



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107427524 A

(43)申请公布日 2017. 12. 01

(21)申请号 201580046616.5

(22)申请日 2015.08.28

(30)优先权数据

62/043,063 2014.08.28 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.02.28

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2015/069754 2015.08.28

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/030509 EN 2016.03.03

(71)申请人 翁科埃斯克斯有限公司

地址 瑞士卢塞恩

(72)发明人 埃尔韦·东布雷

(74)专利代理机构 北京天昊联合知识产权代理有限公司 11112

代理人 王静 丁业平

(51)Int.Cl.

A61K 31/551(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

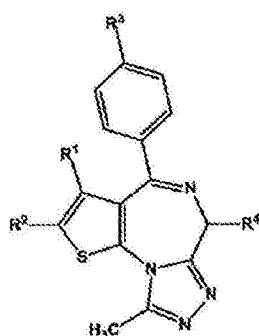
权利要求书3页 说明书41页 附图37页

(54)发明名称

利用包含噻吩并三唑并二氮杂萘化合物的药物组合物治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法

(57)摘要

本发明公开了一种治疗哺乳动物中急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法,包括以下步骤:施用药学可接受的量的由下式(1)表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物,或其药学可接受的盐、或其水合物或溶剂化物:



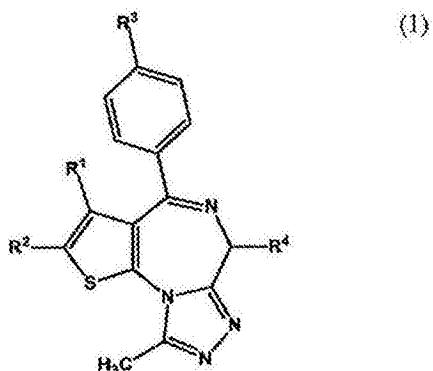
(1)

其中R¹为具有1

个碳的烷基、具有1至4个碳的烷氧基、或氰基取代的苯基, -NR⁵-(CH₂)_m-R⁶, 其中R⁵为氢原子、或具有1至4个碳的烷基, m为0至4的整数, 并且R⁶为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 或-NR⁷-CO-(CH₂)_n-R⁸, 其中R⁷为氢原子或具有1至4个碳的烷基, n为0至2的整数, 并且R⁸为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 并且R⁴为-(CH₂)_a-CO-NH-R⁹, 其中a为1至4的整数, 并且R⁹为具有1至4个碳的烷基, 具有1至4个碳的羟烷基, 具有1至4个碳的烷氧基, 或任选地被具有1至4个碳的烷基、具有1至4个碳的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基; 或-(CH₂)_b-COOR¹⁰, 其中b为1至4的整数, 并且R¹⁰为具有1至4个碳的烷基。

1. 一种治疗哺乳动物中急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法,包括:

施用药学可接受的量的由下式 (1) 表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物,或其药学可接受的盐、或其水合物或溶剂化物:



其中

R^1 为具有 1 至 4 个碳的烷基;

R^2 为氢原子、卤素原子、或任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1 至 4 个碳的烷基;

R^3 为卤素原子, 任选地被卤素原子、具有 1 至 4 个碳的烷基、具有 1 至 4 个碳的烷氧基或氰基取代的苯基, $-NR^5-(CH_2)_m-R^6$, 其中 R^5 为氢原子、或具有 1 至 4 个碳的烷基, m 为 0 至 4 的整数, 并且 R^6 为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 或 $-NR^7-CO-(CH_2)_n-R^8$, 其中 R^7 为氢原子或具有 1 至 4 个碳的烷基, n 为 0 至 2 的整数, 并且 R^8 为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 并且

R^4 为 $-(CH_2)_a-CO-NH-R^9$, 其中 a 为 1 至 4 的整数, 并且 R^9 为具有 1 至 4 个碳的烷基, 具有 1 至 4 个碳的羟烷基, 具有 1 至 4 个碳的烷氧基, 或任选地被具有 1 至 4 个碳的烷基、具有 1 至 4 个碳的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基, 或 $-(CH_2)_b-COOR^{10}$, 其中 b 为 1 至 4 的整数, 并且 R^{10} 为具有 1 至 4 个碳的烷基, 并且

其中在施用所述式 (1) 表示的化合物后, HEXIM1 的表达被上调。

2. 根据权利要求 1 所述的方法, 其中所述由式 (1) 表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物选自由以下化合物构成的组:

(i) (S)-2-[4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并-[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基) 乙酰胺或其二水合物; (ii) (S)-{4-(3'-氰基联苯-4-基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基} 乙酸甲酯; (iii) (S)-{2,3,9-三甲基-4-(4-苯基氨基苯基)-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基} 乙酸甲酯; 以及 (iv) (S)-{2,3,9-三甲基-4-[4-(3-苯基丙酰基氨基) 苯基]-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基} 乙酸甲酯。

3. 根据权利要求 1 所述的方法, 其中所述由式 (1) 表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物为 (S)-2-[4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基) 乙酰胺二水合物。

4. 根据权利要求 1 所述的方法, 其中所述由式 (1) 表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物

为(S)-2-(4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基)-N-(4-羟苯基)乙酰胺。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其中所述噻吩并三唑并二氮杂萘化合物形成固体分散体。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述固体分散体包含无定形的式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物,其药学可接受的盐或其水合物;利药学可接受的聚合物。

7. 根据权利要求5-6中任一项所述的方法,其中所述固体分散体展示出基本不存在与结晶的式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线的X射线粉末衍射图案。

8. 根据权利要求6-7中任一项所述的方法,其中所述药学可接受的聚合物为醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯,其中噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS)的重量比为1:3至1:1。

9. 根据权利要求5-8中任一项所述的方法,其中所述固体分散体展示出约130℃至约140℃的单一的玻璃化转变温度(Tg)拐点。

10. 根据权利要求5-9中任一项所述的方法,其中所述固体分散体包含无定形的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物、或其药学可接受的盐或其水合物;以及药学可接受的聚合物,所述噻吩并三唑并二氮杂萘化合物为(S)-2-(4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基)-N-(4-羟苯基)乙酰胺二水合物。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中所述固体分散体展示出基本不存在与结晶的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线的X射线粉末衍射图案,所述噻吩并三唑并二氮杂萘化合物为(S)-2-[4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺二水合物。

12. 根据权利要求1-11中任一项所述的方法,其中c-MYC RNA水平被下调。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的方法,其中BRD2mRNA水平被下调。

14. 根据权利要求1-13中任一项所述的方法,其中BRD4mRNA水平被下调。

15. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述急性淋巴性白血病是MLL重排的急性淋巴性白血病(ALL)。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中所述MLL重排的ALL的特征在于MLL基因与AF4(MLLT3)基因的融合。

17. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述急性髓细胞白血病(AML)是MLL重排的急性髓细胞白血病(AML)。

18. 根据权利要求17所述的方法,其中所述MLL重排的AML的特征在于MLL基因与AF9(MLLT3)基因的融合。

19. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述急性髓细胞白血病(AML)是NPM1突变的AML。

20. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述急性髓细胞白血病(AML)是BCR-ABL相关的急性髓细胞白血病(AML)。

21. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述急性淋巴性白血病(ALL)是BCR-

ABL相关的急性淋巴性白血病(ALL)。

22. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述急性髓细胞白血病(AML)携带PML-RAR α 融合基因。

23. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述急性髓细胞白血病(AML)是NRAS突变的AML。

24. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述急性髓细胞白血病(AML)携带OP2-FGFR1融合基因。

25. 式(1)的化合物或其药学可接受的盐、或其水合物或溶剂化物用于治疗急性髓细胞白血病的应用。

26. 根据权利要求25所述的化合物,其中所述式(1)的化合物上调HEXIM1的表达。

27. 式(1)的化合物或其药学可接受的盐、或其水合物或溶剂化物用于治疗急性淋巴性白血病的应用。

28. 根据权利要求27所述的化合物的应用,其中所述式(1)的化合物上调HEXIM1的表达。

29. 根据权利要求25-28中任一项所述化合物的应用,其中所述化合物是式(1A)。

30. 根据权利要求25-29中任一项所述化合物的应用,其中所述化合物配制为固体分散体。

31. 式(1)的化合物和药学可接受的聚合物的固体分散体用于治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的应用。

32. 根据权利要求31所述的固体分散体的应用,其中所述式(1)化合物的固体分散体上调HEXIM1的表达。

利用包含噻吩并三唑并二氮杂萘化合物的药物组合物治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法

技术领域

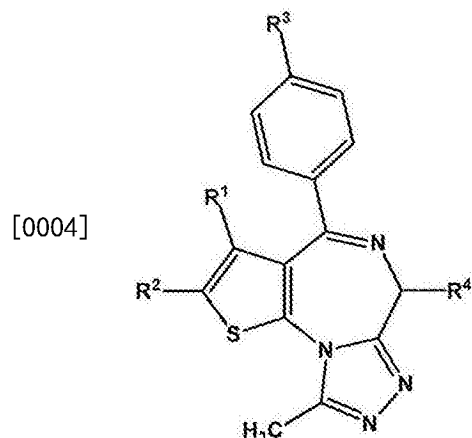
[0001] 本公开涉及治疗方法,特别地,本发明涉及利用噻吩并三唑并二氮杂萘化合物治疗哺乳动物中急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法。

背景技术

[0002] 急性髓细胞白血病和急性淋巴性白血病 (AML和ALL) 构成与成熟停滞、异常造血祖细胞扩增和染色质异常重塑相关的遗传性复杂且异质的肿瘤组。

发明内容

[0003] 在一个方面,本发明供了利用本文所述的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物治疗哺乳动物中急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法。在一些实施方案中,治疗哺乳动物中急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法包括施用药学可接受量的由式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物所表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物、或其药学可接受的盐或水合物或溶剂化物,



[0005] 其中:

[0006] R^1 为具有1至4个碳的烷基;

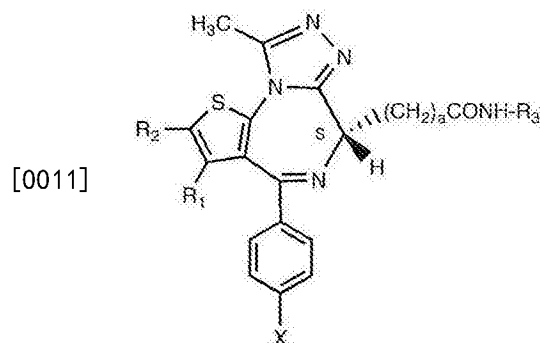
[0007] R^2 为氢原子、卤素原子、或任选地被卤素原子或羟基取代的具有1至4个碳的烷基;

[0008] R^3 为: 卤素原子, 任选地被卤素原子、具有1至4个碳的烷基、具有1至4个碳的烷氧基、或氰基取代的苯基, $-\text{NR}^5-(\text{CH}_2)_m-\text{R}^6$, 其中 R^5 为氢原子、或具有1至4个碳的烷基, m 为0至4的整数, 并且 R^6 为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 或 $-\text{NR}^7-\text{CO}-(\text{CH}_2)_n-\text{R}^8$, 其中 R^7 为氢原子或具有1至4个碳的烷基, n 为0至2的整数, 并且 R^8 为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 并且

[0009] R^4 为: $-(\text{CH}_2)_a-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}^9$, 其中 a 为1至4的整数, 并且 R^9 为具有1至4个碳的烷基, 具有1至4个碳的羟烷基, 具有1至4个碳的烷氧基, 或任选地被具有1至4个碳的烷基、具有1至4个碳的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基, 或 $-(\text{CH}_2)_b-\text{COOR}^{10}$, 其中 b 为1至4的整数, 并

且 R^{10} 为具有1至4个碳的烷基。在一些这样的实施方案中,在施用式(1)表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物后,HEXIM1的表达上调。

[0010] 在一些实施方案中,式(I)选自式(IA)、其药学可接受的盐或水合物:



[0012] 其中, X 为卤素, R^1 为 C_1 - C_4 烷基, R^2 为 C_1 - C_4 烷基, a 为1至4的整数, R^3 为 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 羟烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、任选地具有如式(1)中 R^9 所限定的取代基的苯基、或任选地具有如式(1)中 R^9 所限定的取代基的杂芳基。

[0013] 在治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法的一个实施方案中,式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物形成为固体分散体。在本发明的另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物被配制成包含无定形的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物和药学可接受的聚合物的固体分散体。

[0014] 在一些实施方案中,本公开提供了用于治疗急性髓细胞白血病的式(1)化合物、特别是式(IA)化合物。在一些实施方案中,本公开提供了式(1)的化合物、特别是式(IA)的化合物,其用于治疗急性淋巴性白血病。在本发明的一个实施方案中,式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物形成为固体分散体。在本发明的另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物被配制成包含无定形的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物和药学可接受的聚合物的固体分散体。

[0015] 在一个这样的实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物被配制为包含无定形的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物和药学可接受的聚合物的固体分散体。在一个这样的实施方案中,固体分散体包含(S)-2-[4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺二水合物、其药学可接受的盐或其水合物;和药学可接受的聚合物。在一个实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图中,基本上不存在与结晶的式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。在另一个这样的实施方案中,固体分散体包含无定形的式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物,其药学可接受的盐或其水合物;和药学可接受的聚合物。在一个这样的实施方案中,药学可接受的聚合物为醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯,其中噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS)的重量比为1:3至1:1。在另一个实施方案中,固体分散体表现出约130℃至约140℃的单一的玻璃化转变温度(T_g)拐点。

[0016] 在治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法的一个实施方案中,由式(1)表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物选自由以下化合物构成的组:(a) (S)-2-[4-(4-氯

代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并-[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺或其二水合物; (b) (S)-{4-(3'-氰基联苯-4-基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基}乙酸甲酯; (c) (S)-{2,3,9-三甲基-4-(4-苯基氨基苯基)-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基}乙酸甲酯; 以及 (d) (S)-{2,3,9-三甲基-4-[4-(3-苯基丙酰基氨基)苯基]-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基}乙酸甲酯。

[0017] 在治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法的一个实施方案中,由式(1)表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物为(S)-2-[4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺二水合物。

[0018] 在一个实施方案中,由式(1)表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物为(S)-2-[4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺。

[0019] 应当理解,除非另有说明,本文所述的根据式(1)的化合物的任何实施方案可用于本文所述的药物组合物的任何实施方案中。此外,除非另有说明,本文作为本发明实施方案描述的任何化合物或药物组合物可用作药物,特别是用于治疗在本发明实施方案中所描述的急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病。

附图说明

[0020] 参照示例性实施方案的附图进行阅读,将会更好的理解前面的发明概述以及下面的对本发明的包含噻吩并三唑并三氮杂萘制剂的药物组合物和方法的实施方案的详述。但是,应该理解的是本发明不限于所示的精确设置和手段。

[0021] 在附图中:

[0022] 图1A示出了包含固体分散体的对比制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含25%的化合物(1-1)和Eudragit L 100-55;

[0023] 图1B示出了包含固体分散体的对比制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含50%的化合物(1-1)和Eudragit L 100-55;

[0024] 图1C示出了包含固体分散体的示例性制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含25%的化合物(1-1)和聚乙烯吡咯烷酮(PVP);

[0025] 图1D示出了包含固体分散体的示例性制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含50%的化合物(1-1)和PVP;

[0026] 图1E示出了包含固体分散体的示例性制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含25%的化合物(1-1)和PVP-乙酸乙烯酯(PVP-VA);

[0027] 图1F示出了包含固体分散体的示例性制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含50%的化合物(1-1)和PVP-VA;

[0028] 图1G示出了包含固体分散体的示例性制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含25%的化合物(1-1)和醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS-M);

[0029] 图1H示出了包含固体分散体的示例性制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含

50%的化合物(1-1)和HPMCAS-M;

[0030] 图1I示出了包含固体分散体的示例性制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含25%的化合物(1-1)和羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯(HPMCP-HP55);

[0031] 图1J示出了包含固体分散体的示例性制剂的溶解情况,其中所述固体分散体包含50%的化合物(1-1)和HMCP-HP55;

[0032] 图2A示出了示例性制剂的体内筛选结果,该示例性制剂包含25%化合物(1-1)和PVP的固体分散体;

[0033] 图2B示出了示例性制剂的体内筛选结果,该示例性制剂包含25%化合物(1-1)和HPMCAS-M的固体分散体;

[0034] 图2C示出了示例性制剂的体内筛选结果,该示例性制剂包含50%化合物(1-1)和HPMCAS-M的固体分散体;

[0035] 图3示出了化合物(1-1)的固体分散体的X射线粉末衍射图谱。

[0036] 图4A示出了在环境条件下平衡的25%化合物(1-1)和PVP的固体分散体的修正的差示扫描量热轨迹;

[0037] 图4B示出了在环境条件下平衡的25%化合物(1-1)和HPMCAS-M的固体分散体的修正的差示扫描量热轨迹;

[0038] 图4C示出了在环境条件下平衡的50%化合物(1-1)和HPMCAS-M的固体分散体的修正的差示扫描量热轨迹;

[0039] 图5示出了25%化合物(1-1)和PVP或HPMCAS-M的固体分散体、以及50%化合物(1-1)和HPMCAS-MG的固体分散体的玻璃化转变温度(T_g)对相对湿度(RH)的图;

[0040] 图6示出了在75%相对湿度下平衡的25%化合物(1-1)和PVP的固体分散体的修正的差示扫描量热轨迹;

[0041] 图7A和图7B示出了1mg/kg静脉定量给药后的化合物(1-1)(实心矩形)、3mg/kg口服定量给药的25%化合物(1-1):PVP(空心圆圈)、3mg/kg口服定量给药的25%化合物(1-1):HPMCAS-MG(空心三角形)和3mg/kg口服定量给药的50%化合物(1-1):HPMCAS-MG(空心倒三角)的血浆浓度对时间的曲线。插图描绘了在半对数标度上绘制的相同的数据;

[0042] 图8A和图8B示出了化合物(1-1)作为25%化合物(1-1):PVP(空心圆圈)、25%化合物(1-1):HPMCAS-MG(空心三角形)和50%化合物(1-1):HPMCAS-MG(空心倒三角)在3mg/kg口服定量给药后的血浆浓度对时间的曲线。插图描绘了在半对数标度上绘制的相同的数据;

[0043] 图9示出了在稳定性测试时间为0时,化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的固体分散体的X射线粉末衍射图谱;

[0044] 图10示出了在40℃和75%相对湿度的环境下暴露1个月后,化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的固体分散体的X射线粉末衍射图谱;

[0045] 图11示出了在40℃和75%相对湿度的环境下暴露2个月后,化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的固体分散体的X射线粉末衍射图谱;

[0046] 图12示出了在40℃和75%相对湿度的环境下暴露3个月后,化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的固体分散体的X射线粉末衍射图谱;

[0047] 图13A示出了一组急性白血病细胞系中的基础c-MYC基因表达;

[0048] 图13B示出了在暴露于化合物(1-1)后,一组急性白血病细胞系中的BRD2/3/4蛋白和mRNA表达;

[0049] 图13C示出了在暴露于化合物(1-1)后,一组急性白血病细胞系中的c-MYC基因表达;

[0050] 图13D示出了一组急性白血病细胞系中BRD2、BRD3和BRD4的基因表达水平;

[0051] 图13E示出了在暴露于化合物(1-1)后,一组急性白血病细胞系中BRD2、BRD3和BRD4mRNA表达的相对水平;

[0052] 图13F示出了在用化合物(1-1)处理后,一组急性白血病细胞系中HEXIM1 mRNA表达的相对水平;

[0053] 图14A示出了500nM化合物(1-1)对AML细胞系(K562、KG1a、HL60、HEL、NB4、NOMO-1、KG1、OCI-AML3、KASUMI)和ALL细胞系(JURKAT、BV-173、TOM-1和RS4-11)中细胞周期48小时的影响;

[0054] 图14B示出了500nM化合物(1-1)对于AML细胞系(K562、KG1a、HL60、HEL、NB4、NOMO-1、KG1、OCI-AML3、KASUMI)和ALL细胞系(JURKAT、BV-173、TOM-1和RS4-11)中细胞周期48小时的影响;

[0055] 图14C示出了通过暴露于500nM化合物(1-1)72小时,诱导AML细胞系(HEL、NB4、NOMO-1、OCI-AML-3、KASUMI)和ALL细胞系(JURKAT和RS4-11)患者的细胞凋亡;

[0056] 图14D示出了暴露于500nM化合物(1-1)72小时,活化胱天蛋白酶-3并诱导细胞色素c释放,表明BET抑制至少部分导致线粒体引发的细胞凋亡;

[0057] 图15A示出了通过暴露于500nM化合物(1-1)72小时诱导急性白血病患者的细胞凋亡;

[0058] 图15B示出了化合物(1-1)在AML患者样品中诱导的胱天蛋白酶-3的活化和线粒体细胞色素c的释放;

[0059] 图15C示出了在AML和ALL患者样品中用500nM化合物(1-1)处理48小时后的c-MYC mRNA表达;

[0060] 图15D示出了用500nM化合物(I-1)处理72小时后,三个AML患者样品中的c-MYC、BRD2和GAPDH蛋白表达;

[0061] 图15E示出了各种亚型的AML和ALL患者样品中的BRD2/3/4基因表达;

[0062] 图16A-1示出了在暴露于500nM化合物(1-1)24小时、48小时和72小时后,AML细胞系(K562)和ALL细胞系(RS4-11)中的BRD2/3/4、c-MYC和GAPDH蛋白表达;

[0063] 图16A-2示出了在暴露于500nM化合物(1-1)24小时、48小时和72小时后,AML细胞系(NB4、NOMO-1和HL60)中的BRD2/3/4、c-MYC和GAPDH蛋白表达;

[0064] 图16B-1示出了在暴露于500nM JQ1 24小时、48小时和72小时后,AML细胞系(OCI-AML3和K562)和ALL细胞系(JURKAT和RS4-11)中的BRD2/3/4、c-MYC和GAPDH蛋白表达;

[0065] 图16B-2示出了在暴露于500nM JQ1 24小时、48小时和72小时后,AML细胞系(NB4、NOMO-1和HL60)中的BRD2/3/4、c-MYC和GAPDH蛋白表达;

[0066] 图16C示出了在暴露于JQ1后,一组AML细胞系(K562、HL60、NB4、KG1、OCI-AML3)和ALL细胞系(JURKAT、RS4-11)中的c-MYC基因表达;

[0067] 图17示出了25nM、100nM、250nM和500nM化合物(1-1)对AML细胞系(K562、KG1a、

HL60、HEL、NB4、NOMO-1、KG1、OCI-AML3、KASUMI) 和ALL细胞系 (JURKAT、BV-173、TOM-1和RS4-11) 中细胞周期48小时的影响;

[0068] 图18A示出了AML细胞系和ALL细胞系中的相对c-MYC mRNA表达,其为化合物(1-1)诱导的活性丧失的函数;

[0069] 图18B示出了AML细胞系和ALL细胞系中的相对BRD4 mRNA表达,其为化合物(1-1)诱导的活性丧失的函数;

[0070] 图18C示出了AML细胞系和ALL细胞系中的相对BRD2 mRNA表达,其为化合物(1-1)诱导的活性丧失的函数;

[0071] 图18D示出了AML细胞系和ALL细胞系中的相对BRD3 mRNA表达,其为化合物(1-1)诱导的活性丧失的函数;

[0072] 图18E示出了AML细胞系和ALL细胞系中的相对HEXIM1 mRNA表达,其为化合物(1-1)诱导的活性丧失的函数;

[0073] 图19示出了各种亚型的AML和ALL患者样品中的BRD2/3/4基因表达;

[0074] 图20A示出了暴露于化合物(1-1)后,AML细胞系(K562、HL60、NB4、MOMO-1、KG1、OCI-AML3)和ALL细胞系(JURKAT、RS4-11)的细胞活性降低或细胞凋亡,以及cMYC、BRD2/3/4和HEXIM1表达水平;

[0075] 图20B示出了图20A的色调键(shade key)。

[0076] 发明详述

[0077] 现在,下文将参照附图和实施例来更全面地描述本发明的主题,所述附图和实施例示出了代表性的实施方案。但是,本发明的主题可以以不同的形式体现,并且不应该解释成局限于本发明列出的实施方案。提供这些实施方案旨在描述并使本领域的技术人员能够实施。除非另有说明,否则本发明所用的所有技术和科学术语都具有所述主题所属技术领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。本发明中所提及的所有公开、专利申请、专利和其他参考文献均以引用的方式全文并入本文中。

[0078] I. 定义

[0079] 本文所用的术语“烷基”是指饱和的直链或支链烃。

[0080] 术语“取代的烷基”是指具有一个或多个取代基的烷基部分,其中所述的取代基替代了烃链上的氢或者一个或多个碳。

[0081] 无论术语“烯基”是单独使用还是作为取代基的一部分(例如“C₁₋₄烯基(芳基)”)使用,都是指具有至少一个碳-碳双键部分的部分不饱和支链或直链一价烃基团,其中所述的双键是通过由母体烷基分子的两个相邻碳原子的每个碳原子上除去一个氢原子而得到的,并且所述基团是通过由一个碳原子上除去一个氢原子而得到的。原子可以在双键周围以顺式(Z)或反式(E)构象来排布。典型的烯基基团包括但不限于乙烯基、丙烯基、烯丙基(2-丙烯基)、丁烯基等。例子包括C₂₋₈烯基或C₂₋₄烯基。

[0082] 术语“C_(i-k)”(其中j和k为整数,表示碳原子的指定数量)是指烷基以包含j至k个碳原子(包含端值)的前置代号的脚注来显示的烷基、烯基、炔基、烷氧基或环烷基基团,或者指基团中的烷基部分。例如C₍₁₋₄₎表示包含1、2、3或4个碳原子的基团。

[0083] 如本文所用,术语“卤代”或“卤素”是指F、Cl、Br或I。

[0084] 术语“药学可接受的盐”是本领域公认的,并且是指化合物的相对无毒性的无机酸

和有机酸加成盐,或者有机碱或无机碱加成盐,包括(例如)在本发明的组合物中所包含的那些。

[0085] 如本文所用,术语“固体分散体”是指一组固体产物,其由至少两种不同的组分组成,通常为亲水性载体和疏水性药品(活性成分)。

[0086] 术语“手性的”是本领域公认的,并且是指具有镜像对应部分的非重叠性性质的分子,而术语“非手性”是指可重叠在它们镜像对应部分上的分子。“前手性分子”是指在特定的过程中具有转化成手性分子的潜力的分子。

[0087] 符号“”用于表示键,其可以是单键、双键或三键。

[0088] 术语“对映异构体”和用于描述对映异构体的结构式意指包含“纯的”对映异构体,其不包含光学异构体以及对映异构体及其光学异构体的混合物,其中对映异构体以对映异构体过量而存在,例如至少10%、25%、50%、75%、90%、95%、98%或99%对映异构体过量。

[0089] 当在本文中使用术语“立体异构体”时,由所有的几何异构体、对映异构体或非对映异构体组成。本发明涵盖了这些化合物和它们的混合物的多种立体异构体。此外,所公开的化合物的构象异构体和旋转异构体也被包括在内。

[0090] 如本文所用,术语“立体选择合成”是指这样的化学或酶反应,其中单一的反应物在建立新的立构中心的过程中或者在转化现有的立构中心的过程中形成了立体异构体的不均匀的混合物,并且这些反应是本领域公知的。立体选择合成涵盖了对映选择性和非对映选择性的转化。例如参见Carreira,E.M.和Kvaerno,L.,Classics in Stereoselective Synthesis,Wiley-VCH:Weinheim,2009。

[0091] 术语“喷雾干燥”是指其中涉及将供料悬液或溶液雾化成小滴并在处理室(其中具有用于蒸发的强驱动力,例如热干气、部分真空或它们的组合)中快速除去混合物中的溶剂的工艺。

[0092] 如本文所用,术语“有效量”是指这样的量,本发明的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或任何其他药物活性剂将引发动植物或人的组织、生物系统的靶向生物或医学反应的量,该反应(例如)由研究者或临床医生或医疗保健提供者所预期。在一些实施方案中,术语“有效量”用于指本发明噻吩并三唑并二氮杂萘或任何其他药物活性剂的有效增强正常生理功能的任意量。

[0093] 如本文所用,术语“治疗有效量”是指这样的任何量,与未接受此量的噻吩并三唑并二氮杂萘或者任何其他药物活性剂的相应患者相比,该量的本发明的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或者任何其他药物活性剂改善性地治疗、治愈、预防或减轻疾病、病症或副作用,或者降低疾病或病症的进展的速度。

[0094] 术语“约”是指 $\pm 10\%$ 。在一个实施方案中,术语“约”是指 $\pm 5\%$ 。

[0095] 在本申请及随附的权利要求书的全文中,除非上下文中必须另外说明,否则词语“包括”或其变体(例如“包含”或“包含有”)都应该解释为包括所述的整数或步骤、或者一组整数或步骤,但不排除任何其他的整数或步骤、或一组整数或步骤。此外,术语“包含”应当被理解为隐含着“由...组成”。

[0096] II.应用方法:

[0097] 本文所述的本发明提供了治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法。在各个部分详细描述了本公开内容：III. 噻吩并三唑并二氮杂萘化合物；IV. 制剂；V. 剂型；VI. 剂量；VII. 处理；及VIII. 例子。本领域技术人员将理解，治疗方法的各种实施方案的每一个都包括本文所述的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物、制剂、剂型、剂量和方法的各种实施方案。

[0098] 在一些实施方案中，本公开提供了治疗哺乳动物中急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法，其包括：使用药学可接受量的由式(1)的化合物、特别是式(1A)表示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物，或其药学可接受的盐、溶剂化物、消旋物、对映异构体、同分异构体或同位素标记的形式。

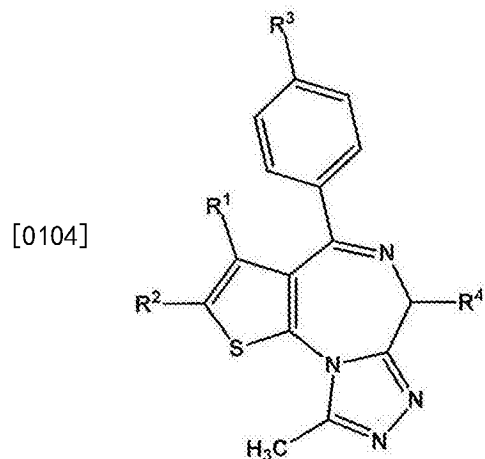
[0099] 在一些实施方案中，本公开提供了治疗哺乳动物中急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法，其包括：向需要的患者施用药学可接受量的组合物，该组合物包含根据本文第III、IV、V和VI部分所描述的任意组合物的固体分散体。

[0100] 在一些实施方案中，本公开提供了治疗哺乳动物中急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法，其包括：向需要的患者施用药学可接受量的组合物，该组合物包含根据本文第III、IV、V和VI部分所描述的任意组合物的药物制剂。

[0101] 在一些实施方案中，本公开提供式(1)、特别是式(1A)的化合物，其用于治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病。

[0102] 在一些实施方案中，本公开提供了根据本文第III、IV、V和VI部分所描述的任意组合物的固体分散体，其用于治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病。

[0103] 在一些实施方案中，本说明书提供了利用式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(包括其任意的盐、异构体、对映异构体、消旋物、水合物、溶剂化物、代谢物和多晶型物)治疗急性髓细胞白血病或急性淋巴性白血病的方法，



[0105] 其中：

[0106] R^1 为具有1至4个碳的烷基；

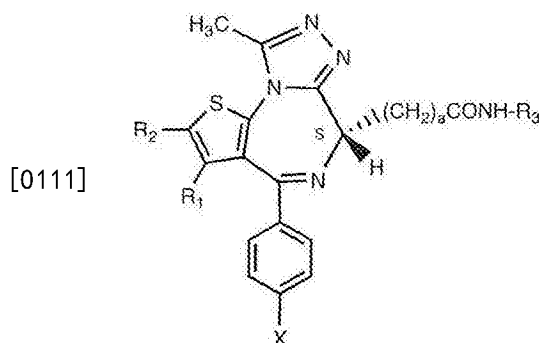
[0107] R^2 为氢原子、卤素原子、或任选地被卤素原子或羟基取代的具有1至4个碳的烷基；

[0108] R^3 为：卤素原子，任选地被卤素原子、具有1至4个碳的烷基、具有1至4个碳的烷氧基、或氰基取代的苯基， $-NR^5-(CH_2)_m-R^6$ ，其中 R^5 为氢原子、或具有1至4个碳的烷基， m 为0至4的整数，并且 R^6 为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基，或 $-NR^7-CO-(CH_2)_n-R^8$ ，其中 R^7 为

氢原子或具有1至4个碳的烷基, n 为0至2的整数, 并且 R^8 为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 并且

[0109] R^4 为: $-(CH_2)_a-CO-NH-R^9$, 其中 a 为1至4的整数, 并且 R^9 为具有1至4个碳的烷基, 具有1至4个碳的羟烷基, 具有1至4个碳的烷氧基, 或任选地被具有1至4个碳的烷基、具有1至4个碳的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基, 或 $-(CH_2)_b-COOR^{10}$, 其中 b 为1至4的整数, 并且 R^{10} 为具有1至4个碳的烷基。

[0110] 在一些实施方案中, 式(I)选自式(IA)、其药学可接受的盐或水化物:



[0112] 其中, X 为卤素, R^1 为 C_1 - C_4 烷基, R^2 为 C_1 - C_4 烷基, a 为1至4的整数, R^3 为 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 羟烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、任选地具有如式(1)中 R^9 所限定的取代基的苯基、或任选地具有如式(1)中 R^9 所限定的取代基的杂芳基。

[0113] 在一些实施方案中, 本公开提供了式(1)化合物, 特别是式(IA)化合物, 其用于治疗急性髓细胞白血病。在一些实施方案中, 本公开提供式(1)的化合物, 特别是式(IA)的化合物, 其用于治疗急性淋巴性白血病。

[0114] 在一些实施方案中, 式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物被配制为包含无定形的式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐或其水合物和药学可接受的聚合物的固体分散体。这样的固体分散体的各种实施方案在本文中进行描述并且可以相应地使用。

[0115] 在一些实施方案中, 本公开提供了根据本文第III、IV、V和VI部分所描述的任意组合物的固体分散体, 其用于治疗急性髓细胞白血病。在一些实施方案中, 本公开提供了根据本文第III、IV、V和VI部分所描述的任意组合物的固体分散体, 其用于治疗急性淋巴性白血病。

[0116] 在根据本发明治疗急性髓细胞白血病的方法的一些实施方案中, c -MYC RNA水平被下调。在根据本发明治疗急性髓细胞白血病的方法的一些实施方案中, BRD2、BRD3和/或BRD4 mRNA水平被上调。在根据本发明治疗急性髓细胞白血病的方法的其他实施方案中, BRD2、BRD3和/或BRD4 mRNA水平被下调。在一个实施方案中, BRD2、BRD3和/或BRD4 mRNA水平被下调, 其中ALL对所施用的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物具有抗性。在根据本发明治疗急性髓细胞白血病的方法的一些实施方案中, HEXIM1表达是上调的。在一个实施方案中, HEXIM1水平被上调, 其中ALL对所施用的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物敏感。

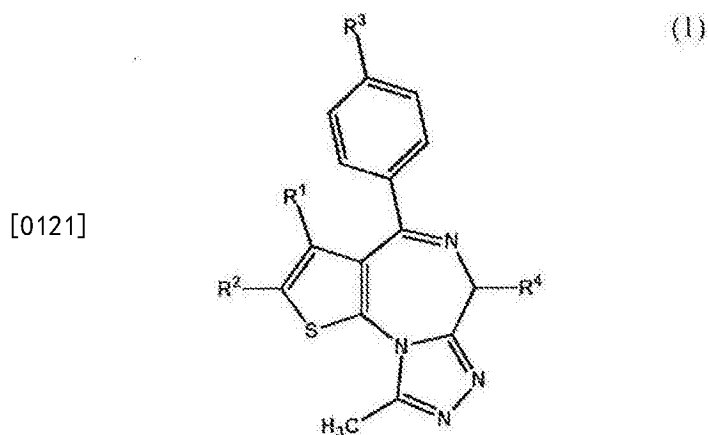
[0117] 在根据本发明治疗急性淋巴性白血病的方法的一些实施方案中, c -MYC RNA水平被下调。在根据本发明治疗急性淋巴性白血病的方法的一些实施方案中, BRD2、BRD3和/或BRD4 mRNA水平被上调。在根据本发明治疗急性淋巴性白血病的方法的其他实施方案中,

BRD2、BRD3和/或BRD4mRNA水平被下调。在一个实施方案中, BRD2、BRD3和/或BRD4mRNA水平被下调, 其中ALL对所施用的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物具有抗性。在根据本发明治疗急性淋巴性白血病的方法的一些实施方案中, HEXIM1表达被上调。在一个实施方案中, HEXIM1水平被上调, 其中ALL对所施用的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物敏感。

[0118] 本文所用的哺乳动物受试者可以是任何哺乳动物。在一个实施方案中, 哺乳动物受试者包括但不限于人; 非人灵长类动物; 啮齿动物如小鼠、大鼠或豚鼠; 家养宠物如猫或狗; 马、牛、猪、绵羊、山羊或兔。在一个实施方案中, 哺乳动物受试者包括但不限于鸟, 例如鸭、鹅、鸡或火鸡。在一个实施方案中, 哺乳动物受试者是人。在一个实施方案中, 哺乳动物受试者可以是任何性别, 并且可以是任何年龄。

[0119] III. 噻吩并三唑并二氮杂萘化合物:

[0120] 在一个实施方案中, 在本发明的制剂中使用的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物如式(1)所示, 包括其任意的盐、异构体、对映异构体、消旋物、水合物、溶剂化物、代谢物和多晶型物:



[0122] 其中R¹为具有1至4个碳的烷基;

[0123] R²为氢原子、卤素原子、或任选地被卤素原子或羟基取代的具有1至4个碳的烷基;

[0124] R³为: 卤素原子, 任选地被卤素原子、具有1至4个碳的烷基、具有1至4个碳的烷氧基、或氰基取代的苯基, $-NR^5-(CH_2)_m-R^6$, 其中R⁵为氢原子、或具有1至4个碳的烷基, m为0至4的整数, 并且R⁶为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 或 $-NR^7-CO-(CH_2)_n-R^8$, 其中R⁷为氢原子或具有1至4个碳的烷基, n为0至2的整数, 并且R⁸为任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 并且

[0125] R⁴为: $-(CH_2)_a-CO-NH-R^9$, 其中a为1至4的整数, 并且R⁹为具有1至4个碳的烷基, 具有1至4个碳的羟烷基, 具有1至4个碳的烷氧基, 或任选地被具有1至4个碳的烷基、具有1至4个碳的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基, 或 $-(CH_2)_b-COOR^{10}$, 其中b为1至4的整数, 并且R¹⁰为具有1至4个碳的烷基。

[0126] 在一个实施方案中, 合适的烷基包括含有1个碳原子至4个碳原子的直链或支链烷基基团。在一个实施方案中, 合适的烷基包括含有1个碳原子至3个碳原子的直链或支链烷基基团。在一个实施方案中, 合适的烷基包括含有1个碳原子至2个碳原子的直链或支链烷基基团。在一个实施方案中, 示例性的烷基基团包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基。在一个实施方案中, 示例性的烷基基团包括但不限于甲基、

乙基、丙基、异丙基、2-甲基-1-丙基和2-甲基-2-丙基。

[0127] 在一些实施方案中,本发明提供了本文所述的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物的药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)和同位素标记的形式。在一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物的药学可接受的盐包括与无机酸形成的酸加成盐。在一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘的药学可接受的无机酸加成盐包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、磷酸、偏磷酸、硝酸和硫酸的盐。在一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物的药学可接受的盐包括与有机酸形成的酸加成盐。在一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化的药学可接受的有机酸加成盐包括以下酸的盐:酒石酸、乙酸、三氟乙酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、富马酸、苯甲酸、甲酸、丙酸、乙醇酸、葡萄糖酸、马来酸、琥珀酸、樟脑硫酸、异硫羧酸(isothionic acid)、粘酸、龙胆酸、异烟酸、糖二酸、葡萄糖醛酸、糠酸、谷氨酸、抗坏血酸、邻氨基苯甲酸、水杨酸、苯乙酸、扁桃酸、扑酸(帕莫酸)、甲烷磺酸、乙烷磺酸、泛酸、硬脂酸、磺胺酸、褐藻酸、半乳糖醛酸和芳基磺酸(例如苯磺酸和4-甲基苯磺酸)。

[0128] 本发明提供了本发明所述的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物的药学可接受的同位素标记形式,其中一个或多个原子被原子数相同、但是原子量或质量数与天然常见的原子量或质量数不同的原子所替代。适于包含在噻吩并三唑并二氮杂萘化合物中的同位素的实例包括以下元素:氢,例如²H和³H;碳,例如¹¹C、¹³C和¹⁴C;氯,例如³⁶Cl;氟,例如¹⁸F;碘,例如¹²³I和¹²⁵I;氮,例如¹³N和¹⁵N;氧,例如¹⁵O、¹⁷O和¹⁸O;以及硫,例如³⁵S。通常可以通过本领域那些技术人员已知的常规技术来制备噻吩并三唑并二氮杂萘化合物的同位素标记形式。

[0129] 式(1)所示化合物的某些同位素标记形式(例如引入了放射性同位素的那些)可用于药品和/或底物的组织分布研究中。由于放射性同位素氚(³H)和碳-14(¹⁴C)易于引入和即时的检测手段,所以它们特别适用于上述目的。使用较重的同位素(例如氘(²H))进行取代可以提供由于更广的代谢稳定性而产生的某些治疗益处,例如体内半衰期增长或者剂量需求降低,因此,在一些情况下可以是优选的。使用发射正电子的同位素(例如¹¹C、¹⁸F、¹⁵O和¹³N)进行取代可以用于正电子发射断层成像术研究(PET)中,以用于检测底物受体的占用。

[0130] 在一些实施方案中,本发明公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物可以与药学可接受的溶剂以溶剂化和非溶剂化的形式存在。本领域技术人员应该理解的是,溶剂化物为溶质(在这种情况下为本发明所述的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物)和溶剂形成的化学计量可变的复合物。优选的是此类溶剂不会干扰溶质(噻吩并三唑并二氮杂萘化合物)的生物活性。用于形成溶剂化物的合适的溶剂的实例包括但不限于水、甲醇、二甲基亚砜、乙醇和乙酸。所用的合适的溶剂为药学可接受的溶剂。合适的是,所用的溶剂为水。在一个实施方案中,本发明所述的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物的药学可接受的溶剂化物包括乙醇溶剂化物、异丙醇溶剂化物、二氧戊烷溶剂化物、四氢呋喃溶剂化物、二甲基亚砜溶剂化物、叔丁醇溶剂化物、2-丁醇溶剂化物、二氧戊烷溶剂化物、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2(1H)-嘧啶酮(“DMPU”)溶剂化物、1,3-二甲基咪唑啉酮(“DMI”)溶剂化物和1,3-二甲基咪唑啉酮(“DMP”)溶剂化物、或它们的混合物。

[0131] 在一些实施方案中,本发明所述的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物可以包含一个或多个手性中心和/或双键,因此可以以几何异构体、对映异构体或非对映异构体的形式存在。可以根据Cahn-Ingold-Prelog规则来命名噻吩并三唑并二氮杂萘化合物的对映异构体和非对映异构体,所述的规则将“R”或“S”描述符指定给每个立构中心(通常也称为手性中心),并将E或Z描述符指定给每个碳-碳双键(以命名几何异构体),这样可以通过在系统名中包含描述符而独特地描述整个分子的构造。

[0132] 在一些实施方案中,本发明所述的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物可以以外消旋混合物或外消旋物的形式存在,其可以包含手性分子的等量的左旋和右旋对映异构体。可以通过前缀(±)-或dl-来表示此类外消旋混合物,表明右旋和左旋异构体的相等(1:1)的混合物。此外,前缀rac-(或racem-)或符号RS和SR也可以用于命名外消旋混合物。

[0133] 此外,由取代基围绕碳-碳双键的排列或者取代基围绕环烷基或杂环的排列而产生的几何异构体也可以存在于本发明的化合物中。在一些实施方案中,符号  可用于表示可以为单键、双键或三键的键。围绕碳-碳双键的取代基可以命名为呈“Z”或“E”构型,其中根据IUPAC标准使用术语“Z”和“E”。除非另有说明,否则描述双键的结构涵盖了“Z”和“E”异构体。围绕碳-碳双键的取代基也可以称为“顺式”或“反式”,其中“顺式”表示取代基在双键的同侧上,而“反式”表示取代基在双键的对侧上。取代基围绕碳环的排列也可以命名为“顺式”或“反式”。术语“顺式”表示取代基在环的平面的同侧上,而术语“反式”表示取代基在环的平面的对侧上。其中取代基置于环的平面的同侧和对侧上的化合物所形成的混合物命名为“顺式/反式”或“Z/E”。

[0134] 在一些实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物可以以单晶或多晶形式或多型物存在。在一个实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物包含其无定形形式。在一个实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物包含其单一多晶型物。在另一个实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物包含其多晶型物的混合物。在另一个实施方案中,所述化合物为结晶形式。

[0135] 在一些实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物可以以单一对映异构体或者对映异构体的富集形式存在。在一个实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物以对映异构体过量百分比(entiomeric excess)超过80%的形式存在。在一个实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物以对映异构体过量百分比超过90%的形式存在。在一个实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物以对映异构体过量百分比超过98%的形式存在。在一个实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物以对映异构体过量百分比超过99%的形式存在。在一个实施方案中,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物以选自由至少10%、至少25%、至少50%、至少75%、至少90%、至少95%、至少98%和至少99%所构成的组中的对映异构体过量百分比的形式存在。

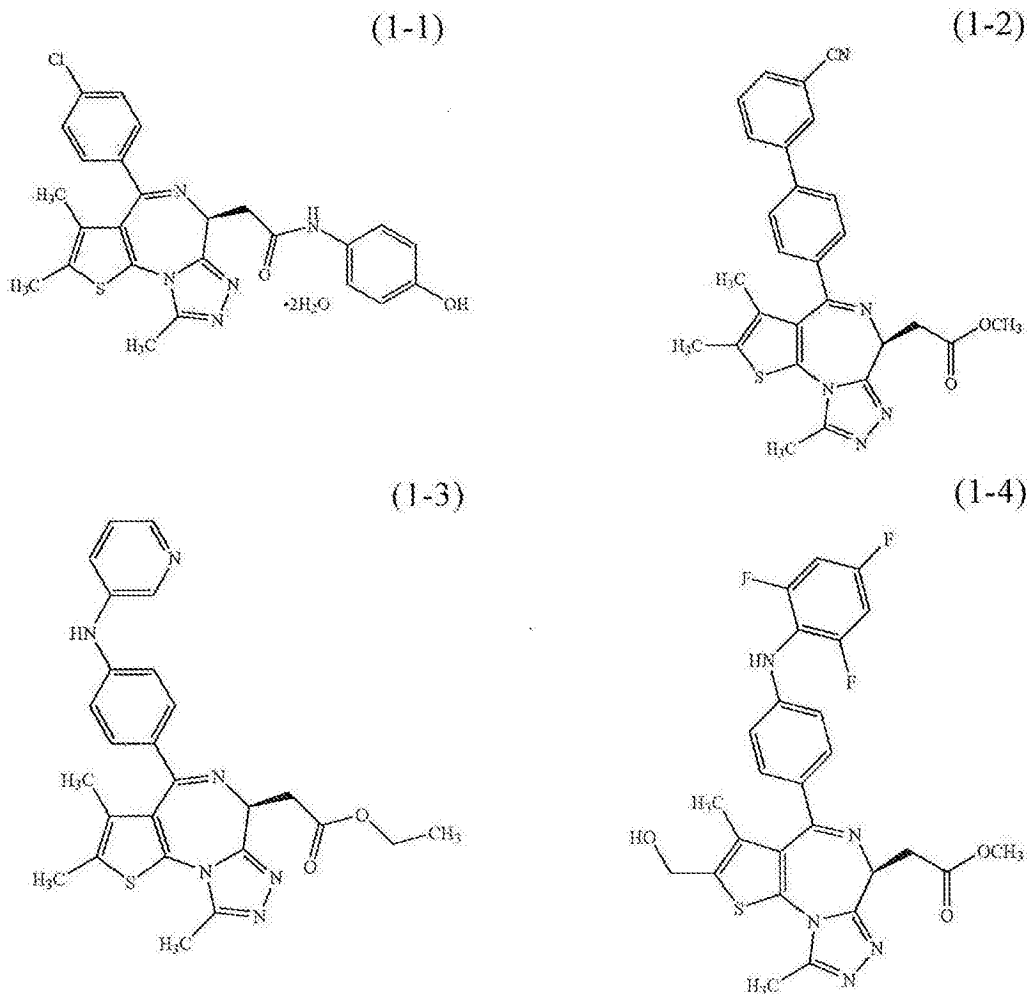
[0136] 对于一对映异构体对而言,可以使用以下等式(等式(1))来计算对映异构体E1相对于对映异构体E2的对映异构体过量百分比:

[0137] 对映异构体E1的过量百分比 $\% = \frac{(E1-E2) \times 100\%}{(E1+E2)}$ 等式(1)

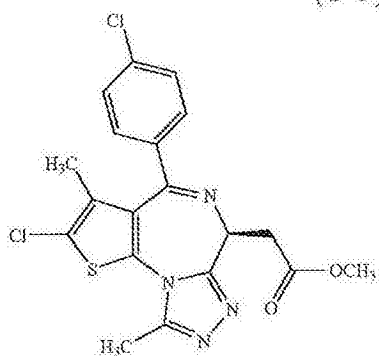
[0138] 可以通过手性高效液相色谱 (HPLC)、核磁共振 (NMR) 或任何其他合适的方法来测定E1和E2的相对量。在一些实施方案中,对映异构体化合物的纯度可以指对映异构体E1和E2相对于其他材料的量,这些其他物质特别包括副产物和/或未反应的反应物或试剂。

[0139] 式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物包括但不限于噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)至(1-18),其列于下表A中。本文将表A的化合物(1-1)也称为OTX-015、OTX015或Y803。

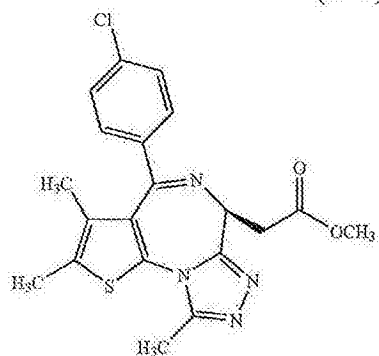
[0140] 表A:本发明的制剂中可以使用的示例性化合物:



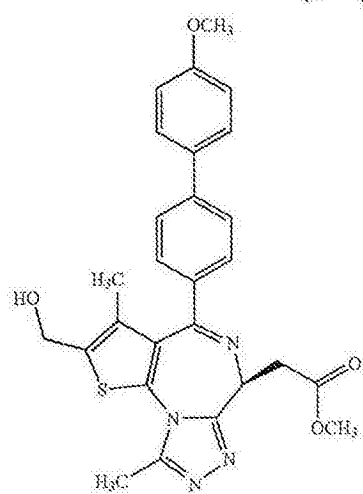
(1-5)



(1-6)

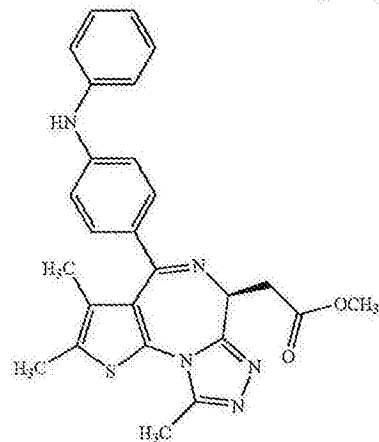


(1-7)

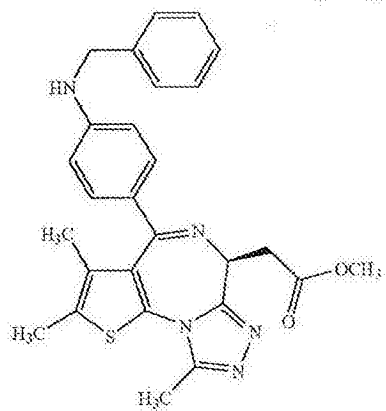


[0142]

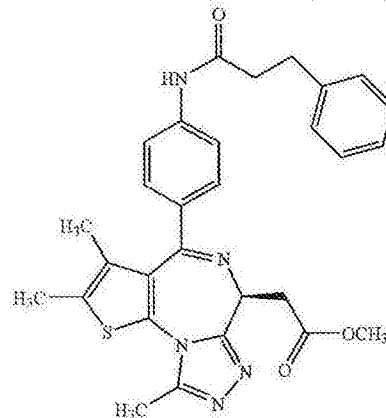
(1-8)



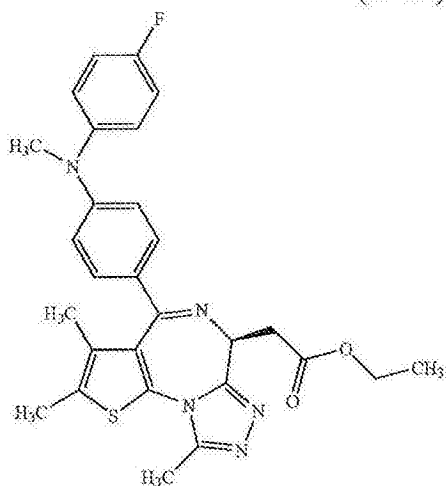
(1-9)



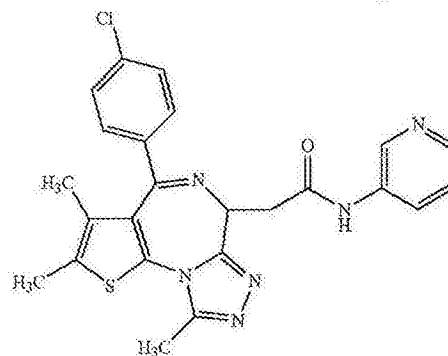
(1-10)



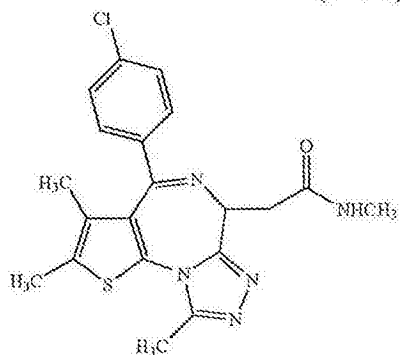
(1-11)



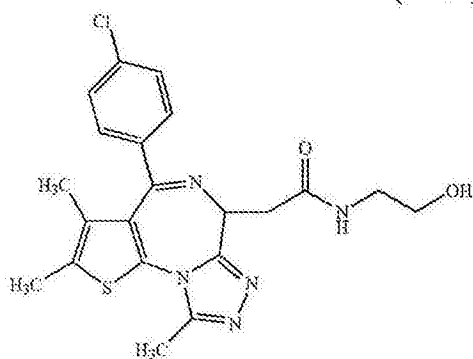
(1-12)



(1-13)

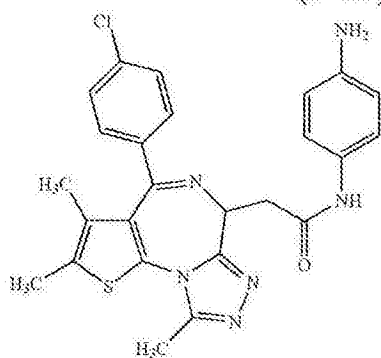


(1-14)

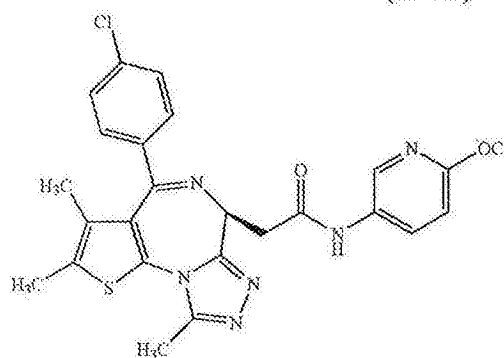


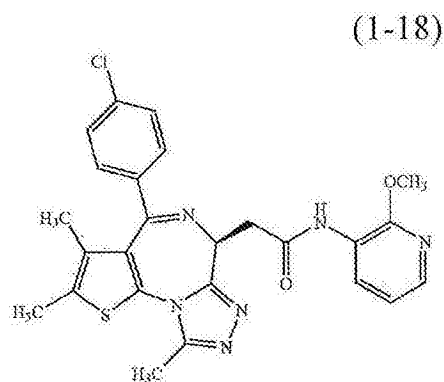
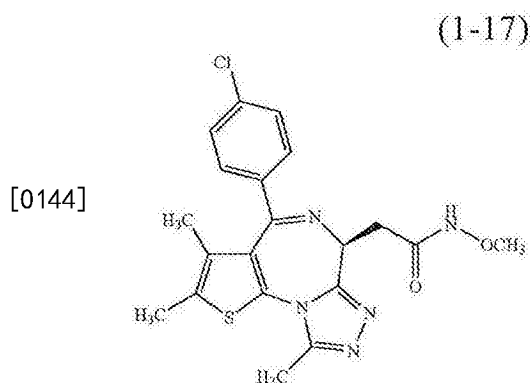
[0143]

(1-15)



(1-16)





[0145] 在一些实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物包括:(i) (S)-2-[4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺或其二水合物;(ii) (S)-{4-(3'-氰基联苯-4-基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基}乙酸甲酯;(iii) (S)-{2,3,9-三甲基-4-(4-苯基氨基苯基)-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基}乙酸甲酯;以及(iv) (S)-{2,3,9-三甲基-4-[4-(3-苯基丙酰基氨基)苯基]-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基}乙酸甲酯。

[0146] 在一些实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物包括(S)-2-[4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺二水合物。

[0147] IV. 制剂:

[0148] 式(1)所示的化合物在盖伦组合物的常规给药和制备方面表现出非常特有的困难,特别包括药物生物利用度以及患者间和患者内的剂量应答的可变性的特定问题,由此需要针对几乎水不溶性的所述化合物开发非常规的剂型。

[0149] 之前,已经发现可以利用载体丙烯酸乙酯-甲基丙烯酸甲酯-三甲基铵乙基甲基丙烯酸酯氯化物共聚物(Eudragit RS,由Rohm公司制造)将式(1)所示的化合物配置成固体分散体,从而提供在下肠道中优先释放药物组分以用于治疗炎性肠病(例如溃疡性结肠炎和克罗恩病)的口服制剂(2009年1月8日公开的美国专利申请20090012064A1)。通过多个实验(包括动物试验),发现就炎性肠病而言,药物在病变部位的释放及其对炎性病变的直接作用比其由胃肠道吸收至循环中更为重要。

[0150] 现在,意外地发现根据式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物、其药学可接受的盐、溶剂化物(包含水合物)、消旋物、对映异构体以及同位素标记的形式可以使用药学可接受的聚合物配制成固体分散体,从而提供口服制剂,该口服制剂能够使药物组分由胃肠道高度吸收至循环中,从而治疗炎性肠病以及其他疾病。在狗和人类中的研究证明,与之前研发的用于治疗炎性肠病的Eudragit固体分散体制剂相比,所述这些固体分散体具有高的口服生物利用度。

[0151] 固体分散体为改善水溶性差的药物的口服生物利用度的一种手段。

[0152] 如本文所用,术语“固体分散体”是指一组固体产物,其包含至少2种不同的成分,通常为亲水性载体和疏水性药物(根据式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物)。基于药物

在分散体内的分子排布,可以区分为6种不同类型的固体分散体。通常,固体分散体分为:简单低共熔混合物、固溶体、玻璃溶液和悬浮液、以及结晶载体中的无定形沉淀。此外,可存在一些组合,例如在同一样品中,一些分子可以成簇存在,而一些分子以分子形式分散。

[0153] 在一个实施方案中,根据式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物可以以分子形式分散于无定形颗粒(簇)中。在另一个实施方案中,根据式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物可以以结晶颗粒形式分散。在一个实施方案中,载体可以是结晶的。在另一个实施方案中,载体可以是无定形的。

[0154] 在一个实施方案中,本发明提供了包含固体分散体的药物组合物,其中所述固体分散体由以下形成:根据式(1)的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或其同位素标记形式;以及药学可接受的聚合物。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(也称为醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯或HPMCAS)。在一个实施方案中,分散体中噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS)的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(T_g)。在一些实施方案中,单一的T_g在130℃至140℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的T_g在约135℃出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约2θ=21°下,在无定形晕(amorphous halo)上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。在一些实施方案中,醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS)可包括:具有9%乙酰基/11%琥珀酰基的M级(例如,平均粒径为5μm的HPMCAS(即,HPMCAS-MF,细粉级)或平均粒径为1mm的HPMCAS(即,HPMCAS-MG,颗粒级));具有12%乙酰基/6%琥珀酰基的H级(例如,平均粒径为5μm的HPMCAS(即,HPMCAS-HF,细粉级)或平均粒径为1mm的HPMCAS(即,HPMCAS-HG,颗粒级));以及具有8%乙酰基/15%琥珀酰基的L级(例如,平均粒径为5μm的HPMCAS(即,HPMCAS-LF,细粉级)或平均粒径为1mm的HPMCAS(即,HPMCAS-LG,颗粒级))。

[0155] 在一个实施方案中,本发明提供了一种药物组合物,其包含式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式在药学可接受的聚合物中的固体分散体。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为聚乙烯吡咯烷酮(也称为聚维酮或PVP)。在一个实施方案中,分散体中噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与PVP的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(T_g)。在一些实施方案中,单一的T_g在175℃至约

185℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的T_g在约179℃出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约21°2θ下,在无定形晕上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物有关的衍射线。在一些实施方案中,聚乙烯吡咯烷酮的分子量可为约2,500 (Kollidon®12PF,重均分子量在2,000至3,000之间)、约9,000 (Kollidon®17PF,重均分子量在7,000至11,000之间)、约25,000 (Kollidon®25,重均分子量在28,000至34,000之间)、约50,000 (Kollidon®30,重均分子量在44,000至54,000之间)或约1,250,000 (Kollidon®90或Kollidon®90F,重均分子量在1,000,000至1,500,000之间)。

[0156] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含无定形形式的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式与药学可接受的聚合物的固体分散体。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为醋酸羟丙甲纤维素琥珀酸酯。在一个实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物与醋酸羟丙甲纤维素琥珀酸酯的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萆化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萆化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(T_g)。在一些实施方案中,单一的T_g在130℃至140℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的T_g在约135℃出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约21°2θ下,在无定形晕上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物有关的衍射线。

[0157] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含无定形形式的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式与药学可接受的聚合物的固体分散体。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为聚乙烯吡咯烷酮。在一个实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物与聚乙烯吡咯烷酮的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萆化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萆化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(T_g)。在一些实施方案中,单一的T_g在175℃至约185℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的T_g在约179℃下出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约21°2θ下,在无

定形晕上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。

[0158] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含结晶形式的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式与药学可接受的聚合物的固体分散体。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯。在一个实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯的重量比为1:3至1:1。

[0159] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含结晶形式的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式与药学可接受的聚合物的固体分散体。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为聚乙烯吡咯烷酮。在一个实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与聚乙烯吡咯烷酮的重量比为1:3至1:1。

[0160] 在一些实施方案中,通过喷雾干燥来制备包含固体分散体的药物组合物。

[0161] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含喷雾干燥的固体分散体,该固体分散体由以下形成:式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式,和药学可接受的聚合物。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯。在一个实施方案中,化合物(1)与醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(T_g)。在一些实施方案中,单一的T_g在130℃至140℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的T_g在约135℃出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约2θ=21°下,在无定形晕上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。

[0162] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含喷雾干燥的固体分散体,该固体分散体由以下形成:式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式和药学可接受的聚合物。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为聚乙烯吡咯烷酮。在一个实施方案中,化合物(1)与聚乙烯吡咯烷酮的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(T_g)。在一些实施方案中,单一的T_g在175℃至185℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的T_g在约179℃出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X

射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约 $21^{\circ}2\theta$ 下,在无定形晕上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。

[0163] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含喷雾干燥的固体分散体,该固体分散体由以下形成:无定形的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式和药学可接受的聚合物。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯。在一个实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(T_g)。在一些实施方案中,单一的 T_g 在 130°C 至 140°C 之间出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在 40°C 、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在其他这样的实施方案中,单一的 T_g 在约 135°C 出现。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约 $21^{\circ}2\theta$ 下,在无定形晕上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。

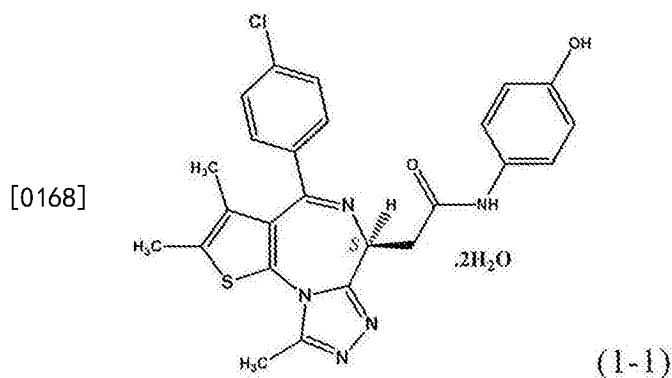
[0164] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含喷雾干燥的固体分散体,该固体分散体由以下形成:无定形的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式和药学可接受的聚合物。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为聚乙烯吡咯烷酮。在一个实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与聚乙烯吡咯烷酮的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(T_g)。在一些实施方案中,单一的 T_g 在 175°C 至 185°C 之间出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在 40°C 、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在其他这样的实施方案中,单一的 T_g 在约 179°C 出现。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约 $21^{\circ}2\theta$ 下,在无定形晕上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。

[0165] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含喷雾干燥的固体分散体,该固体分散体由以下形成:结晶形式的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式和药学可接受的聚合物。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯。

在一个实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯的重量比为1:3至1:1。

[0166] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含喷雾干燥的固体分散体,该固体分散体由以下形成:结晶形式的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式和药学可接受的聚合物。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为聚乙烯吡咯烷酮。在一个实施方案中,式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与聚乙烯吡咯烷酮的重量比为1:3至1:1。

[0167] 在一个优选的实施方案中,本发明提供了一种药物组合物,其包含固体分散体,该固体分散体由以下形成:2-[(6S)-4-(4-氯代苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f]-[1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂萘-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺二水合物(化合物(1-1))或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式;以及药学可接受的聚合物,其中所述化合物(1-1)如下:



[0169] 在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为HPMCAS。在一个实施方案中,分散体中化合物(1-1)和HPMCAS的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一个实施方案中,固体分散体是喷雾干燥的。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(Tg)。在一些实施方案中,单一的Tg在130℃至140℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的Tg在约135℃出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约2θ下,在无定形晕上不存在与结晶的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)有关的衍射线。

[0170] 在另一个实施方案中,所述药物组合物包含化合物(1-1)或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式;以及药学可接受的聚合物的固体分散体。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为PVP。在一个实施方案中,分散体中化合物(1-1)和PVP的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萘化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一个实施方案中,固体分散体是

喷雾干燥的。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃玻璃化转变温度(Tg)。在一些实施方案中,单一的Tg在175℃至185℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的Tg在约179℃出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约21°2θ下,在无定形晕上不存在与结晶的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)有关的衍射线。

[0171] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含无定形形式的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式;以及药学可接受的聚合物。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为HPMCAS。在一个实施方案中,分散体中化合物(1-1)与HPMCAS的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萆化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萆化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一个实施方案中,固体分散体是喷雾干燥的。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(Tg)。在一些实施方案中,单一的Tg在130℃至140℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的Tg在约135℃出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约21°2θ下,在无定形晕上不存在与结晶的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)有关的衍射线。

[0172] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含无定形形式的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式与药学可接受的聚合物的固体分散体。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为PVP。在一个实施方案中,分散体中化合物(1-1)与PVP的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,至少一部分噻吩并三唑并二氮杂萆化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在另一个实施方案中,噻吩并三唑并二氮杂萆化合物均匀地分散于整个固体分散体中。在一个实施方案中,固体分散体是喷雾干燥的。在一些实施方案中,固体分散体表现出单一拐点的玻璃化转变温度(Tg)。在一些实施方案中,单一的Tg在175℃至185℃之间出现。在其他这样的实施方案中,单一的Tg在约189℃出现。在一些这样的实施方案中,固体分散体在40℃、相对湿度为75%的环境下暴露至少1个月。在一些实施方案中,在固体分散体的X射线粉末衍射图案中,基本上不存在与结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物有关的衍射线。就本申请的目的而言,“基本上不存在”是指在约21°2θ下,在无定形晕上不存在与结晶的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)有关的衍射线。

[0173] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含结晶形式的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式与药学可接受的聚合物的固体分散体。在一个实施方案中,药学可接受的

聚合物为HPMCAS。在一个实施方案中,分散体中化合物(1-1)与HPMCAS的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,固体分散体是喷雾干燥的。

[0174] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含结晶形式的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记形式与药学可接受的聚合物的固体分散体。在一个实施方案中,药学可接受的聚合物为PVP。在一个实施方案中,分散体中化合物(1-1)与PVP的重量比为1:3至1:1。在一个实施方案中,固体分散体是喷雾干燥的。

[0175] 当经口施用本发明所述的固体分散体时,其表现出特别有利的性质。当在动物或人类的标准生物利用度试验中施用,所述固体分散体的有利性质的示例包括但不限于一致的且高水平的生物利用度。本发明的固体分散体可以包括含有式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物、聚合物以及添加剂的固体分散体。在一些实施方案中,固体分散体可以实现使式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物吸收入血流中,而这是不可能通过仅仅将式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物与添加剂混合而获得的,这是因为式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物药物在水和大多数水性介质中的溶解度可忽略不计。可以使用多种体外和/或体内研究来测量式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或者噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)的生物利用度。体内研究可以使用例如大鼠、狗或人类来进行。

[0176] 相对于时间横坐标(X轴),以纵坐标(Y轴)绘制式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或者噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)的血清或血浆浓度,可以通过由此获得的曲线下面积(AUC)值测量生物利用度。然后,将所述固体分散体中式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或者噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)的AUC值与等价浓度的不包含聚合物的结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或结晶性的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)的AUC值比较。在一些实施方案中,当将所述固体分散体经口施用给狗时,该固体分散体的曲线下面积(AUC)值选自:由静脉施用给狗的对照组合物的相应AUC值的至少0.4倍、0.5倍、0.6倍、0.8倍、1.0倍,其中所述对照组合物包含等价量的结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物。

[0177] 可以通过模拟胃环境和肠环境的pH值的体外测试来测量生物利用度。可以通过以下方法进行测量:将式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)的固体分散体悬浮在pH为1.0至2.0之间的水性体外测试介质中,随后将对照体外测试介质的pH值调节为5.0至7.0。可以在pH值调节后的最初2个小时中的任何时间来测量无定形的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或无定形噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)的浓度。在一些实施方案中,在pH值为5.0至7.0之间的水性体外测试介质中,与不包含聚合物的结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或者结晶的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)的浓度相比,固体分散体使无定形的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物或者无定形的噻吩并三唑并二氮杂萘化合物(1-1)的浓度高至少5

倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或者至少10倍。

[0178] 在其他的实施方案中,在pH值为1.0至2.0的水性体外测试介质中,与不包含聚合物的结晶的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物的浓度相比,固体分散体中无定形的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物或无定形噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)的浓度高至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%。在一些这样的实施方案中,固体分散体的聚合物为HPMCAS。在一些这样的实施方案中,固体分散体的聚合物为PVP。

[0179] 在其他的实施方案中,所述固体分散体中无定形的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物或者无定形噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)的浓度是式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物和药学可接受的聚合物的固体分散体中的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物的浓度的至少40%、至少50%以上、至少60%、至少70%、至少80%,其中所述药学可接受的聚合物选自以下物质组成的组中:羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯和丙烯酸乙酯-甲基内烯酸甲酯-三甲基铵乙基甲基丙烯酸酯氯化物共聚物,其中各固体分散体被置于pH值为1.0至2.0的水性体外测试介质中。在一些这样的实施方案中,固体分散体的聚合物为HPMCAS。在一些这样的实施方案中,固体分散体的聚合物为PVP。

[0180] 在一些实施方案中,当在一定的湿度和温度下暴露一段时间时,本发明所述的固体分散体表现出抵抗式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物或噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)的重结晶的稳定性。在一个实施方案中,无定形的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物或噻吩并三唑并二氮杂萆化合物(1-1)保持无定形的浓度选自:至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%和至少99%。

[0181] V. 剂型:

[0182] 可以用于本发明的固体分散体的合适的剂型包括但不限于胶囊、片剂、小型片剂、珠、微囊剂(beadlet)、丸剂、颗粒(granule)、粒剂(granulate)和粉末。可以使用例如肠溶包衣来包裹合适的剂型。合适的包衣可以包括但不限于邻苯二甲酸乙酸纤维素、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、聚甲基丙烯酸共聚物、或醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS)。在一些实施方案中,可存在某些组合,例如,在同一样品中,本发明的噻吩并三唑并二氮杂萆的一些分子可以成簇存在,而一些分子则以分子形式分散于载体中。

[0183] 在一个实施方案中,本发明的固体分散体可以配制成片剂、囊片或胶囊。在一些实施方案中,本发明的固体分散体可以配制成小型片剂或倒入口中(pour-into-mouth)的颗粒、或者口服粉末的组成(constitution)。在一些实施方案中,本发明的固体分散体与其他的赋形剂(例如,抑制重结晶/沉淀的聚合物、掩味成分等)组合并分散于合适的稀释剂中,从而提供即用型的悬浮制剂。在一些实施方案中,本发明的固体分散体可以配制用于儿科治疗。

[0184] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物被配制用于口服给药。在一个实施方案中,所述的药物组合物包含根据本发明所述的多个实施方案的固体分散体,其包含:式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂萆化合物、或其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、消

旋物、对映异构体、异构体或同位素标记的形式；以及聚合物载体。在一个实施方案中，所述的药物组合物还包含一种或多种添加剂，例如崩解剂、润滑剂、助流剂、粘结剂和填料。

[0185] 用于所述的药物组合物含义合适的药学可接受的润滑剂和药学可接受的助流剂的实例包括但不限于胶态氧化硅、三硅酸镁、淀粉、滑石、三碱式磷酸钙、硬脂酸镁、硬脂酸铝、硬脂酸钙、碳酸镁、氧化镁、聚乙二醇、粉末状纤维素、甘油二十二烷酸酯、硬脂酸、氢化蓖麻油、单硬脂酸甘油酯和硬脂酰富马酸钠。

[0186] 用于所述的药物组合物的合适的药学可接受的粘结剂的实例包括但不限于：淀粉、纤维素及其衍生物，例如微晶纤维素（例如AVICEL PH，得自FMC公司）、羟丙基纤维素、羟乙基纤维素和羟丙基甲基纤维素（HPMC，例如METHOCEL，得自Dow Chemical公司）；蔗糖、右旋糖、玉米糖浆；多糖和明胶。

[0187] 用于所述的药物组合物的合适的药学可接受的填料和药学可接受的稀释剂的实例包括但不限于：糖果制造商的糖、可压缩糖、葡萄糖结合剂、糊精、右旋糖、乳糖、甘露醇、微晶纤维素（MCC）、粉末状纤维素、山梨醇、蔗糖和滑石。

[0188] 在一些实施方案中，在所述的药物组合物中，赋形剂可以发挥多于一种的功能。例如，填料或粘结剂还可以为崩解剂、助流剂、抗粘附剂、润滑剂、甜味剂等。

[0189] 在一些实施方案中，本发明的药物组合物可以还包含添加剂或配料，例如抗氧化剂（例如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基茴香醚（BHA）、二丁基化羟基甲苯（BHT）、 α -生育酚、丙基没食子酸盐和富马酸）、抗微生物剂、酶抑制剂、稳定剂（例如丙二酸）和/或防腐剂。

[0190] 通常，本发明的药物组合物可以配制成任何合适的固体剂型。在一些实施方案中，本发明的固体分散体混合在单位剂型中，例如作为胶囊或片剂、或者多微粒系统（例如颗粒或粒剂、或者粉末），以用于给药。

[0191] 在一个实施方案中，药物组合物包含：根据本发明所述的固体分散体的多个实施方案的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂 䈳 化合物和醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯（HPMCAS）的固体分散体，其中所述噻吩并三唑并二氮杂 䈳 化合物在固体分散体中是无定形的，并且噻吩并三唑并二氮杂 䈳 化合物与醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯（HPMCAS）的重量比为1:3至1:1；45重量%至50重量%的乳糖一水合物；35重量%至40重量%的微晶纤维素；4重量%至6重量%的交联羧甲基纤维素钠；0.8重量%至1.5重量%的胶体二氧化硅；和0.8重量%至1.5重量%硬脂酸镁。

[0192] VI. 剂量：

[0193] 在一个实施方案中，本发明提供了可以配制成任何合适的固体剂型的药物组合物。在一个实施方案中，根据本发明的药物组合物包含本发明所述式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂 䈳 化合物的多种实施方案中的一种或多种，其中所述式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂 䈳 的剂量为约10mg至约100mg。在一个实施方案中，本发明的药物组合物包含本发明所述式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂 䈳 的多种实施方案中的一种或多种，其中所述式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂 䈳 的剂量选自由如下剂量组成的组：约10mg至约100mg、约10mg至约90mg、约10mg至约80mg、约10mg至约70mg、约10mg至约60mg、约10mg至约50mg、约10mg至约40mg、约10mg至约30mg和约10mg至约20mg。在一个实施方案中，本发明的药物组合

物包含本发明所述式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂^{4,5}䓬的多种实施方案中的一种或多种,其中所述式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂^{4,5}䓬的剂量选自由约10mg、约50mg、约75mg、约100mg构成的组。

[0194] 在一些实施方案中,本发明的方法包括向有需要的受试者施用本发明所述多种实施方案中的一种或多种的式(1)所示的噻吩并三唑并二氮杂^{4,5}䓬,其剂量选自由如下剂量组成的组:约1mg、约2mg、约2.5mg、约3mg、约4mg、约5mg、约7.5mg、约10mg、约15mg、约20mg、约25mg、约30mg、约35mg、约40mg、约45mg、约50mg、约55mg、约60mg、约65mg、约70mg、约75mg、约80mg、约85mg、约90mg、约95mg、约100mg、约110mg、约120mg、约130mg、约140mg和约150mg;其剂型选自由以下组成的组:每周一次、每六天一次、每五天一次、每四天一次、每三天一次、每隔一天一次、每天一次、每天两次、每天三次、每天四次、每天五次。在另一个实施方案中,任意前述剂量或剂型可以定期减少或增加。

[0195] 在一些实施方案中,本发明的方法包括向有需要的受试者施用选自由以下化合物构成的组中的噻吩并三唑并二氮杂^{4,5}䓬:化合物(1-1)、(1-2)、(1-3)、(1-4)、(1-5)、(1-6)、(1-7)、(1-8)、(1-9)、(1-10)、(1-11)、(1-12)、(1-13)、(1-14)、(1-15)、(1-16)、(1-17)和(1-18);所述噻吩并三唑并二氮杂^{4,5}䓬的施用剂量选自由以下剂量构成的组:约1mg、约2mg、约2.5mg、约3mg、约4mg、约5mg、约7.5mg、约10mg、约15mg、约20mg、约25mg、约30mg、约35mg、约40mg、约45mg、约50mg、约55mg、约60mg、约65mg、约70mg、约75mg、约80mg、约85mg、约90mg、约95mg、约100mg、约110mg、约120mg、约130mg、约140mg和约150mg;其剂型选自由以下组成的组:每周一次、每六天一次、每五天一次、每四天一次、每三天一次、每隔一天一次、每天一次、每天两次、每天三次、每天四次以及每天五次。在另一个实施方案中,任意前述剂量或剂型可以定期减少或增加。

[0196] 根据特定的治疗目的、治疗阶段等,所述单位剂型适合每日给药1至5次。在一个实施方案中,有需要的受试者可以至少连续两天每日至少1次施用该剂型。在一个实施方案中,有需要的受试者可以至少隔日并每日至少1次施用该剂型。在一个实施方案中,有需要的受试者可以至少每周施用该剂型,并且将该剂型分成相等的和/或不等的剂量。在一个实施方案中,有需要的受试者可以每周施用该剂型,每隔3天和/或每周6次施用。在一个实施方案中,有需要的受试者可以每隔1天、每3天、每4天、每5天、每6天和/或每周以分剂量施用该剂型。在一个实施方案中,有需要的受试者可以每个月服用该剂型的2个或多个等分剂量或非等分剂量。

[0197] 可以使用例如肠溶包衣来包裹所用的剂型(例如胶囊、片剂、小型片剂、珠、微囊剂、丸剂、颗粒、粒剂或粉末)。合适的包衣可以包括但不限于邻苯二甲酸乙酸钠纤维素、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、聚甲基丙烯酸共聚物、或醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS)。

[0198] VII. 工艺:

[0199] 本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂^{4,5}䓬化合物可以以游离碱或酸加成盐的形式存在,其可以根据美国专利申请公开No. 2010/0286127(其全部内容以引用方式并入本文或本申请中)中所述的工序来获得。本发明的噻吩并三唑并二氮杂^{4,5}䓬化合物的各对映异构体

和非对映异构体可以由包含不对称中心或立体异构中心的市售可得的起始材料以合成方式制备,或者通过制备外消旋的混合物、然后通过本领域普通技术人员公知的拆分方法来制备。

[0200] 这些拆分方法例如有:(1)使对映异构体的混合物附着在手性助剂上,通过重结晶或色谱法分离所得的非对映异构体的混合物,并从助剂上释放光学纯产物;(2)使用光学活性拆分剂形成盐;(3)在手性液相色谱柱上直接分离光学对映异构体的混合物;或者(4)使用立体选择性化学试剂或酶试剂进行动力学拆分。此外,外消旋的混合物还可以通过公知的方法(例如手性相色谱法或使化合物在手性溶剂中结晶)而拆分成它们的构成成分的对映异构体。

[0201] 如果需要,本发明所公开的噻吩并三唑并二氮杂 $\text{[1,2-c]}[1,2,4]\text{triazole}$ 化合物的特定对映异构体可以通过不对称合成或者通过使用手性助剂诱导来制备,其中所得的非对映异构体的混合物被分离并且辅助基团被切割,从而提供所需的纯的对映异构体。可选地,在所述分子包含碱性官能团(例如氨基)或酸性官能团(例如羧基)的情况下,非对映异构体的盐是通过以下过程形成的:使用合适的光学活性的酸或碱,然后对非对映异构体(通过本领域公知的分级结晶或色谱手段而由此形成)进行拆分,并在随后回收纯的对映异构体。可使用本领域公知的多种方法来制备式(1)的噻吩并三唑并二氮杂 $\text{[1,2-c]}[1,2,4]\text{triazole}$ 化合物,其中对映异构体的过量百分比通常超过约80%。有利的是,优选的对映异构体的过量百分比大于80%,优选大于90%,更优选大于95%,并且最优选为99%以上。

[0202] 本发明的固体分散体可以通过多种方法来制备,包括熔融和溶剂蒸发方法。本发明的固体分散体还可以根据如下文中所描述的工序制备:Chiou WL, Riegelman S: "Pharmaceutical applications of solid dispersion systems", J. Pharm. Sci. 1971; 60:1281-1302; Serajuddin ATM: "Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs", J. Pharm. Sci. 1999; 88:1058-1066; Leuner C, Dressman J: "Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions", Eur. J. Pharm. Biopharm. 2000; 50:47-60; 以及 Vasconcelos T, Sarmiento B, Costa P: "Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs", Drug Discovery Today 2007; 12: 1068-1075, 所有这些文献均以引用的方式将其全文并入本文中。

[0203] 在一个实施方案中,本发明的固体分散体是通过熔融工艺制备的。在一个实施方案中,熔融工艺包括在载体中将式(1)的噻吩并三唑并二氮杂 $\text{[1,2-c]}[1,2,4]\text{triazole}$ 的多个实施方案的一个或多个熔融。在一个实施方案中,熔融工艺包括使本发明的熔融化合物和载体冷却。在一个实施方案中,熔融工艺包括将熔融的化合物和载体粉碎。在一个实施方案中,在冷却步骤之后将本发明的熔融的化合物和载体粉碎。

[0204] 在一些实施方案中,式(1)的噻吩并三唑并二氮杂 $\text{[1,2-c]}[1,2,4]\text{triazole}$ 或者其药学可接受的盐、溶剂化物(包括水合物)、外消旋物、对映异构体、异构体或同位素标记的形式与载体间不相容,在这种情况下,可以在熔融步骤中加入表面活性剂,从而防止在加热的混合物中形成两个液相或悬液。在一些实施方案中,式(1)的噻吩并三唑并二氮杂 $\text{[1,2-c]}[1,2,4]\text{triazole}$ 的多个实施方案中的一个或多个实施方案悬浮于之前熔融的载体中,而并未使用熔融状态的药品和载体,由此降低

了下艺的温度。在一个实施方案中,在冰浴搅拌下使熔融的药品和载体的混合物冷却。在一个实施方案中,通过喷雾冷却(可选的通过喷雾冷凝)使熔融的药品和载体混合物冷却并固化。

[0205] 在一个实施方案中,通过将熔融物喷雾至冷却室(使环境温度或冷却温度的低温空气通过该冷却室)中以将熔融物形成颗粒,从而使熔融的药品和载体的混合物冷却或固化。在一个实施方案中,通过在合适的流化床处理器中使熔融分散体雾化和再固化,从而使熔融的药品和载体混合物冷却和固化。在一个实施方案中,通过在可加热的高剪切混合器中进行熔融制粒,从而使熔融的药品和载体的混合物冷却并固化。

[0206] 在一些实施方案中,可以采用热段挤出(hot-stage extrusion)或熔融团聚物来避免药物的熔融局限。热段挤出包括如下过程:在熔融温度下将预先混合的药品和载体以高转速在短时间内挤出;在室温下冷却后收集所得的产物并研磨。

[0207] 在一个实施方案中,将式(1)的噻吩并三唑并二氮杂_萘的多种具体物质中的一种或多种物质在较低的温度下加工,从而避免任何热不稳定的化合物发生降解。在一个实施方案中,通过将热段挤出与暂时性增塑剂(例如二氧化碳)结合而实现较低的处理温度。在一个实施方案中,在根据本发明的固体分散体的制备中,在常规的高剪切混合器或旋转处理器中使用熔融团聚物。在一个实施方案中,通过将包含根据本发明的噻吩并三唑并二氮杂_萘化合物的熔融载体加入至加热的赋形剂中,从而制备根据本发明的固体分散体。在一个实施方案中,通过将包含根据本发明的噻吩并三唑并二氮杂_萘化合物、载体和一种或多种赋形剂的混合物加热至载体的熔融范围内或以上的温度,从而制备根据本发明的固体分散体。

[0208] 在一些实施方案中,通过溶剂蒸发方法来制备根据式(1)的噻吩并三唑并二氮杂_萘的制剂的多种具体物质中的一种或多种物质。在一个实施方案中,溶剂蒸发方法包括使根据式(1)的噻吩并三唑并二氮杂_萘和载体溶解于挥发性溶剂中,然后使挥发性溶剂蒸发。在一个实施方案中,挥发性溶剂可以为一种或多种赋形剂。在一个实施方案中,一种或多种赋形剂包括但不限于抗粘剂、惰性填料、表面润湿剂、pH调节剂和添加剂。在一个实施方案中,赋形剂可以溶解于挥发性溶剂中,或者在挥发性溶剂中呈悬浮或膨胀状态。

[0209] 在一个实施方案中,根据本发明的固体分散体的制备包括使悬浮于挥发性溶剂中的一种或多种赋形剂干燥。在一个实施方案中,所述的干燥包括真空干燥、使挥发性溶剂在低温下缓慢蒸发、使用旋转蒸发仪、喷雾干燥、喷雾制粒、冷冻干燥或使用超临界流体。

[0210] 在一个实施方案中,使用了喷雾干燥制备根据式(1)的噻吩并三唑并二氮杂_萘组合物的制剂,其包括使所述的组合物的悬液或溶液雾化成小滴,然后快速除去制剂中的溶剂。在一个实施方案中,根据本发明的制剂的制备涉及喷雾制粒,其中将位于溶液中的组合物的溶液或悬液喷雾至合适的化学惰性和/或物理惰性填料上,例如乳糖或甘露醇。在一个实施方案中,通过双通或三通喷嘴对所述的组合物的溶液或悬液进行喷雾制粒。

[0211] 在一些实施方案中,根据本发明的固体分散体的制备包括使用超临界流体。术语“超临界流体”是指在临界温度和临界压力以上以单一液相存在的物质。在一个实施方案中,根据本发明的制剂的制备包括使用超临界二氧化碳流体。在一个实施方案中,利用超临

界流体技术制备根据本发明的制剂,其包括:将根据式(1)的噻吩并三唑并二氮杂 䈔 组合物和载体溶解于常见溶剂中,该溶剂通过喷嘴与二氧化碳同时被引入至颗粒形成容器中;以及将所述溶液喷雾,从而使溶剂被超临界流体快速萃取,由此使得固体分散体颗粒沉淀在容器的壁上。

[0212] 在一些实施方案中,根据本发明的固体分散体的制备包括使用共沉淀方法。在一个实施方案中,在持续搅拌下将非溶剂滴加至基于式(1)的噻吩并三唑并二氮杂 䈔 和载体溶液的组合物中。在一个实施方案中,在添加非溶剂的过程中,使根据式(1)的噻吩并三唑并二氮杂 䈔 组合物和载体进行共沉淀,从而形成微颗粒。在一个实施方案中,过滤并干燥所得的微颗粒,从而提供所需的固体分散体。

[0213] 通过以下非限定性实施例来说明本发明。

[0214] VIII. 例子:

[0215] 通过以下非限定性实施例来说明本发明。

[0216] 实施例1:化合物(1-1)的固体分散体的体外筛选

[0217] 使用化合物(1-1)以及以下五种聚合物中的一种来制备十种固体分散体,所述聚合物包括醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS-M)、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯(HPMCP-HP55)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、PVP-乙酸乙烯酯(PVP-VA)和Eudragit L 100-55,并且对于每种聚合物,化合物(1-1)的负载率为25%和50%。使用喷雾干燥,然后在低温对流烘箱中进行二次干燥,从而通过溶剂蒸发法来制备固体分散体。通过非沉降溶解性能测试(non-sink dissolution performance test)来评估各固体分散体的性能,所述测试测量药物的总量和随着时间溶液中所存在的游离药物的量。选择非沉降溶解是由于其能够最好地代表低溶解度化合物在体内的情况。该测试包括在分散体被引入至测试介质后约30分钟至40分钟后由胃pH(0.1N NaCl, pH 1.0)转变至肠pH(FaFSSIF, pH 6.5)的“胃转移”,从而模拟了体内的情况。[FaFSSIF为禁食状态的人工肠液,其由3mM的牛黄胆酸钠、0.75mM的卵磷脂、0.174g NaOH颗粒、1.977g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、3.093g NaCl和适量纯净水500mL组成]。使用高效液相色谱(HPLC)法和Agilent 1100串联HPLC来定量溶解药物的量。制剂的溶解情况(图1A-1J)表明:相对于在相同介质中的未经配制的化合物而言,在所有的分散体候选物中,药物的溶解度均大幅升高。在所有固体分散体中,基于在肠pH下释放的游离药物的水平较高这一发现可知,与未经配制的化合物相比,25%化合物(1-1)在PVP中的分散体、25%化合物(1-1)在HPMCAS-M中的分散体、以及50%化合物(1-1)在HPMCAS-M中的分散体对于增强的经口吸收而言是最有前途的候选者。

[0218] 实施例2:化合物(1-1)的固体分散体的体内筛选

[0219] 以更大的规模制备三个最有前途的化合物(1-1)的固体分散体,即25%化合物(1-1)在PVP中的分散体、25%化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的分散体、以及50%化合物(1-1)在HPMCAS-M中的分散体,以用于体内研究。各制剂均经过了实施例1所述的体外溶解测试的评估。为了确保这些分散体是无定形且均质的,通过X射线粉末衍射法(PXRD)和修正的差示扫描量热法(mDSC)来评估各分散体。另外,为了了解水对各种分散体的玻璃化转变温度(T_g)的影响,对首先在设定的相对湿度(即,25%、50%和75%RH)下平衡至少18小时的样品进行mDSC。水可以用作固体分散体的增塑剂,并且由活性化合物或聚合物形成的体系的吸湿性

可以影响被这些体系吸收的水的量。

[0220] 非沉降溶解结果(图2A-2C)与实施例1中分散体的结果相当。PXRD结果(图3)显示没有证据表明任意一种分散体中存在结晶化合物,并且mDSC结果(图4A-4C)显示各分散体均存在单一的玻璃化转变温度(T_g),这表明各分散体是均匀的。X射线衍射计为Bruker D-2Phaser。对于各分散体,观察到 T_g 与相对湿度之间逆相关(图5)。值得注意的是,对于在75%RH下平衡的25%化合物(1-1)在PVP中的固体分散体,出现了两个 T_g ,这表明发生了相分离,并且该分散体还显示出在75%RH下发生了熔化,这表明在RH平衡过程中发生了结晶(图6)。该发现表明25%化合物(1-1)在PVP中的分散体的稳定性弱于HPMCAS-M分散体。

[0221] 为了评估这三种分散体的生物利用度,向多组雄性猎兔犬(每组3只)给予剂量为3mg/kg的化合物(1-1)的固体分散体的水性悬液(通过口服填喂法给药),或者给予剂量为1mg/kg的溶解于水:乙醇:聚乙二醇(PEG)400(60:20:20)中的化合物(1-1),并以静脉推注给药至头静脉中。在静脉给药后的0分钟(服药之前)、5分钟、15分钟和30分钟、和1小时、2小时、4小时、8小时、12小时和24小时,以及在口服填喂给药后的0分钟(服药之前)、15分钟和30分钟、和1小时、2小时、4小时、8小时、12小时和24小时由各动物的颈静脉收集血液样品。使用合格的LC-MS/MS法检测各样品中存在的化合物(1-1)的量,并且量化下限为0.5ng/mL。通过使用线性梯形法则(直至最终可测的浓度,而未将终末消除相外推至无穷大)来测定血浆浓度-时间曲线的曲线下面积(AUC)。通过对对数浓度-时间曲线的终末线性部分进行最小二乘回归分析来计算消除半衰期($t_{1/2}$)。由血浆浓度数据直接得到最大血浆浓度(C_{max})和达到 C_{max} 的时间(t_{max})。通过用口服给药后的剂量归一化的AUC除以静脉给药后的剂量归一化的AUC来计算口服生物利用度(F),并以百分数(%)形式报告。下表1中总结的结果给出了25%化合物(1-1)在PVP中的固体分散体、25%化合物(1-1)在HPMCAS-M中的固体分散体和50%化合物(1-1)在HPMCAS-M中的固体分散体的平均口服生物利用度,分别为58%、49%和74%。

[0222] 表1:狗口服(po)和静脉(iv)给药后的化合物(1-1)的药物动力学参数(数值为3只狗的平均值)

[0223]

化合物(1-1)的制剂	剂量和途径	C_{max} (ng/L)	t_{max} (hr)	AUC (ng•min/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	F (%)
水:乙醇:PEG400 (60:20:20)中的溶液	1 mg/kg IV	769	0.083	53,312	1.5	----
25%化合物 (1-1)/PVP 固体分 散体的水性悬液	3 mg/kg PO	487	1.0	93,271	1.6	58
25%化合物 (1-1)/HPMCAS-M 固体分散体的水性 悬液	3 mg/kg PO	228	0.5	78,595	2.0	49
50%化合物 (1-1)/HPMCAS-M 固体分散体的水性 悬液	3 mg/kg PO	371	1.0	118,174	1.5	74

[0224] AUC:血浆浓度-时间曲线下的面积; $C_{\max}$:最大血浆浓度;F:生物利用度;HPMCAS:醋酸羟丙基甲基纤维素钠;IV:静脉内;PEG:聚乙二醇;PO:经口,口服;PVP:聚乙烯吡咯烷酮; $t_{\max}$:达到 $C_{\max}$ 的时间; $t_{1/2}$:血浆消除半衰期

[0225] 实施例3:包含化合物(1-1)的固体分散体的胶囊的制备和临床应用

[0226] 制备10mg强度的明胶胶囊,在患有恶性血液病的患者中进行初步的临床研究。基于实施例1和2中所述的化合物(1-1)的固体分散体的体外和体内测试结果,选择50%化合物(1-1)在HPMCAS-M中的固体分散体用于胶囊的研发。以3号尺寸的硬明胶胶囊,190mg的填充量为目标来开始胶囊的研发,因为这样的构造可以通过填充更大尺寸的胶囊而潜在地增加胶囊的强度,同时保持药物组合物。根据经验,设计了4种胶囊制剂,其中具有不同量的崩解剂并且具有或不具有润湿剂。由于所有4种制剂都显示出相似的崩解测试和溶解测试结果,所以选择最简单的制剂(不具有润湿剂,并具有最少量的崩解剂)用于制造。进行制造工艺的研发和规模扩大的研究,以确定固体分散体的喷雾干燥工艺和干燥后的时间;共混的参数;为获得约0.60g/cc的目标堆密度的共混物的辊压和研磨;以及胶囊填充的条件。

[0227] 将结晶化合物(1-1)和聚合物醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS-M)溶解于丙酮中,并喷雾干燥,从而生产包含50%化合物(1-1)载量的固体分散体中间体(SDI)颗粒。PXRD分析显示SDI是无定形的,mDSC分析显示SDI是均匀的(即在环境条件下具有单一的 T_g)。在V型搅拌机的多个段中将50%化合物(1-1)在HPMCAS-M中的固体分散体(1000g)和赋形剂(包括微晶纤维素填料-粘结剂(4428g)、交联羧甲基纤维素钠崩解剂(636g)、胶体二氧化硅分散剂/润滑剂(156g)、硬脂酸镁分散剂/润滑剂(156g)和乳糖一水合物填料(5364g))共混。然后将混合物压制并制粒,从而得到约0.6g/mL的堆密度。使用自动化的填充机将混合物分配至3号尺寸的硬明胶胶囊(目标填充量:190mg)中,并使用胶囊抛光机将制得的胶囊抛光。

[0228] 在口服给药10mg胶囊(包含50%化合物(1-1)在HPMCAS中的固体分散体)后进行药物动力学的评估,并将结果与对健康志愿者口服给药4x 10mg胶囊(其包含化合物(1-1)的Eudragit固体分散体)后进行的药物动力学评估加以对比。

[0229] 在下表2A和2B中提供了这两种药物组合物的比较。Eudragit制剂之前在2009年1月8日公开的美国专利申请2009/0012064 A1的实施例5中有所描述。该申请记载:通过在水和乙醇的混合物中溶解和/或分散式(A)所示的噻吩并三唑并二氮杂䓬和包裹用赋形剂(包含氨溶甲基丙烯酸酯共聚物B型(Eudragit RS)、甲基丙烯酸共聚物C型(Eudragit L100-55)、滑石和硅酸铝镁)来制备Eudragit固体分散体制剂。然后,使用离心流化床制粒机将上述的非均匀混合物施加在微晶纤维素球(Nonpareil 101,Freund)上,从而生产分配至2号尺寸的羟丙基甲基纤维素胶囊中的颗粒。

[0230] 在这两个临床研究中,使用经验证的LC-MS/MS方法来测定化合物(1-1)的血液水平,并根据在胶囊给药后24小时内各时间点测量的化合物(1-1)的血浆浓度来进行药物动力学分析。下表3中总结的结果显示,根据AUC(924*4/1140,由于给药剂量的差异而改变),HPMCAS-M固体分散体制剂在人体中的生物利用度比Eudragit固体分散体制剂高3倍以上。此外,根据观察到的 $T_{\max}$,HPMCAS制剂的吸收速度快于Eudragit制剂($T_{\max}$ 为1小时vs 4-6小时)。HPMCAS-M固体分散体制剂的在系统暴露方面的明显改善是意料之外的。

[0231] 表2A:用于临床应用的化合物(1-1)的固体分散体胶囊

[0232] 包含化合物(1-1)的50%HPMCAS固体分散体的药物组合物:10mg强度,3号尺寸的硬明胶胶囊

[0233]

组分	功能	胶囊含量	
		mg	重量 %
式(II)所示的化合物	活性剂	10.0*	5.56
醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS-M)	固体分散体的载体	10.0	5.56
乳糖一水合物	填料	85.0	47.22
微晶纤维素	填料-粘结剂	70.0	38.89
交联羧甲基纤维素钠	崩解剂	10.0	5.56
胶体二氧化硅	分散剂/润滑剂	2.5	1.39
硬脂酸镁	分散剂/润滑剂		
总计		190.0	100.0

[0234] 表2B:包含化合物(1-1)的Eudragit L 100-55固体分散体的药物组合物:10mg强度,2号尺寸的硬明胶胶囊

[0235]

组分	功能	胶囊含量	
		mg	Wt %
化合物(1-1)	活性剂	10.0*	3.8
芯:			
微晶纤维素球(Nonpareil 101, Freund 公司)	媒介物	100.0	38.5
化合物/聚合物层:			

[0236]

氮溶甲基丙烯酸酯共聚物 B 型(NF, PhEur)(Eudragit RS, Evonik)	包衣剂	10.8	4.2
甲基丙烯酸共聚物 C 型(NF)/甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物(1:1)A 型(PhEur) (Eudragit L100-55, Evonik)	包衣剂	25.2	9.7
滑石	包衣剂	88.2	33.9
硅酸铝镁(Neuslin, Fuji Chemical)	包衣剂	20.0	7.7
柠檬酸三乙酯	增塑剂	5.0	1.9
二氧化硅	流化剂	0.8	0.3
		260.0	100.0

[0237] *为无水形式

[0238] 表3:在将化合物(1-1)的固体分散体经口施用给人后的药物动力学参数

[0239]

化合物(1-1)制剂	#患者	剂量和途径	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)	AUC _{0-24h} (ng·h/mL)
Eudragit 固体分散体制剂	7	40 mg PO	83	4 至 6	1140
50% HPMCAS-M 固体分散体制剂	7	10 mg PO	286	1	925

[0240] AUC_{0-24h}: 24小时内OTX015血浆浓度对时间曲线下的面积[0241] C_{max}: 最大血浆浓度

[0242] hr: 小时

[0243] HPMCAS: 醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯

[0244] mL: 毫升

[0245] ng: 纳克

[0246] PO: 经口, 口服

[0247] T_{max}: 达到C_{max}的时间

[0248] 实施例4: 在大鼠中的口服暴露

[0249] 在大鼠中测定化合物(1-1)的固体分散体的3种制剂的口服生物利用度。所选的3种分散体为25%化合物(1-1)在PVP中的分散体、25%化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的分散体和50%化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的分散体。在该研究中使用的动物为得自土尔库大学(芬兰)的中央动物实验室(Central Animal Laboratory)的无特定病体(SPF)的Hsd: Sprague Dawley大鼠。大鼠最初购自位于荷兰的Harlan。大鼠为雌性, 并且为10周龄, 12只大鼠用于该研究中。在聚碳酸酯Makrolon II笼中饲养动物(每个笼中3只), 动物室温为21±3℃, 动物室内的相对湿度为55±15%, 并且动物室内照明为人工照明, 而且为12小时明暗周期的循环(暗周期为18:00至06:00之间)。白杨木屑(Tapvei Oy, Estonia)用于垫料, 并且每周至少更换1次垫料。在对动物定量给药之前提供食物和水, 但是在定量给药后最初的2个小时中移除食物和水。

[0250] 将预先计算的量的注射用无菌水加入至装有采用合适的量的分散体的容器中, 获得化合物(1-1)的浓度为0.75mg/mL, 由此制备包含25%化合物(1-1)在PVP中的分散体的口服定量给药溶液、包含25%化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的分散体的口服定量给药溶液和包含50%化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的分散体的口服定量给药溶液。在每次给药之前, 将口服定量给药溶液进行涡旋混合20秒。用于静脉给药的定量给药溶液包含0.25mg/mL的化合物(1-1), 该定量给药溶液是通过将5mg的化合物(1-1)溶解于这样的混合物中来制备的, 所述混合物包含4mL的平均分子量为400Da的聚乙二醇(PEG400)、4mL的乙醇(96%纯度)和12mL的注射用无菌水。在加入水后的30分钟之内使用含有25%化合物(1-1)在PVP中的分散体的定量给药溶液。在加入水后的60分钟之内使用含有25%化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的分散体的定量给药溶液和含有50%化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的分散体的定量给药溶液。使用4mL/kg定量给药量, 从而使化合物(1-1)的静脉给药的给药水平为1mg/kg, 口服给药的给药水平为3mg/kg。定量给药方案在表4中给出。

[0251] 表4. 用于大鼠口服暴露研究的定量给药方案

[0252]

大鼠	重量	剂量 (mL)	测试项目	途径
1	236.5	0.95	化合物(1-1)	静脉
2	221	0.88	化合物(1-1)	静脉
3	237.5	0.95	化合物(1-1)	静脉
4	255.5	1.02	25%化合物(1-1)在 PVP 中的分散体	口服
5	224.2	0.90	25%化合物(1-1)在 PVP 中的分散体	口服
6	219.2	0.88	25%化合物(1-1)在 PVP 中的分散体	口服

[0253]

7	251.6	1.01	25%化合物(1-1)在 HPMCAS-MG 中的分散体	口服
8	240.4	0.96	25%化合物(1-1)在 HPMCAS-MG 中的分散体	口服
9	238	0.95	25%化合物(1-1)在 HPMCAS-MG 中的分散体	口服
10	226.6	0.91	50%化合物(1-1)在 HPMCAS-MG 中的分散体	口服
11	228.4	0.91	50%化合物(1-1)在 HPMCAS-MG 中的分散体	口服
12	228.5	0.91	50%化合物(1-1)在 HPMCAS-MG 中的分散体	口服

[0254] 在定量给药后的0.25小时、0.5小时、1小时、2小时、4小时、8小时、12小时和24小时的时间点,将约50 μ L的血液样品收集至包含5 μ L乙二胺四乙酸(EDTA)溶液的Eppendorf管中,并且每个样品都是在距所述时间点5分钟时间窗内收集的。由各样品获得20 μ L血浆并储存在干冰温度下以用于分析。使用经验证的液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)法对各样品中化合物(1-1)的浓度进行分析,其定量下限为0.5ng/mL。

[0255] 使用Phoenix WinNonlin软件包(6.2.1版,Pharsight Corp公司,CA,USA),采用标准的非房室模型方法来计算药物动力学参数。通过对对数浓度-时间曲线的终末线性部分进行最小二乘回归分析来计算消除半衰期($t_{1/2}$)。通过使用线性梯形法则直至最终可测的浓度,此后将终末消除相外推至无穷大来测定血浆浓度-时间曲线的曲线下面积(AUC)。通过将药物浓度曲线外推至无穷大来计算平均保留时间(MRT),其代表了化合物在房室或系统中保留的平均时间量。由血浆浓度数据直接得到最大血浆浓度(C_{max})和达到 C_{max} 的时间(t_{max})。通过用口服给药后的剂量归一化的AUC除以静脉给药后的剂量归一化的AUC来计算试验性口服生物利用度(F),即 $F = (AUC(\text{口服}) / \text{剂量}(\text{口服})) / (AUC(\text{静脉}) / \text{剂量}(\text{静脉}))$],并以百分数(%)形式报告。

[0256] 药物动力学参数在表5中给出,血浆浓度对时间的图示于图7A、7B、8A和8B中。

[0257] 表5.口服和静脉给药后的化合物(1-1)的药物动力学参数。值为得自3只动物的平均值

[0258]

化合物	参数	1 mg/kg 静脉	3 mg/kg 口服	F(%)
化合物(1-1) 水:乙醇:PEG 400 (60:20:20)	AUC (min*ng/ml) C _{max} (ng/ml) T _{max} (hr) t _{1/2} (hr) 8.5 Cl/F (ml/min/kg) MRT (hr)	74698 730 0.25 8.5 13.4 7.4		
25%化合物(1-1)在 PVP 中的分散体	AUC (min*ng/ml) C _{max} (ng/ml) T _{max} (hr) t _{1/2} (hr) 8.5 Cl/F (ml/min/kg) MRT (hr)		39920 77.9 1 13.8 75.2 18.0	18
25%化合物(1-1)在 HPMCAS-MG 中 的分散体	AUC (min*ng/ml) C _{max} (ng/ml) T _{max} (hr) t _{1/2} (hr) 8.5 Cl/F (ml/min/kg) MRT (hr)		35306 48.3 0.5 11.0 85.0 17.1	16
50%化合物(1-1)在 HPMCAS-MG 中 的分散体	AUC (min*ng/ml) C _{max} (ng/ml) T _{max} (hr) t _{1/2} (hr) 8.5 Cl/F (ml/min/kg) MRT (hr)		40238 67.0 2 9.5 74.6 12.8	18

[0259] 实施例5.喷雾干燥分散体的制备

[0260] 使用五种所选的聚合物来制备化合物(1-1)的喷雾干燥的分散体,这5种聚合物为:HPMCAS-MG (Shin Etsu Chemical公司)、HPMCP-HP55 (Shin Etsu Chemical公司)、PVP (ISP,Ashland公司的部门)、PVP-VA (BASF公司)和Eudragit L100-55 (Evonik Industries AG)。使用每种聚合物以25%和50%制备所有的喷雾干燥溶液。除了PVP溶液以外,所有的溶液都是在丙酮中制备的,PVP溶液是在乙醇中制备的。对于各溶液而言,在10g溶剂中制备1.0g固体(聚合物和化合物(1-1))。使用具有1.5mm喷嘴的Büchi B-290,PE-024喷雾干燥器和Büchi B-295,P-002冷凝器将溶液喷雾干燥。将喷雾干燥器的喷嘴压力设定为80psi,目标出口温度设定为40℃,冷却器的温度设定至-20℃,泵速设定为100%,并且抽吸器设定为100%。在喷雾干燥后,收集固体分散体,并在低温对流烘箱中过夜干燥,从而除去残余的溶剂。

[0261] 实施例6:湿度和温度的稳定性

[0262]

表 6

测试	过程	接受标准	T=0 (初始)	T-1 月 (储存在 40°C/75%RH)	T-2 月 (储存在 40°C/75%RH)	T= 3 月 (储存在 40°C/75%RH)
外观	AM-0002	白色至灰白色粉末	测试日期/Ref: 06Aug2012/02-41-2 白色粉末	测试日期/Ref: 24Sep2012/02-41-59 白色粉末	测试日期/Ref: 24Oct2012/02-37-106 白色粉末	测试日期/Ref: 17Dec2012/02-37-119 白色粉末
效力 (HPLC)	AM-0028	45.0 ± 55.0 wt%	测试日期/Ref: 25Jul2012/02-37-21 50.0	测试日期/Ref: 25Sep2012/02-4HI0 49.4	测试日期/Ref: 24Oct2012/02-37-105 49.8	测试日期/Ref: 29Nov2012/02-34-107 49.2
单个相关 物质 (HPLC)	AM-0029	报告结果	测试日期/Ref: 25Jul2012/02-34-49 RRT %面积 无可报告的相关物质	测试日期/Ref: 26Sep2012/02-41-64 RRT %面积 无可报告的相关物质	测试日期/Ref: 24Oct2012/02-37-105 RRT %面积 0.68 0.06 0.77 0.06	测试日期/Ref: 29Nov2012/02-34-107 RRT %面积 0.68 0.07 0.77 0.09
总体相关 物质 (HPLC)	AM-0029	报告结果	测试日期/Ref: 25Jul2012/02-34-49 无可报告的相关物质	测试日期/Ref: 26Sep2012/02-41-64 无可报告的相关物质	测试日期/Ref: 24Oct2012/02-37-105 0.12%	测试日期/Ref: 29Nov2012/02-34-107 0.16%
含水量 (KF)	AM-0030 USP <921>	报告结果 (wt%)	测试日期/Ref: 02Aug2012/02-41-1 1.52	测试日期/Ref: 27Sep2012/02-37-99 2.53	测试日期/Ref: 25Oct2012/02-37-110 2.70	测试日期/Ref: 29Nov2012/02-37-116 3.43
X 射线粉末 衍射 (XRPD)	USP <941>	符合无定 形式	测试日期/Ref: 24Jul2012/02-24-131 符合无定形式, 参见图 9	测试日期/Ref: 01Oct2012/02-41-73 符合无定形式, 参见图 10	测试日期/Ref: 24Oct2012/02-37-107 符合无定形式, 参见图 11	测试日期/Ref: 17Dec2012/02-37-120 符合无定形式, 参见图 12
修正的差 示扫描热法 (mDSC)	USP <891> (n = 2 个 重复)	报告单独的 和平均的玻璃 磷化转变温 度(T _g , °C)	测试日期/Ref: 24Jul2012/02-24-130 重复 1 = 134.30°C, 重复 2 = 134.23°C, 重复 3 = 135.28°C, 平均 = 134.60°C	测试日期/Ref: 26Sep2012/02-37-98 重复 1 = 134.65°C, 重 复 2 = 134.43°C, 平均 = 134.54°C	测试日期/Ref: 24Oct2012/02-37-108 重复 1 = 135.35°C, 重复 2 = 134.93°C, 平均 = 135.14°C	测试日期/Ref: 17Dec2012/02-37-121 重复 1 = 134.36°C, 重复 2 = 137.16°C, 平均 = 135.76°C

[0263] 通过高温下暴露于水分来评估化合物 (1-1) 在 HPMCAS-MG 中的喷雾干燥分散体

的稳定性。通过在75%相对湿度和40℃下放置1、2和3个月,来测定作为相对湿度的函数的玻璃化转变温度(T_g)。在HDPE瓶中将喷雾干燥的分散体储存在LDPE袋内,从而模拟散装物品包装。结果总结于表6。在时间0时,T_g为134℃,在1个月时T_g为134℃,在2个月时T_g为135℃,在3个月时T_g为134℃,并且在各测量中仅观测到单一的拐点。对每种样品还获得了X射线衍射图谱。图9示出了在稳定性测试的时间0时,化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的固体分散体的X射线粉末衍射图谱。图10、11和12示出了分别在暴露于40℃和75%相对湿度1个月、2个月和3个月后,化合物(1-1)在HPMCAS-MG中的固体分散体的X射线粉末衍射图谱。图案未显示与化合物(1-1)有关的任何衍射线。

[0264] 实施例7:化合物(1-1)和c-MYC和HEXIM1的表达

[0265] 方法:暴露于500nM化合物(1-1)后,在6种急性髓细胞白血病细胞系(AML;K562、HL-60、NB4、NOMO-1、KG1、OCI-AML3)和2种急性淋巴性白血病细胞系(ALL;JURKAT和RS4-11)中评估c-MYC、BRD2/3/4和HEXIM1表达。在不同时间点(24小时至72小时)进行定量RT-PCR和Western印迹。使用R软件计算热图。

[0266] 结果:在暴露于化合物(1-1) 24小时后,在所有AML和ALL细胞系中c-MYC RNA水平普遍下调(图13)。c-MYC蛋白水平在除了KG1以外的所有细胞系中在24小时至72小时下降到可变程度。在暴露于化合物(1-1) 48小时后,K562细胞(已知化合物(1-1)-抗性)中的BRD2、BRD3和BRD4 mRNA表达显著降低,但在HL60和NOMO-1细胞中增加,在其他细胞系中观察到最低程度的增加至未观察到增加。化合物(1-1)在大多数细胞系中诱导BRD2蛋白表达降低,但在K562细胞系中不降低。与之相比,降低的BRD4蛋白表达只见于OCI-AML3、NB4和K562细胞系中。在除了KG1以外所有细胞系中进行评价,在暴露于化合物(1-1)后,BRD3蛋白水平未改变。在除了具有化合物(1-1)抗性的K562细胞之外的所有细胞系中,在暴露于500nM化合物(1-1) 24小时后,HEXIM1 mRNA的表达增加,在K562细胞系中,认为增加不显著(小于两倍)。在OCI-AML3、JURKAT和RS4-11细胞系中在24小时至72小时观察到HEXIM1蛋白水平的增加,但在K562细胞系中没有观察到该现象。

[0267] 总之,这些结果表明除了c-MYC降低和BRD变化之外,通过化合物(1-1)的BRD抑制调节HEXIM1的基因和蛋白质表达。HEXIM1上调似乎受限于化合物(1-1)敏感性细胞系,并且在化合物(1-1)-抗性K562细胞系中没有显著影响。需要进行进一步的研究来阐明HEXIM1在BRD抑制剂的抗白血病活性中所起到的作用。

[0268] 实施例8:化合物(1-1)对急性白血病细胞系中c-MYC、BRD2/3/4和HEXIM1的影响

[0269] 评价500nM化合物(1-1)在一组AL细胞系中对c-MYC蛋白和mRNA表达在第4、24、48或72小时的影响。基础c-MYC基因表达在细胞系中所不同,在BCR-ABL+K562细胞中具有最低水平,在PML-RAR α 重排的NB4中具有最高水平(图13A)。在暴露于化合物(1-1)后,分析c-MYC蛋白和mRNA表达。在所有测试的细胞系,最早在处理24小时后观察到c-MYC蛋白的降低达到一个可变量,所测试的细胞系包括AML细胞系(NPM1-突变的OCI-AML3、BCR-ABL+K562、PML-RAR α -重排的NB4、MLL-AF9融合的NOMO1和NRAS-驱动的HL60)以及ALL细胞系(T-ALL JURKAT和MLL-AF4融合的B-ALL RS4-11细胞)(图13B、图16A-1、图16A-2)。与这些结果一致,在这些细胞系以及OP2-FGFR1重排的KG1 AML细胞系中,在暴露于化合物(1-1) 4小时和24小时后,c-MYC基因表达普遍降低(图13C)。在所有测试的细胞系中,用500nM JQ1处理这些细胞系在第24、48和72小时的时候观察到了与化合物(1-1)相似的c-MYC蛋白减少,并且在第48小时

观察到了c-MYC基因表达(分别为图16B-1、图16B-2和图16C)。

[0270] 还测定了化合物(1-1)暴露对BRDs的基因和蛋白质表达的影响。在AML细胞系中,在BCR-ABL+K562细胞系中BRD的基础基因表达水平最低,在PML-RAR α 重排的NB4中BRD的基础基因表达水平最高(图13D)。在暴露于500nM化合物(1-1) 48小时后,BRD2、BRD3和BRD4 mRNA表达在K562和NB4细胞系中显著降低,但在HL60和NOMO-1细胞系中增加(图13E)。在KG1、OCI-AML3、JURKAT、BV-173和RS4-11中仅观察到BRD2、BRD3和BRD4 mRNA表达的轻微变化。化合物(1-1)在大多数细胞系(包括OCI-AML3、JURKAT T-ALL、RS4-11、NB4、NOMO-1和HL60细胞,但不在K562细胞中)诱导BRD2蛋白表达的降低(图13B和图16A-1、图16A-2)。与之相比,化合物(1-1)处理后,仅在OCI-AML3、NB4和K562细胞系中观察到BRD4蛋白的蛋白表达减少。最后,在分析的所有细胞系中,暴露于化合物(1-1)后,BRD3蛋白水平未发生变化(图13B和图16A-1、图16A-2)。与化合物(1-1)相比,用JQ1处理诱导了BRD2、BRD3和BRD4蛋白调节的类似分布(图16B-1、图16B-2)。

[0271] 评价化合物(1-1)对HEXIM1表达的影响。在所有测试的细胞系(K562、HL-60、NB4、NOMO-1、KG1、OCI-AML3、JURKAT和RS4-11;图13F)中,在暴露于500nM的化合物(1-1) 4和24小时这两个时间点,HEXIM1 mRNA表达增加。在暴露于化合物(1-1)后,在OCI-AML3和RS4-11细胞系中HEXIM1上调最高。在OCI-AML3、JURKAT和RS4-11细胞系中,用500nM化合物(1-1)或JQ1处理(24小时至72小时),在24、48和72小时后产生类似HEXIM1蛋白水平的增加,但在K562细胞中不存在该增加(图13B和图16A-1、图16A-2、图16B-1和图16B-2)。

[0272] 实施例9:化合物(1-1)对白血病细胞系中细胞增殖、细胞周期和细胞凋亡的影响

[0273] 评价化合物(1-1)在各种急性白血病亚型中的细胞效应。在9种AML和4种ALL细胞系中,用MTT测定法评价化合物(1-1)暴露后的细胞活力。在9种AML细胞系中的6种和测试的所有4种ALL细胞系中发现显著的生长抑制,定义为亚微摩尔IC₅₀。K562、KG1a和HL60AML细胞系对化合物(1-1)具有抗性。

[0274] 500nM化合物(1-1)对细胞周期的48小时的影响导致在所有13种细胞系中,从G1到S期的转变减少,并且在KG1a、KG1、HEL、KASUMI和JURKAT细胞系中,sub-G1期的细胞显著增加(图14A、14B和17)。

[0275] 利用化合物(1-1)以25-500nM的剂量处理72小时诱导显著的细胞凋亡,如通过膜联蛋白V染色和PI摄取所检测的情况那样。在以500nM化合物(1-1)处理的情况下,在9种AML细胞系中的5种(HEL、NB4、NOMO-1、OCI-AML3、KASUMI)中,30-90%的细胞凋亡,在4种ALL细胞系中的2种(JURKAT和RS4-11)中,50-90%的细胞凋亡(图14C)。最后,暴露于500nM化合物(1-1) 72小时,活化半胱天冬酶-3并诱导细胞色素c释放,表明BET抑制至少部分导致线粒体触发的细胞凋亡(图14D)。

[0276] 值得注意的是,c-MYC、BRD2、BRD3、BRD4和HEXIM1的基线mRNA表达水平与所分析的任何AML或ALL细胞系中化合物(1-1)诱导的活力丧失没有显著相关(图18A-18E)。

[0277] 有趣的是,无法识别在暴露于化合物(1-1)的细胞系中,细胞活力的降低或细胞凋亡的诱导与c-MYC、BRD2/3/4和HEXIM1表达水平之间的任何相关性。化合物(1-1)诱导的唯一一致的基因表达调节是c-MYC下调和HEXIM1上调,这与其他BET抑制剂的报道相关(图20)。

[0278] 实施例10:化合物(1-1)在源自白血病患者的样品中的体外作用

[0279] 从代表性新诊断或复发的ALL和AML患者获得BM单核细胞,并对其中的细胞凋亡、mRNA和蛋白质表达进行评价,参见表7,这些细胞利用正在进行Ib期研究的化合物(1-1)进行处理,并且可获得足够的用于分析的材料。通过暴露于500nM化合物(1-1)72小时诱导的细胞凋亡在测试的患者样品中是可变的(图15A)。与对照处理细胞(患者3、15、17、26、27、28、31和38)相比,利用化合物(1-1)处理的细胞中,来自14名AML患者中的8名的BM细胞显示细胞凋亡增加35-90%.,而在14名患者中的6名(患者4、8、9、14、16和18)中观察到在化合物(1-1)暴露后没有或观察到细胞凋亡的轻度增加。来自所测试的两名ALL患者的BM细胞显示没有细胞凋亡或细胞凋亡轻度增加(患者40和43)。与我们在细胞系中的观察一致,在来自三名AML患者分析的样品中,化合物(1-1)还诱导了胱天蛋白酶-3的活化和线粒体细胞色素c的释放(图15B)。

[0280] 在用500nM化合物(1-1)处理48小时后,在七个AML样品中c-MYC mRNA表达下调,并对两个ALL样品进行评价(图15C)。在三个原发性AML样品中,利用500nM化合物(1-1)处理72小时后,c-MYC蛋白表达明显降低,BRD2蛋白表达也明显降低(图15D)。

[0281] 在38名AML和14名ALL亚型的患者样品中研究了基础BRD2/3/4基因表达。如在细胞系中所观察到的,在bcr-abl重排的ALL样品中,具有最低表达的AML和ALL亚型的基因表达水平是高度可变的(图15E、19)。

[0282] 表7.ALL和AML患者特征

[0283]

患者 N°	性别	诊断	染色体组型	分子生物学	细胞凋亡	mRNA	蛋白
1	M	AML 2	46;XY; t(9;11)	MLLT3-MLL	无	无	有
2	M	AML 2	46;XY	CEBP alpha	无	有	无
3	F	AML 1	46;XX	FLT3 mut	有	无	无
4	M	sAML	46;XY	FLT3 mut	有	无	无
5	M	AML 2	46;XY	dup MLL	无	有	无
6	F	AML 1	46;XX	dup MLL	无	有	无
7	M	AML 5a	46;XY	FLT3 ITD/ dup MLL	无	有	无
8	M	sAML	46;XY; del(3)(q?),-7	FLT3 ITD / EVI1	有	无	无
9	M	AML 5a	46;XY	FLT3 ITD	有	无	无
10	F	AML 2	46;XX	FLT3 ITD	无	有	无
11	M	AML	46;XY	FLT3 ITD	无	有	无
12	F	AML	47;XX; der(10)(?)	FLT3 ITD	无	有	无
13	F	AML 1	46;XX	NPM1 + FLT3 ITD	无	有	无
14	F	sAML	46;XX	NPM1 + FLT3 ITD	有	无	无

[0284]

15	M	AML 4	46;XY	NPM1 + FLT3 ITD	有	无	无
16	M	AML 5	46;XY	NPM1 + FLT3 ITD	有	无	有
17	M	AML 4	46;XY	NPM1 + FLT3 ITD	有	无	无
18	M	AML 2	46;XY	NPM1 + FLT3 ITD	有	无	无
19	F	AML 2	46;XX	NPM1	无	有	无
20	F	AML 2	46;XX	NPM1	无	有	无
21	M	AML 4	46;XY	NPM1	无	有	无
22	M	AML 4	46;XY	NPM1	无	有	无
23	F	AML 4	46;XX	NPM1	无	有	无
24	M	AML 1	46;XY	NPM1	无	有	无
25	M	AML 2	46;XY	NPM1	无	有	无
26	F	AML 4co	46;XX; inv(16)(p13q22)	CBFB/MYH11	有	有	有
27	F	AML 4co	46;XX; inv(16)(p13q22)	CBFB/MYH11	有	有	无
28	M	AML 4co	46;XY; inv(16)(p13q22)	CBFB/MYH11	有	有	无
29	M	AML 4co	46;XY; inv(16)(p13q22)	CBFB/MYH11	无	有	无
30	F	AML 4co	46;XX; inv(16)(p13q22)	CBFB/MYH11	无	有	无
31	F	AML 2	46;XX; t(8;21)	AML1-ETO	有	无	无
32	M	AML 2	46;XY; t(8;21)	AML1-ETO	无	有	无
33	M	AML 2	46;XY; t(8;21)	AML1-ETO	无	有	无
34	F	AML	复合	ND	无	有	无
35	F	AML	复合	ND	无	有	无
36	M	AML	复合	ND	无	有	无
37	M	AML	复合	ND	无	有	无
38	F	AML 5	复合	ND	有	有	无
39	F	ALL-B	复合	Ikaros del	无	有	无
40	F	ALL-B	复合	Ikaros del	有	有	无
41	M	ALL-B	46;XY	ND	无	有	无
42	F	ALL-B	46;XX	ND	无	有	无
43	M	ALL-B	46;XY; t(9;22)	BCR-ABL	有	无	有
44	M	ALL-B	46;XY; t(9;22)	BCR-ABL	无	有	无
45	F	ALL-B	46;XX; t(9;22)	BCR-ABL	无	有	无
46	M	ALL-B	46;XY; t(9;22)	BCR-ABL	无	有	无
47	M	ALL-B	46;XY; t(9;22)	BCR-ABL	无	有	无
48	M	ALL-T	46;XY; del(7)(p?)	HOX11L2	无	有	无
49	F	ALL-T	复合	ND	无	有	无
50	F	ALL-T	复合	ND	无	有	无

[0285]

51	M	ALL-T	复合	ND	无	有	无
52	M	ALL-T	ND	Calm/Afl10	无	有	无

[0286] F, 女性;M, 男性;ND, 不确定

[0287] 本领域技术人员应该理解的是,在不脱离本发明的宽泛的发明构思的条件下可以对上文所示的并描述的示例性实施方案进行修改。因此,应该理解的是本发明不限于所示的并描述的示例性实施方案,其旨在涵盖在权利要求书所限定的本发明的精神和范围内的修改。例如,示例性实施方案的特定特征可以为所要求保护的发明的一部分或不是其一部分,并且所公开的实施方案的特征可以结合。除非本发明作出具体说明,术语“一个”、“一种”和“所述”不限于一个元素,而是应该理解为“至少一个”。

[0288] 应该理解的是,本发明的至少一些特征和描述被简化为集中于与清楚地理解本发明有关的元素,同时为了清晰起见,除去了本领域普通技术人员将理解的其他元素(也可以包含本发明的一部分)。但是由于此类元素是本领域公知的,并且由于它们不一定会更有利于更好地理解本发明,所以在本发明中未提供此类元素的描述。

[0289] 此外,所述的方法并非依赖于本发明列出的步骤的特定顺序,就此而言,步骤的特定顺序不应该解释为对权利要求的限定。涉及本发明的方法的权利要求不应该限于书写顺序的步骤的性能,并且本领域的技术人员可以容易理解这些步骤可以改变,并且仍然保持在本发明的精神和范围内。

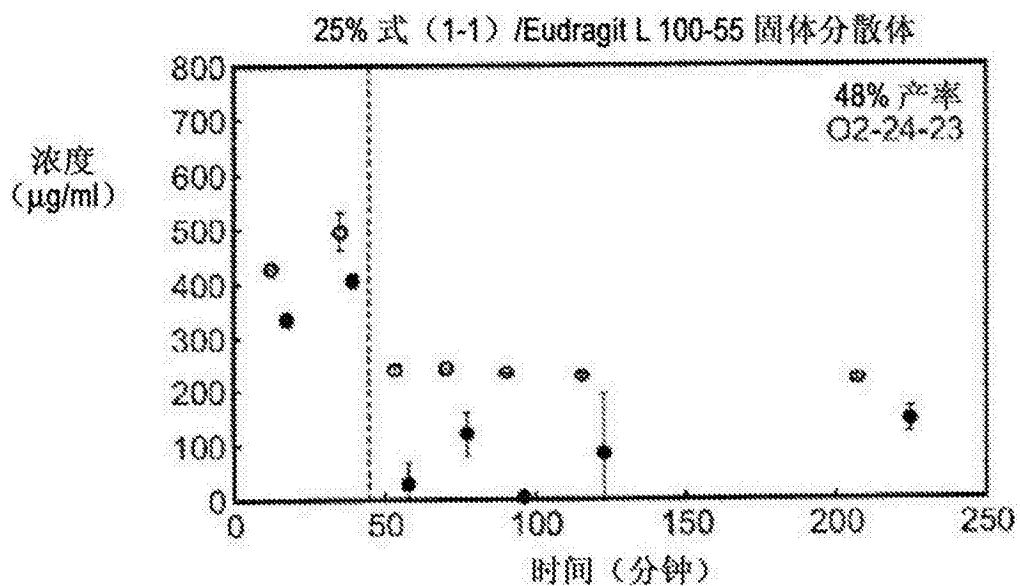


图1A

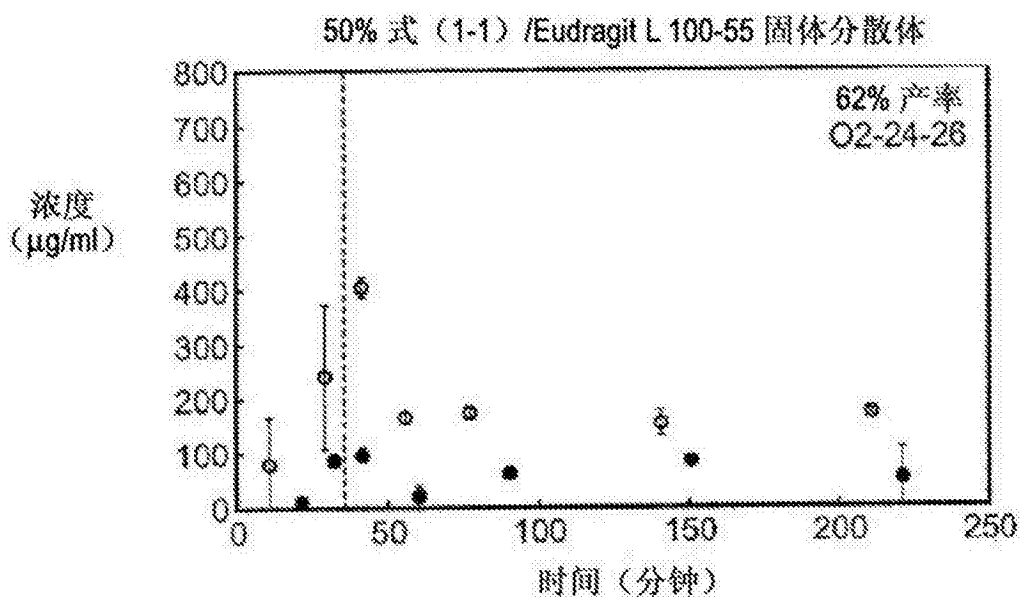


图1B

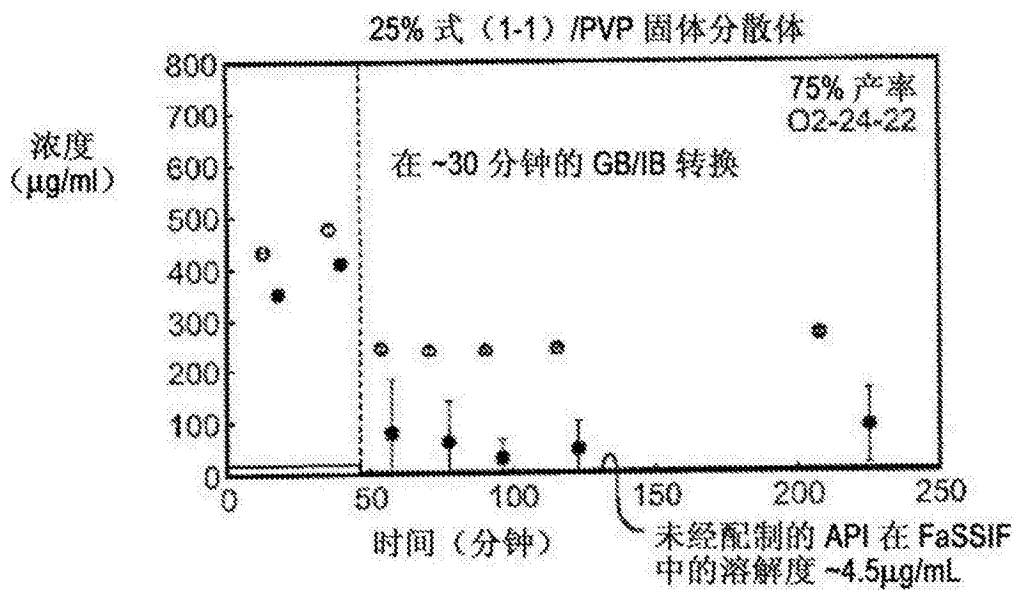


图1C

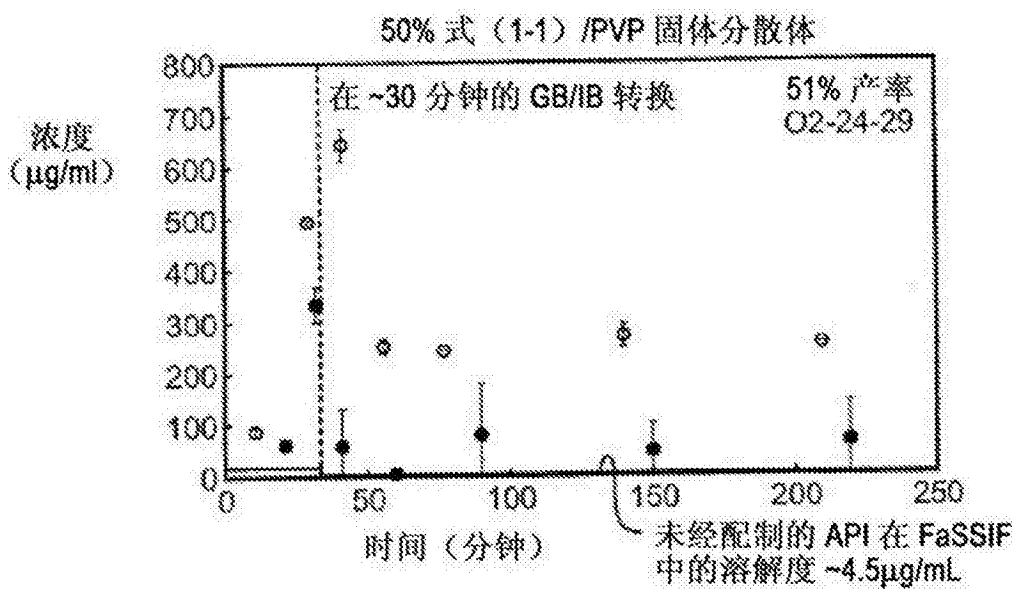


图1D

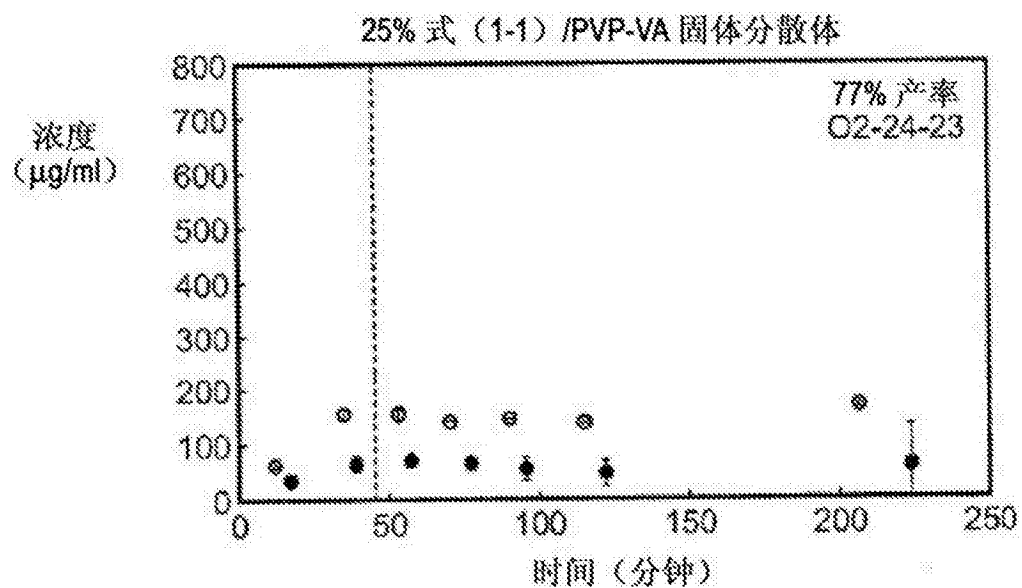


图1E

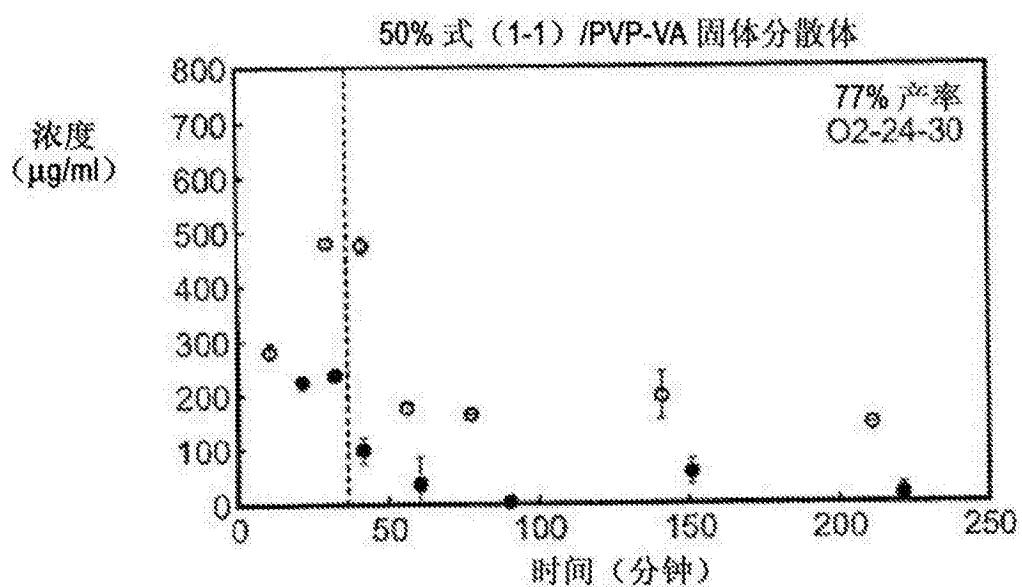


图1F

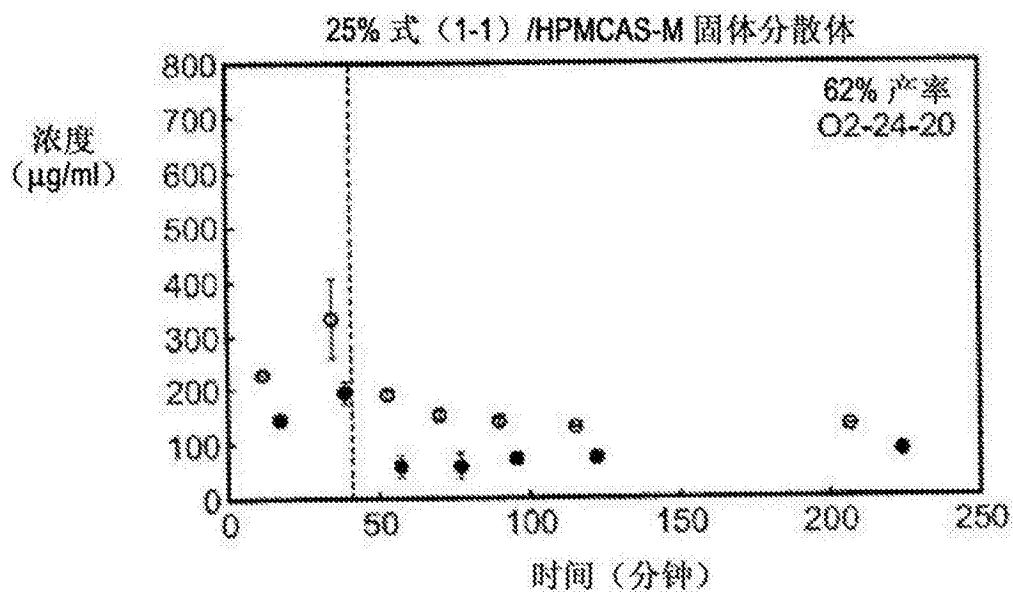


图1G

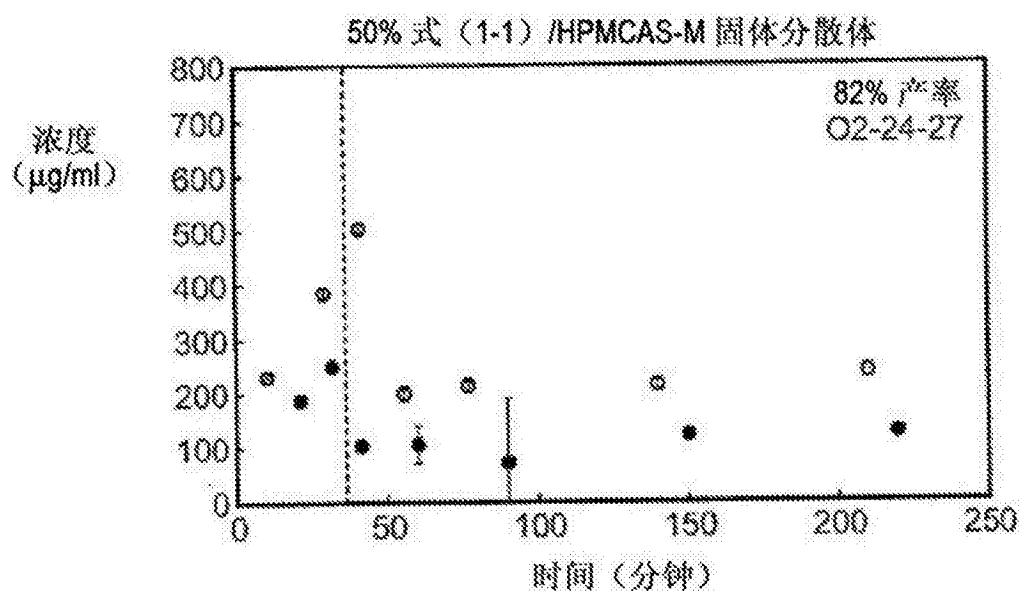


图1H

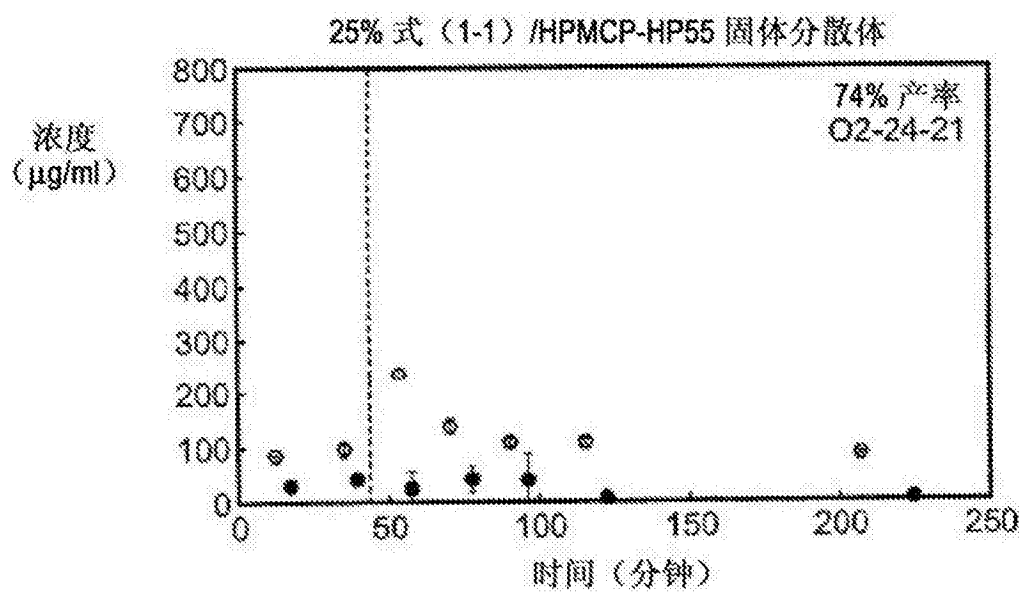


图1I

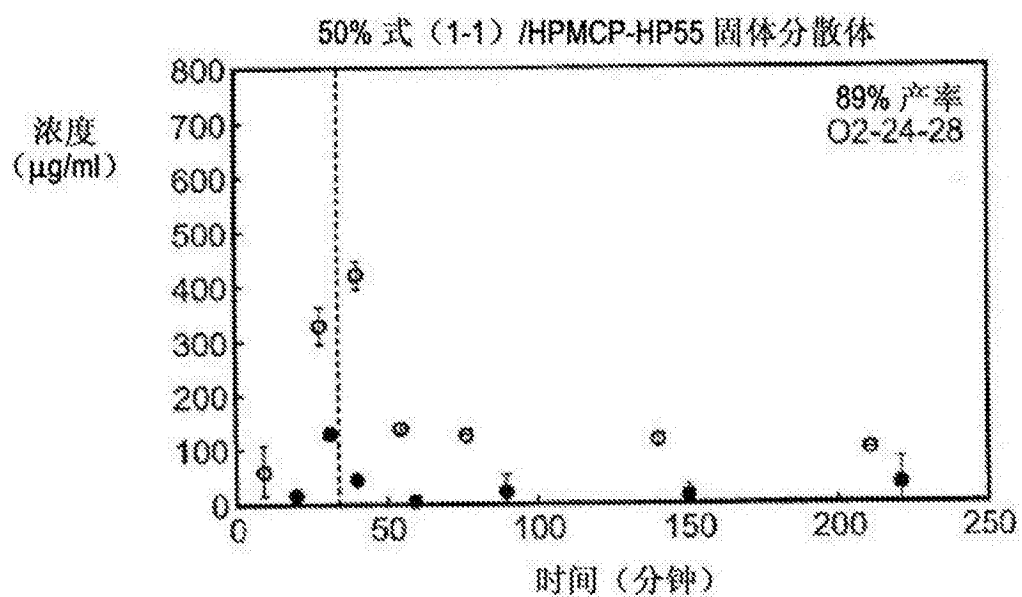


图1J

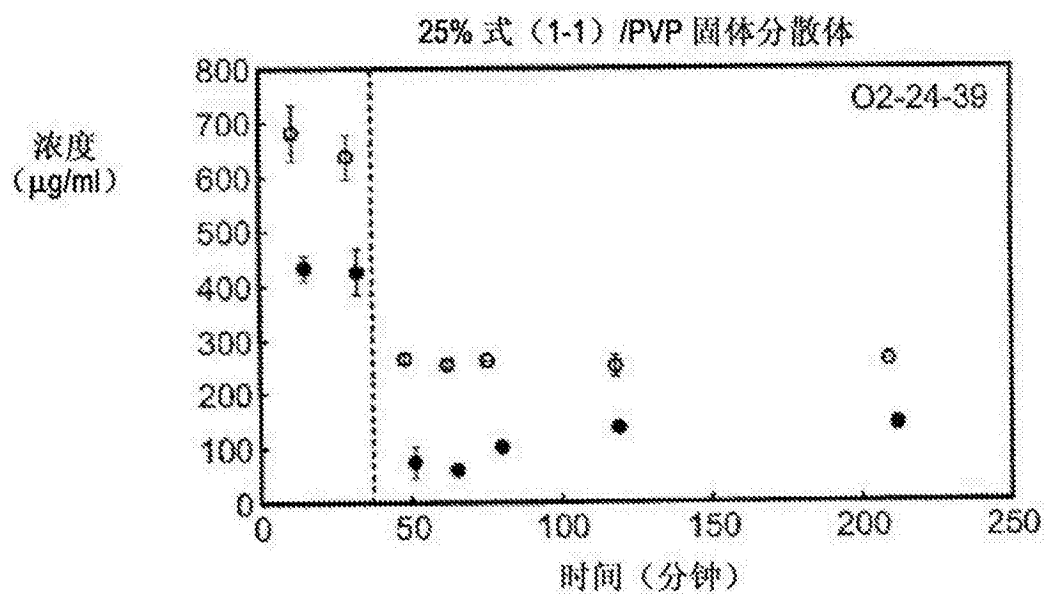


图2A

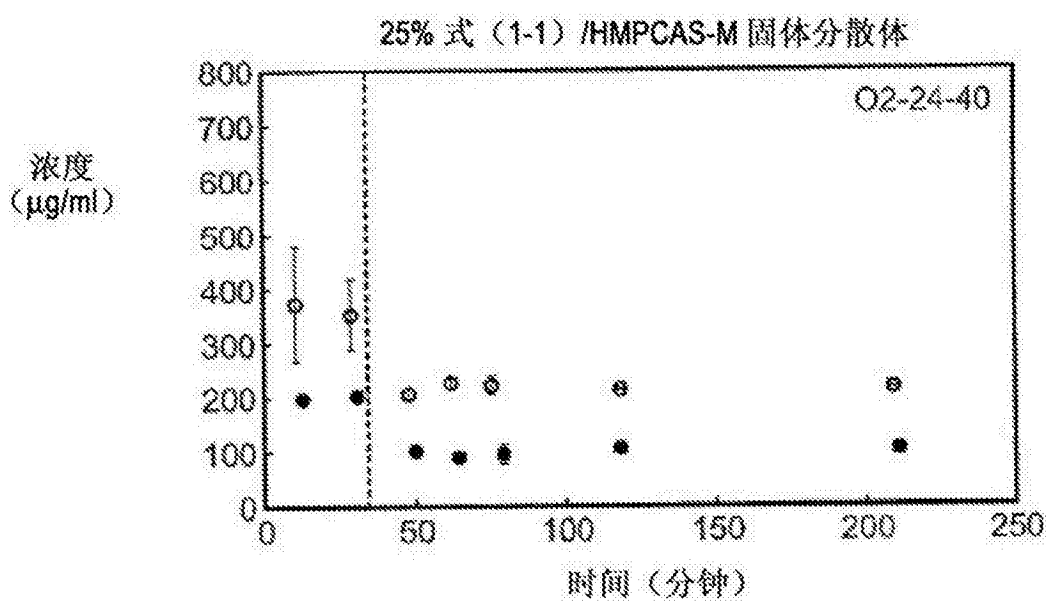


图2B

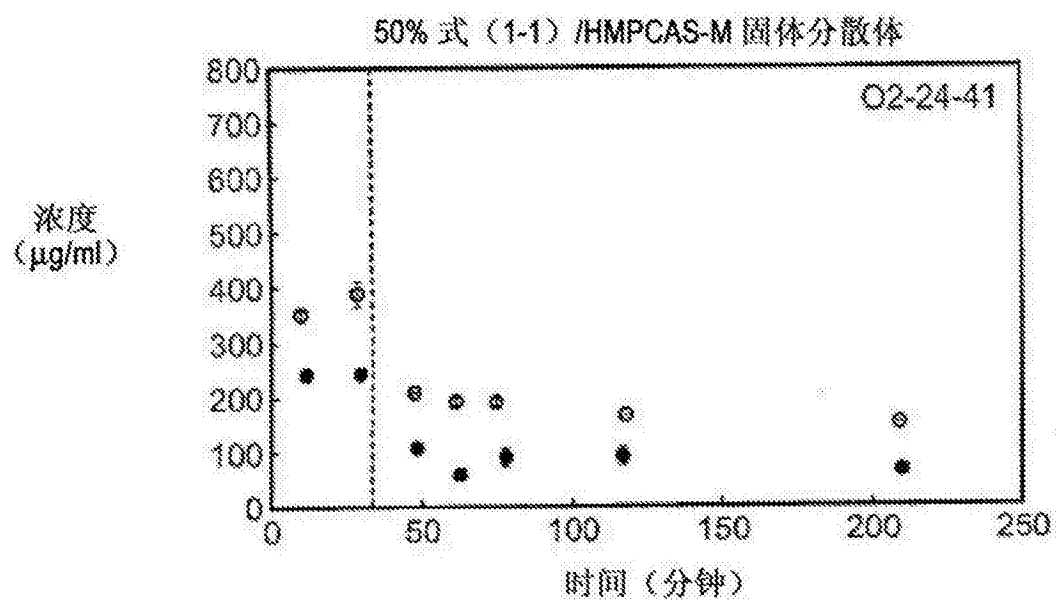


图2C

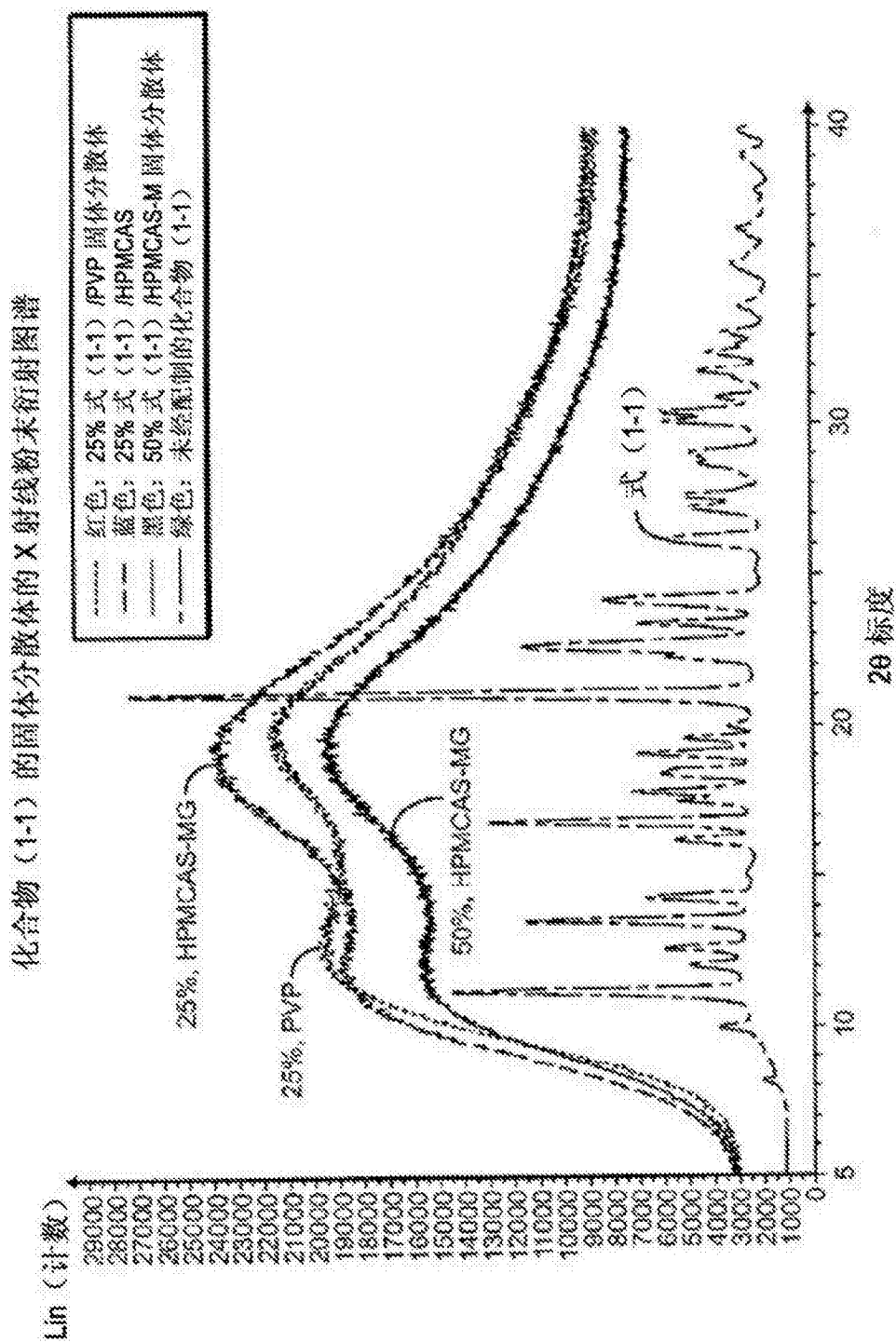


图3

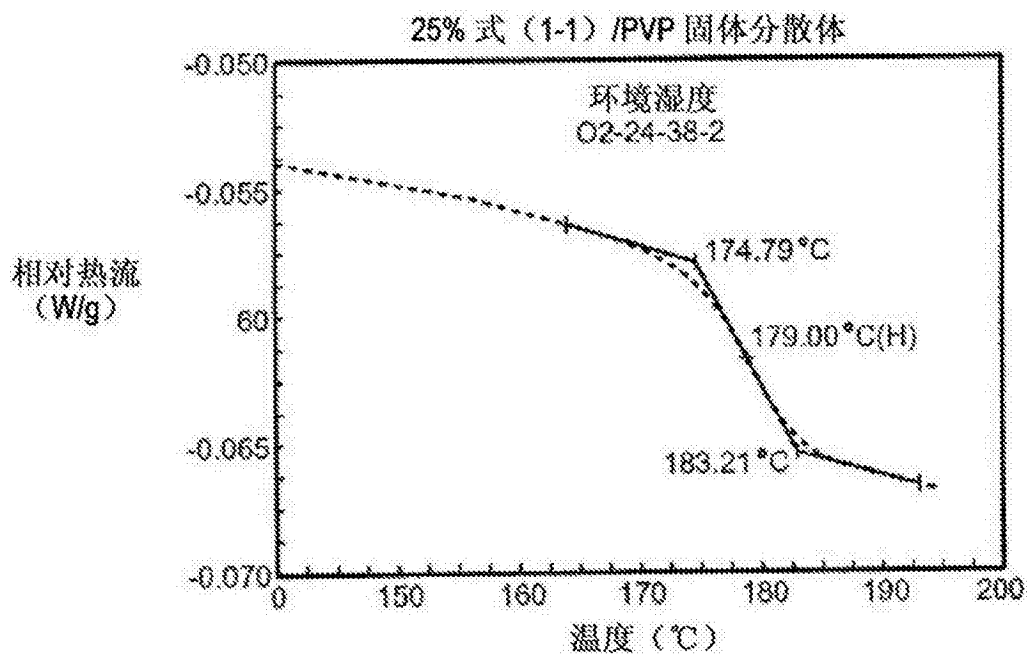


图4A

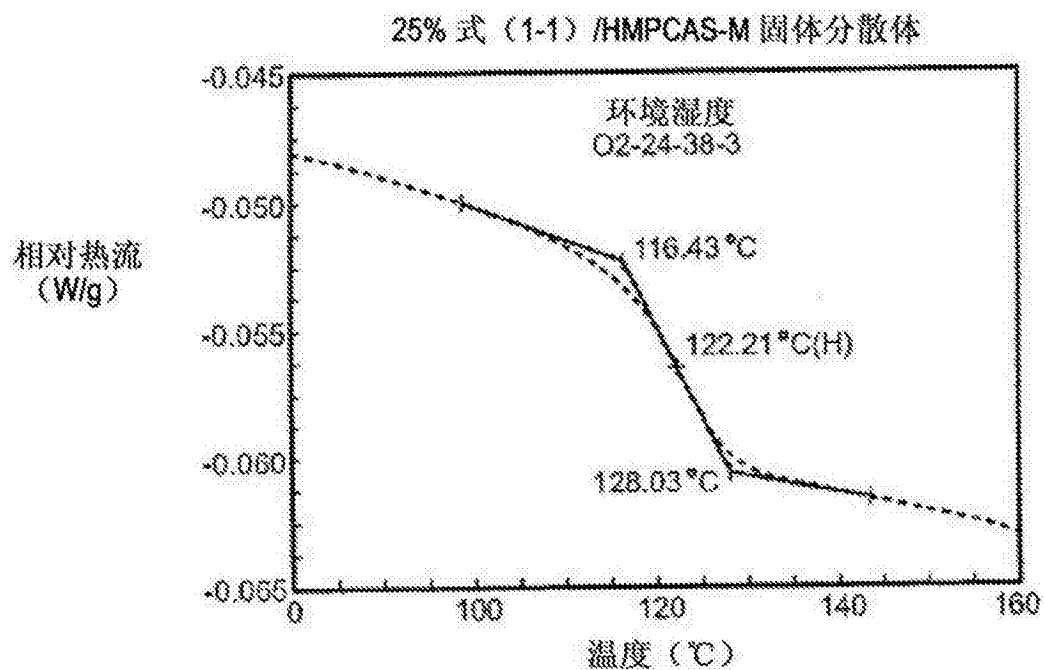


图4B

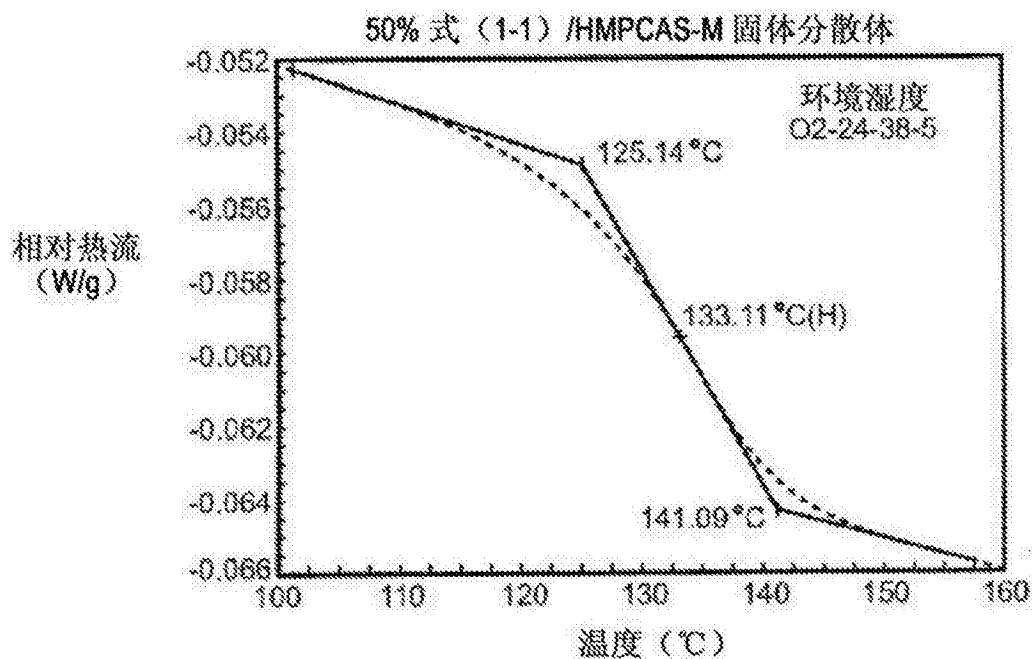


图4C

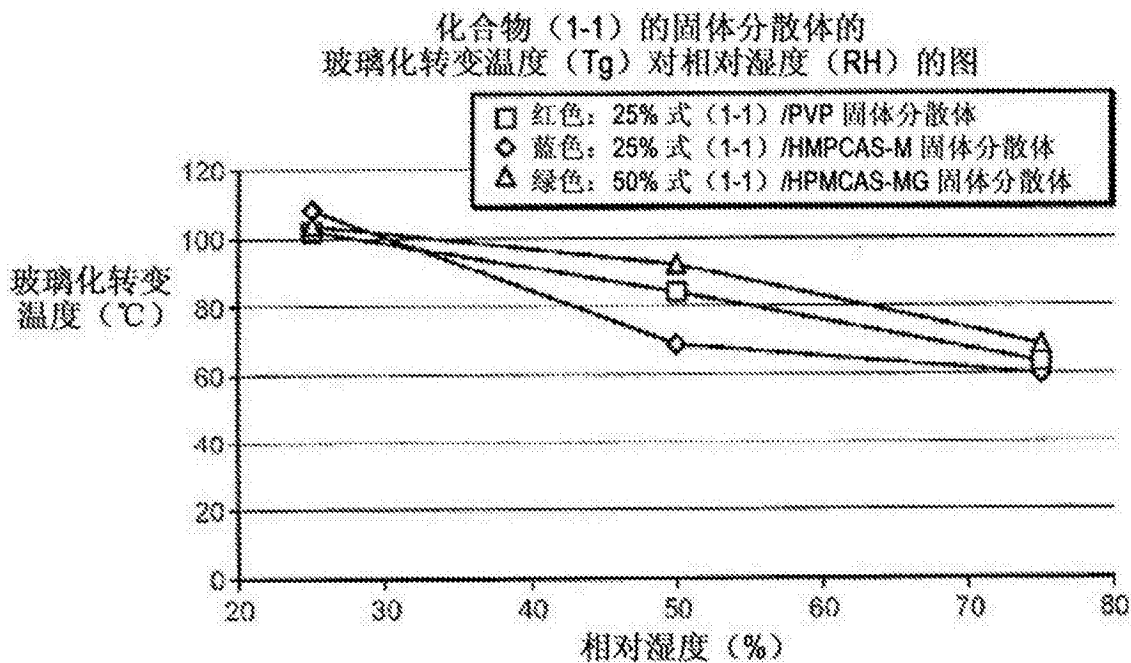


图5

在 75% 的相对湿度下平衡的化合物 (1-1) 的 25% 式 (1-1) /
PVP 固体分散体的修正的差示扫描量热轨迹

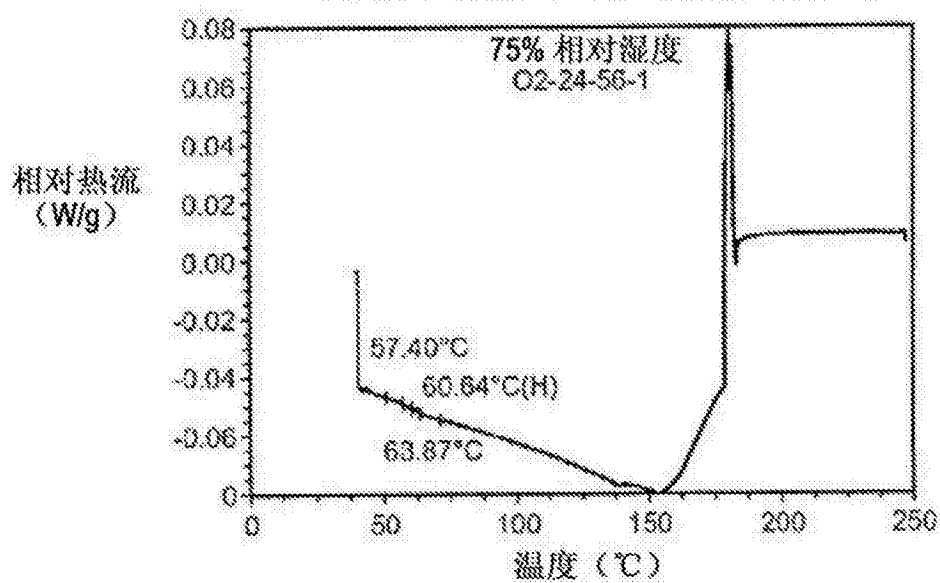


图6

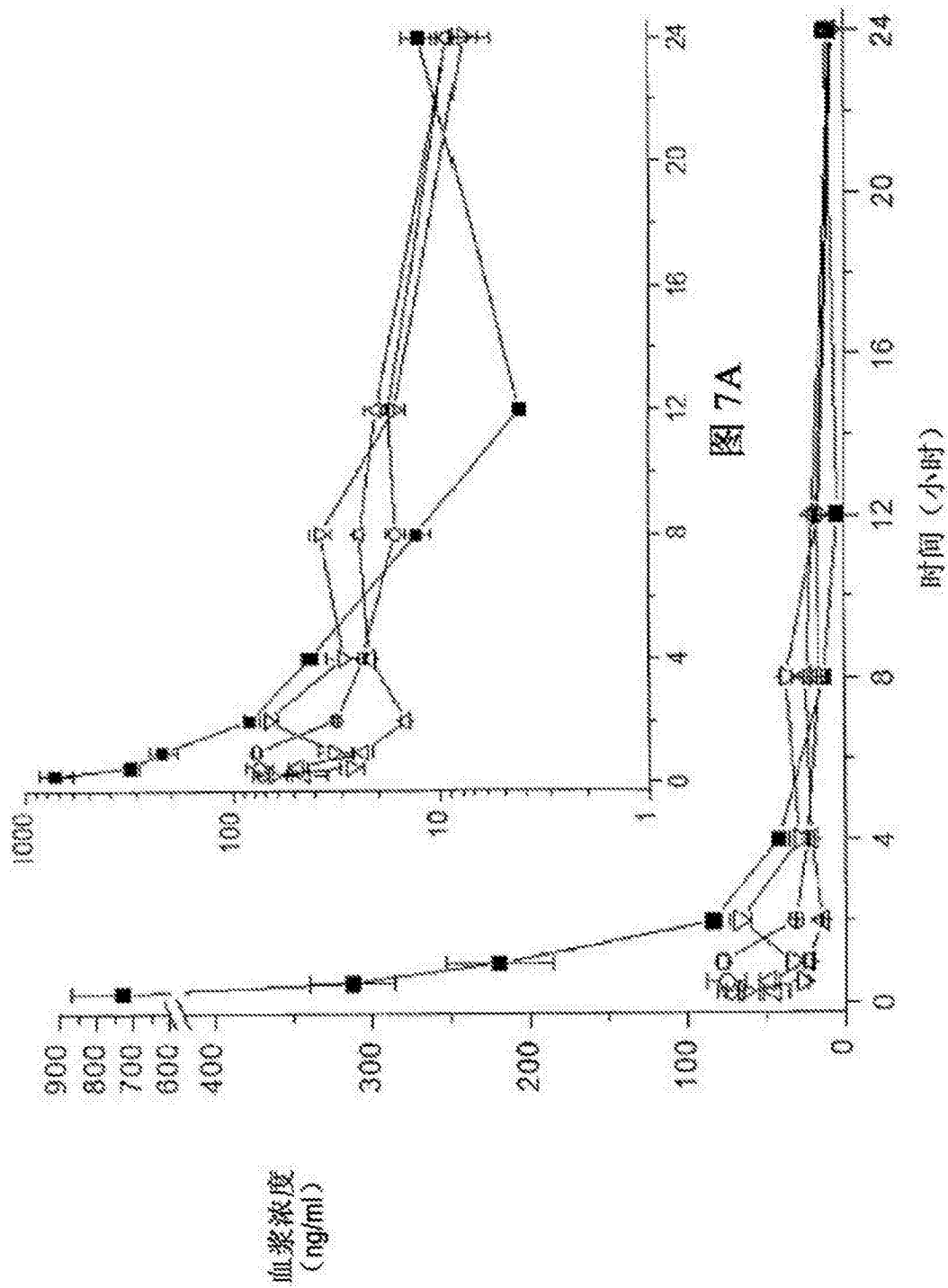
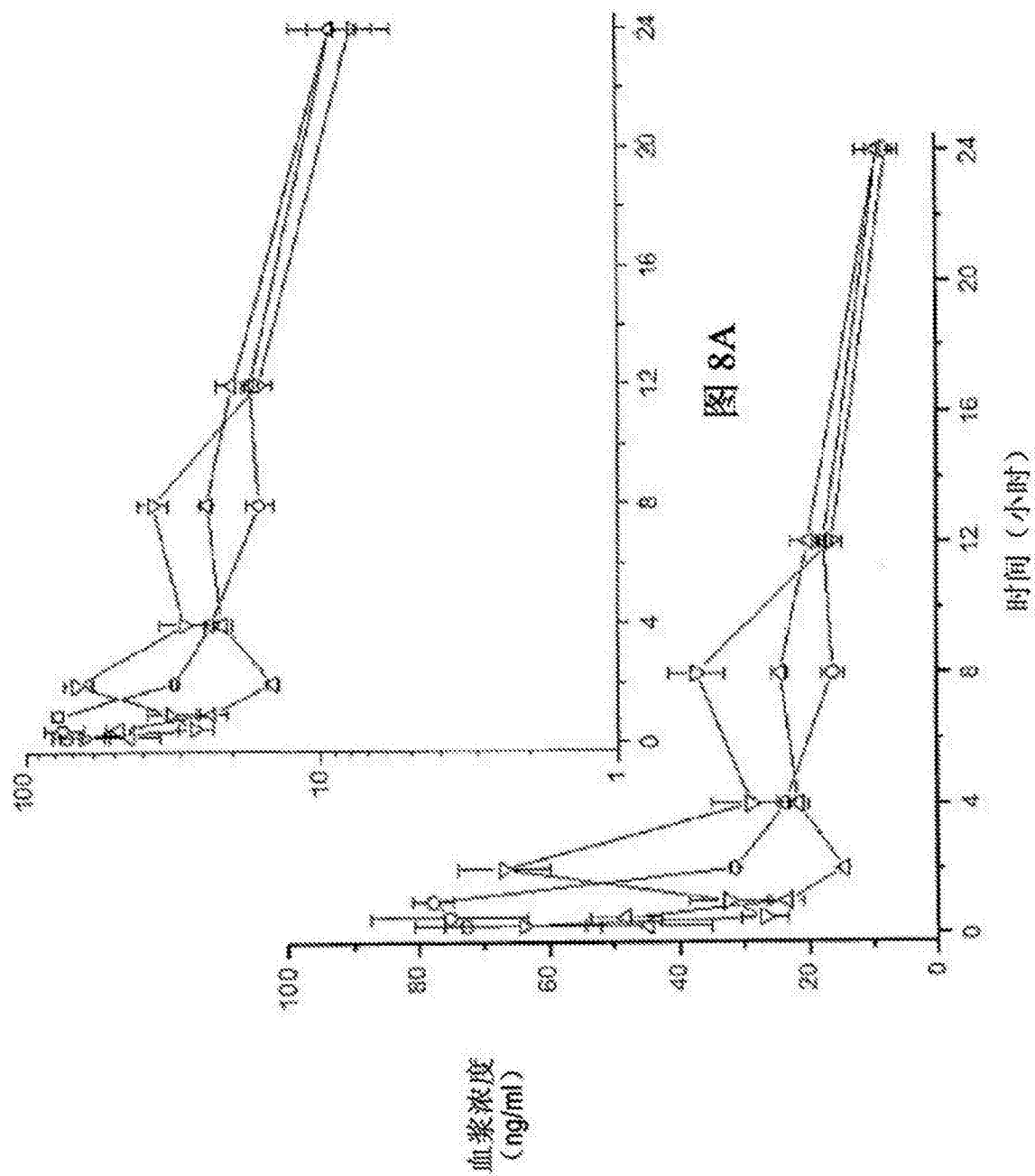


图 7B

图 7A



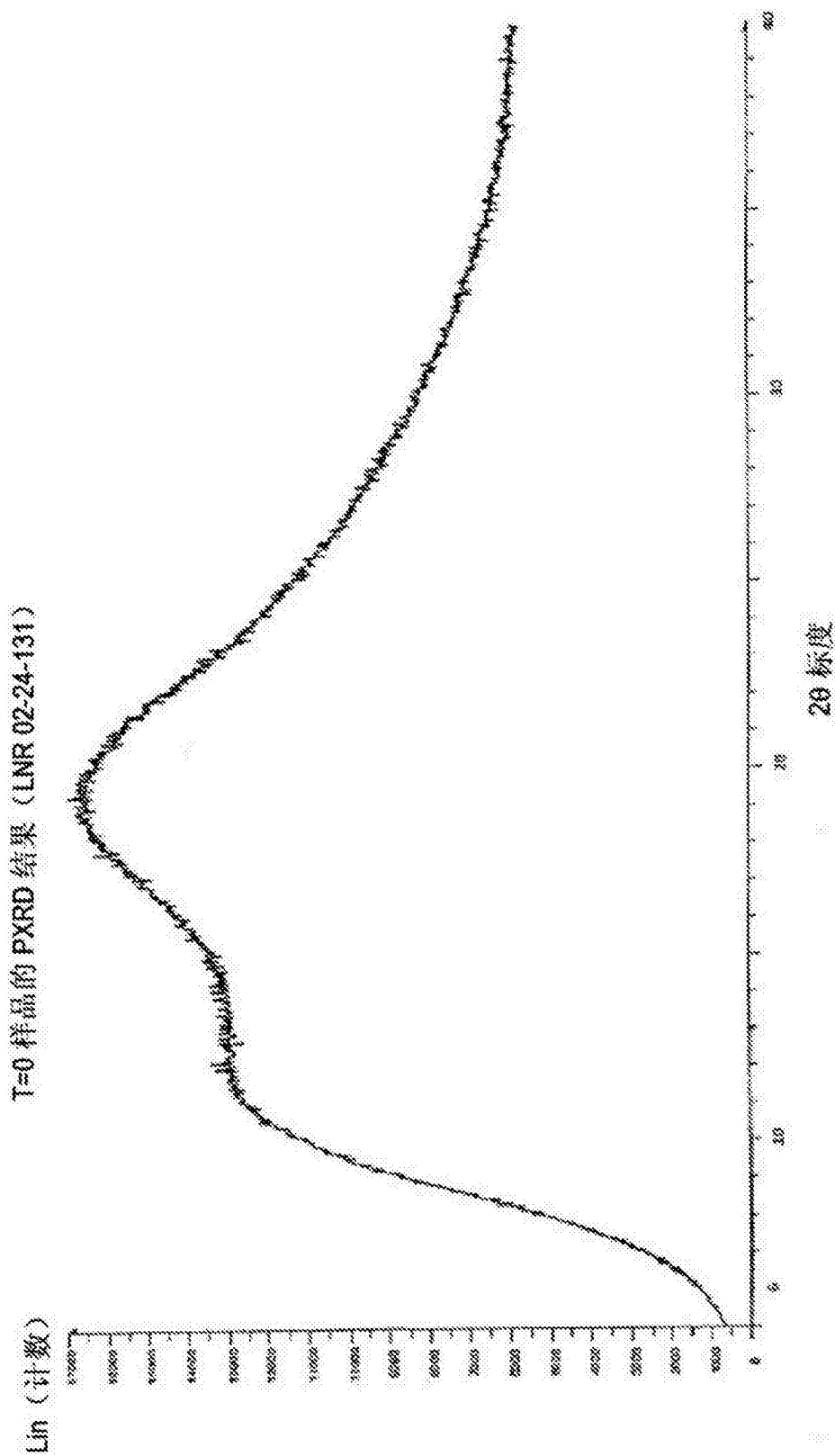


图9

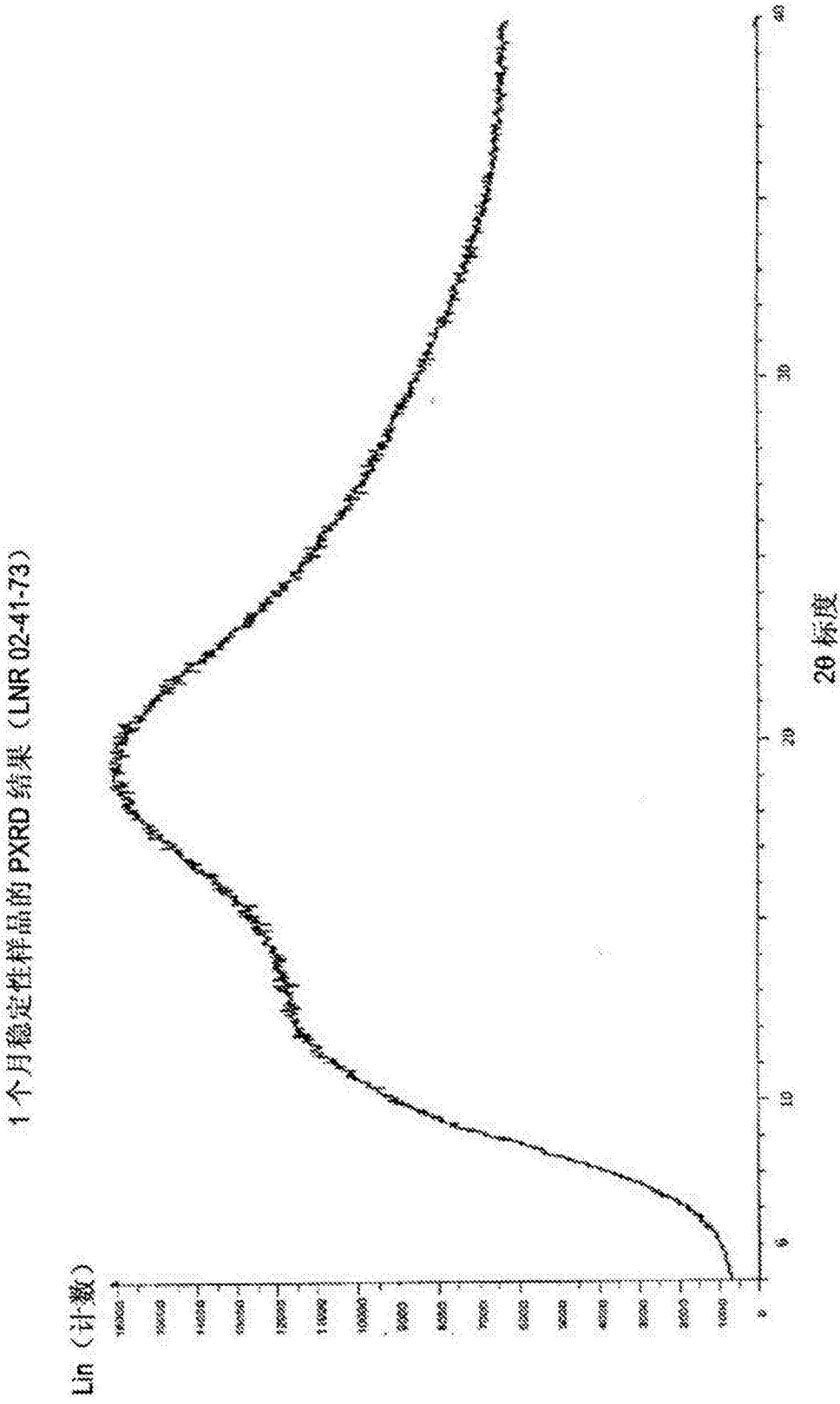


图10

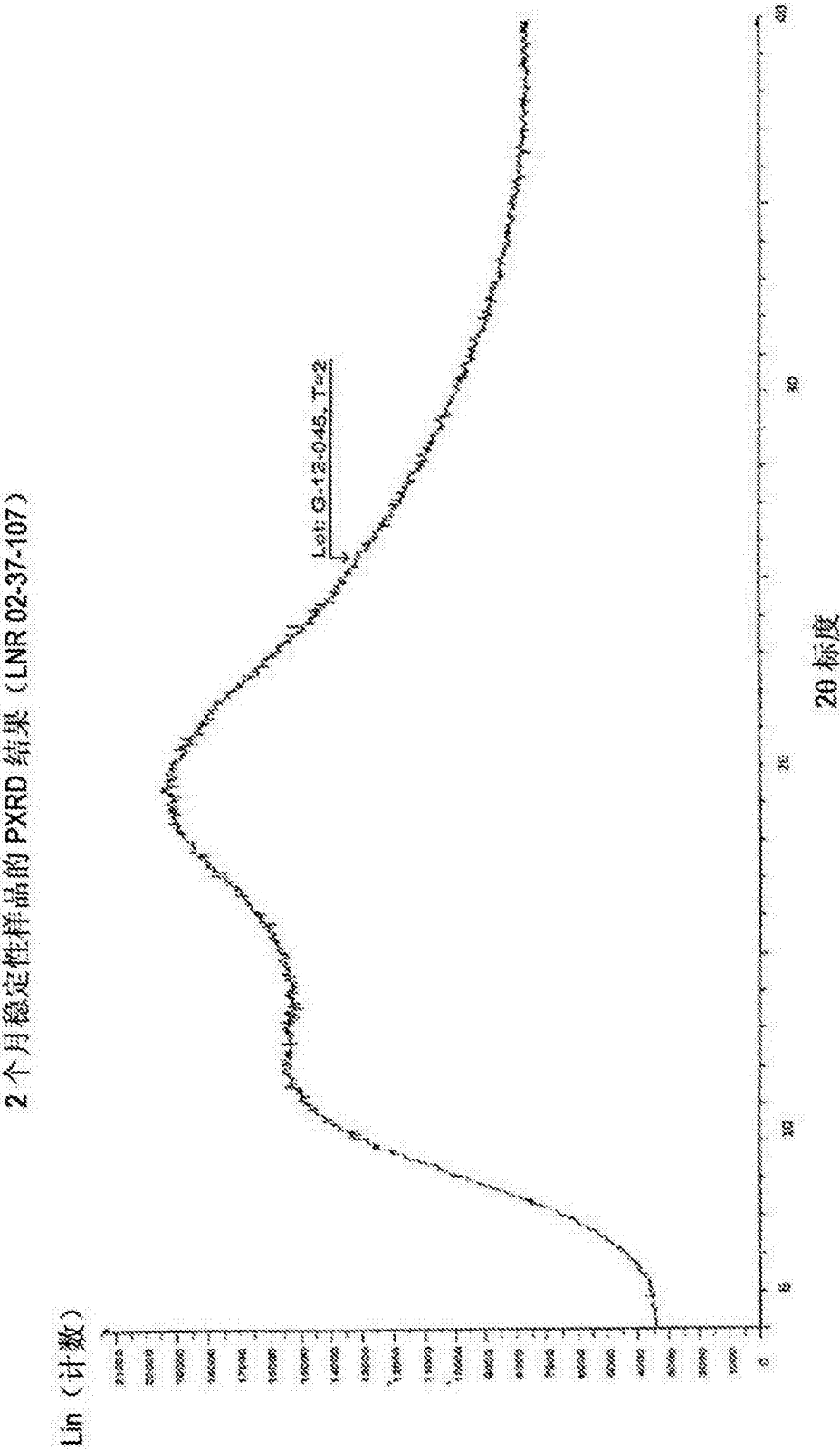


图11

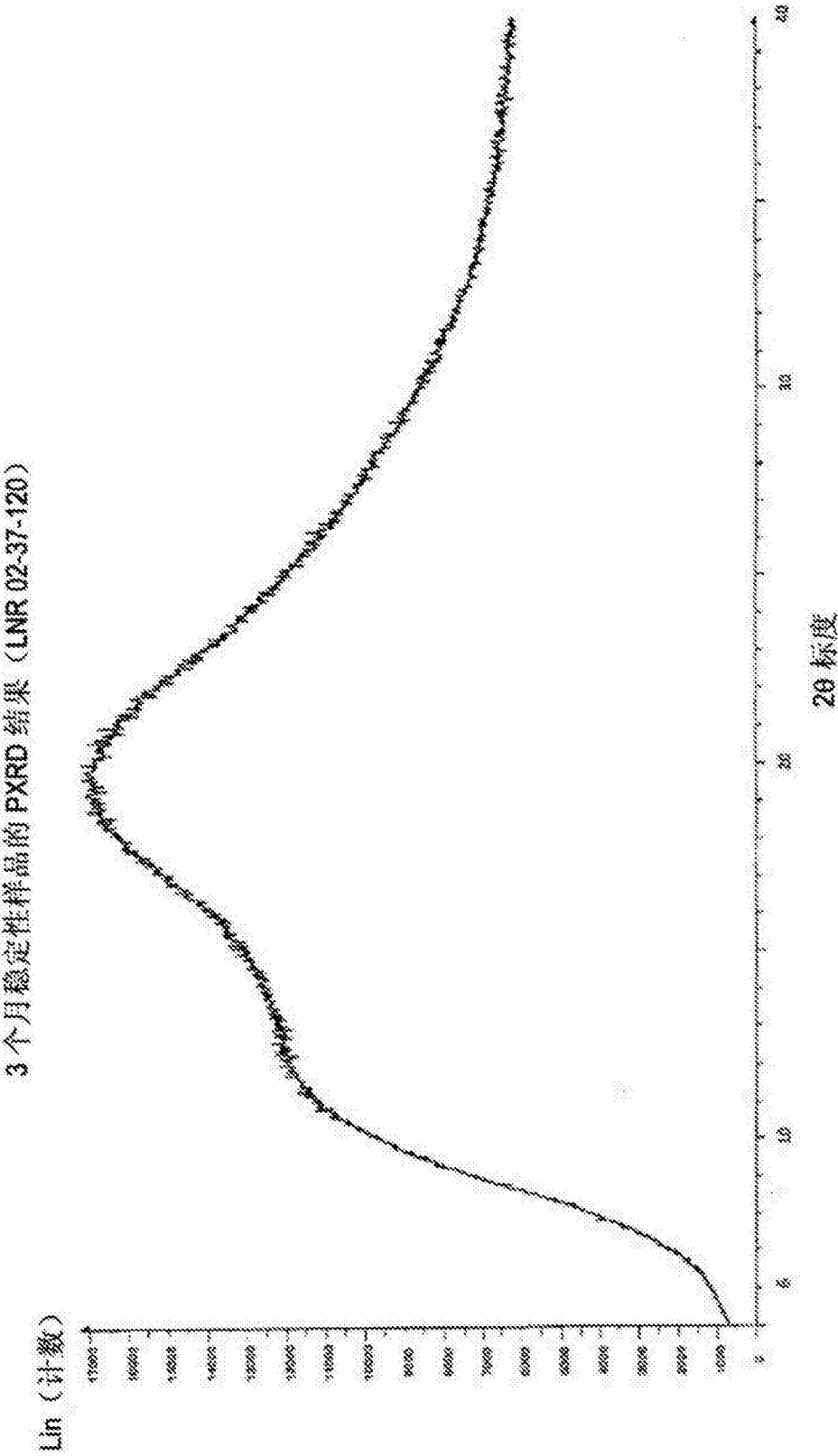


图12

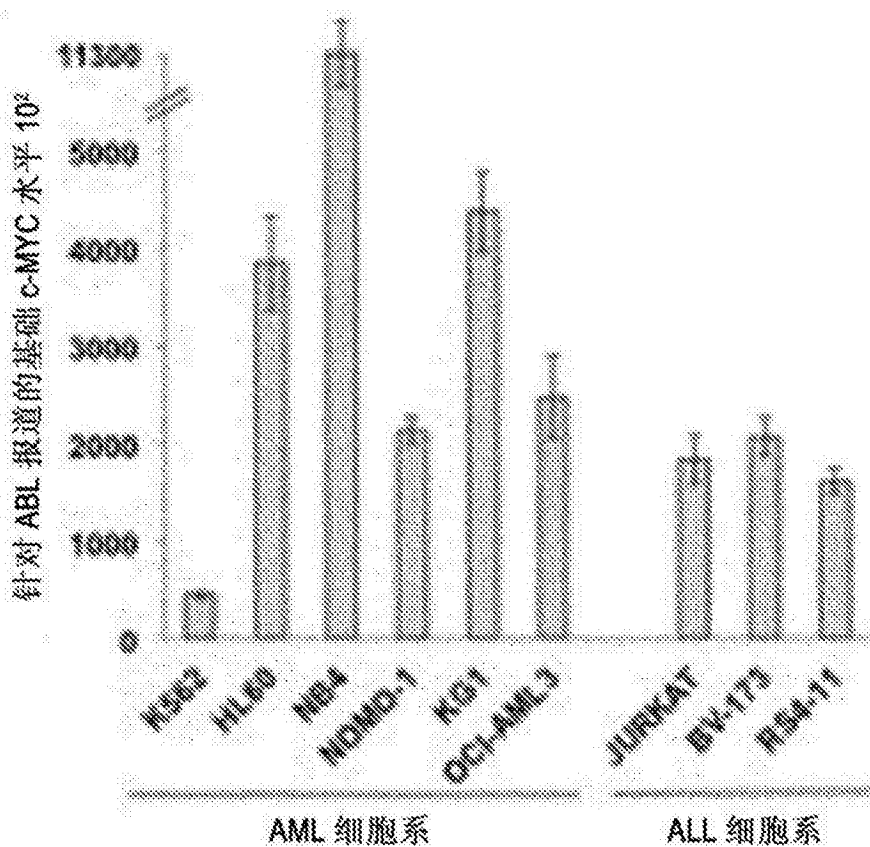


图13A

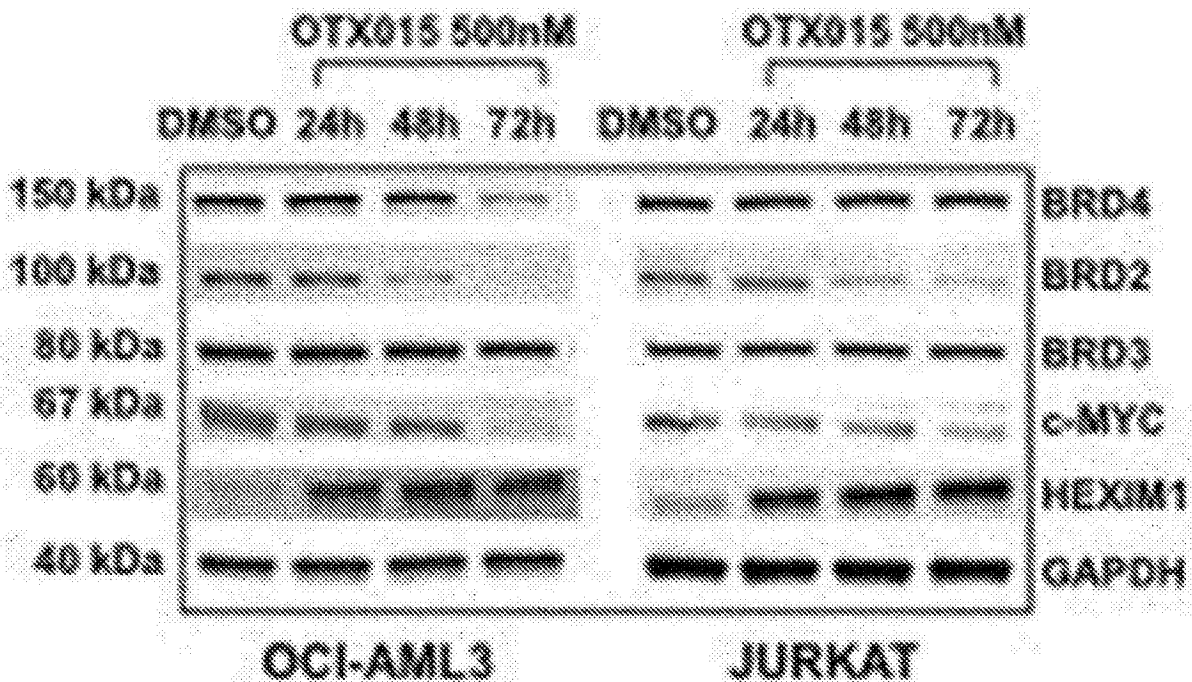


图13B

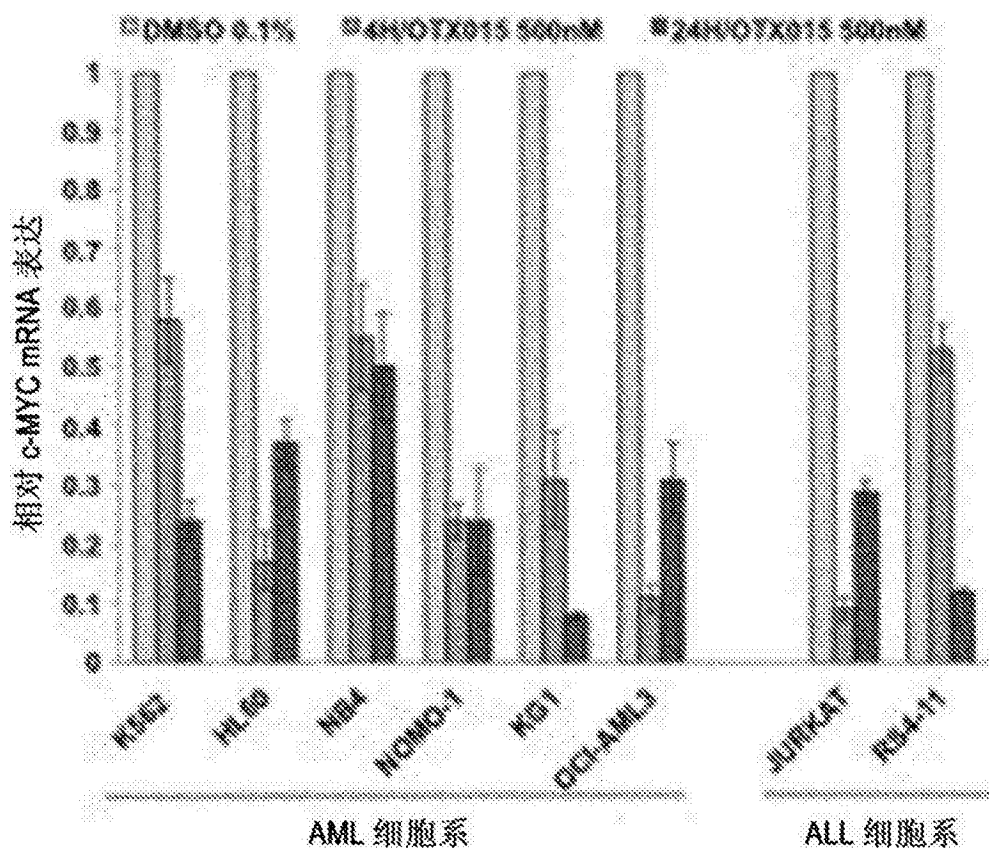


图13C

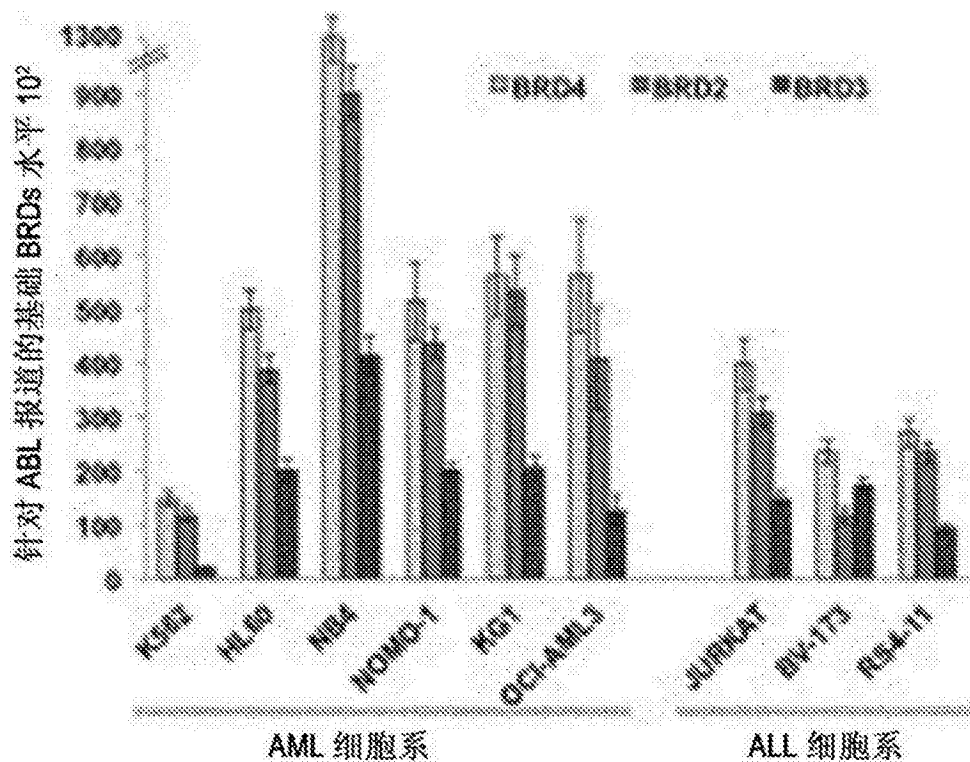


图13D

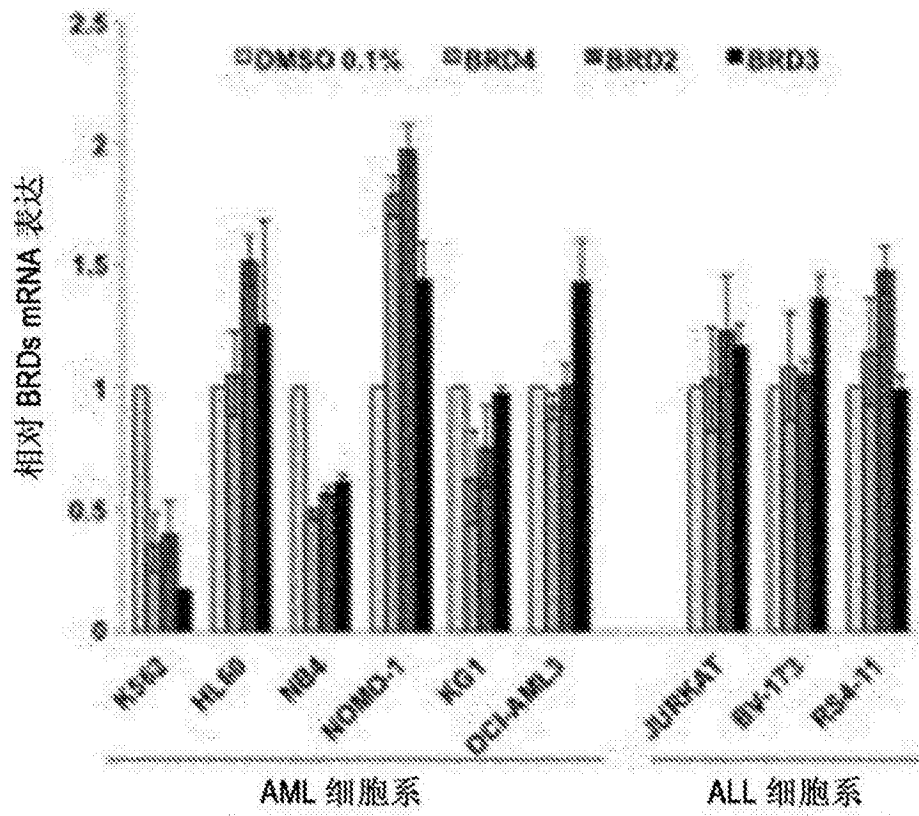


图13E

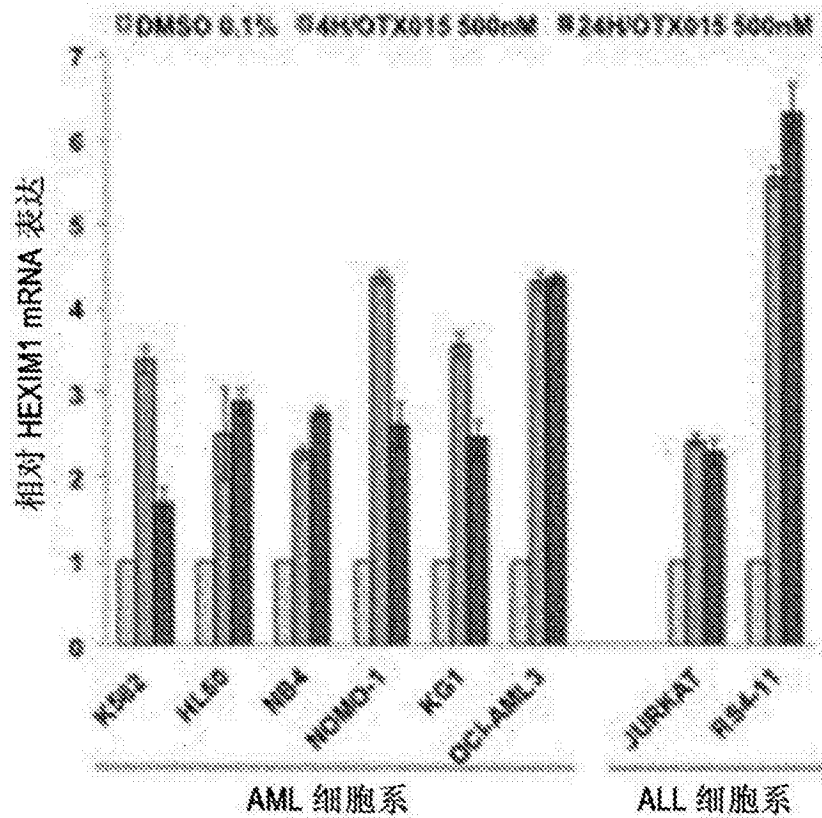


图13F

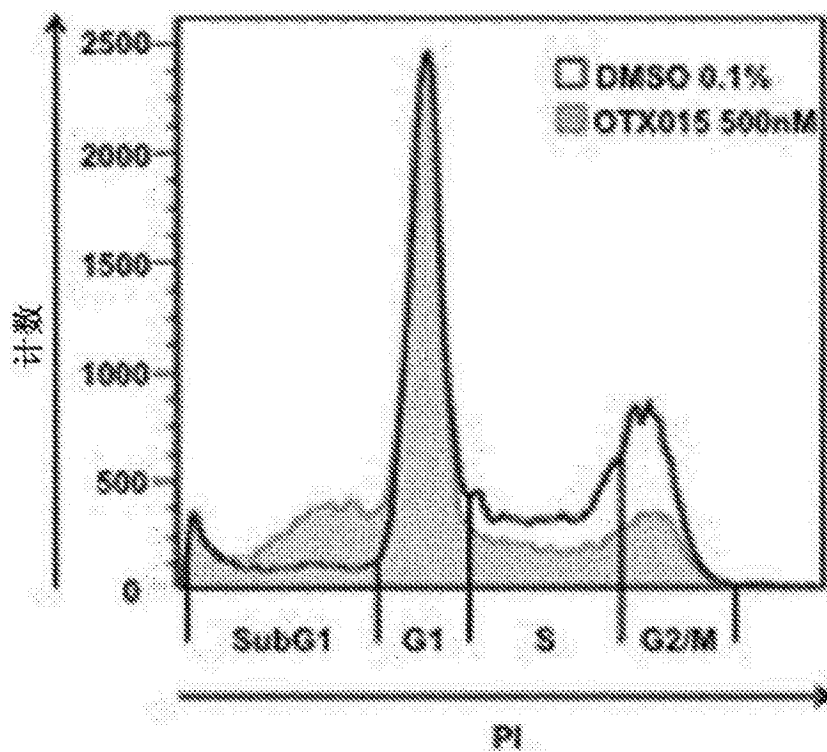


图14A

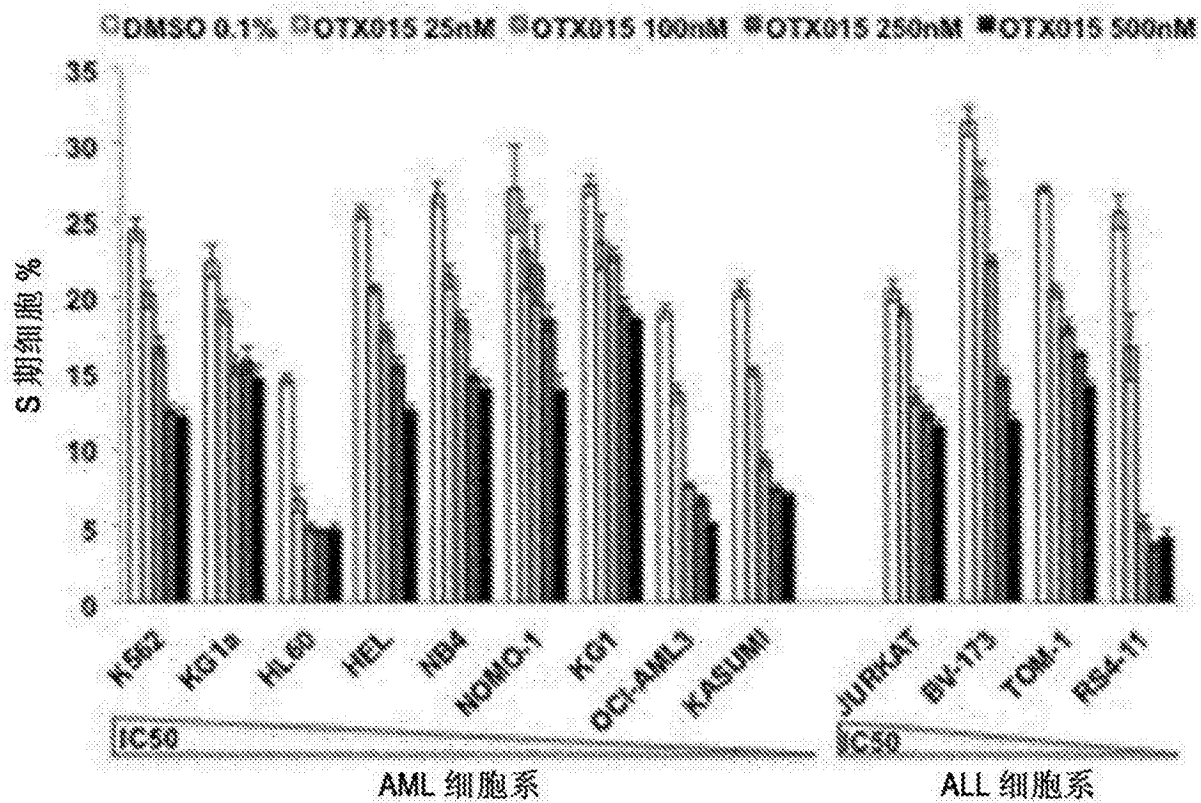


图14B

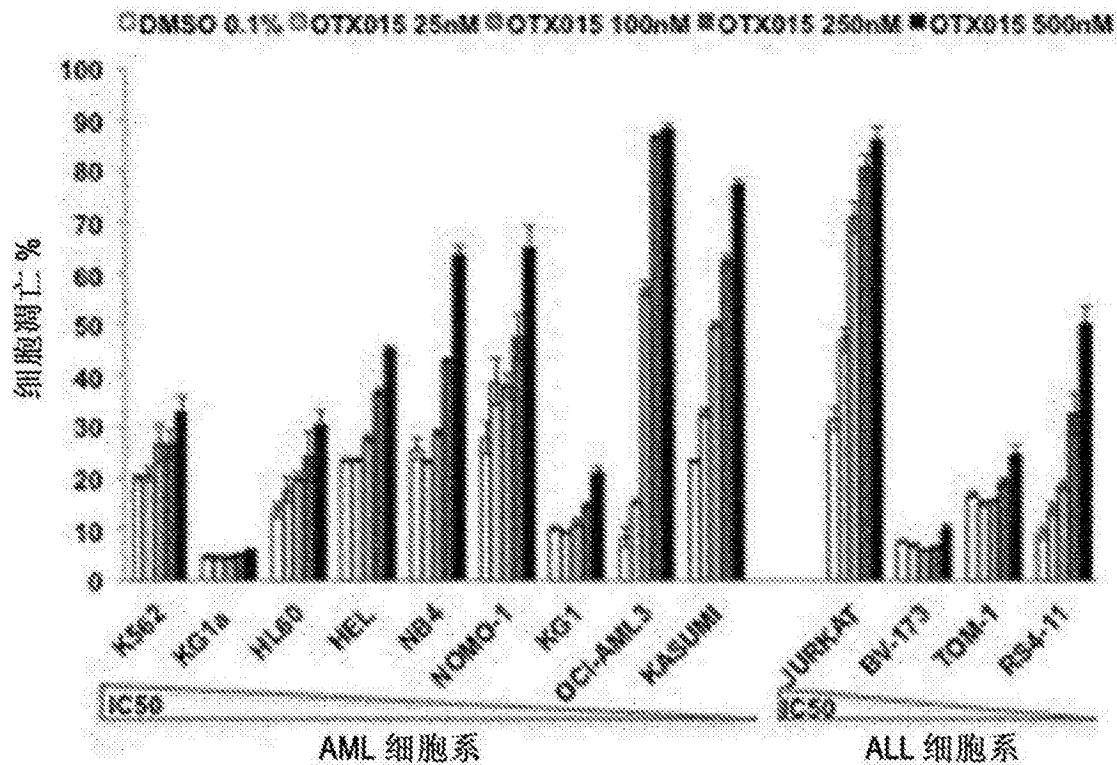


图14C

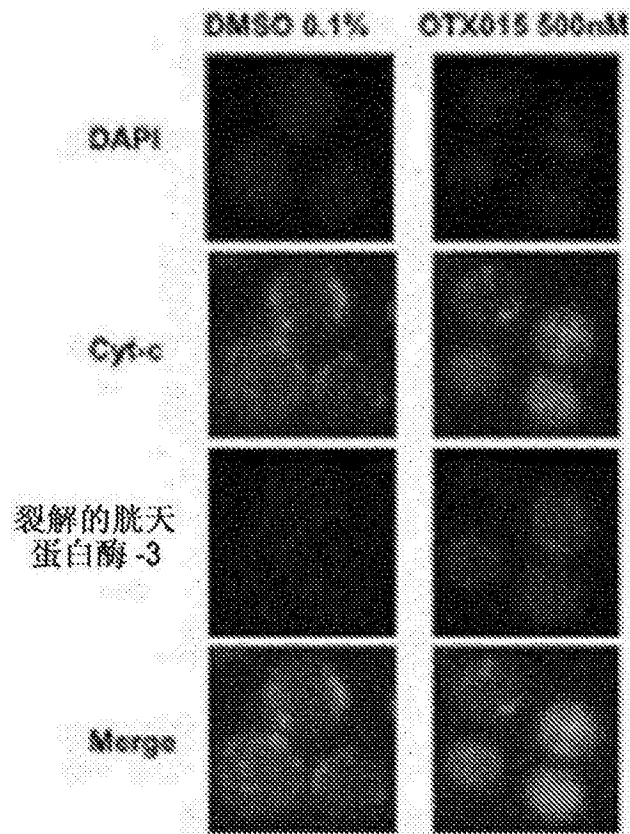


图14D

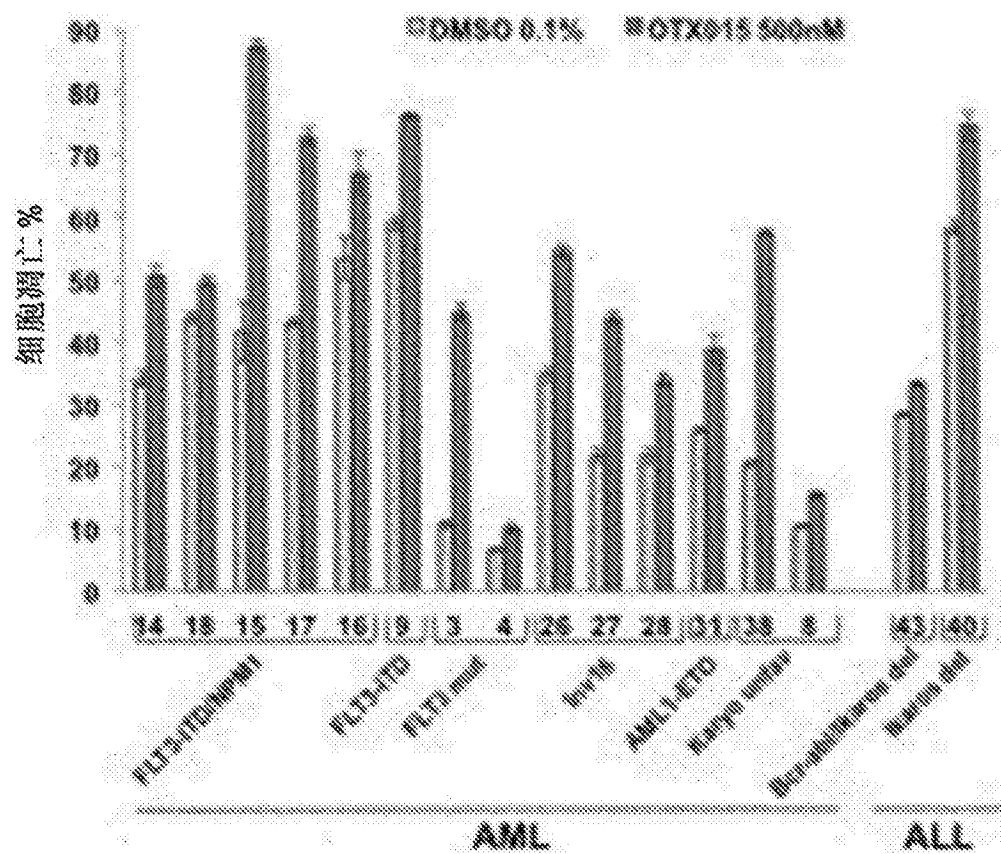


图15A

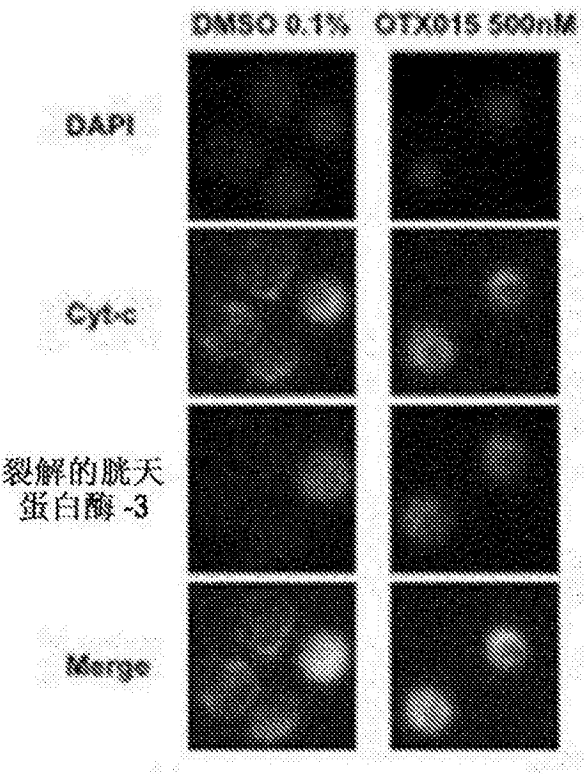


图15B

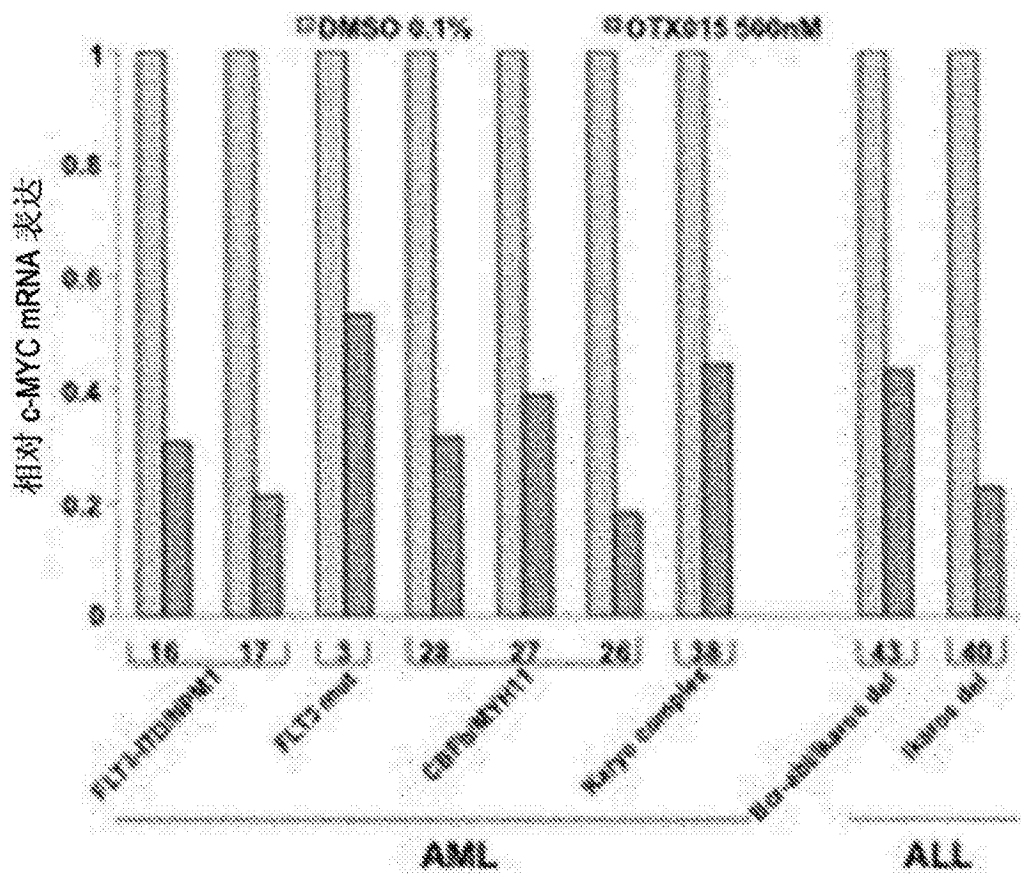


图15C

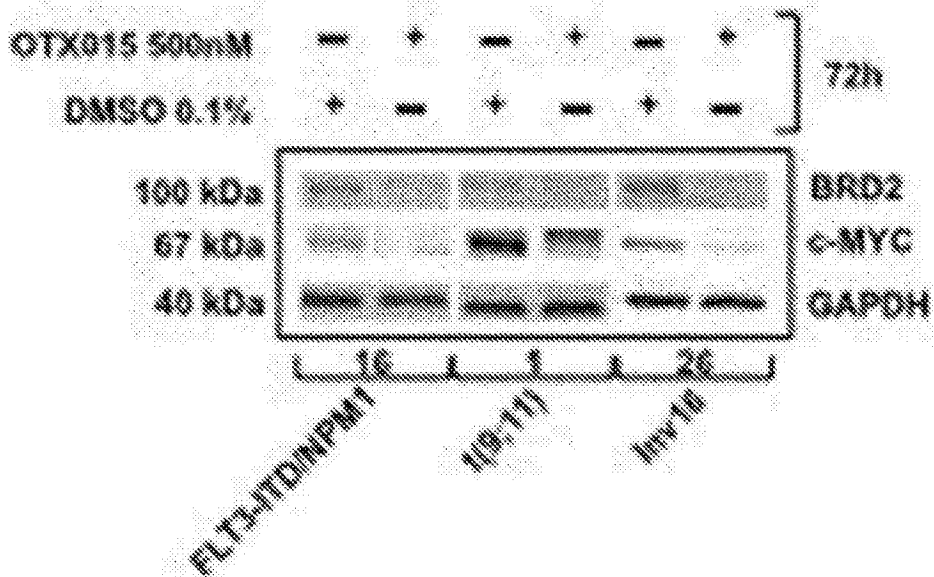


图15D

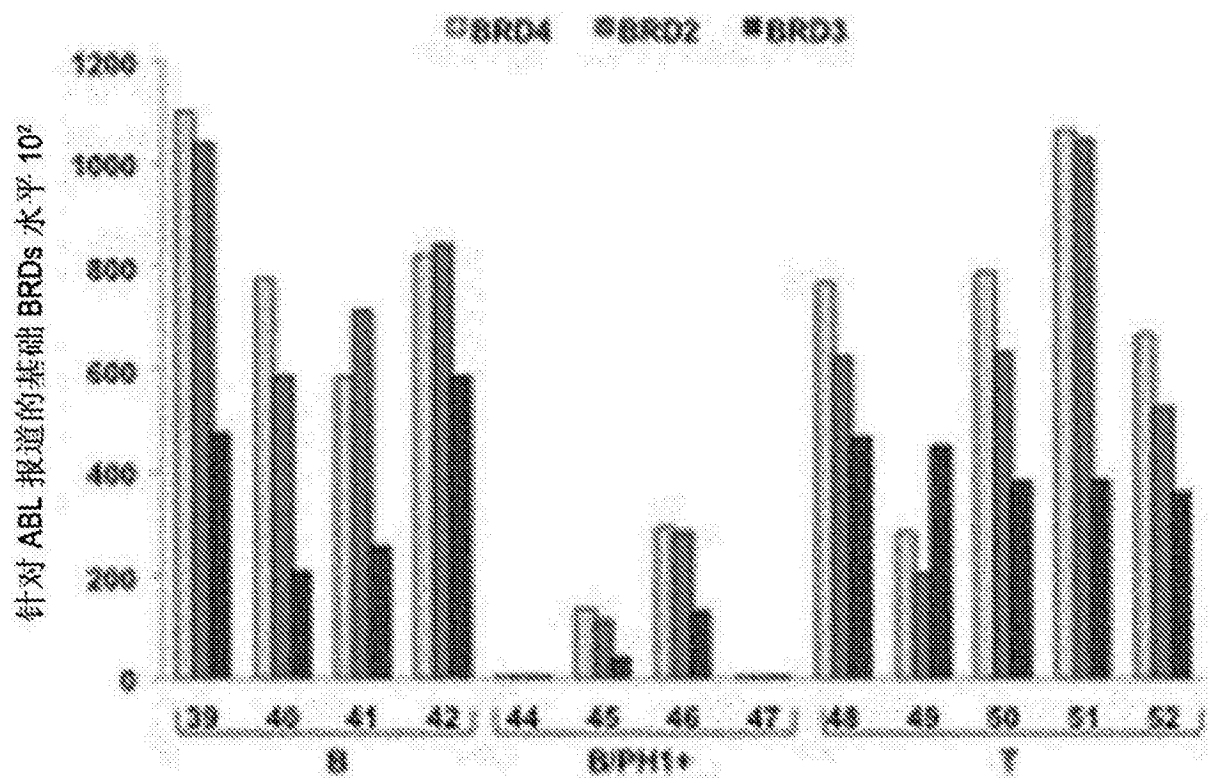


图15E

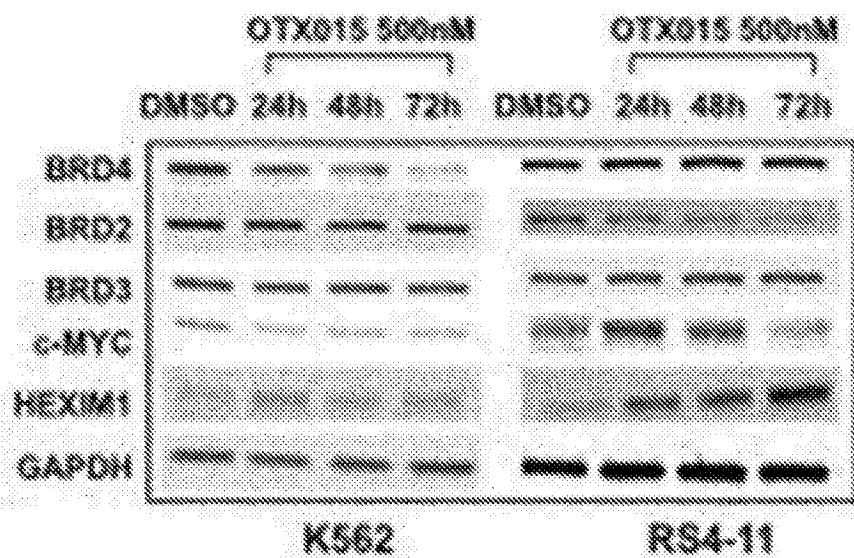


图16A-1

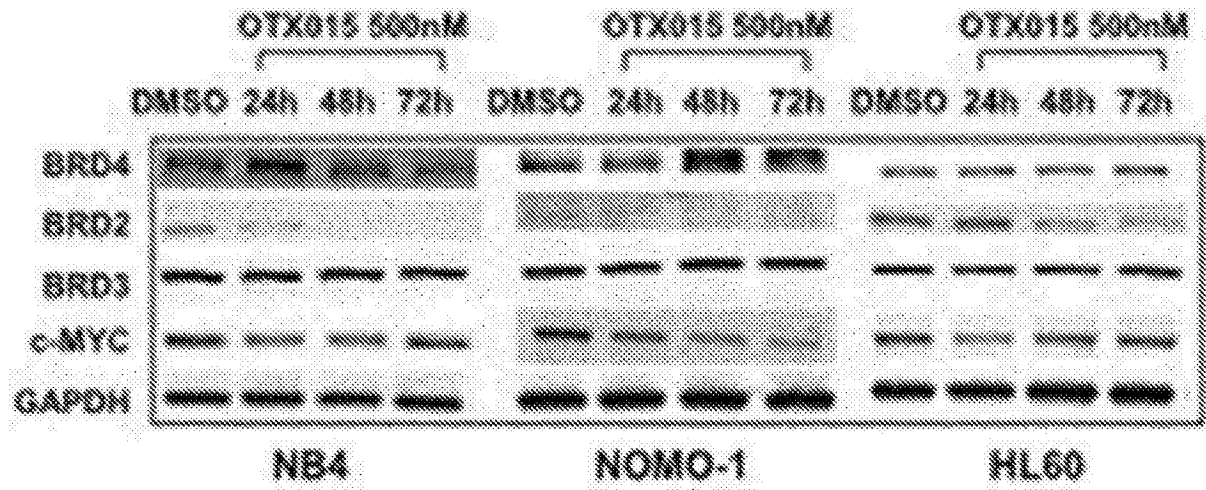


图16A-2

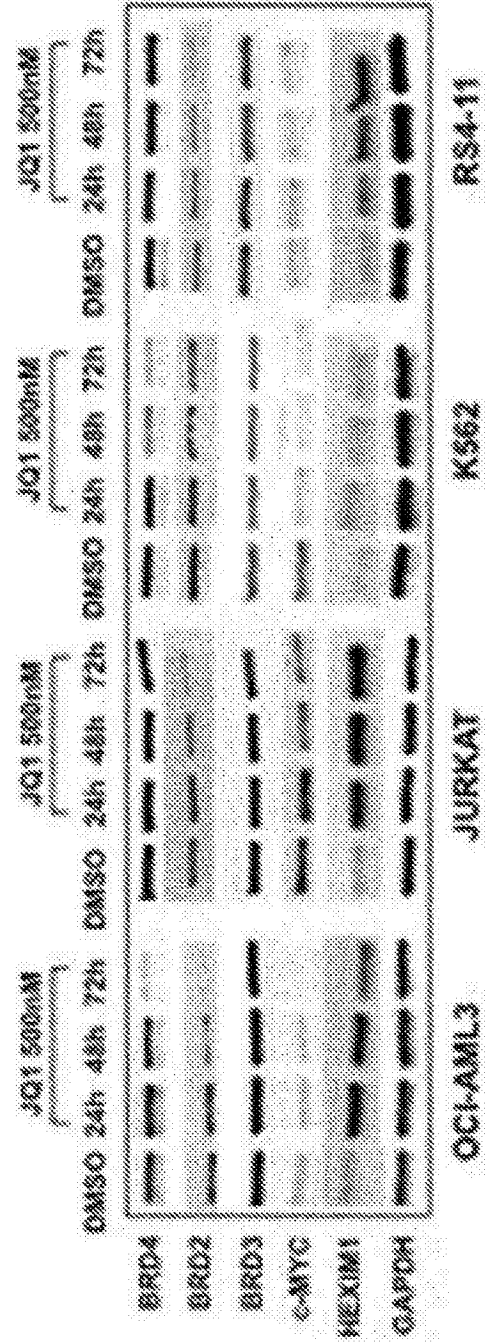


图16B-1

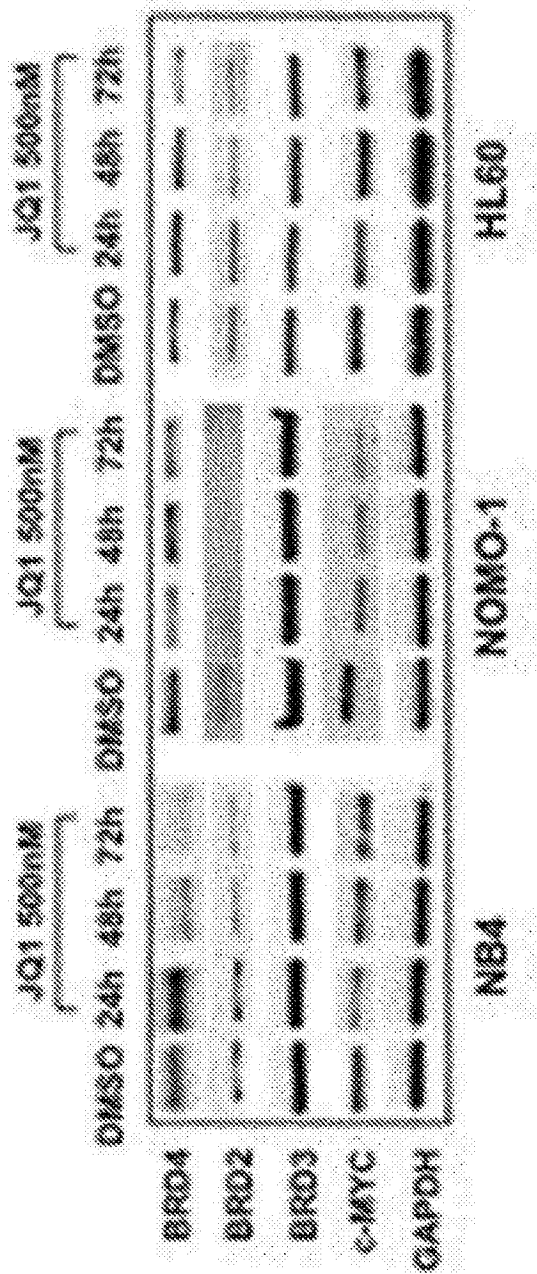


图16B-2

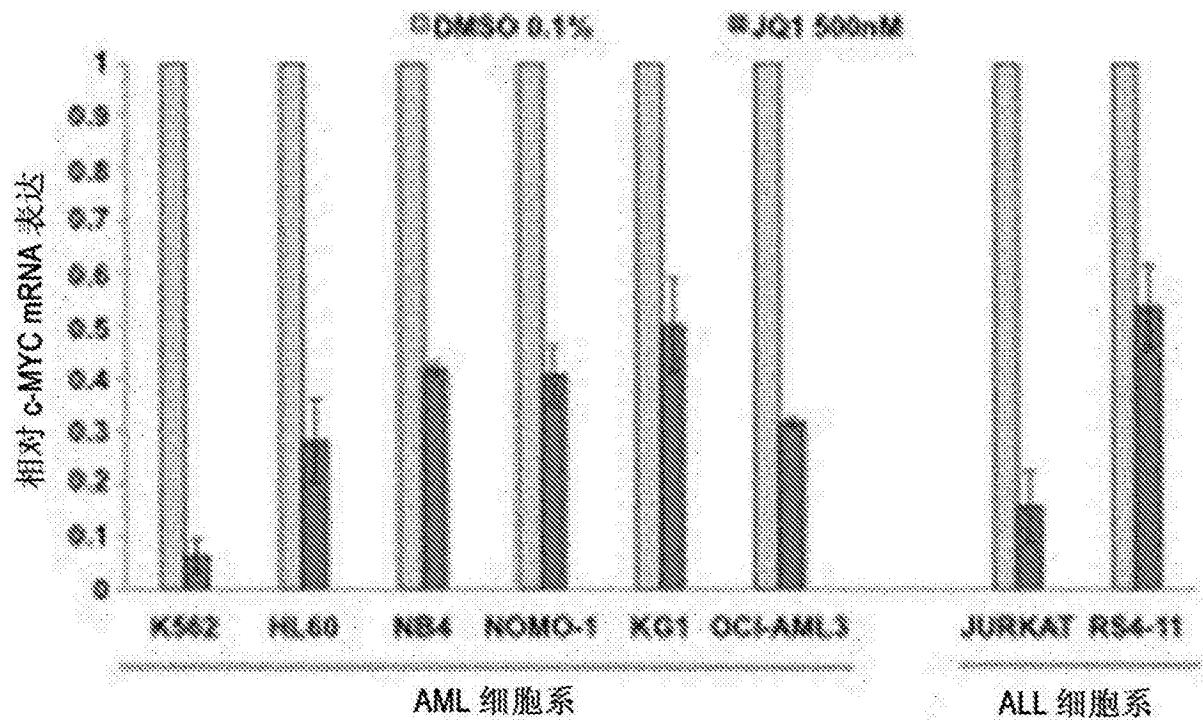


图16C

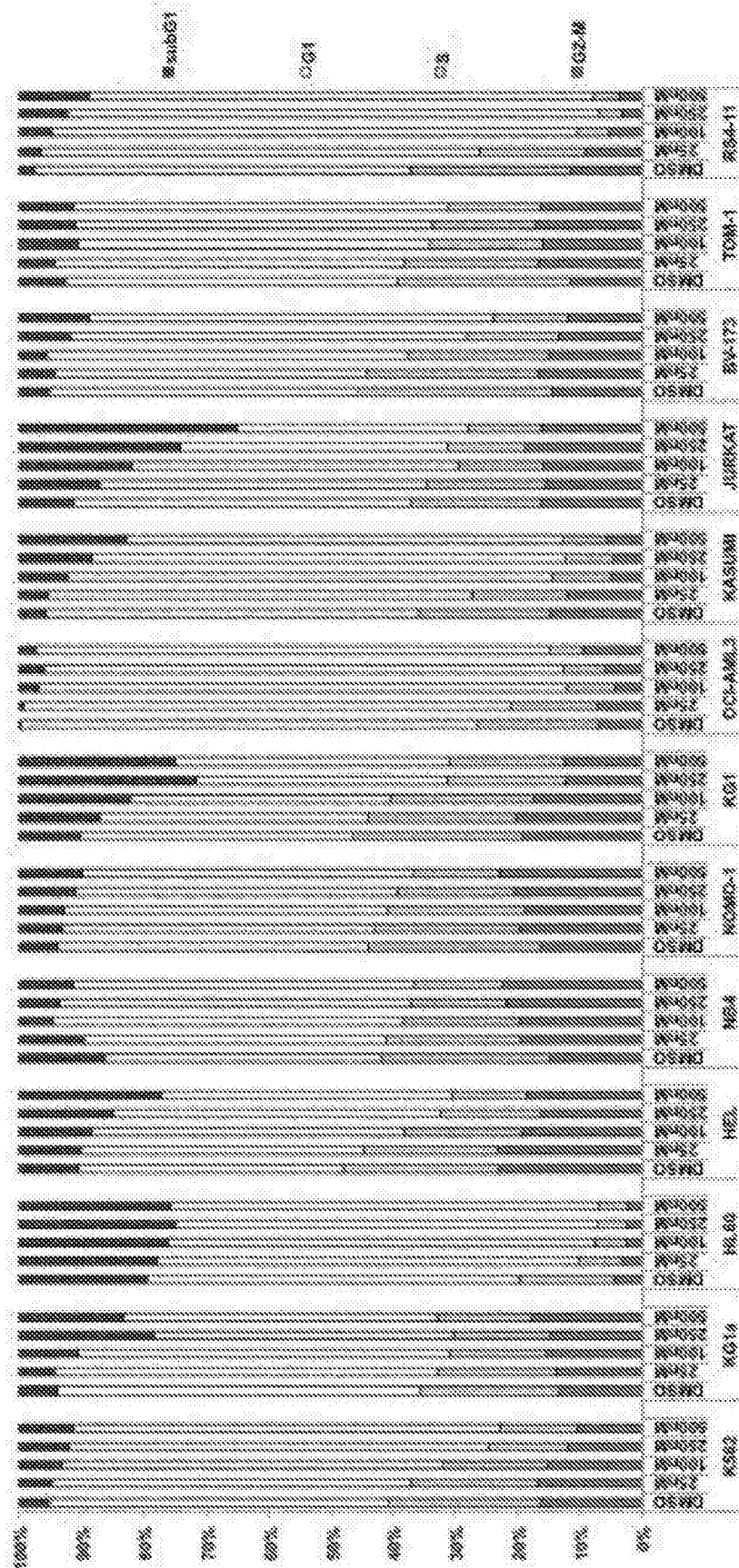


图17

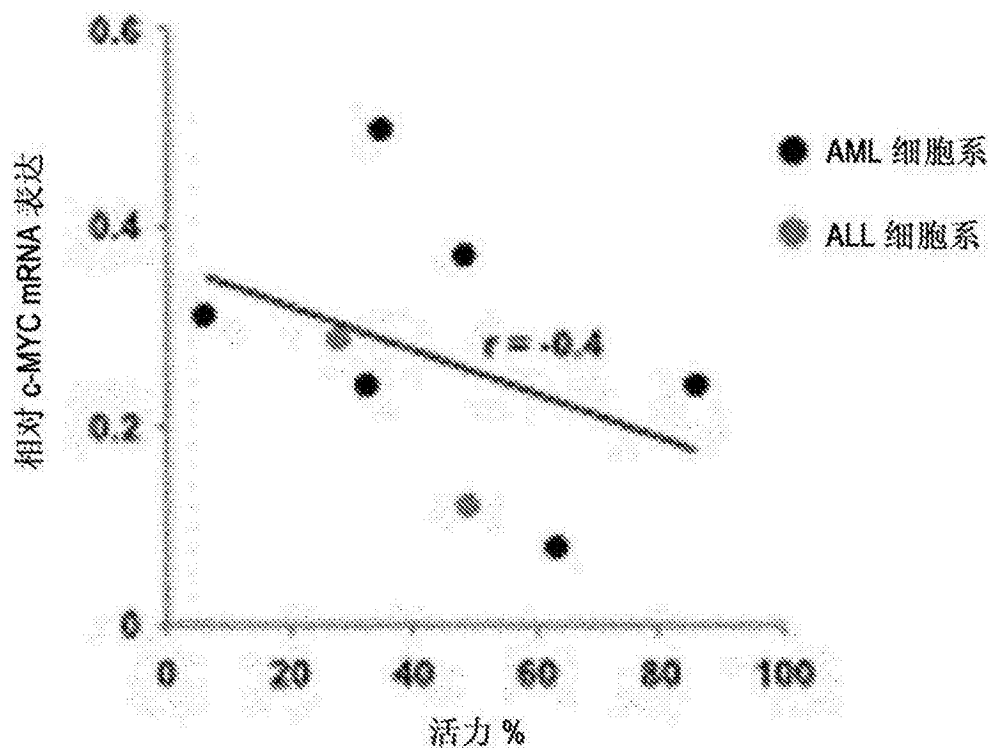


图18A

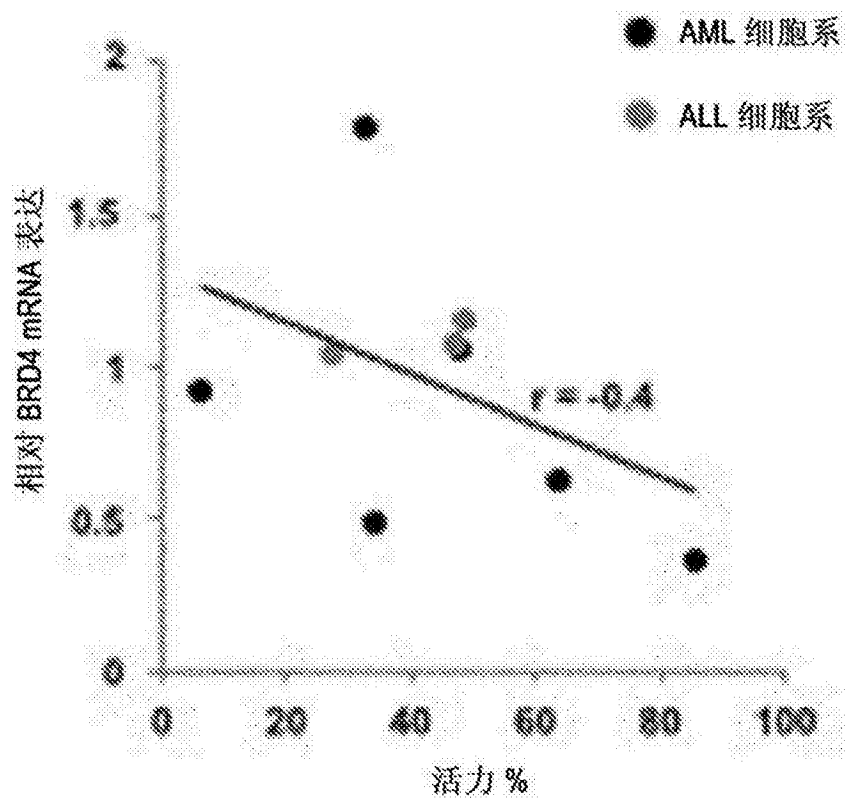


图18B

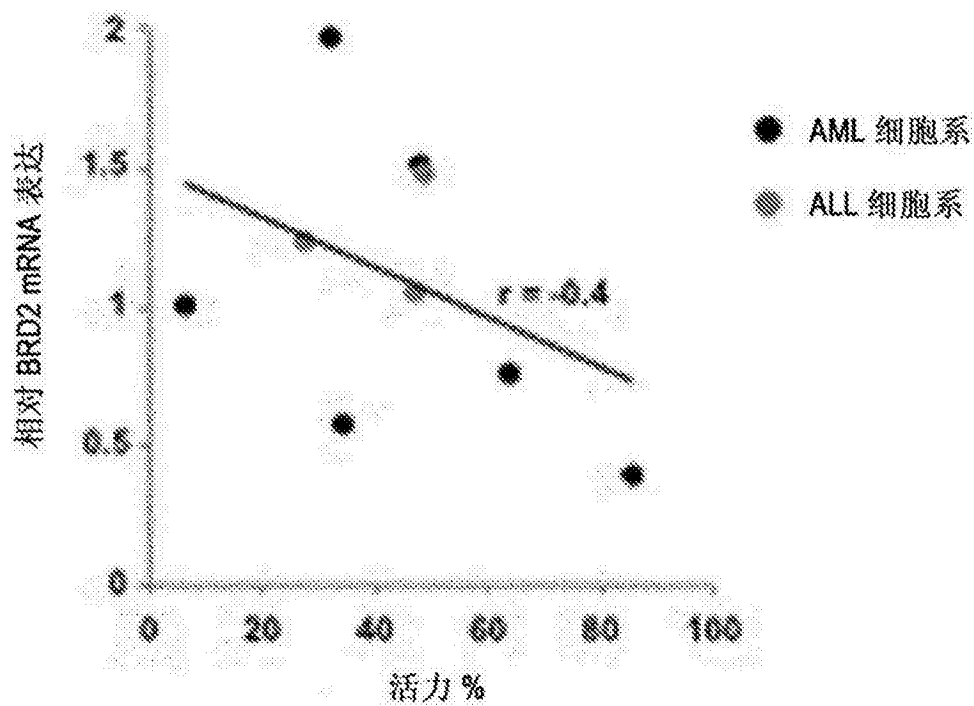


图18C

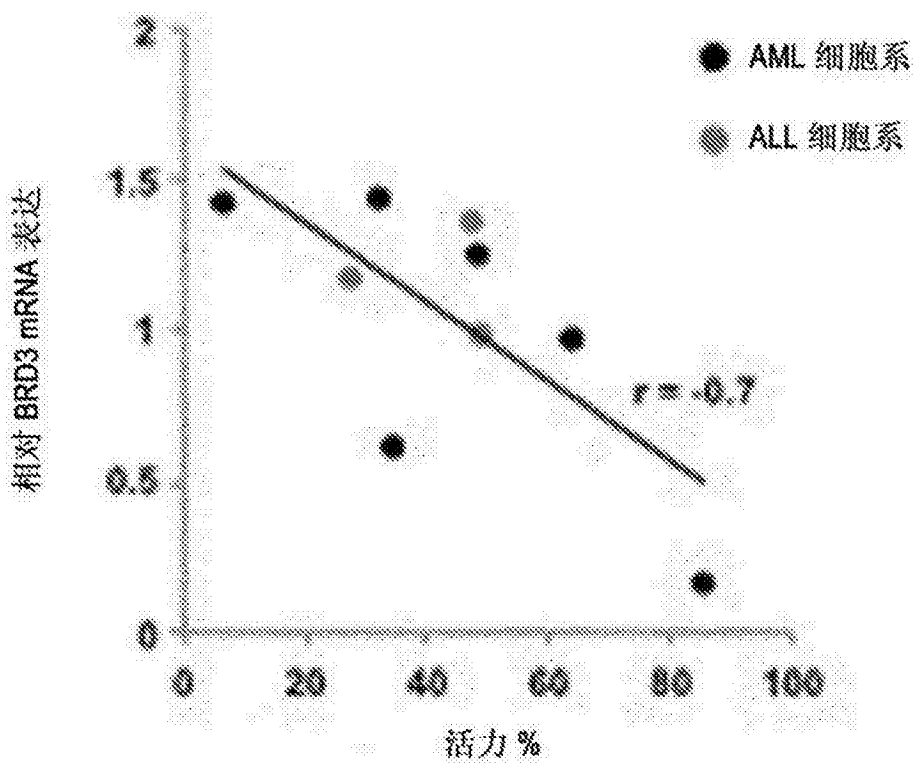


图18D

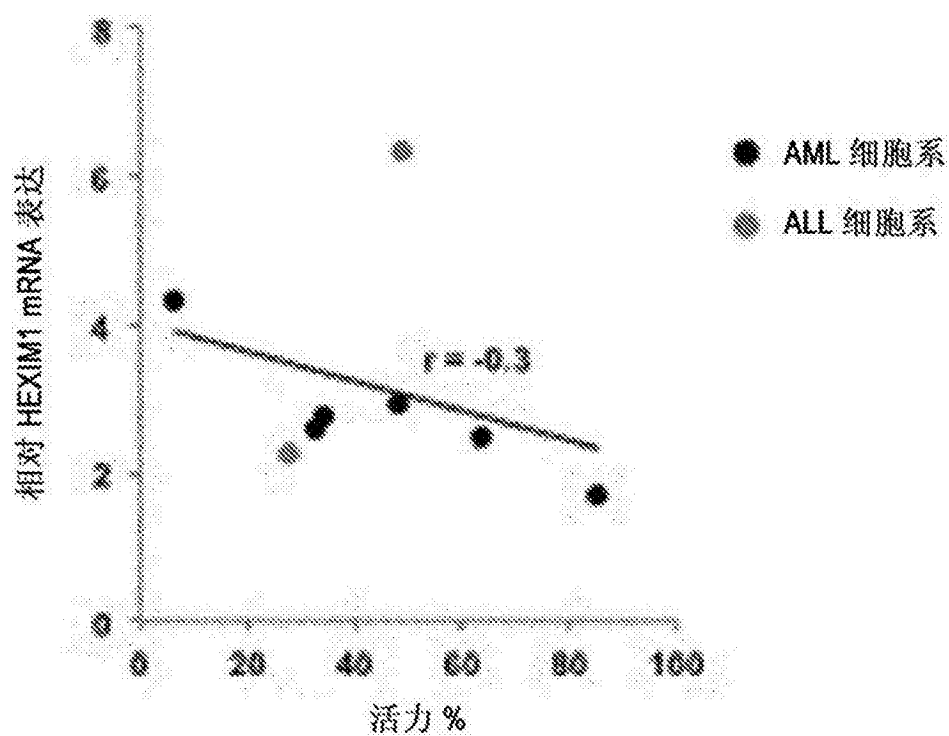


图18E

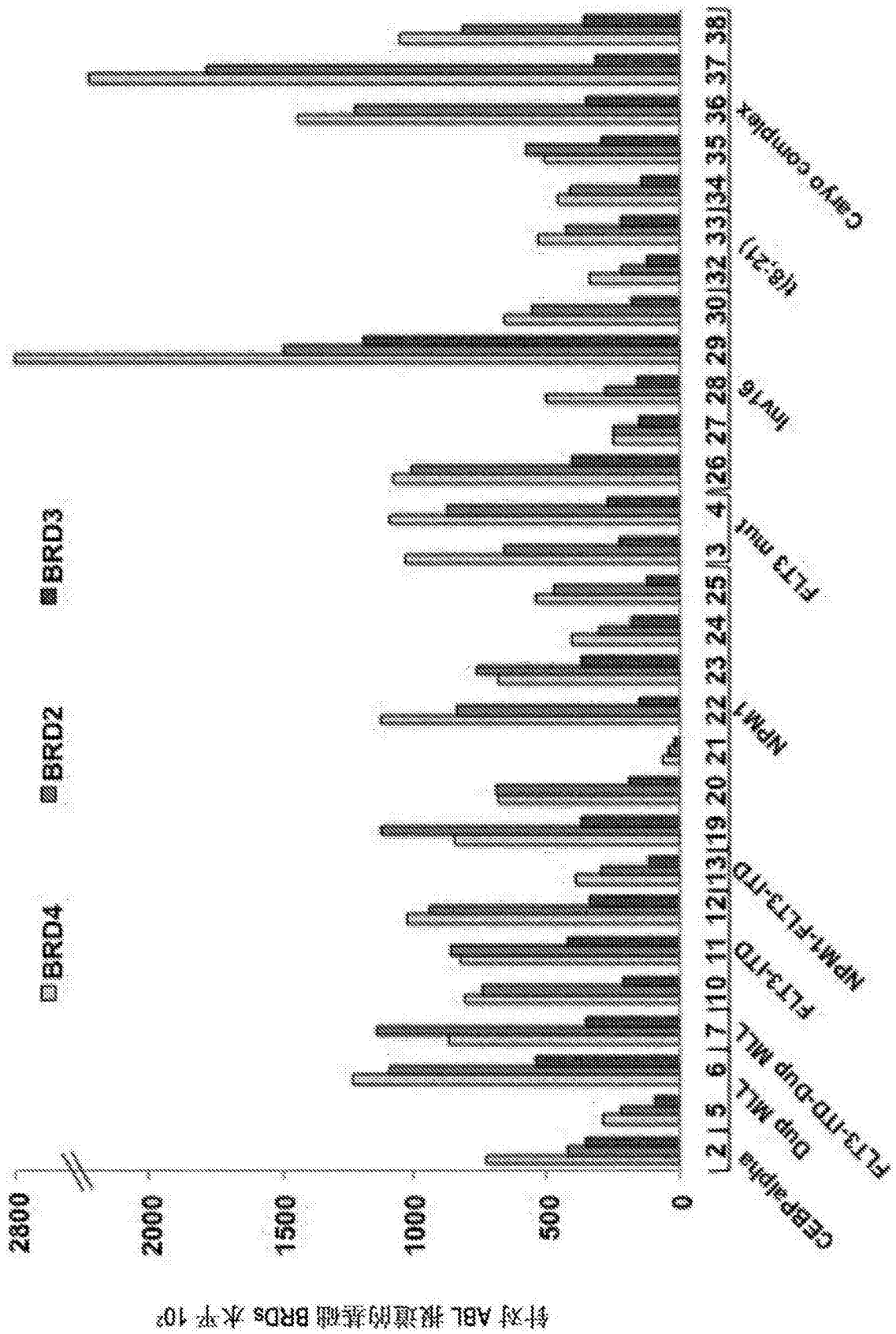


图19

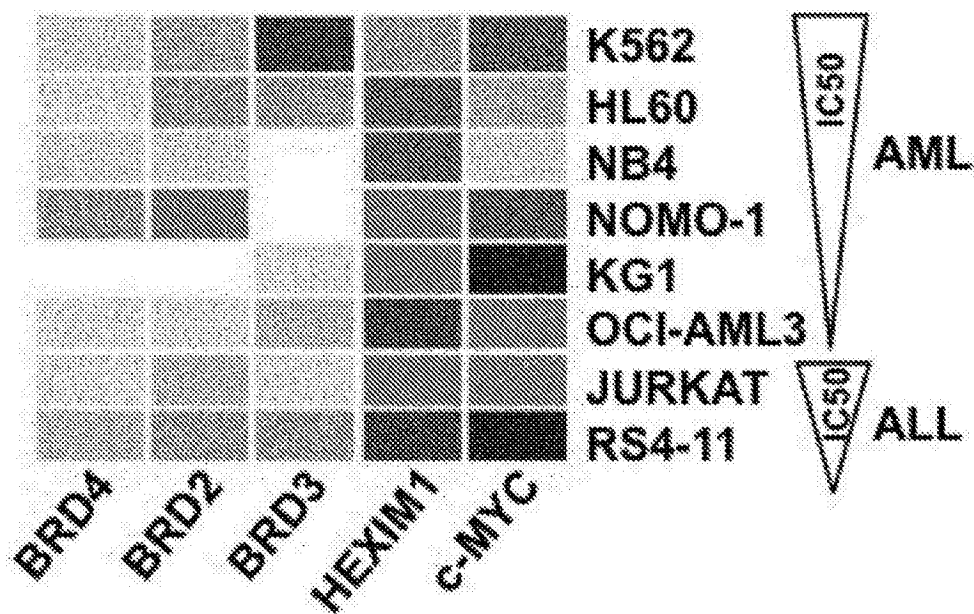


图20A

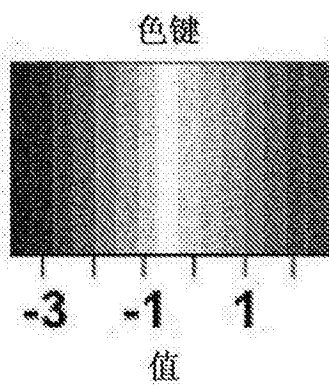


图20B