

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680008143.0

[51] Int. Cl.

C07D 209/04 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

[43] 公开日 2008年3月12日

[11] 公开号 CN 101142183A

[22] 申请日 2006.3.10

[21] 申请号 200680008143.0

[30] 优先权

[32] 2005.3.16 [33] US [31] 60/662,226

[86] 国际申请 PCT/US2006/008482 2006.3.10

[87] 国际公布 WO2006/101761 英 2006.9.28

[85] 进入国家阶段日期 2007.9.13

[71] 申请人 默克公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 P·J·科尔曼 C·D·科克斯

G·D·哈特曼

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘冬 刘玥

权利要求书 12 页 说明书 64 页 序列表 1 页

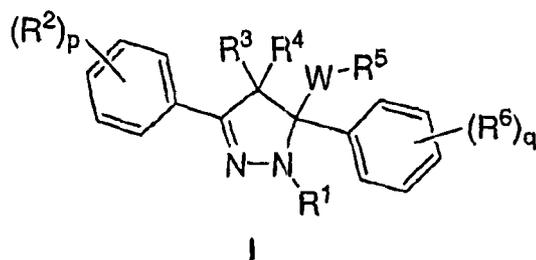
[54] 发明名称

有丝分裂驱动蛋白抑制剂

[57] 摘要

本发明涉及二氢吡唑化合物，其用于治疗细胞增殖性疾病，用于治疗与 KSP 驱动蛋白有关的疾病，用于抑制 KSP 驱动蛋白。本发明还涉及包含这些化合物的组合物和使用它们治疗哺乳动物中的癌症的方法。

1. 一种式 I 的化合物或其药物可接受的盐或立体异构体,



其中

a 为 0 或 1;

b 为 0 或 1;

m 为 0、1 或 2;

n 为 0 或 1;

p 为 0、1、2 或 3;

q 为 0、1 或 2;

u 为 1、2、3、4 或 5;

R¹ 选自:

- 1) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_bC₁-C₁₀ 烷基,
- 2) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_b 芳基,
- 3) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_bC₂-C₁₀ 烯基,
- 4) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_bC₂-C₁₀ 炔基,
- 5) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_bC₃-C₈ 环烷基,
- 6) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_b 杂环基,
- 7) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)NR^cR^{c'},
- 8) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂NR^cR^{c'},
- 9) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂C₁-C₁₀ 烷基,
- 10) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂C₂-C₁₀ 烯基,
- 11) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂C₂-C₁₀ 炔基,

- 12) $(C_1-C_6\text{-亚烷基})_nSO_2\text{-芳基}$,
- 13) $(C_1-C_6\text{-亚烷基})_nSO_2\text{-杂环基}$,
- 14) $(C_1-C_6\text{-亚烷基})_nSO_2C_3-C_8\text{环烷基}$,
- 15) 芳基,
- 16) 杂环基; 和
- 17) C_1-C_{10} 烷基;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、杂芳基和杂环基任选被一个或多个选自 R^7 的取代基取代;

R^2 独立选自:

- 1) $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基,
- 2) $(C=O)_aO_b$ 芳基,
- 3) CO_2H ,
- 4) 卤素,
- 5) CN ,
- 6) OH ,
- 7) $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基,
- 8) $O_a(C=O)_bNR^9R^{10}$,
- 9) $S(O)_mR^a$,
- 10) $S(O)_2NR^9R^{10}$,
- 11) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一个、两个或三个选自 R^7 的取代基取代;

R^3 和 R^4 独立选自:

- 1) H ,
- 2) C_1-C_{10} 烷基,
- 3) 芳基,
- 4) C_2-C_{10} 烯基,
- 5) C_2-C_{10} 炔基,

- 6) C₁-C₆全氟烷基,
- 7) C₁-C₆芳烷基,
- 8) C₃-C₈环烷基,
- 9) 杂环基,
- 10) Si(R^c)₃;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、芳烷基和杂环基任选被一个或多个选自 R⁷ 的取代基取代; 或

连接在相同碳原子上的 R³ 和 R⁴ 联合形成-(CH₂)_n-, 其中碳原子之一任选被选自 O、S(O)_m、-N(R⁹)C(O)-和-N(COR¹⁰)-的部分代替;

R⁵ 选自:

- 1) H,
- 2) C₁-C₁₀烷基,
- 3) 芳基,
- 4) C₂-C₁₀烯基,
- 5) C₂-C₁₀炔基,
- 6) C₁-C₆全氟烷基,
- 7) C₁-C₆芳烷基,
- 8) C₃-C₈环烷基,
- 9) 杂环基, 和
- 10) Si(R^c)₃;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、芳烷基和杂环基任选被一个或多个选自 R⁷ 的取代基取代;

R⁶ 选自:

- 1) 氢,
- 2) (C=O)_aO_bC₁-C₁₀烷基,
- 3) (C=O)_aO_b芳基,
- 4) CO₂H,
- 5) 卤素,

- 6) CN,
- 7) OH,
- 8) $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基,
- 9) $O_a(C=O)_bNR^9R^{10}$,
- 10) $S(O)_mR^a$,
- 11) $S(O)_2NR^9R^{10}$, 和
- 12) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一个、两个或三个选自 R^7 的取代基取代;

R^7 为:

- 1) $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基,
- 2) $(C=O)_aO_b$ 芳基,
- 3) C_2-C_{10} 烯基,
- 4) C_2-C_{10} 炔基,
- 5) $(C=O)_aO_b$ 杂环基,
- 6) CO_2H ,
- 7) 卤素,
- 8) CN,
- 9) OH,
- 10) $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基,
- 11) $O_a(C=O)_bNR^9R^{10}$,
- 12) $S(O)_mR^a$,
- 13) $S(O)_2NR^9R^{10}$,
- 14) 氧代,
- 15) CHO,
- 16) $(N=O)R^9R^{10}$,
- 17) $(C=O)_aO_bC_3-C_8$ 环烷基, 或
- 18) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一个或多个选自 R^8 的取代基取代;

R^8 选自:

- 1) $(C=O)_r O_s (C_1-C_{10})$ 烷基, 其中 r 和 s 独立为 0 或 1,
- 2) $O_r (C_1-C_3)$ 全氟烷基, 其中 r 为 0 或 1,
- 3) (C_0-C_6) 亚烷基- $S(O)_m R^a$, 其中 m 为 0、1 或 2,
- 4) 氧代,
- 5) OH,
- 6) 卤素,
- 7) CN,
- 8) $(C=O)_r O_s (C_2-C_{10})$ 烯基,
- 9) $(C=O)_r O_s (C_2-C_{10})$ 炔基,
- 10) $(C=O)_r O_s (C_3-C_6)$ 环烷基,
- 11) $(C=O)_r O_s (C_0-C_6)$ 亚烷基-芳基,
- 12) $(C=O)_r O_s (C_0-C_6)$ 亚烷基-杂环基,
- 13) $(C=O)_r O_s (C_0-C_6)$ 亚烷基- $N(R^b)_2$,
- 14) $C(O)R^a$,
- 15) (C_0-C_6) 亚烷基- CO_2R^a ,
- 16) $C(O)H$,
- 17) (C_0-C_6) 亚烷基- CO_2H ,
- 18) $C(O)NR^9R^{10}$,
- 19) $S(O)_m R^a$,
- 20) $S(O)_2NR^9R^{10}$,
- 21) $C(NH)NH_2$; 和
- 22) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基和杂环基任选被至多三个选自 R^b 、OH、 (C_1-C_6) 烷氧基、卤素、 CO_2H 、CN、 $O(C=O)C_1-C_6$ 烷基、氧代和 $N(R^b)_2$ 的取代基取代;

R^9 和 R^{10} 独立选自:

- 1) H,
- 2) $(C=O)O_b C_1-C_{10}$ 烷基,
- 3) $(C=O)O_b C_3-C_8$ 环烷基,
- 4) $(C=O)O_b$ 芳基,
- 5) $(C=O)O_b$ 杂环基,
- 6) C_1-C_{10} 烷基,
- 7) 芳基,
- 8) C_2-C_{10} 烯基,
- 9) C_2-C_{10} 炔基,
- 10) 杂环基,
- 11) C_3-C_8 环烷基,
- 12) SO_2R^a , 和
- 13) $(C=O)NR^b_2$,

所述烷基、环烷基、芳基、杂环基、烯基和炔基任选被一个或多个选自 R^8 的取代基取代; 或者

R^9 和 R^{10} 可以与它们所连接的氮一起形成每个环为 3-7 元的单环杂环或双环杂环, 并且除了所述氮之外还任选含有一个或两个选自 N、O 和 S 的额外杂原子, 所述单环杂环或双环杂环任选被一个或多个选自 R^8 的取代基取代;

R^a 为 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_6) 环烷基、芳基或杂环基;

R^b 为 H、 (C_1-C_6) 烷基、芳基、杂环基、 (C_3-C_6) 环烷基、 $(C=O)OC_1-C_6$ 烷基、 $(C=O)C_1-C_6$ 烷基或 $S(O)_2R^a$, 所述烷基、环烷基、芳基、杂环基、烯基和炔基任选被一个或多个选自 R^7 的取代基取代,

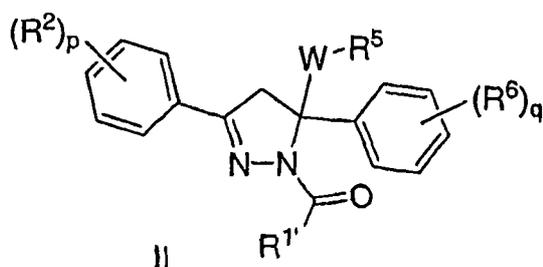
R^c 为 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_6) 环烷基、芳基、杂环基、OH 或 OR^a ;
所述烷基、环烷基、芳基、杂环基、烯基和炔基任选被一个或多个选自 R^7 的取代基取代,

X 选自 O、 NR^c 和 S;

W 选自：键、C=O、C=S 和 CH(OH)；

前提条件是在所述化合物中存在至少一个硅原子，进一步的前提条件是 -W-R⁵ 不为 -(C₁-C₆)烷基-O-Si[(C₁-C₆)烷基]₃。

2. 权利要求 1 的化合物或其药物可接受的盐或立体异构体，所述化合物为式 II



其中

a 为 0 或 1；

b 为 0 或 1；

m 为 0、1 或 2；

n 为 0 或 1；

p 为 0、1、2 或 3；

q 为 0 或 1；

R^{1'} 选自：CF₃、NH₂、O_b(C₁-C₁₀)烷基、O_b(C₂-C₁₀)烯基、O_b(C₂-C₁₀)炔基、O_b(C₃-C₈)环烷基、O_b(C₀-C₆)亚烷基芳基、O_b(C₀-C₆)亚烷基杂环基、O_b(C₀-C₆)亚烷基-NR⁹R¹⁰、O_b(C₁-C₃)全氟烷基、(C₀-C₆)亚烷基-CO₂R^a 和 (C₀-C₆)亚烷基-CO₂H；

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、杂芳基和杂环基任选被一至三个选自 R⁷ 的取代基取代；或

R² 独立选自：

1) (C=O)_aO_bC₁-C₁₀ 烷基，

2) (C=O)_aO_b 芳基，

3) CO₂H，

4) 卤素，

- 5) CN,
- 6) OH,
- 7) $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基,
- 8) $O_a(C=O)_bNR^9R^{10}$,
- 9) $S(O)_mR^a$,
- 10) $S(O)_2NR^9R^{10}$,
- 11) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一个、两个或三个选自 R^7 的取代基取代;

R^5 选自:

- 1) H,
- 2) C_1-C_{10} 烷基,
- 3) 芳基,
- 4) C_2-C_{10} 烯基,
- 5) C_2-C_{10} 炔基,
- 6) C_1-C_6 全氟烷基,
- 7) C_1-C_6 芳烷基,
- 8) C_3-C_8 环烷基,
- 9) 杂环基, 和
- 10) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、芳烷基和杂环基任选被一至三个选自 R^7 的取代基取代;

R^6 选自:

- 1) 氢,
- 2) $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基,
- 3) $(C=O)_aO_b$ 芳基,
- 4) CO_2H ,
- 5) 卤素,

- 6) CN,
- 7) OH,
- 8) $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基,
- 9) $O_a(C=O)_bNR^8R^9$,
- 10) $S(O)_mR^a$,
- 11) $S(O)_2NR^8R^9$,
- 12) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一个、两个或三个选自 R^7 的取代基取代;

R^7 为:

- 1) $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基,
- 2) $(C=O)_aO_b$ 芳基,
- 3) C_2-C_{10} 烯基,
- 4) C_2-C_{10} 炔基,
- 5) $(C=O)_aO_b$ 杂环基,
- 6) CO_2H ,
- 7) 卤素,
- 8) CN,
- 9) OH,
- 10) $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基,
- 11) $O_a(C=O)_bNR^9R^{10}$,
- 12) $S(O)_mR^a$,
- 13) $S(O)_2NR^9R^{10}$,
- 14) 氧代,
- 15) CHO,
- 16) $(N=O)R^9R^{10}$,
- 17) $(C=O)_aO_bC_3-C_8$ 环烷基, 或
- 18) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一至三个选自 R^8 的取代基取代；

R^8 选自：

- 1) $(C=O)_r O_s (C_1-C_{10})$ 烷基，其中 r 和 s 独立为 0 或 1，
- 2) $O_r (C_1-C_3)$ 全氟烷基，其中 r 为 0 或 1，
- 3) (C_0-C_6) 亚烷基- $S(O)_m R^a$ ，其中 m 为 0、1 或 2，
- 4) 氧代，
- 5) OH，
- 6) 卤素，
- 7) CN，
- 8) $(C=O)_r O_s (C_2-C_{10})$ 烯基，
- 9) $(C=O)_r O_s (C_2-C_{10})$ 炔基，
- 10) $(C=O)_r O_s (C_3-C_6)$ 环烷基，
- 11) $(C=O)_r O_s (C_0-C_6)$ 亚烷基-芳基，
- 12) $(C=O)_r O_s (C_0-C_6)$ 亚烷基-杂环基，
- 13) $(C=O)_r O_s (C_0-C_6)$ 亚烷基- $N(R^b)_2$ ，
- 14) $C(O)R^a$ ，
- 15) (C_0-C_6) 亚烷基- CO_2R^a ，
- 16) $C(O)H$ ，
- 17) (C_0-C_6) 亚烷基- CO_2H ，
- 18) $C(O)N(R^b)_2$ ，
- 19) $S(O)_m R^a$ ，
- 20) $S(O)_2 NR^9 R^{10}$ ，
- 21) $C(NH)NH_2$ ； 和
- 22) $Si(R^c)_3$ ；

所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基和杂环基任选被至多三个选自 R^b 、OH、 (C_1-C_6) 烷氧基、卤素、 CO_2H 、CN、 $O(C=O)C_1-C_6$ 烷基、氧代和 $N(R^b)_2$ 的取代基取代；

R^9 和 R^{10} 独立选自:

- 1) H,
- 2) $(C=O)O_b C_1-C_{10}$ 烷基,
- 3) $(C=O)O_b C_3-C_8$ 环烷基,
- 4) $(C=O)O_b$ 芳基,
- 5) $(C=O)O_b$ 杂环基,
- 6) C_1-C_{10} 烷基,
- 7) 芳基,
- 8) C_2-C_{10} 烯基,
- 9) C_2-C_{10} 炔基,
- 10) 杂环基,
- 11) C_3-C_8 环烷基,
- 12) SO_2R^a , 和
- 13) $(C=O)NR^b_2$,

所述烷基、环烷基、芳基、杂环基、烯基和炔基任选被一至三个选自 R^8 的取代基取代;

R^9 和 R^{10} 可以与它们所连接的氮一起形成每个环为 3-7 元的单环杂环或双环杂环, 并且除了所述氮之外还任选含有一个或两个选自 N、O 和 S 的额外杂原子, 所述单环杂环或双环杂环任选被一至三个选自 R^8 的取代基取代;

R^a 为 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_6) 环烷基、芳基或杂环基;

R^b 为 H、 (C_1-C_6) 烷基、芳基、杂环基、 (C_3-C_6) 环烷基、 $(C=O)OC_1-C_6$ 烷基、 $(C=O)C_1-C_6$ 烷基或 $S(O)_2R^a$, 所述烷基、芳基、环烷基和杂环基任选被一至三个选自 R^7 的取代基取代,

R^c 为 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_6) 环烷基、芳基、杂环基、OH 或 OR^a ; 所述烷基、芳基、环烷基和杂环基任选被一至三个选自 R^7 的取代基取代,

W 选自: 键和 $CH(OH)$;

前提条件是在该化合物中存在至少一个硅原子，进一步的前提条件是 $-W-R^5$ 不为 $-(C_1-C_6)$ 烷基 $-O-Si[(C_1-C_6)$ 烷基] $_3$ 。

3. 一种选自下列的化合物：

{2-[1-乙酰基-3-(2,5-二氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1*H*-吡唑-5-基]乙基}(二甲基)甲硅烷醇；

{4-[1-乙酰基-3-(2,5-二氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1*H*-吡唑-5-基]丁基}(二甲基)甲硅烷醇；

1-乙酰基-4-(3-{(5*S*)-1-乙酰基-3-[2-氟-5-(三甲基甲硅烷基)苯基]-5-苯基-4,5-二氢-1*H*-吡唑-5-基}丙基)哌嗪；

或其药物可接受的盐或立体异构体。

4. 一种药物组合物，所述组合物由权利要求 1 的化合物和药物可接受的载体组成。

5. 一种在需要这种治疗的哺乳动物中治疗或预防癌症的方法，所述方法由给予所述哺乳动物治疗有效量的权利要求 1 的化合物组成。

6. 权利要求 5 的治疗或预防癌症的方法，其中所述癌症选自脑癌、泌尿生殖道癌、淋巴系统癌、胃癌、喉癌和肺癌。

7. 权利要求 5 的治疗或预防癌症的方法，其中所述癌症选自组织细胞性淋巴瘤、肺腺癌、小细胞肺癌、胰腺癌、成胶质细胞瘤和乳腺癌。

8. 一种使用权利要求 1 的化合物制备药物的方法，所述药物用于在需要这种治疗的哺乳动物中治疗或预防癌症。

9. 一种使用权利要求 1 的化合物制备药物的方法，所述药物用于在需要这种治疗的哺乳动物中抑制有丝分裂驱动蛋白 KSP。

有丝分裂驱动蛋白抑制剂

发明背景

本发明涉及 4,5-二氢吡唑衍生物，所述衍生物是有丝分裂驱动蛋白抑制剂、尤其是有丝分裂驱动蛋白 KSP 的抑制剂，可用于治疗细胞增殖性疾病例如癌症、增生、再狭窄、心脏肥大、免疫病症和炎症。

在用于治疗癌症的治疗药物中有紫杉烷类和长春花碱。紫杉烷类和长春花属生物碱作用于各种细胞结构中存在的微管。微管是有丝分裂纺锤体的基本结构元件。有丝分裂纺锤体负责将基因组的复制拷贝分配给由细胞分裂形成的两个子细胞。推测当有丝分裂纺锤体被这些药物破坏后，导致抑制癌细胞分裂并诱导癌细胞死亡。然而，微管也构成其它类型的细胞结构，包括在神经过程中用于胞内运输的通道。因为这些药物并不是特异性靶向有丝分裂纺锤体，所以它们具有的副作用限制其用途。

值得考虑改善用于治疗癌症的药物特异性，因为如果可以降低给予所述药物相关的副作用，则会认识到治疗的益处。传统上来说，癌症治疗中的明显改善涉及鉴定通过新机制起作用的治疗剂。其实例不仅包括紫杉烷类，而且包括拓扑异构酶 I 抑制剂的喜树碱类。从这两方面看，有丝分裂驱动蛋白是颇具吸引力的新型抗癌药的靶标。

有丝分裂驱动蛋白是有丝分裂纺锤体装配和功能必不可少的酶，但是通常并非其它微管结构(例如神经过程中的微管结构)的组成部分。有丝分裂驱动蛋白在所有各期有丝分裂期间都起到必不可少的作用。这些酶是“分子发动机”，它们可将 ATP 水解释放的能量转化成机械能，驱动细胞物质沿着微管进行定向运动。执行该任务的催化结构域是约 340 个氨基酸的致密结构。在有丝分裂期间，驱

动蛋白将微管组织成为两极结构，即有丝分裂纺锤体。驱动蛋白介导染色体沿着纺锤体微管运动，并且在与有丝分裂具体各期相关的有丝分裂纺锤体中介导结构变化。

实验性干扰有丝分裂驱动蛋白功能，会引起有丝分裂纺锤体畸形或功能异常，通常会导致细胞周期停滞和细胞死亡。

在有丝分裂驱动蛋白中，已经鉴定出 KSP。KSP 属于加有末端定向微管发动蛋白的进化上保守的驱动蛋白亚家族，所述发动蛋白装配到由反向平行的同型二聚体组成的两极同型四聚体中。在有丝分裂期间，KSP 与有丝分裂纺锤体微管连接。将抗 KSP 的抗体微量注射到人体细胞内，在前中期阻止纺锤体两极分离，产生单极纺锤体并引起有丝分裂停滞，诱导程序性细胞死亡。在其它非人类生物体中的 KSP 和相关驱动蛋白束缚反向平行微管并将其彼此相对放入，因而迫使纺锤体两极分开。KSP 也会介导后期 B 纺锤体的伸长和微管在纺锤体极的聚集。

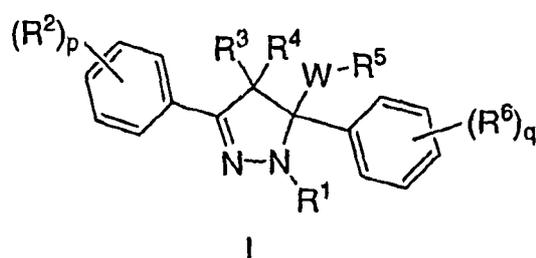
已经描述了人 KSP (也称为 HsEg5) [Blangy 等, *Cell*, 83: 1159-69 (1995); Whitehead 等, *Arthritis Rheum.*, 39: 1635-42 (1996); Galgio 等, *J. Cell Biol.*, 135: 339-414 (1996); Blangy 等, *J Biol. Chem.*, 272: 19418-24 (1997); Blangy 等, *Cell Motil Cytoskeleton*, 40: 174-82 (1998); Whitehead 和 Rattner, *J. Cell Sci.*, 111: 2551-61 (1998); Kaiser 等, *JBC* 274: 18925-31 (1999); GenBank 登录号: X85137、NM004523 和 U37426], 而且已经描述了 KSP 基因片段(TRIP5) [Lee 等, *Mol Endocrinol.*, 9: 243-54 (1995); GenBank 登录号 L40372]。已经报道了爪蟾属(*Xenopus*) KSP 同源物(Eg5), 以及果蝇属(*Drosophila*) K-LP61 F/KRP 130。

已经描述了某些二氢吡唑和二氢吡咯作为 KSP 抑制剂(PCT 公布号 WO 2003/079973, 2003 年 10 月 2 日, WO 2003/106417, 2003 年 12 月 24 日, WO 2003/105855, 2003 年 12 月 24 日, WO 2004/037171, 2004 年 5 月 6 日和 WO 2004/058148, 2004 年 7 月 15 日)。

有丝分裂驱动蛋白对于发现和开发新型有丝分裂化疗药来说是颇具吸引力的靶标。因此,本发明的一个目的是提供用于抑制 KSP (一种有丝分裂驱动蛋白)的化合物、方法和组合物。

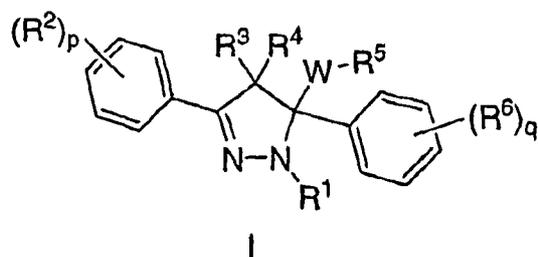
发明概述

本发明涉及 4,5-二氢吡唑衍生物,其可用于治疗细胞增殖性疾病,用于治疗 KSP 驱动蛋白活性相关的疾病,并且用于抑制 KSP 驱动蛋白。本发明的化合物由下式 I 表示:



发明详述

本发明的化合物可用于抑制有丝分裂驱动蛋白,由下式 I 的化合物或其药物可接受的盐或立体异构体表示:



其中

a 为 0 或 1;

b 为 0 或 1;

m 为 0、1 或 2;

n 为 0 或 1;

p 为 0、1、2 或 3;

q 为 0、1 或 2;

u 为 1、2、3、4 或 5;

R¹ 选自:

- 1) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_bC₁-C₁₀ 烷基,
- 2) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_b 芳基,
- 3) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_bC₂-C₁₀ 烯基,
- 4) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_bC₂-C₁₀ 炔基,
- 5) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_bC₃-C₈ 环烷基,
- 6) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)O_b 杂环基,
- 7) (C₁-C₆-亚烷基)_n(C=X)NR^cR^{c'},
- 8) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂NR^cR^{c'},
- 9) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂C₁-C₁₀ 烷基,
- 10) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂C₂-C₁₀ 烯基,
- 11) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂C₂-C₁₀ 炔基,
- 12) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂-芳基,
- 13) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂-杂环基,
- 14) (C₁-C₆-亚烷基)_nSO₂C₃-C₈ 环烷基,
- 15) 芳基,
- 16) 杂环基; 和
- 17) C₁-C₁₀ 烷基;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、杂芳基和杂环基任选被一个或多个选自 R⁷ 的取代基取代;

R² 独立选自:

- 1) (C=O)_aO_bC₁-C₁₀ 烷基,
- 2) (C=O)_aO_b 芳基,
- 3) CO₂H,
- 4) 卤素,
- 5) CN,
- 6) OH,

7) $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基,

8) $O_a(C=O)_bNR^9R^{10}$,

9) $S(O)_mR^a$,

10) $S(O)_2NR^9R^{10}$,

11) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一个、两个或三个选自 R^7 的取代基取代;

R^3 和 R^4 独立选自:

1) H,

2) C_1-C_{10} 烷基,

3) 芳基,

4) C_2-C_{10} 烯基,

5) C_2-C_{10} 炔基,

6) C_1-C_6 全氟烷基,

7) C_1-C_6 芳烷基,

8) C_3-C_8 环烷基,

9) 杂环基, 和

10) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、芳烷基和杂环基任选被一个或多个选自 R^7 的取代基取代; 或

连接在相同碳原子上的 R^3 和 R^4 联合形成 $-(CH_2)_u-$, 其中碳原子之一任选被选自 O、 $S(O)_m$ 、 $-N(R^9)C(O)-$ 和 $-N(COR^{10})-$ 的部分代替;

R^5 选自:

1) H,

2) C_1-C_{10} 烷基,

3) 芳基,

4) C_2-C_{10} 烯基,

5) C_2-C_{10} 炔基,

6) C_1-C_6 全氟烷基,

7) C_1-C_6 芳烷基,

8) C_3-C_8 环烷基,

9) 杂环基, 和

10) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、芳烷基和杂环基任选被一个或多个选自 R^7 的取代基取代;

R^6 选自:

1) 氢,

2) $(C=O)_a O_b C_1-C_{10}$ 烷基,

3) $(C=O)_a O_b$ 芳基,

4) CO_2H ,

5) 卤素,

6) CN ,

7) OH ,

8) $O_b C_1-C_6$ 全氟烷基,

9) $O_a (C=O)_b NR^9 R^{10}$,

10) $S(O)_m R^a$,

11) $S(O)_2 NR^9 R^{10}$,

12) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一个、两个或三个选自 R^7 的取代基取代;

R^7 为:

1) $(C=O)_a O_b C_1-C_{10}$ 烷基,

2) $(C=O)_a O_b$ 芳基,

3) C_2-C_{10} 烯基,

4) C_2-C_{10} 炔基,

5) $(C=O)_a O_b$ 杂环基,

- 6) CO_2H ,
- 7) 卤素,
- 8) CN ,
- 9) OH ,
- 10) $\text{O}_b\text{C}_1\text{-C}_6$ 全氟烷基,
- 11) $\text{O}_a(\text{C}=\text{O})_b\text{NR}^9\text{R}^{10}$,
- 12) $\text{S}(\text{O})_m\text{R}^a$,
- 13) $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^9\text{R}^{10}$,
- 14) 氧代,
- 15) CHO ,
- 16) $(\text{N}=\text{O})\text{R}^9\text{R}^{10}$,
- 17) $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b\text{C}_3\text{-C}_8$ 环烷基, 或
- 18) $\text{Si}(\text{R}^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、芳烷基和杂环基任选被一个或多个选自 R^8 的取代基取代;

R^8 选自:

- 1) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ 烷基, 其中 r 和 s 独立为 0 或 1,
- 2) $\text{O}_r(\text{C}_1\text{-C}_3)$ 全氟烷基, 其中 r 为 0 或 1,
- 3) $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基- $\text{S}(\text{O})_m\text{R}^a$, 其中 m 为 0、1 或 2,
- 4) 氧代,
- 5) OH ,
- 6) 卤素,
- 7) CN ,
- 8) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ 烯基,
- 9) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ 炔基,
- 10) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_3\text{-C}_6)$ 环烷基,
- 11) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基-芳基,
- 12) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基-杂环基,

13) $(\text{C}=\text{O})_f\text{O}_s(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基- $\text{N}(\text{R}^b)_2$,

14) $\text{C}(\text{O})\text{R}^a$,

15) $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基- CO_2R^a ,

16) $\text{C}(\text{O})\text{H}$,

17) $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基- CO_2H ,

18) $\text{C}(\text{O})\text{NR}^9\text{R}^{10}$,

19) $\text{S}(\text{O})_m\text{R}^a$,

20) $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^9\text{R}^{10}$,

21) $\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2$; 和

22) $\text{Si}(\text{R}^c)_3$;

所述烷基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被至多三个选自 R^b 、 OH 、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷氧基、卤素、 CO_2H 、 CN 、 $\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、氧化和 $\text{N}(\text{R}^b)_2$ 的取代基取代;

R^9 和 R^{10} 独立选自:

1) H ,

2) $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基,

3) $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b\text{C}_3\text{-C}_8$ 环烷基,

4) $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b$ 芳基,

5) $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b$ 杂环基,

6) $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基,

7) 芳基,

8) $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 烯基,

9) $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 炔基,

10) 杂环基,

11) $\text{C}_3\text{-C}_8$ 环烷基,

12) SO_2R^a , 和

13) $(\text{C}=\text{O})\text{NR}^b_2$,

所述烷基、环烷基、芳基、杂环基、烯基和炔基任选被一个或

多个选自 R^8 的取代基取代；

R^9 和 R^{10} 可以与它们所连接的氮一起形成每个环为 3-7 元的单环杂环或双环杂环，并且除了所述氮之外还任选含有一个或两个选自 N、O 和 S 的额外杂原子，所述单环杂环或双环杂环任选被一个或多个选自 R^8 的取代基取代；

R^a 为 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_6) 环烷基、芳基或杂环基；

R^b 为 H、 (C_1-C_6) 烷基、芳基、杂环基、 (C_3-C_6) 环烷基、 $(C=O)OC_1-C_6$ 烷基、 $(C=O)C_1-C_6$ 烷基或 $S(O)_2R^a$ ，所述烷基、环烷基、芳基、杂环基、烯基和炔基任选被一个或多个选自 R^7 的取代基取代，

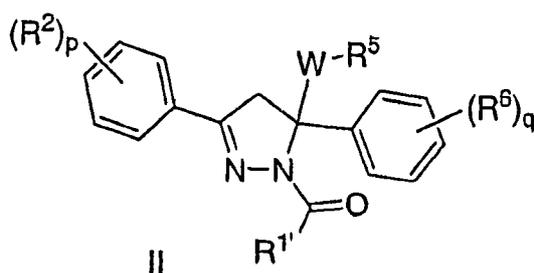
R^c 为 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_6) 环烷基、芳基、杂环基、OH 或 OR^a ；所述烷基、环烷基、芳基、杂环基、烯基和炔基任选被一个或多个选自 R^7 的取代基取代，

X 选自 O、 NR^e 和 S；

W 选自：键、C=O、C=S 和 $CH(OH)$ ；

前提条件是在该化合物中存在至少一个硅原子，进一步的前提条件是 $-W-R^5$ 不为 $-(C_1-C_6)$ 烷基- $O-Si[(C_1-C_6)$ 烷基] $_3$ 。

在本发明的一个实施方案中，用于抑制有丝分裂驱动蛋白的化合物或其药物可接受的盐或立体异构体由下式表示：



其中

a 为 0 或 1；

b 为 0 或 1；

m 为 0、1 或 2；

n 为 0 或 1；

p 为 0、1、2 或 3;

q 为 0 或 1;

$R^{1'}$ 选自 CF_3 、 NH_2 、 $O_b(C_1-C_{10})$ 烷基、 $O_b(C_2-C_{10})$ 烯基、 $O_b(C_2-C_{10})$ 炔基、 $O_b(C_3-C_8)$ 环烷基、 $O_b(C_0-C_6)$ 亚烷基芳基、 $O_b(C_0-C_6)$ 亚烷基杂环基、 $O_b(C_0-C_6)$ 亚烷基- NR^9R^{10} 、 $O_b(C_1-C_3)$ 全氟烷基、 (C_0-C_6) 亚烷基- CO_2R^a 和 (C_0-C_6) 亚烷基- CO_2H ;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、杂芳基和杂环基任选被一至三个选自 R^7 的取代基取代; 或

R^2 独立选自:

1) $(C=O)_aO_bC_1-C_{10}$ 烷基,

2) $(C=O)_aO_b$ 芳基,

3) CO_2H ,

4) 卤素,

5) CN ,

6) OH ,

7) $O_bC_1-C_6$ 全氟烷基,

8) $O_a(C=O)_bNR^9R^{10}$,

9) $S(O)_mR^a$,

10) $S(O)_2NR^9R^{10}$,

11) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一个、两个或三个选自 R^7 的取代基取代;

R^5 选自:

1) H ,

2) C_1-C_{10} 烷基,

3) 芳基,

4) C_2-C_{10} 烯基,

5) C_2-C_{10} 炔基,

- 6) C_1-C_6 全氟烷基,
- 7) C_1-C_6 芳烷基,
- 8) C_3-C_8 环烷基,
- 9) 杂环基, 和
- 10) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、环烷基、芳烷基和杂环基任选被一至三个选自 R^7 的取代基取代; 或

R^6 选自:

- 1) 氢,
- 2) $(C=O)_a O_b C_1-C_{10}$ 烷基,
- 3) $(C=O)_a O_b$ 芳基,
- 4) CO_2H ,
- 5) 卤素,
- 6) CN ,
- 7) OH ,
- 8) $O_b C_1-C_6$ 全氟烷基,
- 9) $O_a (C=O)_b NR^8 R^9$,
- 10) $S(O)_m R^a$,
- 11) $S(O)_2 NR^8 R^9$,
- 12) $Si(R^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一个、两个或三个选自 R^7 的取代基取代;

R^7 为:

- 1) $(C=O)_a O_b C_1-C_{10}$ 烷基,
- 2) $(C=O)_a O_b$ 芳基,
- 3) C_2-C_{10} 烯基,
- 4) C_2-C_{10} 炔基,
- 5) $(C=O)_a O_b$ 杂环基,

- 6) CO_2H ,
- 7) 卤素,
- 8) CN ,
- 9) OH ,
- 10) $\text{O}_b\text{C}_1\text{-C}_6$ 全氟烷基,
- 11) $\text{O}_a(\text{C}=\text{O})_b\text{NR}^9\text{R}^{10}$,
- 12) $\text{S}(\text{O})_m\text{R}^a$,
- 13) $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^9\text{R}^{10}$,
- 14) 氧代,
- 15) CHO ,
- 16) $(\text{N}=\text{O})\text{R}^9\text{R}^{10}$,
- 17) $(\text{C}=\text{O})_a\text{O}_b\text{C}_3\text{-C}_8$ 环烷基, 或
- 18) $\text{Si}(\text{R}^c)_3$;

所述烷基、芳基、烯基、炔基、杂环基和环烷基任选被一至三个选自 R^8 的取代基取代;

R^8 选自:

- 1) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ 烷基, 其中 r 和 s 独立为 0 或 1,
- 2) $\text{O}_r(\text{C}_1\text{-C}_3)$ 全氟烷基, 其中 r 为 0 或 1,
- 3) $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基- $\text{S}(\text{O})_m\text{R}^a$, 其中 m 为 0、1 或 2,
- 4) 氧代,
- 5) OH ,
- 6) 卤素,
- 7) CN ,
- 8) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ 烯基,
- 9) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ 炔基,
- 10) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_3\text{-C}_6)$ 环烷基,
- 11) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基-芳基,
- 12) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基-杂环基,

13) $(\text{C}=\text{O})_r\text{O}_s(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基- $\text{N}(\text{R}^b)_2$,

14) $\text{C}(\text{O})\text{R}^a$,

15) $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基- CO_2R^a ,

16) $\text{C}(\text{O})\text{H}$,

17) $(\text{C}_0\text{-C}_6)$ 亚烷基- CO_2H ,

18) $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^b)_2$,

19) $\text{S}(\text{O})_m\text{R}^a$,

20) $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^9\text{R}^{10}$,

21) $\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2$; 和

22) $\text{Si}(\text{R}^c)_3$;

所述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基和杂环基任选被至多三个选自 R^b 、 OH 、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷氧基、卤素、 CO_2H 、 CN 、 $\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、氧化和 $\text{N}(\text{R}^b)_2$ 的取代基取代;

R^9 和 R^{10} 独立选自:

1) H ,

2) $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基,

3) $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b\text{C}_3\text{-C}_8$ 环烷基,

4) $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b$ 芳基,

5) $(\text{C}=\text{O})\text{O}_b$ 杂环基,

6) $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基,

7) 芳基,

8) $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 烯基,

9) $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 炔基,

10) 杂环基,

11) $\text{C}_3\text{-C}_8$ 环烷基,

12) SO_2R^a , 和

13) $(\text{C}=\text{O})\text{NR}^b_2$,

所述烷基、环烷基、芳基、杂环基、烯基和炔基任选被一至三

个选自 R⁸ 的取代基取代;

R⁹ 和 R¹⁰ 可以与它们所连接的氮一起形成每个环为 3-7 元的单环杂环或双环杂环, 并且除了所述氮之外还任选含有一个或两个选自 N、O 和 S 的额外杂原子, 所述单环杂环或双环杂环任选被一至三个选自 R⁸ 的取代基取代;

R^a 为(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₆)环烷基、芳基或杂环基;

R^b 为 H、(C₁-C₆)烷基、芳基、杂环基、(C₃-C₆)环烷基、(C=O)OC₁-C₆ 烷基、(C=O)C₁-C₆ 烷基或 S(O)₂R^a, 所述烷基、芳基、环烷基和杂环基任选被一至三个选自 R⁷ 的取代基取代,

R^c 为(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₆)环烷基、芳基、杂环基、OH 或 OR^a; 所述烷基、芳基、环烷基和杂环基任选被一至三个选自 R⁷ 的取代基取代,

W 选自: 键和 CH(OH);

前提条件是在该化合物中存在至少一个硅原子, 进一步的前提条件是 -W-R⁵ 不为 -(C₁-C₆)烷基-O-Si[(C₁-C₆)烷基]₃。

本发明化合物的具体实例包括:

{2-[1-乙酰基-3-(2,5-二氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基]乙基}(二甲基)甲硅烷醇

{4-[1-乙酰基-3-(2,5-二氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基]丁基}(二甲基)甲硅烷醇

1-乙酰基-4-(3-((5S)-1-乙酰基-3-[2-氟-5-(三甲基甲硅烷基)苯基]-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基)丙基)哌嗪

或其药物可接受的盐或立体异构体。

本发明的化合物可具有不对称中心、手性轴和手性面(描述于 E. L. Eliel 和 S. H. Wilen, *Stereochemistry of Carbon Compounds*, John Wiley & Sons, New York, 1994, 第 1119-1190 页), 并且可以外消旋体、外消旋混合物和各非对映体形式存在, 所有可能的异构体及其混合物(包括旋光异构体)全都包括在本发明之内。另外, 本文所公开的化合物

可作为互变异构体存在，即使只描述了一种互变异构体结构，但是两种互变异构体形式也都包括在本发明范围之内。

当任何部分中任何可变基团(例如 R^7 、 R^8 、 R^9 等)不止出现一次时，其每次出现的定义都是独立的。并且，取代基和可变基团的组合也是允许的，只要所述组合产生稳定的化合物。从取代基向环系内划的线表明所指的键可连接在任何可取代环原子上。如果环系是多环系的话，该键仅可连接在近侧环的任何合适碳原子上。

可以理解，本领域普通技术人员可以选择本发明化合物上的取代基和取代模式，以提供化学上稳定的化合物，所述化合物易于通过本领域已知技术以及下述方法、由易得原料合成。如果取代基本身被不止一个基团取代，可以理解，这些基团可以在同一碳或不同碳上，只要能形成稳定结构。短语“任选被一个或多个取代基取代”与短语“任选被至少一个取代基取代”同义，并且在此情况下，优选的实施方案将具有 0-3 个取代基。

本文使用的“烷基”包括具有特定碳原子数的支链和直链饱和脂族烃基。例如，“ C_1 - C_{10} 烷基”中 C_1 - C_{10} 的定义包括具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个以直链或支链排列的碳的基团。例如，“ C_1 - C_{10} 烷基”具体包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基等。术语“环烷基”是指具有特定碳原子数的单环饱和脂族烃基。例如，“环烷基”包括环丙基、甲基-环丙基、2,2-二甲基-环丁基、2-乙基-环戊基、环己基等。

当术语“ C_{1-6} ”用于短语“ C_{1-6} 芳烷基”和“ C_{1-6} 杂芳烷基”时是指基团的烷基部分而不描述基团芳基和杂芳基中的原子数。

“烷氧基”代表通过氧桥连接的特定碳原子数的环状或非环状烷基。因此，“烷氧基”包括上述烷基和环烷基的定义。

如果没有指定碳原子数，术语“烯基”是指含有 2-10 个碳原子和至少一个碳碳双键的直链、支链或环状非芳族烃基。优选存在一

个碳碳双键，可存在至多 4 个非芳族碳碳双键。因此，“C₂-C₆烯基”是指具有 2-6 个碳原子的烯基。烯基包括乙烯基、丙烯基、丁烯基、2-甲基丁烯基和环己烯基。烯基的直链、支链或环状部分可含有双键，并且如果指定是取代烯基的话，可被取代。

术语“炔基”是指含有 2-10 个碳原子并含有至少一个碳碳三键的直链、支链或环状烃基。最多可存在 3 个碳-碳三键。因此，“C₂-C₆炔基”是指具有 2-6 个碳原子的炔基。炔基包括乙炔基、丙炔基、丁炔基、3-甲基丁炔基等。炔基的直链、支链或环状部分可含有三键，并且如果指定是取代炔基的话，可被取代。

在某些情况下，取代基可用包括零在内的碳范围来限定，例如(C₀-C₆)亚烷基-芳基。如果芳基是苯基的话，该定义将包括苯基本身以及-CH₂Ph、-CH₂CH₂Ph、CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)Ph 等。

本文使用的“芳基”是指每个环中至多有 7 个原子的任何稳定的单环碳环或双环碳环，其中至少一个环为芳环。所述芳基的实例包括苯基、萘基、四氢萘基、茚满基和联苯基。当芳基取代基为双环且一个环为非芳环时，可以理解，连接是通过芳环进行的。

本文使用的术语杂芳基代表每个环中至多有 7 个原子的稳定单环或双环，其中至少一个环是芳环，并且含有 1-4 个选自 O、N 和 S 的杂原子。在该定义范围内的杂芳基包括但不限于：吡啶基、咪唑基、噁唑基、噻吩基、吡唑基、吡嗪基、苯并三唑基、呋喃基、噻吩基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、喹啉基、异喹啉基、嘧啶基、异嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、四氢喹啉基。按照以下杂环的定义，“杂芳基”也可理解为包括任何含氮杂芳基的 N-氧化物衍生物。当杂芳基取代基是双环且一个环是非芳环或者不含杂原子时，可以理解，连接分别可通过芳环或者含有杂原子的环进行。

本文使用的术语“杂环”或“杂环基”是指含有 1-4 个选自 O、N 和 S 的杂原子的 3-10 元芳族或非芳族杂环，并且包括双环基团。

因此，“杂环基”包括上述杂芳基及其二氢类似物和四氢类似物。

“杂环基”的更多实例包括但不限于以下基团：氮杂环丁烷基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并呋喃基、苯并吡唑基、苯并三唑基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、吡唑基、吡啶基、噌啉基、呋喃基、咪唑基、二氢吲哚基、吲哚基、吲嗪基(indolaziny)、吲唑基、异苯并呋喃基、异吲哚基、异喹啉基、异噻唑基、异噁唑基、萘吡啶基(naphthpyridinyl)、噁二唑基、噁唑基、噁唑啉基、异噁唑啉基、氧杂环丁烷基、吡喃基、吡嗪基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并吡啶基、哒嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、喹啉基、喹啉基、喹喔啉基、四氢吡喃基、四唑基、四唑并吡啶基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、三唑基、氮杂环丁烷基、1,4-二氧杂环己烷基、六氢吡啶基、哌嗪基、哌啶基、吡啶-2-酮基、吡咯烷基、吗啉基、硫代吗啉基、二氢苯并咪唑基、二氢苯并呋喃基、二氢苯并噻吩基、二氢苯并噁唑基、二氢呋喃基、二氢咪唑基、二氢吲哚基、二氢异噁唑基、二氢异噻唑基、二氢噁二唑基、二氢噁唑基、二氢吡嗪基、二氢吡唑基、二氢吡啶基、二氢嘧啶基、二氢吡咯基、二氢喹啉基、二氢四唑基、二氢噻二唑基、二氢噻唑基、二氢噻吩基、二氢三唑基、二氢氮杂环丁烷基、亚甲基二氧苯甲酰基、四氢呋喃基和四氢噻吩基及其 N-氧化物。杂环基取代基的连接可通过碳原子或通过杂原子进行。

在一个实施方案中，本文使用的术语“杂环”或“杂环基”是指含有 1-4 个选自 O、N 和 S 的杂原子的 5-10 元芳族或非芳族杂环，并且包括双环基团。因此，在本实施方案中“杂环基”包括上述杂芳基，及其二氢类似物和四氢类似物。“杂环基”的更多实例包括但不限于以下基团：苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并呋喃基、苯并吡唑基、苯并三唑基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、吡唑基、吡啶基、噌啉基、呋喃基、咪唑基、二氢吲哚基、吲哚基、吲嗪基、吲唑基、异苯并呋喃基、异吲哚基、异喹啉基、异噻唑基、异噁唑基、萘吡啶基、噁二唑基、噁唑基、噁唑啉基、异噁唑啉基、氧杂环丁烷基、

吡喃基、吡嗪基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并吡啶基、哒嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、喹唑啉基、喹啉基、喹喔啉基、四氢吡喃基、四唑基、四唑并吡啶基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、三唑基、氮杂环丁烷基、1,4-二氧杂环己烷基、六氢吡啶基、哌嗪基、哌啶基、吡啶-2-酮基、吡咯烷基、吗啉基、硫代吗啉基、二氢苯并咪唑基、二氢苯并呋喃基、二氢苯并噻吩基、二氢苯并噁唑基、二氢呋喃基、二氢咪唑基、二氢吲哚基、二氢异噁唑基、二氢异噻唑基、二氢噁二唑基、二氢噁唑基、二氢吡嗪基、二氢吡唑基、二氢吡啶基、二氢嘧啶基、二氢吡咯基、二氢喹啉基、二氢四唑基、二氢噻二唑基、二氢噻唑基、二氢噻吩基、二氢三唑基、二氢氮杂环丁烷基、亚甲基二氧苯甲酰基、四氢呋喃基和四氢噻吩基及其 N-氧化物。

在一个实施方案中，杂环选自 2-氮杂环庚烯酮(2-azepinone)、苯并咪唑基、2-二氮杂环庚烯酮(2-diazapinone)、咪唑基、2-咪唑啉酮、吲哚基、异喹啉基、吗啉基、哌啶基、哌嗪基、吡啶基、吡咯烷基、2-哌啶酮、2-嘧啶酮、2-吡咯烷酮、喹啉基、四氢呋喃基、四氢异喹啉基和噻吩基。

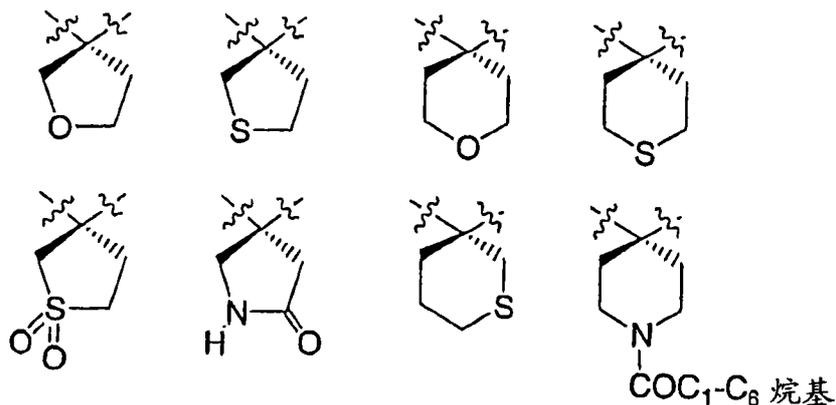
正如本领域技术人员所知，本文使用的“卤”或“卤素”包括氟、氯、溴和碘。

烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基和杂环基取代基可以是取代或未取代的，除非另有说明。例如，(C₁-C₆)烷基可以被 1、2 或 3 个选自以下的取代基取代：OH、氧代、卤素、烷氧基、二烷基氨基或杂环基(例如吗啉基、哌啶基)等。在此情况下，如果一个取代基是氧代，而另一个是 OH，则以下基团包括在定义之内：-(C=O)CH₂CH(OH)CH₃、-(C=O)OH、-CH₂(OH)CH₂CH(O)等。

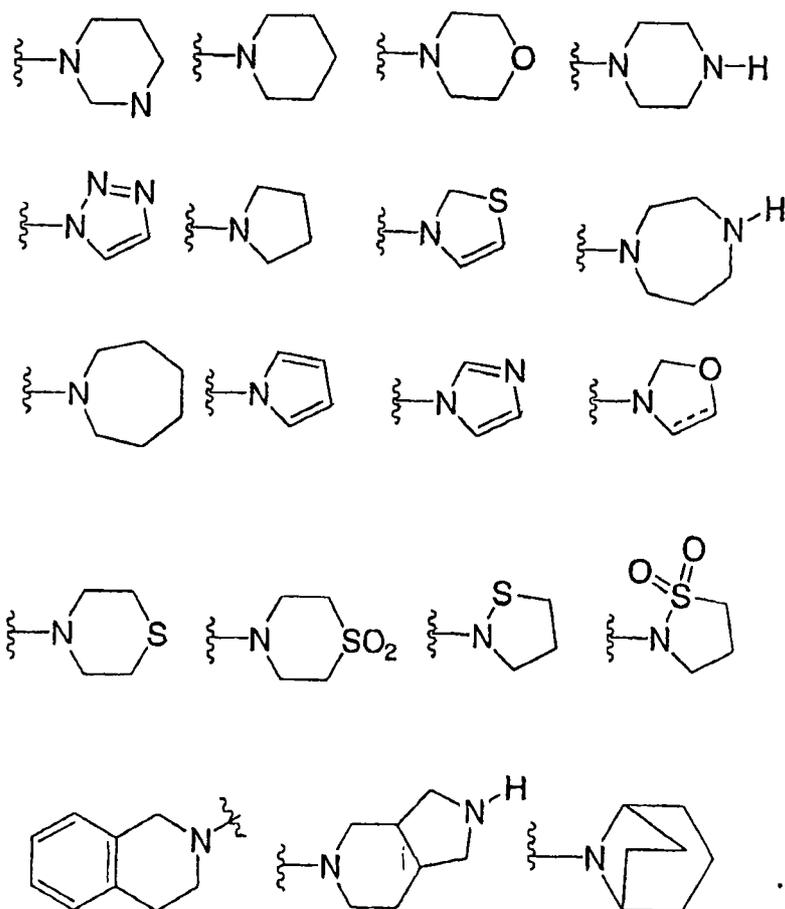
当定义中 R³ 和 R⁴ 与相同碳原子联合形成-(CH₂)_n 时形成的部分通过下式图示：



此外，该类环部分可任选包含杂原子。这种含有杂原子的环部分实例包括但不限于：



在某些情况下， R^9 和 R^{10} 的定义使得它们可以与它们所连接的氮一起形成每个环为 5-7 元的单环杂环或双环杂环，并且除了所述氮之外还任选含有一个或两个选自 N、O 和 S 的额外杂原子，所述杂环任选被一个或多个选自 R^8 的取代基取代。由此形成的杂环的实例包括但不限于以下基团，要注意的是所述杂环任选被一个或多个(优选 1、2 或 3 个)选自 R^8 的取代基取代：



在一个实施方案中， R^1 选自任选被 1-3 个选自 R^7 的取代基取代的 $(C=O)C_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)$ 芳基、 $SO_2C_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)OC_1-C_{10}$ 烷基、 $(C=O)NR^oR^{o'}$ 和 SO_2 芳基。在另一个实施方案中， R^1 为乙酰基、硫代乙酰基、磺酰氨基、 $(C=O)NR^oR^{o'}$ 或甲磺酰基。

在一个实施方案中， R^2 独立选自卤素、 (C_1-C_6) 烷基、OH 和 $Si(R^c)_3$ 。在另一个实施方案中， n 为 2 且 R^2 独立选自卤素。

在一个实施方案中， R^3 为 H。

在一个实施方案中， R^5 选自 H 和 (C_1-C_{10}) 烷基，其任选被 1-3 个选自 R^7 的取代基取代。在另一个实施方案中， R^2 为 (C_1-C_{10}) 烷基，任选被 1-3 个选自 R^7 的取代基取代。

在一个式 I 和 II 化合物的实施方案中，W 为键。

在一个实施方案中， q 为 0。

在一个实施方案中， q 为 1 且 R^5 选自卤素、 (C_1-C_6) 烷基、OH 和

$\text{Si}(\text{R}^{\circ})_3$ 。在另一个实施方案中， q 为 1 且 R^5 选自卤素、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基和 OH。

式 I 化合物的游离形式、及其药物可接受的盐和立体异构体都包括在本发明之内。本文列举的一些具体化合物是胺化合物的质子化盐。术语“游离形式”是指非盐形式的胺化合物。所包括的药物可接受的盐不仅包括本文所述具体化合物的示例性的盐，而且包括式 I 化合物游离形式的所有典型的药物可接受的盐。具体的盐化合物的游离形式可以用本领域已知技术分离。例如，可以通过用合适的稀碱水溶液(例如稀 NaOH、碳酸钾、氨水和碳酸氢钠水溶液)处理，再生其游离形式。游离形式的物理性质可因其各自盐形式而稍有不同，例如在极性溶液中的溶解度，但是对于本发明的目的来说，酸式盐和碱式盐与其各自的游离形式是药学等效的。

可以通过常规化学方法，由含有碱性或酸性部分的本发明化合物合成本发明化合物的药物可接受的盐。一般而言，碱性化合物的盐可通过离子交换色谱而制备，或者通过在合适溶剂或不同溶剂组合中使游离碱与化学计量或过量的所需成盐无机酸或有机酸反应而制备。类似地，酸性化合物的盐可以通过与合适的无机碱或有机碱反应而生成。

因此，本发明化合物的药物可接受的盐包括本发明化合物的常规无毒盐，其是通过使本发明碱性化合物与无机酸或有机酸反应而生成。例如，常规无毒盐包括由无机酸以及有机酸衍生的盐，所述无机酸例如例如盐酸、氢溴酸、硫酸、氨基磺酸、磷酸、硝酸等；所述有机酸例如乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、硬脂酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、双羧萘酸、马来酸、羧基马来酸、苯乙酸、谷氨酸、苯甲酸、水杨酸、对氨基苯磺酸、2-乙酰氧基-苯甲酸、富马酸、甲苯磺酸、甲烷磺酸、乙烷二磺酸、草酸、羧乙磺酸、三氟乙酸等。

当本发明化合物为酸性时，合适的“药物可接受的盐”是指由

药物可接受的无毒碱(包括无机碱和有机碱)制备而成的盐。由无机碱衍生的盐包括铝盐、铵盐、钙盐、铜盐、铁盐、亚铁盐、锂盐、镁盐、锰盐、亚锰盐、钾盐、钠盐、锌盐等。特别优选的是铵盐、钙盐、镁盐、钾盐和钠盐。由药物可接受的有机无毒碱衍生的盐包括伯胺盐、仲胺盐、叔胺盐、取代胺盐(包括天然取代胺盐)、环状胺盐和碱性离子交换树脂,例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙氨基乙醇、2-二甲氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡糖胺(glucamine)、氨基葡萄糖(glucosamine)、组氨酸、海巴胺(hydrabamine)、异丙胺、赖氨酸、甲基葡糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、聚胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨丁三醇等。

上述药物可接受的盐和其它典型的药物可接受的盐的制备方法在以下文献中有更详细的描述: Berg 等, "Pharmaceutical Salts," *J. Pharm. Sci.*, 1977: 66: 1-19。

还要注意的, 本发明化合物是潜在的内盐或两性离子, 因为在生理条件下所述化合物中去质子化的酸性部分(例如羧基)可以是阴离子, 而且该电荷随后在内部可以被质子化或烷基化碱性部分(例如季氮原子)的阳离子电荷平衡。

除了文献已知的或实验方法中示例的其它标准操作之外, 还可以采用以下流程所示反应, 制备本发明的化合物。因此, 以下说明性流程不受用于说明目的而列举的化合物或任何具体取代基的限制。流程所示取代基数量并不一定与权利要求书的数量相关, 通常, 为了说明, 单个取代基显示与化合物的连接, 而多个取代基在上文式 I 的定义下也是允许的。

流程

如流程 A 所示, 合适取代的苯乙酮 A-1 与合适取代的苯甲醛 A-2 的缩合产生了 β -羟基羰基中间体 A-3。A-3 用三氟醋酐脱水产生 α,β -

不饱和羰基化合物 A-4。然后中间体 A-4 在羧酸 A-5 存在下与胍反应生成 N-酰基二氢吡唑 A-6。

如流程 B 所示，在无羧酸情况下中间体 A-4 可与胍进行反应，然后中间体可与多种乙酰化和亲电子试剂反应。流程 B 也说明通过 A-4 中间体与 N-取代胍的反应得到化合物 B-3，以制备 N-取代的二氢吡唑化合物。

流程 C 说明了制备 5,5-二取代的二氢吡唑化合物。如所示，中间体 A-4 与例如铜酸盐试剂反应得到中间体 C-1，然后 C-1 可以脱水产生取代的查耳酮 C-2。如所示使用胍进行取代反应产生了 5,5-二取代的二氢吡唑化合物。

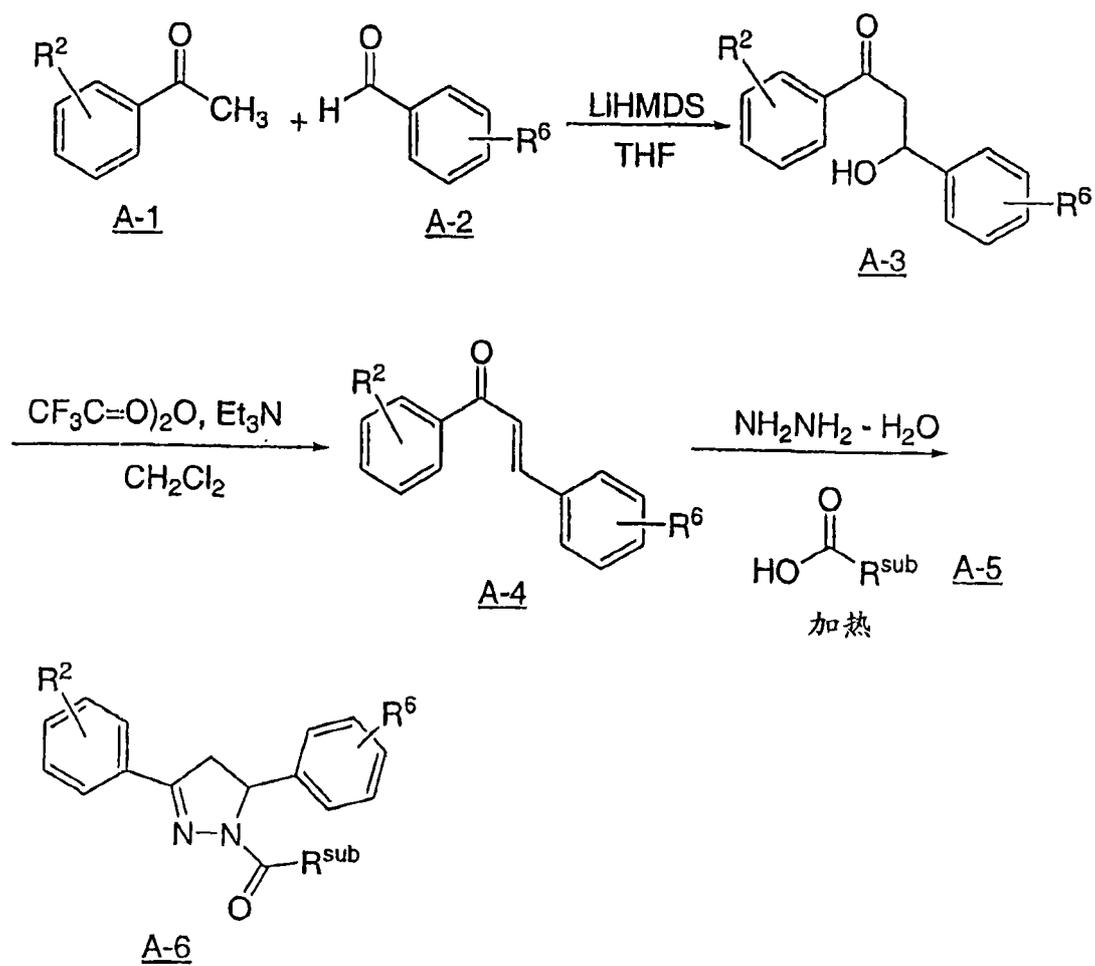
通过将合适地硅取代的苯乙酮或合适地硅取代的苯甲醛掺入上述反应流程，可将硅原子掺入本发明化合物。或者，如流程 D 所示，可通过取代苯环之一上的卤素掺入三烷基甲硅烷基部分。

流程 E 说明了制备具有官能团部分(羟基)的 5,5-二取代化合物，所述官能团部分可进一步官能化。

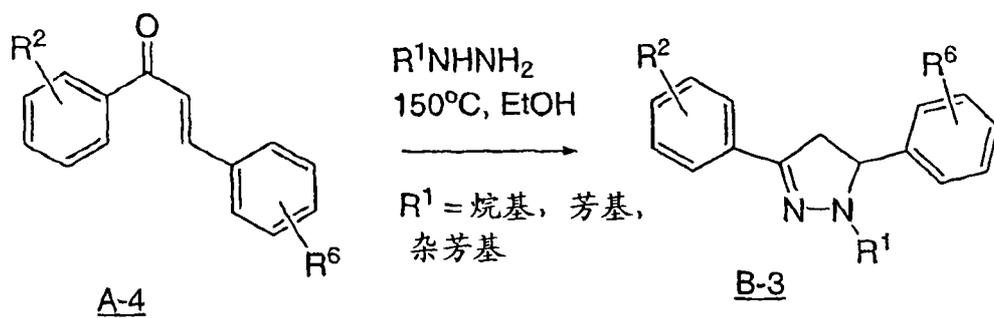
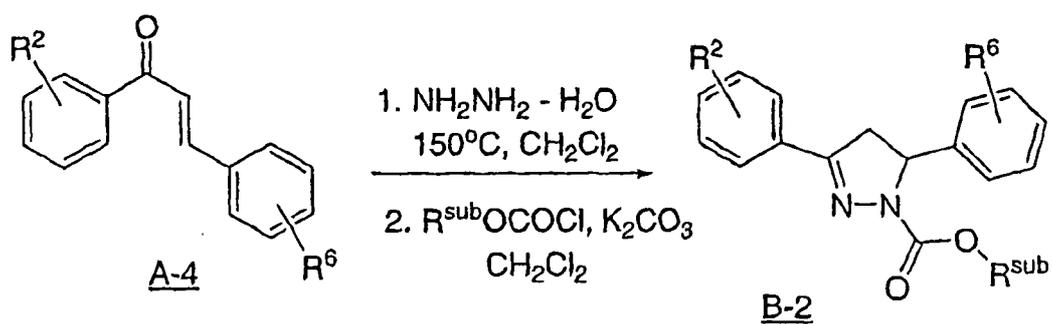
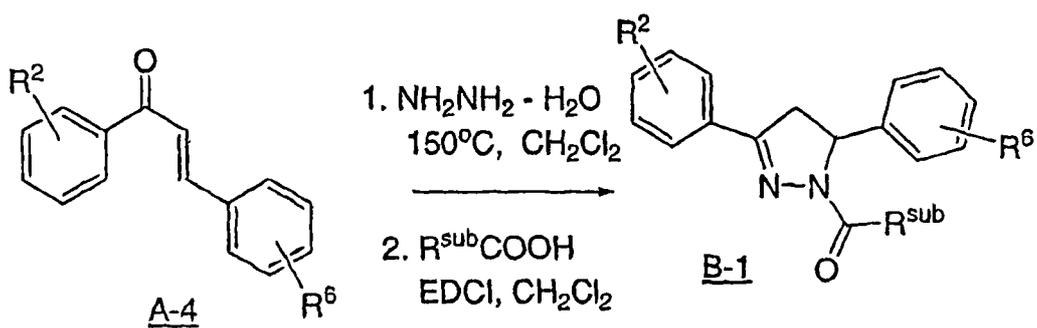
流程 F 显示制备具有 1,3,4,5-四取代的二氢吡唑化合物的合成方法。该合成路线类似于流程 A 中描述的方法，但使用取代的苯乙酮 F-1 开始。

如流程 G 和 H 所示，中间体 G-3 的羟基部分可与各种试剂进行同系化或烷基化。随后的合成操作提供了在 2 位侧链的硅原子掺入。

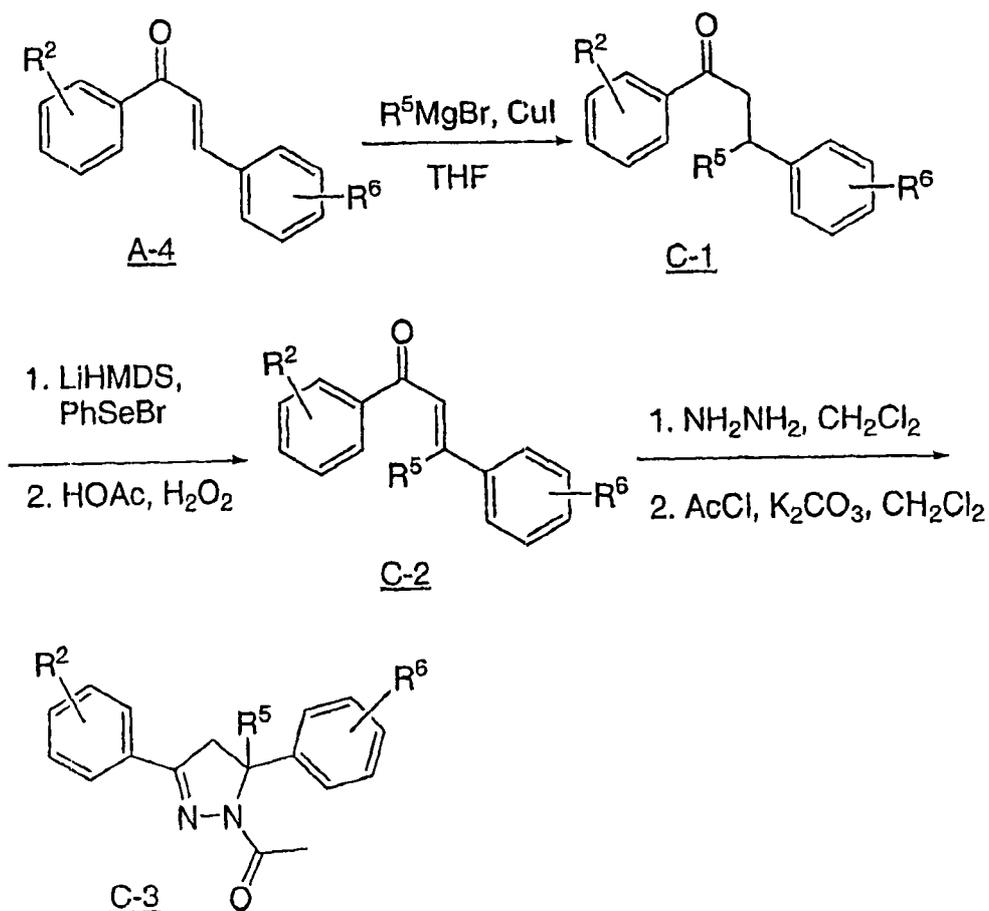
流程 A



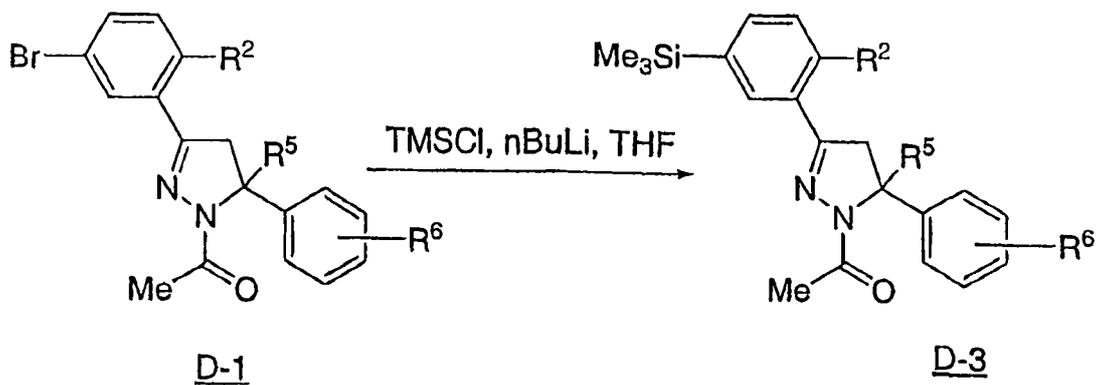
流程 B



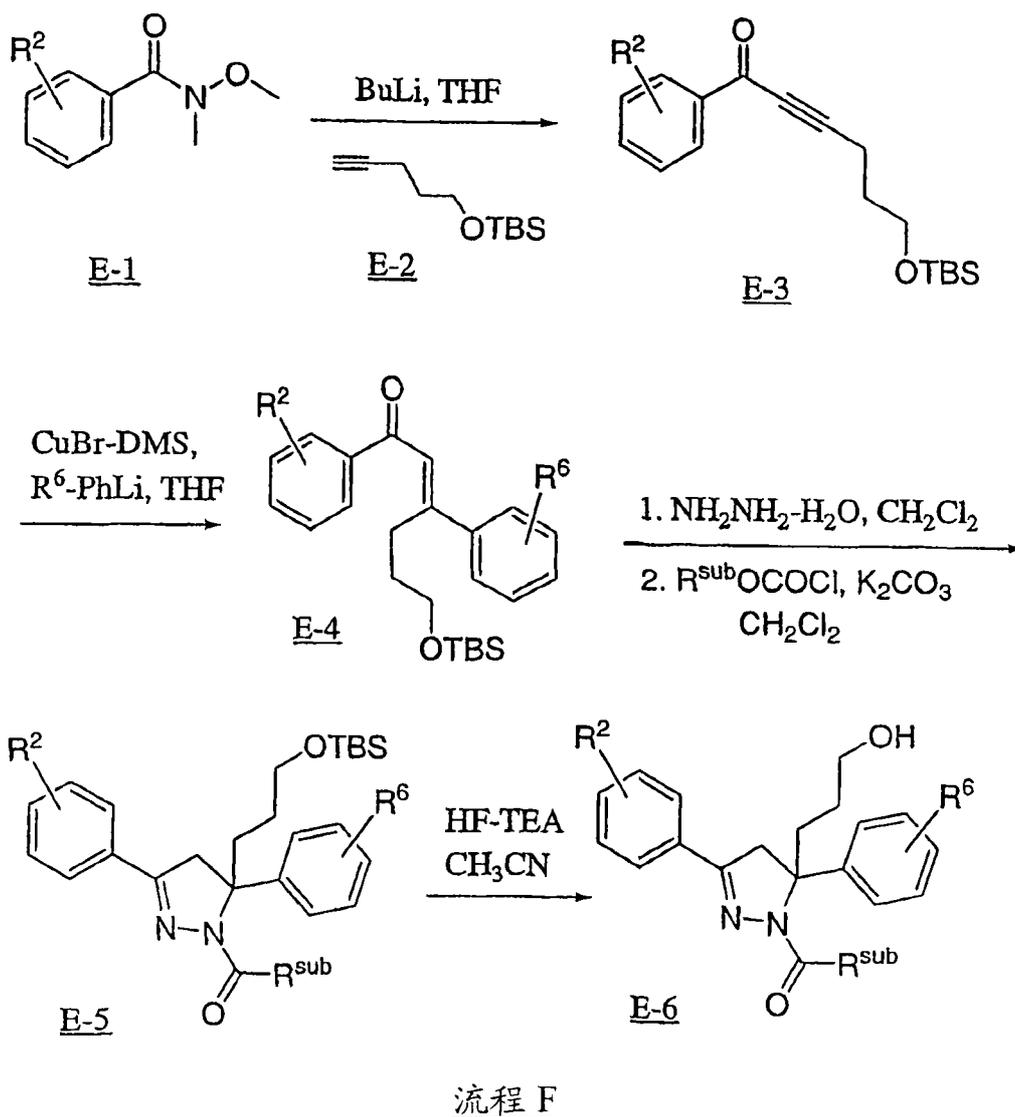
流程 C

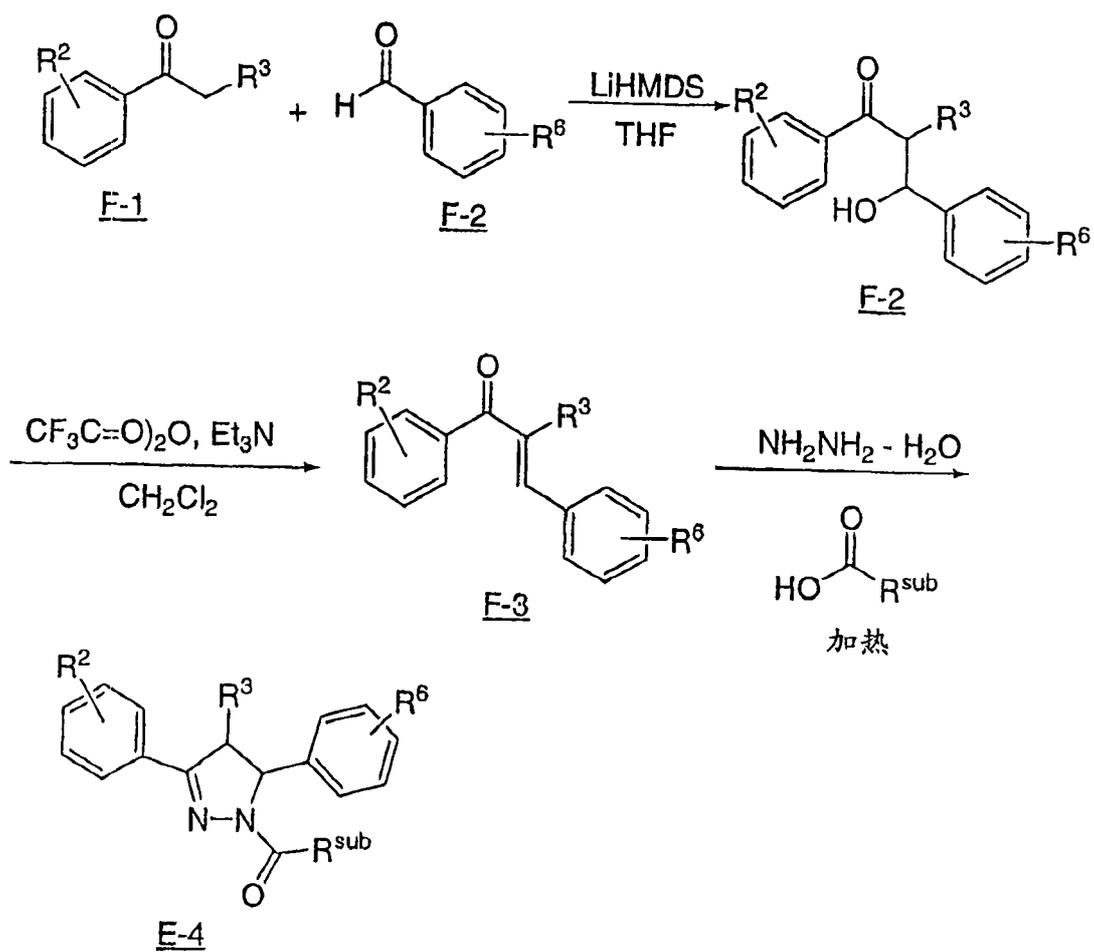


流程 D

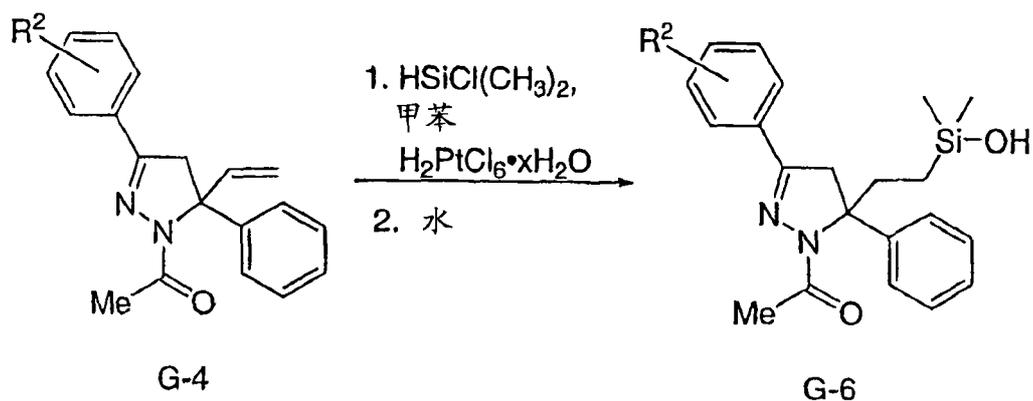
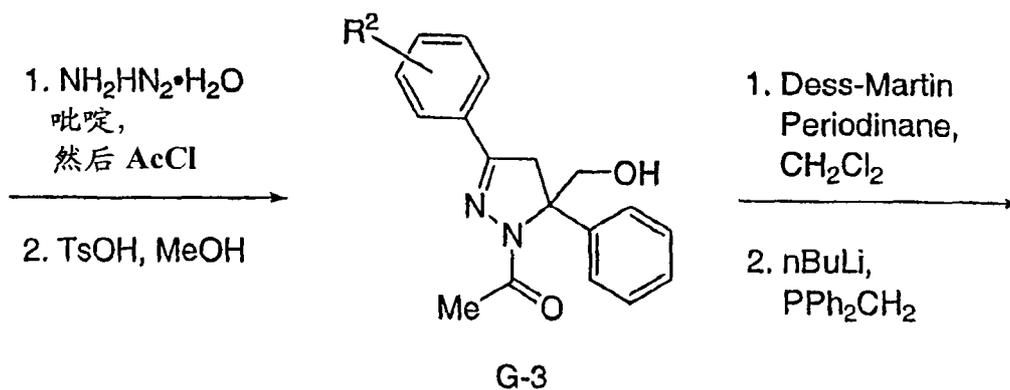
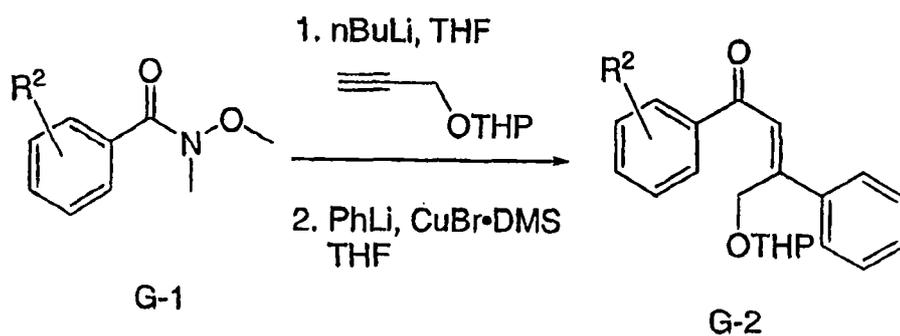


流程 E

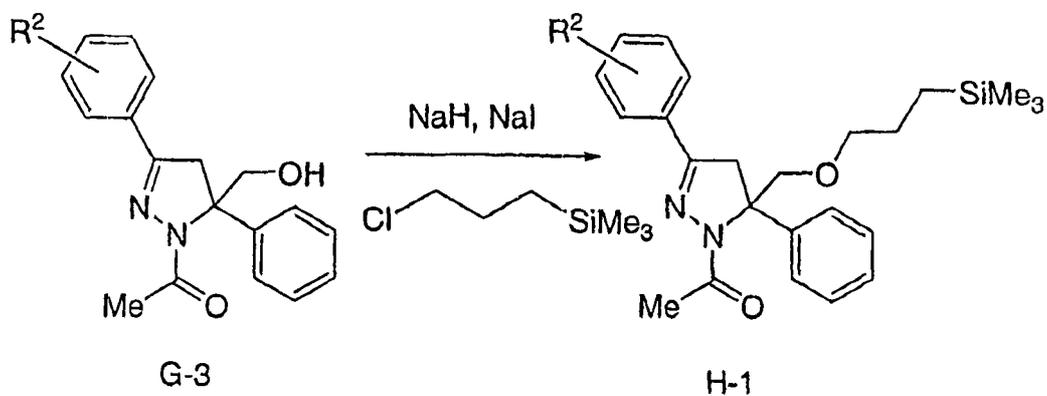




流程 G



流程 H



用途

本发明化合物具有多种多样的用途。正如本领域技术人员所知，可以按各种方法改变有丝分裂；也就是说，人们可以通过增加或降低有丝分裂途径中某种成分的活性来影响有丝分裂。换句话说，可以通过抑制或激活某些成分从而扰乱平衡，影响(例如破坏)有丝分裂。类似方法也可用于改变减数分裂。

在一个实施方案中，本发明的化合物用于调节有丝分裂纺锤体的形成，因此在有丝分裂中引起细胞周期停滞延长。本文所用的“调节”是指改变有丝分裂纺锤体的形成，包括增加和减少纺锤体的形成。本文所用的“有丝分裂纺锤体的形成”是指通过有丝分裂驱动蛋白将微管组织成两极结构。本文所用的“有丝分裂纺锤体功能障碍”是指有丝分裂停滞和单极纺锤体形成。

本发明的化合物可用于结合有丝分裂驱动蛋白和/或调节有丝分裂驱动蛋白的活性。在一个实施方案中，有丝分裂驱动蛋白是有丝分裂驱动蛋白的 bimC 亚家族成员(描述于美国专利号 6,284,480, 第 5 栏)。在另一个实施方案中，有丝分裂驱动蛋白是人 KSP，虽然来自其它生物体的有丝分裂驱动蛋白的活性也可被本发明化合物调节。在本文中，调节是指增加或减少纺锤体的两极分离，引起畸形，即有丝分裂纺锤体两极倾斜，或者引起有丝分裂纺锤体的形态破坏。对于这些目的而言，KSP 定义内也包括 KSP 的变异体和/或片段。另外，其它有丝分裂驱动蛋白也可被本发明化合物抑制。

本发明的化合物可用于治疗细胞增殖性疾病。可以被本发明提供的方法和组合物治疗的疾病包括但不限于癌症(下文有进一步论述)、自身免疫病症、关节炎、移植物排斥、炎性肠病、医学手术(包括但不限于外科手术、血管成形术)后诱导的增殖等。人们知道，在某些情况下，细胞不一定处于过度增殖或增殖不足状态(异常状态)但仍然需要治疗。例如在伤口愈合期间，细胞可以“正常”增殖，但是加强增殖是需要的。同样，如上所述，在农业上，细胞可以处于

“正常”状态，但是需要增殖调节，以通过增加庄稼生长增强庄稼，或者通过抑制植物或生物体生长来负面影响庄稼。因此，在一个实施方案中，本发明包括作用于细胞或个体，所述细胞或个体患有或者最终可以患有任何这些疾病或处于疾病状态。

认为本文提供的化合物、组合物和方法尤其用于治疗包括实体瘤在内的癌症，例如皮肤癌、乳癌、脑癌、宫颈癌、睾丸癌等。也认为本文提供的化合物、组合物和方法尤其用于治疗包括乳腺癌、血癌、肺癌、结肠癌、前列腺癌、睾丸癌和脑癌在内的癌症。具体地讲，本发明的化合物、组合物和方法可治疗的癌症包括但不限于：心脏癌：肉瘤(血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤)、粘液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤；肺癌：支气管癌(鳞状细胞癌、未分化小细胞癌、未分化大细胞癌、腺癌)、蜂窝状癌(细支气管肺泡癌)、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软骨瘤性错构瘤、间皮瘤；胃肠癌：食管癌(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃癌(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰腺癌(导管腺癌、胰岛瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤(carcinoid tumors)、血管活性肠多肽瘤)、小肠癌(腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、Kaposi 肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠癌(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤)；泌尿生殖道癌：肾癌(腺癌、维尔姆斯瘤(Wilm's tumor) [肾母细胞瘤]、淋巴瘤、白血病)、膀胱癌和尿道癌(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺癌(腺癌、肉瘤)、睾丸癌(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚性癌、恶性畸胎瘤、绒膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样瘤、脂肪瘤)；肝癌：肝细胞瘤(肝细胞癌)、胆管癌、肝胚细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤；骨癌：骨源性肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性皮肤纤维瘤、软骨肉瘤、尤因肉瘤(Ewing's sarcoma)、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性骨巨细胞瘤、脊索瘤、骨软骨瘤(骨软骨外生骨疣)、良性软骨瘤、成软骨细胞瘤、软骨粘液纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤；神经系统

癌：颅骨癌(骨瘤、血管瘤、肉芽瘤、黄瘤、畸形性骨炎)、脑膜癌(脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质瘤病)、脑癌(星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、神经胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤[松果体瘤]、多形性成胶质细胞瘤、少突神经胶质细胞瘤、神经鞘瘤、成视网膜细胞瘤、先天性肿瘤)、脊髓癌(神经纤维瘤、脑膜瘤、神经胶质瘤、肉瘤)；妇科癌症：子宫癌(子宫内膜癌)、宫颈癌(宫颈癌、肿瘤发生前宫颈发育异常、卵巢癌症(卵巢癌[浆液性囊腺癌、粘蛋白囊腺癌、未分类癌]、粒层-泡膜细胞瘤、Sertoli-Leydig 细胞瘤、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、外阴癌(鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑素瘤)、阴道癌(明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄状肉瘤(胚胎横纹肌肉瘤)、输卵管(癌)；血液癌：血癌(髓细胞性白血病[急性和慢性]、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴性白血病、骨髓组织增生性疾病、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征)、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤[恶性淋巴瘤]；皮肤癌：恶性黑素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波西肉瘤、发育不良性痣(moles dysplastic nevi)、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤、瘢痕瘤、牛皮癣；以及肾上腺癌：成神经细胞瘤。因此，本文所用的术语“癌细胞”包括患有任何一种上述疾病的细胞。

本发明的化合物也用于制备用于治疗上述细胞增殖疾病(尤其是肿瘤)的药物。

本发明的化合物也可用作抗真菌药，即通过调节 bimC 驱动蛋白亚群的真菌成员的活性，正如美国专利号 6,284,480 所述。

本发明的化合物也用于制备用于治疗上述疾病(尤其是肿瘤)的药物。

本发明的化合物可以单独或与药物组合物中的药物可接受的载体、赋形剂或稀释剂一起，按照标准药学实践，给予哺乳动物(优选人)。化合物可以以口服或胃肠外给药，胃肠外给药包括静脉内、肌肉内、腹膜内、皮下、直肠和局部给药途径。

含有活性成分的药物组合物可以是适于口服使用的形式，例如

片剂、糖锭剂、锭剂、水性或油性混悬剂、可分散粉剂或颗粒剂、乳剂、硬质或软质胶囊剂或糖浆剂或酞剂。供口服用的组合物可以按照本领域任何已知用于制备药物组合物的方法来制备，这种组合物可含有一种或多种选自以下的试剂：甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂，以便提供药用精致适口的制剂。片剂含有活性成分以及适于片剂制备的无毒药物可接受的赋形剂。这些赋形剂可以是例如惰性稀释剂，例如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠；造粒剂和崩解剂，例如微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、玉米淀粉或海藻酸；粘合剂，例如淀粉、明胶、聚乙烯吡咯烷酮或阿拉伯胶，以及润滑剂，例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉。片剂可以不用包衣或者可以通过已知技术来包衣，以遮盖令人不快的药味或者在胃肠道延迟崩解和吸收，因而提供较长时间的持续作用。例如，可以使用水溶性气味遮盖材料(例如羟丙基-甲基纤维素或羟丙基纤维素)或者使用时间延迟材料(例如乙基纤维素、醋酸丁酸纤维素)。

口服制剂也可以是硬质明胶胶囊剂或软质明胶胶囊剂，在硬质明胶胶囊剂中活性成分与惰性固体稀释剂(例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合，而在软质明胶凝胶剂中活性成分与水溶性载体(例如聚乙二醇)或油性介质(例如花生油、液体石蜡或橄榄油)混合。

水性混悬剂含有活性成分以及适于制备水性混悬剂的赋形剂。这种赋形剂是悬浮剂，例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基-纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、西黄蓍胶和阿拉伯胶；分散剂或润湿剂可以是天然存在的磷脂(例如卵磷脂)或者是环氧烷烃与脂肪酸的缩合产物(例如聚氧乙烯硬脂酸酯)或环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物(例如十七碳乙烯氧基十六醇)或环氧乙烷与衍生自脂肪酸的偏酯和己糖醇的缩合产物(例如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯)或环氧乙烷与衍生自脂肪酸的偏酯和己糖醇酐的缩合产物(例如聚乙烯山梨坦单油酸酯)。水性混悬剂也可含有一种或多种防腐剂(例如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯)、一种或多种着色剂、一种或多种矫

味剂和一种或多种甜味剂(例如蔗糖、糖精或天冬甜素)。

可以通过将活性成分悬浮于植物油(例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油)或矿物油(例如液体石蜡)中, 配制油性混悬剂。油性混悬剂可含有增稠剂, 例如蜂蜡、硬质石蜡或鲸蜡醇。可加入例如上述甜味剂和矫味剂, 以提供适口的口服制剂。可以通过加入抗氧化剂(例如丁基羟基茴香醚或 α -生育酚)来保存这些组合物。

适于通过加入水来制备水性混悬剂的可分散粉末剂和颗粒剂提供活性成分以及分散剂或润湿剂、悬浮剂和一种或多种防腐剂。合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂的实例在上文中已经提及。也可存在其它赋形剂, 例如甜味剂、矫味剂和着色剂。这些组合物可以通过加入抗氧化剂例如抗坏血酸而保存。

本发明的药物组合物也可以是水包油乳剂形式。油相可以是植物油(例如橄榄油或花生油)或矿物油(例如液体石蜡)或其混合物。合适的乳化剂可以是天然存在的磷脂(例如大豆卵磷脂)和衍生自脂肪酸和己糖醇酐的酯或偏酯(例如山梨坦单油酸酯), 以及所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物(例如聚氧乙烯山梨坦单油酸酯)。乳剂也可含有甜味剂、矫味剂、防腐剂和抗氧化剂。

糖浆剂和酏剂可以与例如甘油、丙二醇、山梨醇或蔗糖等甜味剂一起配制。所述制剂也可含有缓和剂、防腐剂、矫味剂和着色剂及抗氧化剂。

药物组合物也可以是无菌注射用水溶液剂的形式。可以使用的可接受的载体和溶剂是水、林格氏液和等渗氯化钠溶液。

无菌注射用制剂也可以是无菌注射用水包油微乳剂, 其中活性成分溶于油相。例如, 活性成分可以首先溶于大豆油和卵磷脂的混合物中。再将油溶液加入到水和甘油混合物中, 经过处理制成微乳剂。

注射用溶液剂或微乳剂可以通过局部大剂量注射输入到患者血流中。或者, 可以有利地给予溶液剂或微乳剂, 其给予方式使得能

够保持本发明化合物恒定的循环浓度。为了保持所述恒定浓度，可以使用连续静脉内给药装置。所述装置的实例是 Deltec CADD-PLUS™ 5400 型静脉注射泵。

药物组合物可以是无菌水性或油性混悬剂的形式，用于肌内和皮下给予。这样的混悬剂可以按照已知技术，使用上述合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。无菌注射用制剂也可以是溶于或悬浮于无毒胃肠外可接受的稀释剂或溶剂(例如 1,3-丁二醇溶液)中的无菌注射用溶液剂或混悬剂。另外，无菌的不挥发性油类常规用作溶剂或悬浮介质。为此目的，任何无刺激的不挥发性油均可使用，包括合成的甘油单酯或甘油二酯。另外，脂肪酸例如油酸也可用于注射剂的制备。

式 I 的化合物也可以以供直肠给药用栓剂形式给予。这些组合物可通过将药物与合适的无刺激性赋形剂混合在一起而制备，所述赋形剂在常温下是固体，但在直肠温度下是液体，因此在直肠内可融化而释放药物。这种材料包括可可脂、甘油明胶、氢化植物油、不同分子量的聚乙二醇混合物和聚乙二醇的脂肪酸酯。

对于局部使用，使用含有式 I 化合物的乳膏剂、软膏剂、胶冻剂、溶液剂或混悬剂等。(对于该应用目的，局部应用将包括漱口水和含漱剂)。

本发明的化合物可以通过合适的鼻内载体和给药装置、以鼻内形式给药，或者通过经皮途径，使用本领域普通技术人员熟知的经皮皮肤贴剂的形式给药。为了以经皮给药系统的形式给予，在整个给药方案中，剂量当然会是连续的，而不是间歇性的。也可作为栓剂使用基质，例如可可脂、甘油明胶、氢化植物油、不同分子量的聚乙二醇混合物和聚乙二醇的脂肪酸酯，来给予本发明的化合物。

当本发明化合物给予人对象时，日剂量一般将由处方医师决定，所述剂量通常因个体患者的年龄、体重、性别和反应以及患者症状的严重程度而异。

在一个示例性应用中，将合适量的化合物给予正在接受癌症治疗的哺乳动物。给药量介于约 0.1mg/kg 体重/天至约 60mg/kg 体重/天，优选介于 0.5mg/kg 体重/天至约 40mg/kg 体重/天。

本发明化合物也可与已知治疗剂和抗癌剂联合使用。例如，本发明化合物可与已知抗癌药联合使用。本文所公开的化合物与其它抗癌药或化疗药联合使用是在本发明范围之内。所述药物的实例可以在以下文献中找到：V. T. Devita 和 S. Hellman (主编) *Cancer Principles and Practice of Oncology*, 第 6 版(2001 年 2 月 15 日), Lippincott Williams & Wilkins Publishers。本领域普通技术人员将会知道，药物联合使用将根据药物和所涉及的癌症的具体特征来使用。所述抗癌药包括但不限于以下药物：雌激素受体调节剂、雄激素受体调节剂、类视黄醇受体调节剂、细胞毒剂/细胞抑制剂、抗增殖剂、异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂、HMG-CoA 还原酶抑制剂和其它血管生成抑制剂、细胞增殖和存活信号传导抑制剂、细胞凋亡诱导剂和干扰细胞周期关卡的药物。当与放射治疗联合给予时，本发明化合物尤其有用。

在一个实施方案中，本发明化合物也可与以下已知抗癌药联合使用：雌激素受体调节剂、雄激素受体调节剂、类视黄醇受体调节剂、细胞毒剂、抗增殖剂、异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂、HMG-CoA 还原酶抑制剂、HIV 蛋白酶抑制剂、逆转录酶抑制剂和其它血管生成抑制剂。

“雌激素受体调节剂”是指干扰或抑制雌激素与受体结合的化合物，无论以什么机制。雌激素受体调节剂的实例包括但不限于他莫昔芬、雷洛昔芬、艾多昔芬、LY353381、LY117081、托瑞米芬、氟维司群、4-[7-(2,2-二甲基-1-氧代丙氧基-4-甲基-2-[4-[2-(1-哌啶基)乙氧基]苯基]-2H-1-苯并吡喃-3-基]-苯基-2,2-二甲基丙酸酯、4,4'-二羟基二苯甲酮-2,4-二硝基苯基-胺和 SH646。

“雄激素受体调节剂”是指干扰或抑制雄激素与受体结合的化

合物，无论以什么机制。雄激素受体调节剂的实例包括非那雄胺和其它 5 α -还原酶抑制剂、尼鲁米特、氟他胺、比卡鲁胺、利阿唑和醋酸阿比特龙。

“类视黄醇受体调节剂”是指干扰或抑制类视黄醇与受体结合的化合物，无论以什么机制。所述类视黄醇受体调节剂的实例包括贝沙罗汀、维 A 酸、13-顺-视黄酸、9-顺-视黄酸、 α -二氟甲基鸟氨酸、ILX23-7553、反-N-(4'-羟基苯基)视黄酰胺(retinamide)和 N-4-羧基苯基视黄酰胺。

“细胞毒剂/细胞抑制剂”是指主要通过直接干扰细胞功能或者抑制或干扰细胞有丝分裂(mytosis)而引起细胞死亡或抑制细胞增殖的化合物，包括烷化剂、肿瘤坏死因子、嵌入剂、低氧可活化化合物、微管抑制剂/微管稳定剂、有丝分裂驱动蛋白抑制剂、参与有丝分裂进程的激酶抑制剂、抗代谢药；生物反应调节剂；激素/抗激素治疗剂、造血生长因子(haematopoietic growth factor)、单克隆抗体靶向治疗剂、拓扑异构酶抑制剂、蛋白酶体抑制剂和泛蛋白连接酶抑制剂。

细胞毒剂的实例包括但不限于 sertenef、恶病质素、异环磷酰胺、他索纳明、氟尼达明、卡铂、六甲蜜胺、泼尼莫司汀、二溴卫矛醇、雷莫司汀、福莫司汀、奈达铂、奥沙利铂、替莫唑胺、庚铂(heptaplatin)、雌莫司汀、甲苯磺酸英丙舒凡、曲磷胺、尼莫司汀、二溴螺氯铵、嘌嘧替派、洛铂、沙铂、泊非霉素(profiromycin)、顺铂、伊罗夫文、右异环磷酰胺、顺-胺二氯(2-甲基-吡啶)铂、苜基鸟嘌呤、葡磷酰胺、GPX100、四氯化(反,反,反)-双- μ -(己烷-1,6-二胺)- μ -[二胺-铂(II)]双[二胺(氯)铂(II)]、二吡丙啶基精氨酸(diarizidinylspermine)、三氧化砷、1-(11-十二烷基氨基-10-羟基十一烷基)-3,7-二甲基黄嘌呤、佐柔比星、伊达比星、柔红霉素、比生群、米托蒽醌、吡柔比星、吡萘非特、戊柔比星、氮柔比星、抗瘤酮、3'-脱氨基-3'-吗啉基-13-脱氧代-10-羟基洋红霉素、脂质体蒽环霉素(annamycin)、加柔比星、依利萘法德、MEN10755 和 4-脱甲氧基-3-脱氨基-3-氮杂环丙烷基-4-甲基磺酰基-柔

红霉素(参见 WO 00/50032)。

低氧可活化化合物的实例是替拉扎明。

蛋白酶体抑制剂的实例包括但不限于乳胞素和硼替佐米。

微管抑制剂/微管稳定剂的实例包括紫杉醇、硫酸长春地辛、3',4'-二脱氢-4'-脱氧-8'-去甲长春碱(norvincal leukoblastine)、多西紫杉醇(docetaxol)、根霉素、多拉司他汀、羟乙磺酸米伏布林、auristatin、西马多丁、RPR109881、BMS184476、长春氟宁、自念珠藻环肽(cryptophycin)、2,3,4,5,6-五氟-N-(3-氟-4-甲氧基苯基)苯磺酰胺、脱水长春碱、N,N-二甲基-L-缬氨酰-L-缬氨酰-N-甲基-L-缬氨酰-L-脯氨酰-L-脯氨酸-叔丁基酰胺、TDX258、埃博霉素(epothilone) (参见例如美国专利号 6,284,781 和 6,288,237)和 BMS188797。

拓扑异构酶抑制剂的一些实例是托泊替康、hycaptamine、伊立替康、卢比替康、6-乙氧基丙酰基-3',4'-O-外-苯亚甲基-醇酒菌素、9-甲氧基-N,N-二甲基-5-硝基吡唑并[3,4,5-kl]吡啶-2-(6H)丙胺、1-氨基-9-乙基-5-氟-2,3-二氢-9-羟基-4-甲基-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':b,7]-中氮茛并[1,2b]喹啉-10,13(9H,15H)二酮、勒托替康、7-[2-(N-异丙基氨基)乙基]-(20S)喜树碱、BNP1350、BNPI1100、BN80915、BN80942、磷酸依托泊苷、替尼泊苷、索布佐生、2'-二甲氨基-2'-脱氧-依托泊苷、GL331、N-[2-(二甲氨基)乙基]-9-羟基-5,6-二甲基-6H-吡啶并[4,3-b]吡唑-1-甲酰胺、asulacrine、(5a,5aB,8aa,9b)-9-[2-[N-[2-(二甲氨基)乙基]-N-甲氨基]乙基]-5-[4-羟基-3,5-二甲氧基苯基]-5,5a,6,8,8a,9-六氢吡喃并(3',4':6,7)萘并(2,3-d)-1,3-二氧杂环戊二烯-6-酮、2,3-(亚甲二氧基)-5-甲基-7-羟基-8-甲氧基苯并[c]-菲啶鎓、6,9-二[(2-氨基乙基)氨基]苯并[g]异喹啉(isoquinoline)-5,10-二酮、5-(3-氨基丙基氨基)-7,10-二羟基-2-(2-羟乙基氨基甲基)-6H-吡唑并[4,5,1-de]吡啶-6-酮、N-[1-[2-(二乙氨基)乙基]-7-甲氧基-9-氧代-9H-噻吨-4-基甲基]甲酰胺、N-(2-(二甲氨基)乙基)吡啶-4-甲酰胺、6-[[2-(二甲氨基)乙基]氨基]-3-羟基-7H-茛并[2,1-c]喹啉-7-酮和地美司钠。

有丝分裂驱动蛋白抑制剂、尤其是人有丝分裂驱动蛋白 KSP 抑制剂的实例描述于 PCT 公布号 WO 01/30768、WO 01/98278、WO 03/050,064、WO 03/050,122、WO 03/049,527、WO 03/049,679、WO 03/049,678 和 WO 03/39460 和待审的 PCT 申请号 US03/06403 (2003 年 3 月 4 日申请)、US03/15861 (2003 年 5 月 19 日申请)、US03/15810 (2003 年 5 月 19 日申请)、US03/18482 (2003 年 6 月 12 日申请)和 US03/18694 (2003 年 6 月 12 日申请)。在一个实施方案中,有丝分裂驱动蛋白抑制剂包括但不限于 KSP 抑制剂、MKLP1 抑制剂、CENP-E 抑制剂、MCAK 抑制剂、Kif14 抑制剂、Mphosphl 抑制剂和 Rab6-KIFL 抑制剂。

“组蛋白脱乙酰基酶抑制剂”的实例包括,但不限于 SAHA、TSA、oxamflatin、PXD101、MG98 和 scriptaid。更多其它组蛋白乙酰基酶抑制剂的参考文献可发现于以下文稿:Miller, T. A. et al. J. Med. Chem. 46(24):5097-5116 (2003)。

“涉及有丝分裂进程的激酶抑制剂”包括但不限于 aurora 激酶抑制剂、Polo 样激酶(PLK)抑制剂(尤其是 PLK-1 抑制剂)、bub-1 抑制剂和 bub-R1 抑制剂。aurora 激酶抑制剂的实例为 VX-680。

“抗增殖剂”包括反义 RNA 和 DNA 寡核苷酸(例如 G3139、ODN698、RVASKRAS、GEM231 和 INX3001)以及抗代谢药(例如依诺他滨、卡莫氟、替加氟、喷司他丁、去氧氟尿苷、三甲曲沙、氟达拉滨、卡培他滨、加洛他滨、阿糖胞苷十八烷基磷酸钠、fosteabine sodium hydrate、雷替曲塞、paltitrexid、乙嘧替氟、噻唑呋林、地西他滨、诺拉曲塞、培美曲塞、nelzarabine、2'-脱氧-2'-亚甲基胞苷、2'-氟亚甲基-2'-脱氧胞苷、N-[5-(2,3-二氢-苯并呋喃基)磺酰基]-N'-(3,4-二氯苯基)脲、N6-[4-脱氧-4-[N2-[2(E),4(E)-十四碳二烯酰基]甘氨酸酰氨基]-L-甘油基-B-L-甘露糖基-吡喃庚糖基]腺嘌呤、aplidine、海鞘素(ecteinascidin)、曲沙他滨、4-[2-氨基-4-氧代-4,6,7,8-四氢-3H-嘧啶并[5,4-b][1,4]噻嗪-6-基-(S)-乙基]-2,5-噻吩酰基-L-谷氨酸、氨基蝶呤、5-

氟尿嘧啶、阿拉诺新、11-乙酰基-8-(氨基甲酰氧基甲基)-4-甲酰基-6-甲氧基-14-氧杂-1,11-二氮杂四环(7.4.1.0.0)-十四碳-2,4,6-三烯-9-基乙酸酯、八氢吲嗪三醇、洛美曲索、右雷佐生、甲硫氨酸酶(methioninase)、2'-氰基-2'-脱氧-N4-棕榈酰-1-B-D-呋喃阿糖基胞嘧啶和3-氨基吡啶-2-甲醛缩氨基硫脲。

单克隆抗体靶向治疗剂的实例包括具有与癌细胞特异性单克隆抗体或靶细胞特异性单克隆抗体连接的细胞毒剂或者放射性同位素的治疗剂。实例包括托西莫单抗(Bexxar)。

“HMG-CoA 还原酶抑制剂”是指3-羟基-3-甲基戊二酰基-辅酶A还原酶抑制剂。可以使用的HMG-CoA还原酶抑制剂的实例包括但不限于洛伐他汀(MEVACOR[®]; 参见美国专利号4,231,938、4,294,926和4,319,039)、辛伐他汀(ZOCOR[®]; 参见美国专利号4,444,784、4,820,850和4,916,239)、普伐他汀(PRAVACHOL[®]; 参见美国专利号4,346,227、4,537,859、4,410,629、5,030,447和5,180,589)、氟伐他汀(LESCOL[®]; 参见美国专利号5,354,772、4,911,165、4,929,437、5,189,164、5,118,853、5,290,946和5,356,896)和阿托伐他汀(LIPITOR[®]; 参见美国专利号5,273,995、4,681,893、5,489,691和5,342,952)。可用于本发明方法的上述和其它HMG-CoA还原酶抑制剂的结构式在以下文献中有介绍: M. Yalpani, "Cholesterol Lowering Drugs", *Chemistry & Industry*, 第85-89页(1996年2月5日)的第87页, 以及美国专利号4,782,084和4,885,314。本文所用的术语HMG-CoA还原酶抑制剂包括所有药物可接受的内酯和开环酸形式(即其中内酯环打开, 以形成游离酸)以及具有HMG-CoA还原酶抑制活性的化合物的盐和酯形式, 因此所述盐、酯、开环酸和内酯形式都包括在本发明范围之内。

“异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂”是指抑制任何一种异戊二烯基蛋白转移酶或其任何组合的化合物, 所述酶包括法呢基-蛋白转移酶(FPT 酶)、牻牛儿基牻牛儿基-蛋白转移酶 I 型(GGPT 酶-I)和牻牛

儿基牻牛儿基-蛋白转移酶 II 型(GGPT 酶-II, 也称为 Rab GGPT 酶)。

异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂的实例可以在以下出版物和专利中找到: WO 96/30343、WO 97/18813、WO 97/21701、WO 97/23478、WO 97/38665、WO 98/28980、WO 98/29119、WO 95/32987、美国专利号 5,420,245、美国专利号 5,523,430、美国专利号 5,532,359、美国专利号 5,510,510、美国专利号 5,589,485、美国专利号 5,602,098、欧洲专利公布号 0 618 221、欧洲专利公布号 0 675 112、欧洲专利公布号 0 604 181、欧洲专利公布号 0 696 593、WO 94/19357、WO 95/08542、WO 95/11917、WO 95/12612、WO 95/12572、WO 95/10514、美国专利号 5,661,152、WO 95/10515、WO 95/10516、WO 95/24612、WO 95/34535、WO 95/25086、WO 96/05529、WO 96/06138、WO 96/06193、WO 96/16443、WO 96/21701、WO 96/21456、WO 96/22278、WO 96/24611、WO 96/24612、WO 96/05168、WO 96/05169、WO 96/00736、美国专利号 5,571,792、WO 96/17861、WO 96/33159、WO 96/34850、WO 96/34851、WO 96/30017、WO 96/30018、WO 96/30362、WO 96/30363、WO 96/31111、WO 96/31477、WO 96/31478、WO 96/31501、WO 97/00252、WO 97/03047、WO 97/03050、WO 97/04785、WO 97/02920、WO 97/17070、WO 97/23478、WO 97/26246、WO 97/30053、WO 97/44350、WO 98/02436 和美国专利号 5,532,359。异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂对血管生成的作用实例参见 *European J. of Cancer*, 第 35 卷, 第 9 期, 第 1394-1401 页(1999)。

“血管生成抑制剂”是指抑制新血管形成的化合物, 无论以什么机制。血管生成抑制剂包括但不限于酪氨酸激酶抑制剂(例如酪氨酸激酶受体 Flt-1 (VEGFR1)抑制剂和酪氨酸激酶受体 Flk-1/KDR (VEGFR2)抑制剂)、表皮衍生生长因子抑制剂、成纤维细胞衍生生长因子抑制剂或血小板衍生生长因子抑制剂、MMP (基质金属蛋白酶)抑制剂、整联蛋白阻滞剂、干扰素- α 、白介素-12、戊聚糖聚硫酸酯(pentosan polysulfate)、环加氧酶抑制剂(包括非甾体抗炎药(NSAID)),

例如阿司匹林和布洛芬, 以及选择性环加氧酶-2 抑制剂, 例如塞来考昔和罗非考昔(*PNAS*, 第 89 卷, 第 7384 页(1992); *JNCI*, 第 69 卷, 第 475 页(1982); *Arch. Ophthalmol.*, 第 108 卷, 第 573 页(1990); *Anat. Rec.*, 第 238 卷, 第 68 页(1994); *FEBS Letters*, 第 372 卷, 第 83 页(1995); *Clin. Orthop.* 第 313 卷, 第 76 页(1995); *J. Mol. Endocrinol.*, 第 16 卷, 第 107 页(1996); *Jpn. J. Pharmacol.*, 第 75 卷, 第 105 页(1997); *Cancer Res.*, 第 57 卷, 第 1625 页(1997); *Cell*, 第 93 卷, 第 705 页(1998); *Intl. J. Mol. Med.*, 第 2 卷, 第 715 页(1998); *J. Biol. Chem.*, 第 274 卷, 第 9116 页(1999)), 甾体类抗炎药(例如皮质类固醇、盐皮质类固醇、地塞米松、泼尼松、泼尼松龙、甲泼尼龙、倍他米松)、羧基酰胺三唑、考布他汀 A-4、角鲨胺、6-O-氯乙酰基-羰基-烟曲霉醇、沙利度胺、血管生长抑素、肌钙蛋白-1、血管紧张素 II 拮抗剂(参见 Fernandez 等, *J. Lab. Clin. Med.* 105: 141-145 (1985))和 VEGF 的抗体(参见 *Nature Biotechnology*, 第 17 卷, 第 963-968 页(1999 年 10 月); Kim 等, *Nature*, 362, 841-844 (1993); WO 00/44777; 和 WO 00/61186)。

调节或抑制血管生成并可与本发明化合物联合使用的其它治疗剂包括调节或抑制凝血和溶纤系统的药物(有关综述参见 *Clin. Chem. La. Med.* 38: 679-692 (2000))。调节或抑制凝血和溶纤途径的所述药物实例包括但不限于肝素(参见 *Thromb. Haemost.* 80: 10-23 (1998))、低分子量肝素和羧肽酶 U 抑制剂(也称为活性凝血酶可活化纤溶抑制剂 [TAFIa] 的抑制剂)(参见 *Thrombosis Res.* 101: 329-354 (2001))。TAFIa 抑制剂已经描述于 PCT 公布号 WO 03/013,526 和美国顺序号 60/349,925 (2002 年 1 月 18 日申请)。

“干扰细胞周期关卡的药物”是指抑制转导细胞周期关卡信号的蛋白激酶的化合物, 因而使癌细胞对 DNA 损伤剂敏感。所述药物包括 ATR 抑制剂、ATM 抑制剂、Chk1 和 Chk2 激酶抑制剂和 cdk 和 cdc 激酶抑制剂, 特别以 7-羟基星孢素、黄酮类抗肿瘤药(flavopiridol)、CYC202 (Cyclacel)和 BMS-387032 为例。

“细胞增殖和存活信号传导途径的抑制剂”是指抑制细胞表面受体和这些表面受体信号传导级联下游的药物。所述药物包括以下抑制剂：EGFR 抑制剂(例如吉非替尼和埃罗替尼)、ERB-2 抑制剂(例如曲妥单抗)、IGFR 抑制剂、细胞因子受体抑制剂、MET 抑制剂、PI3K 抑制剂(例如 LY294002)、丝氨酸/苏氨酸激酶(包括但不限于 Akt 抑制剂，例如描述于 WO 02/083064、WO 02/083139、WO 02/083140 和 WO 02/083138)、Raf 激酶抑制剂(例如 BAY-43-9006)、MEK 抑制剂(例如 CI-1040 和 PD-098059)和 mTOR 抑制剂(例如 Wyeth CCI-779)。所述药物包括小分子抑制剂化合物和抗体拮抗剂。

“细胞凋亡诱导剂”包括 TNF 受体家族成员(包括 TRAIL 受体)的活化剂。

本发明也包括与 NSAID 联合使用，NSAID 是选择性 COX-2 抑制剂。对于本说明书的目的，作为选择性 COX-2 抑制剂的 NSAID 定义为具有这样的特异性：当用细胞或微粒体测定来评价 COX-2 的 IC_{50} 与 COX-1 的 IC_{50} 的比率时，对 COX-2 的抑制比对 COX-1 的抑制至少高 100 倍。所述化合物包括但不限于公开于以下文献的化合物：美国专利 5,474,995、美国专利 5,861,419、美国专利 6,001,843、美国专利 6,020,343、美国专利 5,409,944、美国专利 5,436,265、美国专利 5,536,752、美国专利 5,550,142、美国专利 5,604,260、美国专利 5,698,584、美国专利 5,710,140、WO 94/15932、美国专利 5,344,991、美国专利 5,134,142、美国专利 5,380,738、美国专利 5,393,790、美国专利 5,466,823、美国专利 5,633,272, 和美国专利 5,932,598，所有这些文献都通过引用结合到本文中。

具体可用于本发明治疗方法的 COX-2 抑制剂是：3-苯基-4-(4-(甲基磺酰基)苯基)-2-(5H)-咪唑酮；和 5-氯-3-(4-甲基磺酰基)苯基-2-(2-甲基-5-吡啶基)吡啶；或其药物可接受的盐。

已经作为特异性 COX-2 抑制剂而描述并因而可用于本发明的化合物包括但不限于：帕瑞考昔、CELEBREX[®]和 BEXTRA[®]或其药物

可接受的盐。

血管生成抑制剂的其它实例包括但不限于内皮生长抑素、ukrain、豹蛙酶、IM862、(氯乙酰基)氨基甲酸 5-甲氧基-4-[2-甲基-3-(3-甲基-2-丁烯基)环氧乙烷基]-1-氧杂螺[2,5]辛-6-基酯、acetyldinanaline、5-氨基-1-[[3,5-二氯-4-(4-氯苯甲酰基)苯基]甲基]-1H-1,2,3-三唑-4-甲酰胺、CM101、角鲨胺、考布他汀、RPI4610、NX31838、硫酸化磷酸甘露戊糖、7,7-(羰基-二[亚氨基-N-甲基-4,2-吡咯并羰基亚氨基[N-甲基-4,2-吡咯]-羰基亚氨基]-二-(1,3-萘二磺酸酯)和 3-[(2,4-二甲基吡咯-5-基)亚甲基]-2-二氢吲哚酮(SU5416)。

如上所用的“整联蛋白阻滞剂”是指选择性拮抗、抑制或对抗生理配体与 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白结合的化合物，是指选择性拮抗、抑制或对抗生理配体与 $\alpha_v\beta_5$ 整联蛋白结合的化合物，是指选择性拮抗、抑制或对抗生理配体与 $\alpha_v\beta_3$ 整联蛋白和 $\alpha_v\beta_5$ 整联蛋白结合的化合物，是指选择性拮抗、抑制或对抗在毛细血管内皮细胞上表达的特定整联蛋白的活性的化合物。该术语也指以下整联蛋白的拮抗剂： $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_v\beta_8$ 、 $\alpha_1\beta_1$ 、 $\alpha_2\beta_1$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 和 $\alpha_6\beta_4$ 。该术语也指以下整联蛋白任何组合的拮抗剂： $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_6$ 、 $\alpha_v\beta_8$ 、 $\alpha_1\beta_1$ 、 $\alpha_2\beta_1$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 和 $\alpha_6\beta_4$ 。

酪氨酸激酶抑制剂的一些具体实例包括 N-(三氟甲基苯基)-5-甲基异噁唑-4-甲酰胺、3-[(2,4-二甲基吡咯-5-基)亚甲基]二氢吲哚-2-酮、17-(烯丙基氨基)-17-脱甲氧基格尔德霉素、4-(3-氯-4-氟苯基氨基)-7-甲氧基-6-[3-(4-吗啉基)丙氧基]喹唑啉、N-(3-乙炔基苯基)-6,7-二(2-甲氧基乙氧基)-4-喹唑啉胺、BIBX1382、2,3,9,10,11,12-六氢-10-(羟甲基)-10-羟基-9-甲基-9,12-环氧-1H-二吲哚并[1,2,3-fg:3',2',1'-kl]吡咯并[3,4-i][1,6]苯并二吡辛因-1-酮、SH268、金雀异黄素(genistein)、STI571、CEP2563、4-(3-氯苯基氨基)-5,6-二甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶甲烷磺酸酯、4-(3-溴-4-羟基苯基)氨基-6,7-二甲氧基喹唑啉、4-(4'-羟基苯基)氨基-6,7-二甲氧基喹唑啉、SU6668、STI571A、N-4-氯苯基-4-(4-吡啶基甲基)-1-酞嗪胺和 EMD121974。

与并非抗癌化合物的化合物联合使用也包括在本发明方法之内。例如,将本文要求保护的化合物与 PPAR- γ 激动剂和 PPAR- δ 激动剂联合使用,可用于治疗某些恶性肿瘤。PPAR- γ 和 PPAR- δ 是核过氧化物酶体增植物激活受体 γ 和 δ 。文献中已经报道了 PPAR- γ 在内皮细胞上的表达并参与血管形成(参见 *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998; 31: 909-913; *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 9116-9121; *Invest. Ophthalmol Vis. Sci.* 2000; 41: 2309-2317)。近来,已经显示 PPAR- γ 激动剂在体外抑制对 VEGF 的血管生成反应;曲格列酮和马来酸罗格列酮均在小鼠中抑制视网膜新血管生成。(*Arch. Ophthalmol.* 2001; 119: 709-717)。PPAR- γ 激动剂和 PPAR- γ/α 激动剂的实例包括但不限于噻唑烷二酮(例如 DRF2725、CS-011、曲格列酮、罗西格列酮和吡格列酮)、非诺贝特、吉非贝齐、氯贝丁酯、GW2570、SB219994、AR-H039242、JTT-501、MCC-555、GW2331、GW409544、NN2344、KRP297、NP0110、DRF4158、NN622、GI262570、PNU182716、DRF552926、2-[(5,7-二丙基-3-三氟甲基-1,2-苯并异噁唑-6-基)氧基]-2-甲基丙酸(公开于 USSN 09/782,856)和 2(R)-7-(3-(2-氯-4-(4-氟苯氧基)苯氧基)丙氧基)-2-乙基苯并二氢吡喃-2-甲酸(公开于 USSN 60/235,708 和 60/244,697)。

本发明的另一个实施方案是本发明公开的化合物与基因治疗联合使用,用于治疗癌症。有关治疗癌症的基因策略的综述参见 Hall 等(*Am J Hum Genet* 61: 785-789, 1997)和 Kufe 等(*Cancer Medicine*, 第 5 版, 第 876-889 页, BC Decker, Hamilton 2000)。基因治疗可用于传递任何肿瘤抑制基因。所述基因的实例包括但不限于 p53 (其可通过重组病毒介导的基因转移而传递,参见例如美国专利号 6,069,134)、uPA/uPAR 拮抗剂("Adenovirus-Mediated Delivery of a uPA/uPAR Antagonist Suppresses Angiogenesis-Dependent Tumor Growth and Dissemination in Mice," *Gene Therapy*, August 1998; 5(8): 1105-13)和干扰素 γ (*J Immunol* 2000; 164: 217-222)。

本发明的化合物也可与固有多重耐药性(MDR)抑制剂、尤其是

转运蛋白高水平表达相关的 MDR 的抑制剂联合给予。所述 MDR 抑制剂包括 p-糖蛋白(P-gp)抑制剂, 例如 LY335979、XR9576、OC144-093、R101922、VX853 和 PSC833 (伐司朴达)。

本发明的化合物可以与止吐药联合使用, 用于治疗恶心或呕吐, 包括急性、迟发型、晚期和可预见的呕吐, 所述呕吐是因单独使用本发明化合物或者本发明化合物与放射治疗联用而引起的。为了预防或治疗呕吐, 本发明化合物可与其它止吐药一起使用, 所述止吐药尤其是神经激肽-1 受体拮抗剂、5HT3 受体拮抗剂(例如昂丹司琼、格拉司琼、托烷司琼和扎托司琼(zatisetron))、GABAB 受体激动剂(例如巴氯芬)、皮质类固醇(例如地卡特隆(Decadron) (地塞米松))、康宁乐(Kenalog)、曲安西龙、鼻松、Preferid、Benecorten 或其它药物(例如公开于美国专利号 2,789,118、2,990,401、3,048,581、3,126,375、3,929,768、3,996,359、3,928,326 和 3,749,712)、抗多巴胺能药例如吩噻嗪类(例如丙氯拉嗪、氟奋乃静、硫利达嗪和美索达嗪)、甲氧氯普安或屈大麻酚。在一个实施方案中, 选自神经激肽-1 受体拮抗剂、5HT3 受体拮抗剂和皮质类固醇的止吐药, 作为辅助剂给予, 用于治疗或预防因给予本发明化合物而引起的呕吐。

与本发明化合物联合使用的神经激肽-1 受体拮抗剂在例如以下文献中有充分介绍: 美国专利号 5,162,339、5,232,929、5,242,930、5,373,003、5,387,595、5,459,270、5,494,926、5,496,833、5,637,699、5,719,147; 欧洲专利公布号 EP 0 360 390、0 394 989、0 428 434、0 429 366、0 430 771、0 436 334、0 443 132、0 482 539、0 498 069、0 499 313、0 512 901、0 512 902、0 514 273、0 514 274、0 514 275、0 514 276、0 515 681、0 517 589、0 520 555、0 522 808、0 528 495、0 532 456、0 533 280、0 536 817、0 545 478、0 558 156、0 577 394、0 585 913、0 590 152、0 599 538、0 610 793、0 634 402、0 686 629、0 693 489、0 694 535、0 699 655、0 699 674、0 707 006、0 708 101、0 709 375、0 709 376、0 714 891、0 723 959、0 733 632 和 0 776 893; PCT 国际

专利公布号 WO 90/05525、90/05729、91/09844、91/18899、92/01688、92/06079、92/12151、92/15585、92/17449、92/20661、92/20676、92/21677、92/22569、93/00330、93/00331、93/01159、93/01165、93/01169、93/01170、93/06099、93/09116、93/10073、93/14084、93/14113、93/18023、93/19064、93/21155、93/21181、93/23380、93/24465、94/00440、94/01402、94/02461、94/02595、94/03429、94/03445、94/04494、94/04496、94/05625、94/07843、94/08997、94/10165、94/10167、94/10168、94/10170、94/11368、94/13639、94/13663、94/14767、94/15903、94/19320、94/19323、94/20500、94/26735、94/26740、94/29309、95/02595、95/04040、95/04042、95/06645、95/07886、95/07908、95/08549、95/11880、95/14017、95/15311、95/16679、95/17382、95/18124、95/18129、95/19344、95/20575、95/21819、95/22525、95/23798、95/26338、95/28418、95/30674、95/30687、95/33744、96/05181、96/05193、96/05203、96/06094、96/07649、96/10562、96/16939、96/18643、96/20197、96/21661、96/29304、96/29317、96/29326、96/29328、96/31214、96/32385、96/37489、97/01553、97/01554、97/03066、97/08144、97/14671、97/17362、97/18206、97/19084、97/19942 和 97/21702；和英国专利公布号 2 266 529、2 268 931、2 269 170、2 269 590、2 271 774、2 292 144、2 293 168、2 293 169 和 2 302 689。所述化合物的制备在上述专利和出版物中都有全面的描述，所述文献通过引用结合到本文中。

在一个实施方案中，与本发明化合物联合使用的神经激肽-1 受体拮抗剂选自 2-(R)-(1-(R)-(3,5-二(三氟甲基)苯基)乙氧基)-3-(S)-(4-氟苯基)-4-(3-(5-氧代-1H,4H-1,2,4-三唑并)甲基)吗啉或其药物可接受的盐，其描述于美国专利号 5,719,147。

本发明的化合物也可与用于治疗贫血的药物联合给予。所述贫血治疗药例如连续红细胞生成素受体激活物(例如阿法依泊汀)。

本发明的化合物也可与用于治疗中性白细胞减少症的药物联合给予。所述中性白细胞减少症治疗剂为例如调节嗜中性粒细胞的产生和功能的造血生长因子(hematopoietic growth factor), 例如人粒细胞集落刺激因子(G-CSF)。G-CSF 的实例包括非格司亭。

本发明的化合物也可与免疫增强药(例如左旋咪唑、异丙肌苷和日达仙)联合给予。

本发明的化合物也可与双磷酸盐(理解为包括双磷酸盐、二磷酸盐、双磷酸和二磷酸)组合用于治疗或预防癌症, 包括骨癌。双磷酸盐的实例包括但不限于: 依替膦酸盐(Didronel)、帕米膦酸盐(Aredia)、阿伦膦酸盐(Fosamax)、利塞膦酸盐(Actonel)、唑来膦酸盐(Zometa)、伊班膦酸(Boniva)、伊卡膦酸盐或英卡膦酸盐、氯膦酸盐、EB-1053、米诺膦酸盐、奈立膦酸盐、piridronate 和替鲁膦酸盐, 包括其任何药物可接受的盐、衍生物、水合物和混合物。

本发明的化合物也可与芳香酶抑制剂组合用于治疗或预防乳腺癌。芳香酶抑制剂的实例包括但不限于: 阿那曲唑、来曲唑、依西美坦。

发明的化合物也可与 siRNA 治疗剂组合用于治疗或预防癌症。

因此, 本发明的范围包括将本发明要求保护的化合物与选自以下的第二种化合物联合使用: 雌激素受体调节剂、雄激素受体调节剂、类视黄醇受体调节剂、细胞毒剂/细胞抑制剂、抗增殖剂、异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂、HMG-CoA 还原酶抑制剂、HIV 蛋白酶抑制剂、逆转录酶抑制剂、血管生成抑制剂、PPAR- γ 激动剂、PPAR- δ 激动剂、固有多重耐药性抑制剂、止吐药、用于治疗贫血的药物、用于治疗中性白细胞减少症的药物、免疫增强药、细胞增殖和存活信号转导抑制剂、细胞凋亡诱导剂、双磷酸盐化合物、芳香酶抑制剂、siRNA 治疗剂和干扰细胞周期关卡的药物。

对于本发明的化合物, 术语“给予”及其变体(例如“给予”化合物)是指将化合物或化合物的前体药物导入需要治疗的动物系统

内。因此，当提供本发明化合物或其前体药物以及一种或多种其它活性药物(例如细胞毒剂等)时，“给予”及其变体应分别理解为包括同时和序贯导入化合物或其前体药物以及其它药物。

本文所用的术语“组合物”是指包括含规定剂量的规定成分的制品以及规定剂量的规定成分的直接或间接地组合产生的任何制品。

本文所用的术语“治疗有效量”是指由研究人员、兽医、医师或其它临床医生所确定的活性化合物或药物在组织、系统、动物或人体内引发生物反应或药物反应的量。

术语“治疗癌症”或“癌症治疗”是指给予患有癌性疾病的哺乳动物药物并且是指通过杀伤癌细胞而缓解癌症的效果，也指导致对癌的生长和/或转移的抑制效果。

在一个实施方案中，可用作第二种化合物的血管生成抑制剂选自酪氨酸激酶抑制剂、表皮衍生生长因子抑制剂、成纤维细胞衍生生长因子抑制剂、血小板衍生生长因子抑制剂、MMP(基质金属蛋白酶)抑制剂、整联蛋白阻滞剂、干扰素- α 、白介素-12、戊聚糖聚硫酸酯、环加氧酶抑制剂、羧基酰胺三唑、考布他汀 A-4、角鲨胺、6-O-氯乙酰基-羧基)-烟曲霉醇、沙利度胺、血管生长抑素、肌钙蛋白-1或 VEGF 的抗体。在一个实施方案中，雌激素受体调节剂是他莫昔芬或雷洛昔芬。

一种治疗癌症的方法也包括在权利要求的范围之内，所述方法包括给予治疗有效量的式 I 化合物以及放射治疗和/或与选自以下的化合物联合使用：雌激素受体调节剂、雄激素受体调节剂、类视黄醇受体调节剂、细胞毒剂/细胞抑制剂、抗增殖剂、异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂、HMG-CoA 还原酶抑制剂、HIV 蛋白酶抑制剂、逆转录酶抑制剂、血管生成抑制剂、PPAR- γ 激动剂、PPAR- δ 激动剂、固有多重耐药性抑制剂、止吐药、用于治疗贫血的药物、用于治疗中性白细胞减少症的药物、免疫增强药、细胞增殖和存活信号转导抑

制剂、细胞凋亡诱导剂、双磷酸盐化合物、芳香酶抑制剂、siRNA 治疗剂和干扰细胞周期关卡的药物。

本发明的再一个实施方案是一种治疗癌症的方法，所述方法包括给予治疗有效量的式 I 化合物以及紫杉醇或曲妥单抗。

本发明还包括治疗或预防癌症的方法，所述方法包括给予治疗有效量的式 I 化合物以及 COX-2 抑制剂。

本发明也包括用于治疗或预防癌症的药物组合物，所述组合物包含治疗有效量的式 I 化合物及其选自以下的化合物：雌激素受体调节剂、雄激素受体调节剂、类视黄醇受体调节剂、细胞毒剂/细胞抑制剂、抗增殖剂、异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂、HMG-CoA 还原酶抑制剂、HIV 蛋白酶抑制剂、逆转录酶抑制剂、血管生成抑制剂、PPAR- γ 激动剂、PPAR- δ 激动剂、细胞增殖和存活信号转导抑制剂、干扰细胞周期关卡的药物、细胞凋亡诱导剂和双磷酸盐。

根据本文所公开的内容，本发明的上述方面和其它方面将会是显而易见的。

用于本化学说明书和实例中的缩写如下：9-BBN (9-硼二环[3.3.1]壬烷)；AcOH (乙酸)；DCE (二氯甲烷)；Dess-Martin Periodinane (1,1,1-三(乙氧酰基)-1,1-苯碘酰-3-(1H)-酮)；DIBAL-H (氢化二异丁基铝)；DIEA (二异丙基乙胺)；DME (乙二醇二甲醚)；DMF (二甲基甲酰胺)；DMSO (二甲亚砜)；DTT (二硫苏糖醇)；EDC (盐酸 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺)；EtOAc (乙酸乙酯)；FACS (荧光激活细胞分选术)；FITC (异硫氰酸荧光素)；HOBt (1-羟基苯并三唑)；IPTG (异丙基- β -D-硫代半乳糖苷)；LDA (二异丙基酰胺锂)；LHMDS (六甲基二硅基胺基锂)；mCPBA (间氯过氧苯甲酸)；MS (质谱)；NaHMDS (六甲基二硅基氨基钠)；NMR (核磁共振)；PMSF (苯甲基磺酰氟)；PyBop (六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基(三吡咯烷-1-基)磷鎓)；Rochelle's 盐(酒石酸钾钠)；SiO₂ (硅胶)；TBAI (碘化四正丁基铵)；TEA (三乙胺)；THF (四氢呋喃)；TFA (三氟乙酸)；TMSCN (三甲基甲硅烷基氰)；TsCl

中。细胞悬液与 1mg/ml 溶菌酶和 5mM β -巯基乙醇一起在冰上孵育 10 分钟，再进行超声处理(3x 30 秒)。所有后续步骤都在 4℃ 下进行。将裂解液以 40,000 x g 离心 40 分钟。上清液稀释后，上样到 SP 琼脂糖凝胶柱(Pharmacia, 柱体 5ml)的缓冲液 A (50mM K-HEPES (pH 6.8)、1mM $MgCl_2$ 、1mM EGTA、10M Mg-ATP、1mM DTT), 用 0-750mM KCl/缓冲液 A 梯度洗脱。合并含有 KSP 的流分，与 Ni-NTA 树脂(Qiagen) 一起保温 1 小时。树脂用缓冲液 B (裂解缓冲液(去掉 PMSF)和蛋白酶抑制剂混合物)洗涤 3 次，再保温 3 次，每次 15 分钟，用缓冲液 B 洗涤。最后，保温树脂，用缓冲液 C (与缓冲液 B 相同，只是 pH 为 6.0)洗涤 15 分钟，3 次，倒入柱子中。KSP 用洗脱缓冲液(与缓冲液 B 相同，除了 150mM KCl 和 250mM 咪唑之外)洗脱。合并含有 KSP 的流分，制成 10%的蔗糖溶液，贮藏于-80℃。

用自牛脑分离的微管蛋白来制备微管。在 10 μ M 紫杉醇、1mM DTT、1mM GTP/BRB80 缓冲液(80mM K-PIPES、1mM EGTA、1mM $MgCl_2$, pH 6.8)存在下，将 1mg/ml 的纯化微管蛋白(> 97%无 MAP)在 37℃ 聚合。通过超速离心并除去上清液，将所得微管与未聚合微管蛋白分开。将含有微管的沉淀物轻柔地重悬于 10 μ M 紫杉醇、1mM DTT、50 μ g/ml 氨苄青霉素和 5 μ g/ml 氯霉素/BRB80 中。

驱动蛋白的发动蛋白结构域与微管、1mM ATP (1:1 $MgCl_2$:Na-ATP)和化合物一起在含有 80mM K-HEPES (pH 7.0)、1mM EGTA、1mM DTT、1mM $MgCl_2$ 和 50mM KCl 的缓冲液中于 23℃ 保温。通过用由 80mM HEPES 和 50mM EDTA 组成的最终缓冲液进行 2-10 倍稀释，终止反应。通过喹哪啶红/钼酸铵测定，通过加入 150 μ l 终止 C 缓冲液(含有 2:1 比例的终止 A:终止 B)，测定来自 ATP 水解反应的游离磷酸。终止 A 含有 0.1mg/ml 喹哪啶红和 0.14%聚乙烯醇；终止 B 含有 12.3mM 四水钼酸铵/1.15M 硫酸。将反应物在 23℃ 保温 10 分钟，在 540nm 测定磷钼酸盐络合物的吸光度。

在上述测定中，检测了实施例所述的化合物 1-5, 2-2 和 3-8, 发

现其 $IC_{50} \leq 50 \mu M$ 。

II. 细胞增殖测定

将细胞接种在 96 孔组织培养板中，其密度允许在 24 小时、48 小时和 72 小时的时间里进行对数生长并允许贴壁过夜。第二天，将化合物以 10 点、半对数滴度加入到所有培养板中。每个滴度系列一式三份，所有测定中保持 0.1% 的恒定 DMSO 浓度。也包括单用 0.1% DMSO 的对照。在无血清培养基中进行每种化合物的系列稀释。测定中血清的最终浓度为 5%/200 μ l 培养基体积。在 24 小时、48 小时或 72 小时，将 20 微升 Alamar blue 染色试剂加入到滴定板的每个样品和对照孔中，再加入药物，然后继续放回 37 $^{\circ}$ C 孵育。6-12 小时后，在 CytoFluor II 读板仪上，用 530-560nm 波长激发光，590nm 发射光，分析 Alamar blue 荧光。

通过 x 轴为化合物浓度对 y 轴为每一滴定点的细胞生长平均% 抑制作图，求出细胞毒 EC_{50} 。在该测定中，仅用溶媒处理的对照孔的细胞生长定义为 100% 生长，用化合物处理的细胞生长与该值进行比较。采用内部自有的软件，使用 4 参数逻辑曲线拟合，计算% 细胞毒性值和拐点。% 细胞毒性定义为：

$$\% \text{细胞毒性} = \frac{(\text{荧光}_{\text{对照}}) - (\text{荧光}_{\text{样品}})}{(\text{荧光}_{\text{对照}})} \times 100$$

拐点报告为细胞毒 EC_{50} 。

III. 通过 FACS 对有丝分裂停滞和细胞凋亡的评价

使用 FACS 分析，通过测定受处理细胞群体中 DNA 含量，评价化合物将细胞停滞在有丝分裂并诱导细胞凋亡的能力。以 1.4×10^6 细胞/6cm² 组织培养板的密度接种细胞，让其贴壁过夜。然后，用溶媒 (0.1% DMSO) 或化合物滴度系列处理细胞 8-16 小时。处理后，在指定时间，通过胰蛋白酶消化收获细胞，离心沉淀。细胞沉淀物用 PBS 漂清，在 70% 乙醇中固定，贮藏于 4 $^{\circ}$ C 过夜或更长时间。

对于 FACS 分析, 沉淀至少 500,000 个固定细胞, 通过抽吸除去 70%乙醇。然后细胞在 4℃与 RNA 酶 A (50 Kunitz 单位/ml)和碘化丙锭(50 μ g/ml)一起孵育 30 分钟, 用 Becton Dickinson FACSCaliber 进行分析。用 Modfit 细胞周期分析模型软件(Verity Inc.)分析数据(来自 10,000 个细胞)。

通过 x 轴为化合物浓度对 y 轴为每一滴定点处于细胞周期 G2/M 期时的 %细胞(通过碘化丙锭荧光测定)作图, 求出有丝分裂停滞的 EC₅₀。用 SigmaPlot 程序进行数据分析, 用 4 参数逻辑曲线拟合, 求出拐点。拐点报告为有丝分裂停滞的 EC。采用类似方法, 确定化合物对于细胞凋亡的 EC₅₀。在此, 每个滴定点的凋亡细胞% (通过碘化丙锭荧光测定)在 y 轴上作图, 如上所述进行类似分析。

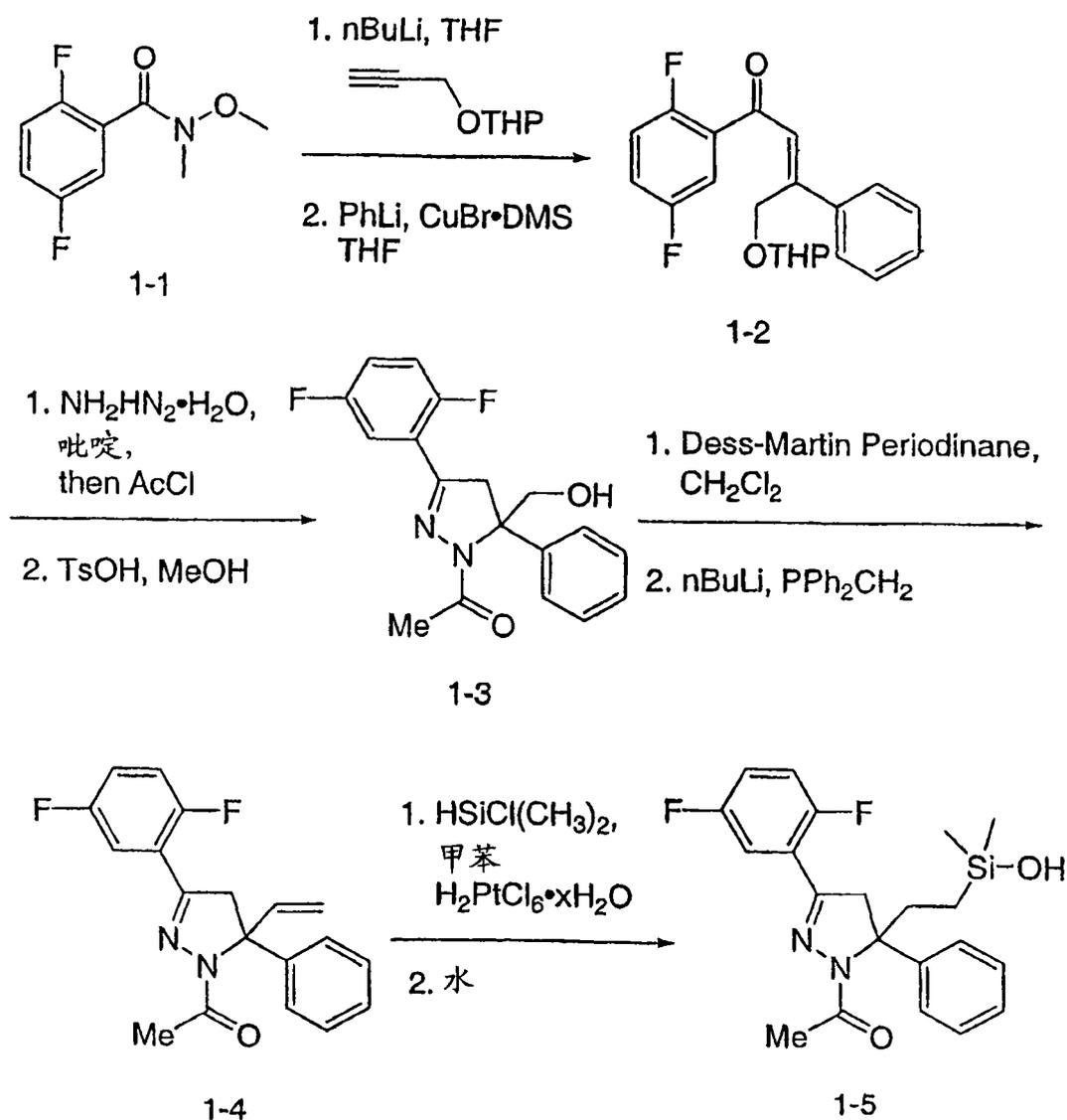
IV. 免疫荧光显微镜术检测单极纺锤体

DNA、微管蛋白和粒周蛋白的免疫荧光染色方法基本按照以下文献的描述进行: Kapoor 等(2000) J. Cell Biol. 150: 975-988。对于细胞培养的研究, 将细胞接种在组织培养物处理的玻璃小室的玻片上, 让其贴壁过夜。然后细胞与目标化合物一起孵育 4-16 小时。完成孵育后, 吸出培养基和药物, 将小室和垫片从玻片上拿掉。然后, 按照参考方案, 让细胞经过透化、固定、洗涤并封闭非特异性抗体结合。石蜡包埋的肿瘤切片用二甲苯脱蜡, 通过乙醇系列复水, 然后封闭。将玻片与第一抗体(小鼠单克隆抗 α -微管蛋白抗体, 克隆 DM1A, 来自 Sigma, 1:500 稀释; 兔多克隆抗粒周蛋白抗体, 来自 Covance, 1:2000 稀释)一起在 4℃孵育过夜。洗涤后, 玻片与稀释至 15 μ g/ml 的缀合的第二抗体(针对微管蛋白的 FITC-缀合的驴抗小鼠 IgG; 针对粒周蛋白的得克萨斯红缀合的驴抗兔 IgG)一起在室温下孵育 1 小时。然后洗涤玻片, 用 Hoechst 33342 复染色, 显现 DNA。在 Nikon 表面荧光显微镜上, 使用 Metamorph 重叠合法(deconvolution)和图像软件, 用 100x 油浸物镜观察免疫染色样品。

实施例

所提供的实施例是为了进一步理解本发明。所用的具体材料、种类和条件都是为了说明本发明，而不是对本发明合理范围的限制。

流程 1



步骤 1: 1-(2,5-二氟苯基)-3-苯基-4-(四氢-2H-吡喃-2-基氧基)丁-2-烯-1-酮(1-2)

-78℃下将 17.1 mL (42.8 mmol) 2.5M 在己烷中的正丁基锂滴加到 6.0g (42.8 mmol)四氢-2-(2-丙炔氧基)-2H-吡喃的 300mL THF 溶液中。搅拌 45 分钟后，加入 25mL 含 8.6g (42.8 mmol) 1-1 的 THF 溶液

(1-1由 2,5-二氯苯甲酰氯、Weinreb 胺和 TEA 在二氯甲烷中制备), 并持续搅拌 3 小时, 同时将溶液缓慢温热到室温。待使用饱和 NH_4Cl 水溶液终止反应后, 将该混合物倒入具有 EtOAc 的分液漏斗中, 分相, 水相使用 EtOAc 萃取, 合并有机相, 使用盐水洗涤, Na_2SO_4 干燥, 浓缩。通过硅胶层析纯化残余物, 得到 26.6g 黄色油状的炔丙酮中间体。将 100 mL 含 8.42g (41.0 mmol) $\text{CuBr}\cdot\text{DMS}$ 的 THF 悬浮液冷却到 -78°C , 并滴加 41.0 mL (82.0 mmol) 2M 苯基锂的 $n\text{Bu}_2\text{O}$ 溶液。搅拌 1.5 小时后, 加入 15 mL 含 9.57 g (34.1 mmol) 上述酮的 THF 溶液, 将所得混合物搅拌 3 小时。使用饱和 NH_4Cl 水溶液终止反应后, 将混合物倒入有 EtOAc 的分液漏斗, 分相, 水相使用 EtOAc 萃取, 合并有机相, 使用盐水洗涤, Na_2SO_4 干燥, 浓缩。通过硅胶层析纯化残余物, 得到黄色油状的 1-2, 为 1:1 (E)和(Z)异构体的混合物。1-2 数据: LC-MS: $rt = 2.78 \text{ min} \ \& \ 2.9 \text{ min}$, $m/z = 359 (M + 1)$ 。

步骤 2: [1-乙酰基-3-(2,5-二氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基]甲醇(1-3)

将 1.18 mL (24.3 mmol)水合肼加入到 100 mL 含 5.8g (16.2 mmol) 1-1 的吡啶溶液中。将该反应加热至 90°C 保温 45 分钟, 冷却到室温, 然后至 0°C 。随后加入 5.75 mL (80.9 mmol)乙酰氯, 移去冷却浴, 将反应搅拌 7 小时。然后将该反应倒入具有 EtOAc 和盐水的分液漏斗中。分相, 有机相使用 1 M HCl 洗涤 2 次, 然后使用盐水洗涤, Na_2SO_4 干燥, 浓缩。将残余物溶于甲苯 2 次, 再次浓缩以除去任何残留的吡啶。将残余物溶于 100 mL 甲醇, 加入 1.5 g (7.9 mmol)对甲苯磺酸, 室温下混合物搅拌 2 小时。然后浓缩反应物, 残余物溶于 EtOAc, 使用饱和 NaHCO_3 溶液洗涤 2 次, 然后使用盐水洗涤, Na_2CO_3 干燥, 浓缩。使用乙醚研磨残余物, 过滤得到白色固体 1-3。1-3 数据: LC-MS: $rt = 2.20 \text{ min}$, $m/z = 331 (M + 1)$ 。

步骤 3: 1-乙酰基-3-(2,5-二氟苯基)-5-苯基-5-乙烯基-4,5-二氢-1H-吡唑(1-4)

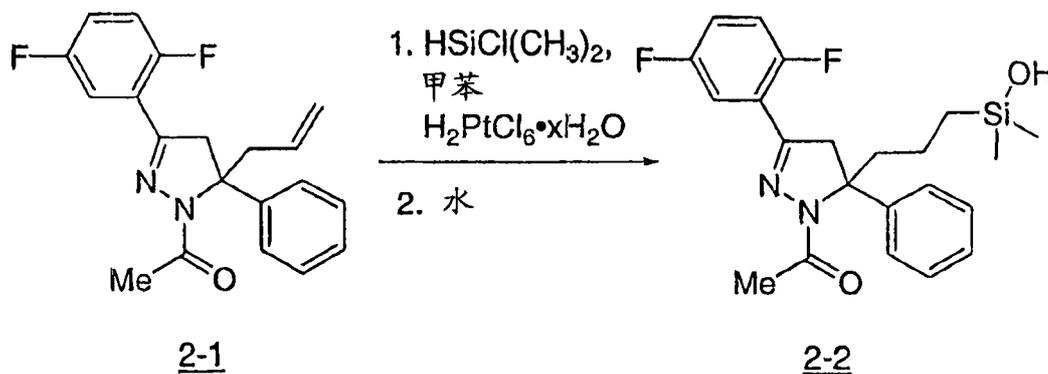
将 5.6 g (13.2 mmol) Dess-Martin Periodinane 加入到 200 mL 含 3.96 g (12.0 mmol) 1-3 的二氯甲烷溶液中, 混合物搅拌 3 小时。然后向该混合物中加入饱和 NaHCO₃ 水溶液, 以及一些固体 Na₂SO₃, 将该双相混合物剧烈搅拌 1 小时。分相, 有机相使用饱和 NaHCO₃ 洗涤, 水洗涤, Na₂SO₄ 干燥, 浓缩得到粗品醛。在分离烧瓶中, 将 6.4 g (18.0 mmol) 溴化甲基三苯基磷鎓悬浮于 100 mL THF 中, 冷却到 -78 °C, 加入 7.2 mL (18.0 mmol) 正丁基锂的正己烷溶液。搅拌 30 分钟后, 将上述醛溶于 30 mL THF, 导入反应烧瓶, -78 °C 下搅拌 30 分钟。移去冷却浴, 允许搅拌反应 1 小时同时逐渐到室温。使用饱和 NH₄Cl 水溶液终止反应, 将混合物倒入含有 EtOAc 的分液漏斗, 分相, 水相使用 EtOAc 萃取, 合并有机相, 使用盐水洗涤, Na₂SO₄ 干燥, 浓缩。使用 EtOAc/正己烷通过硅胶层析纯化残余物, 得到淡黄色固体 1-4。1-4 数据: ¹HNMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.7 (m, 1H), 7.35 - 7.25 (m, 5H), 7.05 (m, 2H), 6.8 (m, 1H), 5.45 (m, 1H), 5.35 (m, 1H), 3.9 (m, 1H), 3.4 (m, 1H), 2.4 (s, 3H) ppm。HRMS (ES) C₁₉H₁₆N₂O (M+H) 的计算值 327.1304, 实测值 327.1294。

步骤 4: {2-[1-乙酰基-3-(2,5-二氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基]乙基}(二甲基)甲硅烷醇(1-5)

将 51 μL (0.46 mmol) 氯二甲基甲硅烷和 13 mg (0.03 mmol) 六氯铂酸水合物(IV) 加到 1 mL 含 100 mg (0.31 mmol) 1-4 的甲苯溶液中。将反应混合物在密封管内加热到 85 °C 保温 18 小时, 然后加入 500 μL 水。继续加热 15 分钟然后冷却到室温, 倒入含有 EtOAc 的分液漏斗, 连续使用水、盐水洗涤, MgSO₄ 干燥并浓缩。残余物使用 EtOAc/正己烷通过硅胶层析纯化, 得到白色固体 (1-5)。(1-5) 的数据: ¹HNMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.65 (m, 1H), 7.25 (m, 5H), 7.0 (m, 2H), 3.6 - 3.3 (m, 2H), 2.9 (m, 1H), 2.4 (m, 3H), 2.15 (m, 1H), 0.6 - 0.3 (m, 2H), 0.15 (m, 6H)

ppm。HRMS (ES) $C_{21}H_{24}F_2N_2O_2Si$ (M+H)的计算值 403.1648, 实测值 403.1637。

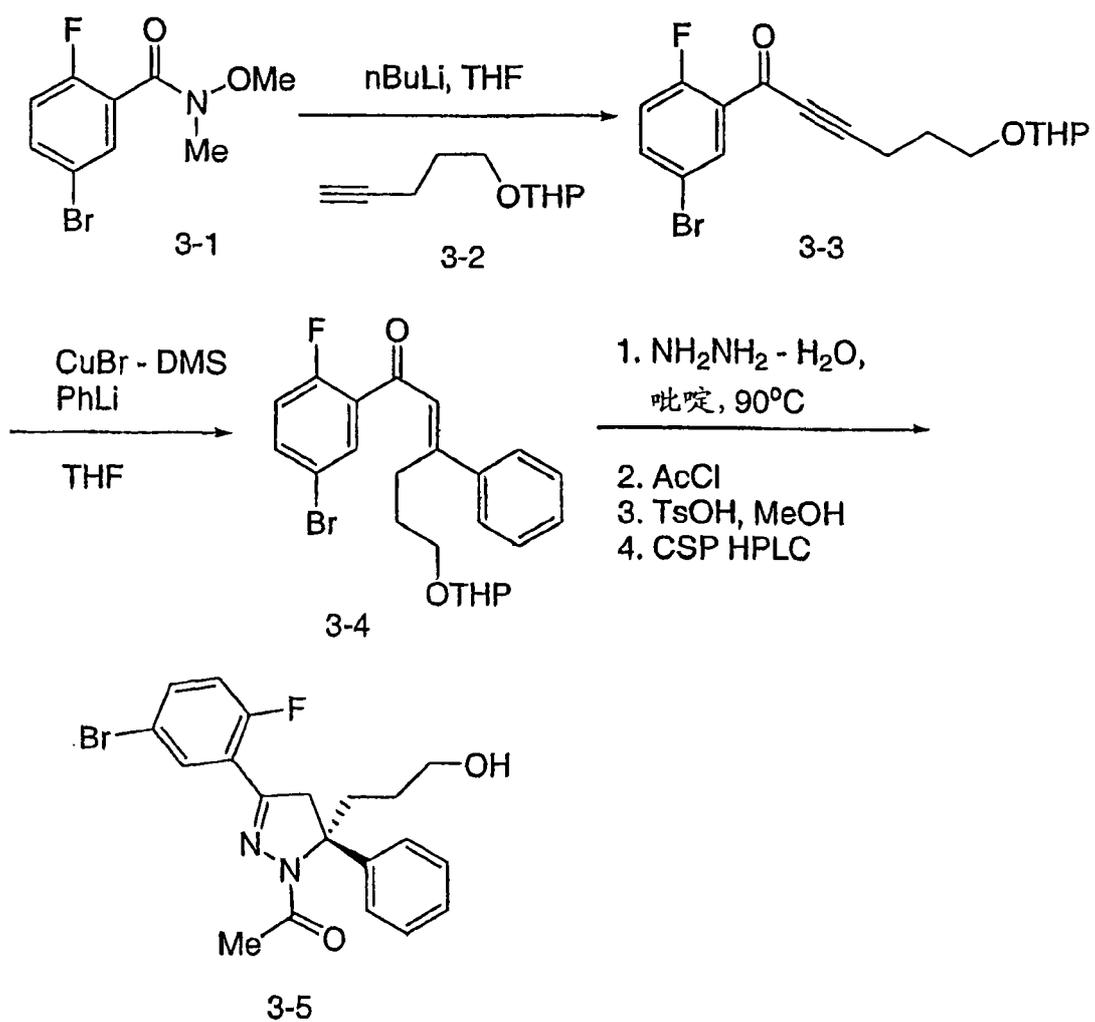
流程 2

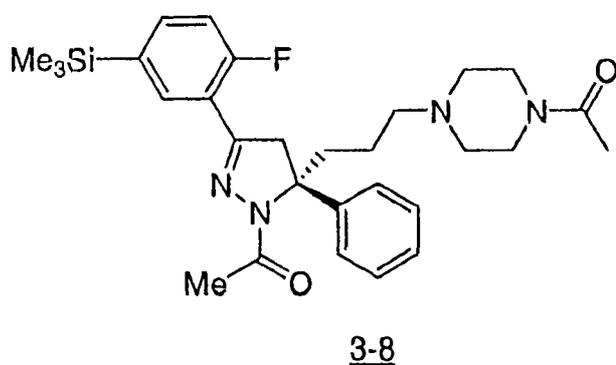
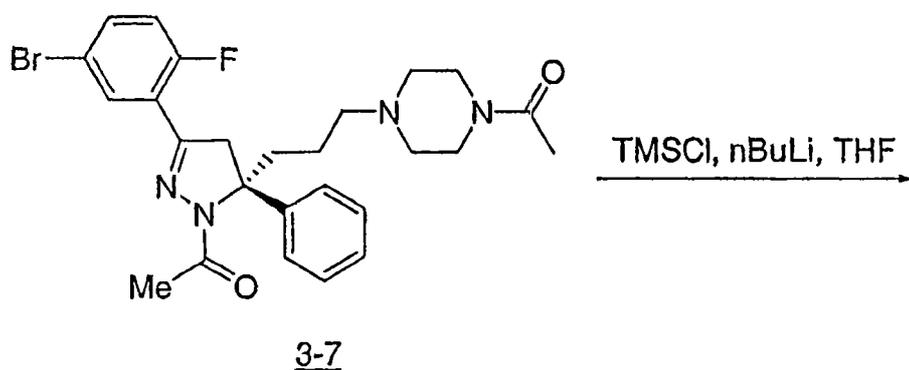
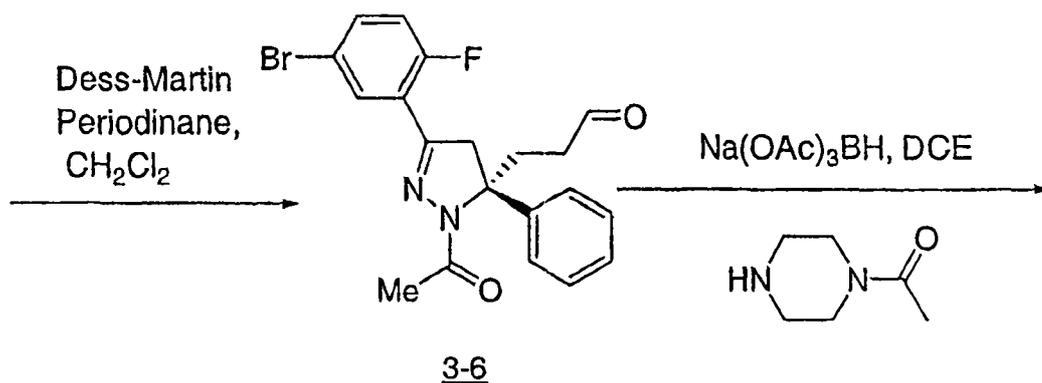


步骤 1: {4-[1-乙酰基-3-(2,5-二氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基]丁基}(二甲基)甲硅烷醇(2-2)

将 33 μL (0.3 mmol) 氯二甲基甲硅烷和 12 mg (0.03 mmol) 六氯铂酸水合物(IV)加到 1 mL 含 50 mg (0.15 mmol) 2-1 [如 1-5 相似的方法制备, 但在步骤 1 中用四氢-2-(3-丁炔氧基)-2H-吡喃开始]的甲苯溶液中。将反应混合物在密封管内加热到 85 $^{\circ}\text{C}$ 持续 18 小时, 然后加入 250 μL 水。继续加热 15 分钟然后冷却到室温, 倒入含有 EtOAc 的分液漏斗, 连续使用水、盐水洗涤, MgSO_4 干燥并浓缩。残余物使用 EtOAc/正己烷通过硅胶层析纯化, 得到白色固体 2-2。2-2 的数据: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.7 (m, 1H), 7.4 (m, 2H), 7.3 (m, 3H), 7.1 (m, 2H), 3.65 - 3.4 (m, 2H), 2.85 (m, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.15 (m, 1H), 1.4 - 1.2 (m, 2H), 0.6 (m, 2H), 0.0 (s, 6H) ppm。HRMS (MALDI) $C_{21}H_{24}F_2N_2O_2Si$ (M+H) 的计算值 417.1805, 实测值 417.1801。

流程 3





步骤 1: 5-溴-2-氟-N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺(3-1)

将 12.0 mL (137 mmol) 草酰氯和 3 滴 DMF 加到 1L 含 20.0 g (91.3 mmol) 5-溴-2-氟苯甲酸的二氯甲烷悬浮液中。搅拌 6 小时后，通过旋转蒸发浓缩反应，将残余物溶于 1L 二氯甲烷，加入 11.6g (119 mmol) 盐酸 N,O-二甲基羟胺和 63.6 mL (456 mmol) 三乙胺，反应搅拌过夜。将反应物倒入含有 1 M HCl 的分液漏斗中，分相，有机相使用 1M NaOH 洗涤，然后用水洗涤，Na₂SO₄ 干燥，浓缩得到无色油状的 **3-1**。
3-1 的数据: LC/MS: rt = 1.76 min; m/z = 262 (M + 1)。

步骤 2: 1-(5-溴-2-氟苯基)-6-(四氢-2H-吡喃-2-基氧基)己-2-炔-1-酮(3-3)

将 19.2 mL (48.3 mmol) 2.5 M 正丁基锂的正己烷溶液于-78℃下加到 150 mL 含 8.1 g (48.3 mmol) THP-炔 3-2 的 THF 溶液中, 3-2 如 *Tetrahedron*, 2001, 57, 2597-2608 所述制备。在该温度下搅拌 1 小时后, 通过注射器加入 30 mL 含 12.0 g (46 mmol) 3-1 的 THF 溶液。将该溶液搅拌过夜, 同时逐渐温热到室温。使用饱和 NH₄Cl 水溶液终止反应, 并使用 EtOAc 萃取。有机相使用盐水洗涤, Na₂SO₄ 干燥, 通过旋转蒸发浓缩, 通过使用 EtOAc/正己烷柱层析纯化, 得到淡棕色油状的 3-3。3-3 的数据: LC/MS: rt = 2.77 min; m/z = 285 (M - THP + H)。

步骤 3: 1-(5-溴-2-氟苯基)-3-苯基-6-(四氢-2H-吡喃-2-基氧基)己-2-烯-1-酮(3-4)

将 45.5 mL (91 mmol) 2M 苯基锂的二丁基醚溶液于-78℃下加到 250mL 含 9.3 g (45.4 mmol)二甲硫醚溴化亚铜的 THF 中。搅拌 1 小时后, 通过插管导入 150 mL 含 14.0 g (38 mmol)炔 3-3 的 THF 溶液。-78℃下反应搅拌 2 小时。使用饱和 NH₄Cl 水溶液终止反应, 并使用 EtOAc 萃取。合并有机相, 使用盐水洗涤, Na₂SO₄ 干燥, 通过旋转蒸发浓缩, 通过使用 EtOAc/正己烷柱层析纯化, 得到黄色油状的 3-4。3-4 的数据: LC/MS: rt = 3.03 & 3.28 min; m/z = 363 (M - THP + H)。

步骤 4: 3-[1-乙酰基-3-(5-溴-2-氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基]丙-1-醇(3-5)的合成

将 1.22 mL (25.2 mmol)水合肼加到 50 mL 含 7.5 g (16.8 mmol) 3-4 的吡啶溶液中, 反应混合加热至 90℃保温 30 分钟。待冷却到室温后, 将反应物置于冰浴中, 滴加 5.96 mL (83.8 mmol)乙酰氯。移去冰浴, 反应室温下搅拌过夜, 倒入含有 EtOAc 和盐水的分液漏斗中。

分相，有机相使用 1 M HCl 洗涤 2 次，使用盐水洗涤 1 次， Na_2SO_4 干燥，通过旋转蒸发浓缩。将残余物重新悬浮于甲苯 2 次，并浓缩共沸去除任何残留的吡啶。将残余物溶于 200 mL 甲醇，加入大约 2 g 对甲苯磺酸。室温下搅拌 2 小时后，通过旋转蒸发去除大部分溶剂，残余物在饱和 NaHCO_3 水溶液和 EtOAc 间分相。分相后，使用 NaHCO_3 再次洗涤有机相，然后使用盐水洗涤， Na_2SO_4 干燥，通过旋转蒸发浓缩。残余物使用 EtOAc/正己烷通过硅胶柱层析纯化，得到白色固体 3-5。消旋 3-5 的数据： ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.15 (m, 1H), 7.4 - 7.2 (m, 6H), 7.0 (m, 1H), 3.8 - 3.7 (m, 2H), 3.6 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 2.9 (m, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.3 (m, 1H), 1.7 - 1.5 (m, 2H) ppm。HRMS (ES) $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{BrEN}_2\text{O}_2$ 的计算值 419.0765，实测值 419.0769。

步骤 4a: 3-[(5S)-1-乙酰基-3-(5-溴-2-氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基]丙醇(3-6)

在 Chiralcel OJ 5 cm x 50 cm 柱上进行 3-5 对映体的拆分，使用 100% MeOH 以 50 mL/min 流速洗脱。分析条件：Chiralcel OJ 4.6 x 250mm 柱，使用 100% MeOH 以 1.0 mL/min 流速洗脱，保留时间 4.73 分钟(不希望的)和 6.0 分钟(希望的)。

步骤 5: 3-[(5S)-1-乙酰基-3-(5-溴-2-氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基]丙醛(3-6)

N_2 下将 218 mg (0.515 mmol) Dess-Martin Periodinane 加到 2.0 mL 含 180 mg (0.429 mmol) 3-5 的 DCM 溶液中。搅拌 30 分钟后，通过缓慢加入饱和 Na_2SO_3 水溶液之后加入饱和 NaHCO_3 水溶液终止反应。将混合物搅拌 15 分钟，倒入 EtOAc 中并分相。有机相使用饱和 Na_2SO_3 - 饱和 NaHCO_3 溶液(1:1)、水、盐水洗涤，然后使用 Na_2SO_4 干燥，浓缩得到白色粉末 3-6。

3-6 的数据： ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 9.82 (m, 1H), 8.08 (m, 1H), 7.48 (m, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.27 (m, 3H), 6.99 (m, 1H), 3.49 (m, 2H),

3.16 (m, 1H), 2.60 (m, 1H), 2.50 (m, 1H), 2.45 (s, 3H) ppm。LC-MS: rt = 3.06 min; m/z = 417 (M + 1)。

步骤 6: 1-乙酰基-4-{3-[(5S)-1-乙酰基-3-(5-溴-2-氟苯基)-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基]丙基}哌嗪(3-7)

Ar 下向 1.0 mL 含 57 mg (0.137 mmol) 3-6 的无水 DCE 溶液中加入 26.3 mg (0.206 mmol) 1-乙酰基哌嗪, 随后加入 58.1 mg (0.274 mmol) 三乙酰氧基硼氢化钠。将混合物搅拌过夜, 使用饱和 NaHCO₃ 水溶液并添加少量 DCM 终止反应。使用 DCM 再次萃取水相, 将有机相直接装载于硅胶柱, 使用正己烷、EtOAc 和 EtOH-NH₄OH-H₂O (20:1:1) 的混合物进行快速层析, 得到白色固体 3-7。

3-7 的数据: ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (m, 1H), 7.47 (m, 1H), 7.33 (m, 2H), 7.24 (m, 3H), 6.99 (m, 1H), 3.59 (m, 3H), 3.44 (m, 3H), 2.87 (m, 1H), 2.46-2.36 (m, 9H), 2.18 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.49 (m, 2H) ppm。LC-MS: rt = 2.10 min, m/z = 529 (M + 1)。HRMS (ES) C₂₆H₃₀BrFN₄O₂ (M + H) 的计算值 529.1609, 实测值 529.1632。

步骤 7: 1-乙酰基-4-(3-{(5S)-1-乙酰基-3-[2-氟-5-(三甲基甲硅烷基)苯基]-5-苯基-4,5-二氢-1H-吡唑-5-基}丙基}哌嗪(3-8)

-78°C 下向 0.75 mL 含 53 mg (0.100 mmol) 3-7 的无水 THF 溶液中滴加 60 μL (0.150 mmol) 2.5 M 正丁基锂的正己烷溶液。随后立即加入 51 μL (0.400 mmol) 氯三甲基甲硅烷, 除去冷却浴, 将反应物温热到室温。30 分钟后使用饱和 NH₄Cl 水溶液终止反应, 在 EtOAc 和饱和 NaHCO₃ 水溶液之间分配。使用水、盐水洗涤有机相, 使用 Na₂SO₄ 干燥, 浓缩。使用 CH₃CN/H₂O (具有 0.1% TFA) 通过反相制备型 HPLC 纯化残余物。将含有目的产物的级分倒入饱和 NaHCO₃ 水溶液中, 使用 EtOAc 萃取, 浓缩得到澄清、无色油状的游离碱(3-8)。

(3-8) 的数据: ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (m, 1H), 7.52 (m, 1H), 7.35-7.22 (m, 5H), 7.08 (m, 1H), 3.61 (m, 3H), 3.47 (m, 3H), 2.88 (m, 1H),

2.48-2.38 (m, 9H), 2.19 (m, 1H), 2.07 (s, 3H), 1.52 (m, 2H), 0.30 (s, 9H) ppm。 LC-MS: rt = 2.11 min, m/z = 523.2 (M + 1)。 HRMS (ES) $C_{29}H_{39}FN_4O_2Si$ (M + H)的计算值 523.2899, 实测值 523.2865。

<110> Merck & Co., Inc.
Coleman, Paul J.
Cox, Christopher D.
Hartman, George D.

<120> 有丝分裂驱动蛋白抑制剂

<130> 21833

<160> 2

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成核苷酸序列

<400> 1

gcaacgatta atatggcgtc gcagccaaat tcgtctgca ag 42

<210> 2

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成核苷酸序列

<400> 2

gcaacgctcg agtcagtgat gatggtggtg atgctgattc acttcaggct tattcaatat 60