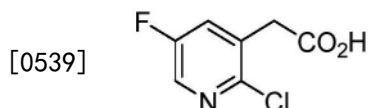
至0℃,先用三乙胺(0.39mL,2.78mmol)随后甲磺酰氯(0.22mL,2.78mmol)处理。然后将所得混合物逐渐温热至环境温度并搅拌1小时。用水(5mL)稀释混合物,并用二氯甲烷(2×5mL)萃取。合并的有机相用盐水(5mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并真空浓缩,得到所需产物,为棕色油状物(335mg,100%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt=0.88分钟,m/z 240.1/242.0[M+H]⁺和1.03分钟,m/z 223.2[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 8.24-8.30(m,1H),7.62-7.68(m,1H),5.29(s,1H),4.65(s,1H),3.15(s,3H)。

[0535] 步骤3:2-(2-氯-5-氟吡啶-3-基)乙腈



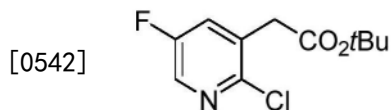
[0537] 将2-(2-氯-5-氟吡啶-3-基)甲磺酸甲酯(4.93g,20.6mmol)的无水DMF(20.6mL)溶液用氰化钠(3.0g,61.7mmol)处理,得到的混合物为在环境温度下搅拌4小时。用水(50mL)稀释混合物,并用乙酸乙酯(3×50mL)萃取。合并的有机相依次用H₂O(50mL)和盐水(50mL)洗涤,然后用Na₂SO₄干燥,过滤并真空浓缩,得到粗产物,将其通过快速柱色谱纯化,用二氯甲烷(0-80%)的己烷溶液梯度洗脱,得到所需的产物,为浅棕色油状物(1.38g,39%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt=0.84分钟,m/z 171.1/173.1[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 8.30(d,J=2.9Hz,1H),7.70(ddt,J=7.8,2.9,0.8,0.8Hz,1H),3.88(t,J=0.6Hz,2H)。

[0538] 步骤4:2-(2-氯-5-氟吡啶-3-基)乙酸



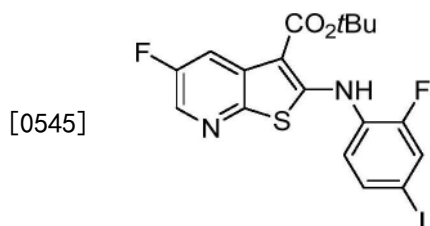
[0540] 将2-(2-氯-5-氟吡啶-3-基)乙腈(1.38g,8.09mmol)在15% (w/v) 氢氧化钠水溶液(13.8mL)中的悬浮液在100℃加热搅拌0.5小时,得到澄清溶液。然后将反应混合物冷却至5℃(冰浴),并用1M氯化氢水溶液小心处理,直到溶液呈酸性(pH=1),形成灰白色沉淀。通过过滤收集固体,并用H₂O洗涤直至滤液变为pH中性。然后将固体在真空下干燥,得到期望的产物,为灰白色固体(1.22g,80%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt=0.75分钟,m/z 190.0/192.00[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm 12.73(br s,1H),8.38(d,J=3.0Hz,1H),7.91(dd,J=8.8,3.0Hz,1H),3.76(s,2H)。

[0541] 步骤5:2-(2-氯-5-氟吡啶-3-基)乙酸叔丁酯



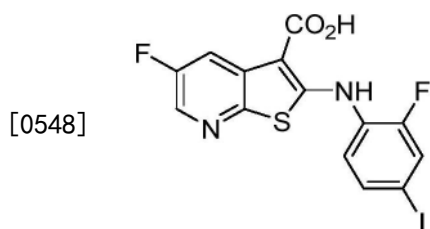
[0543] 将2-(2-氯-5-氟吡啶-3-基)乙酸(1.22g,6.43mmol)在叔丁醇(17mL)中的悬浮液依次用二碳酸二叔丁酯(2.22mL,9.65mmol)和4-二甲基氨基吡啶(82mg,0.643mmol)处理,所得混合物在搅拌下于50℃加热1.5h。然后将混合物冷却至环境温度并真空浓缩,得到残余物,将其溶于乙酸乙酯(20mL)中。依次用水(20mL)和盐水(20mL)洗涤所得溶液,然后用Na₂SO₄干燥,过滤并真空浓缩,得到油状粗产物,将其通过快速柱色谱纯化,用乙酸乙酯(0-10%)的己烷溶液梯度洗脱,得到所需的产物,为浅黄色油状物(1.25g,79%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt=1.16分钟,m/z 246.1/248.1[M+H]⁺。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm 8.20(d,J=3.0Hz,1H),7.45(dd,J=8.0,2.9Hz,1H),3.69(s,2H),1.47(s,9H)。

[0544] 步骤6: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-5-氟噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯



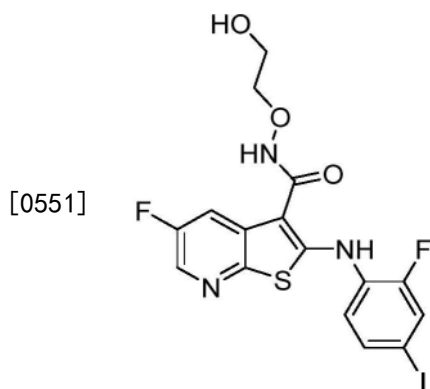
[0546] 将2-((2-氯-5-氟吡啶-3-基)乙酸叔丁酯(1.15g, 4.68mmol)的无水THF(34mL)溶液用叔丁醇钠(0.49g, 5.148mmol)处理, 所得混合物在环境温度下搅拌10分钟。然后将2-氟-4-碘-1-异硫氰酸苯酯(1.31g, 4.68mmol)的无水THF(6mL)溶液添加至反应中, 并将所得混合物在环境温度下搅拌1.5h, 然后在微波辐射下于90℃加热2小时。将混合物冷却至环境温度, 真空浓缩, 得到油状物, 将其通过快速柱色谱纯化, 用乙酸乙酯(0-5%)的己烷溶液梯度洗脱, 得到所需产物, 为白色固体(1.39g, 56%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min): $r_t = 1.63\text{min}$, m/z 489.0 $[M+H]^+$. ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 10.44(s, 1H), 8.34(dd, $J = 2.8, 0.8\text{Hz}$, 1H), 7.95(dd, $J = 10.6, 2.8\text{Hz}$, 1H), 7.85(dd, $J = 10.0, 1.9\text{Hz}$, 1H), 7.67(d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.50(t, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 1.64(s, 9H).

[0547] 步骤7: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-5-氟噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸



[0549] 将2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-5-氟噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸叔丁酯(1.39g, 2.85mmol)的二氯甲烷(80mL)溶液用三氟乙酸(8mL)处理, 并将所得混合物在环境温度搅拌18h。然后将混合物在真空下浓缩以得到油状物, 将其与甲苯($2 \times 20\text{mL}$)共蒸馏, 得到期望的产物, 为浅黄色固体(1.22g, 99%)。UPLC-MS(酸性方法, 2分钟): $r_t = 1.30\text{min}$, m/z 431.0 $[MH]^+$. ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 10.64(s, 1H), 8.33(dd, $J = 2.7, 0.7\text{Hz}$, 1H), 8.07(dd, $J = 10.42, 2.76\text{Hz}$, 1H), 7.85(dd, $J = 10.1, 1.8\text{Hz}$, 5H), 7.68(dt, $J = 8.5, 1.0\text{Hz}$, 1H), 7.51(t, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H).

[0550] 步骤8: 2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-N-(2-羟基乙氧基)-5-氟噻吩并[2,3-b]吡啶-3-甲酰胺



[0552] 将2-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-5-氟噻吩并[2,3-b]吡啶-3-羧酸(500mg, 1.16mmol)在THF(20mL)中的悬浮液依次用PyBOP(822mg, 1.58mmol)和三乙胺(0.49mL, 3.48mmol)处理,并将所得混合物在环境温度搅拌0.5h。然后将(2-氨基)乙醇(122mg, 1.58mmol)加入反应中,并将所得混合物在环境温度下搅拌18小时。将混合物用乙酸乙酯(10mL)稀释,用水(2×10mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并真空浓缩,得到粗产物,将其通过制备型HPLC纯化,得到所需产物,为浅黄色固体(115mg, 20%)。UPLC-MS(酸性方法, 2min):rt = 1.19min, m/z 491.9[M+H]⁺. ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm 11.33(s, 1H), 10.48(s, 1H), 8.36(s, 1H), 7.90(d, J=9.9Hz, 1H), 7.81(dd, J=10.2, 1.8Hz, 1H), 7.62(d, J=8.4Hz, 1H), 7.43(t, J=8.5Hz, 1H), 4.81(br s, 1H), 3.95(br t, J=4.7Hz, 2H), 3.64(br d, J=4.3Hz, 2H)。

[0553] 生物学实施例1a

[0554] MEK抑制试验

[0555] 使用以下程序测试化合物对MEK1的抑制活性。(参见Anastassiadis T等人, 激酶催化活性的全面测定揭示了激酶抑制剂选择性的特征, 自然生物技术(Comprehensive assay of kinase catalytic activity reveals features of kinase inhibitor selectivity, Nat Biotechnol.) 2011, 29(11), 1039-45.)

[0556] 试剂:

[0557] 反应缓冲液: 20mM Hepes (pH 7.5)、10mM MgCl₂、1mM EGTA、0.02%Brij 35、0.02mg/mL牛血清白蛋白、0.1mM Na₃VO₄、2mM DTT, 1%DMSO

[0558] 酶: MEK1, 英杰公司目录#PV3303

[0559] 在昆虫细胞中表达的N末端带有His标签的重组人全长蛋白质。在体外被RAF1激活。MW=49.2kDa, GenBank登录号NP_002746。

[0560] 底物: 5μM ERK2 (K52R),

[0561] 激酶死亡突变体, (GenBank登录号NM_0011949), 具有N端His6标签的aa2-358, MW=43.63kDa, 在大肠杆菌中表达。

[0562] 在新鲜制备的反应缓冲液中制备底物。激酶被递送至底物溶液中并轻轻混合。通过声学技术(Echo550; 纳升范围)将测试化合物在100%DMSO中输送到激酶反应混合物中, 并在室温下孵育20分钟。将³³P-ATP输送到反应混合物中以引发反应。将反应混合物在室温下孵育2小时。通过P81滤膜结合法检测激酶活性。

[0563] 生物学实施例1b

[0564] MEK抑制试验

[0565] 使用以下程序测试化合物对MEK1的抑制活性(规程可在赛默飞.com/content/dam/LifeTech/migration/files/drug-discovery/pdfs.par.60256.file.dat/20130430%20ssbk%20customer%20protocol%20and%20a ssay%20conditions.pdf获得)。Z'-LYTE生化测定法(赛默飞)采用基于荧光的偶联酶形式, 并且是基于磷酸化和非磷酸化肽对蛋白水解裂解的敏感性不同。

[0566] 在孔中的1%DMSO(最终)中筛选100%DMSO中的测试化合物。对于10点滴定, 从30μM的起始浓度开始进行3倍系列稀释。

[0567] 将肽/激酶、MAP2K1 (MEK1)/失活的MAPK1 (ERK2)/Ser/Thr 03, 混合物(“肽/激酶混

合物”) 在以下缓冲液 (“激酶缓冲液”) 中稀释至2X工作浓度: 50mM HEPES pH 7.5、0.01% BRIJ-35、10mM MgCl₂、1mM EGTA。最终的10μL激酶反应物包括0.06-0.25ng MAP2K1 (MEK1)、105ng失活的MAPK1 (ERK2), 和2μM Ser/Thr 03, 在50mM HEPES pH 7.5、0.01% BRIJ-35、10mM MgCl₂、1mM EGTA缓冲液中。孵育1小时后, 添加5μL的1:1024稀释的显影剂A (购自英杰公司, 目录号PV3295)。

[0568] 将ATP溶液在激酶缓冲液 (50mM HEPES pH 7.5、0.01% BRIJ-35、10mM MgCl₂、1mM EGTA) 稀释至4倍工作浓度。先前使用Z'-LYTE测定法确定了表观ATP K_m。用显影缓冲液 (购自英杰公司, 目录号P3127) 稀释显影试剂。

[0569] 测定规程: 将2.5μL 4X测试化合物或100nL 100X测试化合物加2.4μL激酶缓冲液、5μL 2X肽/激酶混合物、2.5μL 4X ATP溶液加入到板中, 并置于摇板上30秒钟。在加入5μL显影试剂溶液之前, 在室温下使激酶反应进行60分钟, 然后在摇板上摇动混合物30秒。将混合物在室温孵育60分钟。使用酶标仪测量荧光并分析数据。

[0570] 最大发射率由0%磷酸化对照 (100%抑制对照) 确定, 该对照不含ATP, 因此没有激酶活性。该对照在显影反应中产生100%裂解肽。由与肽底物相同序列的合成磷酸化肽组成的100%磷酸化对照设计用于计算磷酸化百分比。该对照在显影反应中产生非常低百分比的裂解肽。0%磷酸化和100%磷酸化对照可以计算在特定反应孔中实现的磷酸化百分比。对照孔不包含任何激酶抑制剂。

[0571] 筛选中的最小发射率由含有活性激酶的0%抑制对照确定。该对照被设计为在激酶反应中产生10-50%的磷酸化肽。级联分析最多可产生70%的磷酸化肽。

[0572] 在与激酶相同的平板上对每种激酶运行一个已知的抑制剂对照标准曲线 (10点滴定), 以确保该激酶被抑制在先前确定的预期IC₅₀范围内。

[0573] 对于测定的每种浓度的测试化合物, 准备以下对照。通过将不含ATP的测试化合物对照孔与0%磷酸化对照 (不含测试化合物) 进行比较来建立显影反应干扰。无干扰化合物的期望值应为100%。标记了90%到110%之外的任何值。通过将不包含激酶/肽混合物的测试化合物对照孔 (零肽对照) 与0%抑制对照进行比较, 确定测试化合物的荧光干扰。非荧光化合物的期望值应为0%。标记任何大于20%的值。

[0574] 计算表A中的数据。使用来自IDBS的XL fit。剂量响应曲线与型号205 (S型剂量响应模型) 曲线拟合。如果曲线的底部未在-20%和20%抑制之间拟合, 则将其设置为0%抑制。如果曲线的顶部未在70%和130%抑制之间拟合, 则将其设置为100%抑制。

[0575] 表A.

[0576]

	公式
背景荧光校正	$FI_{\text{样品}} - FI_{\text{TCFI Ctl}}$
发射系数 (使用针对背景荧光校正的值)	$\frac{\text{香豆素发射 (445nm)}}{\text{荧光素发射 (520nm)}}$
%磷酸化 (% Phos)	$\left\{ 1 - \frac{(\text{发射系数} \times F_{100\%}) - C_{100\%}}{(C_{0\%} - C_{100\%}) + [\text{发射系数} \times (F_{100\%} - F_{0\%})]} \right\} * 100$
%抑制	$\left\{ 1 - \frac{\% \text{ Phos}_{\text{样品}}}{\% \text{ Phos}_{0\% \text{抑制对照}}} \right\} * 100$
Z' (使用发射系数的值)	$1 - \frac{3 * \text{Stdev}_{0\% \text{ Phos Ctl}} + 3 * \text{Stdev}_{0\% \text{抑制}}}{\text{平均值}_{0\% \text{ Phos Ctl}} - \text{平均值}_{0\% \text{抑制}}}$
数据点之间的差异 (仅单个点)	$ \% \text{抑制}_{\text{点1}} - \% \text{抑制}_{\text{点2}} $
显色反应干扰 (DRI) (无 ATP 对照)	$\frac{\text{发射系数}_{\text{DRI Ctl}}}{\text{发射系数}_{0\% \text{ Phos Ctl}}}$
测试化合物荧光干扰 (TCFI) (检查香豆素和荧光素的发射)	$\frac{FI_{\text{TCFI Ctl}}}{FI_{0\% \text{抑制对照}}}$

[0577] FI=荧光强度

[0578] $C_{100\%}$ =100%磷酸化对照的平均香豆素发射信号[0579] $C_{0\%}$ =0%磷酸化对照的平均香豆素发射信号 $F_{100\%}$ =100%磷酸化对照的平均荧光素发射信号[0580] $F_{0\%}$ =0%磷酸化对照的平均荧光素发射信号

[0581] DRI=显色反应干扰

[0582] TCFI=测试化合物荧光干扰

[0583] 生物学实施例2a

[0584] 细胞水平测试

[0585] 可以在Basu等人,自然(Nature) 356:713-715,1992和DeClue等人,细胞(Cell) 69: 265-273,1992.中找到可用于在NF1相关的细胞增殖测定中测试软MEK抑制剂的细胞系的制备。另外,确定本文所述的软MEK抑制剂的功效益的示例性体外和体内模型可以在美国专利号 8,211,875和8,487,004中找到,将其全文引入作为参考。

[0586] 生物学实施例2b

[0587] 细胞水平测试

[0588] 或者,可以使用以下程序测量细胞水平的活性。将受试化合物在10mM储备液中溶于DMSO。CellTiter-Glo®2.0发光细胞活力测定试剂购自普洛麦格(威斯康星州麦迪逊)。A375和HCT116细胞系购自美国典型培养物保藏中心(弗吉尼亚州马纳萨斯)。对于A375细胞,细胞培养基是DMEM+10%FBS。下表列出了细胞培养基。对于HCT116细胞,细胞培养基是McCoy的5A+10%FBS。所有培养基均补充有100μg/mL的青霉素和100μg/mL的链霉素。将培养物保持在37℃、5%CO₂和95%空气的湿润气氛中。

[0589] 在源板中,将受试化合物从10mM开始在DMSO溶液中稀释10剂及3倍稀释。通过Echo 550将25nL的每种测试化合物从源板中递送至384孔细胞培养板中的每个孔中(T=最终)。

将25μL含2000个A375或HCT116细胞的培养基一式两份添加到每个孔中(T=0,T=最终)。将25μL Cell Titer Glo 2.0试剂添加到细胞培养板的每个孔中(T=0)。将内容物在定轨振荡器上混合2分钟,然后在室温下孵育15分钟以稳定发光信号。通过EnVision 2104多功能酶标仪(铂金埃尔默,加州圣塔克莱拉)记录发光。基于每个培养孔中存在的ATP的定量确定培养物中活细胞的数量。将细胞培养板中的细胞(T=最终)与化合物在37℃、5%CO₂下孵育72小时。向每个孔中加入25μL CellTiter-Glo 2.0试剂。将内容物在定轨振荡器上混合2分钟,然后在室温下孵育15分钟以稳定发光信号。通过EnVision 2104多功能酶标仪(铂金埃尔默,加州圣塔克莱拉)记录发光。基于每个培养孔中存在的ATP的定量确定培养物中活细胞的数量。使用GraphPad Prism 4程序基于S形剂量响应方程 $Y = \text{底} + (\text{顶} - \text{底}) / (1 + 10^{-(\text{LogEC50} - X) * \text{希尔斜率}(\text{HillSlope}))}$ 绘制GI₅₀曲线。方程中的所有参数均通过GraphPad Prism 4程序计算。GI₅₀是根据 $[(T_i - T_z) / (C - T_z)] * 100 = 50$ 计算的化合物浓度,其中T_i是在T=最终处具有测试化合物的细胞的行数据;T_z是在T=0h处不含化合物的细胞的行数据;C是在T=72h处具有对照化合物星形孢菌素(西格玛奥德里奇)的细胞的行数据。相应地,GI₅₀是10^X的值,其中X是使用Excel在Y=50时通过曲线拟合方程式计算得出的。

[0590] 生物学实施例3

[0591] S9稳定性测定

[0592] 通过评估化合物从人S9皮肤部分中消失的速率来评估化合物在人体皮肤中的代谢稳定性。类似地,通过评估化合物从人S9肝部分中消失的速率来评估化合物在人肝脏中的代谢稳定性。以下规程可用于评估皮肤与肝代谢之间的差异。

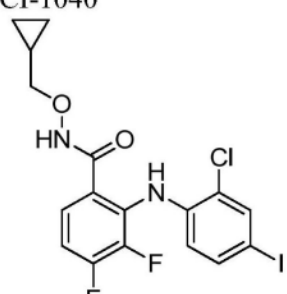
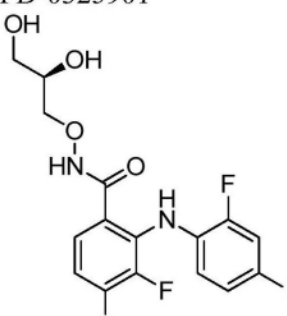
[0593] 该测定在37℃下,在96孔微量滴定板中进行。反应混合物(25μL)包含终浓度为1μM的测试化合物、2mg/mL肝脏或皮肤S9蛋白和1mM NADPH,于缓冲液(100mM磷酸钾、pH 7.4缓冲液,含1mM EDTA、3mM MgCl₂)中。在每个时间点(0、15、30和60分钟),将150μL含内标物的淬灭溶液(100%乙腈和0.1%甲酸)转移到每个孔中。除了零分钟对照,还制备了包含除NADPH以外相同成分的混合物作为阴性对照。包括维拉帕米或睾酮作为阳性对照,以验证测定性能。将板密封并在4℃下以4000rpm离心15分钟。将上清液转移到新鲜的板上进行LC/MS/MS分析。

[0594] 所有样品在LC/MS/MS上分析,使用与岛津LC-20AD LC泵系统连接的AB Sciex API 4000仪器。使用沃特斯亚特兰蒂斯T3 dC18反相HPLC色谱柱(20mm x 2.1mm)以0.5mL/min的流速分离分析样品。流动相由0.1%的甲酸水溶液(溶剂A)和0.1%的甲酸的100%乙腈溶液(溶剂B)组成。

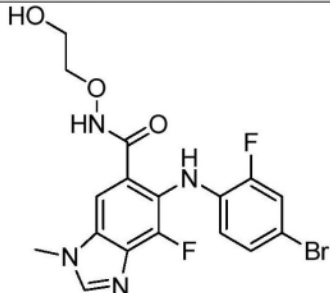
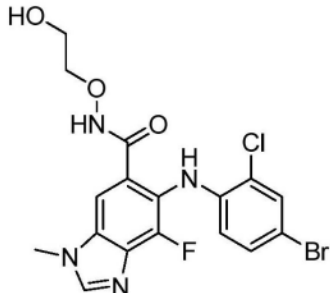
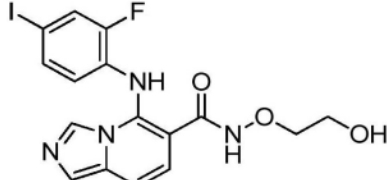
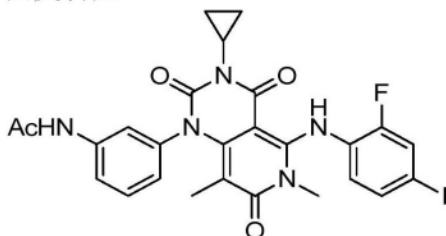
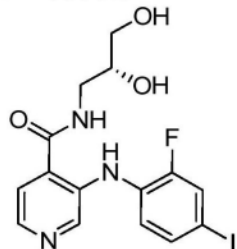
[0595] 将代谢程度计算为与0分钟对照反应孵育相比测试化合物的消失。计算化合物浓度的初始速率,并用于确定t_{1/2}值,然后确定固有清除率,CL_{int} = (0.693) (1/t_{1/2} (min)) (mL孵育/mg S9蛋白)。

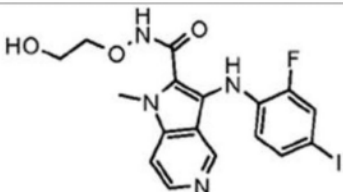
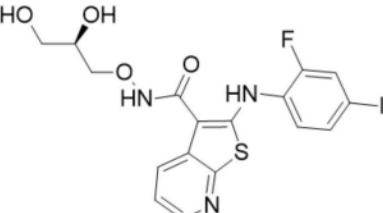
[0596] 下面提供了已知的临床MEK1化合物(C1-C7)在此测定法中的数据。在下面的结果部分中提供了式(I)范围内的化合物的数据。

[0597]

	化合物	肝 S9 $t_{1/2}$ (min)	CLint($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ 蛋白质)
C1	CI-1040 	33	10.37
C2	PD-0325901 	340	1.02
C3	贝尼替尼	277	1.25

[0598]

	化合物	肝 S9 $t_{1/2}$ (min)	CLint($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ 蛋白质)
			
C4	司美替尼 	138	2.50
C5	GDC-0623 	50	6.98
C6	曲美替尼 	402	0.86
C7	匹马赛替尼 	268	1.29

	化合物	肝 S9 $t_{1/2}$ (min)	CL _{int} (μ L/min/mg 蛋白质)
[0599]		66	5.27
		158	2.20

[0600] 生物学实施例4

[0601] 微粒体稳定性测定

[0602] 可以使用人肝微粒体评估内在清除率来评估测试化合物的代谢稳定性。人肝微粒体获自康宁基因测试(Gentest)。

[0603] 该测定是在37℃在96孔微量滴定板中进行的。反应混合物(25 μ L)包含终浓度为1 μ M的测试化合物,0.5mg/mL肝微粒体蛋白和1mM NADPH,于缓冲液(100mM磷酸钾,含3mM MgCl₂的pH 7.4缓冲液)中。在每个时间点(0、15、30和60分钟),将150 μ L含有内标物的淬灭溶液(100%乙腈和0.1%甲酸)转移到每个孔中。包括维拉帕米作为阳性对照,以验证测定性能。将板密封并在4℃下以4000rpm离心15分钟。将上清液转移到新鲜的板上进行LC/MS/MS分析。

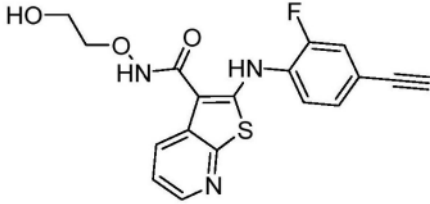
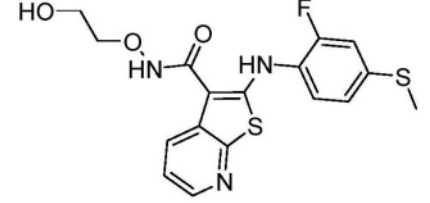
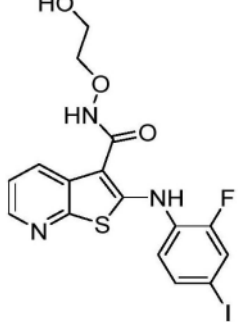
[0604] 所有样品在LC/MS/MS上分析,使用与岛津LC-20AD LC泵系统连接的AB Sciex API 4000仪器。使用沃特斯亚特兰蒂斯T3 dC18反相HPLC色谱柱(20mm x 2.1mm)以0.5mL/min的流速分离分析样品。流动相由0.1%的甲酸水溶液(溶剂A)和0.1%的甲酸的100%乙腈溶液(溶剂B)组成。

[0605] 将代谢程度计算为与0min时间孵育相比测试化合物的消失。计算化合物浓度的初始速率,并用于确定 $t_{1/2}$ 值,然后确定固有清除率 $CL_{int} = (0.693) (1/t_{1/2}(\text{min}))$ (g肝脏/kg体重) (mL孵育/mg微粒体蛋白) (45mg微粒体蛋白/g肝脏重量)。

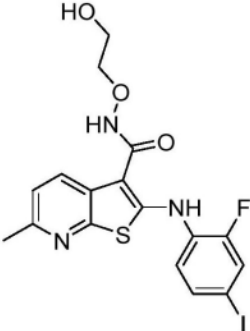
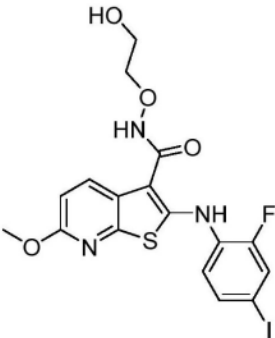
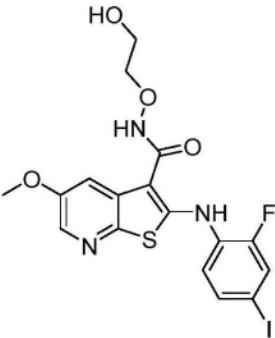
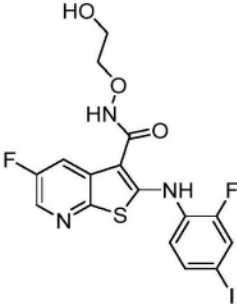
[0606] 生物学实施例1a、2b、2c和3的结果

[0607] 以下内容适用于下表。NT表明化合物未在特定测定中测试。测定1是如生物学实施例1a中所述并且用于化合物2和6的生化MEK IC₅₀ (nM) 测定;化合物1、3、5和7-8使用生物学实施例1b测试。测定2是如生物学实施例2c中所述的A375 (BRAF) GI₅₀ (nM) 细胞水平的测定。如生物学实施例2b中所述,测定3是HCT116 (Kras) GI₅₀ (nM) 测定。测定4是如生物学实施例3中所述的人肝S9半衰期稳定性测定。测定5是如生物学实施例3中所述的人肝S9固有清除值(μ L/min/mg蛋白质)。

[0608]

	化合物	测定				
		1	2	3	4	5
实施例 1		1030	141	348	29	11.84
实施例 2		915	145	257	16	21.17
实施例 3		74	NT	NT	26	13.35

[0609]

	化合物	测定				
		1	2	3	4	5
实施例 5		256	NT	NT	54	6.36
实施例 6		2910	NT	NT	NT	--
实施例 7		150	NT	NT	68	5.10
实施例 8		256	NT	NT	6	57.15

[0610] 生物学实施例5

[0611] 体内模型

[0612] 研究程序:将本文所述的化合物的局部制剂与溶媒的局部制剂一式两份地施用于裸鼠的皮肤。在不连续的时间间隔对皮肤进行活检,并一分为二,将一半在液氮中速冻,一半用福尔马林固定并石蜡包埋。分离蛋白质以用于分析p-ERK水平的蛋白质印迹分析(western blot analysis)。对FFPE切片进行p-ERK免疫染色,以对p-ERK水平进行细胞特异

性分析。其他分析包括H&E染色以研究皮肤完整性。

[0613] 在抑制p-ERK (小鼠皮肤中RAS/MAPK信号传导的下游生物标志物) 方面评估化合物。另外,还评估了小鼠皮肤的增殖、小鼠皮肤的凋亡和小鼠皮肤的组织学完整性。

[0614] 小鼠:从杰克逊实验室获得的8周龄的129只小鼠在开始研究前被剃毛。大约21只小鼠用于研究。将化合物以12小时的间隔施用于小鼠的无毛背部皮肤,并在治疗前、24小时、72小时和96小时使用6mm穿孔活检获得皮肤活组织检查物。

[0615] 蛋白质印迹分析:活检后立即将表皮皮肤在液氮中速冻用于免疫印迹。表皮在裂解缓冲液中裂解并在蛋白质印迹上运行。用于免疫印迹的抗体包括兔抗磷酸化p44/42MAPK (1:3000,细胞信号传导) 和兔抗p44/42MAPK (1:3000,细胞信号传导),小鼠抗肌动蛋白 (1:5,000,西格玛奥德里奇),与辣根过氧化物酶偶联的驴抗小鼠IgG (HRP;1:40,000,安玛西亚生物科学) 以及与HRP偶联的山羊抗兔IgG (1:40,000,杰克逊免疫研究)。

[0616] 免疫组织化学:免疫组织化学在5 μ m石蜡切片上进行。使用标准规程通过酶处理 (1:1000) 进行抗原回收。使用的抗体是兔p-ERK (细胞信号传导,4307S,1:100)。根据制造商的规程,使用了键合聚合物精制抗兔HRP检测 (Bond Polymer Refine anti-rabbit HRP Detection) (莱卡生物系统)。然后将切片用苏木精复染色,脱水,并使用TissueTek-Prisma和盖玻片 (樱花Sakura) 盖膜。

[0617] 组织学分析:对5 μ m石蜡切片进行H&E染色,并检查组织以评估细胞毒性、炎症或小鼠皮肤完整性的其他变化。

[0618] 小鼠皮肤中的外源RAS激活:实验应在未经处理的小鼠皮肤上进行。或者,用TPA预处理皮肤以增强p-ERK水平。在裸鼠皮肤上使用100 μ L丙酮中的12.5 μ g TPA 96小时完成TPA诱导的RAS/MAPK活化。TPA暴露后48小时进行研究。

[0619] 将用T检验评估与溶媒对照相比局部用MEK1抑制剂处理的样品中p-ERK和Ki-67的差异。

[0620] 生物学实施例6a

[0621] 小鼠体内模型

[0622] 本文描述的化合物在NF1的小鼠模型,例如NF1的基因修饰的小鼠模型、人真皮神经纤维瘤 (或皮肤神经纤维瘤) 异种移植的裸鼠模型或两者中进行测试。例如,使用Nf1^{flox}/^{flox}的方法;Jousma等人,小儿科血液癌 (Pediatr.Blood Cancer) 62:1709-1716,2015中描述的Dhh-Cre小鼠模型,可以用于这项研究。核磁共振成像 (MRI) 和体积测量用于测量肿瘤体积。

[0623] 生物学实施例6b

[0624] 小鼠体内模型

[0625] 本研究旨在评估每日两次局部施用本文公开的化合物的皮肤毒性和总体全身毒性,以及评估代谢不稳定性对全身毒性的影响。

[0626] 研究目的:这项研究的主要目的是表征在小鼠中施用25天,每天两次局部施用本文公开的化合物对皮肤和全身的毒性。次要目的包括确定含有三剂本文公开的化合物的制剂在施用至10%体表面积 (BSA) 小鼠皮肤后25天皮肤和血浆化合物水平;每天两次在10% BSA小鼠皮肤上使用25天后,从本文公开的化合物的应用中评估总体全身毒性;以及确定皮肤和血浆化合物水平与相关毒性的相关性。

[0627] 持续时间:25天

[0628] 小鼠:8周大的雄性C57BL/6J小鼠(杰克逊实验室)研究开始前以及每周剃毛。所有实验均将获得斯坦福大学动物护理和使用委员会的批准。

[0629] 干预措施:

[0630]	浓度	Cmpd	老鼠数	%BSA	应用
	0	局部用溶媒	10	10	每天两次,每周5天
	0	口服溶媒	4	N/A	每天口服灌胃,5次/周
	1%	曲美替尼	10	10	每天两次,每周5天
	0.1%	测试化合物	9	10	每天两次,每周5天
	0.5%	测试化合物	9	10	每天两次,每周5天
	1%	测试化合物	9	10	每天两次,每周5天
	0.75mg/kg	曲美替尼	10	N/A	每天口服灌胃,5次/周

[0631] 化合物应用:将测试化合物溶解在50%DMSO/50%丙二醇溶媒中。每天两次将0.125mL的以下化合物施用于小鼠的剃过的背部(10%BSA),每天两次,每周5天,共24天。第一个早晨剂量后8小时应用第二个剂量。所有小鼠每周在应用部位剃毛一次。

[0632] 口服曲美替尼溶于0.5%羟丙基甲基纤维素(西格玛奥德里奇)和0.2%吐温-80(西格玛奥德里奇)中,每天一次每周5天通过口服灌胃(0.2mL丸剂或10mg/kg)给药。这些小鼠也每周剃毛。

[0633] 每周(第0-4周):从第0周开始直到实验结束,每周测量体重;从第0周开始直至实验结束,每周每只小鼠的背部和脸部照片;从第0周到实验结束,每周评估总体大便分析和血红素颜色;和皮肤。

[0634] 第4周(实验结束):在最后一次给药前(N=3)、最后一次给药后1小时(N=3小鼠)和2小时(N=3小鼠)之前收集皮肤和血液;抽血:血浆化合物水平(LCMS);皮肤活检:福尔马林固定用于组织学和p-ERK染色,速冻用于印迹分析和皮肤复合物水平(LCMS)

[0635] 监督:这项研究将在斯坦福IACUC委员会的监督下进行。

[0636] 皮肤活检和胃肠道采样:在实验的第25天结束时,用100%乙醇擦拭皮肤并从每只小鼠的化合物应用部位获得1cm²活组织检查物(以下所述除外)。在3只小鼠的最终剂量之前、3只小鼠的最后一次化合物应用后1小时、3只小鼠的最后一次应用后2小时对皮肤进行活检。立即将一半标本快速冷冻,以进行LCMS分析和蛋白质印迹分析。将一半标本在10%福尔马林中固定24小时,然后转移到乙醇中用于免疫组织化学。胃肠道也用福尔马林固定过夜,然后转移到70%ETOH中储存。

[0637] 蛋白质印迹分析:对于免疫印迹,将总的皮肤活组织检查物在裂解缓冲液中裂解,然后进行蛋白质印迹分析。用于免疫印迹的抗体包括兔抗磷酸化p44/42MAPK(1:3000,细胞信号传导)和兔抗p44/42MAPK(1:3000,细胞信号传导)、兔抗磷酸化Mek1/2(1:3000,细胞信号传导)、小鼠抗肌动蛋白(1:5000,西格玛奥德里奇)、与辣根过氧化物酶偶联的驴抗小鼠IgG(HRP;1:40,000,安玛西亚生物科学)以及与HRP偶联的山羊抗兔IgG(1:40,000,杰克逊免疫研究)。

[0638] 免疫组织化学:免疫组织化学在5μm石蜡切片上进行。

[0639] 抗原修复是通过酶处理完成的。切片用10%正常山羊血清封闭,然后在室温下,在

1:100稀释度下于磷酸化p44/42MAPK (Erk1/2) 兔单克隆抗体 (细胞信号转导) 或小鼠抗Ki-67 (Pharmingen) 中孵育60分钟。用过氧化物酶偶联的抗兔系统 (莱卡生物系统) 进行检测。

[0640] 组织学分析:对5 μ M石蜡切片进行H&E染色,并检查组织以评估细胞毒性、炎症或小鼠皮肤完整性的其他变化。

[0641] 化合物水平分析:液相色谱-质谱法 (LCMS) 用于检测皮肤和血浆中的化合物水平。在LCMS之前,对组织进行如下预处理。在进行LCMS分析之前,将组织切碎并与胶原酶一起孵育,然后使用不锈钢珠匀浆。每种测定均运行校准曲线和QC测试。

[0642] 用以下措施进行生物学实施例6b:口服溶媒、口服曲美替尼、局部用溶媒和局部用曲美替尼(1%)。该研究计划在第25天处死小鼠。但是,在第18天,发现几只经局部应用1%曲美替尼治疗的小鼠死亡,或者由于不可接受的体重下降而被处死。口服曲美替尼治疗的小鼠允许继续进行研究。

[0643] 结果

[0644] 分析了卡普兰迈耶 (Kaplan Meier) 曲线,以确定与溶媒相比,每种措施的皮肤毒性进展。使用T检验比较每种剂量下的化合物水平。还通过免疫染色在细胞水平上评估了Ki-67+细胞和p-ERK表达。蛋白质印迹揭示了p-ERK表达的半定量变化。

[0645] 参见表3,其表明曲美替尼的局部应用显示出明显的毒性。如本文公开和要求保护的化合物由于其更高的代谢不稳定性 (如它们在人肝S9组分中的半衰期所证明的) 而预期表现出较小的全身毒性。

[0646] 表3 存活率

	天									
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	25
[0647] 口服溶媒	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
口服曲美替尼	100%	90%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%
局部用溶媒	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
局部用曲美替尼(1%)	100%	100%	100%	100%	100%	80%	0%	0%	0%	0%

[0648] 生物学实施例7

[0649] 人真皮神经纤维瘤或皮肤神经纤维瘤外植体规程

[0650] 真肤神经纤维瘤 (或皮肤神经纤维瘤) 是在受1型神经纤维瘤病 (NF1) 影响的个体中发展的良性肿瘤,1型神经纤维瘤病 (NF1) 是由NF1基因突变导致RAS/MAPK通路的下游激活引起的罕见遗传疾病。最近的研究表明,在小鼠模型中,使用全身性MEK抑制剂抑制MEK1可以抑制神经纤维瘤和其他与NF-1相关的肿瘤。参见,例如,新英格兰医学杂志 (New Engl J Med) 2016,375;26;临床研究杂志 (J Clin Invest.) 2013,123 (1),340-347;以及小儿科血液癌 (Pediatr Blood Cancer) 2015,62 (10),1709-1716。本研究建立了体外神经纤维瘤外植体模型。

[0651] 研究目的:主要目的是评估本文所述的局部用配制的化合物在抑制p-ERK (神经纤维瘤外植体中RAS/MAPK信号传导的下游生物标记物) 方面的功效。次要目的是评估用本文所述化合物治疗的神经纤维瘤外植体的渗透性 (局部施用该化合物)。

[0652] 样品收集和合格性

[0653] 原发性真皮神经纤维瘤或皮肤神经纤维瘤获自具有临床或遗传学诊断NF1的患

者。使用批准的人类受试者规程(斯坦福IRB#18325)从斯坦福外科诊所获得丢弃的人类神经纤维瘤样品。在主要研究者的指导下鉴定标本,并将其置于细胞增殖培养基(含有青霉素/链霉素(0.1%)的DMEM/F12;二性霉素B(40 μ g/mL);B27(不含维生素A)中。

[0654] 研究中患者需要登记以下数据:患者年龄大于18岁;活检时患者未接受化疗;并且患者基于以下两种情况的存在而对NF1进行了临床和/或基因诊断:

[0655] 1. 青春期前个体中有直径超过5mm且青春期后个体中最大直径超过15毫米的六个或更多个咖啡牛奶斑。

[0656] 2. 任何类型或一种丛状神经纤维瘤的两个或多个神经纤维瘤。

[0657] 3. 在腋窝或腹股沟区的雀斑。

[0658] 4. 两个或多个利舍(Lisch)结节(虹膜错构瘤)。

[0659] 5. 视神经胶质瘤。

[0660] 6. 独特的骨性病变,如蝶骨发育不良或长骨皮质变薄,伴或不伴假关节。

[0661] 7. 按照上述标准的NF-1的一级亲属(父母、兄弟姐妹或后代)。

[0662] 研究程序

[0663] 样本是未经治疗的原发性神经纤维瘤,大小至少为6mm;通过剃刮,打孔活检或椭圆形切除术切离样品;样本具有真皮神经纤维瘤或皮肤神经纤维瘤的组织学诊断。在主要研究者的指导下确定了标本

[0664] 将样本切成2mm的碎片,并置于含有细胞增殖培养基(含有青霉素/链霉素(0.1%)的DMEM/F12;二性霉素B(40 μ g/mL);B27(不含维生素A))的24孔板中,并浸入含有药物的培养基中。对于局部凝胶应用,将样品置于96孔板中表皮表面暴露于空气。

[0665] 将实施例8的化合物的局部凝胶制剂以及溶媒的局部凝胶制剂局部施用于人神经纤维瘤外植体的表面,并在4小时收获以进行分析。凝胶制剂为在DMSO/PEG 400 1:1(v/v)中的1%羟丙基纤维素。将收获的组织一分为二,一半速冻,一半固定在10%福尔马林中,石蜡包埋以供进一步分析。

[0666] 蛋白质印迹分析:为了进行免疫印迹,将总皮肤活检样本在裂解缓冲液中裂解,然后进行蛋白质印迹分析。用于免疫印迹的抗体包括兔抗磷酸化p44/42MAPK(1:3000,细胞信号传导)和兔抗p44/42MAPK(1:3000,细胞信号传导)、兔抗磷酸化Mek1/2(1:3000,细胞信号传导)、小鼠抗肌动蛋白(1:5000,西格玛奥德里奇)、与辣根过氧化物酶偶联的驴抗小鼠IgG(HRP;1:40,000,安玛西亚生物科学)以及与HRP偶联的山羊抗兔IgG(1:40,000,杰克逊免疫研究)。

[0667] 免疫组织化学:免疫组织化学在5 μ m石蜡切片上进行。使用标准规程通过酶处理(1:1000)进行抗原回收。使用的抗体是兔p-ERK(细胞信号传导,4307S,1:100)。根据制造商的规程,使用了键合聚合物精制抗兔HRP检测(Bond Polymer Refine anti-rabbit HRP Detection)(莱卡生物系统)。然后将切片用苏木精复染色,脱水,并使用TissueTek-Prisma和盖玻片(樱花)盖膜。

[0668] 数据分析:半定量蛋白质印迹用于评估与溶媒对照相比,用本文所述化合物处理的样品中p-ERK的差异。

[0669] 结果:图1和图2显示了人皮肤神经纤维瘤外植体中p-ERK的抑制。

[0670] 研究管理:这项研究是在IRB的监督下进行的,并获得了患者的知情同意和HIPAA

授权。

[0671] 结果:图1和图2显示了人皮肤神经纤维瘤外植体中p-ERK的抑制。

[0672] 生物学实施例8

[0673] hERG筛选分析

[0674] hERG筛选使用与Piper等人描述的程序类似的程序进行(Piper,D.R.等人,验定与药品开发技术(Assay Drug Dev.Technol.)2008,6(2):213-223)。PreDictor hERG FP测定(购自赛默飞,目录号PV5365)是一种均相的,基于荧光偏振生化的形式,利用包含hERG通道蛋白(PreDictor hERG膜)和高亲和力的红色荧光hERG通道配体(PreDictor hERG示踪剂红)的膜组分。当PreDictor hERG示踪剂配体与hERG通道结合时,会产生高荧光偏振值。与hERG通道蛋白结合的化合物(竞争者)取代了PreDictor hERG示踪剂红,导致荧光偏振值降低。

[0675] 将测试化合物以所需起始浓度的100倍(或更高)溶于DMSO。最终浓度为1%DMSO时进行筛选。对于10点滴定,从起始浓度开始进行3倍系列稀释。使用的测定缓冲液为25mM HEPES(pH 7.5)、15mM KCl、1mM MgCl₂和0.05%普朗尼克F-127(可从西格玛奥德里奇获得)。

[0676] PreDictor hERG膜以2X的原液在-80℃下保存。滴定每个膜批次以鉴定获得~70%结合示踪剂所需的膜浓度。进行测定之前,将膜在37℃水浴中融化并在室温下保存。为了避免由大的膜颗粒引起的光散射,将膜超声处理直至获得不含颗粒的均匀溶液。解冻后的膜用BransonSonifer®450超声处理10个脉冲(占空比:20%,输出控制:十分之三,计时器:持续)。将样品放回冰中30秒,随后再进行5-10次脉冲直到均匀。超声处理后,将膜在室温下保存。

[0677] 示踪剂(E-4031)有选择地阻断hERG K⁺通道,可从西格玛奥德里奇获得。E-4031以250X母液在-20℃下存储。在测定之前,将示踪剂解冻并在室温下保存。将示踪剂在测定缓冲液中稀释至4X,最终测定浓度为1nM。

[0678] 384孔未处理的小体积聚苯乙烯微孔板(康宁Cat.#4511)用于测定。向每个孔中加入5μL在测定缓冲液(4%DMSO)中稀释的4X测试化合物,或200nL 100%DMSO中的100X测试化合物。将另外的4.8μL测定缓冲液添加到测定板中。在不存在和存在E-4031的情况下进行每种化合物的滴定。将10μL 2X PreDictor hERG膜添加到测定板的适当孔中。将5μL 4X PreDictor hERG示踪剂红添加到适当的测定孔中。将测定板在定轨振荡器上振荡20-30秒。盖上测定板并在室温下孵育3小时。在荧光板读数器(Tecan Safire²)上读取测定板,并分析数据。

[0679] 每个板都与代表100%示踪剂置换(最小极化值)的对照物一起运行,由PreDictor hERG膜的PreDictor hERG示踪剂红的30μME-4031确定。测定孔由30μME-4031、PreDictor hERG膜和PreDictor hERG示踪剂红与1%DMSO组成。

[0680] 每个板还包含对照,该对照代表示踪剂从PreDictor hERG膜的置换为0%(最大极化值)。测定孔包括测定缓冲液、PreDictor hERG膜和PreDictor hERG示踪剂红(含1%DMSO)。

[0681] 测定空白对照孔由PreDictor hERG膜和测定缓冲液组成。在计算极化值之前,将空白孔用于扣除原始的平行和垂直荧光值的背景。

[0682] 每个测定板上均进行已知抑制剂E-4031的8点滴定,一式两份,以确保测定在预期的 IC_{50} 范围内进行。

[0683] 监测以下对照用于测试化合物的每个浓度:

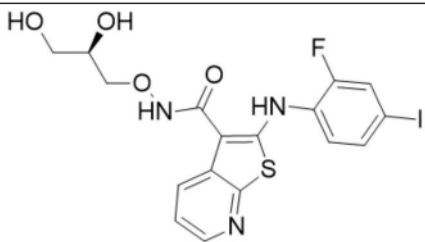
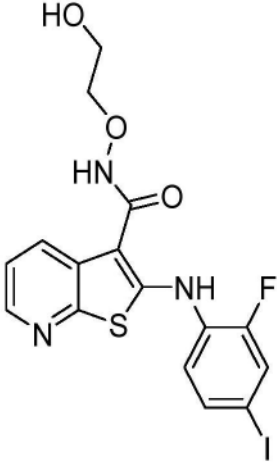
[0684] 测试化合物极化干扰 (TCPI):在较高浓度下,一些测试化合物的极化值可能会显示其他非hERG特异性降低,从而产生似乎影响单点结合模型的数据。在缺少hERG通道蛋白的膜上观察到此现象,表明在膜制备物中存在与示踪剂结合的非hERG组分。这种非特异性相互作用被较高浓度的某些化合物置换,导致极化值降低。在饱和浓度的E-4031的存在下测试了测试化合物对这种非特异性相互作用的影响。用于测试测试化合物极化干扰的测定孔包含测试化合物、30 μ M E-4031、PreDictor hERG膜和含1%DMSO的PreDictor hERG示踪剂红。标记了超出 $\pm 25\%$ 的TCPI计算值。

[0685] 测试化合物的荧光干扰 (TCFI):通过将测试化合物孔的总荧光与0%和100%抑制对照孔的总荧光值进行比较,确定测试化合物的荧光干扰。标记了超出对照 $\pm 20\%$ 的TCFI值。以下方程式用于每组数据点:

	公式
背景扣除垂直荧光强度 (FT _⊥)	RFU _{测试化合物} - RFU _{测定空白}
背景扣除平行荧光强度 (FT)	G-因子 * (RFU _{测试化合物} - RFU _{测定空白})
总荧光强度 (TFT)	FI + (2 * FI _⊥)
测试化合物荧光干扰 (TFT)	
如果 TFI _{0%抑制} > TFI _{100%抑制}	
如果 TFI _{测试化合物} > [平均 (TFI _{0%抑制}) * 1.2]	$\left\{ \frac{\text{平均 TFI}_{\text{测试化合物}}}{\text{平均 TFI}_{0\%抑制}} - 1 \right\} * 100$
如果 TFI _{测试化合物} < [(平均 (TFI _{0%抑制}) * 1.2] 和 如果 TFI _{测试化合物} > [平均 (TFI _{100%抑制}) * 0.8]	0
如果 TFI _{测试化合物} < [平均 (TFI _{100%抑制}) * 0.8]	$\left\{ \frac{\text{平均 TFI}_{\text{测试化合物}}}{\text{平均 TFI}_{100\%抑制}} - 1 \right\} * 100$
如果 TFI _{100%抑制} > TFI _{0%抑制}	
如果 TFI _{测试化合物} > [平均 (TFI _{100%抑制}) * 1.2]	$\left\{ \frac{\text{平均 TFI}_{\text{测试化合物}}}{\text{平均 TFI}_{100\%抑制}} - 1 \right\} * 100$
如果 TFI _{测试化合物} < [(平均 (TFI _{100%抑制}) * 1.2] 和 如果 TFI _{测试化合物} > [Avg (TFI _{0%抑制}) * 0.8]	0
如果 TFI _{测试化合物} < [平均 (TFI _{0%抑制}) * 0.8]	$\left\{ \frac{\text{平均 TFI}_{\text{测试化合物}}}{\text{平均 TFI}_{0\%抑制}} - 1 \right\} * 100$
mP	$\frac{FI_{ } - FI_{\perp}}{FI_{ } + FI_{\perp}} * 1000$
测试化合物偏振干扰 (TCPI)	$\left\{ \frac{mP_{\text{测试化合物}} + E-4031 - mP_{100\%抑制}}{mP_{0\%抑制} - mP_{100\%抑制}} \right\} * 100$
%抑制	$\left\{ 1 - \frac{mP_{\text{测试化合物}} - mP_{\text{测试化合物}} + E-4031}{mP_{0\%抑制} - mP_{100\%抑制}} \right\} * 100$
Z' ^{**} (使用 mP 值)	$1 - \frac{3 * \text{Std Dev}_{0\%抑制} + 3 * \text{Std Dev}_{100\%抑制}}{\text{平均值}_{0\%抑制} - \text{平均值}_{100\%抑制}}$

[0687] 绘图软件:IDBS的XL fit用于制图。剂量响应曲线与型号205(S型剂量响应模型)曲线拟合。如果曲线的底部未在-20%和20%抑制之间拟合,则将其设置为0%抑制。如果曲线的顶部未在70%和130%抑制之间拟合,则将其设置为100%抑制。

[0688] 结果

		7.3 μ M
[0689]	 实施例 3	11.8 μ M

[0690] 生物学实施例10

[0691] MDCK-MDR1双向转运测定

[0692] MDCK-MDR1是源自MDCK细胞的稳定转染细胞系,具有人类MDR1基因的过表达。该细胞系广泛用于P-gp底物和抑制剂的鉴定和表征。

[0693] 将MDCK-MDR1细胞以7,500个细胞/75 μ L/孔接种到96孔密理博Millicell-96板中,并在5%CO₂下于37℃孵育3天。在开始实验之前,用含5mM HEPES的Hank平衡盐溶液(HBSS)洗涤细胞30分钟。通过将DMSO母液稀释到HBSS缓冲液中来制备测试化合物溶液,使DMSO的最终浓度为0.1%。实验之前,通过跨内皮电阻(TEER)验证细胞单层完整性。通过向顶侧(75 μ L)或基底(250 μ L)侧添加测试化合物来启动转运实验。在37℃,5%CO₂的湿润培养箱中孵育转运板。一小时后从供体和受体隔室中取出样品,并通过液相色谱-串联质谱法(LC/MS/MS)进行分析。

[0694] 地高辛用作参考对照。

[0695] 表观渗透率(Papp)值使用以下公式计算: $P_{app} = (dQ/dt) / A / C_0$;其中dQ/dt是测试化合物跨细胞单层转运的初始速率,A是滤膜的表面积,C₀是测试化合物的初始浓度,通过LC/MS/MS使用4点校准曲线针对每个方向计算。

[0696] 两个方向的转运之间的净通量比通过以下公式计算:比率= $P_{app,B-A} / P_{app,A-B}$;其中, $P_{app,B-A}$ 和 $P_{app,A-B}$ 分别表示测试化合物从细胞单层的基底侧到顶侧和顶侧到基底侧的表观渗透率。

[0697] 根据实验结束时的化合物浓度与实验开始时的化合物浓度进行比较(根据体积进行调整),计算回收率。

[0698] 净通量比大于2被认为是确定底物的肯定结果。为了进一步确认对于任何测试化合物观察到的外排活性是否是由于P-gp介导的转运引起的,可以在有效的P-gp抑制剂(例

如GF120918) 存在下进行类似的双向转运研究。如果在实验中添加已知的P-gp抑制剂会以显著量降低净通量比(降低超过50%或将比例降低至接近于单位), 则测试的化合物很可能是P-gp底物。

[0699] 本说明书中引用的所有出版物、专利和专利申请都通过引用并入本文, 就好像每个单独的出版物、专利或专利申请都被具体地和单独地指出通过引用并入。尽管已经根据各种实施方式描述了要求保护的主体, 但是本领域技术人员将理解, 可以在不脱离其精神的情况下进行各种修改、替换、省略和改变。因此, 旨在要求保护的主体范围仅由所附权利要求的范围(包括其等同形式)限制。

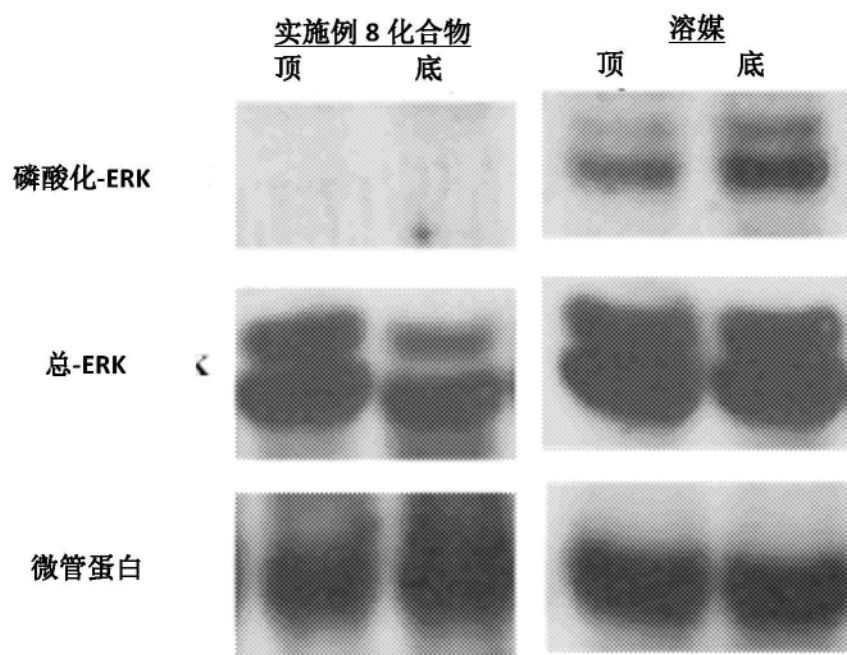
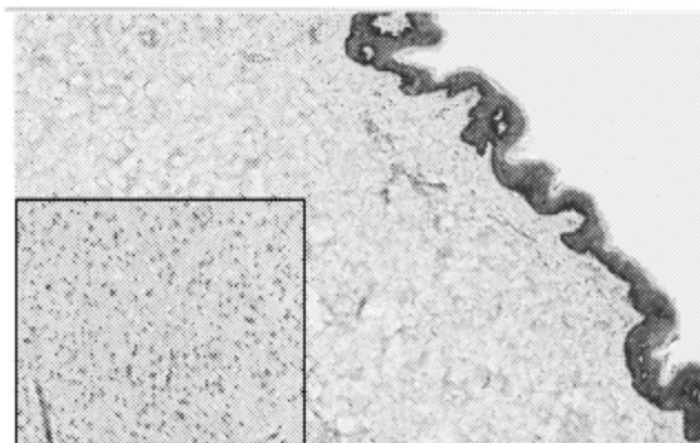
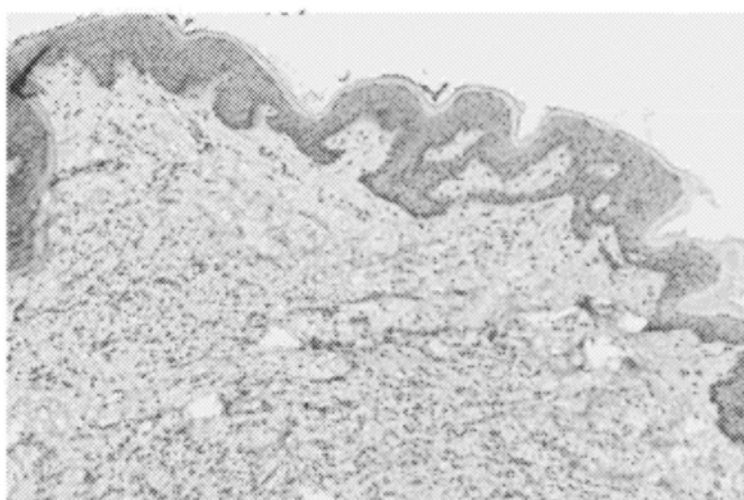


图1. 实施例8的化合物在局部用凝胶制剂(1%)中抑制人皮肤神经纤维瘤外植体中的p-ERK



溶媒



实施例 8 化合物，局部用凝胶制剂

图2. 实施例8的化合物在局部用凝胶制剂(1%)中抑制人皮肤神经纤维瘤外植体中的p-ERK