



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112004541 A

(43) 申请公布日 2020.11.27

(21) 申请号 201980018034.4

(22) 申请日 2019.03.08

(30) 优先权数据

62/641,003 2018.03.09 US

62/700,548 2018.07.19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.09.08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/021300 2019.03.08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/173682 EN 2019.09.12

(71) 申请人 艾库斯生物科学有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·C·哈恩 J·L·杰弗里

金莉霞 J·卡利夏克

K·V·劳森 M·R·莱莱蒂

J·J·卡拉昆内尔

J·P·帕沃尔斯

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266

代理人 贾军华 徐迅

(51) Int. Cl.

A61K 31/70 (2006.01)

C07H 19/23 (2006.01)

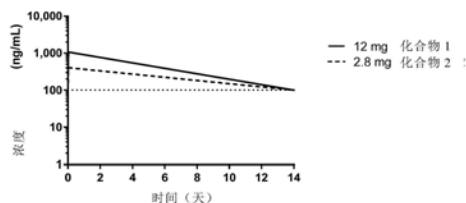
权利要求书18页 说明书108页 附图1页

(54) 发明名称

肠道外给药的免疫增强药物

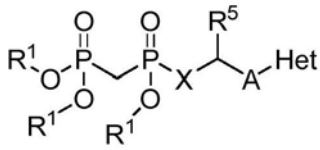
(57) 摘要

本文描述了鉴定通过胞外5'-核苷酸酶调节AMP向腺苷转化的化合物并具有特定药代动力学特征的化合物的方法。还提供了此类化合物以及包含该化合物的组合物用于治疗 and/或预防多种疾病、病症和病况(包括与癌症和免疫有关的病症)的方法。



静脉内给药(恒定输注1小时)化合物1和化合物2后,预测的浓度-时间曲线

1. 一种在有需要的受试者中治疗至少部分地由CD73介导的疾病、病症或病况的方法，所述方法包括以至少每周的间隔肠胃外施用治疗有效量的具有下式的化合物、或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物：



其中，

各R¹独立地选自下组：氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的芳基和-C(R²R²)-OC(O)-OR³，或两个R¹基团任选地结合以形成5至7元环；

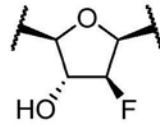
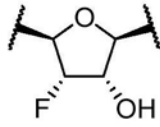
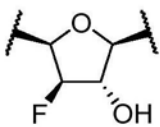
各R²独立地选自下组：H和任选取代的C₁-C₆烷基；

各R³独立地选自下组：H、C₁-C₆烷基和任选取代的芳基；

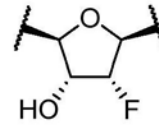
R⁵选自下组：H和任选取代的C₁-C₆烷基；

X为O；

A选自下组：

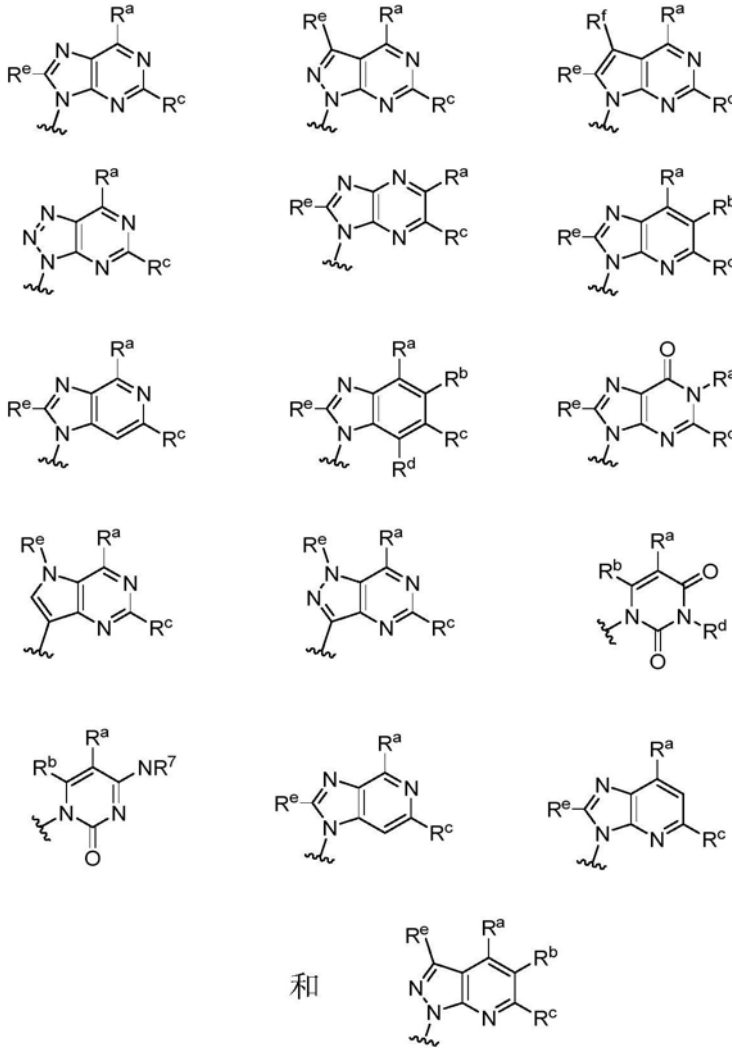


和



和

Het选自下组：



其中,波浪线表示与化合物其余部分的连接点,并且其中:

R^a 选自下组:H、 NH_2 、 NHR^7 、 NHC(O)R^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 SR^7 和 OR^7 ;

R^b 选自下组:H、卤素、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH和 OR^7 ;

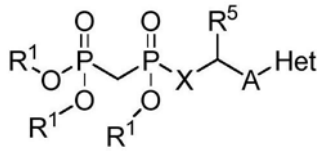
R^c 和 R^d 独立地选自下组:H、卤素、卤代烷基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 OR^7 、 SR^7 、 SO_2R^7 、 $-\text{X}^1-\text{NH}_2$ 、 $-\text{X}^1-\text{NR}^7\text{R}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{OH}$ 、 $-\text{X}^1-\text{OR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{SR}^7$ 和 $-\text{X}^1-\text{SO}_2\text{R}^7$;

R^e 和 R^f 独立地选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1-C_6 烷基;

各 X^1 为 C_1-C_4 亚烷基;和

各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1-C_{10} 烷基、任选取代的 C_2-C_{10} 烯基、任选取代的 C_2-C_{10} 炔基、任选取代的 C_3-C_7 环烷基、任选取代的 C_3-C_7 环烷基 C_1-C_4 烷基、任选取代的4-7元环杂烷基、任选取代的4-7元环杂烷基 C_1-C_4 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基 C_1-C_4 烷基、任选取代的芳基 C_2-C_4 烯基、任选取代的芳基 C_2-C_4 炔基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基 C_1-C_4 烷基、任选取代的杂芳基 C_1-C_4 烯基和任选取代的杂芳基 C_2-C_4 炔基;和任选地,连接在氮原子上的两个 R^7 基团连接在一起形成4至7元杂环,其任选地与芳环稠合。

2. 一种在有需要的受试者中治疗至少部分地由CD73介导的疾病、病症或病况的方法,所述方法包括以至少每周的间隔肠胃外施用治疗有效量的具有下式的化合物、或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物:



其中，

各 R^1 独立地选自下组：氢、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的芳基和 $-C(R^2R^2)-OC(O)-OR^3$ ，或两个 R^1 基团任选地结合以形成5至7元环；

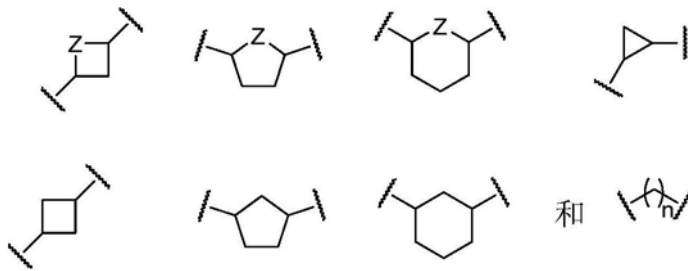
各 R^2 独立地选自下组：H和任选取代的 C_1 - C_6 烷基；

各 R^3 独立地选自下组：H、 C_1 - C_6 烷基和任选取代的芳基；

R^5 选自下组：H和任选取代的 C_1 - C_6 烷基；

X选自下组：O、 CH_2 和S；

A选自下组：

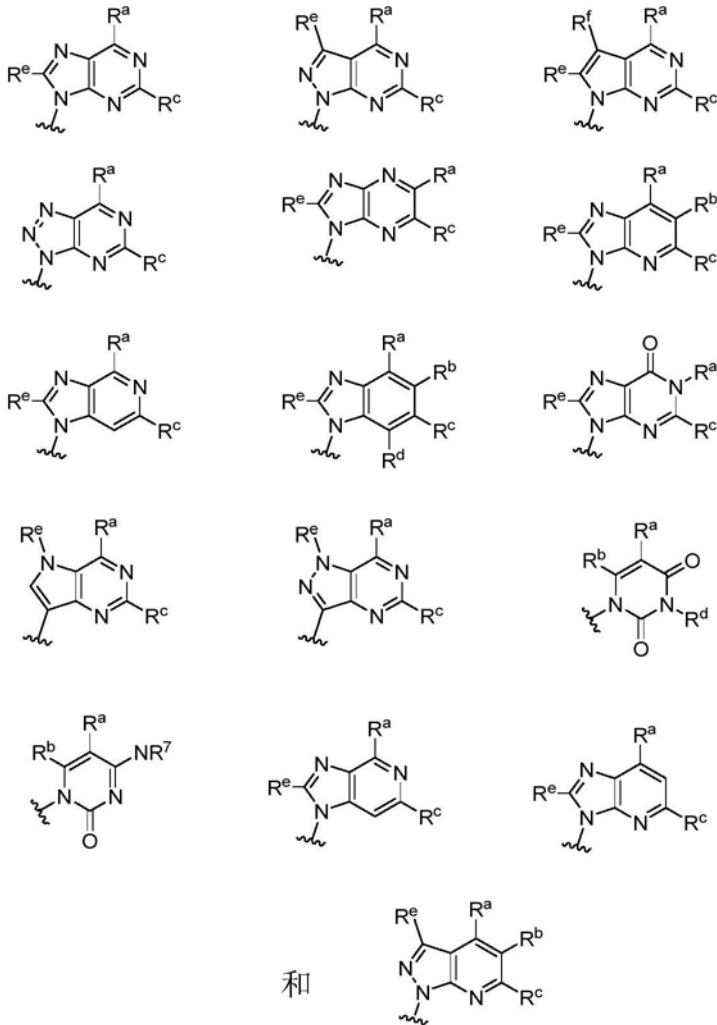


其中的每一个各自任选被1至5个 R^6 取代基取代，并且其中，下标n是0至3的整数；

Z选自下组： CH_2 、 CHR^6 、 NR^6 和O；

各 R^6 独立地选自下组：H、 CH_3 、OH、CN、F、任选取代的 C_1 - C_6 烷基和 $OC(O)-C_1-C_6$ 烷基；和任选地，相邻环顶点上的两个 R^6 基团任选地连接在一起形成具有至少一个杂原子作为环顶点的5至6元环；和

Het选自下组：



其中,波浪线表示与化合物其余部分的连接点,并且其中:

R^a 选自下组:H、 NH_2 、 NHR^7 、 NHC(O)R^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、 OH 、 SR^7 和 OR^7 ;

R^b 选自下组:H、卤素、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、 OH 和 OR^7 ;

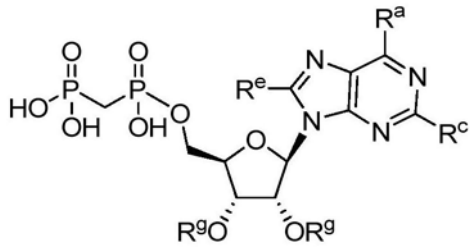
R^c 和 R^d 独立地选自下组:H、卤素、卤代烷基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、 OH 、 OR^7 、 SR^7 、 SO_2R^7 、 $-\text{X}^1-\text{NH}_2$ 、 $-\text{X}^1-\text{NR}^7\text{R}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{OH}$ 、 $-\text{X}^1-\text{OR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{SR}^7$ 和 $-\text{X}^1-\text{SO}_2\text{R}^7$;

R^e 和 R^f 独立地选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1-C_6 烷基;

各 X^1 为 C_1-C_4 亚烷基;和

各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1-C_{10} 烷基、任选取代的 C_2-C_{10} 烯基、任选取代的 C_2-C_{10} 炔基、任选取代的 C_3-C_7 环烷基、任选取代的 C_3-C_7 环烷基 C_1-C_4 烷基、任选取代的4-7元环杂烷基、任选取代的4-7元环杂烷基 C_1-C_4 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基 C_1-C_4 烷基、任选取代的芳基 C_2-C_4 烯基、任选取代的芳基 C_2-C_4 炔基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基 C_1-C_4 烷基、任选取代的杂芳基 C_1-C_4 烯基和任选取代的杂芳基 C_2-C_4 炔基;和任选地,连接在氮原子上的两个 R^7 基团连接在一起形成4至7元杂环,其任选地与芳环稠合;

限定条件是:所述化合物不是其中X、A和Het组合形成下式的那些化合物



其中, R^g 为 H 或两个 R^g 基团结合形成缩丙酮; 以及

(i) R^c 和 R^e 为氢, 和 R^a 为 $-OEt$ 、 $-OCH_2Ph$ 、 $-SCH_2Ph$ 、 $-NH_2$ 、甲胺基、乙胺基、二甲胺基、二乙胺基、N-甲基-N-乙胺基、苯胺基、苄基胺基、1-苯基乙基胺基、2-苯基乙基胺基、N-苄基-N-乙基胺基、N-苄基-N-甲基胺基、二苄基胺基、4-氨基苄基胺基、2-氯苄基胺基、3-氯苄基胺基、4-氯苄基胺基、4-羟基苄基胺基、4-甲氧基苄基胺基、4-硝基苄基胺基或 4-氨基磺酰基苄基胺基; 或

(ii) R^c 为氢, R^a 为 $-NH_2$, R^e 为溴、氯、氨基或硫代乙基; 或

(iii) R^c 为氢, R^a 为苄胺基, R^e 为溴; 或

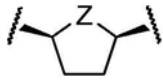
(iv) R^c 为氨基, R^e 为氢, 且 R^a 为 $-NH_2$ 、二甲基胺基、二乙基胺基、苄基胺基或 N-苄基-N-甲基胺基; 或

(v) R^c 为氯, R^e 为氢, 且 R^a 为 $-NH_2$ 、苄胺基、2-氯苄胺基、1-苯基乙基胺基、(S)-1-苯基乙基胺基、(R)-1-苯乙基胺基或 N-苄基-N-甲基胺基; 或

(vi) R^c 为碘, R^e 为氢, 且 R^a 为 $-NH_2$ 、苄胺基或 N-苄基-N-甲基胺基; 或

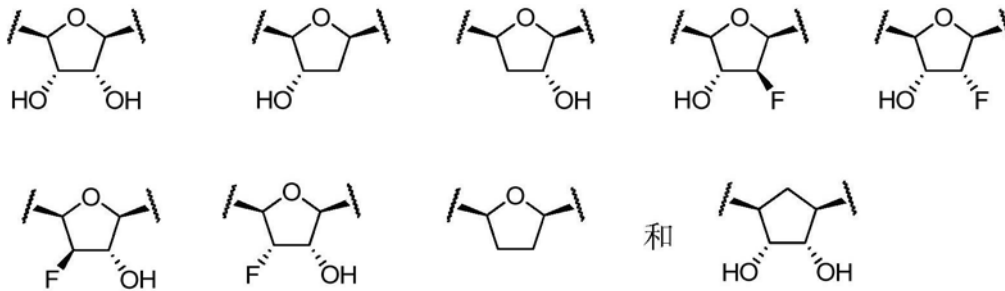
(vii) R^a 为氨基, R^e 为氢, 且 R^c 为哌嗪基、硫代烯丙基或环己基乙硫基。

3. 如权利要求 2 所述的方法, 其特征在于, A 为:



其任选地被 1 至 5 个 R^6 取代。

4. 如权利要求 3 所述的方法, 其特征在于, A 选自下组:

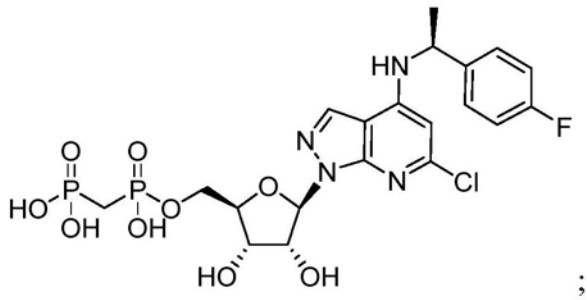
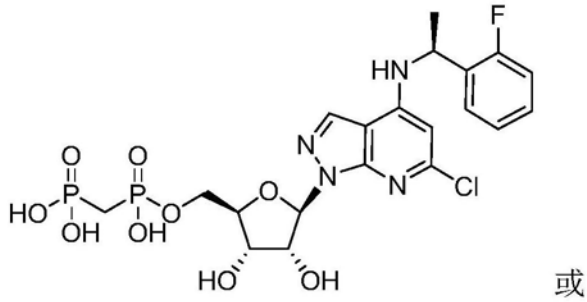


5. 如权利要求 4 所述的方法, 其特征在于, Het 具有下式:



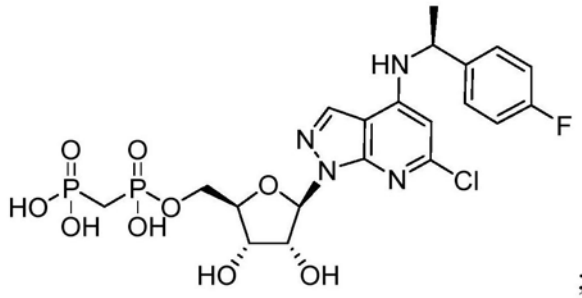
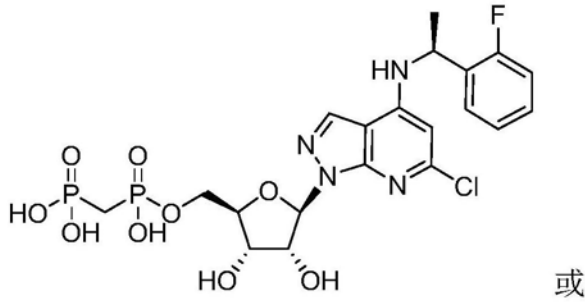
6. 如权利要求 2 的方法, 其特征在于, 所述化合物选自表 1 的化合物。

7. 如权利要求 2 的方法, 其特征在于, 所述化合物为:



或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其特征在于,所述肠胃外给药为静脉内给药。
9. 如权利要求8所述的方法,其特征在于,所述静脉内输注为约0.1至约2小时。
10. 如权利要求9所述的方法,其特征在于,所述静脉内输注为约0.2至约1小时。
11. 如权利要求10所述的方法,其特征在于,所述静脉内输注为约0.2至约0.5小时。
12. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其特征在于,所述肠胃外给药为皮下给药。
13. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其特征在于,所述肠胃外给药为肌肉内给药。
14. 如权利要求8、12或13中任一项所述的方法,其特征在于,所述化合物以一次或多次团注给药。
15. 如权利要求14所述的方法,其特征在于,所述化合物以两次或更多次团注给药。
16. 如权利要求8至15中任一项所述的方法,其特征在于,所述间隔是至少每两周。
17. 如权利要求8至16中任一项所述的方法,其特征在于,所述间隔是至少每三周。
18. 如权利要求8至17中任一项所述的方法,其特征在于,所述间隔是至少每四周。
19. 一种在有需要的受试者中治疗至少部分地由CD73介导的疾病、病症或病况的方法,所述方法包括以至少每周的间隔肠胃外施用治疗有效量的



或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。

20. 如权利要求19所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少90ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 7天或更长时间。

21. 如权利要求20所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少95ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 7天或更长时间。

22. 如权利要求21所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少100ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 7天或更长时间。

23. 如权利要求19所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少90ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 14天或更长时间。

24. 如权利要求23所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少95ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 14天或更长时间。

25. 如权利要求24所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少100ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 14天或更长时间。

26. 如权利要求19所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少90ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 21天或更长时间。

27. 如权利要求26所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少95ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 21天或更长时间。

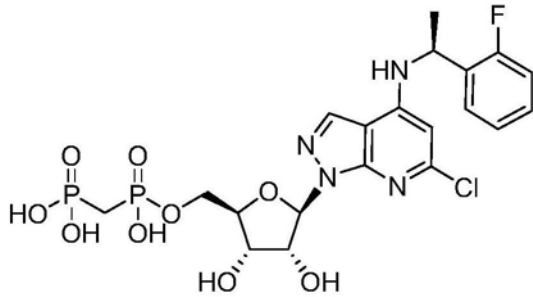
28. 如权利要求27所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少100ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 21天或更长时间。

29. 如权利要求19所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少90ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 28天或更长时间。

30. 如权利要求29所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少95ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 28天或更长时间。

31. 如权利要求30所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量维持至少100ng/mL的血浆浓度(C_{ss}) 28天或更长时间。

32. 如权利要求19至31中任一项的方法,其特征在于,

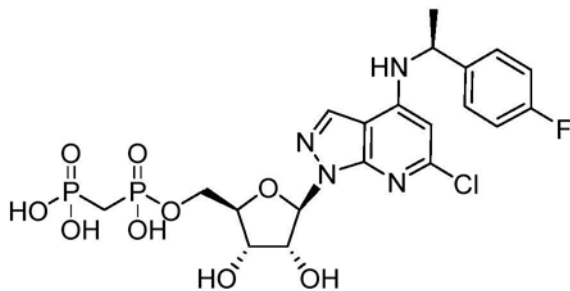


的治疗有效量为约10mg至约100mg之间。

33. 如权利要求19至31中任一项所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量为至少10mg。

34. 如权利要求33所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量为至少25mg。

35. 如权利要求19至31中任一项所述的方法,其特征在于,



的治疗有效量为约4mg至约40mg之间。

36. 如权利要求19至31中任一项所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量为至少4mg。

37. 如权利要求36所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量为至少10mg。

38. 如权利要求1至37中任一项所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量逆转、停止或延迟CD73介导的免疫抑制的进展。

39. 如权利要求1至38中任一项所述的方法,其特征在于,所述疾病、病症或病状为癌症。

40. 如权利要求39所述的方法,其特征在于,所述癌症为前列腺癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、宫颈癌、胃癌、子宫内膜癌、脑癌、肝癌、膀胱癌、卵巢癌、睾丸癌、头癌、颈部、皮肤癌(包括黑色素瘤和基底细胞癌)、间皮内膜癌、白血球癌(包括淋巴瘤和白血病)、食道癌、乳腺癌、肌癌、结缔组织癌、肺癌(包括小细胞肺癌和非小细胞肺癌)、肾上腺癌、甲状腺癌、肾癌或骨癌;或为成胶质细胞瘤、间皮瘤、肾细胞癌、胃癌、肉瘤(包括卡波济氏肉瘤)、绒毛膜癌、皮肤基底细胞癌和睾丸精原细胞瘤。

41. 如权利要求39所述的方法,其特征在于,所述癌症选自下组:黑素瘤、结肠直肠癌、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、白血病、脑瘤、淋巴瘤、卵巢癌、卡波济氏肉瘤、肾细胞癌、头颈癌和食道癌。

42. 如权利要求1至38中任一项所述的方法,其特征在于,所述疾病、病症或病状为选自下组的免疫相关的疾病、病症或病状:类风湿性关节炎、肾衰竭、狼疮、哮喘、银屑病、结肠炎、胰腺炎、过敏、纤维化、贫血性纤维肌痛、阿尔茨海默氏病、充血性心力衰竭、中风、主动脉瓣狭窄、动脉硬化、骨质疏松症、帕金森氏病、感染、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、过敏性接触性皮炎和其他湿疹、系统性硬化和多发性硬化症。

43. 如权利要求1至42中任一项所述的方法,其进一步包括施用至少一种另外的治疗

剂。

44. 如权利要求43所述的方法,其特征在于,所述至少一种另外的治疗剂为化学治疗剂、免疫和/或炎症调节剂,或放射剂。

45. 如权利要求44所述的方法,其特征在于,所述至少一种另外的治疗剂为免疫检查点抑制剂。

46. 如权利要求45所述的方法,其特征在于,所述免疫检查点抑制剂调节PD1;PDL1;PDL2;BTLA;CTLA4;TIM3;LAG3;TIGIT和杀伤细胞抑制性受体中至少一种的活性。

47. 如权利要求46所述的方法,其特征在于,所述免疫检查点抑制剂调节PD1的活性。

48. 如权利要求46所述的方法,其特征在于,所述免疫检查点抑制剂调节PDL1或PDL2的活性。

49. 如权利要求47或48所述的方法,其特征在于,所述免疫检查点抑制剂选自下组:伊匹单抗(ipilimumab)、纳武单抗、帕博利珠单抗、派姆单抗、阿维鲁单抗、阿特朱单抗和度伐单抗。

50. 如权利要求44至49中任一项所述的方法,其特征在于,所述组合是肠胃外给药的。

51. 如权利要求50所述的方法,其特征在于,肠胃外给药选自下组:静脉内、皮下和肌内给药。

52. 如权利要求50或51所述的方法,其特征在于,所述组合同时或顺序地给药。

53. 如权利要求52所述的方法,其特征在于,所述组合以相同的施用频次给药。

54. 如权利要求47至53中任一项所述的方法,其还包括调节TIGIT活性的另外的治疗剂。

55. 如权利要求54所述的方法,其特征在于,所述另外的治疗剂通过活化其配体来调节TIGIT的活性。

56. 如权利要求54或55所述的方法,其特征在于,所述组合是肠胃外给药的。

57. 如权利要求56所述的方法,其特征在于,肠胃外给药选自下组:静脉内、皮下和肌内给药。

58. 如权利要求56或57所述的方法,其特征在于,所述组合同时或顺序地给药。

59. 如权利要求58所述的方法,其特征在于,所述组合以相同的施用频率给药。

60. 如权利要求47至59中任一项所述的方法,其还包括化学治疗剂。

61. 如权利要求60所述的方法,其特征在于,所述化学治疗剂包括铂基或蒽环类化学治疗剂。

62. 如权利要求60或61所述的方法,其特征在于,所述组合是肠胃外施用的。

63. 如权利要求62所述的方法,其特征在于,肠胃外给药选自下组:静脉内、皮下和肌内给药。

64. 如权利要求62或63所述的方法,其特征在于,所述组合为同时或顺序地给药。

65. 如权利要求64所述的方法,其特征在于,所述组合以相同的施用频率给药。

66. 如权利要求47至65中任一项所述的方法,还包括放射剂。

67. 如权利要求66所述的方法,其特征在于,所述组合是肠胃外给药的。

68. 如权利要求67所述的方法,其特征在于,肠胃外给药选自下组:静脉内、皮下和肌内给药。

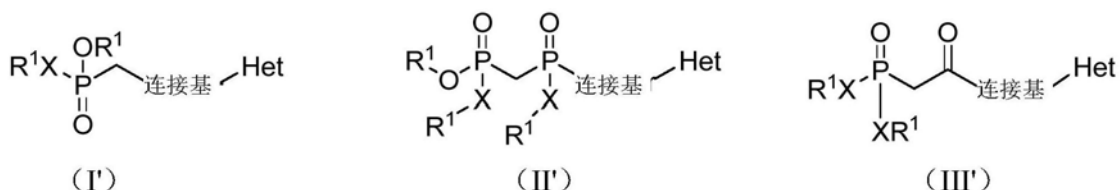
69. 如权利要求67或68所述的方法,其特征在于,所述组合同时或相继给药。

70. 如权利要求69所述的方法,其特征在于,所述组合以相同的给药频次给药。

71. 一种试剂盒,其包含如权利要求1至70中任一项所述的方法的化合物或其药学上可接受的盐,以及至少一种另外的治疗剂。

72. 如权利要求71所述的试剂盒,其进一步包括使用说明书。

73. 一种用于治疗CD73介导的疾病或病况的方法,所述方法包括以4天至4周的给药间隔向需要的受试者施用长效CD73抑制剂,其中,所述CD73抑制剂为式(I')、(II')或(III')的化合物:



或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中,

各 R^1 独立地选自下组:氢、任取代的 C_1 - C_6 烷基、任取代的芳基、 $-\text{C}(\text{R}^2\text{R}^2)-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^3$ 、 $-\text{C}(\text{R}^2\text{R}^2)-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}^3$ 和 $-\text{C}(\text{R}^2\text{R}^2)\text{C}(\text{O})\text{OR}^3$,或两个 R^1 基团结合形成5至6元环;

各 R^2 独立地选自下组:H、氘和任取代的 C_1 - C_6 烷基;

各 R^3 独立地选自下组:H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基 C_1 - C_6 烷基和任取代的芳基;

各X独立地选自下组:O、NH和S;

Het为6,5-或6,6-稠合的杂芳基环系统,且为取代或未取代的;和

各连接基独立地为非环基团、环状基团,或非环与环状的组合的基团,其将Het连接至式(I')、(II')或(III')中的每一个中指定的原子,并在连接的基团之间提供2至10个原子的间距;

其中,所述化合物具有至少三个选自下组的特征:

(i) 在Caco-2细胞中的渗透率 $<6 \times 10^{-6}$ cm/秒;

(ii) $>98\%$ 的人血浆蛋白结合;

(iii) 在人类肝细胞存在下的高稳定性,表示为 $\text{CL}_{\text{INT}} < 10 \text{uL}/\text{min}/\text{百万细胞}$;

(iv) 拓扑极性表面积 $>160 \text{ \AA}^2$;

(v) $\text{cLogD} < -3$;

(vi) $\text{cLogP} < 1$;

(vii) 10至24个H键供体/受体;

(viii) 在水或盐水中的溶解度大于 $10 \text{mg}/\text{mL}$;和

(ix) CD73抑制效力小于 10nM 。

74. 如权利要求73所述的方法,其特征在于,所述化合物具有选自(i)至(ix)的至少四个特征。

75. 如权利要求73所述的方法,其特征在于,所述化合物具有选自(i)至(ix)的至少六个特征。

76. 如权利要求73所述的方法,其特征在于,所述化合物具有选自(i)至(ix)的至少八个特征。

77. 如权利要求73所述的方法,其特征在于,所述化合物具有选自(i)至(viii)的至少

四个特征,和小于1nM的CD73抑制效力。

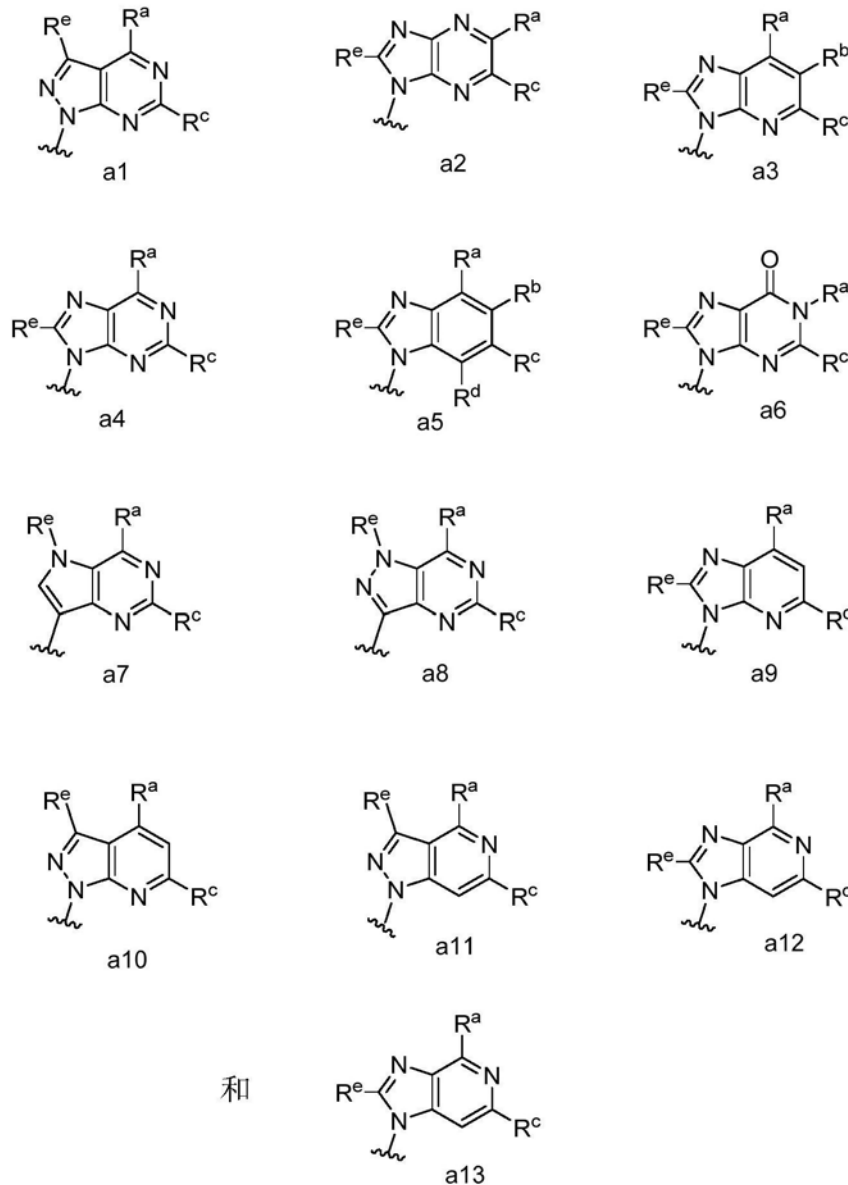
78.如权利要求73所述的方法,其特征在于,所述化合物具有选自(i)至(viii)的至少四个特征,和小于0.1nMCD73抑制效力。

79.如权利要求73至78中任一项所述的方法,其特征在于,所述化合物具有式(I')。

80.如权利要求73至78中任一项所述的方法,其特征在于,所述化合物具有式(II')。

81.如权利要求73至78中任一项所述的方法,其特征在于,所述化合物具有式(III')。

82.如权利要求79至81中任一项所述的方法,其特征在于,Het选自下组:



其中,波浪线表示至连接基的连接点,和其中:

R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 各自独立地选自下组:H、氘、卤素、卤代烷基、氰基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 NHC(O) 、 R^7 、 OH 、 OR^7 、 SR^7 、 SO_2R^7 、 $-\text{X}^1-\text{NH}_2$ 、 $-\text{X}^1-\text{NHR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{NR}^7\text{R}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{OH}$ 、 $-\text{X}^1-\text{OR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{SR}^7$ 和 $-\text{X}^1-\text{SO}_2\text{R}^7$;

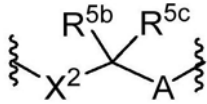
R^e 选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1 - C_6 烷基;

各 X^1 为 C_1 - C_4 亚烷基;和

各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的4-7元环杂烷

基、任选取代的4-7元环杂烷基C₁-C₄烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基C₁-C₄烷基、任选取代的芳基C₂-C₄烯基、任选取代的芳基C₂-C₄炔基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基C₁-C₄烷基、任选取代的杂芳基C₂-C₄烯基和任选取代的杂芳基C₂-C₄炔基；和任选地，连接在氮原子上的两个R⁷基团连接在一起形成4至7元杂环，其任选地与芳环稠合。

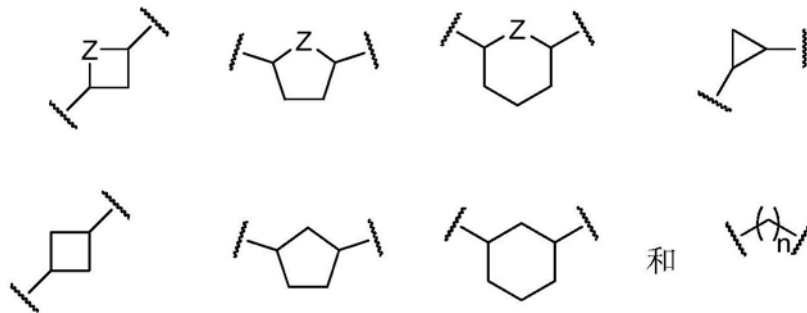
83. 如权利要求79至81中任一项的方法，其特征在于，连接基具有下式：



其中

X²选自下组：O、S和N(R^{5a})；

A选自下组：



其中的每一个任选被1至5个R⁶取代基取代，并且其中，下标n是0至3的整数；

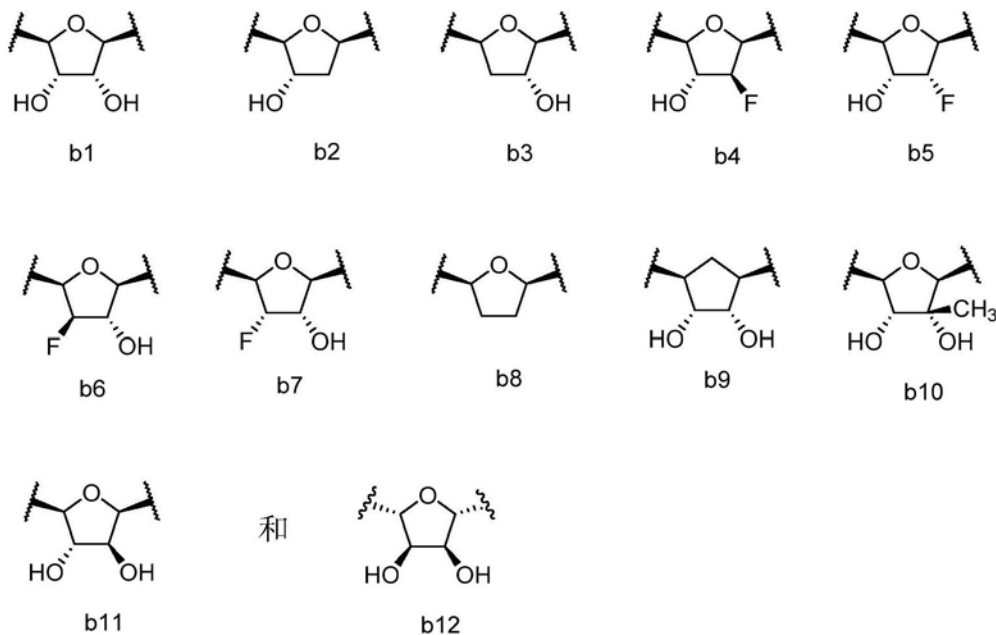
R^{5a}、R^{5b}和R^{5c}独立地选自下组：H、氘、任选取代的C₁-C₆烷基、-C(O)OR³、C₃-C₆环烷基(C₁-C₆)烷基、芳基(C₁-C₆)烷基、C₃-C₆环烷基和芳基；

Z选自下组：NH、NR⁶和O；

各R⁶独立地选自下组：氘、CH₃、OR⁸、CN、F和任选取代的C₁-C₆烷基；或相邻环顶点上的两个R⁶基团任选地连接在一起形成具有至少一个杂原子作为环顶点的5至6元环；和

各R⁸独立地选自下组：H和-C(O)-C₁-C₆烷基。

84. 如权利要求83所述的方法，其特征在于，A选自下组：



85. 如权利要求73至84中任一项的方法,其特征在于,给药方式为肠胃外。
86. 如权利要求85所述的方法,其特征在于,给药方式是通过静脉内注射、肌肉注射或皮下注射。
87. 如权利要求86所述的方法,其特征在于,使用1分钟至6小时的输注时间。
88. 如权利要求86所述的方法,其特征在于,使用5分钟至4小时的输注时间。
89. 如权利要求86所述的方法,其特征在于,使用5分钟至2小时的输注时间。
90. 如权利要求86所述的方法,其特征在于,使用10分钟至1小时的输注时间。
91. 如权利要求86所述的方法,其特征在于,使用大约30分钟的输注时间。
92. 如权利要求86至91中任一项所述的方法,其特征在于,所述给药以一次或多次团注给药。
93. 如权利要求86至92中任一项所述的方法,其特征在于,所述给药间隔是每1周。
94. 如权利要求86至92中任一项所述的方法,其特征在于,所述给药间隔是每2周。
95. 如权利要求86至92中任一项所述的方法,其特征在于,所述给药间隔是每3周。
96. 如权利要求86至92中任一项所述的方法,其特征在于,所述给药间隔是每4周。
97. 如权利要求86至92中任一项所述的方法,其特征在于,所述给药间隔为一至三周。
98. 如权利要求73至97中任一项所述的方法,其进一步包括施用至少一种另外的治疗剂。
99. 如权利要求98所述的方法,其特征在于,所述至少一种另外的治疗剂为化学治疗剂、免疫调节剂或放射剂。
100. 如权利要求99所述的方法,其特征在于,所述免疫调节剂为免疫检查点抑制剂。
101. 如权利要求100所述的方法,其特征在于,所述免疫检查点抑制剂和长效CD73抑制剂以相同的给药频次给药。
102. 一种鉴定CD73的长半衰期抑制剂的方法,所述方法包括选择抑制CD73效力小于10nM的CD73候选抑制剂,并在三种或更多种筛选中评估所述候选抑制剂,所述筛选选自:
- (i) Caco-2细胞渗透性测定,其中,进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $<6 \times 10^{-6} \text{cm/s}$;
 - (ii) 人血浆蛋白结合测定,其中,进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $>98\%$;
 - (iii) 在水或盐水中的溶解度评估,其中,进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $>10 \text{mg/mL}$;
 - (iv) 确定候选抑制剂的拓扑极性表面积,其中进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $>160 \text{\AA}^2$;
 - (v) 确定候选抑制剂的cLogD,其中,进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 <-3 ;
 - (vi) 确定候选抑制剂的cLogP,其中,进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 <1 ;
 - (vii) 确定候选抑制剂的H键供体/受体数目,其中,进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 ≥ 10 ;
 - (viii) 确定人肝细胞中候选抑制剂的稳定性,其中,进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $\text{CL}_{\text{INT}} < 10 \text{uL/min/百万细胞}$;和
 - (ix) 鉴定候选抑制剂上的任何酸性部分,其中,进一步考虑所述抑制剂的酸性部分的阈值数目是至少一个酸性部分 $\text{pKa} < 3$;
- 以鉴定具有(i)至(ix)三个或以上阈值的任何候选CD73抑制剂作为CD73的长半衰期抑

制剂。

103. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述候选抑制剂具有小于1nM的CD73抑制效力。

104. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述候选抑制剂具有小于0.1nM的CD73抑制效力。

105. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述候选抑制剂具有小于1nM的CD73抑制效力, 并且所述评估包括至少五种所述筛选。

106. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述候选抑制剂具有小于1nM的CD73抑制效力, 并且所述评估包括至少七种所述筛选。

107. 一种治疗CD73介导的疾病或病况的方法, 所述方法包括向有需要的受试者施用由权利要求102至106中任一项所述的方法鉴定的长效CD73抑制剂。

108. 如权利要求102至106中任一项所述的方法, 其特征在于, 使用CD73结合测定法鉴定所述CD73抑制效力。

109. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述CD73的长半衰期抑制剂具有选自(i)至(ix)中的至少四个特征。

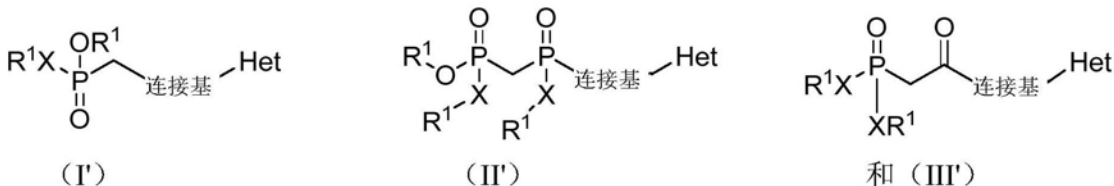
110. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述CD73的长半衰期抑制剂具有选自(i)至(ix)中的至少六个特征。

111. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述CD73的长半衰期抑制剂具有选自(i)至(ix)中的至少八个特征。

112. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述CD73的长半衰期抑制剂具有选自(i)至(ix)中的至少四个特征, 和小于1nM的CD73抑制效力。

113. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述CD73的长半衰期抑制剂具有选自(i)至(ix)中的至少四个特征, 和小于0.1nM的CD73抑制效力。

114. 如权利要求102所述的方法, 其特征在于, 所述候选抑制剂具有选自下组的结构式:



或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物, 其中,

各 R^1 独立地选自下组: 氢、任取代的 C_1 - C_6 烷基、任取代的芳基、 $-C(R^2R^2)-O-C(O)-OR^3$ 、 $-C(R^2R^2)-O-C(O)R^3$ 和 $-C(R^2R^2)C(O)OR^3$, 或两个 R^1 基团结合形成5至6元环;

各 R^2 独立地选自下组: H、氘和任取代的 C_1 - C_6 烷基;

各 R^3 独立地选自下组: H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基 C_1 - C_6 烷基和任取代的芳基;

各X独立地选自下组: O、NH和S;

Het为6,5-或6,6-稠合的杂芳基环系统, 其为取代或未取代的; 和

各连接基独立地为非环基团、环状基团, 或非环与环状组合的基团, 其将Het连接至式(I)、(II)或(III)中的每一个中指定的原子, 并在连接的基团之间提供2至10个原子的间距。

115. 如权利要求114所述的方法,其特征在于,所述候选抑制剂具有式(I')。

116. 如权利要求114所述的方法,其特征在于,所述候选抑制剂具有式(II')。

117. 如权利要求114所述的方法,其特征在于,所述候选抑制剂具有式(III')。

118. 如权利要求114所述的方法,其特征在于,所述CD73的长半衰期抑制剂具有式(I')。

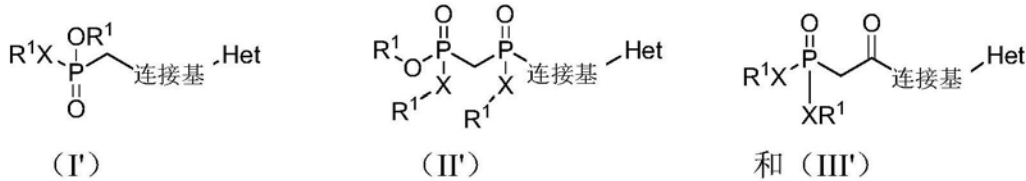
119. 如权利要求114所述的方法,其特征在于,所述CD73的长半衰期抑制剂具有式(II')。

120. 如权利要求114所述的方法,其特征在于,所述CD73的长半衰期抑制剂具有式(III')。

121. 一种CD73的长半衰期抑制剂,其通过如权利要求102至120中任一项所述的方法鉴定。

122. 一种组合物,其包含药物可接受的赋形剂和通过如权利要求102至120中任一项所述的方法鉴定的CD73长半衰期抑制剂。

123. 一种如权利要求121中所述的CD73的长半衰期抑制剂,其具有选自下组的结构式:



或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中,

各 R^1 独立地选自下组:氢、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的芳基、 $-\text{C}(\text{R}^2\text{R}^2)-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^3$ 、 $-\text{C}(\text{R}^2\text{R}^2)-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}^3$ 和 $-\text{C}(\text{R}^2\text{R}^2)\text{C}(\text{O})\text{OR}^3$,或两个 R^1 基团可以结合形成5至6元环;

各 R^2 独立地选自下组:H、氘和任选取代的 C_1 - C_6 烷基;

各 R^3 独立地选自下组:H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基 C_1 - C_6 烷基和任选取代的芳基;

各X独立地选自下组:O、NH和S;

Het为6,5-或6,6-稠合的杂芳基环系统,其为取代或未取代的;和

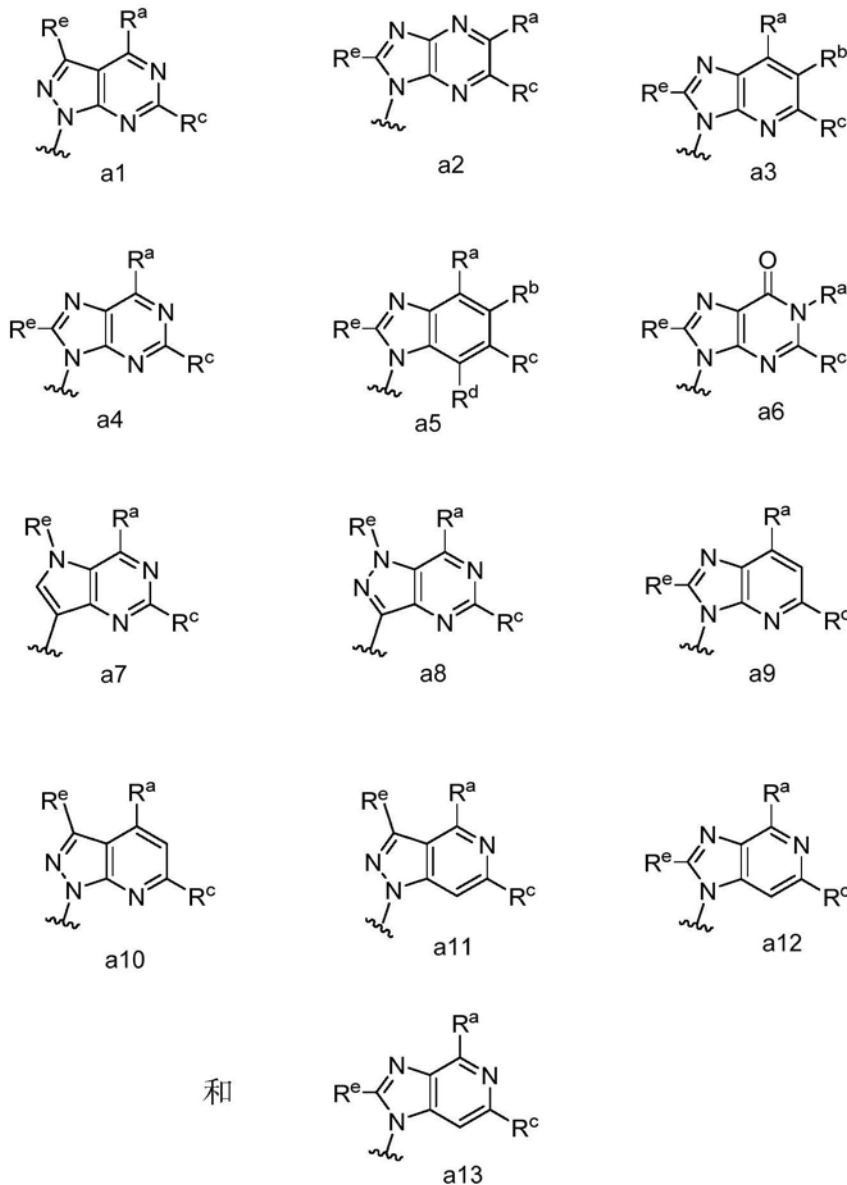
各连接基独立地为非环基团、环状基团,或非环与环状组合的基团,其将Het连接至式(I)、(II)或(III)中的每一个中指定的原子,并在连接的基团之间提供2至10个原子的间距。

124. 如权利要求123所述的CD73的长半衰期抑制剂,其特征在于,所述CD73的长半衰期抑制剂具有式(I')。

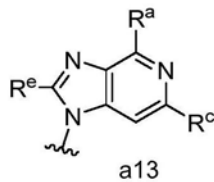
125. 如权利要求123所述的CD73长半衰期抑制剂,其特征在于,所述CD73长半衰期抑制剂具有式(II')。

126. 如权利要求123所述的CD73的长半衰期抑制剂,其特征在于,所述CD73的长半衰期抑制剂具有式(III')。

127. 如权利要求123至126中任一项所述的CD73的长半衰期抑制剂,其特征在于,Het选自下组:



和



其中,波浪线表示至连接基的连接点,和其中:

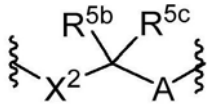
R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 各自独立地选自下组:H、氘、卤素、卤代烷基、氰基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 NHC(O) 、 R^7 、 R^7 、 OH 、 OR^7 、 SR^7 、 SO_2R^7 、 $-\text{X}^1-\text{NH}_2$ 、 $-\text{X}^1-\text{NHR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{NR}^7\text{R}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{OH}$ 、 $-\text{X}^1-\text{OR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{SR}^7$ 和 $-\text{X}^1-\text{SO}_2\text{R}^7$;

R^e 选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1 - C_6 烷基;

各 X^1 位 C_1 - C_4 亚烷基;和

各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的4-7元环杂烷基、任选取代的4-7元环杂烷基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的芳基 C_2 - C_4 烯基、任选取代的芳基 C_2 - C_4 炔基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的杂芳基 C_2 - C_4 烯基和任选取代的杂芳基 C_2 - C_4 炔基;和任选地连接至氮原子上的两个 R^7 基团连接在一起形成4至7元杂环,其任选地与芳环稠合。

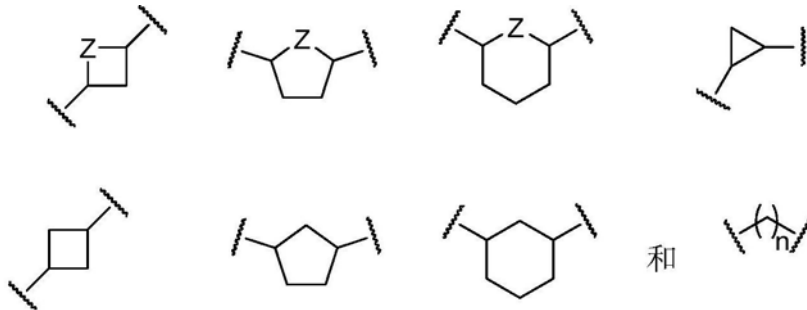
128.如权利要求123至126中任一项所述的CD73的长半衰期抑制剂,其特征在于,所述连接基具有下式:



其中

X²选自下组:O、S和N(R^{5a});

A选自下组:



其中的每一个任选被1至5个R⁶取代基取代,并且其中,下标n是0至3的整数;

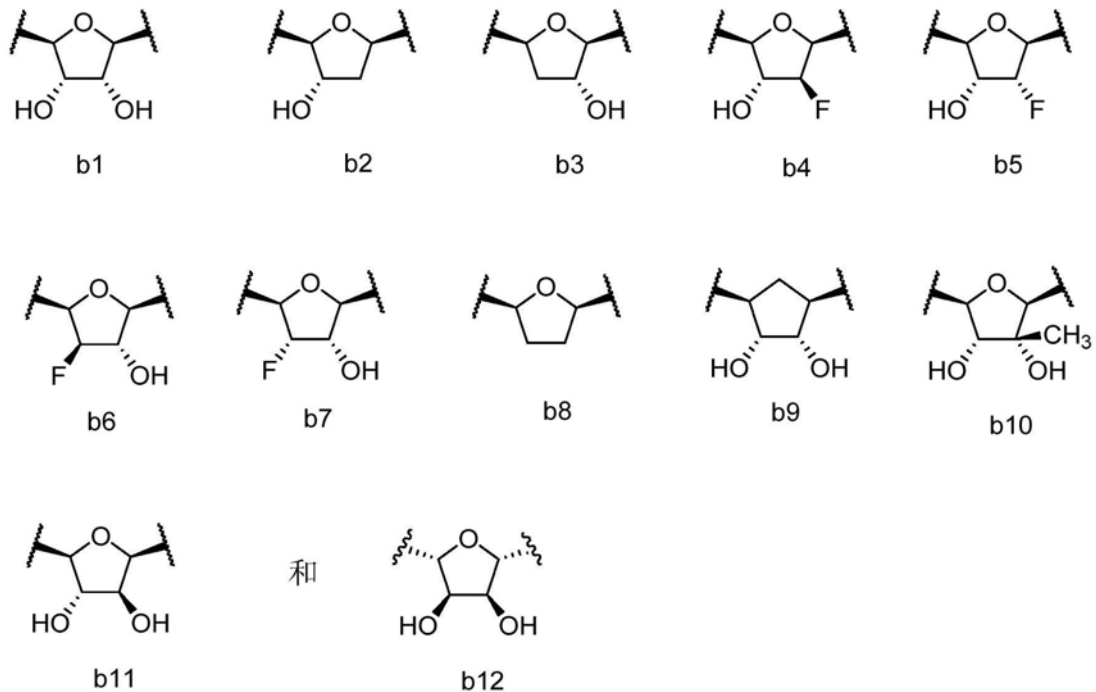
R^{5a}、R^{5b}和R^{5c}独立地选自下组:H、氘、任选取代的C₁-C₆烷基、-C(O)OR³、C₃-C₆环烷基(C₁-C₆)烷基、芳基(C₁-C₆)烷基、C₃-C₆环烷基和芳基;

Z选自下组:NH、NR⁶和O;

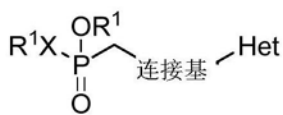
各R⁶独立地选自下组:氘、CH₃、OR⁸、CN、F和任选取代的C₁-C₆烷基;或相邻环顶点上的两个R⁶基团任选地连接在一起形成具有至少一个杂原子作为环顶点的5至6元环;和

各R⁸独立地选自下组:H和-C(O)-C₁-C₆烷基。

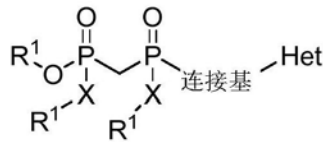
129. 如权利要求128所述的CD73的长半衰期抑制剂,其中,A选自下组:



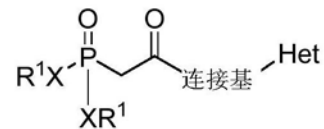
130. 具有式(I')、(II')或(III')的化合物:



(I)



(II')



(III')

或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中,

各R¹独立地选自下组:氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的芳基、-C(R²R²)-O-C(O)-OR³、-C(R²R²)-O-C(O)R³和-C(R²R²)C(O)OR³,或两个R¹基团可以结合形成5至6元环;

各R²独立地选自下组:H、氘和任选取代的C₁-C₆烷基;

各R³独立地选自下组:H、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基C₁-C₆烷基和任选取代的芳基;

各X独立地选自下组:O、NH和S;

Het为6,5-或6,6-稠合的杂芳基环系统,其为取代或未取代的;和

各连接基独立地为非环基团、环状基团,或非环与环状组合的基团,其将Het连接至式(I)、(II)和(III)中的每一个中指定的原子,并在连接的基团之间提供2-10个原子的间距;并且其中,所述化合物具有至少五个选自下组的特征:

(i) 在Caco-2细胞中的渗透率 $<6 \times 10^{-6}$ cm/秒;

(ii) $>98\%$ 的人血浆蛋白结合;

(iii) 在人类肝细胞存在下的高稳定性,表示为 $CL_{INT} < 10 \mu\text{L}/\text{min}/\text{百万细胞}$;

(iv) 拓扑极性表面积 $>160 \text{ \AA}^2$;

(v) $c\text{LogD} < -3$;

(vi) $c\text{LogP} < 1$;

(vii) 10至24个H键供体/受体;

(viii) 在水或盐水中的溶解度大于10mg/mL;和

(ix) CD73抑制效力小于10nM。

肠道外给药的免疫增强药物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35USC§119 (e) 要求2018年3月9日提交的美国临时申请序列号62/641, 003和2018年7月19日提交的美国临时申请序列号62/700, 548的优先权, 它们中的每一个通过引用整体并入本文。

[0003] 联邦支持的研究与开发有关发明权的声明

[0004] 不适用

[0005] 参考在光盘上提交的“序列表”、表格或计算机程序列表附录

[0006] 不适用

[0007] 领域

[0008] 本文提供例如鉴定用于通过胞外5'-核苷酸酶(也称为CD73)抑制腺苷并且适合肠外给药的化合物的方法。本文还提供了例如用具有所需药代动力学特性的化合物以及包含该化合物的药物组合物治疗或预防通过胞外5'-核苷酸酶抑制腺苷介导的疾病、病症或病况或其症状的方法。

[0009] 发明背景

[0010] 嘌呤能信号传导是嘌呤核苷酸和核苷(如ATP和腺苷)介导的一种细胞外信号传导, 涉及细胞和/或附近细胞中嘌呤能受体的激活, 从而调节细胞功能。大多数细胞具有释放核苷酸的能力, 其通常通过调控胞吐作用发生(参见Praetorius, H.A.; Leipziger, J. (2010年3月1日) 生理学年鉴(Ann Rev Physiology) 72(1):377-393)。然后释放的核苷酸可以被称为胞外核苷酸酶的多种细胞膜结合酶细胞外水解。

[0011] 外核苷酸催化ATP转化为腺苷, 腺苷是影响多种系统(包括免疫系统、心血管系统、中枢神经系统和呼吸系统)的内源性调节剂。腺苷还促进多种组织的纤维化。在生成腺苷的第一步中, 外核苷三磷酸二磷酸水解酶1(ENTPD1), 其也称为CD39(分化簇39), 将ATP水解为ADP, 然后将ADP水解为AMP。在接下来的步骤中, AMP通过胞外5'-核苷酸酶(NT5E或5NT), 其也称为CD73(分化簇73), 转化为腺苷。

[0012] CD39和CD73的酶活性在校准递送至各种细胞(例如免疫细胞)的嘌呤能信号的持续时间, 量度(magnitude)和化学性质中起关键作用。这些酶活性的改变可以改变病程或决定几种病理生理事件(包括癌症、自身免疫性疾病、感染、动脉粥样硬化和缺血再灌注损伤)的结果, 表明这些胞外酶代表了控制多种疾病的新的治疗靶标。

[0013] 用单克隆抗体、siRNA或小分子抑制CD73延迟了肿瘤生长和转移(Stagg, J. (2010) PNAS U.S.A. 107:1547-52)。例如, 抗-CD73抗体治疗显示出在动物模型中抑制乳房肿瘤生长和转移(Stagg, J. (2010年1月26日) PNAS U.S.A, 107(4):1547-52)。此外, 已经评估了特异性结合CD73的抗体用于治疗出血性疾病(例如血友病)的用途(US专利号9,090,697)。最近, 人们试图开发治疗上有用的CD73小分子抑制剂。例如, Bhattarai等. ((2015) 药物化学杂志(J Med Chem) 58:6248-63)研究了 α, β -亚甲基-ADP(AOPCP)的衍生物和类似物, 其是已知的代谢最稳定、最有效和选择性最强的CD73抑制剂之一, 嘌呤CD73衍生物在专利文献(WO 2015/164573)中有报道。但是, 小分子的开发由于例如小于理想的代谢稳定性而受到阻碍。

[0014] 大多数小分子至少需要每天给药,有些则需要每天两次,三次或更多次给药才能达到所需的疗效。这种频繁的给药可能与例如与患者依从性缺乏有关的问题相关,有时与重复给药相关的严重不良反应有关。另外,许多癌症相关疾病的治疗需要两种或多种治疗剂(例如,肿瘤学剂)的伴行给药。在这种情况下,简化或以其他方式优化总体治疗方案的治疗方案是可取的。例如,当其中一种治疗药物需要以规定的给药频率进行肠外(例如IV)给药时,以相同给药频率给药CD73抑制剂可使治疗方案受益。

[0015] 鉴于CD73在癌症以及各种各样的其他疾病、病症和病况中所起的作用以及目前医务人员可用的CD73抑制剂的缺乏,需要新的CD73抑制剂以及与其相关的组合物和方法。此外,在某些治疗环境中,例如单一疗法和多药治疗,此类CD73抑制剂的给药方案的优化可能需要肠胃外给药。更进一步,需要鉴定具有长半衰期可适于以长达4周的间隔给药的CD73抑制剂。本发明公开解决了这些和其他需求。

发明内容

[0016] 本发明涉及通过胞外5'-核苷酸酶(NT5E或5NT;也称为CD73)调节AMP向腺苷的转化的化合物,以及包含所述化合物的组合物(例如药物组合物)。下文详细描述了这种化合物和组合物,以及鉴定适合于肠胃外给药的化合物的方法,以及肠胃外单独或与其他药剂组合地给药治疗有效量的这种化合物的方法。

[0017] 本发明还涉及这种化合物和组合物在治疗和/或预防全部或部分由CD73介导的多种疾病、病症和病况中的用途。CD73抑制剂与多种疾病的治疗有关,包括癌症、纤维化、神经性和神经退行性疾病(例如抑郁症和帕金森病)、脑和心脏缺血性疾病、免疫相关性疾病以及带有炎症成分的疾病。参见例如Sorrentino等.(2013)肿瘤免疫学(OncoImmunol),2:e22448,doi:10.4161/onci.22448;和Regateiro等.(2012)临床与实验免疫学(Clin.Exp.Immunol),171:1-7。在特定的实施方式中,本文所述的化合物起抑制CD73的免疫抑制活性和/或抗炎活性的作用,并且当需要这种抑制作用时可用作治疗或预防性治疗。除非另有说明,当本发明的化合物的用途在此进行描述时,应理解这些化合物可以是组合物的形式(例如,药物组合物)。

[0018] 本文还提供了用于治疗CD73介导的疾病或病况的方法,所述方法包括以四天至四周的给药间隔向有需要的受试者施用长效CD73抑制剂,其中,所述CD73抑制剂是如下所述的式(I')、(II')或(III')化合物,其中,所述CD73抑制剂具有至少三个选自以下的特征:

[0019] (i) Caco-2细胞的渗透率 $<6 \times 10^{-6}$ cm/秒;

[0020] (ii) >98%的人血浆蛋白结合;

[0021] (iii) 在存在人类肝细胞的情况下具有很高的稳定性,表示为 $CL_{INT} < 10 \mu\text{L}/\text{min}/\text{百万细胞}$;

[0022] (iv) 拓扑极性表面积 $>160 \text{\AA}^2$;

[0023] (v) $c\text{LogD} < -3$;

[0024] (vi) $c\text{LogP} < 1$;

[0025] (vii) 10至24个H键供体/受体;

[0026] (viii) 在水或盐水中的溶解度大于 $10 \text{mg}/\text{mL}$;和

[0027] (ix) CD73抑制的效力小于 10nM 。

[0028] 本文还提供了用于鉴定上述方法中使用的CD73抑制剂的测定和方法,以及适合于给药CD73的长半衰期抑制剂的组合物、化合物和试剂盒。

[0029] 如本文所用,术语“CD73抑制剂”、“CD73阻断剂”、“通过胞外5'-核苷酸酶的腺苷抑制剂”、“NT5E抑制剂”、“5NT抑制剂”和所有其他相关领域接受的术语是指能够在体外测定、体内模型和/或指示治疗效力的其他手段中直接或间接调节CD73受体的化合物。该术语也指在人体实验中至少表现出某些治疗效果的化合物。

[0030] 尽管本文提供的化合物被认为是通过抑制CD73来影响其活性,但是实施本发明不需要精确理解化合物的作用机制。例如,所述化合物还可以至少部分通过调节(例如抑制)嘌呤能信号传导途径的其他组成部分(例如CD39)来发挥它们的活性。嘌呤能信号传导系统由负责(初级)ATP及其细胞外分解产物腺苷的合成、释放、作用和细胞外失活的转运蛋白、酶和受体组成(Sperlagh, B等(2012年12月)匈牙利神经心理学(Neuropsychopharmacologia Hungarica) 14(4):231-38)。因为CD73的抑制导致腺苷减少,所以CD73抑制剂可用于治疗由腺苷及其对腺苷受体(包括A₁, A_{2A}, A_{2B}和A₃)的作用介导的疾病或病症,参见Yegutkin, GG(2008年5月),《生物化学生物物理学报》1783(5):673-94。

[0031] 就本发明的目的而言,嘌呤能信号传导过程可被描述为包含以下组成部分。第一组成部分嘌呤能受体(P₁、P_{2X}和P_{2Y})是作为对ATP或腺苷释放的应答而介导各种生理功能(例如肠道平滑肌松弛)的膜受体;一般而言,所有细胞都具有时常通过调控胞吐作用将核苷酸释放到细胞外环境的能力。第二组成部分核苷转运蛋白(NT)为跨越细胞膜转运核苷底物(例如腺苷)的膜转运蛋白;腺苷的细胞外浓度可以由NT调节,可能以一种连接受体信号和转运蛋白功能的反馈回路的形式。如前所述,胞外核苷酸酶(CD73和CD39)水解释放到细胞外环境中的核苷酸并包含另外的组成。嘌呤能信号传导过程的另一个组成部分包括泛连接蛋白(pannexin);特别地,泛连接蛋白-1通道(PANX1)是P_{2X}/P_{2Y}嘌呤能信号通路的一个完整的组成部分,也是病理生理学ATP释放的关键因素。

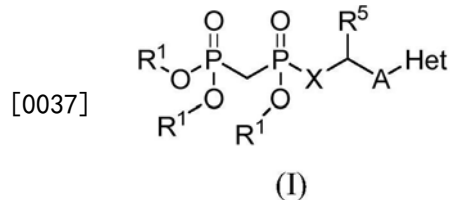
[0032] 在将生物药物试剂(例如,CD73抑制剂)施用于人类受试者之前,其特性通常模型(例如,啮齿动物模型)中进行评估,所述模型可以提供关于该试剂在人类受试者中将如何表现的信息。可以使用吸收、分布(组织中的定位),代谢(生物转化)和排泄(“ADME”)过程来考虑药物在一段时间内,在体内的活性或最终形式。除了与ADME相关的信息外,使用此类模型(或其他评估方式)获得的数据还包括试剂生物利用度(F)和清除率(CL)。下文将详细讨论药代动力学参数。

[0033] 与研究受试者如何影响生物药剂的药代动力学(PK)相反,药效学(PD)研究生物药剂如何影响受试者。它包括对生物药剂的生物化学和生理作用及其作用机理,以及药剂化学结构与其如活性的水平之间的相关性的研究。

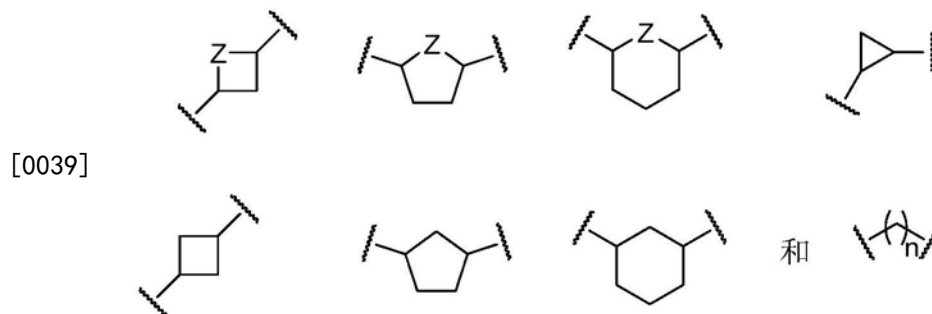
[0034] 在本发明的一些实施方式中,本文具体公开的或被本文所述的一种或多种各种类别的化合物的所涵盖的适合于至少每周一次的肠胃外给药(例如,至少一周维持治疗效果)的CD73抑制剂可以通过进行几次评估来鉴定。在某些实施方式中,进行以下评估(通常按列出的顺序进行)或其子集:体外活性评估;动物中PK的测定;异速缩放(allometric scaling);可接受的制剂特性(例如溶解度);以及用于相伴的联合治疗的适合的给药频次。在各种评估中使用的方法,下文中将讨论其中的一些,对于本领域技术人员而言是显而易见的。

[0035] 对于本领域技术人员而言显而易见的是,可能不需要上述每项评估,个别的评估可能不需要按照给出的顺序执行,和/或可以使用其他评估来鉴定候选化合物。在各种评估中使用的方法,下文中将讨论其中的一些,对于本领域技术人员而言是显而易见的。另外,本领域的普通技术人员认识到,虽然评估通常是基于客观参数,但是评估过程并不是一成不变的,并且常常涉及根据执业医生的知识、经验等的一些特定从业者的输入。

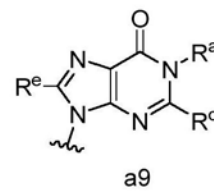
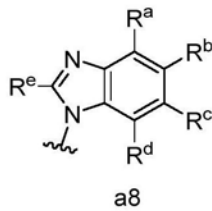
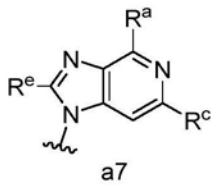
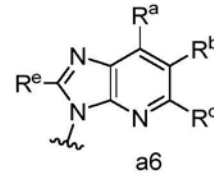
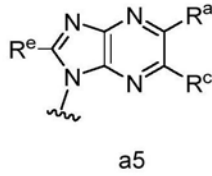
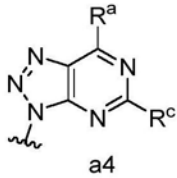
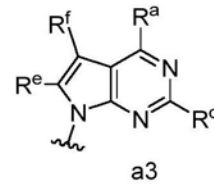
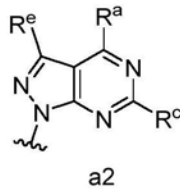
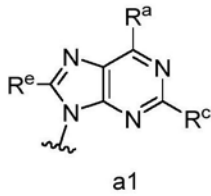
[0036] 在一个特定的方面,本发明提供了可以根据本文所述的方法评估和/或适合于本文所述的肠胃外给药的化合物,该化合物具有式(I):



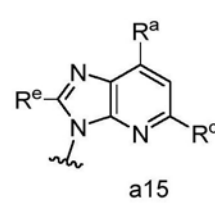
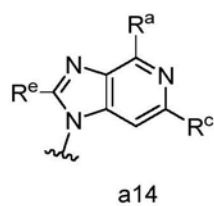
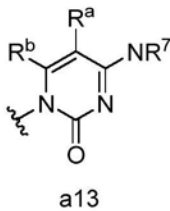
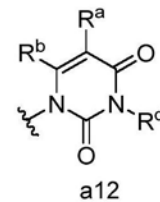
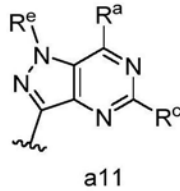
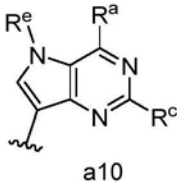
[0038] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中,各R¹独立地选自下组:氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的芳基和-C(R²R²)-O-C(O)-OR³,或两个R¹基团任选地结合以形成5至7元环;各R²独立地选自下组:H和任选取代的C₁-C₆烷基;各R³独立地选自下组:H、C₁-C₆烷基和任选取代的芳基;R⁵选自下组:H和任选取代的C₁-C₆烷基;X选自下组:O、CH₂和S;A选自下组:



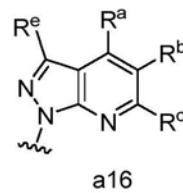
[0040] 其中的每一个任选地被1至5个R⁶取代基取代,并且其中,下标n是0至3的整数;Z选自下组:CH₂、CHR⁶、NR⁶和O;各R⁶独立地选自下组:H、CH₃、OH、CN、F、任选取代的C₁-C₆烷基和OC(O)-C₁-C₆烷基;以及任选地相邻环顶点上的两个R⁶基团结合在一起以形成具有至少一个杂原子作为环顶点的5至6元环;并且,Het选自下组:



[0041]



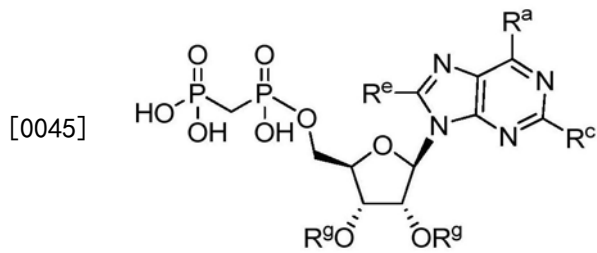
和



[0042] 其中,波浪线表示与化合物其余部分的连接点,并且其中, R^a 选自下组:H、 NH_2 、 NHR^7 、 $NHC(O)R^7$ 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 SR^7 和 OR^7 ; R^b 选自下组:H、卤素、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH和 OR^7 ; 各 R^c 和 R^d 独立地选自下组:H、卤素、卤代烷基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH和 OR^7 ; 各 R^e 和 R^f 独立地选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1 - C_6 烷基; 和

[0043] 各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基、任选取代的4-7元环杂烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基烷基、任选取代的杂芳基和任选取代的杂芳基烷基,和任选地,连接至氮原子的两个 R^7 基团结合在一起以形成4-7元杂环。

[0044] 被排除在上述之外的是不包括,式中,X、A和Het的组合形成下式的化合物



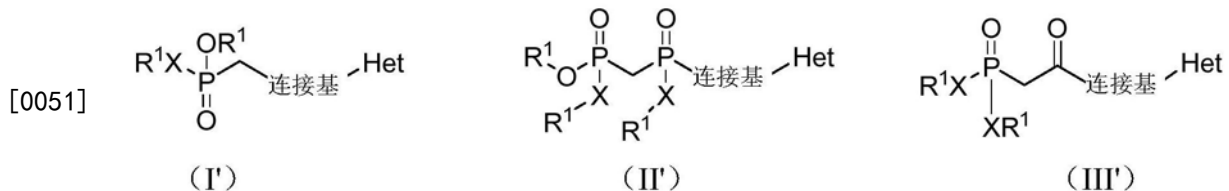
[0046] 其中, R^g 为H或两个 R^g 基团结合形成缩丙酮 (acetonide); 以及

[0047] (i) R^c 和 R^e 为氢, R^a 为 $-OEt$ 、 $-OCH_2Ph$ 、 $-SCH_2Ph$ 、 $-NH_2$ 、甲胺基、乙胺基、二甲胺基、二乙胺基、N-甲基-N-乙胺基、苯胺基、苄基胺基、2-苄基乙基胺基、N-苄基-N-乙基胺基、二苄基胺基、4-氨基苄基胺基、4-氯苄基胺基、4-硝基苄基胺基或4-氨磺酰基苄基胺基; 或

[0048] (ii) R^c 为氢, R^a 为 $-NH_2$, R^e 为溴、氯、氨甲基或硫代乙基; 或

[0049] (iii) R^c 为氢, R^a 为苄胺基, R^e 为溴。

[0050] 在一个特定的方面, 本发明提供和使用的化合物具有式 (I')、(II') 和/或 (III'):



[0052] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物, 其中,

[0053] 各 R^1 独立地选自下组: 氢、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的芳基、 $-C(R^2R^2)-O-C(O)-OR^3$ 、 $-C(R^2R^2)-O-C(O)R^3$ 和 $-C(R^2R^2)C(O)OR^3$, 或两个 R^1 基团可组合形成5至6元环;

[0054] 各 R^2 独立地选自下组: H和任选取代的 C_1 - C_6 烷基;

[0055] 各 R^3 独立地选自下组: H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基 C_1 - C_6 烷基和任选取代的芳基;

[0056] 各 X 独立地选自下组: O、NH 和 S;

[0057] Het 为 6, 5-或 6, 6-稠合的杂芳基环系统, 其为取代或未取代的; 和

[0058] 各连接基独立地为非环 (acyclic) 基团、环状基团, 或非环与环的组合基团, 其将 Het 连接至式 (I')、(II') 或 (III') 的每一个中的指定的原子, 并在连接的基团之间提供 2 至 10 个原子的间距;

[0059] 并且其中, 所述化合物具有至少三个选自下组的特征:

[0060] (i) 在 Caco-2 细胞中的渗透率 $< 6 \times 10^{-6}$ cm/秒;

[0061] (ii) $> 98\%$ 的人血浆蛋白结合;

[0062] (iii) 在人类肝细胞存在下的高稳定性, 表示为 $CL_{INT} < 10 \text{ uL/min/百万细胞}$;

[0063] (iv) 拓扑极性表面积 $> 160 \text{ \AA}^2$;

[0064] (v) $cLogD < -3$;

[0065] (vi) $cLogP < 1$;

[0066] (vii) 10 至 24 个 H 键供体/受体;

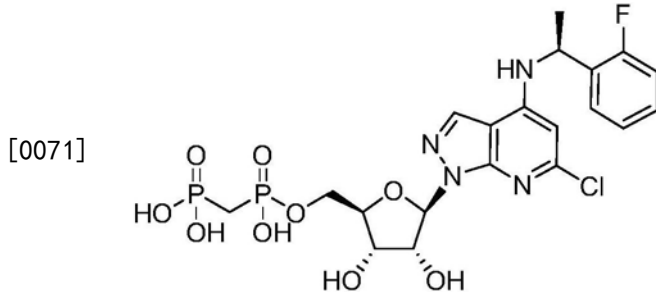
[0067] (viii) 在水或盐水中的溶解度大于 10 mg/mL ; 和

[0068] (ix) 抑制 CD73 的效力小于 10 nM 。

[0069] 在一些实施方式中, 本发明涵盖了用于治疗或预防受试者 (例如人) 的癌症的方法, 包括向受试者施用治疗有效量的至少一种 CD73 抑制剂, 其中, 所述 CD73 抑制剂根据本文

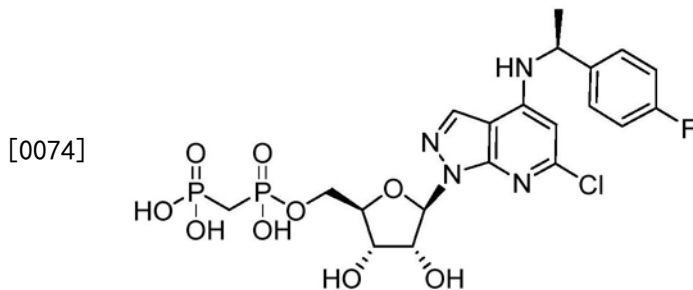
所述的方法鉴定和/或所述CD73抑制剂适用于本文所述的肠胃外给药。本发明包括通过向受试者施用以有效逆转或阻止CD73介导的免疫抑制的进展的量的这种CD73抑制剂来治疗或预防受试者中的癌症的方法。在一些实施方式中,CD73介导的免疫抑制由抗原呈递细胞(APC)介导。

[0070] 在一些实施方式中,CD73抑制剂具有以下化学结构(“化合物1”):



[0072] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。

[0073] 在其他实施方式中,CD73抑制剂具有以下化学结构(“化合物2”):



[0075] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。

[0076] 可以使用本文所述的化合物和组合物治疗的癌症的例子包括但不限于:前列腺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、宫颈癌、胃癌、子宫内膜癌、脑癌、肝癌、膀胱癌、卵巢癌、睾丸癌、头癌、颈癌、皮肤癌(包括黑色素瘤和基底癌)、间皮内层(mesothelial lining)癌、白细胞癌(包括淋巴瘤和白血病)、食道癌、乳腺癌、肌肉癌、结缔组织癌、肺癌(包括小细胞肺癌和非小细胞肺癌)、肾上腺癌、甲状腺癌、肾癌、或骨癌;成胶质细胞瘤、间皮瘤、肾细胞癌、胃癌、肉瘤、绒毛膜癌、皮肤基底细胞癌、和睾丸精原细胞瘤(testicular seminoma)。在本发明的一些实施方式中,癌症为黑色素瘤、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、白血病、淋巴瘤、肉瘤、卵巢癌或卡波济氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)。下文进一步讨论用本发明的化合物和组合物治疗的候选癌症。

[0077] 本发明考虑了治疗接受骨髓移植或外周血干细胞移植的受试者的方法,其通过施用足以增加对肿瘤抗原的迟发型超敏反应、推迟移植后恶变(malignancy)的复发时间、增加移植后的无复发存活时间,和/或增加移植后长期存活率的治疗有效量的CD73抑制剂,其中,CD73抑制剂为根据本文所述的方法鉴定的和/或CD73抑制剂适用于如本文所述肠胃外施用。

[0078] 在某些实施方式中,本发明涵盖了用于治疗或预防受试者(例如人)的感染性疾病(例如病毒感染)的方法,包括向受试者施用治疗有效量的至少一种CD73抑制剂,其中,CD73抑制剂为根据本文所述的方法鉴定的和/或CD73抑制剂适用于如本文所述肠胃外施用。在一些实施方式中,感染性疾病为病毒感染(例如慢性病毒感染)、细菌感染、真菌感染或寄生

虫感染。在某些实施方式中,所述病毒感染是人类免疫缺陷病毒或巨细胞病毒。

[0079] 在其他实施方式中,本发明考虑了用至少一种本文所述的方法鉴定的和/或适用于本文所述的肠胃外给药的CD73抑制剂来治疗和/或预防免疫相关疾病、病症和病况;具有炎性成分的疾病;以及与上述相关的疾病的方法。免疫相关疾病、病症和病况的实例在下文中描述。

[0080] 可以全部或部分通过调节CD73活性来治疗或预防的其它疾病、病症和病况是本发明的CD73抑制剂化合物的候选适应症。

[0081] 本发明进一步涵盖了与根据本文所述方法鉴定的和/或其适于如本文所述肠胃外给药的CD73抑制剂与一种或多种另外的药剂组合使用。一种或多种另外的药剂可具有一些CD73调节活性和/或它们可通过不同的作用机制起作用。在一些实施方式中,这样的药剂包括放射(例如局部放射疗法或全身放射疗法)和/或非药理学性质的其他治疗方式。当使用联合疗法时,CD73抑制剂和另外的药剂可以是单一组合物或多组分组合物的形式,并且治疗方式可以同时、依次或通过一些其他方案给药。举例来说,本发明考虑了一种治疗方案,其中放射阶段之后是化学治疗阶段。联合疗法可以具有叠加或协同效应。下文描述了联合治疗的其他益处。

[0082] 在一些实施方式中,本发明进一步包括根据本文所述的方法鉴定的和/或适用于如本文所述的肠胃外施用的CD73抑制剂与骨髓移植、外周血干细胞移植,或其他类型的移植治疗的组合使用。

[0083] 在特定的实施方式中,本发明涵盖本文所述的CD73功能抑制剂与免疫检查点抑制剂组合的使用。导致抗原特异性T细胞应答的放大的免疫检查点的阻断已被证明是人类癌症治疗中的有前景的方法。免疫检查点(配体和受体)的实例,其中的一些在各种类型的肿瘤细胞中选择性地上调,它们是用于阻断的候选者,包括PD1(程序性细胞死亡蛋白1);PDL1(PD1配体);BTLA(B和T淋巴细胞衰减子);CTLA4(细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4);TIM3(T细胞膜蛋白3);LAG3(淋巴细胞激活基因3);A2aR(腺苷A2a受体A2aR);TIGIT(具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体);和杀伤细胞抑制性受体。本文中其他地方详细讨论了免疫检查点抑制剂以及与其联合的疗法。

[0084] 在其他实施方式中,本发明提供了治疗受试者中癌症的方法,包括向受试者施用治疗有效量的至少一种根据本文所述的方法鉴定和/或本文所述的适合于肠胃外给药的CD73抑制剂,和至少一种化学治疗剂,这样的治疗剂包括,但不限于,烷基化试剂(例如,氮芥类(nitrogen mustards)如苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺(isofamide)、二氯甲基二乙胺、美法仑、和尿嘧啶氮芥(uracil mustard);氮丙啶类如塞替派;甲磺酸酯类如白消安;核苷类似物(例如,吉西他滨);亚硝基脲,如卡莫司汀、洛莫司汀(lomustine)、和链脲佐菌素;拓扑异构酶I抑制剂(例如伊立替康);铂络合物,例如顺铂卡铂和奥沙利铂;生物还原烷化剂,例如丝裂霉素、丙卡巴肼(procarbazine)、达卡巴嗪和六甲蜜胺(altretamine);蒽环类药物(如阿霉素、柔红霉素(daunorubicin)、表柔比星和伊达比星);DNA链断裂剂(例如博来霉素);拓扑异构酶II抑制剂(例如安吡啶、更生霉素、柔红霉素、伊达比星、米托蒽醌、多柔比星、依托泊苷和替尼泊苷);DNA小沟结合剂(例如,普卡霉素(plicamycin));抗代谢物(例如,叶酸拮抗剂如甲氨蝶呤和三甲曲沙;嘧啶拮抗剂如氟尿嘧啶、氟脱氧尿苷、CB3717、阿扎胞苷、阿糖胞苷和氟尿苷;嘌呤拮抗剂如巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、氟达拉滨、喷司他丁;

天冬酰胺酶;和核糖核苷酸还原酶抑制剂如羟基脲);微管蛋白相互作用剂(例如长春新碱、雌莫司汀、长春花碱(vinblastine)、多西他赛、埃坡霉素衍生物和紫杉醇);激素剂(例如,雌激素;结合雌激素;乙炔基雌二醇;己烯雌酚;氯烯雌醚(chlortrianiol);己二烯雌酚(idenestrol);孕激素,如己酸羟孕酮、甲羟孕酮和甲地孕酮;以及雄激素,如睾酮、丙酸睾酮、氟甲睾酮(fluxymesterone)和甲基睾酮);肾上腺皮质类固醇(例如强的松(prednisone)、地塞米松、甲基强的松龙和泼尼松龙);促黄体激素释放剂或促性腺激素释放激素拮抗剂(例如醋酸亮丙瑞林和醋酸戈舍瑞林);和抗激素抗原(例如它莫西芬,抗雄激素剂例如氟他胺;以及抗肾上腺素剂例如米托坦和氨基谷酰亚胺)。本发明还考虑将CD73抑制剂与本领域已知的其他药剂(例如三氧化二砷)和将来可能开发的其它化学治疗剂组合使用。

[0085] 在一些实施方式中,本发明涉及治疗癌症的方法,治疗有效量的根据本文所述方法鉴定的和/或本文所述适合于肠胃外施用的CD73抑制剂与至少一种化学治疗剂组合施用导致癌症存活率大于通过单独施用任一种药剂观察到的癌症存活率。在涉及治疗癌症的方法的其他实施方案中,治疗有效量的根据本文所述方法鉴定的和/或本文所述适合于肠胃外施用的CD73抑制剂与至少一种化学治疗剂的组合施用导致肿瘤尺寸的减小或肿瘤生长的减缓大于通过单独给予任一种药剂观察到的肿瘤尺寸或肿瘤生长的减小。

[0086] 在进一步的实施方案中,本发明涵盖用于治疗或预防受试者中的癌症的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的至少一种根据本文所述的方法鉴定和/或如本文所述适合于肠胃外给药的CD73抑制剂和至少一种信号转导抑制剂(STI)。在具体实施方式中,所述至少一种STI选自下组:由bcr/abl激酶抑制剂,表皮生长因子(EGF)受体抑制剂,her-2/neu受体抑制剂和法尼基转移酶(farnesyl transferase)抑制剂(FTIs)。其他候选的STI剂在本文中其他地方列出。

[0087] 本发明还考虑了增强受试者中肿瘤细胞排斥的方法,其包括将根据本文所述的方法鉴定的和/或本文所述的适用于肠胃外给药的CD73抑制剂与至少一种化学治疗剂和/或放射疗法联合给药,其中,所导致的肿瘤细胞排斥大于通过单独施用CD73抑制剂、化学治疗剂或放射治疗所得到的肿瘤细胞排斥。

[0088] 在其他实施方式中,本发明提供了治疗受试者中癌症的方法,包括向受试者施用治疗有效量的至少一种根据本文所述的方法鉴定的和/或本文所述的适用于肠胃外给药的CD73抑制剂和除CD73抑制剂以外的免疫调节剂。在特定的实施方式中,所述至少一种免疫调节剂选自下组:A2aR(腺苷A2a受体A2aR)、CD40L、B7、B7RP1,抗CD40、抗CD38、抗ICOS、4-1BB配体、树突细胞癌症疫苗、IL2、IL12、ELC/CCL19、SLC/CCL21、MCP-1、IL-4、IL-18、TNF、IL-15、MDC、IFN- α /-13、M-CSF、IL-3、GM-CSF、IL-13、抗IL-10和吡啶胺2,3双加氧酶1(IDO1)抑制剂。

[0089] 本发明涉及包括用于治疗或预防受试者(例如人)中的感染性病症(例如病毒感染)的方法的实施方案,包括向受试者施用治疗有效量的至少一种根据本文所述的方法鉴定的和/或本文所述的适用于肠胃外给药的CD73抑制剂以及治疗有效量的抗感染试剂,例如,一种或多种抗微生物试剂。

[0090] 在另外的实施方式中,通过联合施用疫苗和施用治疗有效量的本发明的CD73抑制剂来实现感染性疾病的治疗。在一些实施方式中,所述疫苗为抗病毒疫苗,包括例如,抗HIV

疫苗。在其他实施方式中,所述疫苗对结核或疟疾有效。在其他实施方案中,疫苗是肿瘤疫苗(例如对黑素瘤有效的疫苗);肿瘤疫苗可以包含遗传修饰的肿瘤细胞或遗传修饰的细胞系,包括已被转染以表达粒细胞-巨噬细胞刺激因子(GM-CSF)的遗传修饰的肿瘤细胞或遗传修饰的细胞系。在特定的实施方案中,疫苗包括一种或多种免疫原性肽和/或树突细胞。

[0091] 在涉及通过施用根据本文所述的方法鉴定的和/或本文所述的适用于肠胃外给药的CD73抑制剂和至少一种另外的治疗剂治疗感染的某些实施方案中,在施用CD73抑制剂和另外的治疗剂之后观察到的感染症状比在单独施用任何一种后观察到的感染症状好。在一些实施方式中,所观察到的感染症状可以是病毒载量减少、CD4⁺T细胞计数的增加、机会性感染的减少、增加的存活时间、慢性感染的根除或其组合。

[0092] 本发明包括通过至少每三天肠胃外给药治疗有效量的化合物1或化合物2或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物来治疗有需要的受试者中至少部分地由CD73介导的疾病、病症或病况的方法。在其他实施方式中,至少每5天、至少每7天、至少每10天、至少每14天、至少每21天或至少每28天肠胃外给药化合物1或化合物2。

[0093] 在本发明的一些方面,化合物1或化合物2以足以维持至少90,至少92,至少95,至少97,至少98,至少99,至少100,至少101或至少102ng/mL的血浆浓度(C_{ss})7天或更长时间的量给药。在本发明的特定方面,化合物1或化合物2以足以维持至少90,至少92,至少95,至少97,至少98,至少99,至少100,至少101或至少102ng/mL的血浆浓度(C_{ss})10天或更长时间的量给药。在本发明的一些方面,化合物1或化合物2以足以维持至少90,至少92,至少95,至少97,至少98,至少99,至少100,至少101或至少102ng/mL的血浆浓度(C_{ss})14天或更长时间的量给药。在本发明的又一方面,化合物1或化合物2以足以维持至少90,至少92,至少95,至少97,至少98,至少99,至少100,至少101或至少102ng/mL的血浆浓度(C_{ss})21天或更长时间的量给药。在本发明的另外方面,化合物1或化合物2以足以维持至少90,至少92,至少95,至少97,至少98,至少99,至少100,至少101或至少102ng/mL的血浆浓度(C_{ss})28天或更长时间的量给药。本发明涵盖可被认为是其他方面的其他浓度(例如93ng/mL)和持续时间(例如至少18天)。

[0094] 附图的简要说明

[0095] 图1描绘了静脉内给药(持续输注1小时)12mg化合物1和2.8mg化合物2后,预测的浓度-时间曲线。

具体实施方式

[0096] 在进一步描述本发明之前,应当理解本发明不限于本文所述的特定实施例,并且还应当理解本文所用的术语仅出于描述特定实施例的目的,并且并非限制性的。

[0097] 在提供值的范围时,应当理解,除非上下文另有明确规定,否则在该范围的上限和下限之间的中间值(到下限单位的十分之一)以及该陈述范围内的任何其他规定或中间值包含在本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地被包括在较小范围内,并且也包含在本发明内,受限于所述范围内的任何具体地排除的限制。在所述范围包括一个或二个限值的情况下,排除那些所包括的限值中的任一个或二个的范围也包括在本发明中。除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与在本发明所属领域中的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0098] 必须注意的是,除非上下文另外清楚地指出,否则如本文和所附权利要求中所使用的,单数形式“一”,“一个”和“该”包括复数指代物。还应注意,可以起草权利要求以排除任何可选的元素。正因如在,该陈述旨在作为用于诸如“单独地, ”、“仅”等等的与权利要求要素的详述有关的排除性术语,或用于“否定的”限制的前置基础。

[0099] 本文讨论的出版物仅是在本申请的提交日期之前公开的。此外,提供的公开的日期可能与实际公开日期不同,可能需要单独确认。

[0100] 通用

[0101] 被诊断患有癌症的受试者人数和可归因于癌症的死亡人数继续增加。包括化学疗法和放射疗法的传统治疗方法通常是患者难以承受的,并且随着癌症(例如肿瘤)的发展以绕开这种治疗而变得不太有效。最近的实验证据表明CD73抑制剂可能代表癌症(例如乳腺癌)治疗的重要新治疗方式。

[0102] 有希望的数据还支持CD73功能抑制剂抑制CD73的抗炎活性和/或CD73的免疫抑制活性的作用,因此CD73抑制剂可用于治疗,例如免疫抑制性疾病(例如HIV和AID)。抑制CD73也可能是神经或神经精神疾病或疾病(如抑郁症等)患者的重要治疗策略。

[0103] 本发明尤其涉及鉴定具有CD73抑制活性的小分子化合物以及那些针对用于给药4天至4周的长半衰期组合物的给药方案和筛选标准。适用于肠胃外给药的组合物,以及用于治疗 and 预防本文所述疾病、病症和病况的化合物和组合物的给药方法。


[0104] 定义

[0105] 除非另有说明,否则下列术语旨在具有以下所述的含义。其他术语在整个说明书的其他地方被定义。

[0106] 除非另有说明,术语“烷基”,本身或作为另一个取代基的一部分,是指具有指定碳原子数(即C₁₋₈是指1至8个碳)的直链或支链烃基。烷基的例子包括:甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基等等。

[0107] 术语“环烷基”是指具有指定数量的环原子(例如,C₃₋₆环烷基)并且完全饱和或环顶点之间具有不超过一个双键的烃环。“环烷基”也可指代双环烃环和多环烃环,例如,双环[2.2.1]庚烷、双环[2.2.2]辛烷等。

[0108] 术语“环杂烷基(cycloheteroalkyl)”是指具有指定数目的环顶点(或成员)且具有替换一至五个碳顶点的一至五个选自N、O和S的杂原子的环烷基环,以及其中,氮和硫原子任选地被氧化,和氮原子任选地被季铵化。所述环杂烷基可以是单环、双环或多环体系。环杂烷基的非限制性示例包括:吡咯烷、咪唑烷、吡唑烷、丁内酰胺、戊内酰胺、咪唑烷酮、乙内酰脲、二氧戊环、邻苯二甲酰亚胺、哌啶、1,4-二氧六环、吗啉、硫代吗啉、硫代吗啉-S-氧化物、硫代吗啉-S,S-氧化物、哌嗪、吡喃、吡啶酮、3-吡咯啉、噻喃、吡喃酮、四氢呋喃、四氢噻吩、奎宁环,以及类似基团。环杂烷基可通过环碳或杂原子连接至分子的其余部分。当使用“任选取代的”来描述术语“环杂烷基”或“环杂烷基-烷基”时,是指这些基团,其中环杂烷基或烷基部分如涉及烷基部分的后文定义地被任选取代。例如,任选取代的环杂烷基可任选地在环杂烷基和烷基部分中的一个或两个按照如下烷基取代基的定义取代。

[0109] 如本文所用,与本文所描述的任何化学结构中的单键、双键或三键相交的波浪线“”表示单键,双键或三键与分子的其余部分的连接点。此外,延伸到环(例如,苯环)中心的键意指在任何可用的环顶点处的连接。本领域技术人员将理解,显示为连接至环上的多

个取代基将占据环顶点,其提供稳定的化合物且另外是空间上相容的。对于二价组成部分,表示意味着包括任一方向(正向或反向)。例如,基团“-C(O)NH-”意指包括在任一方向上的键:-C(O)NH-或-NHC(O)-,以及类似地,“-O-CH₂CH₂-”旨在同时包括-O-CH₂CH₂-和-CH₂CH₂-O-。

[0110] 术语“烷氧基”、“烷氨基”和“烷硫基”(或硫代烷氧基)采用它们的传统意义,是指分别通过氧原子、氮原子或硫原子与分子其他部分连接的那些烷基。另外,对于二烷氨基,烷基部分可以相同或不同,且可通过与各自连接的氮原子形成3-7元环。因此,用二烷基氨基或NR^aR^b表示的基团包括哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、氮杂啉(azetidiny)以及类似的基团

[0111] 术语“芳基烷基”和“杂芳基烷基”采用它们的传统意义,是指其中芳基或杂芳基通过C₁-C₄亚烷基接头与分子的其他部分连接的那些基团。“芳基烷基”的示例为苯基甲基(或苄基)。类似地,“杂芳基烷基”的示例为,例如,3-吡啶丙基。当“任选取代的”用于描述术语“芳基烷基”或“杂芳基烷基”,其是指芳基或杂芳基部分任选被如下定义的取代,以及烷基部分任选地被如下定义的取代。

[0112] 除非另外说明,术语“卤代”或“卤素”它们本身或作为另一取代基的一部分,是指氟、氯、溴或碘原子。另外,诸如“卤代烷基”的术语意在包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如,术语“C₁₋₄卤代烷基”是指包括三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基等。

[0113] 除非另有说明,术语“芳基”是指多不饱和通常为芳香性的烃基,其可以是单环或稠合在一起或共价连接的多环(最多三环)。芳基的非限制性例子包括:苯基、萘基和联苯基。

[0114] 术语“杂芳基”是指包含一至五个选自N、O和S的杂原子的芳基(或环),其中,氮和硫原子任选地被氧化,和氮原子任选被季铵化。杂芳基可通过杂原子与分子的其他部分连接。杂芳基的非限制性例子包括:吡啶基、哒嗪基、吡嗪基、嘧啶基、三嗪基、喹啉基、喹喔啉基、喹唑啉基、噌啉基(cinnolinyl)、酞嗪基(phthalazinyl)、苯并三嗪基、嘌呤基、苯并咪唑基、苯并吡唑基、苯并三唑基、苯并异恶唑基、异苯并呋喃基、异吡啶基、吡啶基、吡啶基、苯并三嗪基、噻吩并吡啶基、噻吩并嘧啶基、吡啶并嘧啶基、咪唑并吡啶基、苯并噻唑基(benzothiazolyl)、苯并呋喃基、苯并噻吩基、吡啶基、喹啉基、异喹啉基、异噻唑基、吡啶基、吡啶基、蝶啶基、咪唑基、三唑基、四唑基、恶唑基、异恶唑基、噻二唑基、吡咯基、噻唑基、呋喃基、噻吩基,以及类似基团。杂芳基环的取代基可以选自下面描述的可接受的取代基。

[0115] 在一些实施方式中,上述术语(如,“烷基”、“芳基”和“杂芳基”)可被任选地取代。下面提供各种类型的基团的选择的取代基。

[0116] 烷基(包括通常被称为亚烷基、烯基、炔基和环烷基的那些基团)任选取代基可以是选自下组的各种基团:卤素、-OR'、-NR'R''、-SR'、-SiR'R''R'''、-OC(O)R'、-C(O)R'、-CO₂R'、-CONR'R''、-OC(O)NR'R''、-NR''C(O)R'、-NR'-C(O)NR''R'''、-NR''C(O)₂R'、-NH-C(NH₂)=NH、-NR'R''C(NH₂)=NH、-NH-C(NH₂)=NR'、-S(O)R'、-S(O)₂R'、-S(O)₂NR'R''、-NR'R''S(O)₂R'、-CN、-NO₂,其数目为零至(2m'+1),其中,m'是在该基团中碳原子的总数。R'、R''和R'''各自独立地指氢、未取代的C₁₋₈烷基、未取代的芳基、被1-3个卤素取代的芳基、未取代的C₁₋₈烷基、C₁₋₈烷氧基或C₁₋₈硫代烷氧基或未取代芳基-C₁₋₄烷基基团。当R'和R''与相同的氮原子连接时,它们可与氮原子结合形成3、4、5、6或7元环。例如,-NR'R''是指包括1-吡咯烷基和4-吗啉

基。

[0117] 相似地,芳基和杂芳基可选择的取代基是变化的且通常选自:-卤素、-OR'、-OC(O)R'、-NR'R''、-SR'、-R'、-CN、-NO₂、-CO₂R'、-CONR'R''、C(O)R'、-OC(O)NR'R''、-NR''C(O)R'、-NR''C(O)₂R'、-NR'-C(O)NR''R''、-NHC(NH₂)=NH、-NR'C(NH₂)=NH、-NH-C(NH₂)=NR'、-S(O)R'、-S(O)₂R'、-S(O)₂NR'R''、-NR'S(O)₂R''、-N₃、全氟(C₁-C₄)烷氧基和全氟(C₁-C₄)烷基,其数量为零至芳族环系统上的开放价总数;其中,R'、R''和R'''独立地选自:氢、C₁₋₈烷基、C₁₋₈卤代烷基、C₃₋₆环烷基、C₂₋₈烯基和C₂₋₈炔基。其他合适的取代基包括通过1-4个碳原子的亚烷基连接到环原子的上述各芳基取代基。

[0118] 芳基或杂芳基环的相邻原子上的取代基中的二个可以任选地被式-T-C(O)-(CH₂)_q-U-取代基所替换,其中,T和U独立地为-NH-、-O-、-CH₂-或单键,并且q是0至2的整数。可选地,芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可以任选地被式-A-(CH₂)_r-B-取代基取代,其中,A和B独立地为-CH₂-、-O-、-NH-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂NR'或单键,且r为1至3的整数。如此形成的新环的单键之一可以任选地被双键取代。或者,芳基或杂芳基环的相邻原子上的取代基中的二个可以任选地被式-(CH₂)_s-X-(CH₂)_t-取代基所替换,其中,s和t独立地为0至3的整数,和X为-O-、-NR'-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-或-S(O)₂NR'-。-NR'-和-S(O)₂NR'-中的取代基R'选自:氢或未取代的C₁₋₆烷基。

[0119] 如本申请所用,术语“杂原子”意在包括氧(O)、氮(N)、硫(S)和硅(Si)。

[0120] 术语“药学上可接受的盐”意指包括用相对无毒的酸或碱(取决于本文所述化合物上存在的特定取代基)制备的活性化合物的盐。当本发明化合物含有相对较酸性的官能团时,碱加成盐可以通过使这些化合物的中性形式与足够量的所需碱无溶剂或在合适的惰性溶剂中接触而获得。衍生自药学上可接受的无机碱的盐的实例包括铝盐、铵盐、钙盐、铜盐、铁盐、亚铁盐、锂盐、镁盐、三价锰盐、二价锰盐、钾盐、钠盐、锌盐等。衍生自药学上可接受的有机碱的盐包括伯胺、仲胺和叔胺的盐,包括取代的胺、环胺、天然存在的胺等,例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙基氨基乙醇、2-二甲基氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡萄糖胺、葡萄糖胺、组氨酸、海巴明(hydrabamine)、异丙基胺、赖氨酸、甲基葡萄糖胺、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、三丙基胺、氨丁三醇以及类似基团。当本发明化合物含有相对碱性的官能团时,可以通过使这些化合物的中性形式与足够量的所需酸无溶剂的或在合适的惰性溶剂中接触而获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括衍生自无机酸如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等的那些、以及衍生自如乙酸、丙酸、异丁酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸等相对无毒的有机酸的盐。还包括氨基酸,例如精氨酸等的盐,以及有机酸,例如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸等的盐(参见,例如,Berge,S.M.等,“药用盐(Pharmaceutical Salts)”,药物科学杂志(Journal of Pharmaceutical Science),1977,66,1-19)。本发明的某些具体化合物同时含有碱性和酸性官能团,使得化合物可以转化为碱或酸加成盐。

[0121] 化合物的中性形式可通过使盐与碱或酸接触并以常规方式分离母体化合物而再生。化合物的母体形式在某些物理性质上不同于其各种盐形式,例如在极性溶剂中的溶解性,但是出于本发明目的在其他方面盐等同于化合物的母体形式。

[0122] 除了盐形式外,本发明提供了以前药形式存在的化合物。本申请所述化合物的前药是在生理条件下易于发生化学变化以提供本发明化合物的那些化合物。另外,前药可以在离体环境中通过化学或生物化学方法转化为本发明的化合物。例如,当将前药置于具有合适的酶或化学试剂的透皮贴剂储库中时,前药会缓慢地转化成本发明的化合物。

[0123] 本发明的某些化合物可以非溶剂化形式以及溶剂化形式(包括水合形式)存在。通常,溶剂化形式相当于非溶剂化形式,并且意图包括在本发明的范围内。本发明的某些化合物可以以多晶或无定形形式存在。通常,所有物理形式对于本发明预期的用途是等同的,并且意在落入本发明的范围内。

[0124] 本发明的某些化合物具有不对称碳原子(光学中心)或双键;外消旋体、非对映异构体、几何异构体、位置异构体和别个异构体(例如单独的对映异构体)均旨在包括在本发明的范围内。当显示了立体化学描述时,其意思是指其中存在一种异构体且基本上不含另一种异构体的化合物。“基本上不含”另一种异构体表示两种异构体的至少80/20比例,更优选90/10或95/5或更多。在一些实施方式中,其中一种异构体的含量至少为99%。

[0125] 本发明的化合物还可以在构成这些化合物的一个或多个原子上含有非天然比例的原子同位素。同位素的非自然比例可以定义为从自然界中发现的量到100%由所讨论的原子构成的量。例如,所述化合物可以掺入放射性同位素(例如氚(^3H)、碘-125 (^{125}I)或碳-14 (^{14}C))或非放射性同位素(如氘(^2H)或碳-13 (^{13}C))。这种同位素变化可以为本申请中其它地方描述的那些提供额外的效用。例如,本发明化合物的同位素变体可以发现其他用途,包括但不限于作为诊断和/或成像试剂,或作为细胞毒性/放射性毒性治疗剂。另外,本发明化合物的同位素变体可以具有改变的药代动力学和药效学特征,其可以有助于提高治疗期间的安全性、耐受性或功效。本发明化合物的所有同位素变体,无论是否是放射性的,均旨在被包括在本发明的范围内。

[0126] 术语“患者”或“受试者”可以互换使用,指人或非人动物(例如,哺乳动物)。

[0127] 当用于,例如,受试者、细胞、组织、器官或生物液,术语“施用”、“给药”等是指将例如CD73抑制剂,包含其的药物组合物或诊断试剂与受试者、细胞、组织、器官或生物液接触。在细胞的情况下,施用包括将试剂与细胞接触(例如体外或离体),以及试剂与流体接触,其中流体与细胞接触。

[0128] 术语“治疗”,“治疗的”,“疗法”等是指在疾病、病症或病况或其症状被诊断、观察到等后开始的作用过程(例如施用CD73抑制剂或包含其的药物组合物),以便暂时或永久地消除,减轻,压制,缓和或改善至少一种折磨受试者的疾病、病症或病况的潜在原因,或者至少一种与折磨受试者的疾病、病症,病况相关的症状。因此,治疗包括抑制(例如,阻止疾病、病症或病况或与其相关的临床症状的发展或进一步发展)活动性疾病。

[0129] 如本申请所用,术语“需要治疗”是指医师或其他护理人员做出的受试者需要或将从治疗中受益的判断。该判断是基于医师或护理人员专业知识范围内的多种因素做出的。

[0130] 术语“预防”,“预防的”,“预防法”等是指以某种方式(例如在疾病、病症或病况,或其症状发作之前)开始的作用过程(诸如施用CD73抑制剂或包含其的药物组合物),以暂时或永久地预防、压制、抑制或减轻受试者发展疾病、病症或病况等的风险(如通过缺乏临床症状所确定的)或延迟其发作,通常在倾向于患有特定疾病、病症或病况的对象的情况下。在某些情况下,术语还指减缓疾病、病症或病况的进展或抑制其发展成有害或其他不期望

的状况。

[0131] 如本申请所用,术语“需要预防”是指医师或其他护理者做出的受试者需要或将从中受益的判断。该判断是基于医师或护理人员的专业知识范围内的多种因素做出的。

[0132] 短语“治疗有效量”是指将药剂单独或作为药物组合物的一部分并且以单次剂量或作为一系列剂量的一部分施用于对象,当对对象施用时,施用量能够对疾病、病症或病况的任何症状、方面或特征具有任何可检测的积极作用。通过测量相关的生理效应可以确定治疗有效量,并且可以根据给药方案和对象病况的诊断分析等来调整治疗有效量。举例来说,在给药后的特定时间测量CD73抑制剂(或例如其代谢物)的血清水平可指示是否已使用治疗有效量。

[0133] 短语“足以实现改变的量”意指在施用特定疗法之前(例如,基线水平)和之后测量的指标水平之间存在可检测的差异。指标包括任何客观参数(例如血清浓度)或主观参数(例如,受试者的幸福感)。

[0134] 术语“小分子”是指具有小于约10kDa,小于约2kDa或小于约1kDa的分子量的化合物。小分子包括但不限于无机分子,有机分子,含有无机组成部分的有机分子,含有放射性原子的分子和合成分子。治疗上,小分子可能对细胞更易渗透,不易受降解影响,而且较大分子不易引发免疫反应。

[0135] 术语“配体”是指,例如,肽、多肽、膜相关或膜结合分子或其复合物,其可充当受体激动剂或拮抗剂。配体包括天然和合成配体,例如细胞因子、细胞因子变体、类似物、突变蛋白以及衍生自抗体的结合组合物以及小分子。该术语还包括既不是激动剂也不是拮抗剂但可以结合受体而不显著影响其生物学性质例(如信号传导或结合)的药剂。此外,该术语包括已通过例如化学或重组方法改变为膜结合配体可溶形式的膜结合配体。配体或受体可能完全是细胞内的,也就是说,它可能存在于细胞质、细胞核或一些其他细胞内区室中。配体和受体的复合物被称为“配体-受体复合物”。

[0136] 术语“抑制剂”和“拮抗剂”,或“激活剂”和“激动剂”分别指抑制性或活化性分子,例如,用于活化例如配体、受体、辅因子、基因、细胞、组织或器官。抑制剂是减少、阻断、阻止、延迟活化、使失活、脱敏或下调例如基因、蛋白质、配体、受体或细胞的分子。激活剂是增加、活化、促进、增强激活、敏化或上调例如基因、蛋白质、配体、受体或细胞的分子。抑制剂也可以定义为减少、阻断或使失活组成型(constitutive)活性的分子。“激动剂”是与靶标相互作用以引起或促进靶标活性增加的分子。“拮抗剂”是一种与激动剂作用相反分子。拮抗剂阻止、降低、抑制或中和激动剂的活性,并且拮抗剂还可以阻止、抑制或降低靶标例如靶标受体的组成型活性,即使在没有确定的激动剂的情况下。

[0137] 术语“调节”,“调节法”等是指分子(例如激活剂或抑制剂)直接或间接增加或降低CD73的功能或活性的能力。调节剂可以单独起作用,或者可以使用辅因子,例如蛋白质、金属离子或小分子。调节剂的实例包括小分子化合物和其他生物有机分子。许多小分子化合物文库(例如组合文库)可商购获得,并可作为鉴定调节剂的起点。本领域技术人员能够开发一种或多种分析法(例如,生物化学或基于细胞的分析法),其中可筛选这些化合物文库以鉴定具有期望性能的一种或多种化合物;此后,熟练的药物化学家能够通过例如合成和评估其类似物和衍生物来优化这样的一种或多种化合物。合成和/或分子模型研究也可用于鉴定激活剂。

[0138] 分子的“活性”可以描述或指代分子与配体或受体的结合；催化活性；刺激基因表达或细胞信号传导、分化或成熟的能力；抗原活性；其他分子的活性的调控等等。术语“增殖活性”包括促进对于例如正常细胞分裂，以及癌症、肿瘤、发育异常、细胞转化、转移和血管生成所需的或特异性相关的活性。

[0139] 如本申请所用，“可比较的”、“可比较的活性”、“与…可比的活性”、“可比效果”、“与…可比的效果”等是可以定量和/或定性观察的相对术语。术语的含义通常取决于使用它们的上下文。举例来说，出于定性的观点，均激活受体的两种药物可被视为具有相当的效果，但如果按照在本领域接受的分析（例如，剂量-反应分析）中或在本领域接受的动物模型中确定的一个药物的活性仅能够达到另一个药物活性的20%，则从定量观点看，可将两种药物视为缺乏相当的效果。当比较一个结果与另一个结果（例如，一个结果与参考标准比较）时，“可比较”经常（尽管不总是）意味着一个结果与参考标准偏离小于35%、小于30%、小于25%、小于20%、小于15%、小于10%、小于7%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%，或小于1%。在特定实施方案中，如果一个结果与参考标准偏差小于15%，小于10%或小于5%，则该结果与参考标准相当。作为示例而非限制，活性或效果可以指效力、稳定性、溶解度或免疫原性。

[0140] “基本上纯的”表示组分占组合物总含量的大于约50%，并且典型地大于总含量的约60%。更典型地，“基本上纯的”是指组合物中全部组分的至少75%，至少85%，至少90%或更多是感兴趣的组分。在某些情况下，感兴趣的组分将占组合物总含量的大于约90%，或大于约95%。

[0141] 当提及配体/受体，抗体/抗原或其他结合对时，术语“特异性结合”或“选择性结合”表示一种结合反应，该反应决定蛋白质在蛋白质和其他生物制剂的异质群体中的存在。因此，在指定的条件下，指定的配体与特定的受体结合并且不会以显著的量结合样品中存在的其他蛋白质。所考虑方法中的抗体或衍生自抗体的抗原结合位点的结合组合物与其抗原或其变体或突变蛋白具有至少两倍、至少十倍、至少20倍，或至少100倍大于与任何其他抗体或由它们衍生的结合组合物的亲和力。在具体实施方式中，通过例如斯卡查德(Scatchard)分析(Munsen等, 1980 *Analyt. Biochem.* 107:220-239)确定，抗体将具有大于约 10^9 升/摩尔的亲和力。

[0142] 术语“反应”，例如细胞、组织、器官或生物体的反应，包括生物化学或生理学行为的变化，例如生物区室内的浓度、密度、粘附或迁移，基因表达的速率、或分化状态的变化，其中，变化与活化、刺激或治疗相关，或者与内部机制如基因编程相关。在某些情况下，术语“活化”，“刺激”等是指由内部机制以及外部或环境因素调节的细胞活化；而术语“抑制”、“下调”等指的是相反的效果。

[0143] 在本文中可互换使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”是指任何长度的氨基酸的多聚形式，其可以包括遗传编码和非遗传编码的氨基酸，化学或生物化学修饰的或衍生的氨基酸和具有经修饰的多肽骨架的多肽。该术语包括融合蛋白，包括但不限于具有异源氨基酸序列的融合蛋白、具有异源和同源前导序列的融合蛋白、具有或不具有N末端甲硫氨酸残基的融合蛋白；免疫标记蛋白等等。

[0144] 如本文所用，术语“变体”和“同系物”可互换使用以分别指与参考氨基酸或核酸序列相似的氨基酸或DNA序列。该术语包括天然存在的变体和非天然存在的变体。天然存在的

变体包括同系物(从一个物种至另一个氨基酸或核苷酸序列分别有差异的多肽和核酸)和等位变体(从物种内一个个体至另一个氨基酸或核苷酸序列分别有差异的多肽和核酸)。因此,变体和同系物包括天然存在的DNA序列和由此编码的蛋白质及它们的同种型,以及蛋白质或基因的剪接变体。该术语还涵盖与天然存在的DNA序列的一个或多个碱基不同的核酸序列,但由于遗传密码的简并性,该核酸序列仍然翻译成对应于天然存在的蛋白质的氨基酸序列。非天然存在的变体和同系物包括分别包含氨基酸或核苷酸序列改变的多肽和核酸,其中序列的改变(例如突变蛋白)为人工引入的;例如,变化是由人类干预(“手工”)在实验室中产生的。因此,非天然存在的变体和同系物也可以指通过一个或多个保守替换和/或标签和/或偶联从而与天然存在的序列不同的那些。

[0145] 如本文所用,术语“突变蛋白”广义上指突变的重组蛋白。这些蛋白质通常携带单个或多个氨基酸取代,并且通常衍生自己已经受定点或随机诱变的克隆基因,或来自完全合成的基因。

[0146] 术语“DNA”,“核酸”,“核酸分子”,“多核苷酸”等在本文中可互换使用,指任何长度的核苷酸的聚合形式,无论是脱氧核糖核苷酸还是核糖核苷酸,或其类似物。多核苷酸的非限制性实例包括线性和环状核酸、信使RNA(mRNA)、互补DNA(cDNA)、重组多核苷酸、载体、探针、引物等。

[0147] 如本文所用,术语“肠胃外给药”是指任何非口服给药方式。肠胃外剂型通常旨在作为注射剂或输注剂给药。常见的注射类型包括静脉注射、皮下注射和肌肉注射;输注通常是静脉内给药。肠胃外给药应用的其他位置包括:硬膜外、脊柱内、鞘内、脑内、关节内、心内、真皮内、腹膜内、玻璃体内、动脉内、眶内和经气管。

[0148] 如本文所用,短语“期望的体外活性”广义上是指从对潜在治疗剂的评估(例如,生化测定)获得的任何信息(例如,效力数据),其中,其中该信息在药物开发过程中被视为良好的。例如,由于一种潜在疗法的体内评估可能成本高、劳动强度大、耗时长,因此通常首先进行一种或多种体外评估。作为一系列体外评估的例子,在第一次体外测定(例如酶促测定)中产生有利数据的潜在治疗剂可以进行进一步体外验证测定(例如基于细胞的测定)。期望的体外活性必须是在某种有意义的物质中与受试者(例如人类受试者)的活性相关的活性。

[0149] 如本文所用,术语“药代动力学”和“PK”是指体内给予受试者(例如人或啮齿动物)的生物制药制剂,从给药时间到制剂完全从体内排出的归宿(fate)。特别是,药代动力学描述了人体如何通过吸收(药物进入循环的过程)、分布(药剂分散遍布人体的液体和组织)、代谢(药物的生物转化成代谢产物)和排泄(从体内去除代谢产物和/或如果未完全代谢则去除母体生物药物)的机制来影响生物药物。代谢和排泄的两个过程有时统称为“清除”。这些过程一般统称为“ADME”参数(吸收、分布、代谢、排泄)。药代动力学参数受例如给药途径和所给药的生物药剂的剂量影响。后面定义和讨论主要的药代动力学参数。除非另有说明,否则如本文所用的这些参数具有本领域中通常赋予它们的含义。

[0150] 如本文所用,短语“期望的药代动力学参数”广义上是指在治疗剂暴露于包括受试者(例如动物模型)的测试系统后测得的有利标记,其中标记在某种程度上与治疗剂从给药时点到被完全清除的时点的命运有关。

[0151] 如本文所用,术语“半衰期”和“ $t_{1/2}$ ”是指血浆浓度降低一半的时间。治疗剂的半衰

期可用于确定获得所需血浆浓度所需的给药频次。通常,特定试剂的半衰期与给药剂量无关。

[0152] 如本文所用,术语“曲线下面积”和“AUC”(数学上称为定积分)是在血浆中的药物浓度相对于时间的曲线图中。为确定AUC,使用的近似值如下: $AUC=f([C] \times Dt)$,其中[C]是测得的浓度,Dt是两次测量之间的时间间隔。在实践中,在某些离散的时间点测量药物浓度,并使用梯形积分法来估计AUC。AUC的精度随所测量浓度的次数的增加而增加。AUC以质量(mg,g) x时间/体积表示。知道治疗剂的AUC可以测量其生物利用度。

[0153] 如本文所用,术语“生物利用度”和“F”是指到达中央“室(compartment)”的所施用药物的百分比。通常,通过例如比较静脉内给药后获得的AUC和口服后获得的AUC来测量。根据定义,静脉内给药后,获得的AUC对应于100%的生物利用度。口服后,AUC最多相当于相同的生物利用度;通常更低,有时为零。“室”表示将在其中分配药物的虚拟的体积。它可能与实际体积对应或不应对。药物以不同浓度分布的解剖区域由一个或两个(很少)三个虚拟隔室代表,其中,在这些虚拟隔室中药物浓度被视为均匀。例如,在两房室模型中,血液的体积可以称为第一室,除血液以外的整个身体的体积可以称为第二室。因此,房室的概念使模拟药物的命运(fate)成为可能。

[0154] 如本文所用,术语“分布体积”和“Vd”是指虚拟体积,以体积(例如,升)或单位质量的体积(例如,升/千克)表示,其中,通过假设药物浓度是均匀(即,平均组织浓度与血浆浓度相同)药物将被分布。可以表示为 $Vd=剂量/Co$ (初始浓度);例如,静脉注射100mg药物后,药物血浆中的初始浓度(Co)为10mg/L,其体积分布为10L。对于给定的药物,了解其在血液中的理想浓度和它的分布量可以评估应施用的剂量。

[0155] 如本文所用,术语“清除率”和“Cl”是指每单位时间变成完全不含药物(即,净化的)理论体积的分数。血浆清除率是每单位时间净化的血浆表观体积。总清除率(Cl_t)是每单位时间被完全净化的分布体积Vd的分数。总清除率取决于清除常数,因此取决于 $t_{1/2}$ 和Vd。清除率是线性动力学中的常数。

[0156] 如本文所用,术语“稳态浓度”和“C_{ss}”是指在一定次数的给药结束时达到的平衡状态。为了在反复给药时提高血浆浓度,在给药后保持残留浓度是必要的。在稳定状态下,如果给药剂量和频率保持恒定,则所获得的浓度也将恒定。在大约五个半衰期结束时达到稳态。

[0157] 如本文所用,短语“一种估计至少一种人体给药特性的方法”泛指任何提供可用于辨别与给药治疗剂至人体受试者有关的参数的信息的方法。用于估计人类剂量特性的方法的一个示例是异速缩放(allometric scaling)。

[0158] 如本文所用,术语“异速缩放”是指将在几种动物物种实验中确定的药代动力学参数值投射至其他物种并最终至人类的过程。将来自不同动物物种的药代动力学参数与体重相关联的概念(通常称为药代动力学种间缩放)已成为药物开发中的有用工具。这种投射或关联允许对候选药物的发展前景做出早期决定,形成选择药物剂量的基础,以提供所需的全身暴露水平。

[0159] 通常,种间缩放的基本原理异速方法基于幂函数,其中,将物种的体重与所需的药代动力学参数作图。清除率(Cl)、分布体积(Vd)和消除半衰期是三个最常见被推测的药代动力学参数。预测的清除率可用于估测首次对人的剂量。

[0160] 胞外5'-核苷酸酶及其抑制剂

[0161] 人CD73(也称为胞外5'-核苷酸酶;NT5E;或5NT)是一种含有574个氨基酸残基的蛋白质(登录号AAH6593)。真核CD73作为具有两个结构域的非共价同源二聚体发挥功能,其中,N-和C-末端结构域通过较链区连接,这使酶能够进行大的域运动并在开放和闭合构象之间切换(Knapp,K等,(2012)结构(Structure)20:2161-73)。

[0162] 如本文所用,术语“CD73抑制剂”、“CD73阻断剂”、“通过胞外5'-核苷酸酶的腺苷抑制剂”、“NT5E抑制剂”、“5NT抑制剂”和所有其他相关领域接受的术语是指能够在体外测定、体内模型和/或指示治疗功效的其他手段中直接或间接调节CD73受体的化合物。该术语也指在人体中表现出至少某些治疗效果的化合物。CD73抑制剂可以是竞争性的、非竞争性的或不可逆的CD73抑制剂。“竞争性CD73抑制剂”是在催化位点可逆地抑制CD73酶活性的化合物;“非竞争性CD73抑制剂”是在非催化位点可逆地抑制CD73酶活性的化合物;和“不可逆CD73抑制剂”是通过与酶形成共价键(或其他稳定的抑制酶功能手段)不可逆地消除CD73酶活性的化合物。

[0163] CD73抑制剂可以调节嘌呤能信号传导,嘌呤能信号传导是一种由嘌呤核苷酸和核苷(如ATP和腺苷)介导的细胞外信号传导。嘌呤能信号传导涉及细胞和/或附近细胞中嘌呤能受体的激活,导致细胞功能的调节。CD73的酶活性在校准递送至各种细胞(例如免疫细胞)的嘌呤能信号的持续时间、量值和化学性质中起战略性作用。这些酶活性的改变可以改变病程或决定几种病理生理事件(包括癌症、自身免疫性和炎症性疾病、感染、动脉粥样硬化和缺血再灌注损伤)的结果,表明这些胞外酶代表了管控多种疾病的新的治疗靶标。

[0164] 使用过表达CD73并使用CD73敲除小鼠的组织的研究提供了CD73抑制剂对黑色素瘤、肺癌、前列腺癌和乳腺癌具有潜在效用的证据(参见例如Sadej R.(2006)黑色素瘤研究(Melanoma Res)16:213-22)。因为CD73的高表达水平与肿瘤新血管生成、侵袭性、对化学疗法的抗性和转移相关,所以可以使用CD73抑制剂来控制肿瘤进展和转移。其他潜在效用在本文其他地方讨论。

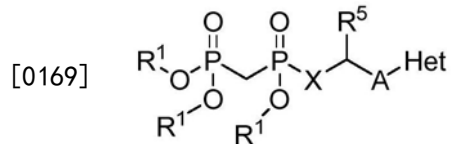
[0165] 如上所述,尽管本发明的化合物被认为通过抑制CD73发挥它们的活性,但是实施本发明不需要精确理解化合物的作用机制。例如,所述化合物还可以至少部分通过调节(例如抑制)嘌呤能信号传导途径的其他组成部分(例如CD39)来发挥它们的活性。嘌呤能信号传导系统由负责(初级)ATP及其细胞外分解产物腺苷的合成、释放、作用和细胞外失活的转运蛋白、酶和受体组成(Sperlagh,B等(2012年12月)匈牙利神经心理药理学(Neuropsychopharmacologia Hungarica)14(4):231-38)。细胞外嘌呤能信号传导的代表性阐述参见例如North RA(Oct 2002)生理学评论(Physiological Reviews)82(4):1013-67。如其中所指出的,存在用于信号传导过程调节的若干潜在机会。然而,对于本领域技术人员而言显而易见的是,这些机会中的一些比其他机会更容易处理。

[0166] 鉴定适合肠胃外给药的CD73抑制剂

[0167] 本发明部分涉及鉴定具有特定药代动力学性质的CD73的抑制剂。在一些实施方式中,特定的PK性质允许通过本文所述的方法鉴定的化合物至少每周肠胃外给药。在一些实施方式中,具有所需PK特性的化合物是根据以下评估(通常是按照设定的顺序)或其子集从本文所述的一类化合物中鉴别出来的:体外活性评估;动物中PK的测定;异速缩放;可接受的制剂特性(例如溶解度);以及适合相伴联合治疗的给药频次。在各种评估中使用的方法,

下文中将讨论其中的一些,对于本领域技术人员而言是显而易见的。例如,鉴定候选抑制剂的一个步骤可以包括利用本领域接受的测定法或模型来确定(或估计)体外活性。实验部分介绍了用于确定体外活性的代表性检测方法。

[0168] 在一个实施方式中,本发明涉及一种鉴定化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物的方法,其适合于以至少每周的间隔肠胃外施用于受试者以治疗至少部分地由CD73介导的疾病、病症或病况,所述方法包括(以任何顺序):a) 评估一类化合物所涵盖的至少一种化合物的体外活性,其中,具有所需体外活性的化合物为候选化合物;b) 确定候选化合物在受试者中的药代动力学参数,其中,具有所需药代动力学参数的候选化合物是适于以至少每周的间隔肠胃外给予受试者的化合物,其中,该类化合物具有下式:



[0170] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中,

[0171] 各R¹独立地选自下组:氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的芳基和-C(R²R²)-OC(O)-OR³,或两个R¹基团任选地结合形成5至7元环;

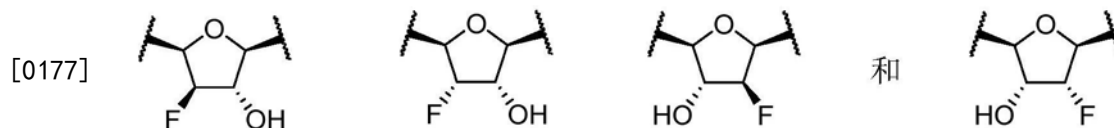
[0172] 各R²独立地选自下组:H和任选取代的C₁-C₆烷基;

[0173] 各R³独立地选自下组:H、C₁-C₆烷基和任选取代的芳基;

[0174] R⁵选自下组:H和任选取代的C₁-C₆烷基;

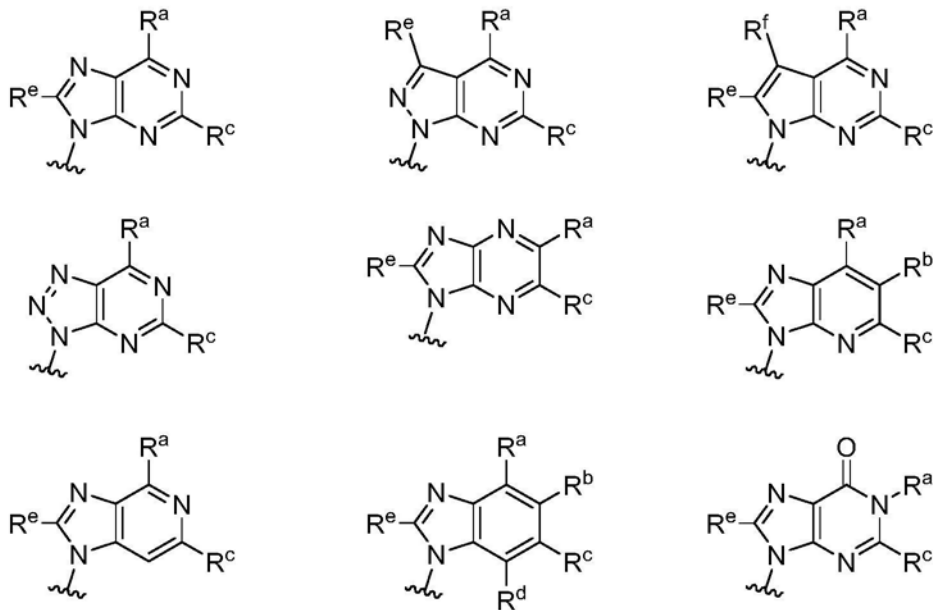
[0175] X为O;

[0176] A选自下组:

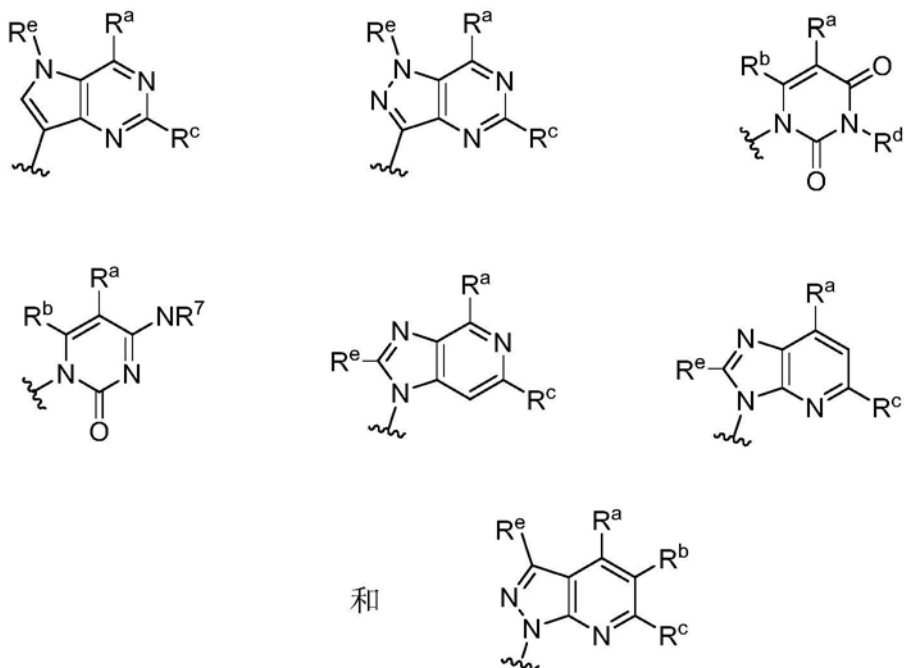


[0178] 和

[0179] Het选自下组:



[0180]

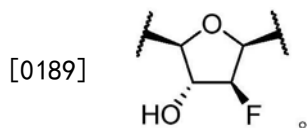


[0181] 其中,波浪线表示与化合物其余部分的连接点,并且其中:

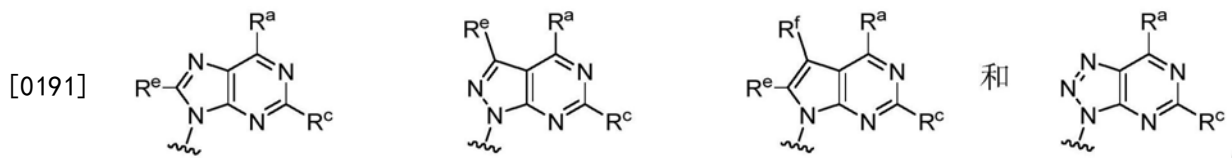
[0182] R^a 选自下组:H、 NH_2 、 NHR^7 、 NHC(O)R^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 SR^7 和 OR^7 ;[0183] R^b 选自下组:H、卤素、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH和 OR^7 ;[0184] R^c 和 R^d 独立地选自下组:H、卤素、卤代烷基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 OR^7 、 SR^7 、 SO_2R^7 、 $-\text{X}^1-\text{NH}_2$ 、 $-\text{X}^1-\text{NHR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{NR}^7\text{R}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{OH}$ 、 $-\text{X}^1-\text{OR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{SR}^7$ 和 $-\text{X}^1-\text{SO}_2\text{R}^7$;[0185] R^e 和 R^f 独立地选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1 - C_6 烷基;[0186] 各 X^1 为 C_1 - C_4 亚烷基;和[0187] 各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的4-7元环杂烷基、任选取代的4-7元环杂烷基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基 C_1 - C_4 烷

基、任选取代的芳基C₂-C₄烯基、任选取代的芳基C₂-C₄炔基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基C₁-C₄烷基、任选取代的杂芳基C₁-C₄烯基和任选取代的杂芳基C₂-C₄炔基；和任选地，连接在氮原子上的两个R⁷基团连接在一起形成4至7元杂环，其任选地与芳环稠合。

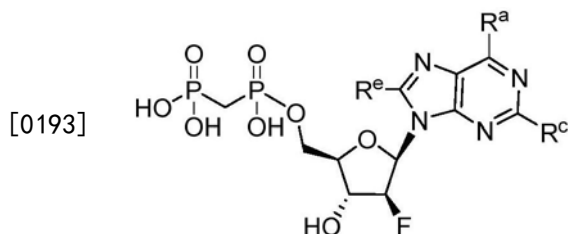
[0188] 在鉴定上述化合物的方法的一些实施方式中，A为



[0190] 在鉴定化合物的方法的其他实施方式中，Het选自下组：

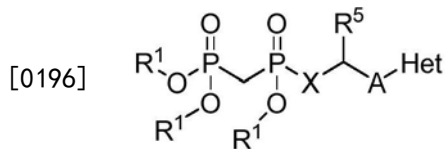


[0192] 在上述鉴定化合物的方法的其他实施方式中，所述化合物具有下式：



[0194] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。在某些实施方式中，所述化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，R^a选自下组：NH₂、NHR⁷、NR⁷R⁷、SR⁷和OR⁷。在某些另外的实施方式中，所述化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，R^c选自下组：卤素、R⁷、OR⁷、SR⁷、SO₂R⁷、-X¹-NH₂、-X¹-NHR⁷、-X¹-NR⁷R⁷、-X¹-OH、-X¹-OR⁷、-X¹-SR⁷和-X¹-SO₂R⁷。在某些又一另外的实施方式中，所述化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，R^e为H。

[0195] 在另一实施方式中，本发明涉及一种鉴定化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物的方法，其适合于以至少每周的间隔肠胃外施用于受试者以治疗至少部分地由CD73介导的疾病、病症或病况，所述方法包括（以任何一种顺序）：a) 评估一类化合物所涵盖的至少一种化合物的体外活性，其中，具有所需体外活性的化合物为候选化合物；和b) 确定候选化合物在受试者中的药代动力学参数，其中，具有所需药代动力学参数的候选化合物是适于以至少每周的间隔肠胃外给予受试者的化合物，其中，该类化合物具有下式：



[0197] 其中，

[0198] 各R¹独立地选自下组：氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的芳基和-C(R²R²)-O(O)-OR³，或两个R¹基团任选地组合以形成5至7元环；

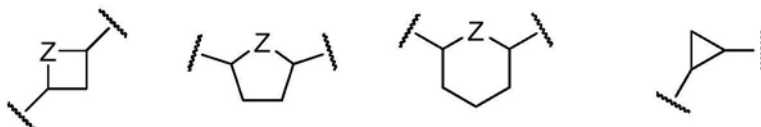
[0199] 各R²独立地选自下组：H和任选取代的C₁-C₆烷基；

[0200] 各R³独立地选自下组：H、C₁-C₆烷基和任选取代的芳基；

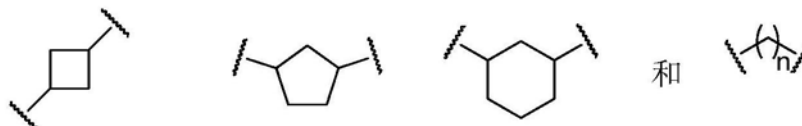
[0201] R⁵选自下组：H和任选取代的C₁-C₆烷基；

[0202] X选自下组：O、CH₂和S；

[0203] A选自下组:



[0204]

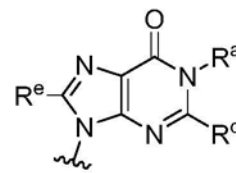
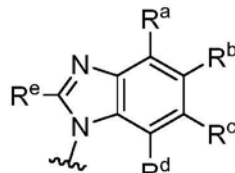
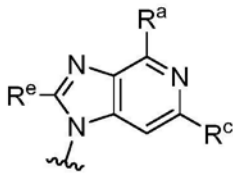
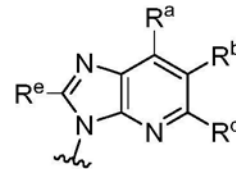
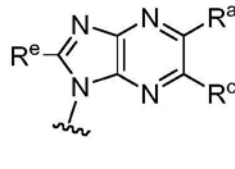
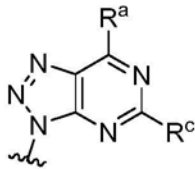
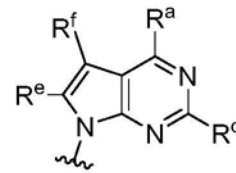
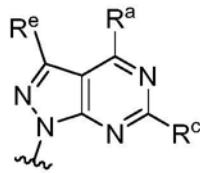
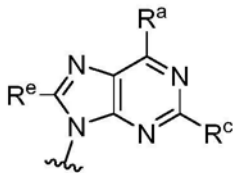


[0205] 其各自任选被1至5个 R^6 取代基取代,并且其中,下标n是0至3的整数;

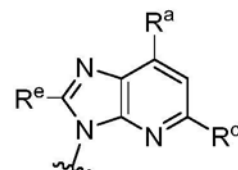
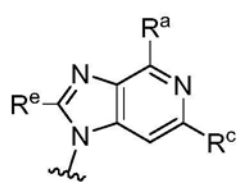
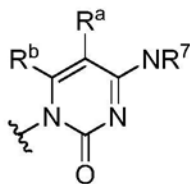
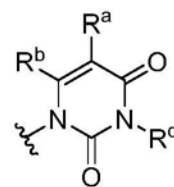
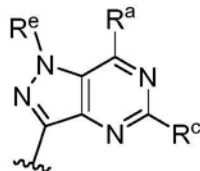
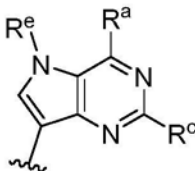
[0206] Z选自下组: CH_2 、 CHR^6 、 NR^6 和0;

[0207] 各 R^6 独立地选自下组:H、 CH_3 、OH、CN、F、任选取代的 C_1 - C_6 烷基和O(C)- C_1 - C_6 烷基;和任选地,相邻环顶点上的两个 R^6 基团连接在一起,以形成具有至少一个杂原子作为环顶点的5至6元环;和

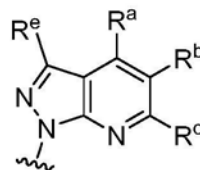
[0208] Het选自下组:



[0209]



和



[0210] 其中,波浪线表示与化合物其余部分的连接点,并且其中:

[0211] R^a 选自下组:H、 NH_2 、 NHR^7 、 NHC(O)R^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 SR^7 和 OR^7 ;

[0212] R^b 选自下组:H、卤素、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH和 OR^7 ;

[0213] R^c 和 R^d 独立地选自下组:H、卤素、卤代烷基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 OR^7 、 SR^7 、 SO_2R^7 、 $-\text{X}^1-\text{NH}_2$ 、 $-\text{X}^1-\text{NHR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{NR}^7\text{R}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{OH}$ 、 $-\text{X}^1-\text{OR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{SR}^7$ 和 $-\text{X}^1-\text{SO}_2\text{R}^7$;

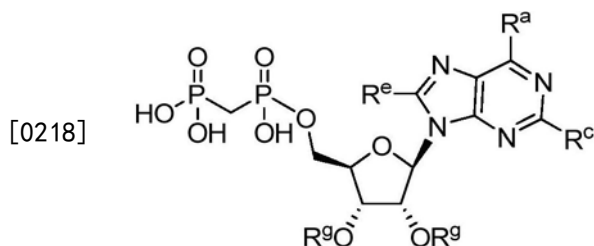
[0214] R^e 和 R^f 独立地选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1-C_6 烷基;

[0215] 各 X^1 为 C_1-C_4 亚烷基;和

[0216] 各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1-C_{10} 烷基、任选取代的 C_2-C_{10} 烯基、任选取代的 C_2-C_{10} 炔基、任选取代的 C_3-C_7 环烷基、任选取代的 C_3-C_7 环烷基 C_1-C_4 烷基、任选取代的4-7元环杂烷基、任选取代的4-7元环杂烷基 C_1-C_4 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基 C_1-C_4 烷

基、任选取代的芳基C₂-C₄烯基、任选取代的芳基C₂-C₄炔基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基C₁-C₄烷基、任选取代的杂芳基C₁-C₄烯基和任选取代的杂芳基C₂-C₄炔基；和任选地，连接在氮原子上的两个R⁷基团连接在一起形成4至7元杂环，其任选地与芳环稠合；

[0217] 限定条件是：这些化合物不是X、A和Het组合形成下式的那些化合物



[0219] 其中，R^g为H或两个R^g基团结合形成缩丙酮(acetonide)；并且

[0220] (i) R^c和R^e为氢，R^a为-OEt、-OCH₂Ph、-SCH₂Ph、-NH₂、甲胺基、乙胺基、二甲胺基、二乙胺基、N-甲基-N-乙胺基、苯胺基、苄基胺基、1-苯基乙基胺基、2-苯基乙基胺基、N-苄基-N-乙基胺基、N-苄基-N-甲基胺基、二苄基胺基、4-氨基苄基胺基、2-氯苄基胺基、3-氯苄基胺基、4-氯苄基胺基、4-羟基苄基胺基、4-甲氧基苄基胺基、4-硝基苄基胺基或4-氨基磺酰基苄基胺基；或

[0221] (ii) R^c为氢，R^a为-NH₂，R^e为溴、氯、氨基或硫代乙基；或

[0222] (iii) R^c为氢，R^a为苄胺基，R^e为溴；或

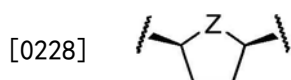
[0223] (iv) R^c为氨基，R^e为氢，且R^a为-NH₂、二甲基胺基、二乙基胺基、苄基胺基或N-苄基-N-甲基胺基；或

[0224] (v) R^c为氯，R^e为氢，且R^a为-NH₂、苄胺基、2-氯苄胺基、1-苯基乙基胺基、(S)-1-苯基乙基胺基、(R)-1-苯基乙基胺基或N-苄基-N-甲基胺基；或

[0225] (vi) R^c为碘，R^e为氢，且R^a为-NH₂、苄胺基或N-苄基-N-甲基胺基；或

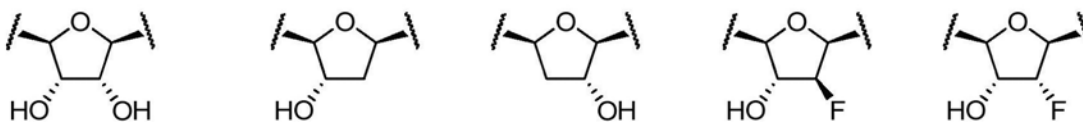
[0226] (vii) R^a为氨基，R^e为氢，且R^c为哌嗪基、硫代烯丙基或环己基乙基硫基。

[0227] 在鉴定化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物的方法的一些实施方式中，A为：

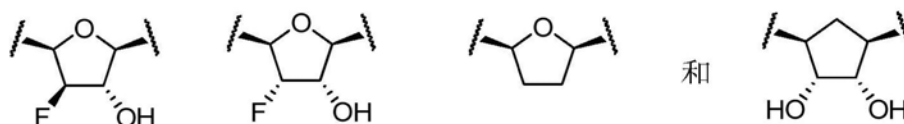


[0229] 其任选地被1至5个R⁶取代。

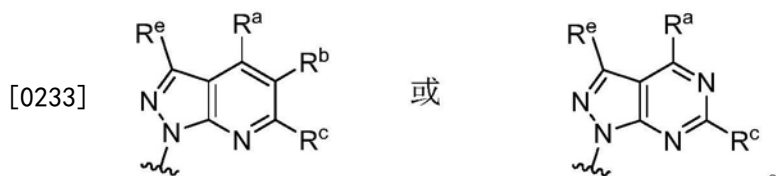
[0230] 在鉴定化合物的方法的又一其他实施方式中，A选自下组：



[0231]



[0232] 在鉴定化合物的方法的特定实施方式中，Het具有下式：



[0234] 在特定的实施方式中,本发明涵盖鉴定化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物的方法,其中、所述化合物选自本文列出的表3的化合物。

[0235] 在其他实施方式中,本发明涵盖鉴定化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物的方法,其中,所述受试者为啮齿动物(例如小鼠或大鼠)、非人灵长类动物(例如食蟹猴或恒河猴)或人。

[0236] 本发明还涵盖了其中前述方法包括进一步进行用于估计至少一种人类剂量特性的方法(例如,异速缩放)的实施方式。

[0237] 在本文涵盖的方法的其他实施方式中,可以评估化合物以确定其是否适合肠胃外给药。这样的评估可以包括例如对溶解度和稳定性的评估。

[0238] 还可以评估化合物以确定其是否具有适合于伴随联合疗法的给药频次。这样的评估可以包括评估与免疫肿瘤抗体疗法(例如,与免疫检查点抑制剂的伴随疗法)相一致的药代动力学性质。

[0239] 在其他实施方式中,本领域普通技术人员将能够根据化合物的特性得出结论,化合物将具有允许至少每周的肠胃外(例如静脉内)给药的药代动力学特性(例如,至少每周维持治疗功效)。这些特征可能包括化合物的结构特征,这些结构特征决定了化合物的代谢命运。

[0240] 鉴定后,可以通过使用提供有关其潜在商业可行性数据的技术进一步评估候选抑制剂。候选抑制剂与参考标准(其可能是目前抑制剂中“最好的”)的比较表明这些候选物的潜在可行性。可用作参照或基准化合物的CD73抑制剂包括由Bhattarai等人((2015)药物化学杂志(J Med Chem) 58:6248-63)描述的 α , β -亚甲基-ADP(AOPCP)及其衍生物和类似物,以及PCT公开号2015/164573报道的嘌呤CD73衍生物。本领域技术人员后续鉴定的其他参考化合物也可用于评估候选CD73抑制剂的活力。

[0241] 本发明还部分涉及鉴定具有治疗相关性多个特征的CD73抑制剂,特别是与可导致4天至约4周的给药期的在体内的半衰期较长有关。候选抑制剂可通过使用例如本领域接受的测定法或模型来鉴定,其实例对于本领域技术人员来说是显而易见的。用于确定本文所述化合物的CD73抑制活性的测定在实验部分中阐述。

[0242] 鉴定后,候选抑制剂可以通过使用提供关于抑制剂特征的数据(例如,药代动力学参数)的技术进一步评估。候选抑制剂与参考标准(其可能是目前抑制剂中“最好的”)的比较表明这些候选物的潜在活力。

[0243] 为了使用本文所述的某些治疗方法,候选CD73抑制剂将被进一步评估为具有小于10nM的CD73抑制能力;和选自下组的其他特征:

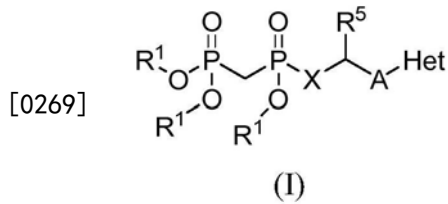
[0244] (i) 在Caco-2细胞中的渗透率 $<6 \times 10^{-6}$ cm/秒;

[0245] (ii) 人血浆蛋白结合率 $>98\%$;

[0246] (iii) 在人类肝细胞存在下的高稳定性,表示为 $CL_{INT} < 10 \mu\text{L}/\text{min}/\text{百万细胞}$;

[0247] (iv) 拓扑极性表面积 $>160 \text{ \AA}^2$;

- [0248] (v) $c\text{LogD} < -3$;
- [0249] (vi) $c\text{LogP} < 1$;
- [0250] (vii) 10至24个H键供体/受体;和
- [0251] (viii) 在水或盐水中的溶解度大于10mg/mL。
- [0252] 可用作参照或基准化合物的CD73抑制剂包括由Bhattarai等人((2015) J Med Chem 58:6248-63)描述的 α, β -亚甲基-ADP (AOPCP) 及其衍生物和类似物, 以及PCT公开号2015/164573报道的嘌呤CD73衍生物。本领域技术人员后续鉴定的其他参考化合物也可用于评估候选CD73抑制剂的活力。
- [0253] 鉴定CD73抑制剂的测试
- [0254] 一方面, 本文提供了鉴定长半衰期CD73抑制剂的方法。通常, 根据本文的方法或已知方案测定候选化合物的CD73抑制作用。用于进一步评估的合适候选化合物是那些表现出小于10nM的CD73抑制能力的化合物。
- [0255] 在选择其他候选化合物之后, 可以按以下步骤进行一系列具有各种特性的筛选或过滤:
- [0256] (i) Caco-2细胞通透性测定, 其中, 进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $< 6 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$;
- [0257] (ii) 人血浆蛋白结合测定, 其中, 进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $> 98\%$;
- [0258] (iii) 在水或盐水中的溶解度评估, 其中, 进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $> 10 \text{ mg/mL}$;
- [0259] (iv) 候选抑制剂的拓扑极性表面积的确, 其中进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $> 160 \text{ \AA}^2$;
- [0260] (v) 候选抑制剂的 $c\text{LogD}$ 的确定, 其中, 进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 < -3 ;
- [0261] (vi) 候选抑制剂的 $c\text{LogP}$ 的确定, 其中, 进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 < 1 ;
- [0262] (vii) 候选抑制剂的H键供体/受体数目的确定, 其中, 进一步考虑所述候选抑制剂的阈值 ≥ 10 ;
- [0263] (viii) 人肝细胞中候选抑制剂的稳定性的确定, 其中, 进一步考虑所述候选抑制剂的阈值为 $\text{CLINT} < 10 \text{ uL/min/百万细胞}$;和
- [0264] (ix) 候选抑制剂上的任何酸性部分的鉴定, 其中, 用于进一步考虑所述候选抑制剂的酸性部分的阈值数目是至少一个酸性部分 $\text{pKa} < 3$ 。
- [0265] 本领域技术人员将意识到, 可以使用可商购的程序来完成某些评估, 这些程序利用化合物的化学结构来确定, 例如, (iv) 候选化合物的拓扑表面积, (v) 候选化合物的 $c\text{LogD}$, (vi) 候选化合物的 $c\text{LogP}$, (vii) 作为候选化合物的结构元素存在的H键供体/受体基团的数目, 以及 (ix) 存在于候选化合物上的酸性官能团的数目/识别 (identify)。
- [0266] 产生其长半衰期并在本文所述方法中使用的候选化合物的其他特性来自细胞渗透性测定、血浆蛋白结合测定、溶解度(水或盐水)测定和肝细胞稳定性的评估分析。指示候选化合物积极的结果的阈值如上所述。在实施例中提供了适合这些评价的测定方法。
- [0267] 本发明的化合物
- [0268] 本文提供的具有式(I)的化合物, 其是根据本文所述的教导用于肠胃外给药的候选化合物:



[0270] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中,

[0271] 各R¹独立地选自下组:氢、任选取代的C₁-C₆烷基、任选取代的芳基和-C(R²R²)-OC(O)-OR³,或两个R¹基团任选地结合以形成5至7元环;

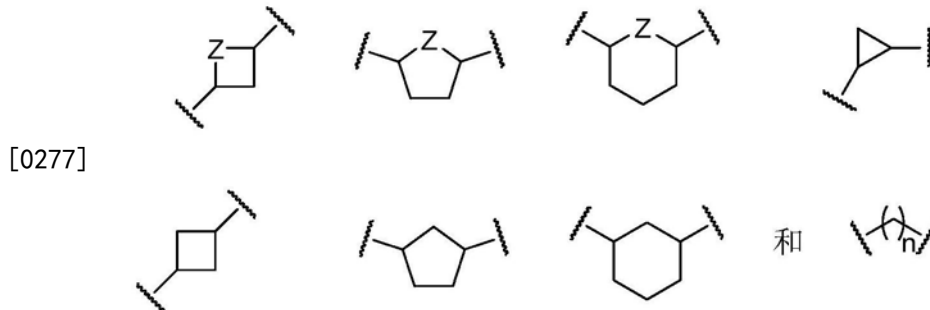
[0272] 各R²独立地选自下组:H和任选取代的C₁-C₆烷基;

[0273] 各R³独立地选自下组:H、C₁-C₆烷基和任选取代的芳基;

[0274] R⁵选自下组:H和任选取代的C₁-C₆烷基;

[0275] X选自下组:O、CH₂和S;

[0276] A选自下组:

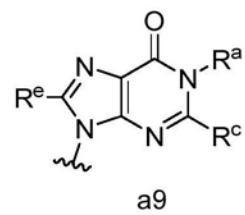
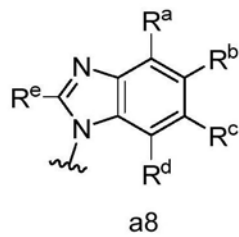
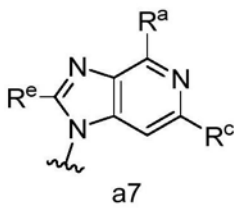
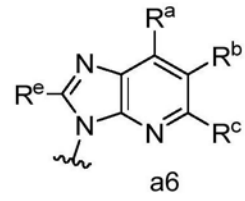
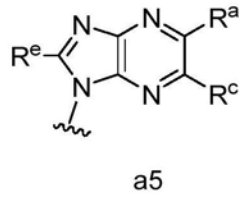
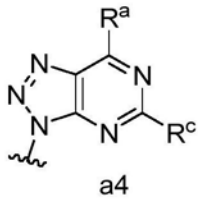
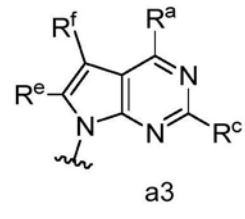
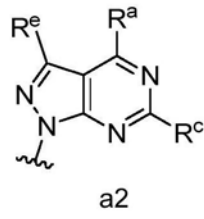
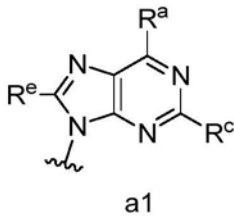


[0278] 其各自任选被1至5个R⁶取代基取代,并且其中,下标n是0至3的整数;

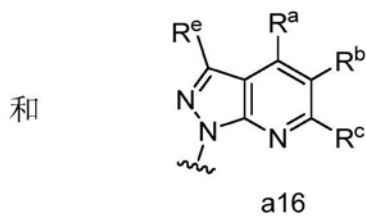
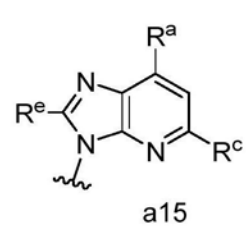
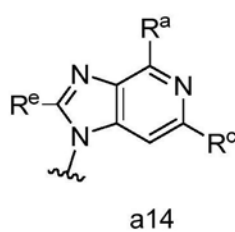
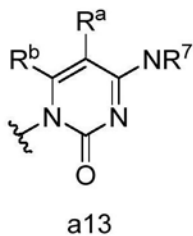
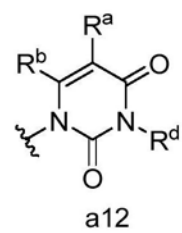
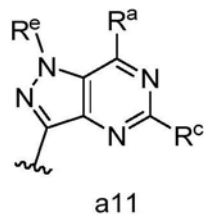
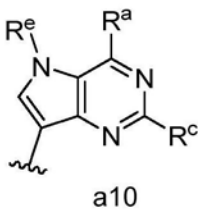
[0279] Z选自下组:CH₂、CHR⁶、NR⁶和O;

[0280] 各R⁶独立地选自下组:H、CH₃、OH、CN、F、任选取代的C₁-C₆烷基和OC(O)-C₁-C₆烷基;和任选地,相邻环顶点上的两个R⁶基团连接在一起,以形成具有至少一个杂原子作为环顶点的5至6元环;和

[0281] Het选自下组:



[0282]



[0283] 其中,波浪线表示与化合物其余部分的连接点,并且其中:

[0284] R^a 选自下组:H、 NH_2 、 NHR^7 、 NHC(O)R^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 SR^7 和 OR^7 ;

[0285] R^b 选自下组:H、卤素、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH和 OR^7 ;

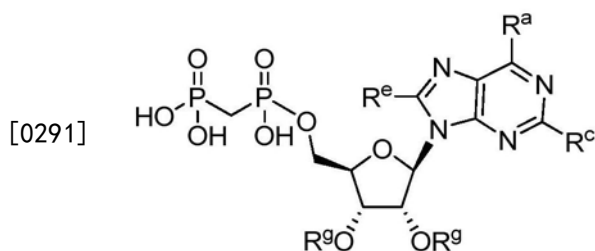
[0286] R^c 和 R^d 独立地选自下组:H、卤素、卤代烷基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 OR^7 、 SR^7 、 SO_2R^7 、 $-\text{X}^1-\text{NH}_2$ 、 $-\text{X}^1-\text{NHR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{NR}^7\text{R}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{OH}$ 、 $-\text{X}^1-\text{OR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{SR}^7$ 和 $-\text{X}^1-\text{SO}_2\text{R}^7$;

[0287] R^e 和 R^f 独立地选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1-C_6 烷基;

[0288] 各 X^1 为 C_1 - C_4 亚烷基;和

[0289] 各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的4-7元环杂烷基、任选取代的4-7元环杂烷基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的芳基 C_2 - C_4 烯基、任选取代的芳基 C_2 - C_4 炔基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的杂芳基 C_1 - C_4 烯基和任选取代的杂芳基 C_2 - C_4 炔基;和任选地,连接在氮原子上的两个 R^7 基团连接在一起形成4至7元杂环,其任选地与芳环稠合;

[0290] 限定条件是:这些化合物不是X、A和Het组合形成下式的那些化合物



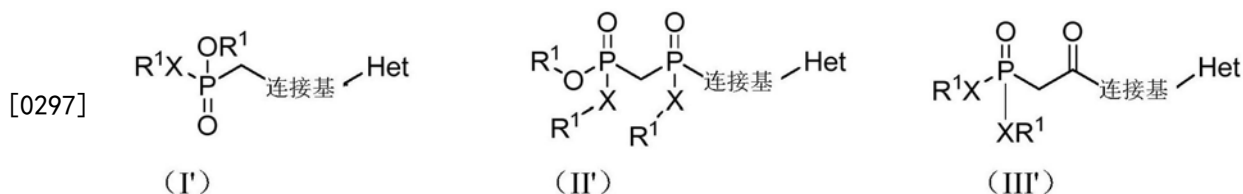
[0292] 其中, R^8 为H或两个 R^8 基团结合形成缩丙酮(acetonide);以及

[0293] (i) R^c 和 R^e 为氢, R^a 为-OEt、-OCH₂Ph、-SCH₂Ph、-NH₂、甲胺基、乙胺基、二甲胺基、二乙胺基、N-甲基-N-乙胺基、苯胺基、苄基胺基、2-苯基乙基胺基、N-苄基-N-乙基胺基、二苄基胺基、4-氨基苄基胺基、4-氯苄基胺基、4-硝基苄基胺基或4-氨基磺酰基苄基胺基;或

[0294] (ii) R^c 为氢, R^a 为-NH₂, R^e 为溴、氯、氨基或硫代乙基;或

[0295] (iii) R^c 为氢, R^a 为苄胺基,且 R^e 为溴。

[0296] 在相关的实施方案中,本文提供具有式(I')、(II')或(III')的化合物:



[0298] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中,

[0299] 各 R^1 独立地选自下组:氢、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、任选取代的芳基、-C(R^2R^2)-O-C(O)-OR³、-C(R^2R^2)-O-C(O)R³和-C(R^2R^2)C(O)OR³,或两个 R^1 基团组合形成5至6元环;

[0300] 各 R^2 独立地选自下组:H和任选取代的 C_1 - C_6 烷基;

[0301] 各 R^3 独立地选自下组:H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基 C_1 - C_6 烷基和任选取代的芳基;

[0302] 各X独立地选自下组:O、NH和S;

[0303] Het为6,5-或6,6-稠合的杂芳基环系统,其为取代或未取代的;和

[0304] 各连接基独立地为非环、环状,或非环与环状组合的基团,其将Het连接至式(I')、(II')或(III')的每一个中指定的原子,并在连接的基团之间提供2至10个原子的间距;

[0305] 并且其中,所述化合物具有至少三个选自下组的特征:

[0306] (i) 在Caco-2细胞中的渗透率 $<6 \times 10^{-6}$ cm/秒;

[0307] (ii) 人血浆蛋白结合 $>98\%$;

[0308] (iii) 在人类肝细胞存在下的高稳定性,表示为 $CL_{INT} < 10 \text{ uL/min/百万细胞}$;

[0309] (iv) 拓扑极性表面积 $>160 \text{ \AA}^2$;

[0310] (v) $c\text{LogD} < -3$;

[0311] (vi) $c\text{LogP} < 1$;

[0312] (vii) 10至24个H键供体/受体;

[0313] (viii) 在水或盐水中的溶解度大于10mg/mL;和

[0314] (ix) CD73抑制效力小于10nM。

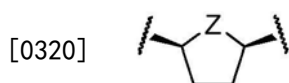
[0315] 对于上式,术语“任选取代的”用于与烷基、环烷基、环杂烷基、芳基和杂芳基相关。在这些基团中的每一个中,一些选定的可取代基如下:

[0316] 烷基基团:卤素、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{SiR}'\text{R}''\text{R}'''$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{CONR}'\text{R}''$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'-\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'''$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{CN}$ 和 $-\text{NO}_2$ 。 R' 、 R'' 和 R''' 各自独立地指氢、未取代的 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 卤代烷基。当 R' 和 R'' 与相同的氮原子连接时,或当 R'' 和 R''' 与相同的氮连接时,它们可与氮原子结合形成3、4、5、6或7元环。例如, $-\text{NR}'\text{R}''$ 是指包括1-吡咯烷基和4-吗啉基。

[0317] 环烷基基团和环杂烷基基团:上面用于“烷基”的选定的取代基也可用于环烷基和环杂烷基。另外,各环烷基和环杂烷基可任选被氧代基(=O)取代。

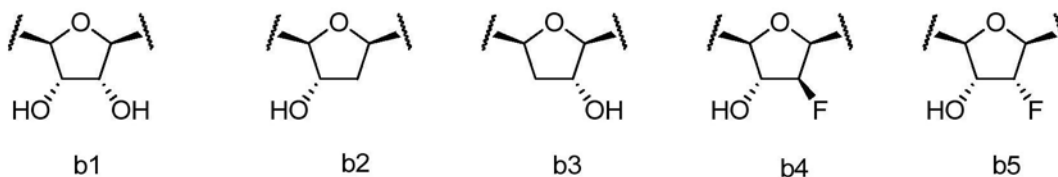
[0318] 芳基基团和杂芳基基团: $-\text{卤素}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{R}'$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{CONR}'\text{R}''$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'-\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'''$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{S}(\text{O})_2\text{R}''$ 和全氟(C_{1-4})烷基,其中, R' 、 R'' 和 R''' 独立地选自:氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基和 C_{3-6} 环烷基。

[0319] 在一组选定的实施方式中,提供式(I)化合物,其是根据本文所述的教导用于肠胃外给药的候选者,其中,A具有下式:

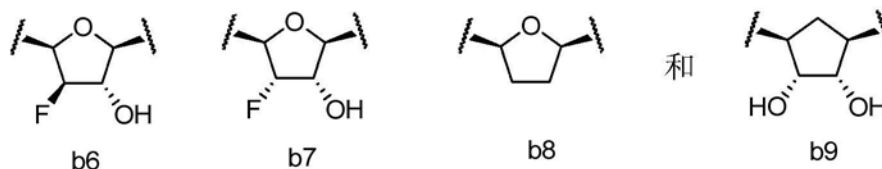


[0321] 其任选地被1至5个 R^6 取代。

[0322] 在另一组选定的实施方式中,提供根据本文所述的教导作为肠胃外给药的候选的式(I)化合物,其中,A具有选自下组的通式:



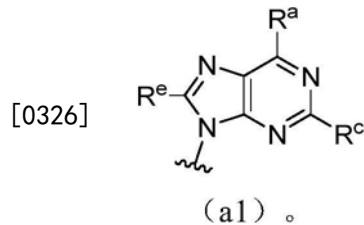
[0323]



[0324] 在一些选定的实施方式中,a1至a16中的任何一个可以独立地与b1至b9中的一个组合,以提供式(I)的选定的实施方式。例如,本文提供具有以下Het-A-的组合的式(I)化合物:a1/b1;a1/b2;a1/b3;a1/b4;a1/b5;a1/b6;a1/b7;a1/b8;a1/b9;a2/b1;a2/b2;a2/b3;a2/b4;a2/b5;a2/b6;a2/b7;a2/b8;a2/b9;a3/b1;a3/b2;a3/b3;a3/b4;a3/b5;a3/b6;a3/

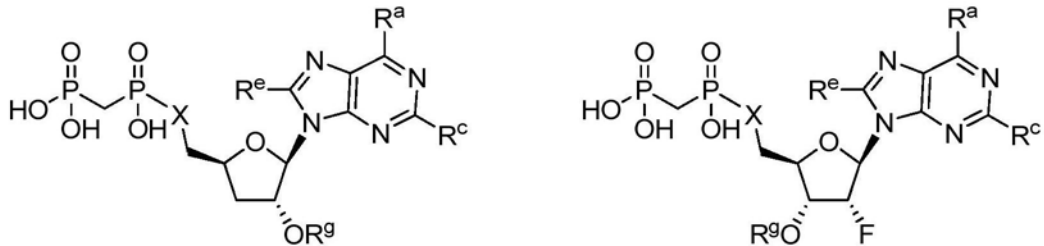
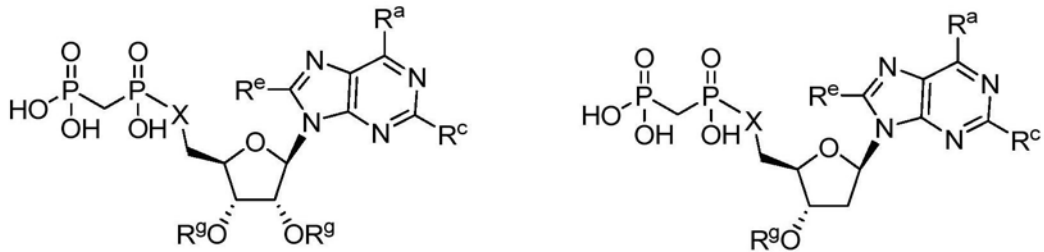
b7;a3/b8;a3/b9;a4/b1;a4/b2;a4/b3;a4/b4;a4/b5;a4/b6;a4/b7;a4/b8;a4/b9;a5/b1;a5/b2;a5/b3;a5/b4;a5/b5;a5/b6;a5/b7;a5/b8;a5/b9;a6/b1;a6/b2;a6/b3;a6/b4;a6/b5;a6/b6;a6/b7;a6/b8;a6/b9;a7/b1;a7/b2;a7/b3;a7/b4;a7/b5;a7/b6;a7/b7;a7/b8;a7/b9;a8/b1;a8/b2;a8/b3;a8/b4;a8/b5;a8/b6;a8/b7;a8/b8;a8/b9;a9/b1;a9/b2;a9/b3;a9/b4;a9/b5;a9/b6;a9/b7;a9/b8;a9/b9;a10/b1;a10/b2;a10/b3;a10/b4;a10/b5;a10/b6;a10/b7;a10/b8;a10/b9;a11/b1;a11/b2;a11/b3;a11/b4;a11/b5;a11/b6;a11/b7;a11/b8;a11/b9;a12/b1;a12/b2;a12/b3;a12/b4;a12/b5;a12/b6;a12/b7;a12/b8;a12/b9;a13/b1;a13/b2;a13/b3;a13/b4;a13/b5;a13/b6;a13/b7;a13/b8;a13/b9;a14/b1;a14/b2;a14/b3;a14/b4;a14/b5;a14/b6;a14/b7;a14/b8;a14/b9;a15/b1;a15/b2;a15/b3;a15/b4;a15/b5;a15/b6;a15/b7;a15/b8;a15/b9;a16/b1;a16/b2;a16/b3;a16/b4;a16/b5;a16/b6;a16/b7;a16/b8;或16/b9。

[0325] 在其他又一选定的实施方式中,提供式(I)化合物,其是根据本文所述的教导用于肠胃外给药的候选者,其中,Het具有下式:

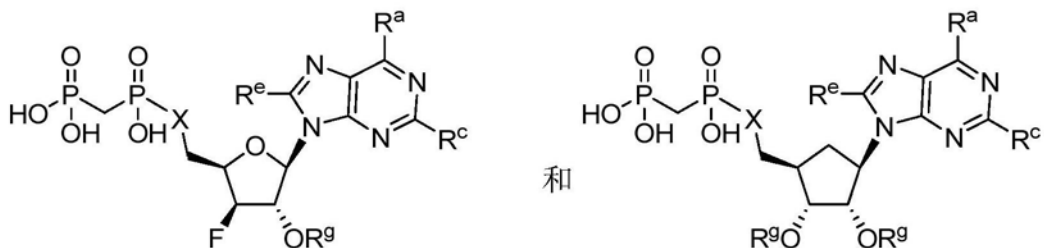
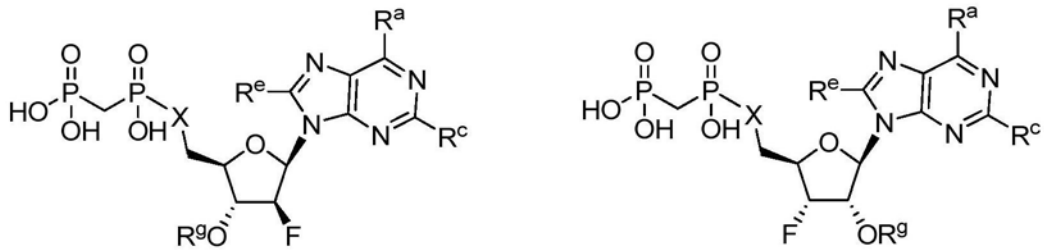


[0327] 在一些选择的实施方案中, R^c 不为H。

[0328] 在又一其他选定的实施方式中,提供式(I)化合物,其是根据本文所述的教导用于肠胃外给药的候选者,其由以下子式之一表示:

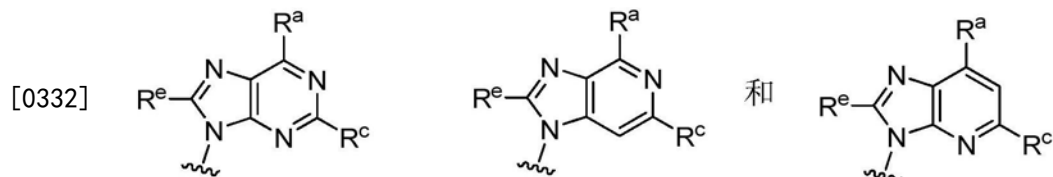


[0329]



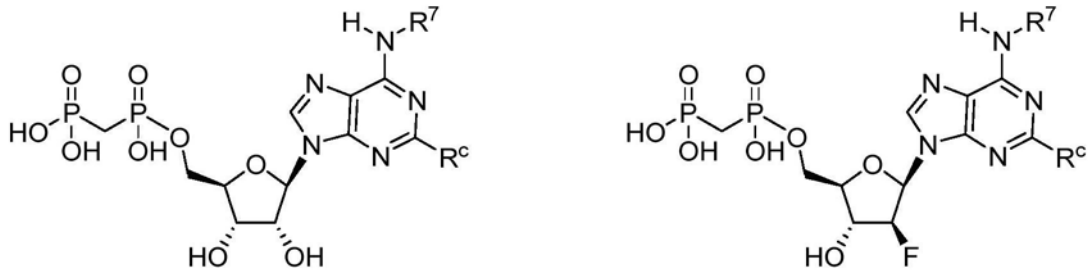
[0330] 其中,各 R^g 独立地选自:H和C(0)- C_6 烷基。上述子式的进一步选择的实施方式是其中X为氧的那些。在上述子式的其他选定的实施方式中,X为氧,且 R^e 为氢。在上述子式的其他选定的实施方式中,X为氧, R^e 为氢,并且各 R^g 为氢。

[0331] 在另一组选定的实施方式中,提供式(I)化合物,其是根据本文所述的教导用于肠胃外给药的候选者,其中,Het选自:

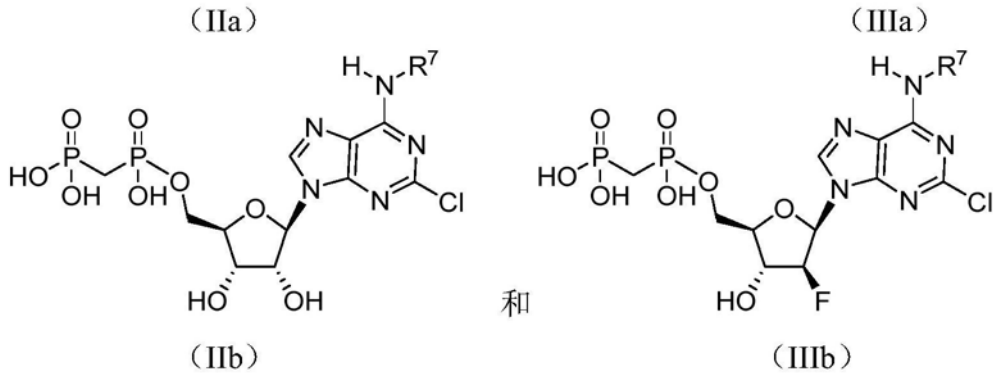


[0333] 其中, R^a 、 R^c 和 R^e 具有参考上式(I)提供的含义。在另一些选定的实施方式中, R^5 为H,X为O,且各 R^1 为H。在另一些选定的实施方式中, R^5 为H,X为O,各 R^1 为H, R^e 为H,和 R^a 选自下组: NH_2 、 NHR^7 和 $(R^7)_2$ 。在其他选定的实施方式中, R^5 为H,X为O,各 R^1 为H, R^e 为H, R^c 不为H,和 R^a 为 NHR^7 。

[0334] 根据本文所述的教导,作为用于肠胃外给药的候选者的式(I)的其他选定实施方式为具有选自以下的子式的化合物:

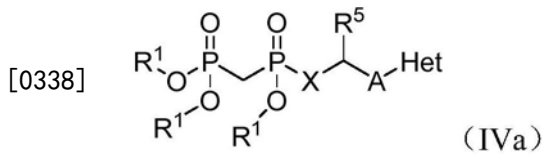


[0335]



[0336] 其中, R^7 和 R^c 具有关于式(I)以及本文所述的某些选定实施方式所提供的含义。

[0337] 在一组实施方式中,本文还提供作为根据本文所述的教导用于肠胃外给药的候选者的具有下式的化合物:



[0339] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中,

[0340] 各 R^1 独立地选自下组:氢、任选取代的 C_1-C_6 烷基、任选取代的芳基和 $-C(R^2R^2)-OC(O)-OR^3$,或两个 R^1 基团任选地结合以形成5至7元环;

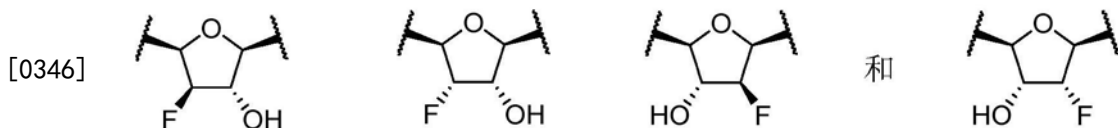
[0341] 各 R^2 独立地选自下组:H和任选取代的 C_1-C_6 烷基;

[0342] 各 R^3 独立地选自下组:H、 C_1-C_6 烷基和任选取代的芳基;

[0343] R^5 选自下组:H和任选取代的 C_1-C_6 烷基;

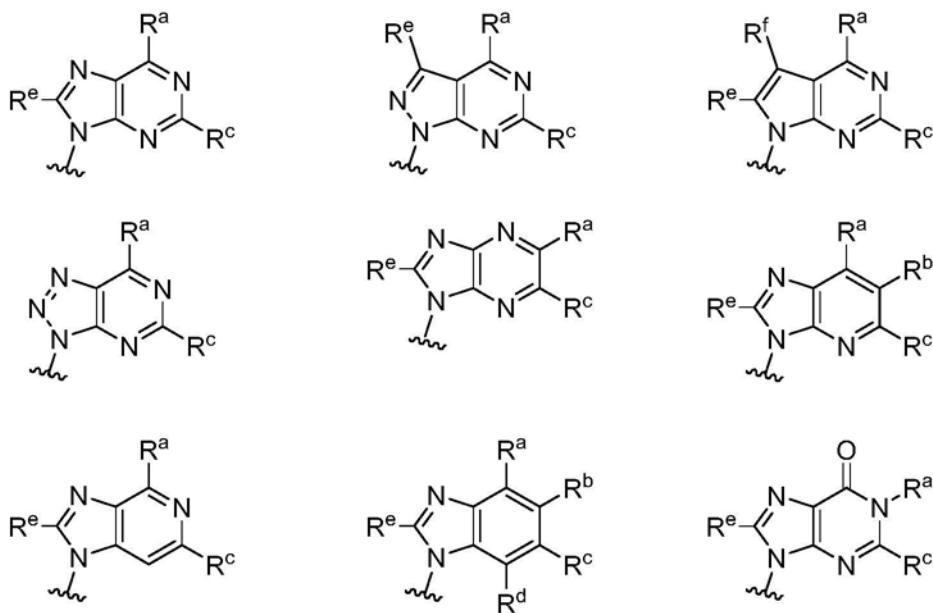
[0344] X为O;

[0345] A选自下组:

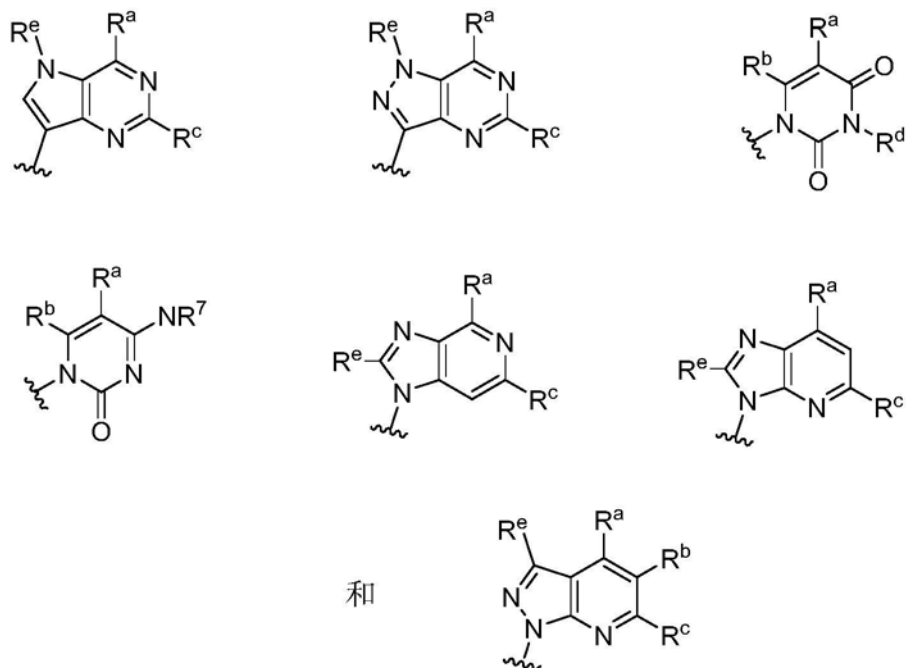


[0347] 和

[0348] Het选自下组:



[0349]

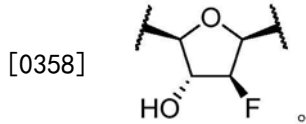


[0350] 其中,波浪线表示与化合物其余部分的连接点,并且其中:

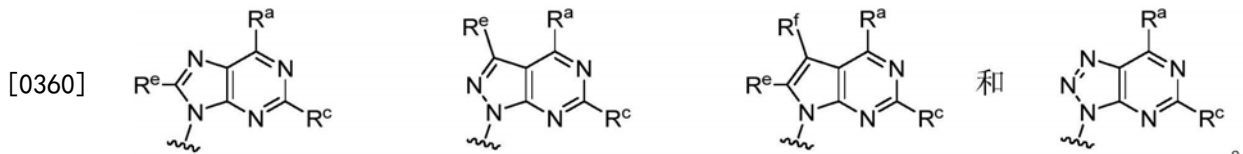
[0351] R^a 选自下组:H、 NH_2 、 NHR^7 、 NHC(O)R^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 SR^7 和 OR^7 ;[0352] R^b 选自下组:H、卤素、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH和 OR^7 ;[0353] R^c 和 R^d 独立地选自下组:H、卤素、卤代烷基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 R^7 、OH、 OR^7 、 SR^7 、 SO_2R^7 、 $-\text{X}^1-\text{NH}_2$ 、 $-\text{X}^1-\text{NHR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{NR}^7\text{R}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{OH}$ 、 $-\text{X}^1-\text{OR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{SR}^7$ 和 $-\text{X}^1-\text{SO}_2\text{R}^7$;[0354] R^e 和 R^f 独立地选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1-C_6 烷基;[0355] 各 X^1 位 C_1-C_4 亚烷基;和[0356] 各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1-C_{10} 烷基、任选取代的 C_2-C_{10} 烯基、任选取代的 C_2-C_{10} 炔基、任选取代的 C_3-C_7 环烷基、任选取代的 C_3-C_7 环烷基 C_1-C_4 烷基、任选取代的4-7元环杂烷基、任选取代的4-7元环杂烷基 C_1-C_4 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基 C_1-C_4 烷

基、任选取代的芳基C₂-C₄烯基、任选取代的芳基C₂-C₄炔基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基C₁-C₄烷基、任选取代的杂芳基C₁-C₄烯基和任选取代的杂芳基C₂-C₄炔基；和任选地，连接在氮原子上的两个R⁷基团连接在一起形成4至7元杂环，其任选地与芳环稠合。

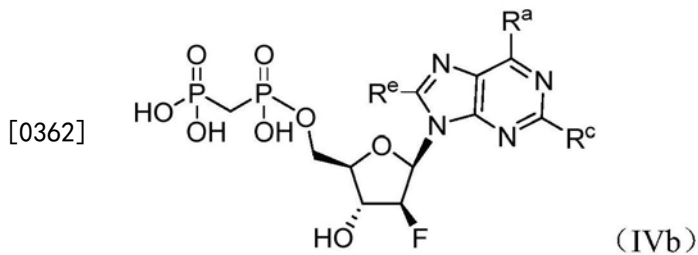
[0357] 在一组选定的实施方案中，根据本文所述的教导，作为用于肠胃外给药的候选者的式(IVa)的化合物为其中A为下式的那些



[0359] 在另一组选定的实施方式中，根据本文所述的教导，作为用于肠胃外给药的候选者的式(IVa)化合物为其中Het选自下组的那些：



[0361] 在另一组选定的实施方式中，根据本文所述的教导，作为用于肠胃外给药候选者的化合物具有下式：

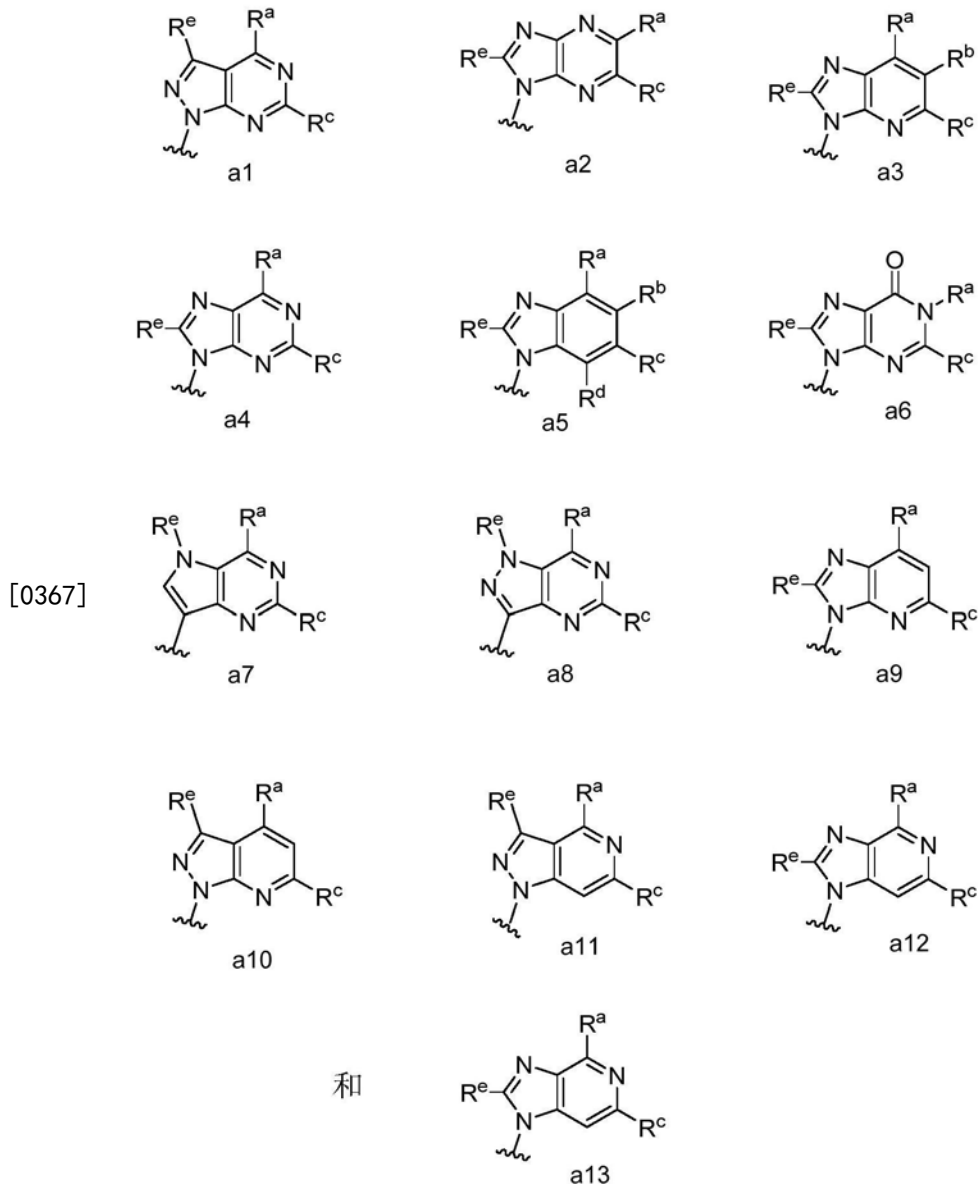


[0363] 或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。

[0364] 在一组选定的实施方式中，根据本文所述的教导，作为用于肠胃外给药的候选者的式(IVb)化合物为其中，R^a选自下组：NH₂、NHR⁷、NR⁷R⁷、SR⁷和OR⁷的那些。在一组选定的实施方式中，式(IVb)化合物为其中，R^c选自下组：卤素、R⁷、OR⁷、SR⁷、SO₂R⁷、-X¹-NH₂、-X¹-NHR⁷、-X¹-NR⁷R⁷、-X¹-OH、-X¹-OR⁷、-X¹-SR⁷和-X¹-SO₂R⁷的那些。

[0365] 在另一组选定的实施方式中，根据本文所述的教导，作为用于肠胃外给药的候选者的式(IVb)化合物为其中，R^e为H的那些。

[0366] 在式(I')、(II')和(III')的一些实施方式中，Het选自下组：



[0368] 其中,波浪线表示至连接基的连接点,和其中:

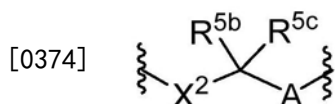
[0369] R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 各自独立地选自下组:H、卤素、卤代烷基、 NH_2 、 NHR^7 、 NR^7R^7 、 NHC(O)R^7 、 R^7 、 OH 、 OR^7 、 SR^7 、 SO_2R^7 、 $-\text{X}^1-\text{NH}_2$ 、 $-\text{X}^1-\text{NHR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{NR}^7\text{R}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{OH}$ 、 $-\text{X}^1-\text{OR}^7$ 、 $-\text{X}^1-\text{SR}^7$ 和 $-\text{X}^1-\text{SO}_2\text{R}^7$;

[0370] R^e 选自下组:H、卤素和任选取代的 C_1 - C_6 烷基;

[0371] 各 X^1 为 C_1 - C_4 亚烷基;和

[0372] 各 R^7 独立地选自下组:任选取代的 C_1 - C_{10} 烷基、任选取代的 C_2 - C_{10} 烯基、任选取代的 C_2 - C_{10} 炔基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基、任选取代的 C_3 - C_7 环烷基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的4-7元环杂烷基、任选取代的4-7元环杂烷基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的芳基、任选取代的芳基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的芳基 C_2 - C_4 烯基、任选取代的芳基 C_2 - C_4 炔基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基 C_1 - C_4 烷基、任选取代的杂芳基 C_1 - C_4 烯基和任选取代的杂芳基 C_2 - C_4 炔基;和任选地,连接在氮原子上的两个 R^7 基团连接在一起形成4至7元杂环,其任选地与芳环稠合。

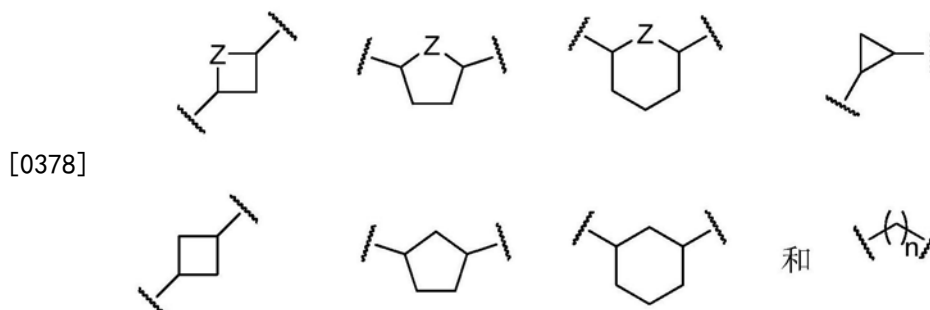
[0373] 在式(I')、(II')或(III')的一些实施方式中,连接基具有下式:



[0375] 其中

[0376] X^2 选自下组:O、S和N(R^{5a});

[0377] A选自下组:



[0379] 其各自任选被1至5个 R^6 取代基取代,并且其中,下标n是0至3的整数;

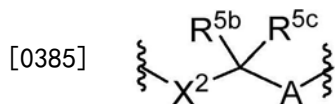
[0380] R^{5a} 、 R^{5b} 和 R^{5c} 独立地选自下组:H、氘、任选取代的 C_1 - C_6 烷基、 $-C(O)OR^3$ 、 C_3 - C_6 环烷基(C_1 - C_6)烷基、芳基(C_1 - C_6)烷基、 C_3 - C_6 环烷基和芳基;

[0381] Z选自下组:NH、 NR^6 和O;

[0382] 各 R^6 独立地选自下组: CH_3 、 OR^8 、CN、F和任选取代的 C_1 - C_6 烷基;或相邻环顶点上的两个 R^6 基团任选地连接在一起,以形成具有至少一个杂原子作为环顶点的5至6元环;和

[0383] 各 R^8 独立地选自下组:H和 $-C(O)-C_1-C_6$ 烷基。

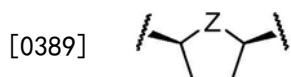
[0384] 在一些实施方式中,上述式(I')、(II')和(III')的连接基具有下式:



[0386] 其中

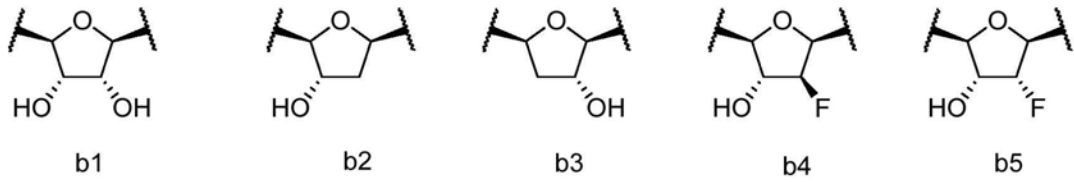
[0387] X^2 选自下组:O、S和N(R^{5a});

[0388] A为:

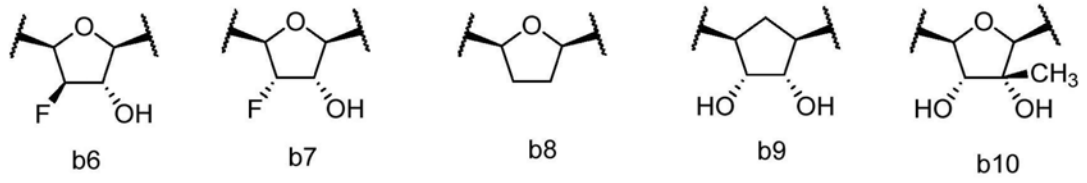


[0390] 其任选地被1至5个 R^6 取代;所述以 X^2 、 R^{5a} 、 R^{5b} 、 R^{5c} 和 R^6 提供的基团具有上述含义。

[0391] 在提供的那些的相关的实施方式中,A选自下组:



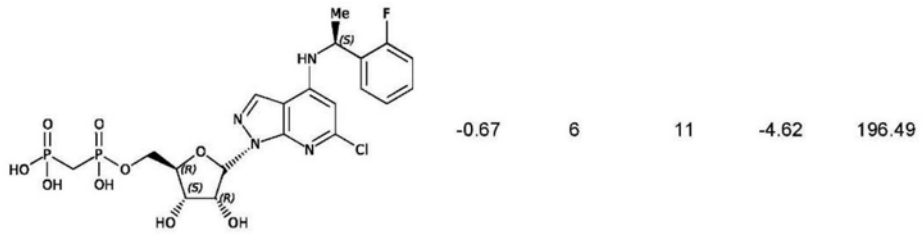
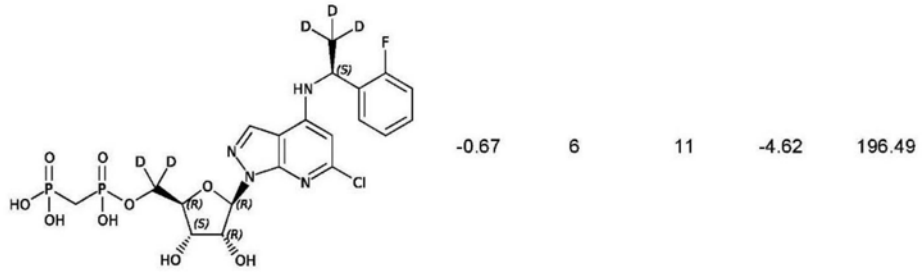
[0392]



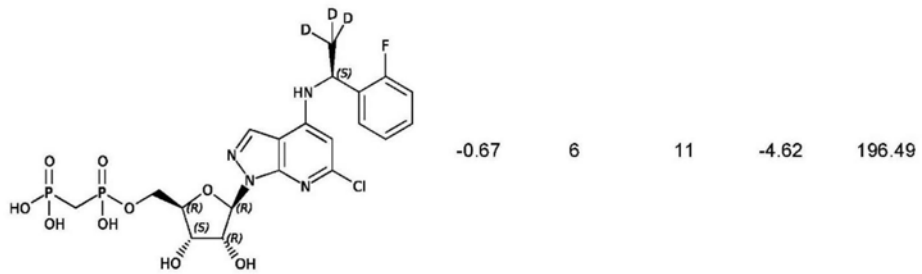
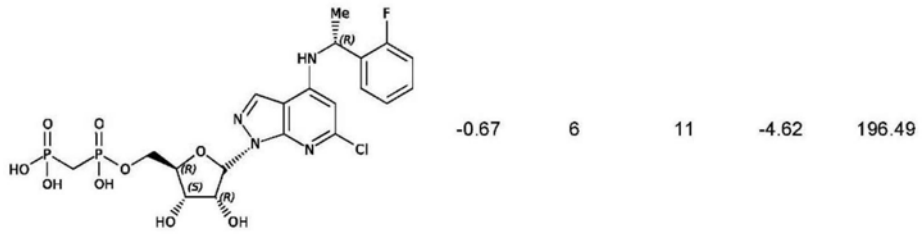
[0393] 在其他选定的实施方式中,提供如表1中所列的化合物。

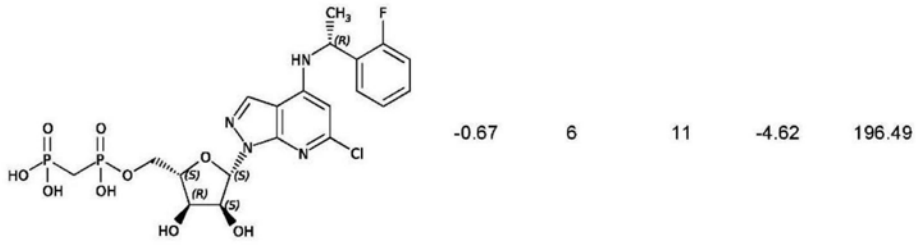
[0394] 表1

[0395]	结构	log P	氢键供体	氢键受体	log D	拓扑极性 表面积 (Å ²)
--------	----	-------	------	------	-------	----------------------------------

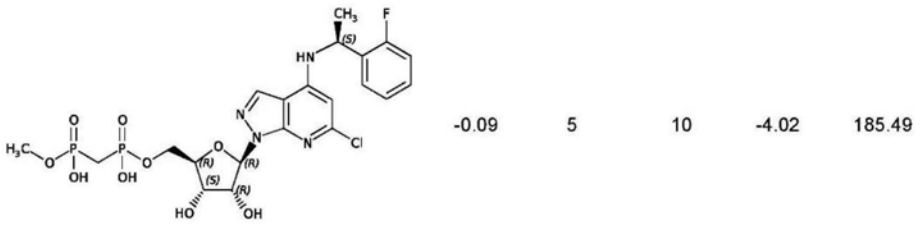
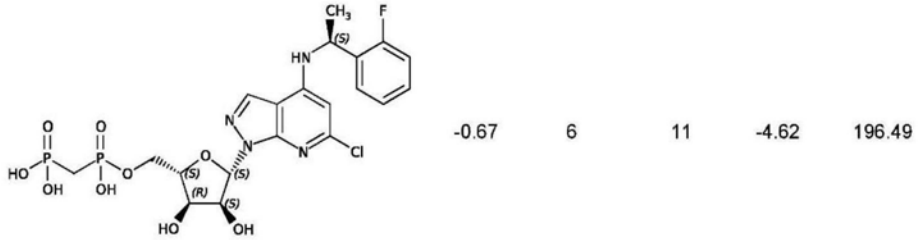


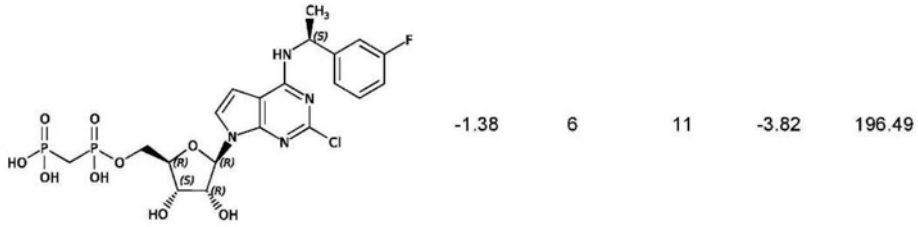
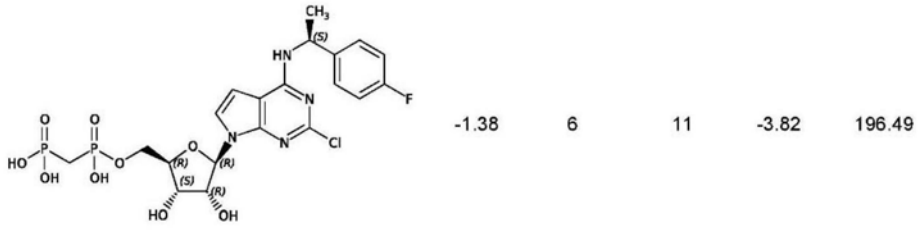
[0396]



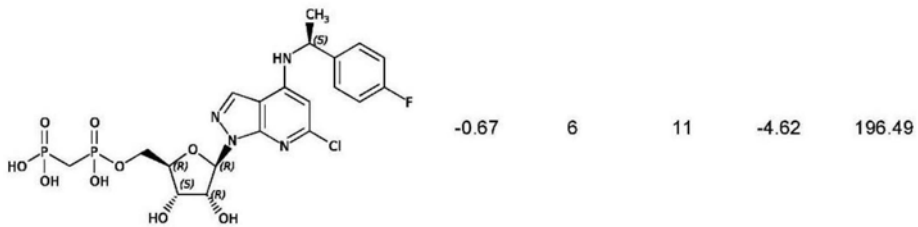
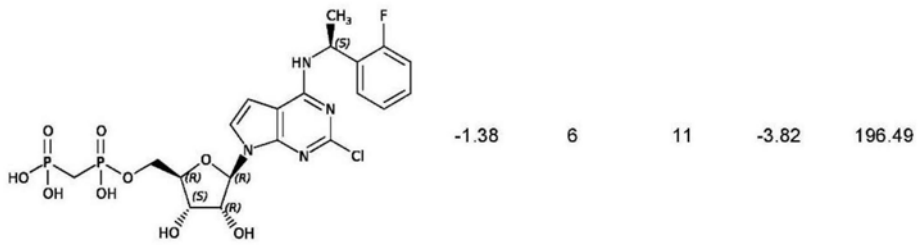


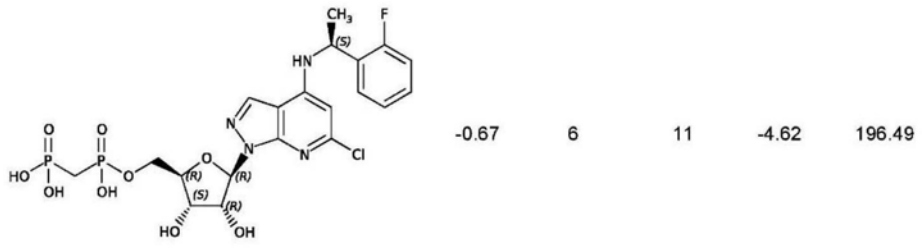
[0397]



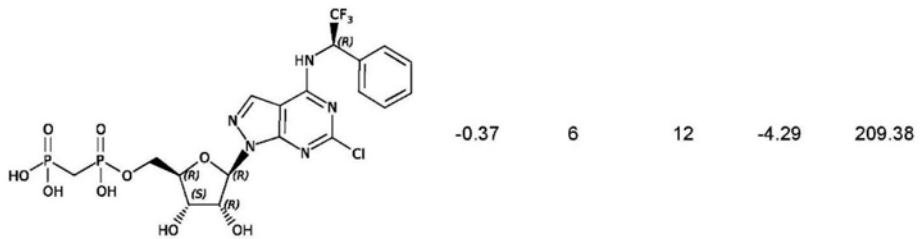
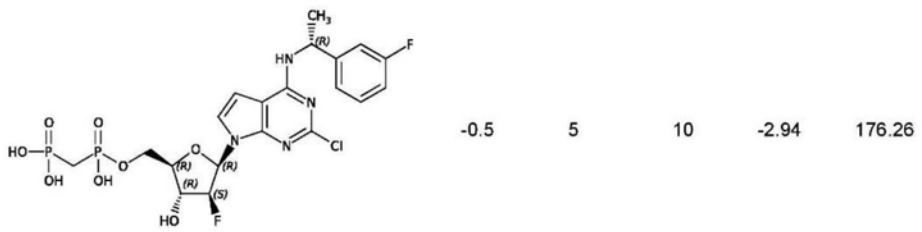


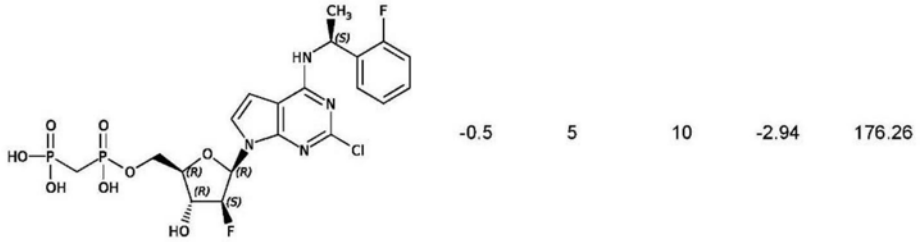
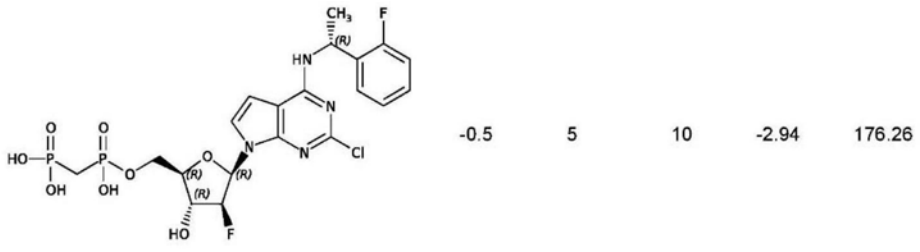
[0398]



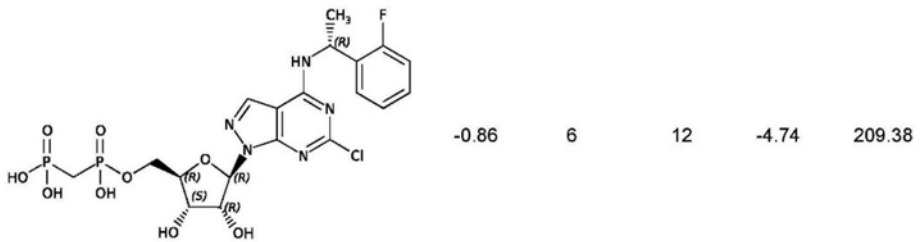
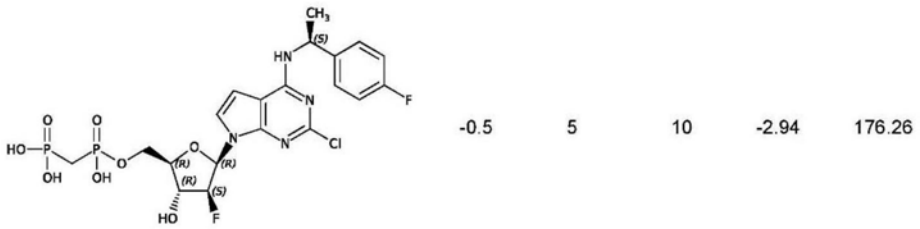


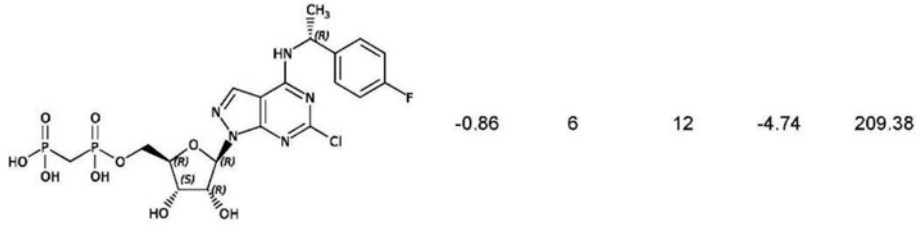
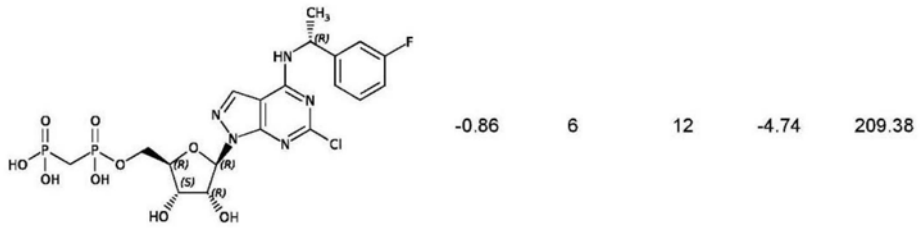
[0399]



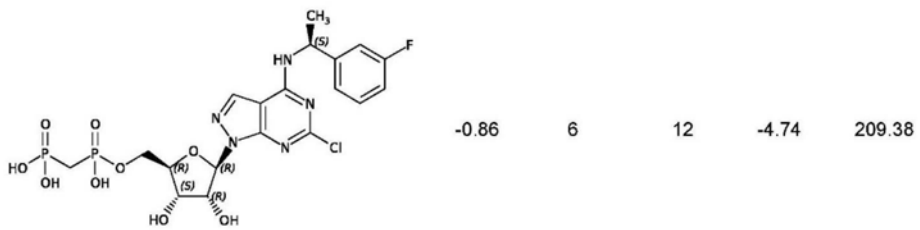
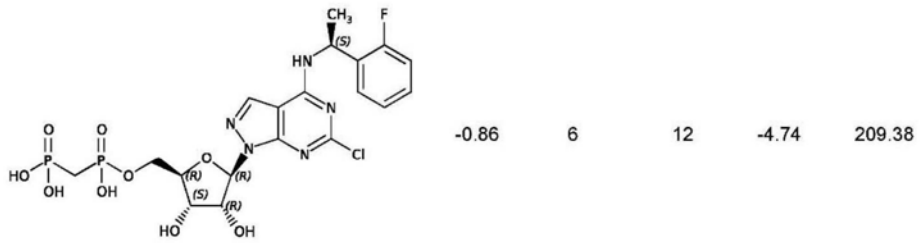


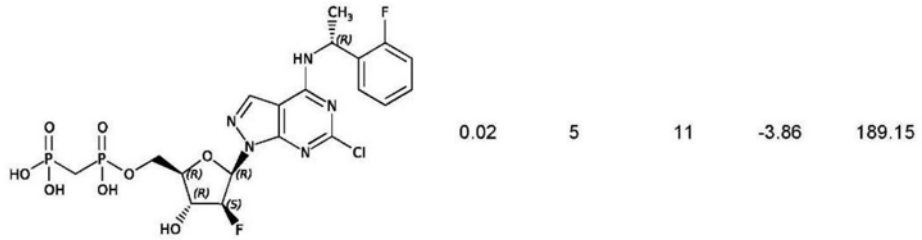
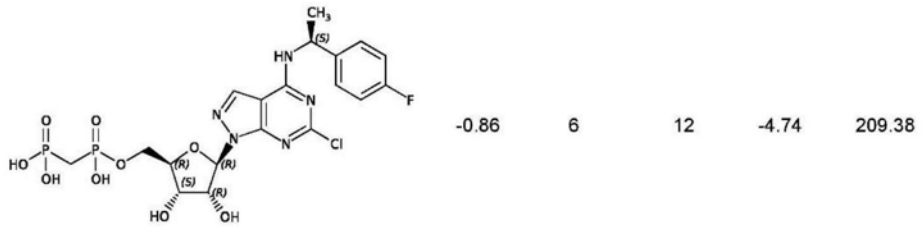
[0400]



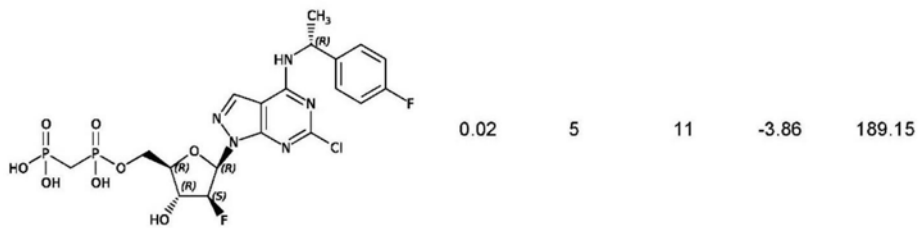
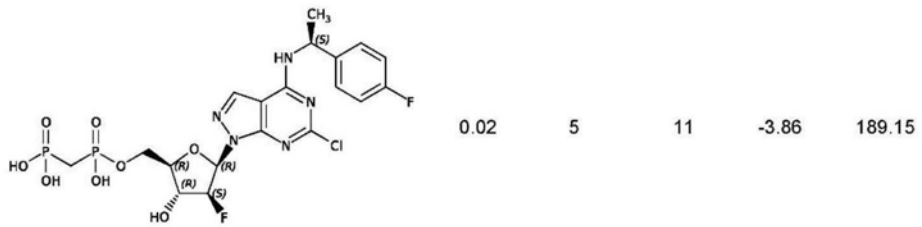


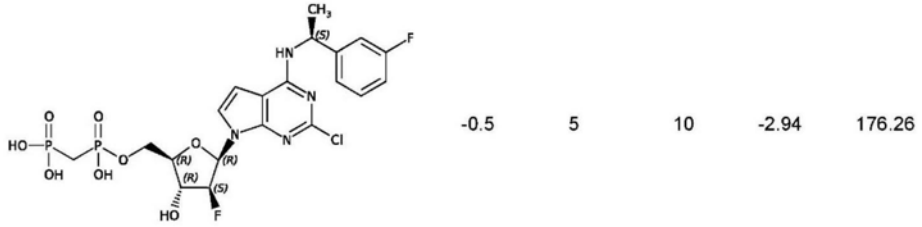
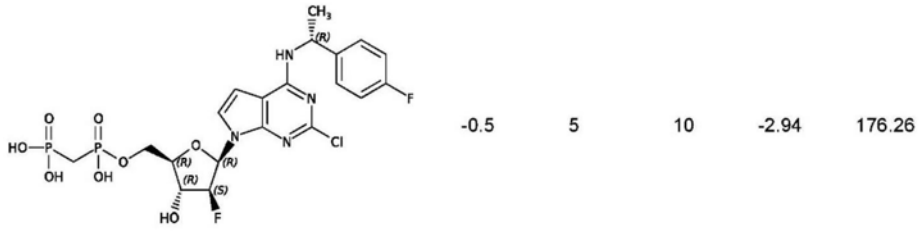
[0401]



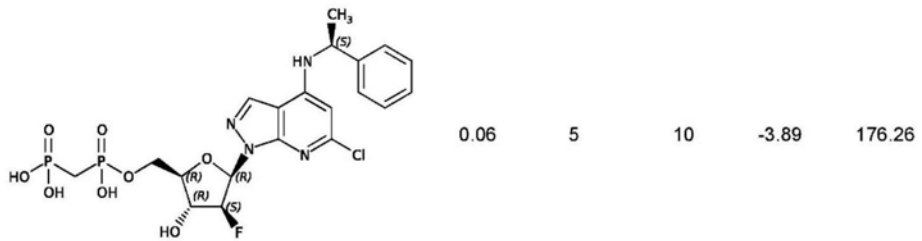
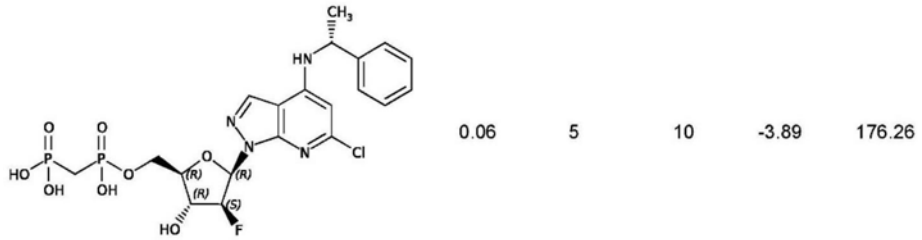


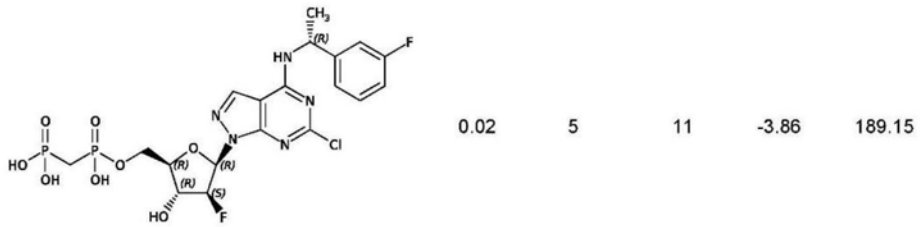
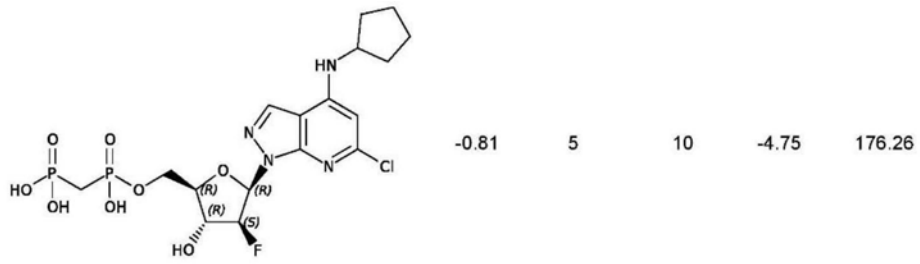
[0402]



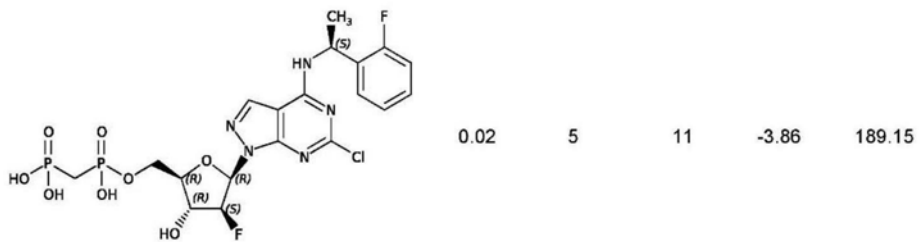
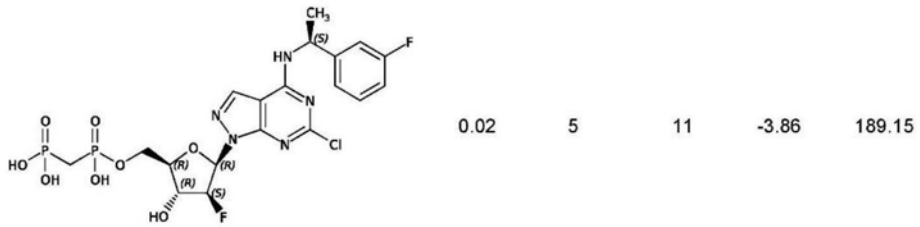


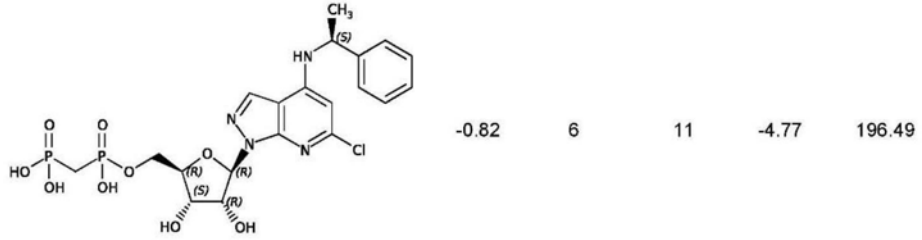
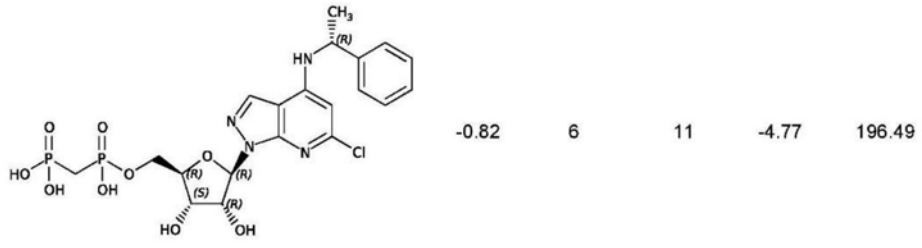
[0403]



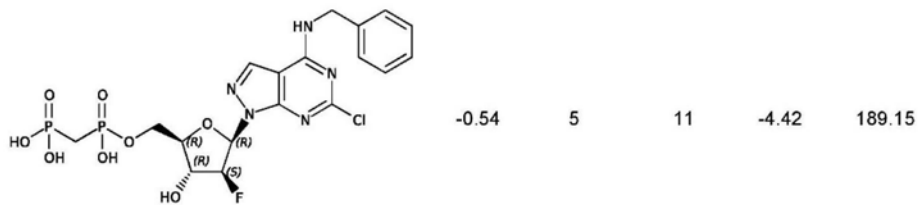
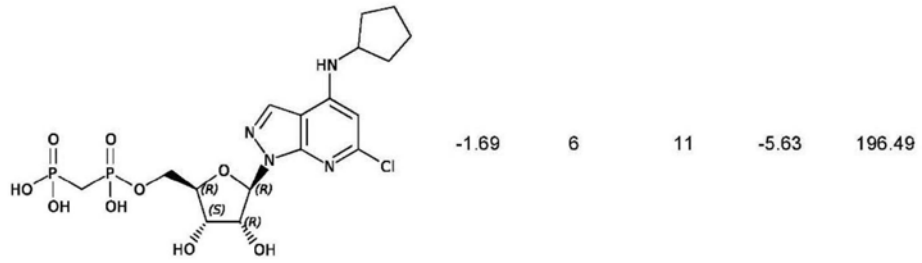


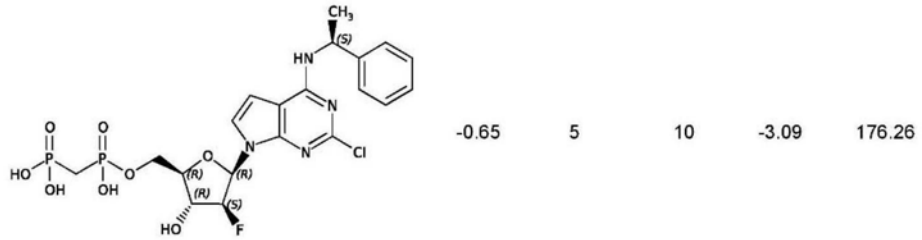
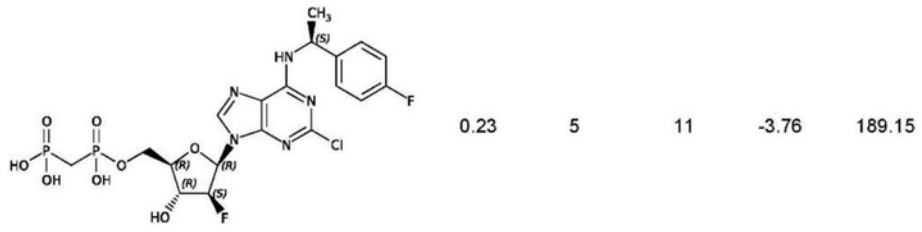
[0404]



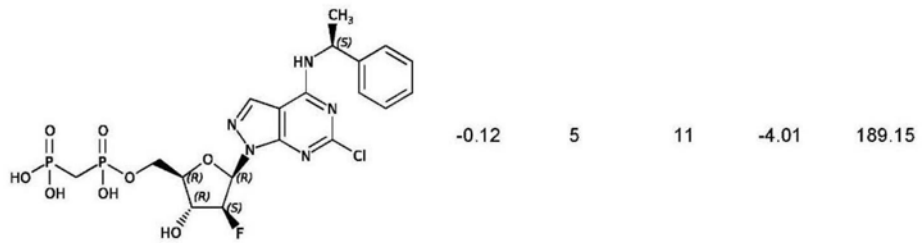
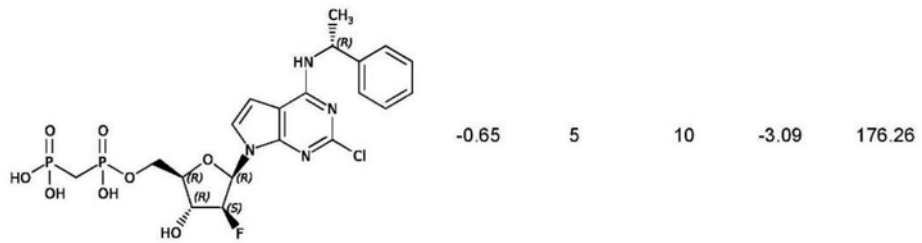


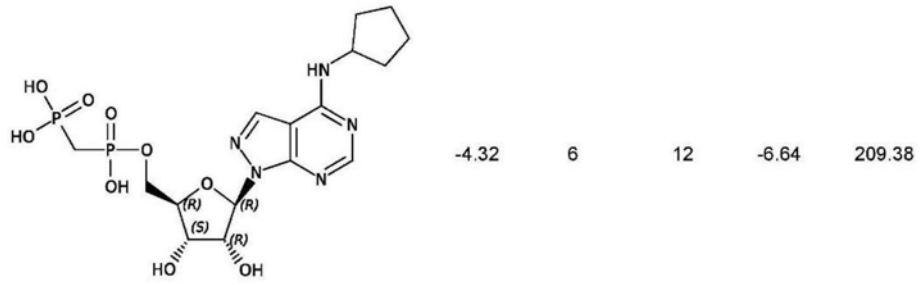
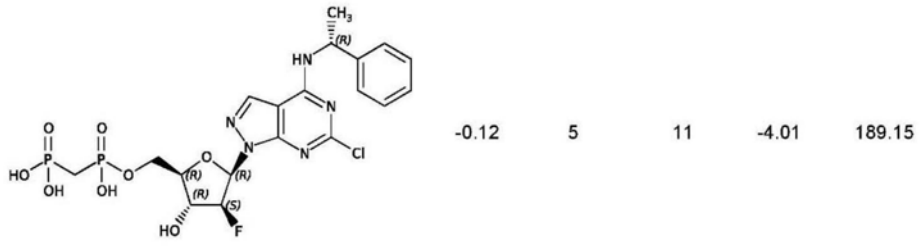
[0405]



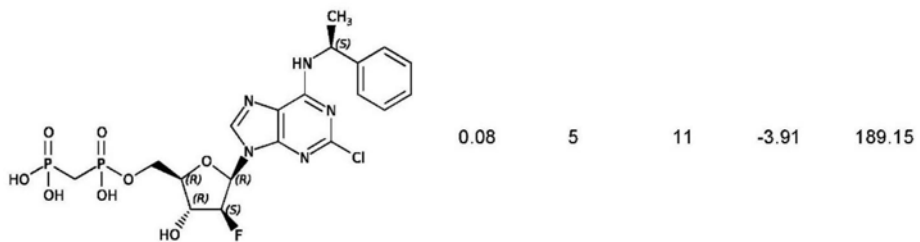
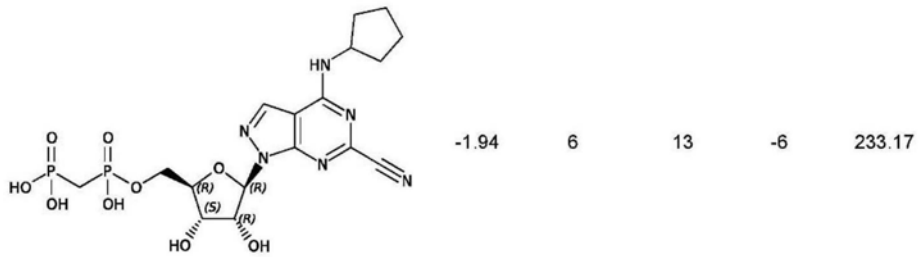


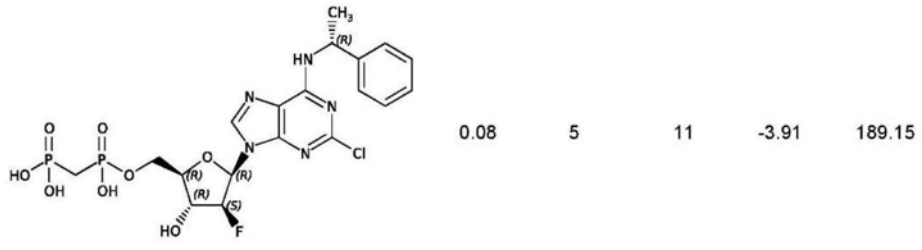
[0406]



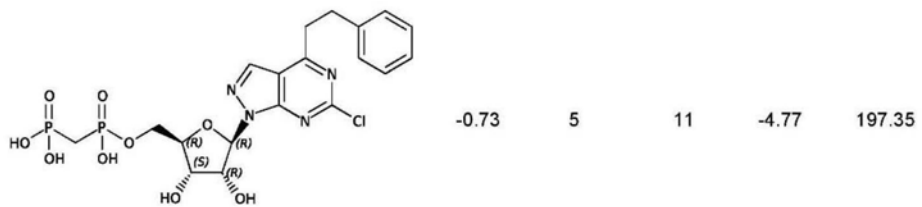
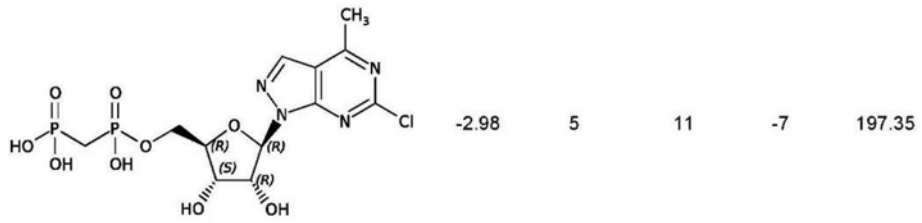


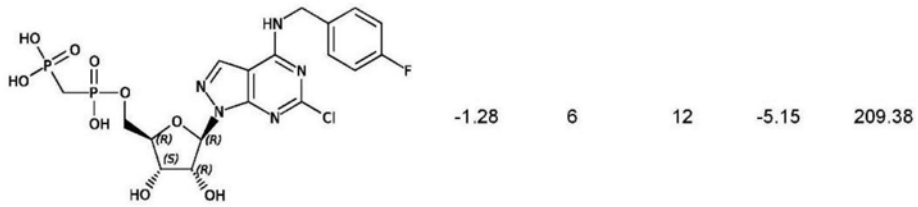
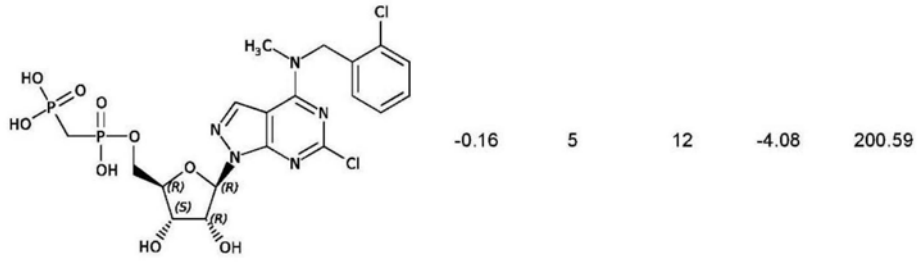
[0407]



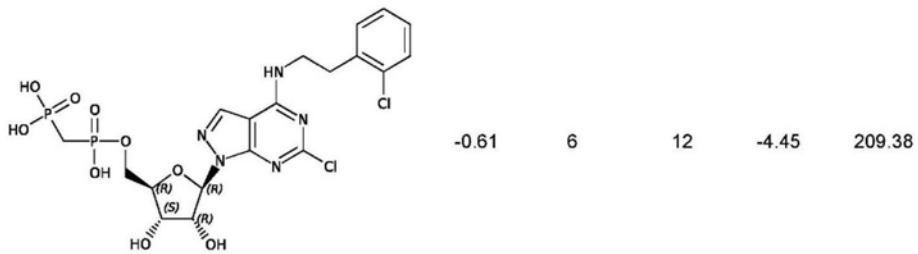
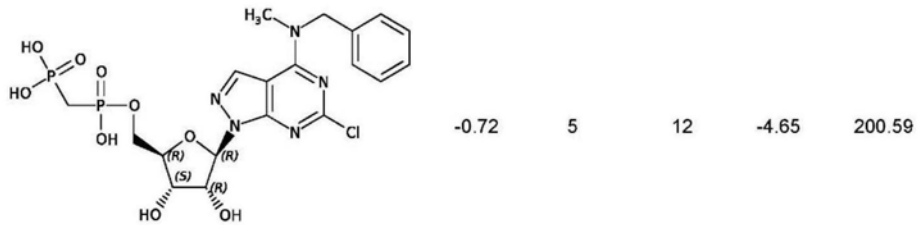


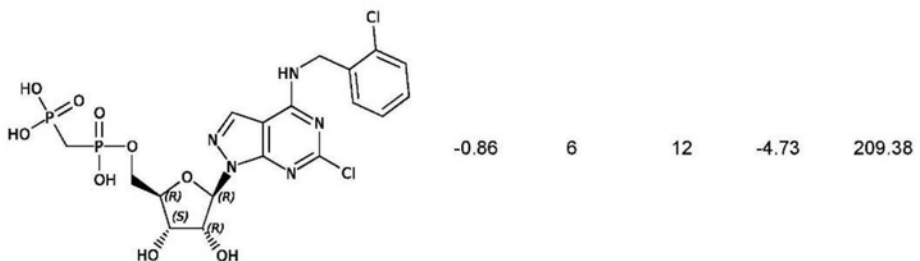
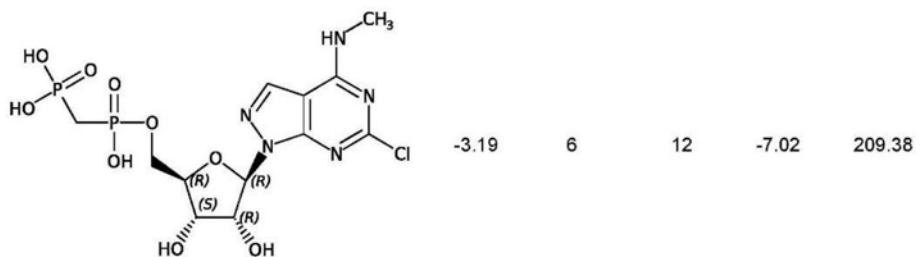
[0408]



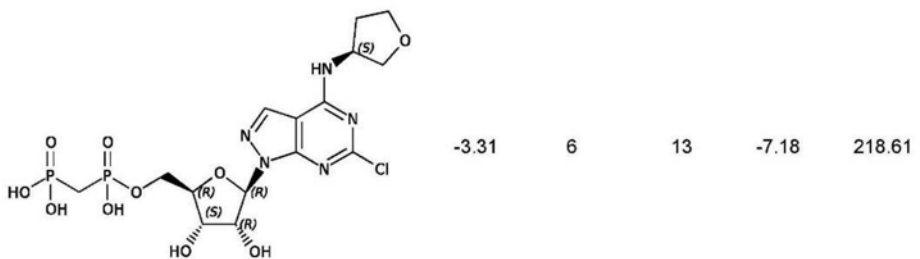
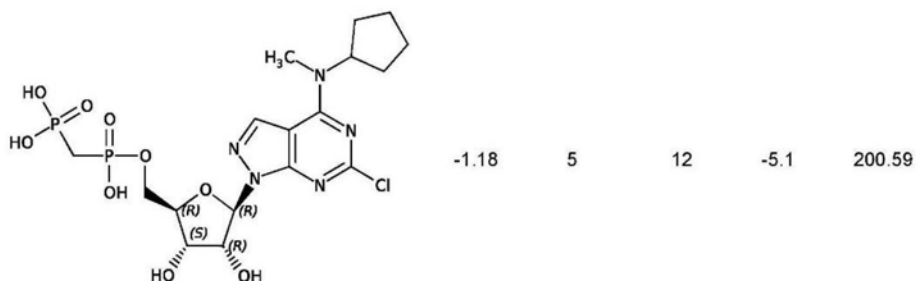


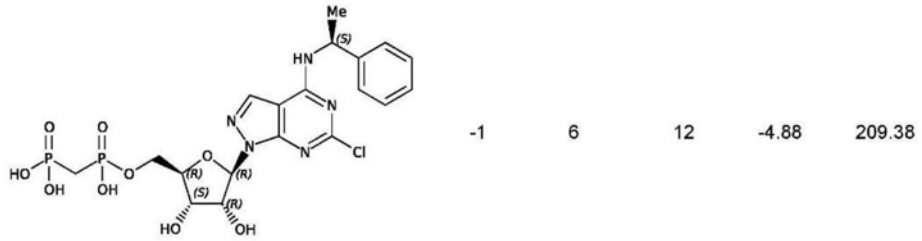
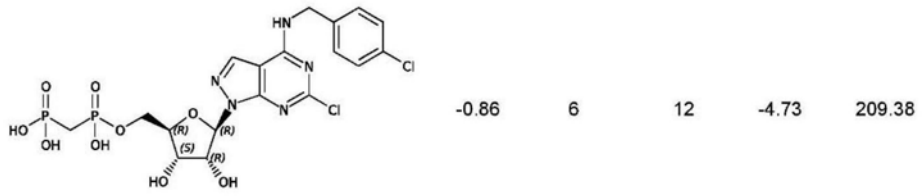
[0409]



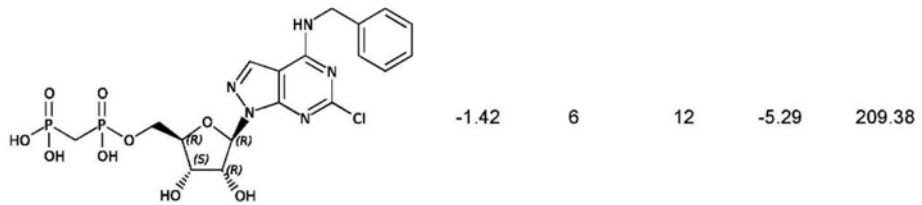
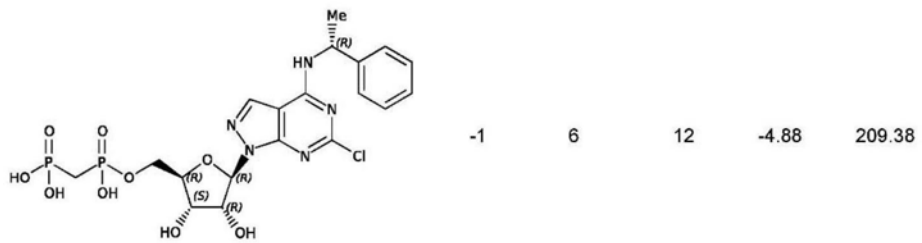


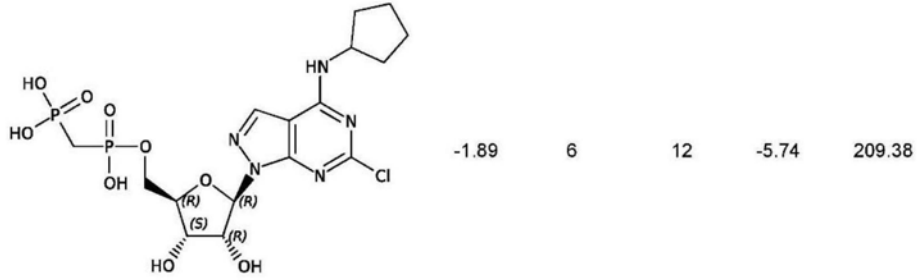
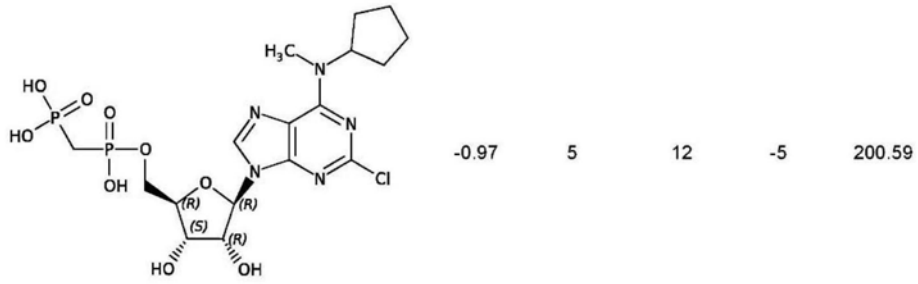
[0410]



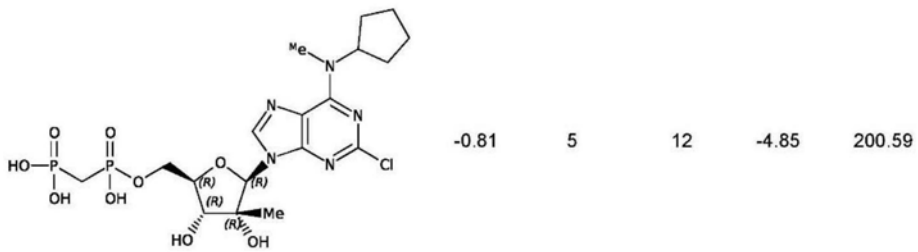
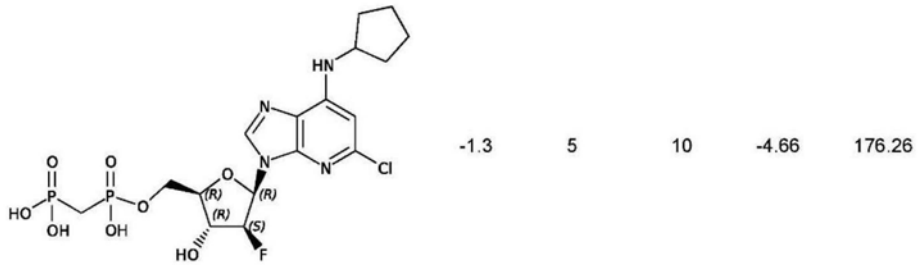


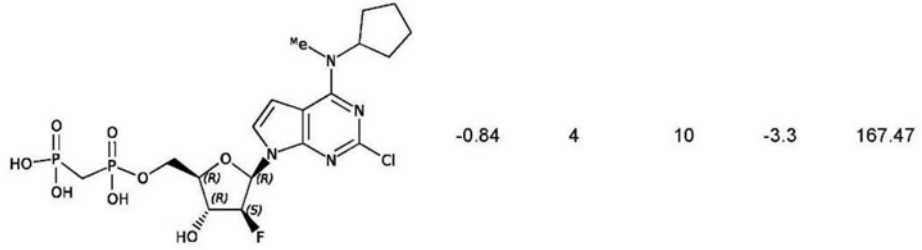
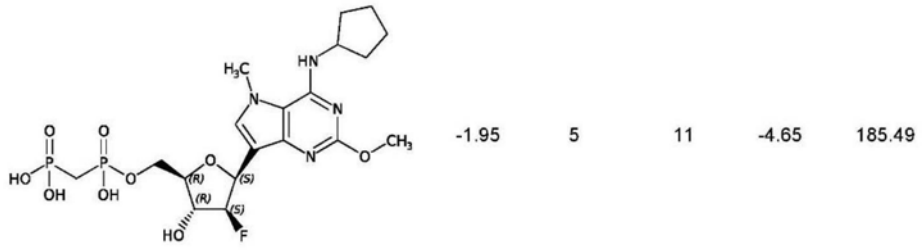
[0411]



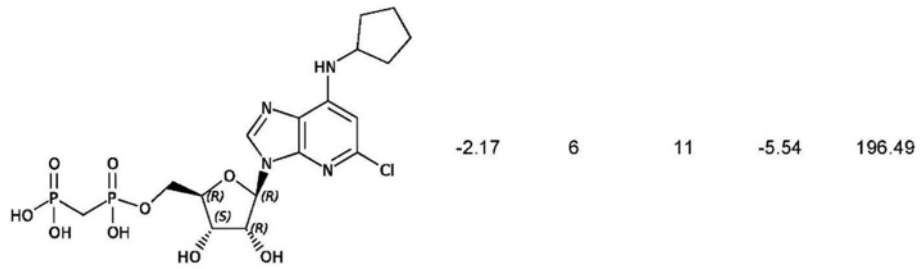
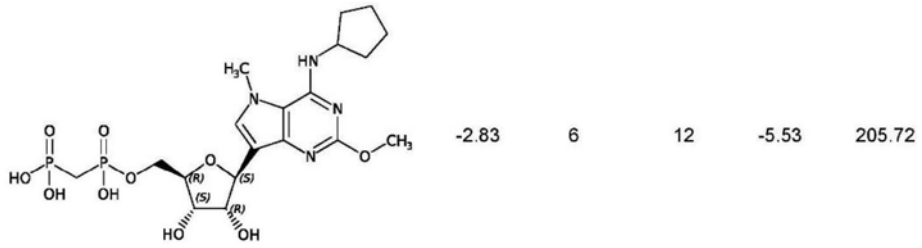


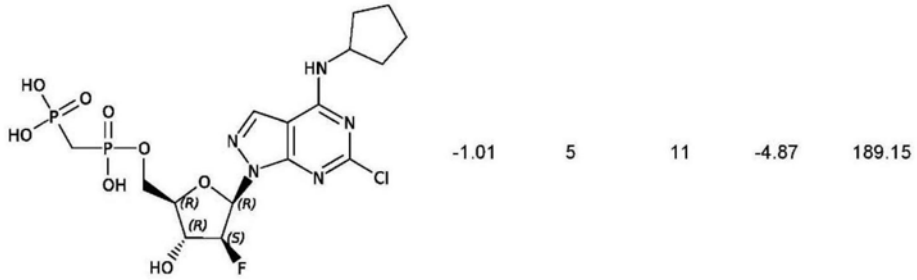
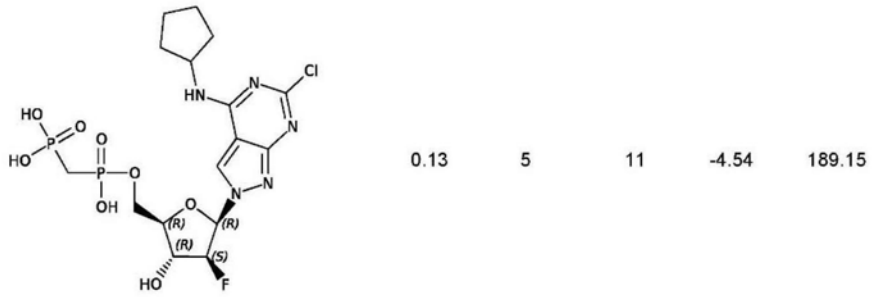
[0412]



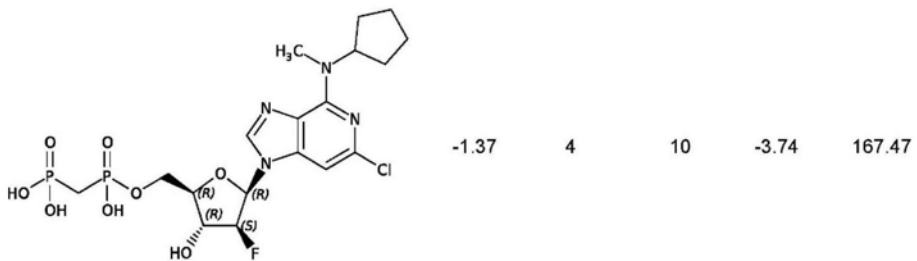
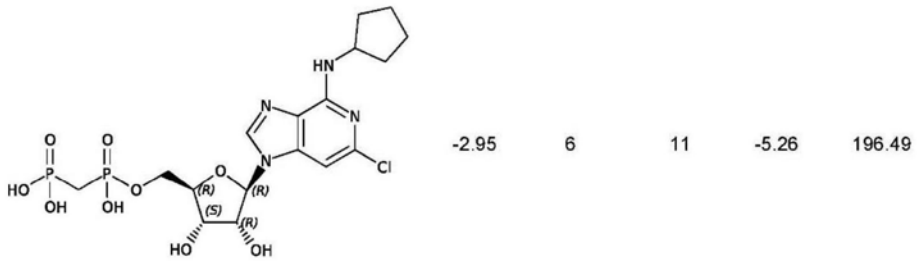


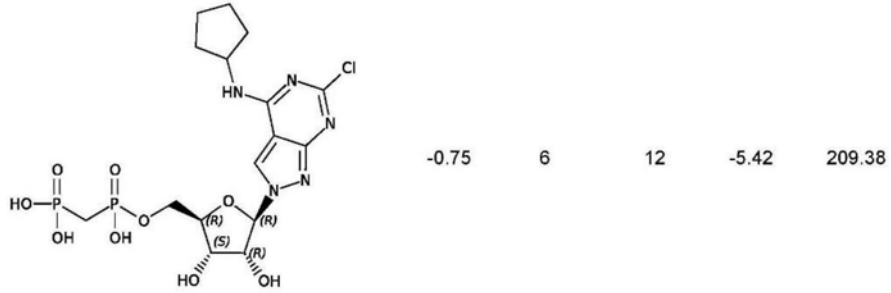
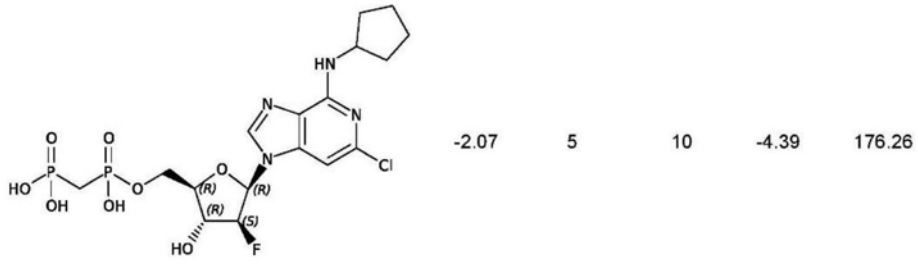
[0413]



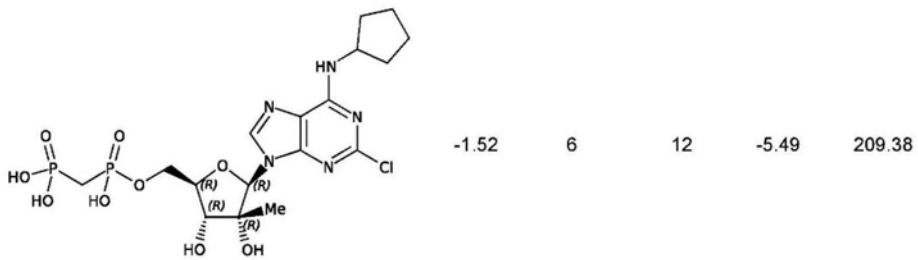
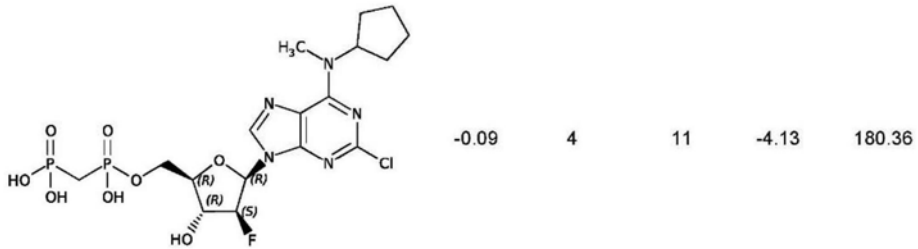


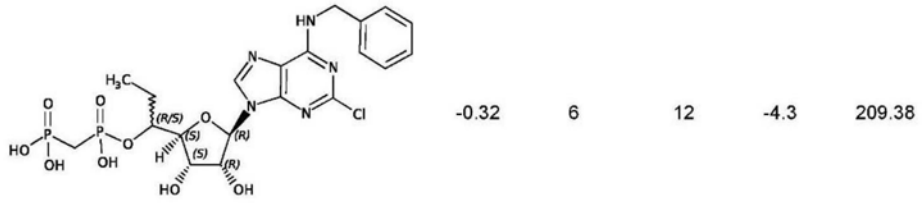
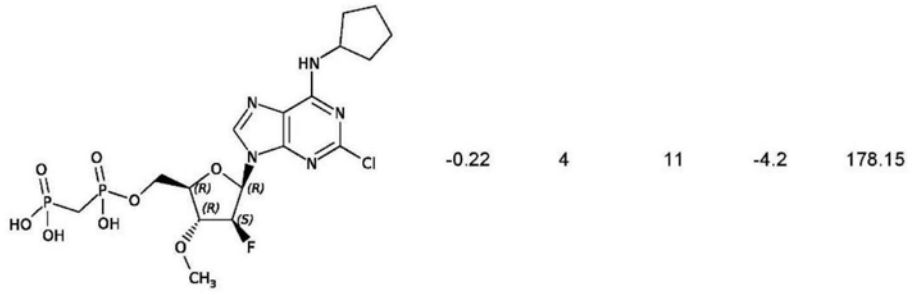
[0414]



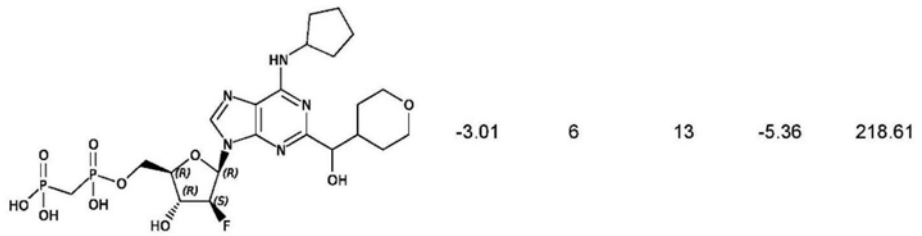
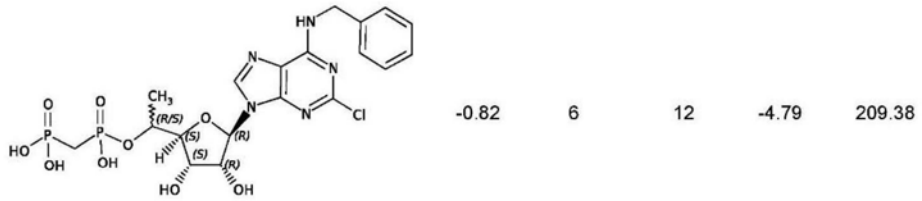


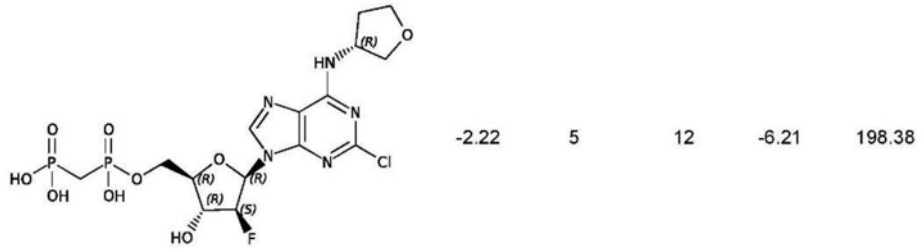
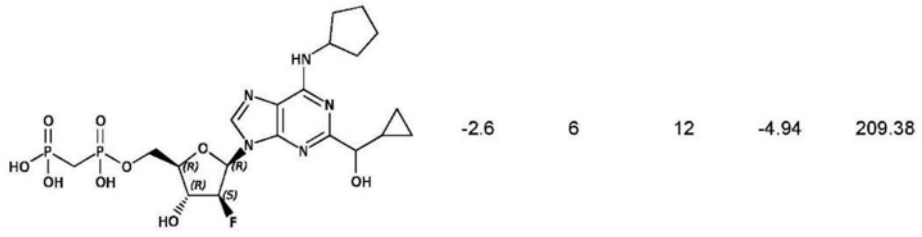
[0415]



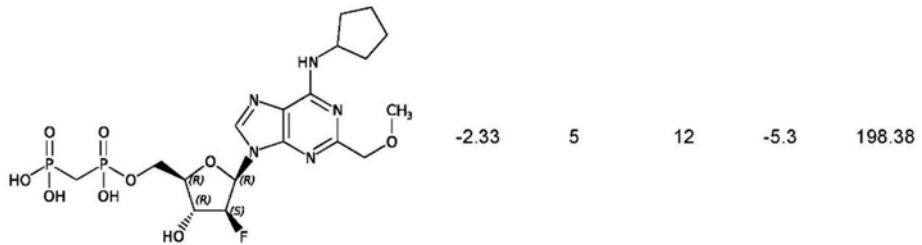
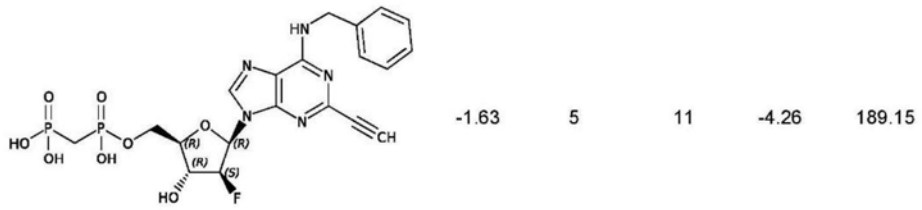


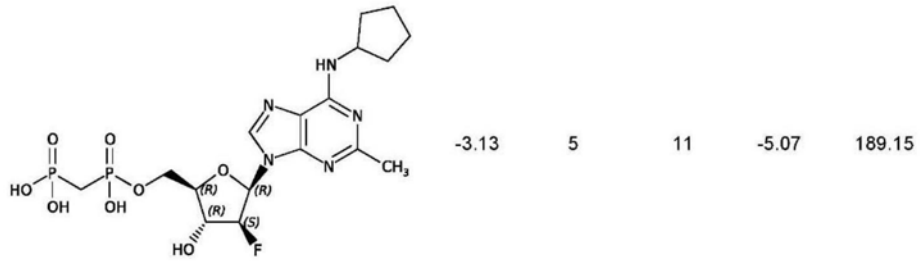
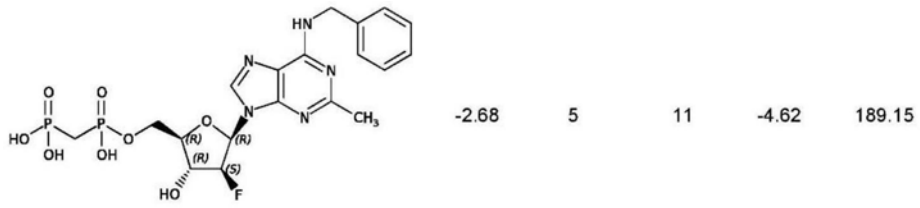
[0416]



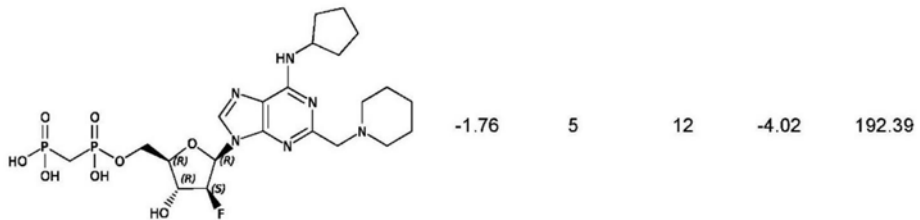
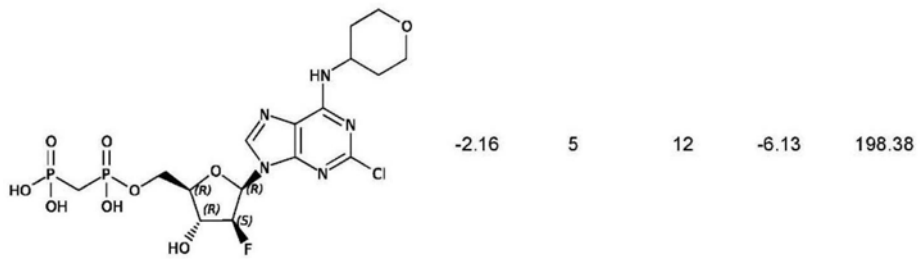


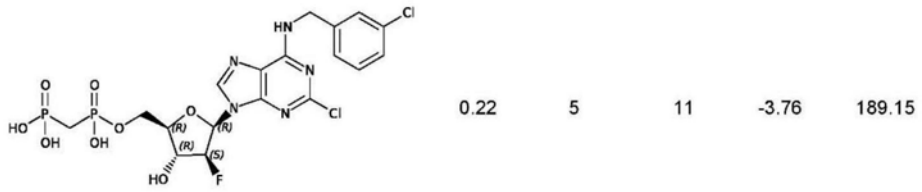
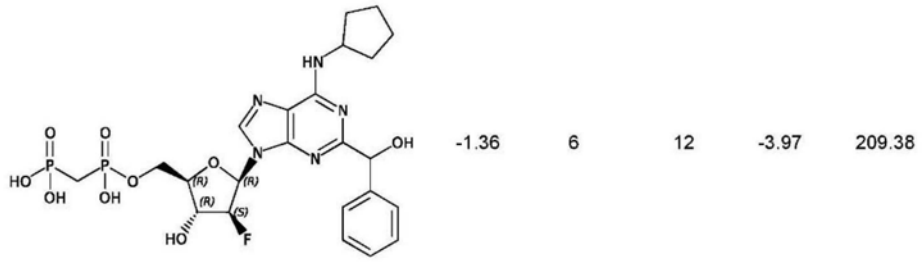
[0417]



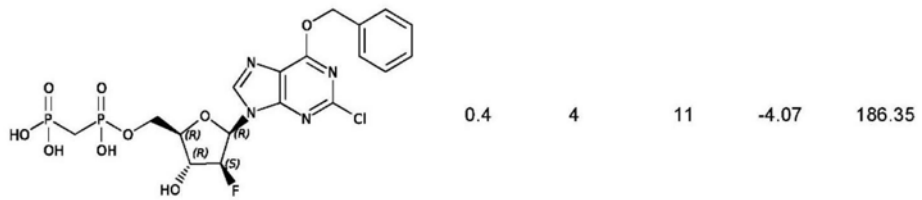
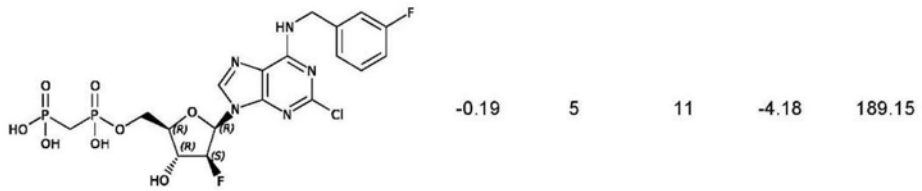


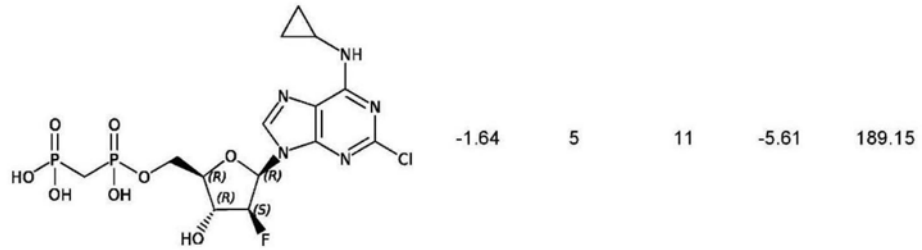
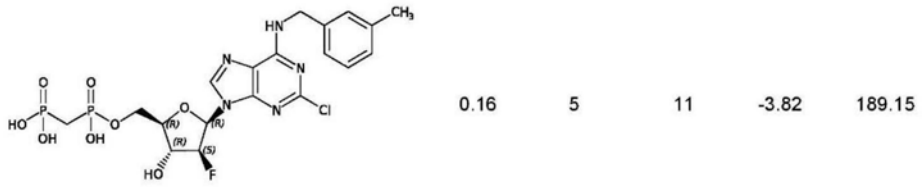
[0418]



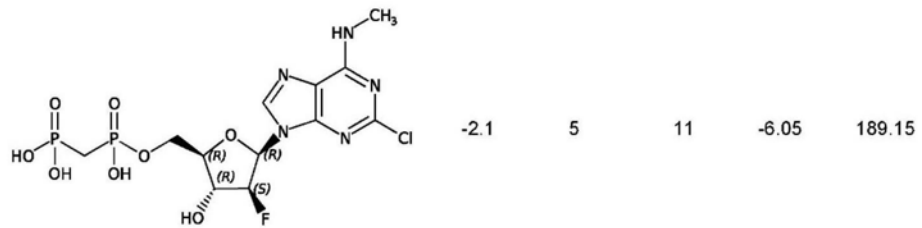
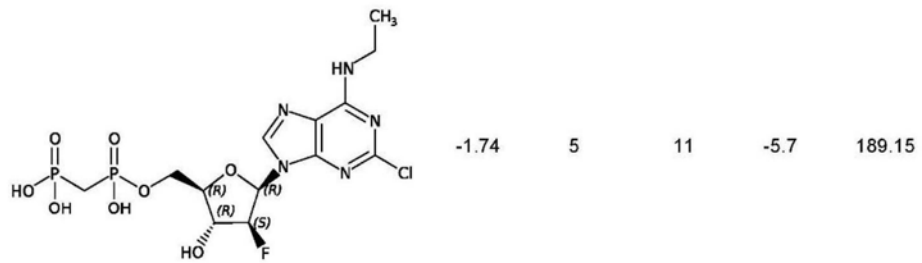


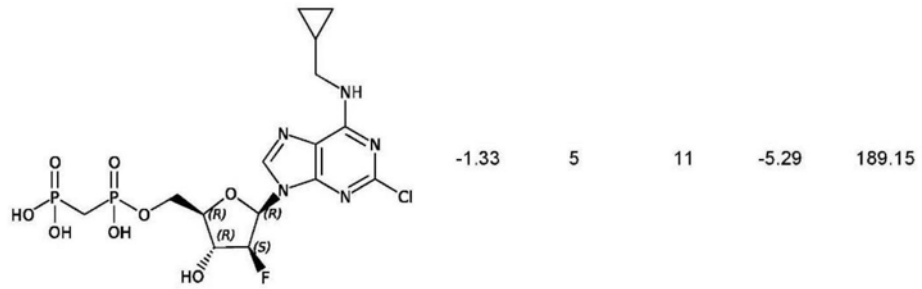
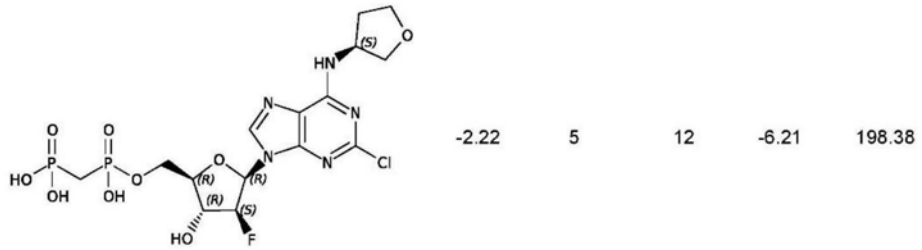
[0419]



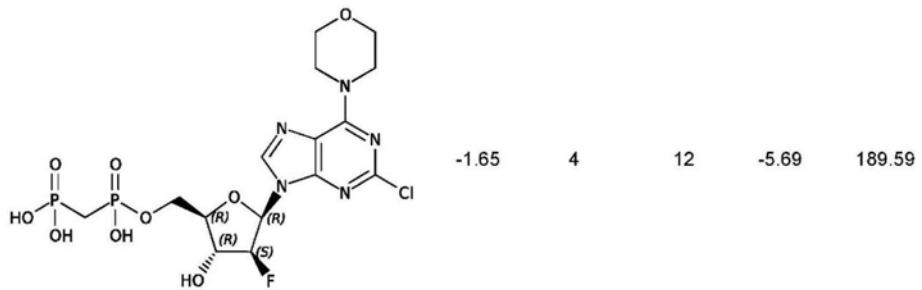
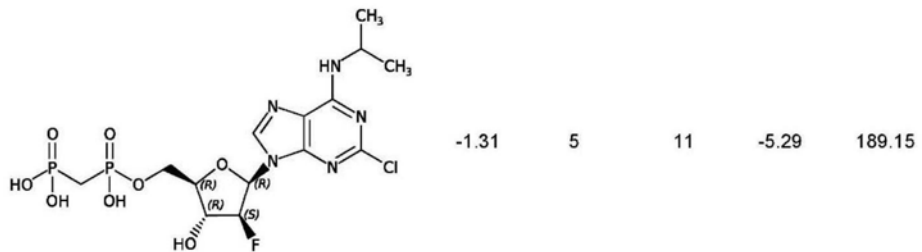


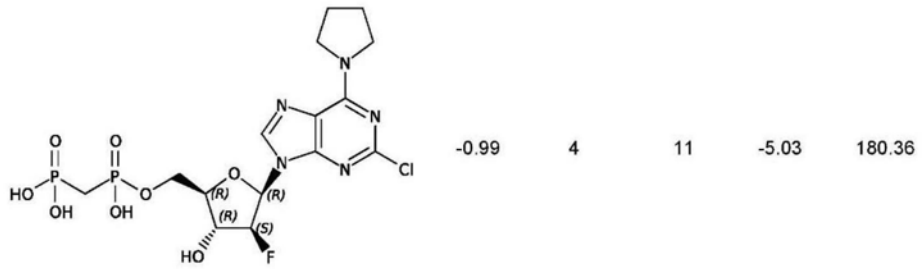
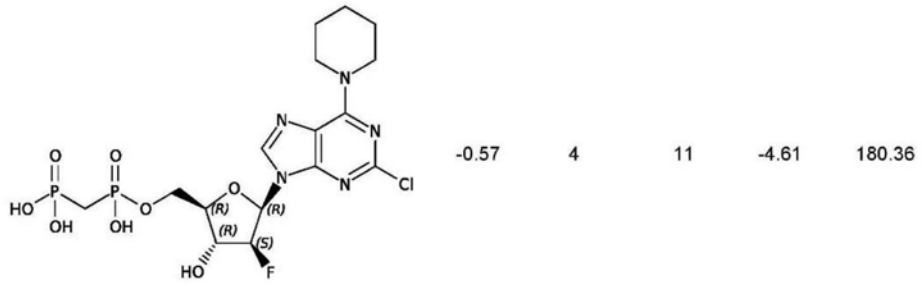
[0420]



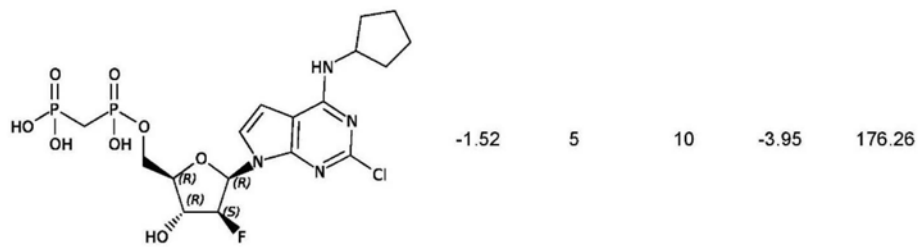
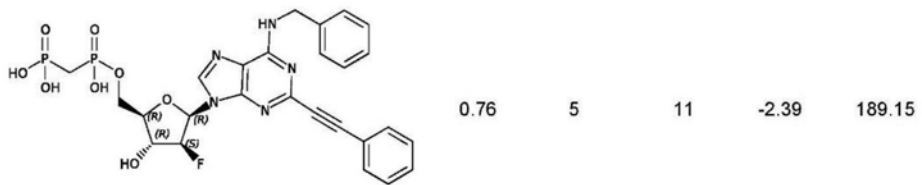


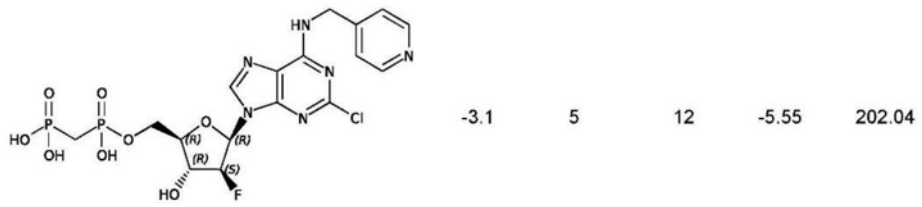
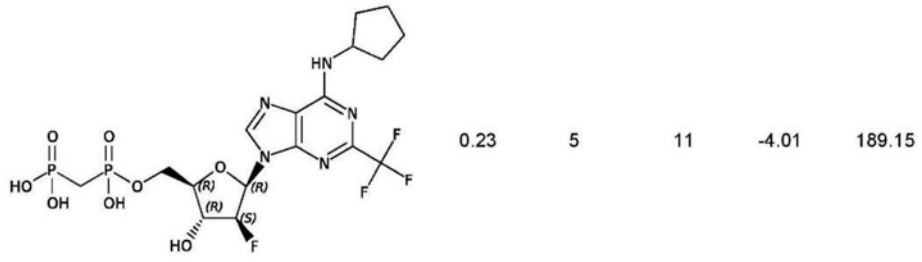
[0421]



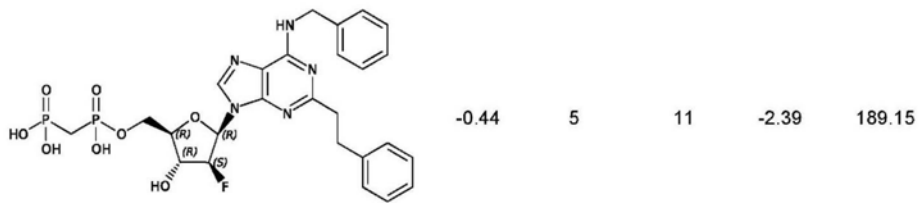
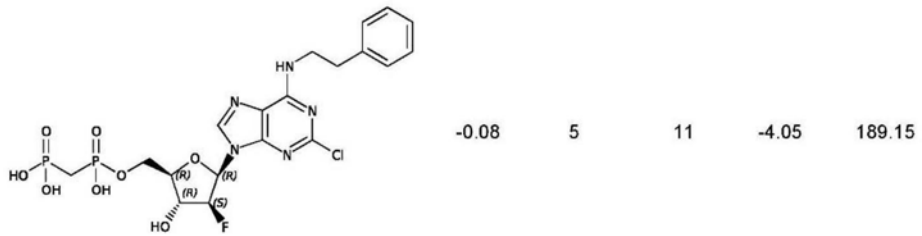


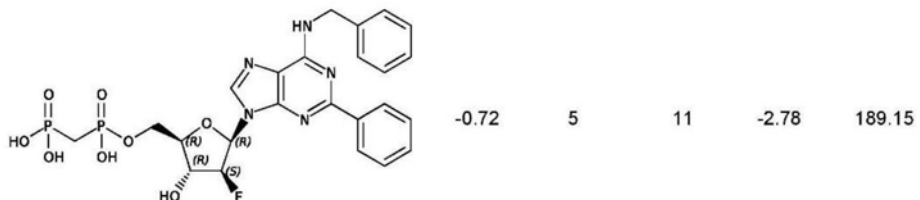
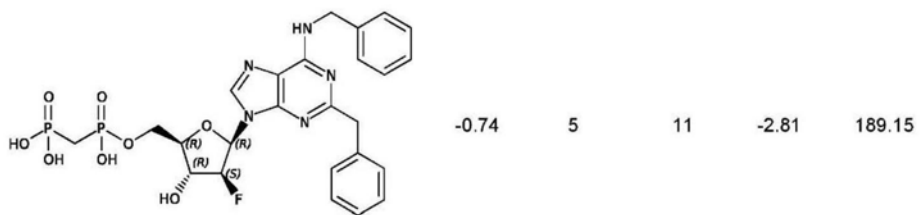
[0422]



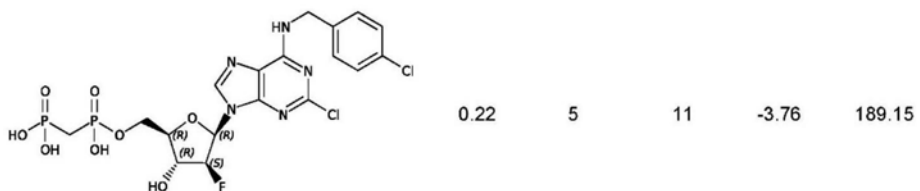
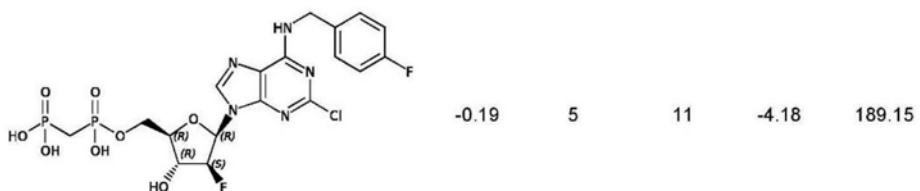


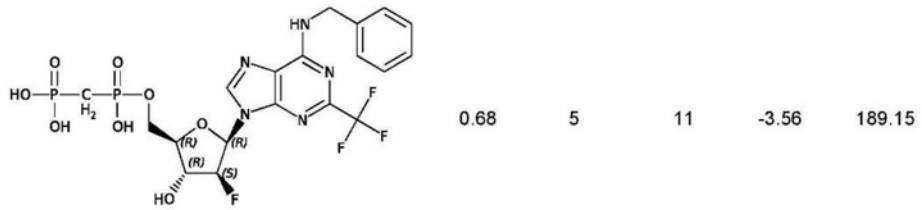
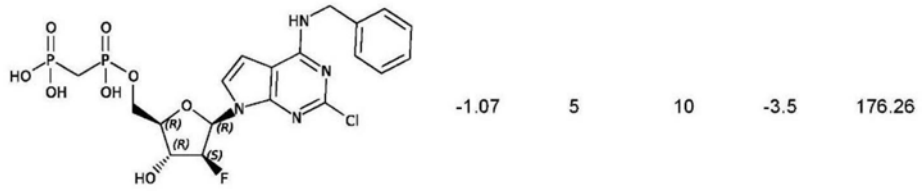
[0423]



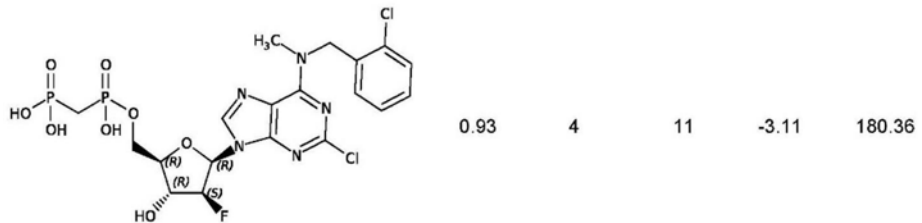
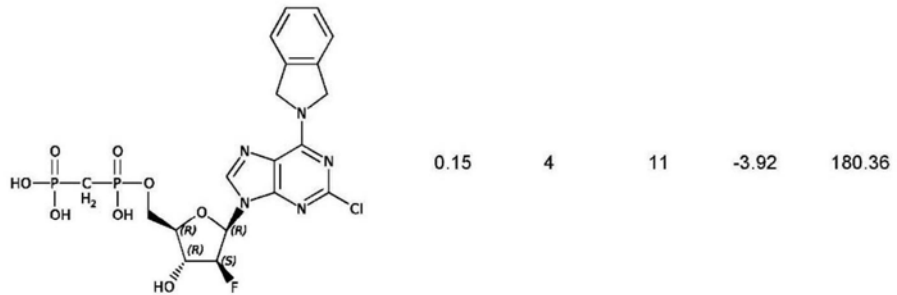


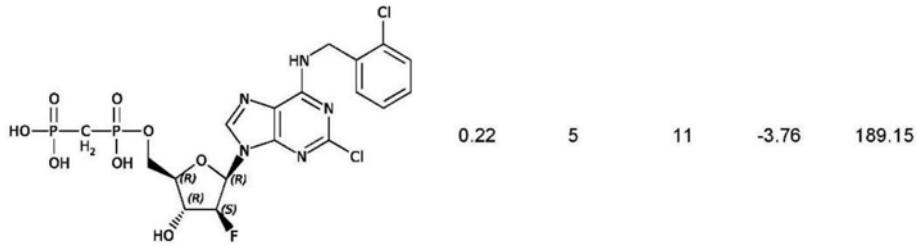
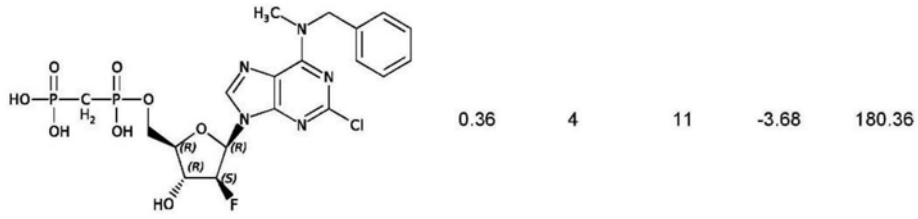
[0424]



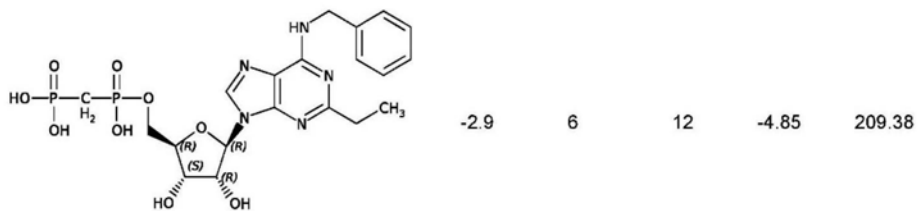
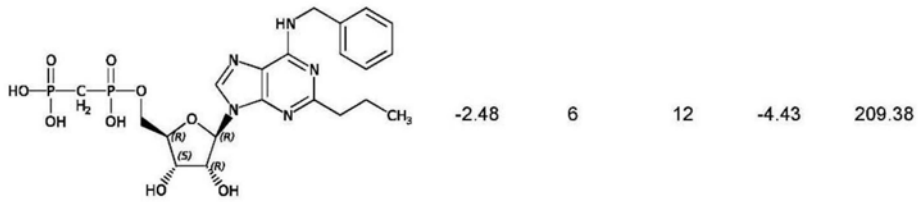


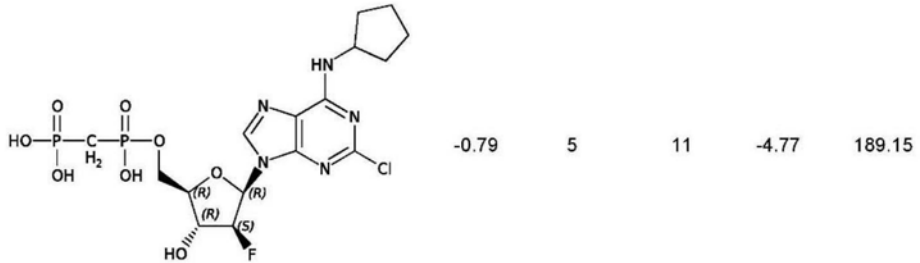
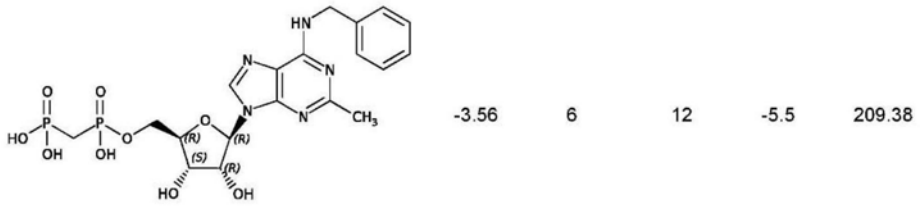
[0425]



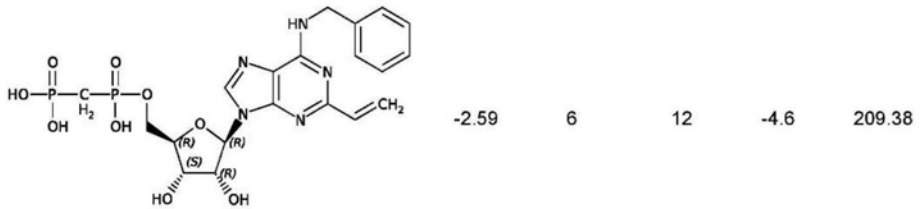
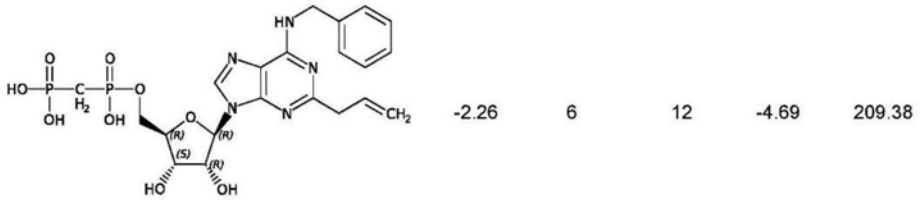


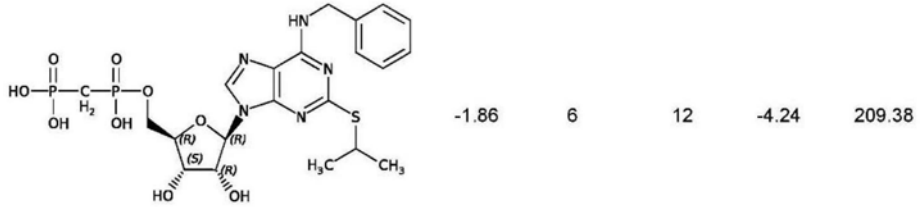
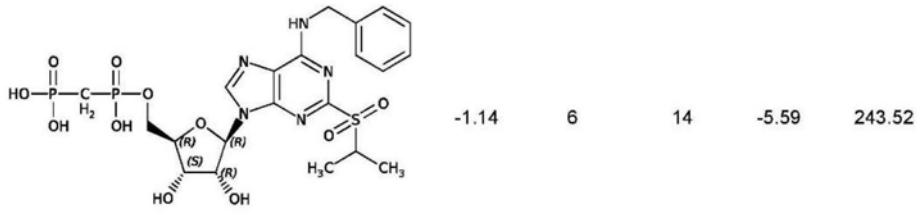
[0426]



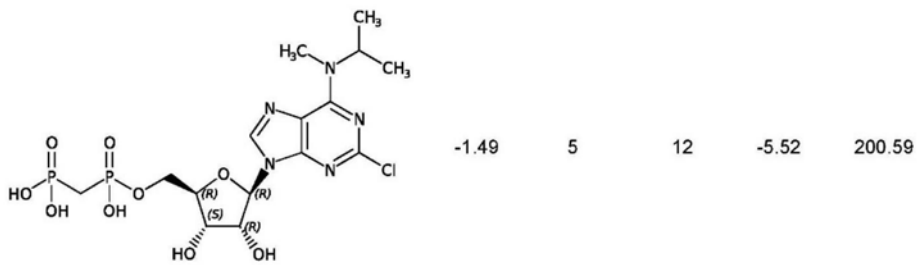
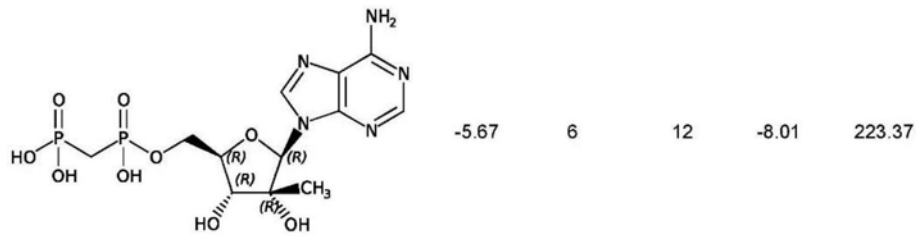


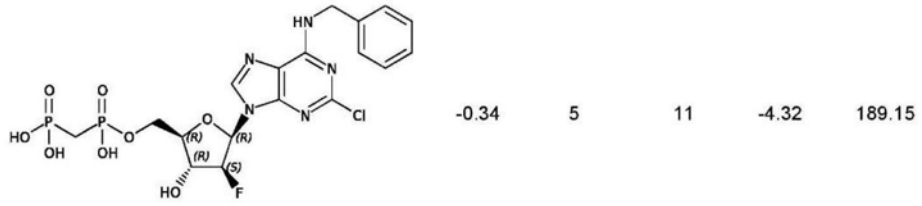
[0427]



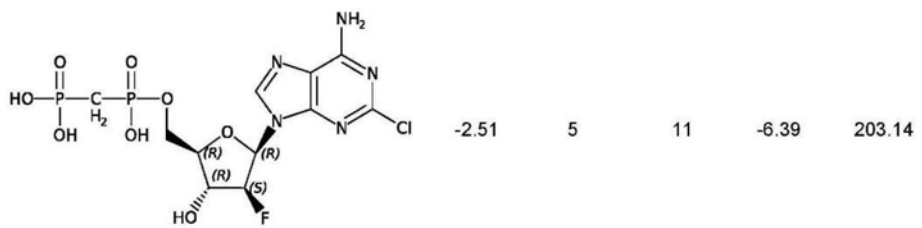
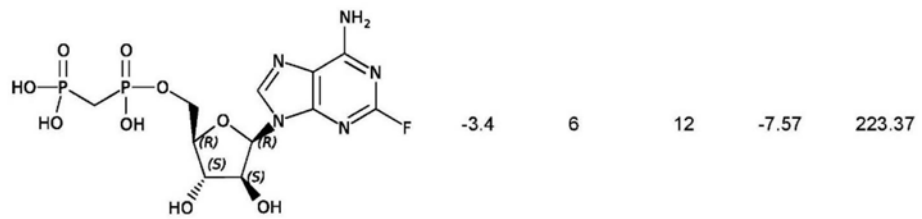
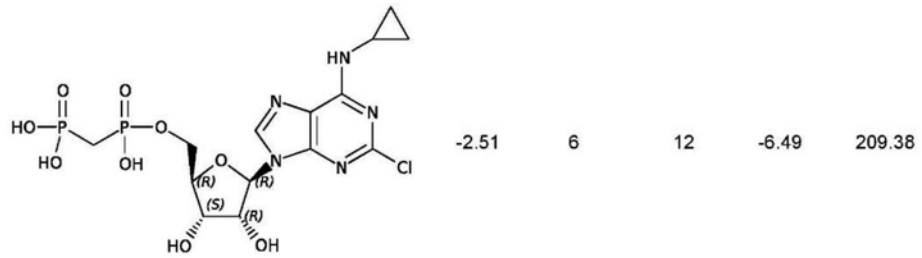


[0428]

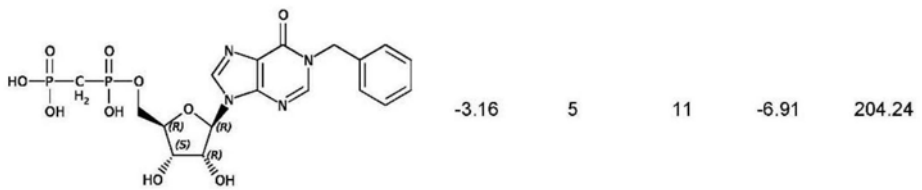


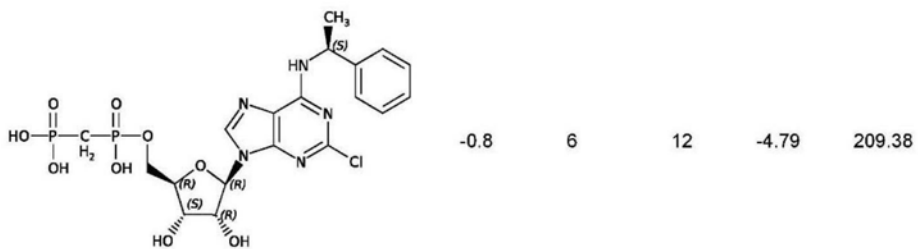
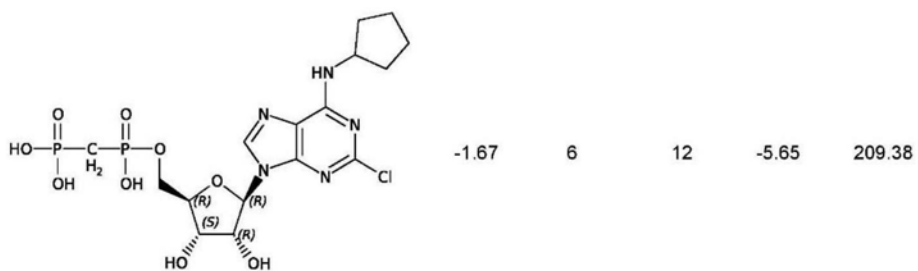


[0429]

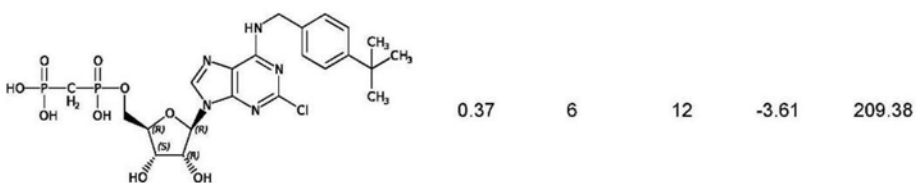
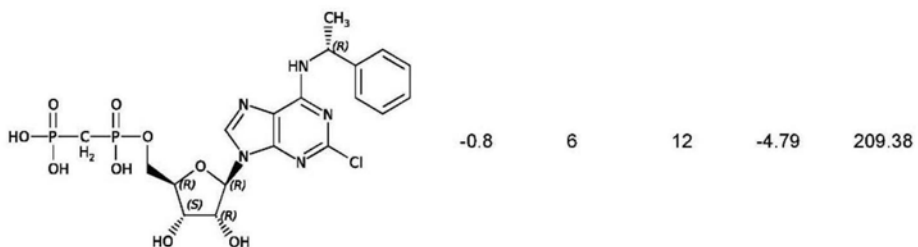


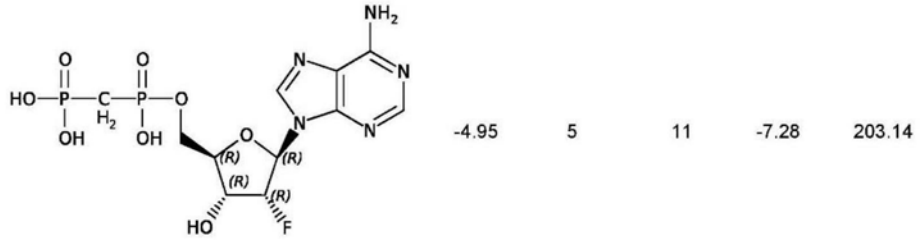
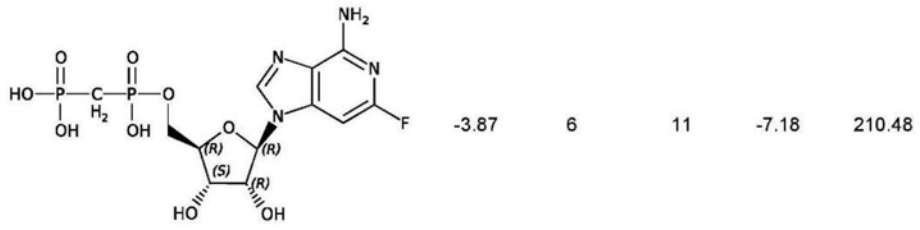
[0430]



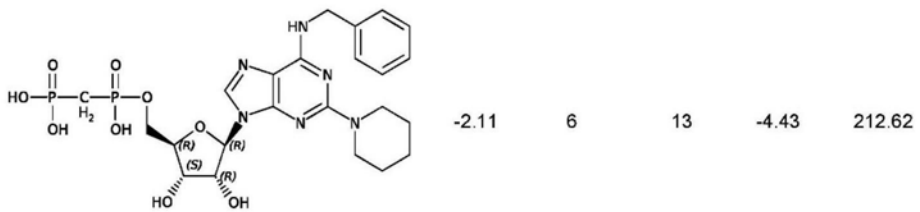
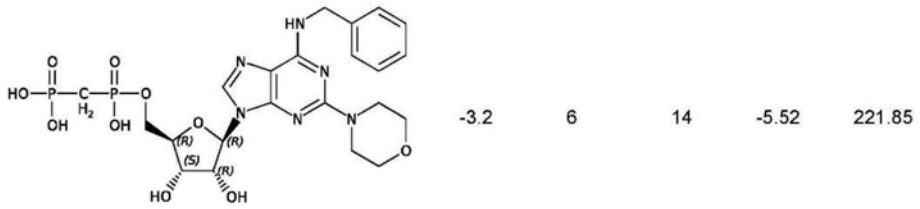


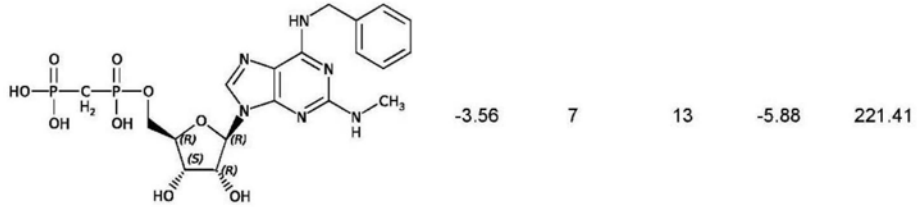
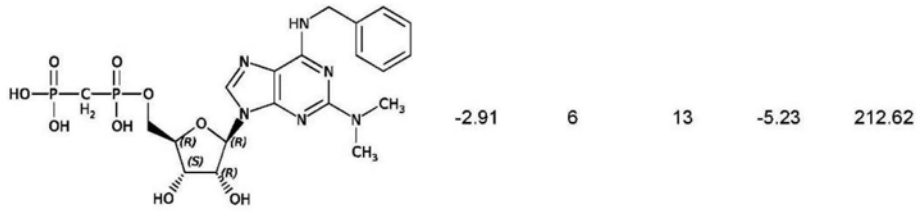
[0431]



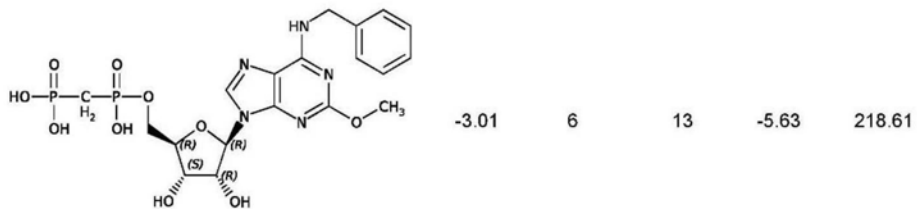
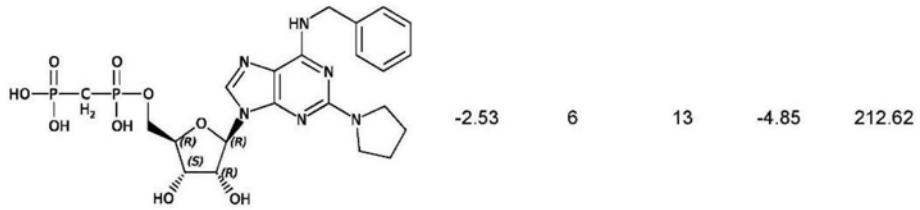


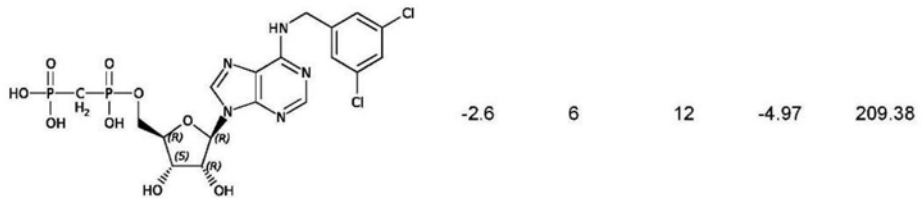
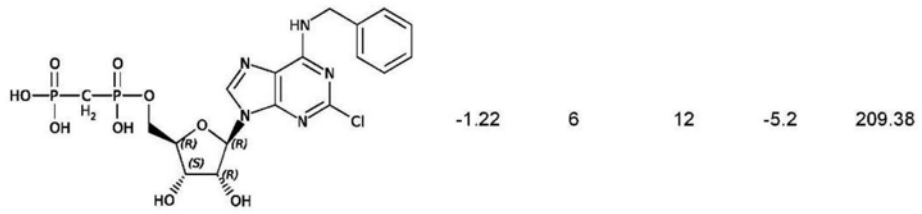
[0432]



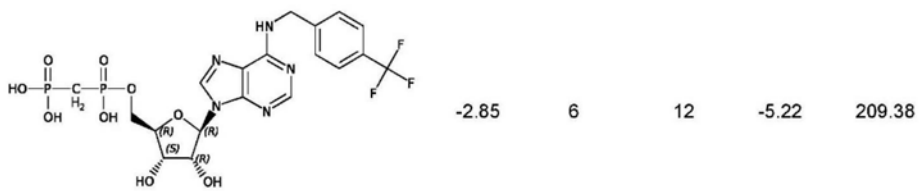
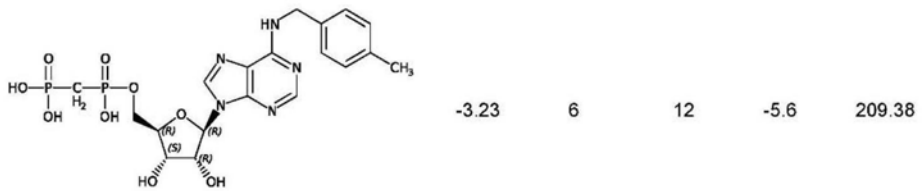


[0433]

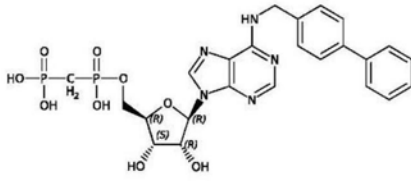




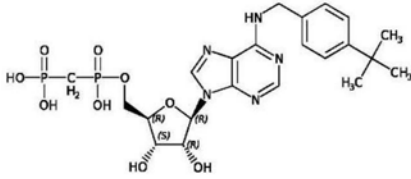
[0434]



-2.07 6 12 -4.44 209.38

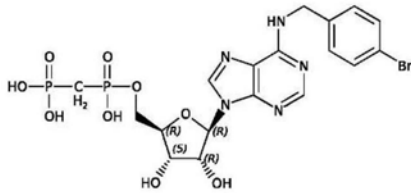


-2.14 6 12 -4.51 209.38

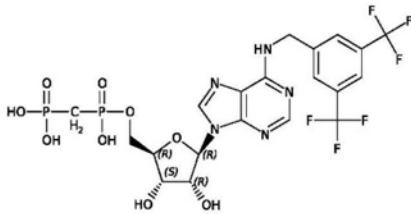


[0435]

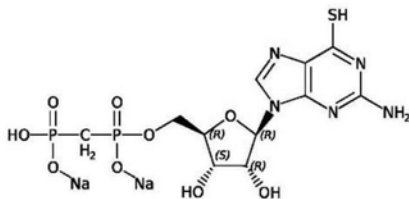
-2.96 6 12 -5.33 209.38



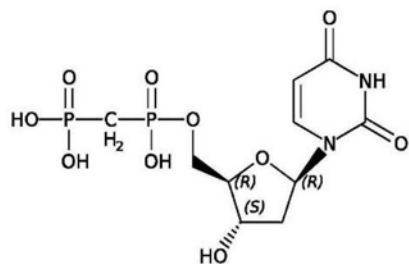
-1.97 6 12 -4.34 209.38



-2.58 5 10 -3.69 199.98

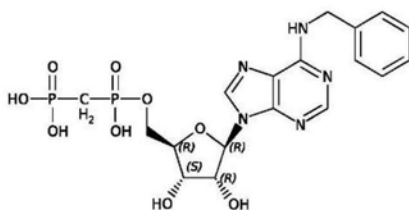


-2.76 5 9 -7.43 182.93



[0436]

-3.73 6 12 -6.1 209.38



[0437] 合成方法

[0438] 通常,本文和上表中提供的化合物可以通过如相关申请W0 2017/120508、W0 2018/067424和W0 2018/094148中所述的方法制备。在下面的实施例中提供了合成路线和化合物的选定实施例。

[0439] 修饰以增强抑制剂特征

[0440] 改善本申请公开的治疗方式的一种或多种物理性质和/或它们的给药方式常常是有益的,有时甚至是必要的。物理特性的改进包括例如提高水溶性、生物利用度、血清半衰期和/或治疗半衰期的方法;和/或调节生物活性。

[0441] 本领域已知的修饰包括聚乙二醇化、Fc-融合和白蛋白融合。虽然这种修饰通常与大分子试剂(如多肽)有关,但最近已用某些小分子对修饰进行了评估。例如,Chiang, M.等(美国化学学会杂志(J. Am. Chem. Soc.), 2014, 136 (9): 3370-73)描述了与免疫球蛋白Fc结构域缀合的腺苷2a受体的小分子激动剂。小分子Fc缀合物保留了Fc受体和腺苷2a受体相互

作用,并且显示出与未复合的小分子相比优异的性能。还描述了PEG分子与小分子治疗剂的共价连接(Li,W.等人,聚合物科学进展(Progress in Polymer Science),2013 38:421-44)。

[0442] 治疗和预防用途

[0443] 本发明考虑了本文所述的CD73抑制剂在治疗或预防广泛范围的疾病、病症和/或病况和/或其症状中的用途。尽管在下文中详细描述了特定的用途,但是应该理解,本发明不限于此。此外,虽然下文阐述了特定疾病、病症和病况的一般类别,但是某些疾病、病症和病况可以是不止一个类别的成员,而其他疾病、病症或病况可能不是任何公开类别的成员。

[0444] 与肿瘤有关的疾病。根据本发明,CD73抑制剂可用于治疗或预防增殖性病况或病症,包括癌症,例如子宫癌,子宫颈癌,乳腺癌,前列腺癌,睾丸癌,胃肠道癌(例如食管癌,口咽癌,胃癌,小肠癌或大肠癌,结肠癌或直肠癌),肾癌,肾细胞癌,膀胱癌,骨癌,骨髓癌,皮肤癌,头或颈癌,肝癌,胆囊癌,心脏癌,肺癌,胰腺癌,唾液腺癌,肾上腺癌,甲状腺癌,脑癌(例如神经胶质瘤),神经节癌,中枢神经系统(CNS)的癌症和外周神经系统(PNS)的癌症以及造血系统的癌症和免疫系统(例如脾或胸腺)的癌。本发明还提供了治疗或预防其他癌症相关疾病、病症或病况的方法,其他癌症相关疾病、病症或病况包括,例如,免疫原性肿瘤、非免疫原性肿瘤、休眠性肿瘤、病毒诱导的癌症(例如上皮细胞癌、内皮细胞癌、鳞状细胞癌和乳头瘤病毒)、腺癌、淋巴瘤、癌(carcinomas)、黑素瘤、白血病、骨髓瘤、肉瘤、畸胎瘤、化学诱导的癌症、转移(metastasis)和血管生成。本发明考虑降低对肿瘤细胞或癌细胞抗原的耐受性,例如通过调节调节性T细胞和/或CD8⁺T细胞的活性(参见例如Ramirez-Montagut等(2003)致癌基因(Oncogene)22:3180-87;和Sawaya等人(2003)New Engl.J.Med.349:1501-09)。在具体的实施方式中,肿瘤或癌症为结肠癌、卵巢癌、乳腺癌、黑素瘤、肺癌、成胶质细胞瘤或白血病。术语“与癌症相关的疾病、病症和病况”的使用是要广义地指与癌症直接或间接相关的病症,并且包括例如血管生成和诸如发育异常(dysplasia)等的癌前症状。

[0445] 在某些实施方式中,癌症为转移性的或处于转移风险中,或者可能发生在弥散组织中,包括血液癌或骨髓癌(例如白血病)。在一些进一步的实施方式中,本发明的化合物可以用于克服T细胞耐受性。

[0446] 在一些实施方式中,本发明提供了用CD73抑制剂和至少一种另外的治疗剂或诊断剂(其实例在本文其他地方阐述)来治疗增殖性病况、癌症、肿瘤或癌前症状的方法。

[0447] 免疫相关疾病和具有炎性成分的疾病。如本文所用,诸如“免疫疾病”、“免疫病况”、“免疫病症”、“炎性疾病”、“炎性病况”、“炎性病症”等术语意在广义地涵盖任何免疫相关疾病(例如自身免疫疾病)或具有炎症成分的疾病,所述疾病可以通过本文所述的CD73抑制剂治疗,从而获得一些治疗益处。这种病况经常与其他疾病、病症和病况密不可分。举例来说,“免疫病况”可指增殖性病况,例如癌症、肿瘤和血管生成;包括抵抗免疫系统的根除的感染(急性和慢性)、肿瘤和癌症。

[0448] 本发明所述的CD73抑制剂可用于增加或增强免疫应答;改善免疫接种(immunization),包括提高疫苗效力;和增加炎症。可以使用本申请公开的化合物治疗与免疫缺陷疾病,免疫抑制医学治疗,急性和/或慢性感染以及衰老有关的免疫缺陷。CD73抑制剂也可以用于刺激患有医源性诱导的免疫抑制的患者的免疫系统,包括那些接受过骨髓移植、化疗或放疗的患者。

[0449] 在本发明公开的具体实施方式中,CD73抑制剂用于通过提供佐剂活性来增加或增强对抗原的免疫应答。在一个具体实施方式中,将至少一种抗原或疫苗与本发明所述的至少一种CD73抑制剂组合施用给受试者以延长对抗原或疫苗的免疫应答。还提供了治疗组合物,其包含至少一种抗原性试剂或疫苗组分和至少一种根据本发明教导的CD73抑制剂组合,所述抗原性试剂或疫苗组分包括但不限于病毒、细菌和真菌或其部分、蛋白质、肽、肿瘤特异性抗原和核酸疫苗。

[0450] 与微生物有关的疾病。通过抑制CD73的免疫抑制和抗炎活性,本发明设想了本文所述的CD73抑制剂在治疗和/或预防任何病毒、细菌、真菌、寄生虫或其他感染性疾病、病症或病况中的用途,用CD73抑制剂治疗这些疾病、病症或病况可能是有益的。这类疾病和病症的实例包括HIV和AIDS、葡萄球菌和链球菌感染(分别例如金黄色葡萄球菌和血链球菌)、利什曼原虫、弓形虫、毛滴虫、贾第虫、白色念珠菌、炭疽芽孢杆菌和铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*)。本发明的化合物可用于治疗败血症、降低或抑制细菌生长,和降低或抑制炎症细胞因子。

[0451] CNS相关的疾病和神经病症。抑制CD73也可能是患有神经病学、神经精神病学、神经退行性疾病或其他与中枢神经系统有某种联系的疾病、病症和病况(包括与认知功能和运动功能受损相关的病症)的患者的重要治疗策略。实例包括帕金森病、锥体外综合征(EPS)、肌张力障碍,静坐不能,迟发性运动障碍,不宁腿综合征(RLS),癫痫,睡眠周期性肢体运动(PLMS),注意力缺陷障碍,抑郁症,焦虑症,痴呆,阿尔茨海默病,亨廷顿舞蹈病,多发性硬化症,脑缺血,出血性中风,蛛网膜下腔出血和创伤性脑损伤。

[0452] 其他疾病。本发明的实施方案涵盖向受试者施用本文所述的CD73抑制剂,用于治疗或预防可受益于至少一些CD73抑制水平的任何其他病症。这些疾病、病症和病况包括例如心血管病(例如心脏缺血),胃肠病(例如克罗恩病),代谢病(例如糖尿病),肝病(例如肝纤维化,NASH和NAFLD),肺病(例如,COPD和哮喘),眼科病(例如糖尿病性视网膜病变)和肾病(例如肾衰竭)。

[0453] 在一些实施方式中,本发明的CD73抑制剂可用于在服用他汀类药物(例如洛伐他汀和普伐他汀)的受试者中抑制他汀类药物诱导的腺苷产生,或降低或减少他汀类药物引起的血糖升高。

[0454] 药物组合物

[0455] 本发明的CD73抑制剂可以是适合施用于受试者的组合物的形式。通常,这样的组合物是包含一种或多种CD73抑制剂和一种或多种药学上可接受的或生理学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂的“药物组合物”。在某些实施方案中,CD73抑制剂以治疗可接受的量存在。药物组合物可以用于本发明的方法中;因此,例如,所述药物组合物可被离体或体内施用至对象以实行本文所述的治疗和预防方法和用途。

[0456] 可以将本发明的药物组合物配制成与预期的给药方法或途径相容;示例性的给药途径在本文中阐述。此外,药物组合物可以与本文所述的另外的治疗活性剂或化合物联合使用,来治疗或预防本发明所考虑的疾病、病症和病况。

[0457] 通常,药物组合物包含治疗有效量的本发明所涵盖的CD73抑制剂和一种或多种药学和生理学上可接受的制剂。合适的药学上可接受的或生理上可接受的稀释剂、载体或赋形剂,包括但不限于抗氧化剂(例如抗坏血酸和硫酸氢钠)、防腐剂(例如苯甲醇,对羟基苯

甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯或正丙酯)、乳化剂、悬浮剂、分散剂、溶剂、填料、填充剂、洗涤剂、缓冲剂、载体、稀释剂和/或佐剂。例如,合适的载体可以是生理盐水溶液或柠檬酸盐缓冲盐水,其可能补充有用于肠胃外施用的药物组合物中常见的其它物质。中性缓冲盐水或与血清白蛋白混合的盐水是另外的示例性载体。本领域技术人员将容易地认识到可用于本文所考虑的药物组合物和剂型中的各种缓冲剂。典型的缓冲剂包括但不限于药学上可接受的弱酸、弱碱或其混合物。作为例子,缓冲组分可以是水溶性物质,如磷酸、酒石酸、乳酸、琥珀酸、柠檬酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、谷氨酸,及它们的盐。可接受的缓冲剂包括,例如,氨丁三醇缓冲剂(Tris buffer)、N-(2-羟基乙基)哌嗪-N'-(2-乙磺酸)(HEPES)、2-(N-吗啉)乙磺酸(MES)、2-(N-吗啉)乙磺酸钠盐(MES)、3-(N-吗啉)丙磺酸(MOPS)和N-三[羟甲基]甲基-3-氨基丙磺酸(TAPS)。

[0458] 在配制完药物组合物后,可将其作为溶液、悬浮液、凝胶、乳液、固体或脱水或冻干粉储存在无菌小瓶中。这种制剂可以以即用形式、使用前需要复原的冻干形式、使用前需要稀释的液体形式或其他可接受的形式被储存。在一些实施方式中,药物组合物在一次性使用容器(例如,一次性使用的小瓶、安瓿、注射器或自动注射器(类似于例如EpiPen®))中被提供,而在其他实施方式中在多次使用的容器(例如,多次使用的小瓶)中被提供。

[0459] 制剂还可包括保护组合物免于从体内快速降解或消除的载体,例如控释制剂,其包括脂质体、水凝胶、前药和微囊化递送系统。例如,可以使用延时材料,例如单独的或与蜡组合的单硬脂酸甘油酯或硬脂酸甘油酯。任何药物递送装置都可用于递送CD73抑制剂,包括植入物(例如植入式泵)和导管系统,缓慢注射泵和装置,所有这些都是本领域技术人员所熟知的。

[0460] 一般皮下或肌肉内给药的积存注射(depot injection)也可用于在规定的时间内释放本文公开的CD73抑制剂。积存注射通常是固体基或油基的,并且通常包含至少一种本文所述的制剂组分。本领域普通技术人员熟悉积存注射剂的可能的制剂和用途。

[0461] 本文提供的药物组合物也可以是无菌可注射的水性或油性悬浮液的形式。该悬浮液可根据本领域已知技术使用本文提及的那些合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂配制。无菌可注射的制剂也可以是在无毒肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液(例如,在1,3-丁二醇中的溶液)。可使用的可接受的稀释剂、溶剂和分散介质包括水、林格溶液、等渗氯化钠溶液、氢化蓖麻油系列EL™(Cremophor EL™)(BASF,帕西帕尼,新泽西州)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液态聚乙二醇)以及它们的合适混合物。另外,无菌的固定油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的,可以使用任何温和的固定油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。此外,脂肪酸如油酸可用于制备注射剂。通过包含延迟吸收的试剂(例如单硬脂酸铝或明胶),可以实现特定可注射制剂的延长吸收。

[0462] 给药途径

[0463] 本发明考虑以任何适当的方式给药CD73抑制剂及其组合物。合适的给药途径包括肠胃外(例如,肌内、静脉内、皮下(例如,注射或植入)、腹膜内、脑池内、关节内,腹膜内、脑内(实质内)和脑室内)和眼内。一般通过皮下或肌肉内给药的积存注射(depot injection)也可用于在规定的时间内释放本文所述的CD73抑制剂。

[0464] 联合疗法

[0465] 本发明考虑将CD73抑制剂单独或与一种或多种活性治疗剂组合的用途。另外的活

性治疗剂可以是小化学分子;大分子如蛋白质、抗体、肽体(peptibodies)、肽、DNA、RNA或这些大分子的片段;或细胞或基因疗法。在这种联合疗法中,各种活性剂通常具有不同的互补作用机制。这种联合疗法可通过允许一种或多种试剂的剂量减少,从而减少或消除与一种或多种试剂相关的副作用而特别有益。此外,这种组合疗法可以对潜在的疾病,病症或病状具有协同的治疗或预防作用。

[0466] 如本文所用,“组合”意指包括可以分开给药的疗法,例如分别配制用于单独给药(例如,如可以在试剂盒中提供的),以及可以在单一制剂中一起给药的疗法(即,“共制剂(co-formulation)”)。

[0467] 在某些实施方式中,CD73抑制剂是顺序施用或应用的,例如,其中一种药剂在一种或多种另外的药剂之前施用。在其他实施方式中,同时给予CD73抑制剂,例如,两种或更多种药物在同时或大约同时给药;两种或更多种药剂可以以两种或更多种分开的制剂存在或组合成单一制剂(即共制剂)。无论两种或多种药剂是顺序地施用还是同时施用,出于本发明的目的它们被认为是联合施用的。

[0468] 本文所述的CD73抑制剂在该情况下可以以任何合适的方式与至少一种另外的(活性)药剂组合使用。在一个实施方式中,在一段时间内维持用至少一种活性剂和至少一种本发明的CD73抑制剂治疗。在另一个实施方式中,当以恒定的给药方案用本发明的CD73抑制剂的治疗时,减少或中止用至少一种活性剂的治疗(例如当受试者稳定时)。在另一个实施方式中,当用本发明的CD73抑制剂治疗减少(例如,更较剂量,更低频率给药或更短治疗方案)时,减少或中止用至少一种活性剂的治疗(例如,当受试者稳定时)。在又一个实施方式中,减少或中止用至少一种活性剂治疗(例如,当受试者稳定时),并且增加用本发明的CD73抑制剂治疗(例如更高剂量,更频繁给药或更长时间治疗方案)。在又一个实施方式中,保持用至少一种活性剂的治疗并且减少或中止用本发明的CD73抑制剂治疗(例如,更低剂量,更低频率给药或更短治疗方案)。在又一个实施方式中,减少或中止用至少一种活性剂治疗和用本发明的CD73抑制剂治疗(例如,更低剂量、更低频次给药或更短治疗方案)。

[0469] 与肿瘤有关的疾病。本发明提供了用CD73抑制剂和至少一种另外的治疗剂或诊断剂治疗和/或预防增殖性病症、癌症、肿瘤或癌前疾病、病症或病况的方法。

[0470] 在某些实施方案中,本发明提供了用于肿瘤生长的肿瘤抑制的方法,包括给予本文所述的CD73抑制剂与信号转导抑制剂(STI)以实现肿瘤生长的加成或协同抑制。如本文所用,术语“信号转导抑制剂”是指选择性抑制信号传导通路中的一个或多个步骤的药剂。本发明的信号转导抑制剂(STI)包括:(i) bcr/abl激酶抑制剂(例如GLEEVEC);(ii) 表皮生长因子(EGF)受体抑制剂,包括激酶抑制剂和抗体;(iii) her-2/neu受体抑制剂(例如赫赛汀(HERCEPTIN));(iv) Akt家族激酶或Akt通路抑制剂(例如雷帕霉素);(v) 细胞周期激酶抑制剂(例如,夫拉平度(flavopiridol));和(vi) 磷脂酰肌醇激酶抑制剂。参与免疫调节的药剂也可以与本文所述的CD73抑制剂组合用于抑制癌症患者的肿瘤生长。

[0471] 化学治疗剂的实例包括但不限于烷化剂,如噻替派和环磷酰胺;烷基磺酸盐类,如白消安、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡;氮丙啶类,如苯并多巴(benzodopa)、卡洛醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)和乌雷多巴(uredopa);乙烯亚胺类和甲基三聚氰胺类,包括六甲蜜胺、三乙撑蜜胺、三乙撑磷酰胺、三乙撑硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺;氮芥类,如苯丁酸氮芥(chiorambucil)、萘氮芥(chlomaphazine)、氯磷酰胺、雌莫司汀、异环磷

酰胺、二氯甲基二乙胺、二氯甲基二乙胺氧化物盐酸盐、美法仑、新恩比兴 (novembichin)、芬司特瑞 (phenesterine)、泼尼氮芥、曲洛磷胺、尿嘧啶氮芥；亚硝基脲类，如卡莫司汀、氯脲毒素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀、拉莫司汀 (ranimustine)；抗生素类，如阿克拉霉素 (aclacinomycin)、放线菌素、安曲霉素 (authramycin)、重氮丝氨酸、博来霉素 (bleomycin)、放线菌素C、加利车霉素 (calicheamicin)、卡拉比星 (carabycin)、卡米诺霉素 (caminomycin)、嗜癌菌素 (carzinophilin)、色霉素、更生霉素、柔红霉素、地托比星 (detorubicin)、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸、阿霉素、表柔比星、依索比星 (esorubicin)、伊达比星、麻西罗霉素、丝裂霉素、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泼非霉素 (potfiromycin)、嘌呤霉素、奎拉霉素 (quelamycin)、罗多比星 (rodorubicin)、链黑菌素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星；抗代谢物，如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶 (5-FU)；叶酸类似物，如二甲叶酸 (denopterin)、甲氨蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙；嘌呤类似物，如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤 (thiamiprine)、硫鸟嘌呤；嘧啶类似物，如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷、5-FU；雄激素类，如卡普睾酮、屈他雄酮丙酸酯、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯；抗肾上腺素类，如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦；叶酸补充剂，如亚叶酸；醋葡醛内酯；醛磷酰胺糖苷；氨基乙酰丙酸；安吡啶；贝司布西 (bestrabucil)；比生群；艾达曲克 (edatraxate)；得弗伐胺 (defofamine)；地美可辛；地吡醌 (diaziquone)；艾福米辛 (elformithine)；依利醋铵；依托格鲁；硝酸镓；羟基脲；香菇多糖；氯尼达明；丙咪胍 (mitoguazone)；米托蒽醌；莫哌达醇 (mopidamol)；二胺硝吡啶 (nitracrine)；喷司他丁；凡那明 (phenamet)；吡柔比星；鬼臼酸 (podophyllinic acid)；2-乙酰肼；丙卡巴肼；雷佐生 (razoxane)；西佐喃 (sizofiran)；螺环锗 (spirogermanium)；细交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid)；三亚胺醌 (triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙胺；乌拉坦 (urethan)；长春地辛；达卡巴嗪；甘露氮芥；二溴甘露醇；二溴卫矛醇 (mitolactol)；哌泊溴烷；甲托辛 (gacytosine)；阿拉伯糖苷 (Ara-C)；环磷酰胺；塞替派；紫杉烷类，例如紫杉醇和多西他赛 (doxorubicin)；苯丁酸氮芥；吉西他滨；6-巯鸟嘌呤；巯基嘌呤；甲氨蝶呤；铂和铂配位化合物，如顺铂和卡铂；长春花碱；依托泊苷 (VP-16)；异环磷酰胺；丝裂霉素C；米托蒽醌；长春新碱；长春瑞滨；诺维苯 (navelbine)；米托蒽醌 (novantrone)；替尼泊苷；道诺霉素；氨蝶呤；希罗达 (xeloda)；伊班膦酸盐；CPT11；拓扑异构酶抑制剂；二氟乙酰鸟氨酸 (DMFO)；视黄酸；埃司波霉素 (esperamicin)；卡培他滨；以及上述任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0472] 化学治疗剂还包括用于调节或抑制对肿瘤激素作用的抗激素剂，例如抗如抗雌激素包括例如他莫昔芬 (tamoxifen)、雷洛昔芬、抑制4(5)-咪唑的芳香酶、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬 (trioxifene)、雷洛西芬 (keoxifene)、奥那司酮 (onapristone) 和托瑞米芬 (toremifene)；以及抗雄激素如氟他胺 (flutamide)、尼鲁米特 (nilutamide)、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林；以及上述任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。在某些实施方式中，联合治疗包括施用激素或相关的激素药剂。

[0473] 可以与CD73抑制剂组合使用的其他治疗方式包括放射疗法、针对肿瘤抗原的单克隆抗体、单克隆抗体和毒素的复合物、T细胞佐剂、骨髓移植或抗原呈递细胞 (例如，树突细胞疗法)，包括用于刺激这种抗原呈递细胞的TLR激动剂。

[0474] 在某些实施方式中，本发明涵盖了本文所述的化合物与过继细胞治疗联合的用

途,过继细胞疗法是一种新的和有前景的个性化免疫疗法形式,其中向癌症患者施用具有抗肿瘤活性的免疫细胞。正在开发使用肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)和经过工程改造以表达例如嵌合抗原受体(CAR)或T细胞受体(TCR)的T细胞的继细胞疗法。继细胞疗法通常涉及从个体收集T细胞,基因修饰它们以靶向特定抗原或增强它们的抗肿瘤效果,将它们扩增到足够数量,并将基因修饰的T细胞输注至癌症患者内。可以从之后被重新输注的扩增细胞的患者(例如,自体的)中收集T细胞,或者可以从供体患者(例如,同种异体的)收集T细胞。

[0475] 在某些实施方式中,本发明涵盖了本文所述的化合物与用于沉默基因表达的基于RNA干扰的疗法联用的用途。RNAi开始于将较长的双链RNA裂解成小的干扰RNA(siRNA)。将siRNA的一条链掺入被称为RNA诱导的沉默复合物(RISC)的核糖核蛋白复合物中,然后将其用于鉴定与掺入的siRNA链至少部分互补的mRNA分子。RISC可以结合至或裂解mRNA,两者都抑制转译。

[0476] 在进一步的实施方式中,本发明涵盖了使用本文所述的CD73功能抑制剂与通过激动靶点(例如CD137、OX40和GITR)或通过疫苗和溶瘤病毒将免疫细胞暴露于抗原的抗肿瘤免疫T细胞反应激活剂联合使用。

[0477] CD137,也称为4-1BB,是一种肿瘤坏死因子受体,主要存在于活化的T细胞、NK细胞和髓样细胞上。CD137与其配体(CD137L)的结合产生刺激信号,通过增加IL-2、IL-4和干扰素 γ 的产生来激活CD4⁺和CD8⁺T细胞。在鼠模型中进行评估时,CD137抗体具有增强的抗肿瘤免疫反应,并降低导致自身免疫性疾病的体液免疫反应和抗体的产生。已经在临床试验中评估了CD137抗体乌瑞鲁单抗(urelumab)用于治疗头颈癌和转移性黑色素瘤。OX40是活化T细胞上的一种共刺激跨膜糖蛋白受体。已显示与OX40结合的APC上的配体可增加T细胞增殖、细胞毒性活性和存活率。在鼠模型中,OX40抗体已证明具有肿瘤消退作用,并且正在进行OX40抗体的I期临床试验。GITR(糖皮质激素诱导的TNFR家族相关基因;也称为CD357)也是可增强宿主的免疫反应的激活免疫检查点。与其他检查点相比,在确定GITR作为肿瘤治疗靶点的潜力方面,研究较少。

[0478] 疫苗,尤其是针对树突状细胞的疫苗,代表了激活抗肿瘤T细胞反应的另一种机制。使用树突状细胞疫苗的临床试验正在进行中,例如,黑色素瘤(Gp 100肽脉冲DC疫苗)和胶质母细胞瘤(热激蛋白肽复合物-96)。疫苗疗法与检查点抑制剂的组合也正在评估中。

[0479] 注射到肿瘤微环境中的溶瘤病毒代表了另一种刺激针对肿瘤的免疫反应的途径。溶瘤病毒经过工程改造特异性靶向癌细胞进行复制和毒性作用。目前,腺病毒、HSV、麻疹病毒、逆转录病毒和细小病毒正在作为潜在的溶瘤病毒疗法进行研究。塔里木真·拉帕尔帕维奇(Talimogene laherparepvec)(T-VEC)已在黑色素瘤的III期临床试验中进行了评估,并且针对胰腺癌、卵巢癌和肝细胞癌等的临床试验正在进行中。

[0480] 免疫检查点抑制剂。本发明考虑将本文所述的CD73功能抑制剂与免疫检查点抑制剂组合使用。

[0481] 所有癌症的特征是大量的遗传和表观遗传改变,这些改变提供了一套不同的抗原,免疫系统可以利用它们来区分肿瘤细胞和正常肿瘤细胞。在T细胞的情况下,通过经由T细胞受体(TCR)的抗原识别开起的应答的最终幅度(例如,细胞因子产生或增殖的水平)和质量(例如,所产生的免疫应答的类型,例如细胞因子产生的模式)受共刺激和抑制信号(免疫检查点)之间的平衡调节。在正常生理条件下,免疫检查点对于自身免疫的预防(即维持

自身耐受性)以及还对于当免疫系统对致病性感染作出反应时保护组织免受伤害是至关重要的。免疫检查点蛋白的表达作为一种重要的免疫抵抗机制可由肿瘤异常调节。

[0482] 免疫检查点(配体和受体)的实例,其中一些在各种类型的肿瘤细胞中被选择性地上调,是用于阻断的候选者;包括PD1(程序性细胞死亡蛋白1);PDL1(PD1配体);BTLA(B和T淋巴细胞衰减剂);CTLA4(细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4);TIM3(T细胞膜蛋白3);LAG3(淋巴细胞激活基因3);TIGIT(具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体);A2aR(腺苷A2a受体A2aR);和杀伤细胞抑制性受体,根据其结构特征可将其分为两类:i)杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)和ii)C型凝集素受体(II型跨膜受体家族的成员)。文献中已经描述了其他较不明确的免疫检查点,包括受体(例如2B4(也称为CD244)受体)和配体(例如某些B7家族抑制性配体,例如B7-H3(也称为CD276)和B7-H4(也称为B7-S1、B7x和VCTN1))。见Pardoll, (2012年4月)Nature Rev.Cancer 12:252-64。

[0483] 本发明涵盖了将CD73功能抑制剂与上述免疫检查点受体和配体以及尚待描述的免疫-检查点受体和配体抑制剂组合使用,所述CD73功能抑制剂是根据本文所述的教导,用于肠胃外给药的候选药物。某些免疫检查点的调节剂目前可用的,而另一些则处于后期开发阶段。举例来说,2011年完全人源化的CTLA4单克隆抗体伊匹单抗(ipilimumab)(YERVOY;百时美施贵宝)被批准用于治疗黑色素瘤时,它成为美国首个获得监管批准的免疫检查点抑制剂。包含CTLA4和抗体(CTLA4-Ig;阿巴西普(abatcept)(ORENCIA;百时美施贵宝))的融合蛋白已经被用于治疗类风湿性关节炎,并且其他融合蛋白已经显示出在对爱泼斯坦巴尔病毒(Epstein Barr Virus)敏感的肾脏移植患者中有效。下一类获得监管机构批准的免疫检查点抑制剂是针对PD-1及其配体PD-L1和PD-L2的。批准的抗PD1抗体包括纳武单抗(nivolumab)(OPDIVO;百时美施贵宝)和帕博利珠单抗(pembrolizumab)(KEYTRUDA;默克),用于各种癌症包括:鳞状细胞癌、经典型霍奇金淋巴瘤和尿路上皮癌。批准的抗PDL1抗体包括针对某些癌症(包括尿路上皮癌)的阿维鲁单抗(avelumab)(BAVENCIO,雪兰诺和辉瑞),阿特朱单抗(atezolizumab)(TECENTRIQ;罗氏/基因泰克)和度伐单抗(durvalumab)(IMFINZI;阿斯利康)。尽管没有批准的靶向TIGIT或其配体CD155和CD112的治疗剂,但正在开发的治疗剂包括BMS-986207(百时美施贵宝),MTIG7192A/RG6058(罗氏/基因泰克)和OMP-31M32(OncoMed)。

[0484] 本发明包括上述任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0485] 在2015-17年度,FDA批准了免疫检查点抑制剂用于治疗某些类型的肺癌、头颈癌、膀胱癌、肾癌和霍奇金淋巴瘤。在下文中将更详细地描述其中一些。

[0486] 晚期黑色素瘤。

[0487] 在过去的三十年中,被诊断患有黑色素瘤的人数急剧增加,并且在全世界范围内还在继续增加。黑色素瘤是男性中第五大最常见的癌症,在女性中第七大最常见的癌症。尽管黑色素瘤仅占所有皮肤癌的1%,但它却导致绝大多数死亡。尽管大多数黑色素瘤患者仅通过手术即可治愈,但在转移性黑色素瘤患者中,只有17%的患者在诊断后可以生存5年。

[0488] 伊匹单抗(ipilimumab)批准后,成为可延长晚期黑色素瘤患者寿命的第一疗法。FDA随后批准了另外两种检查点抑制剂帕博利珠单抗(pembrolizumab)和纳武单抗(nivolumab)用于治疗晚期黑色素瘤。在特定的研究中,两者均比伊匹单抗更有效,并且引起的不良反应更少。

[0489] 晚期肺癌。

[0490] 肺癌是全球最常见的癌症,2012年有180万新确诊患者,其也是癌症相关死亡的主要原因,每年约造成160万人死亡。非小细胞肺癌(NSCLC)占有肺癌的绝大多数(85%)。与黑色素瘤和肾细胞癌相反,NSCLC以前不被认为是对免疫疗法敏感的癌症。事实上,直到最近,肺癌治疗的范式才从以癌细胞本身为靶点转向以癌细胞免疫耐受为靶点。

[0491] 直到2015年PD-1检查点抑制剂帕博利珠单抗(每三周200mg)和纳武单抗获批,标准化疗的平均预期寿命仅为10个月。帕博利珠单抗治疗可显著改善生存率,并且严重不良反应发生率远低于标准化疗。尽管PD-1/PD-L1阻断疗法在大约20%的晚期NSCLC患者中产生了明显的临床益处,但约80%的患者对此疗法耐受。这样,组合疗法等被认为对于这种类型的癌症特别有益。

[0492] 考虑到免疫疗法的有效性,PD-L1生物标志物检测正在成为一种选择最有可能从免疫检查点抑制剂中受益的患者的方法。

[0493] 因此,新诊断的NSCLC患者将接受PD-L1检测,PD-L1水平高的患者可能会接受免疫治疗而非化疗。

[0494] PD-L1抑制剂阿特朱单抗(atezolizumab)先前被批准用于治疗膀胱癌,并于2016年被FDA批准用于已接受转移性NSCLC治疗的患者。2016年,FDA还批准了帕博利珠单抗作为晚期PD-L1阳性NSCLC患者的一线治疗药物。

[0495] 晚期膀胱癌。

[0496] 膀胱癌在男性中比女性更常见,是男性中第四大最常见的癌症。膀胱癌最常见的诊断类型是浅表性膀胱癌,通常可以成功治疗。然而,患有晚期膀胱癌的患者历来治疗选择有限。的确,直到2016年5月FDA批准免疫疗法阿特朱单抗为止,几十年来在晚期膀胱癌的治疗方面几乎没有进展。在最初的以顺铂或铂为基础的化疗后恶化的膀胱癌患者中,对化疗的历史反应率很低,仅约10%的患者肿瘤缩小。相反,在某些研究中,所有患者对阿特朱单抗的应答率分别为15%和在PD-L1阳性免疫细胞较多的患者中,其应答率为27%。

[0497] 在对晚期膀胱癌患者使用帕博利珠单抗的临床试验中,先前接受过癌症治疗的患者接受帕博利珠单抗治疗比接受化疗的患者寿命更长。另一项临床试验表明,对于不适合顺铂化疗的晚期膀胱癌患者,派姆单抗也可能作为有效一线治疗。

[0498] 膀胱癌的治疗在下面结合尿路上皮癌的讨论进一步解决。

[0499] 复发性或转移性头颈癌。

[0500] 每年全世界有超过60万人被诊断出患有头颈癌,仅在美国就有将近50,000人。治疗选择很少,尤其是当其复发或转移时。在化学疗法治疗后6个月内恶化的鳞状细胞头颈癌患者没有延长生命的治疗选择。

[0501] 纳武单抗已被批准用于治疗复发性或转移性头颈部鳞状细胞癌的患者。在临床研究中,用纳武单抗治疗的患者的估计1年生存率比用标准化学疗法治疗的患者高2倍以上。此外,接受纳武单抗的患者遭受严重不良反应的人数更少,并且接受纳武单抗的患者的生活质量保持稳定,但接受化疗的患者的生活质量却下降了。

[0502] 目前,在美国还没有另外的免疫治疗剂被批准用于治疗头颈癌。

[0503] 减缓卵巢癌进展。

[0504] 尽管与其他癌症相比,卵巢癌相对不常见,但它是美国女性中与癌症相关的死亡

的第五大最常见原因。由于缺乏特定症状，卵巢癌通常在诊断时已达到晚期。尽管进行了外科手术和化学疗法，但超过70%的患有缓解的卵巢癌的女性最终复发了。这类女性在诊断后5年内存活的不到一半。

[0505] 2015年的临床研究表明，纳武单抗可以帮助某些铂基化学疗法后复发的卵巢癌女性。关于如何最好地将免疫疗法纳入卵巢癌治疗的研究正在进行中，包括例如将纳武单抗与其他免疫疗法联合用于复发性卵巢癌女性。

[0506] 霍奇金淋巴瘤。

[0507] 霍奇金淋巴瘤是淋巴系统的一种癌症，在青壮年和男性中比女性更为普遍。经典霍奇金淋巴瘤是霍奇金淋巴瘤的最常见类型，已经通过传统化学疗法获得了一定的成功。但是，约有20%至30%的经典霍奇金淋巴瘤患者在初次治疗后会复发或完全对治疗无反应；此类患者需要进一步，更深入的治疗，例如大剂量化疗，然后进行自体干细胞移植(ASCT)。

[0508] 恶性经典霍奇金淋巴瘤细胞(里-斯细胞(Reed-Sternberg)细胞)的遗传变化导致了大量免疫检查点分子PD-L1和PD-L2，这有助于癌细胞通过PD-1/PD-L1检查点抑制免疫反应。因此，经典的霍奇金淋巴瘤特别容易受PD-1和PD-L1免疫检查点抑制剂的影响。PD-1检查点抑制剂纳武单抗和帕博利珠单抗已被批准用于治疗复发性或难治性经典霍奇金淋巴瘤。

[0509] 尿路上皮癌。

[0510] 尿路上皮癌是全球癌症死亡的十大主要原因之一。尿路上皮癌的病理部位包括上段的输尿管和肾盂，下段的尿道和膀胱，膀胱最常见。当前的治疗方式包括基于顺铂的全身化学疗法和卡介苗芽孢杆菌(BCG)，一种减毒的牛分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*)活菌株。现有疗法中没有一个是所有患者人群中均显示出可接受的疗效和/或不良事件。实际上，对于一线铂基化疗失败后的晚期或转移性尿路上皮癌患者，以前很少有有效的治疗选择。

[0511] 在2016年5月至2017年5月的12个月中，五种抗PD-1/PD-L1抗体获得了针对局部晚期或转移性尿路上皮癌的常规或加速FDA批准。抗PD-1抗体纳武单抗(OPDIVO)和帕博利珠单抗(KEYTRUDA)；和抗PD-L1抗体阿维鲁单抗(BAVENCIO)，阿特朱单抗(TECENTRIQ)和度伐单抗(IMFINZI)均已批准用于铂基化疗期间或之后，或接受用铂基化疗的新辅助或辅助治疗的12个月内出现疾病进展的患者。目前，临床试验正在评估这些PD-1/PD-L1抑制剂与化学疗法、放疗和其他免疫检查点抑制剂(例如抗CTLA-4抗体)组合的疗效和安全性。

[0512] 帕博利珠单抗。

[0513] 除本文其他地方的公开内容外，KEYTRUDA(帕博利珠单抗)是PD-1阻断抗体，其以30分钟内静脉输注的形式给药。帕博利珠单抗以前称为派姆单抗(lambrolizumab)和MK-3475。

[0514] 帕博利珠单抗用于治疗以下患者：a) 不可切除或转移性黑色素瘤(每3周200mg)；b) 肿瘤中PD-L1高表达的转移性非小细胞肺癌(NSCLC)(每3周200mg)；c) 头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)(每3周200毫克)；d) 经典霍奇金淋巴瘤(cHL)(成人每3周200mg；儿童每3周2mg/kg(最高200mg)；e) 尿路上皮癌，包括局部晚期或转移性尿路上皮(每3周200mg)；e) 微卫星高度不稳定癌(MSI-H)(成人每3周200mg，儿童每3周2mg/kg(最高200mg))；f) 胃癌(每3周

200mg)。

[0515] 上述某些适应症的治疗与特定要求相关。例如,治疗可能需要肿瘤表现出特定的PD-L1表达基线水平,帕博利珠单抗与一种或多种其他治疗方式(例如,与含铂的化学疗法或放射疗法的联合疗法)结合使用,和/或先前的治疗方案没有成功。关于PD-L1表达,互补性诊断VENTANA PD-L1 (SP142)测定法(罗氏)已获得FDA批准,可用于确定肿瘤中PD-L1表达水平。

[0516] 纳武单抗。

[0517] 除本文其他地方的公开内容外,OPDIVO(纳武单抗)注射剂是PD-1阻断抗体,其以通常在60分钟内的静脉输注的形式给药。纳武单抗以前称为BMS-936558、MDX-1106和ONO-4538。

[0518] 纳武单抗用于治疗以下患者:a)不可切除或转移性黑色素瘤(每2周240mg);b)转移性非小细胞肺癌(NSCLC)(每2周240mg);c)晚期肾细胞癌(每2周240mg);d)经典霍奇金淋巴瘤(cHL)(每2周3mg/kg);e)头颈部复发或转移性鳞状细胞癌(每2周3mg/kg);f)局部晚期或转移性尿路上皮癌(每2周240mg);g)微卫星高度不稳定(MSI-H)或错配修复缺陷(dMMR)转移性结直肠癌(每2周240mg);h)肝细胞癌(HCC)(每2周240mg)。对于不可切除或转移性黑色素瘤,纳武单抗也已被批准与伊匹单抗联合使用(纳武单抗1mg/kg,随后是同一天的伊匹单抗,每3周一次,共4剂,然后纳武单抗每2周一次240mg)。

[0519] 阿特朱单抗。

[0520] 除了本文其他地方的公开内容以外,TECENTRIQ(阿特朱单抗)是第一种批准的抗PD-L1治疗药物。以每3周,超过60分钟静脉输注(1200mg)的形式给药。

[0521] 阿特朱单抗用于治疗以下患者a)转移性非小细胞肺癌;或b)当患者不符合接受含顺铂疗法的条件时或者当i)含铂化疗期间或之后,或ii)新辅助或辅助治疗12个月内出现疾病进展时的局部晚期或转移性尿路上皮癌(每2周10mg/kg)。阿托珠单抗在许多临床情况下都应停用。

[0522] 阿维鲁单抗。

[0523] 除本文其他地方的公开内容外,BAVENCIO(阿维鲁单抗)注射剂是PD-L1阻断抗体,其可以60分钟内静脉输注的形式给药。阿维鲁单抗以前称为MSB0010718C和MSB0010682。

[0524] 阿维鲁单抗适用于治疗以下的患者a)转移性梅克尔细胞癌(MCC)(每2周10mg/kg);或b)当i)含铂化疗期间或之后,或ii)铂化疗新辅助或辅助治疗的12个月内含患者出现疾病进展的局部晚期或转移性尿路上皮癌(每2周10mg/kg)。在前4次输注之前,应给患者预先服用抗组胺药和对乙酰氨基酚。

[0525] 度伐单抗。

[0526] 除本文其他地方的公开内容外,IMFINZI(度伐单抗)注射剂是PD-L1阻断抗体,其可以60分钟内静脉内输注的形式给药。度伐单抗以前称为MEDI-4736。

[0527] 度伐单抗适用于治疗以下患者,当患者接受i)含铂化疗期间或之后,或ii)含铂化疗新辅助或辅助治疗12个月内,出现疾病进展的局部晚期或转移性尿路上皮癌(每2周10mg/kg)的患者。尽管不建议减少剂量,但有许多停药和/或停止治疗的依据;这些依据包括肺炎、结肠炎或腹泻、肾炎和感染。

[0528] 伊匹单抗。

[0529] 除本文其他地方的公开内容外, YERVOY (伊匹单抗) 是一种CTLA-4阻断抗体, 其可在90分钟内以静脉输液的形式给药。

[0530] 伊匹单抗适用于以下患者: a) 不可切除或转移性黑色素瘤(每3周3mg/kg, 共4剂); 或b) 辅助性黑色素瘤(每3周10mg/kg, 共4剂, 随后每12周10mg/kg, 至多3年或直到有记载的疾病复发或不可接受的毒性)。

[0531] 上述某些适应症的治疗与特定要求相关。例如, 治疗癌症可能要求在BRAF (丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶B-Raf) 中没有突变, 将帕博利珠单抗与一种或多种其他治疗方式联合使用, 和/或先前的治疗方案没有成功。

[0532] 代谢和心血管疾病。

[0533] 本发明提供了用CD73抑制剂和至少一种另外的治疗剂或诊断剂治疗和/或预防某些心血管和/或代谢相关疾病、病症和病况以及与之相关的病症的方法。

[0534] 可用于治疗高胆固醇血症(以及动脉粥样硬化)的联合治疗中的治疗剂的实例包括抑制胆固醇酶促合成的他汀类药物(例如瑞舒伐他汀(CRESTOR)、氟伐他汀(LESCOL)、立普妥(LIPITOR)、洛伐他汀(MEVACOR)、PRAVACOL和辛伐他汀(ZOCOR)); 螯合胆固醇并防止其吸收的胆汁酸树脂(例如, 考来替泊(COLESTID)、LO-CHOLEST、PREVALITE、考来烯胺(QUESTRAN)和考来维仑(WELCHOL)); 阻止胆固醇吸收的依泽替米贝(ZETIA); 减少甘油三酯并可适度增加HDL的纤维酸(例如TRICOR); 适度降低LDL胆固醇和甘油三酯的烟酸(例如NIACOR); 和/或前述的组合(例如, VYTORIN(依泽替米贝与辛伐他汀))。可以作为与本文所述的CD73抑制剂组合使用的候选者的可选胆固醇治疗包括各种补充剂和草药(例如大蒜, 多甘烷醇和印度没药(guggul))。

[0535] 本发明包括上述任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0536] 免疫相关病症和具有炎症成分的病症。本发明提供了用CD73抑制剂和至少一种另外的治疗剂或诊断剂治疗和/或预防免疫相关疾病、病症和病况; 和具有炎症成分的疾病、病症和病况的方法。

[0537] 用于联合治疗的治疗剂的实例对潜在的疾病、病症或病况具有特异性, 并且是本领域技术人员已知的。

[0538] 微生物疾病。本发明提供了用CD73抑制剂和至少一种另外的治疗剂或诊断剂(例如一种或多种其他抗病毒剂和/或一种或多种与病毒疗法无关的试剂) 治疗和/或预防病毒、细菌、真菌和寄生虫疾病、病症和病况以及与之相关的病症的方法。

[0539] 这种组合疗法包括靶向各种病毒生命周期阶段并具有不同作用机制的抗病毒剂, 包括但不限于以下: 病毒脱壳抑制剂(例如金刚烷胺(amantadine)和利安替丁(rimantidine)); 逆转录酶抑制剂(例如阿昔洛韦, 齐多夫定和拉米夫定); 靶向整合酶的药物; 阻断转录因子与病毒DNA结合的药物; 影响翻译的药物(例如反义分子)(例如, 弗米韦森(fomivirsen)); 调节翻译/核糖核苷酶功能的药物; 蛋白酶抑制剂; 病毒组装调节剂(例如利福平); 抗逆转录病毒药, 例如核苷类似物逆转录酶抑制剂(例如叠氮胸苷(AZT)、ddI、ddC、3TC、d4T); 非核苷逆转录酶抑制剂(例如依法韦仑, 奈韦拉平); 核苷酸类似物逆转录酶抑制剂; 和防止病毒颗粒释放的药物(例如扎那米韦和奥司他韦)。某些病毒感染(例如HIV)的治疗和/或预防通常需要抗病毒剂的组(“鸡尾酒”)。

[0540] 用于与CD73抑制剂组合使用的其他抗病毒剂包括但不限于以下: 阿巴卡韦、阿德

福韦、金刚烷胺、安普那韦、安普利近、阿比朵尔、阿扎那韦、立普妥 (atrimpla)、波谱瑞韦尔特 (boceprevirertet)、西多福韦、可比韦 (combivir)、地瑞那韦 (darunavir)、地拉夫定、地达诺新、二十二烷醇、依度尿昔 (edoxudine)、恩曲他滨、恩夫韦地 (enfuvirtide)、恩替卡韦、泛昔洛韦、福沙那韦 (fosamprenavir)、膦甲酸 (foscamet)、膦乙醇 (fosfonet)、http://en.wikipedia.org/wiki/Fusion_inhibitor、更昔洛韦、伊巴他宾、异丙肌昔 (imunovir)、碘昔 (idoxuridine)、咪喹莫特 (imiquimod)、茛地那韦 (indinavir)、肌昔、各种干扰素 (例如聚乙二醇干扰素 α -2a)、洛匹那韦、洛韦胺 (loviride)、马拉维罗 (maraviroc)、吗啉胍胍 (moroxydine)、甲吡噻脞 (methisazone)、奈非那韦、纳沙维尔 (nexavir)、喷昔洛韦 (penciclovir)、帕拉米韦、普可那利 (pleconaril)、鬼臼毒素、雷特格韦 (raltegravir)、利巴韦林、利托那韦、普拉咪定 (pyrimidine)、沙奎那韦 (saquinavir)、司他夫定 (stavudine)、特拉匹韦 (telaprevir)、替诺福韦、替拉那韦 (tipranavir)、曲氟尿昔 (trifluridine)、三协唯 (trizivir)、曲金刚胺、特鲁瓦达、伐昔洛韦、缬更昔洛韦、维克维若 (vicriviroc)、阿糖腺苷、韦拉咪定 (viramidine) 和扎西他滨。

[0541] 本发明考虑将本文所述的CD73功能抑制剂与抗寄生虫剂联合使用。这些药剂包括但不限于噻苯达唑、双羟萘酸噻嘧啶、甲苯咪唑、吡喹酮、氯硝柳胺、硫双二氯酚、奥沙尼喹 (oxamniquine)、美曲膦酯 (metrifonate)、伊佛霉素 (ivermectin)、阿苯达唑、依氟鸟氨酸 (eflornithine)、美拉肿醇、戊烷脒 (pentamidine)、苄硝唑、硝咪莫司和硝基咪唑。本领域技术人员知道可用于治疗寄生虫病的其他药剂。

[0542] 本发明的实施方案考虑将本文所述的CD73抑制剂与可用于治疗或预防细菌病症的药剂组合使用。可以按照各种方式对抗菌剂进行分类,包括基于作用机制,基于化学结构以及基于活性谱。抗细菌剂的实例包括靶向细菌细胞壁 (例如头孢菌素和青霉素) 或细胞膜 (例如多粘菌素) 或者干扰必需细菌酶 (例如磺酰胺类,利福霉素和喹啉) 的那些。靶向蛋白质合成的大多数抗菌剂 (例如四环素类和大环内酯类) 是抑菌的,而诸如氨基糖苷类的试剂是杀菌剂。另一种分类抗菌剂的方法是基于它们的靶向特异性;“窄谱”药剂靶向特定类型的细菌 (例如,革兰氏阳性菌,如链球菌),而“广谱”药剂具有针对更广泛范围的细菌的活性。本领域技术人员知道适用于特定细菌感染的抗菌剂的类型。

[0543] 本发明的实施方式涵盖将本文所述的CD73抑制剂与可用于治疗或预防真菌病症的药剂联合使用。抗真菌剂包括多烯类 (例如,两性霉素、制霉菌素和匹马霉素);唑类 (例如,氟康唑、伊曲康唑和酮康唑);烯丙胺 (例如萘替芬和特比萘芬) 和吗啉 (例如阿莫罗芬);和抗代谢物 (例如5-氟胞嘧啶)。

[0544] 本发明包括上述药剂 (和药剂种类成员) 的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0545] 剂量

[0546] 本发明的CD73抑制剂可以以取决于例如施用目标 (例如,所需的解决的程度),给药该制剂的受试者的年龄、体重、性别、健康和身体状况;施用途径;以及疾病、病症、病况或其症状的性质的量施用于受试者。给药方案还可以考虑与所施用的药剂相关的任何不良作用的存在与否、性质和程度。有效剂量和剂量方案可容易地从例如安全性和剂量递增试验,体内研究 (例如动物模型) 和本领域技术人员已知的其他方法确定。

[0547] 通常,给药参数规定剂量小于对对象可能具有不可逆毒性的量 (最大耐受剂量 (MTD)) 并且不小于对对象产生可测量效果所需的量。考虑给药途径和其他因素,这些量由

例如与ADME相关的药代动力学和药效学参数确定。

[0548] 有效剂量(ED)是在服用它的一部分对象中产生治疗反应或所需效果的药剂的剂量或量。药剂的“中值有效剂量”或ED50是在其给药的群体的50%中产生治疗反应或所需效果的药剂的剂量或量。尽管ED50通常用于衡量药物效果的合理预期,但临床医生在考虑所有相关因素后可能认为其不一定是合适的剂量。因此,在某些情况下,有效量大于计算的ED50,在其他情况下,有效量小于计算的ED50,而在其他情况下,有效量与计算的ED50相同。

[0549] 另外,本发明的CD73抑制剂的剂量可以是当以一个或多个剂量给予受试者时,相对于健康受试者产生期望结果的量。例如,对于经历特定病症的受试者,有效剂量可以是将该病症的诊断参数、度量、标记等改善至少约5%,至少约10%,至少约20%,至少约25%,至少约30%,至少约40%,至少约50%,至少约60%,至少约70%,至少约80%,至少约90%或超过90%的剂量,其中100%被定义为正常受试者表现出的诊断参数、度量、标记等。

[0550] 在某些实施方式中,涉及用于根据本发明的用途的CD73抑制剂可以以每天受试者体重的约0.01mg/kg至约50mg/kg或约1mg/kg至约25mg/kg的剂量水平每天一次或多次施用,以达到理想的治疗效果。

[0551] 在一些实施方式中,本文所述的CD73抑制剂的胃肠外给药-通常通过静脉内注射、肌肉注射或皮下注射。对于这些方法,通常使用1分钟至6小时的输液时间,但更典型地,使用10分钟至1小时的输液时间。在一些实施方式中,使用约30分钟的输注时间。

[0552] 在某些实施方式中,所需CD73抑制剂的剂量包含在“单位剂型”中。短语“单位剂型”是指物理上独立的单位,每个单位含有单独的或与一种或多种另外的试剂组合的足以产生所需的效果的预定量的CD73抑制剂。应该理解,单位剂型的参数将取决于特定的药剂和待实现的效果。

[0553] 试剂盒

[0554] 本发明还考虑了包含CD73抑制剂及其药物组合物的试剂盒。如下所述,试剂盒通常为容纳各种组分的物理结构的形式,并且可以用于,例如,实施上述方法。

[0555] 试剂盒可以包括本文公开的一种或多种CD73抑制剂(例如在无菌容器中提供),其可以以适合施用于受试者的药物组合物的形式。CD73抑制剂可以以随时可用的形式或以需要在给药之前例如复溶或稀释的形式(例如粉末)提供。当CD73抑制剂为需要由使用者复溶或稀释的形式时,试剂盒还可以包含稀释剂(例如无菌水)、缓冲剂、药学上可接受的赋形剂等,与CD73抑制剂一起或分开包装。当考虑联合治疗时,试剂盒可以分别地包含几种试剂,或者它们可能已经在试剂盒已被联合。试剂盒的每个组分可以被包含在单独的容器内,并且所有的各种容器可以在单个包装内。本发明的试剂盒可以被设计用于适当地保持容纳在其中的组分所需的条件(例如,冷藏或冷冻)。

[0556] 试剂盒可以包含标签或包装插页,其包括其中组分的识别信息和它们的使用说明(例如,剂量参数、活性成分的临床药理学,包括作用机制、药代动力学和药效学、不良作用、禁忌症等)。标签或插页可以包含诸如批号和到期日期的制造商信息。标签或包装插页可以例如整合到容纳组成部分的物理结构中的,单独包含在物理结构内的,或者附着到试剂盒的组成部分(例如安瓿,管或小瓶)上。

[0557] 标签或插页可以附加地包括或结合到如下的计算机可读载体中,诸如磁盘(例如,硬盘、卡、存储盘)、光盘,诸如CD或DVD-ROM/RAM,DVD、MP3、磁带,诸如RAM和ROM的电子存储

媒介或者这些诸如磁/光存储媒介的混合、FLASH媒介或者记忆型存储卡之类的。在一些实施方式中,实际的说明不在试剂盒中,但是提供了用于从远程源获得指示的手段,例如通过互联网。

[0558] 实验

[0559] 提出以下实施例以向本领域普通技术人员提供有关如何制作和使用本发明的完整公开和描述,并且无意限制发明人认为其发明的范围,它们也不旨在表示已进行以下实验,或者它们是可以进行的所有实验。应该理解,用现在时写出的示例性描述不一定被执行,而是可以执行该描述以生成其中描述的性质的数据等。已经努力确保所使用的数字(例如量、温度等)的准确性,但是应该考虑到一些实验误差和偏差。

[0560] 除非另有说明,份数是重量份数,分子量是重均分子量,温度以摄氏度为单位(°C),以及压力处于或接近大气压。使用了标准的缩写,包括如下:wt=野生型;bp=碱基对;kb=千碱基;nt=核苷酸;aa=氨基酸;s或sec=秒;min=分钟;h或hr=小时;ng=纳克;μg=微克;mg=毫克;g=克;kg=公斤;d1或dL=分升;μl或μL=微升;ml或mL=毫升;l或L=升;μM=微摩尔;mM=毫摩尔;M=摩尔;kDa=千道尔顿;i.m.=肌肉内的(地);i.p.=腹膜内的(地);SC或SQ=皮下的(地);QD=每日;BID=每天两次;QW=每周;QM=每月;HPLC=高效液相色谱;BW=体重;U=单位;ns=无统计学意义;PBS=磷酸盐缓冲盐水;IHC=免疫组织化学;DMEM=达尔伯克改良伊格尔培养基;EDTA=乙二胺四乙酸。

[0561] 在指出之处或下面的实施例中使用以下通用材料和方法:

[0562] 科学文献中描述了分子生物学中的标准方法(参见例如Sambrook和Russell(2001)分子克隆,第3版,冷泉港实验室出版社,冷泉港,NY;和Ausubel等(2001)分子生物学最新方案,第1-4卷,约翰威利父子公司,纽约,纽约州,其描述了在细菌细胞中的克隆和DNA诱变(第1卷),在哺乳动物细胞和酵母中的克隆(第2卷),糖缀合物和蛋白质表达(第3卷)和生物信息学(第4卷))。

[0563] 科学文献描述了用于蛋白质纯化的方法,包括免疫沉淀、色谱法、电泳、离心和结晶,以及化学分析、化学修饰、翻译后修饰、融合蛋白的产生和蛋白质的糖基化(参见,例如Coligan等人(2000)蛋白质科学实验室指南(Current Protocols in Protein Science),第1-2卷,约翰威利父子公司,纽约)。

[0564] 用于确定例如抗原片段、前导序列、蛋白质折叠、功能域、糖基化位点和序列比对的软件包和数据库是可获得的(参见,例如GCG威斯康星包装(Accelrys公司,圣地亚哥,加利福尼亚州);和DeCypher™(TimeLogic公司,水晶湾,内华达州)。

[0565] 文献中有丰富的可用作评价本文所述化合物的基础的分析和其他实验技术。

[0566] 实施例A

[0567] 胞外-5'-核苷酸酶(CD73)活性的抑制

[0568] 评估化合物以确定它们的胞外-5'-核苷酸酶(CD73)抑制活性。简而言之,使用人CD73(<http://www.uniprot.org/uniprot/P21589>)和哺乳动物瞬时表达载体(P21589.1)的分子克隆,由LakePharma(贝尔蒙,加利福尼亚州)产生稳定转染人CD73的CHO-K1细胞。在含有5μg/mL嘌呤霉素和200μg/mL潮霉素B的CD OptiCHO细胞培养基(英杰,货号#12681-011)中进行抗生素选择后,收集CHO-CD73细胞的悬浮池,并在7.5%DMSO中在没有抗生素的细胞培养基中冷冻。

[0569] 在实验当天,将一小瓶CHO-CD73细胞解冻并悬浮在由20mM HEPES, pH 7.4, 137mM NaCl, 5.4mM KCl, 1.3mM CaCl₂, 4.2mM NaHCO₃和0.1%葡萄糖组成的测定培养基中。为了测试化合物抑制CD73酶活性的能力,将2 μ L的500 μ M溶于DMSO (50x)的化合物加入到含有58 μ L测定缓冲液的96孔聚苯乙烯板中。接下来,将20 μ L在测定缓冲液中的CHO-CD73细胞加入到测定板中,然后加入20 μ L在测定缓冲液中的125 μ M AMP (腺苷5'-单磷酸盐一水合物)。最终测定条件由在2%DMSO和25 μ M AMP底物中的每孔2500个细胞组成。孵育50分钟(37°C和5% CO₂)后,并在225 \times g下离心5分钟,将80 μ L上清液转移到预先分配有20 μ L PiColorLock Gold比色测定试剂(赛默(Thermo),目录号30 30030)的96孔色谱板(Spectra Plate)(珀金埃尔默,cat#6005640)中。通过在EnVision多功能分析仪(珀金埃尔默)上读取620nm处的吸光度来测定无机磷酸盐的量。CD73的酶活性基于磷酸盐的量生成。活性百分比是基于DMSO和没有细胞的对照孔计算的。通过GraphPad Prism软件中活性百分比的四参数非线性回归拟合确定化合物的IC₅₀值。表3列出了特定化合物的数据。

[0570] 实施例B

[0571] 药效评价

[0572] 药效测定可以基于CD73介导的腺苷血清水平的测量。腺苷水平可以通过HPLC分析确定,并且血清化合物水平也可以任选地在相同的HPLC运行中测定。

[0573] 实施例C

[0574] 临床前物种中药代动力学的测定

[0575] 将化合物1和化合物2分别静脉注射给雌性CD-1小鼠(查尔斯河实验室,加利福尼亚州霍利斯特),雄性斯普拉格-杜勒(Sprague-Dawley)大鼠(查尔斯河),雄性比格犬(北京马歇尔生物技术有限公司;北京,中国)或雄性食蟹猴(海南金港生物技术有限公司;中国海口)。在指定的时间点,将血液收集到含有EDTA钾的试管中,并保存在冰上,直到通过离心进行处理。将得到的血浆存储在保持在约-80°C的冰箱中。

[0576] 样本分析。通过蛋白质沉淀制备血浆样品。将30至50 μ L的等分试样与含有内标的乙腈混合。将该混合物涡旋然后离心。通过灵敏且特异的分析程序直接分析所得的上清液。通过液相色谱(LC)分离分析物,并通过串联质谱(MS/MS)进行检测。定量下限(LLOQ)为1.0至5.0ng/mL。

[0577] 结果。表1总结了单剂量给予化合物1和化合物2后小鼠、大鼠和狗的药代动力学结果,和其平均非房室药代动力学值。

[0578] 如表1所示,在单次IV剂量后,化合物1和化合物2在所有临床前物种中均显示出低清除率(CL)。在小鼠、大鼠和猴子中,化合物1和化合物2的稳态分布体积(V_{ss})低,而狗中则为中等至高。化合物1和化合物2的终末半衰期(T_{1/2})分别为3.5至41小时和6.5至34小时。

[0579] 表1

[0580] 单剂量全身(IV团注(Bolus))给药后非临床物种中的平均非区室PK参数

	物种:	CL (L/hr/kg)	V _{ss} (L/hr/kg)	T _{1/2} (hr)
[0581] 化合物 1	小鼠	0.025	0.12	3.5
	大鼠	0.020	0.12	5.3
	狗	0.050	1.3	21
	猴	0.0025	0.097	41
化合物 2	小鼠	0.015	0.11	6.5
	大鼠	0.0093	0.12	9.6
	狗	0.034	0.63	15
	猴	0.0017	0.078	34

[0582] 实施例D

[0583] 人药代动力学概况的预测

[0584] 方法。人体清除率的预测是通过结合血浆中未结合部分 (f_u) 的异速生长模型获得的。根据非临床物种的体积分布量,使用Oie-Tozer方程计算人V_{ss}。人类终末半衰期 ($t_{1/2}$) 是根据预测的人类CL和V_{ss},使用以下关系式估算的:

$$[0585] \quad t_{1/2} = \frac{V_{SS}}{CL} \cdot 0.693$$

[0586] 静脉给药后的人体浓度-时间曲线是使用1房室开放模型,自中央室的一级消除模拟的。

[0587] 结果。表2总结了化合物1和化合物2的预测的人药代动力学参数。化合物1和化合物2的模拟血浆浓度-时间曲线如图1所示。

[0588] 预测化合物1和化合物2在人中均表现出低CL、低V_{ss}和长T_{1/2}。当每两周施用,通过恒定输注1小时静脉内分别给药12和2.8mg的化合物1和化合物2,预计会达到100ng/mL的谷浓度 (C_{min})。

[0589] 表2

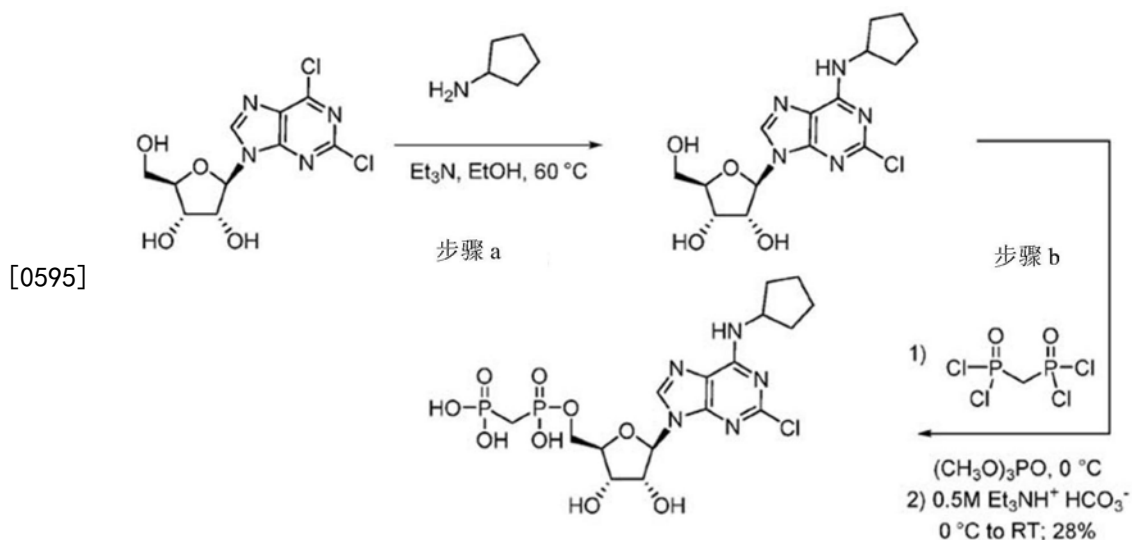
[0590] 预测的人类PK参数

参数	化合物1	化合物2
CL (L/hr/kg)	0.0012	0.00054
V _{ss} (L/kg)	0.17	0.13
T _{1/2} (hr)	98	167

[0592] 化合物实施例

[0593] 实施例1

[0594] [({[(2R,3S,4R,5R)-5-[6-(环戊基氨基)-2-氯-9H-嘌呤-9-基]-3,4-二羟基氧杂戊环-2-基]甲氧基}(羟基)磷酸基)甲基]磷酸的合成

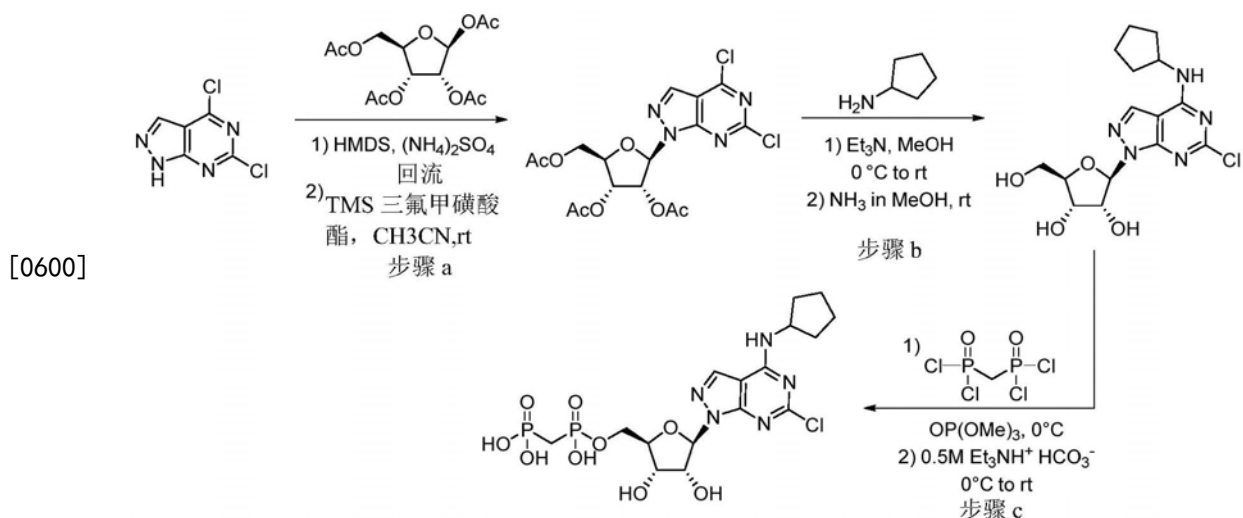


[0596] 步骤a:将2,6-二氯嘌呤核糖苷(321mg,1mmol)、环戊胺(103 μL ,1.05mmol,1.05当量)和三乙胺(146 μL ,1.05mmol,1.05当量)在无水EtOH(3mL)中的混合物,在 60°C 下,搅拌过夜。蒸发反应混合物,粗产物不经纯化即用于下一步。对于 $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_4$ 的ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$,计算值370.8,实测值370.2。

[0597] 步骤b:将步骤a中的产物(370mg,1mmol)溶于磷酸三甲酯(5mL)中,冷却至 0°C (冰浴),然后逐滴加入亚甲基双(磷酸二氯)(1.25g,5mmol,5当量)的于磷酸三甲酯(2mL)中的冷溶液。将反应混合物在 0°C 下,搅拌3小时,然后小心地用0.5M碳酸氢三乙胺溶液(7mL)淬灭,并在 0°C 下搅拌15min,然后在室温下搅拌2小时。通过反相HPLC(C18柱,和0%至30%梯度的乙腈和水,含有0.1%TFA)纯化反应混合物,得到白色固体形式的产物,收率为28%(181mg): ^1H NMR(400MHz,DMSO) δ 8.45-8.32(m,2H),5.85(d, $J=5.5\text{Hz}$,1H),4.55-4.36(m,2H),4.23-4.07(m,4H),2.26(t, $J=20.5\text{Hz}$,2H),2.04-1.85(m,2H),1.77-1.46(m,6H)。对于 $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_9\text{P}_2$ 的ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$,计算值528.8,实测值528.1。

[0598] 实施例2

[0599] [((((2R,3S,4R,5R)-5-[6-氯-4-(环戊基氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]-3,4-二羟基氧杂戊环-2-基]甲氧基)(羟基)磷酸基)甲基]磷酸的合成



[0601] 步骤a:将4,6-二氯-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶(25g,132mmol)和硫酸铵(0.20g,

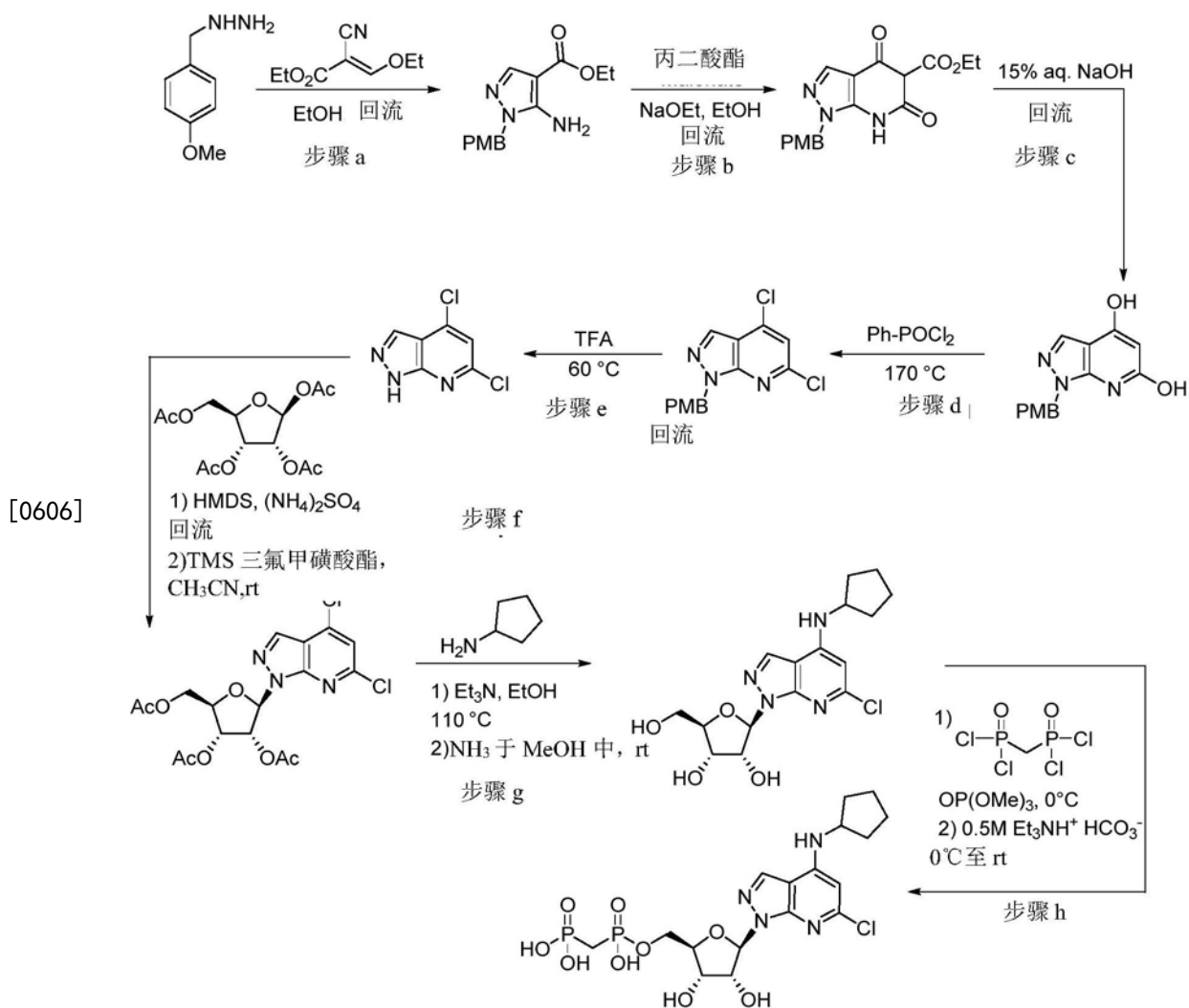
1.5mmol) 溶解在150mL的六甲基二甲硅烷基烷(hexamethyldisilziane)中。然后将混合物温热至回流,并搅拌3小时。然后将混合物浓缩至干。然后将固体残余物加入300mL的乙腈中,并加入保护的核糖(50.6g,159mmol)。将该混合物冷却至0℃,并逐滴加入TMSOTf(27mL,145mmol)。然后将混合物温热至室温,并搅拌过夜。然后将混合物浓缩并加入乙酸乙酯中。有机物用饱和NaHCO₃和盐水洗涤。将有机物用MgSO₄干燥、过滤并浓缩。使用柱色谱法(己烷/乙酸乙酯)纯化粗残余物,得到所需的化合物(48g,108mmol),总收率82%。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.75(s,1H),6.47(d,J=3.2Hz,1H),5.82(dd,J=5.3,3.2Hz,1H),5.63(t,J=5.8Hz,1H),4.47-4.40(m,1H),4.37-4.30(m,1H),4.12-4.02(m,1H),2.09(s,3H),2.06(s,3H),1.97(s,3H)。对于C₁₆H₁₆Cl₂N₄NaO₇的ESI MS[M+Na]⁺,计算值469.0,实测值469.0。

[0602] 步骤b:将来自步骤a的产物(22g,49.3mmol)溶于MeOH(100mL)中,冷却至0℃。加入环戊胺(5.1g,51.8mmol,1.05当量)和三乙胺(7.2mL,51.8mmol,1.05当量),并将反应混合物在0℃下搅拌15分钟,然后在室温下搅拌4小时。加入7M NH₃于MeOH(60mL)的溶液,并将反应在室温下搅拌1天。蒸发反应混合物,粗产物不经纯化即用于下一步。对于C₁₅H₂₁ClN₅O₄ ESI MS[M+H]⁺,计算值370.1,实测值370.2。

[0603] 步骤c:以与实施例1类似的方式进行磷酸化步骤。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.68(d,J=7.2Hz,1H),8.24(s,1H),6.00(d,J=4.2Hz,1H),4.49(t,J=4.7Hz,1H),4.41(q,J=6.7Hz,1H),4.26(t,J=4.7Hz,1H),4.15-4.00(m,2H),3.94-3.84(m,1H),2.16(t,J=20.5Hz,2H),2.04-1.91(m,2H),1.79-1.45(m,6H)。对于C₁₆H₂₅ClN₅O₉P₂的ESI MS[M+H]⁺,计算值528.1,实测值528.2。

[0604] 实施例3

[0605] [({[(2R,3S,4R,5R)-5-[6-氯-4-(环戊基胺基)-1H-吡啶并[3,4-b]嘧啶-1-基]-3,4-二羟基氧杂戊环-2-基]甲氧基} (羟基) 磷酸基) 甲基]-磷酸的合成



[0607] 步骤a: 将(乙氧基亚甲基)氰基乙酸乙酯(50.5g, 299.0mmol)溶解在无水EtOH(350mL)中, 然后加入产品肼(50g, 328.9mmol, 1.1当量)。将反应混合物在回流下搅拌过夜, 然后蒸发。用MTBE洗涤固体残余物, 得到白色固体(55.5g, 63%)。对于 $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_3$ 的ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$, 计算值276.1, 实测值276.2。

[0608] 步骤b: 将丙二酸二乙酯(90mL, 0.59摩尔, 4当量)溶解在无水EtOH(300mL)中, 冷却至 0°C (冰浴)。滴加21%NaOEt在EtOH中的溶液(220mL, 0.59摩尔, 4当量)(在10分钟内), 然后除去冷却浴, 并将反应在室温下搅拌15分钟。分批加入步骤a的固体产物(40.4g, 147mmol)(2分钟内), 并将反应混合物在回流下, 搅拌5天, 然后蒸发。将残余物用 H_2O (1.2L)稀释, 并用AcOH中和至 $\text{pH}\sim 5$ 。滤出产物, 用 H_2O (200mL)洗涤, 并在真空下干燥(48.4g, 96%)。对于 $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_5$ 的ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$, 计算值344.1, 实测值344.2。

[0609] 步骤c: 将来自步骤b的产物(48.4g, 141.1mmol)溶于15%NaOH水溶液(500mL)中, 并在回流下搅拌5h。冷却至 0°C 并用AcOH小心中和直至 $\text{pH}\sim 5$ 。滤出白色固体, 用 H_2O (100mL)洗涤, 并在真空下干燥(38g, 定量)。ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 对于 $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3$, 计算值272.1, 实测值272.2。

[0610] 步骤d: 将来自步骤c的产物(38g, 140.2mmol)和苯基膦酰二氯(79.5mL, 560.8mmol, 4当量)的混合物在 170°C 下搅拌7h, 然后冷却至 $\sim 80^\circ\text{C}$ 并倒入剧烈搅拌的冰

中。棕色的粘性物质沉淀出来,在充分搅拌下变成固体。将冰冷的混合物用浓NH₃水溶液中和直至pH~7,并使用CH₂Cl₂ (2×400mL) 萃取产物。合并的有机物用MgSO₄干燥、过滤并蒸发,得到的产物无需进一步纯化即可使用(24g, 55%)。对于C₁₄H₁₂Cl₂N₃O的ESI MS [M+H]⁺, 计算值308.0, 实测值308.1。

[0611] 步骤e:将来自步骤d的产物(22g, 71.4mmol) 溶解在TFA (75mL) 中,并在60℃搅拌12h,然后冷却,倒入H₂O (600mL) 中。滤出灰色固体,用饱和NaHCO₃,然后用H₂O洗涤,并在真空下干燥。对于C₆H₄Cl₂N₃ ESI MS [M+H]⁺, 计算值188.0, 实测值188.1。

[0612] 步骤f:以类似于实施例2的方式合成步骤f产物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.55 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 6.48 (d, J=3.0Hz, 1H), 5.90-5.83 (m, 1H), 5.67-5.61 (m, 1H), 4.46-4.38 (m, 1H), 4.33 (ddd, J=12.1, 3.5, 1.2Hz, 1H), 4.05 (ddd, J=12.2, 5.1, 1.2Hz, 1H), 2.09 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.96 (s, 3H)。对于C₁₇H₁₈Cl₂N₃O₇的ESI MS [M+H]⁺, 计算值为446.0, 实测值为446.1。

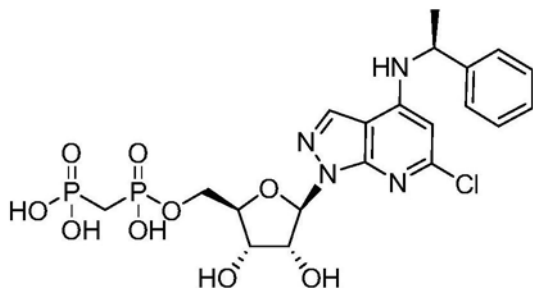
[0613] 步骤g:以类似于实施例2的方式合成步骤g产物。对于C₁₆H₂₂ClN₄O₄ ESI MS [M+H]⁺, 计算值369.1, 实测值369.2。

[0614] 步骤h:以类似于实施例2的方式合成标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.27 (s, 1H), 7.66 (d, J=6.7Hz, 1H), 6.22 (s, 1H), 6.08 (d, J=4.2Hz, 1H), 4.51 (t, J=4.7Hz, 1H), 4.26 (t, J=5.1Hz, 1H), 4.17-3.83 (m, 4H), 2.17 (t, J=20.5Hz, 2H), 2.06-1.92 (m, 2H), 1.77-1.45 (m, 6H)。对于C₁₇H₂₆ClN₄O₉P₂的ESI MS [M+H]⁺, 计算值527.1, 实测值527.2。

[0615] 实施例4

[0616] [(((((2R, 3S, 4R, 5R) -5- (6-氯-4- { ((1S) -1-苯基乙基) 氨基) -1H-吡啶并 [3, 4-b] 吡啶-1-基) -3, 4-二羟基氧杂戊环-2-基) 甲氧基) (羟基) 磷酰基) 甲基]-磷酸的合成

[0617]

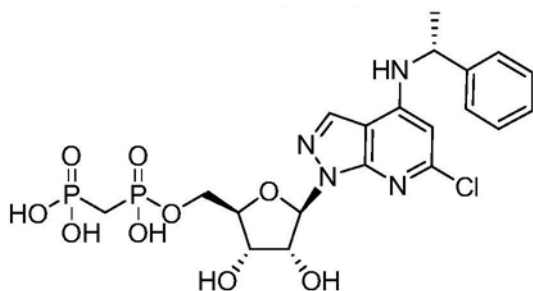


[0618] 以类似于实施例3的方式合成标题化合物。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ8.38 (s, 1H), 8.20 (d, J=7.2Hz, 1H), 7.42-7.36 (m, 2H), 7.35-7.27 (m, 2H), 7.24-7.18 (m, 1H), 6.08-5.97 (m, 2H), 4.85 (s, 1H), 4.50 (t, J=4.5Hz, 1H), 4.25 (t, J=4.8Hz, 1H), 4.14-3.97 (m, 2H), 3.93-3.81 (m, 1H), 2.17 (t, J=20.5Hz, 2H), 1.52 (d, J=6.2Hz, 3H)。对于C₂₀H₂₆ClN₄O₉P₂的ESI MS [M+H]⁺, 计算值563.1, 实测值563.2。

[0619] 实施例5

[0620] [(((((2R, 3S, 4R, 5R) -5- (6-氯-4- { ((1R) -1-苯乙基) 氨基) -1H-吡啶并 [3, 4-b] 吡啶-1-基) -3, 4-二羟基氧杂戊环-2-基) 甲氧基) (羟基) 磷酰基) 甲基]-磷酸的合成

[0621]

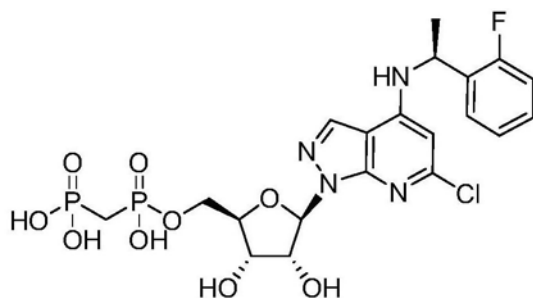


[0622] 以类似于实施例3的方式合成标题化合物。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.38 (s, 1H), 8.20 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.44-7.35 (m, 2H), 7.35-7.28 (m, 2H), 7.25-7.17 (m, 1H), 6.12-5.93 (m, 2H), 4.85 (s, 1H), 4.57-4.48 (m, 1H), 4.25 (t, $J=4.9\text{Hz}$, 1H), 4.12-3.95 (m, 2H), 3.91-3.79 (m, 1H), 2.17 (t, $J=20.5\text{Hz}$, 2H), 1.51 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 3H). 对于 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{ClN}_4\text{O}_9\text{P}_2$ 的ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$, 计算值563.1, 实测值563.2。

[0623] 实施例6

[0624] [({[(2R,3S,4R,5R)-5-(6-氯-4-{{[(1S)-1-(2-氟苯基)乙基]氨基}-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-1-基)-3,4-二羟基氧杂戊环-2-基]甲氧基}(羟基)磷酰基)-甲基]磷酸的合成

[0625]

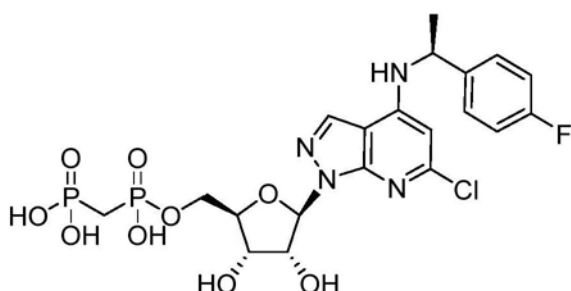


[0626] 以类似于实施例3的方式合成标题化合物。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.38 (s, 1H), 8.23 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 1H), 7.42-7.34 (m, 1H), 7.33-7.09 (m, 3H), 6.06 (d, $J=4.3\text{Hz}$, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.53-4.47 (m, 1H), 4.25 (t, $J=4.7\text{Hz}$, 1H), 4.13-3.97 (m, 2H), 3.92-3.82 (m, 1H), 2.16 (d, $J=20.5\text{Hz}$, 2H), 1.56 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H). 对于 $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{ClFN}_4\text{O}_9\text{P}_2$ 的ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$, 计算值581.1, 实测值581.2。

[0627] 实施例7

[0628] [({[(2R,3S,4R,5R)-5-(6-氯-4-{{[(1S)-1-(4-氟苯基)乙基]氨基}-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-1-基)-3,4-二羟基氧杂戊环-2-基]甲氧基}(羟基)磷酰基)-甲基]磷酸的合成

[0629]

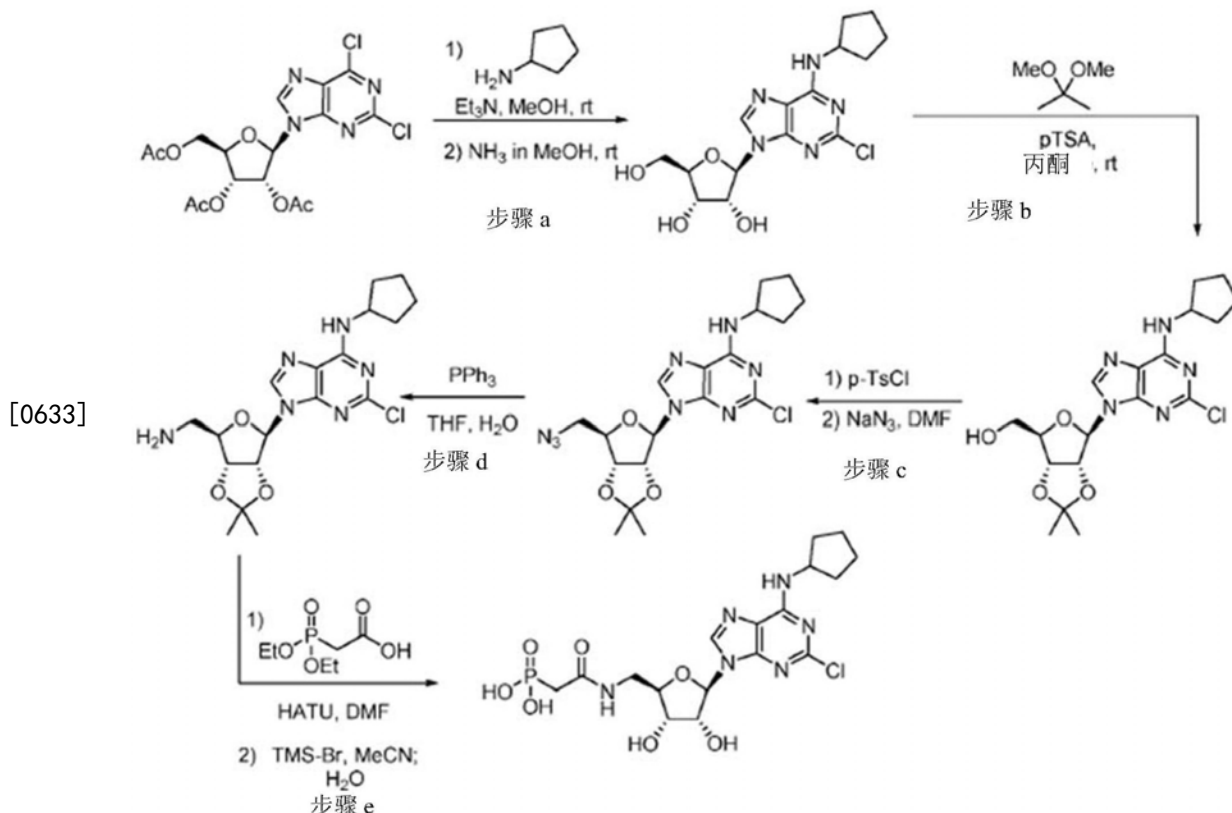


[0630] 以类似于实施例3的方式合成标题化合物。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.36 (s, 1H),

8.18 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 7.46-7.39 (m, 2H), 7.19-7.10 (m, 2H), 6.13-5.99 (m, 2H), 4.89 (s, 1H), 4.53-4.46 (m, 1H), 4.25 (t, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 4.12-3.97 (m, 2H), 3.92-3.81 (m, 1H), 2.18 (t, $J=20.5\text{Hz}$, 2H), 1.50 (d, $J=7.3\text{Hz}$, 3H). 对于 $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{ClFN}_4\text{O}_9\text{P}_2$ 的ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$, 计算值581.1, 实测值581.2。

[0631] 实施例8

[0632] [((((2R,3S,4R,5R))-5-[2-氯-6-(环戊基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-3,4-二羟基氧杂戊环-2-基)甲基)氨基甲酰基)甲基]磷酸的合成



[0634] 步骤a: 2,6-二氯-9-(2,3,5-三-O-乙酰基-β-D-呋喃核糖基)嘌呤 (13.5g, 30mmol)、环戊胺 (3.2mL, 33mmol, 1.1当量) 和三乙胺 (4.6mL, 33mmol, 1.1当量) 于MeOH (60mL) 中的混合物, 室温搅拌过夜。加入7M NH_3 的MeOH (20mL) 溶液并将反应室温下搅拌1天。蒸发反应混合物, 粗产物不经纯化即用于下一步。对于 $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{ClN}_5\text{O}_4$ 的ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$, 计算值370.1, 实测值370.2。

[0635] 步骤b: 来自步骤a的产物溶解于丙酮 (100mL) 和2,2-丙二醇二甲醚 (40mL) 中, 并加入p-TsOH \times H_2O (7.1g, 37.5mmol, 1.25当量)。反应混合物在室温下搅拌过夜, 然后用盐水 (100mL) 稀释, 用饱和 NaHCO_3 (200mL) 小心淬灭。乙酸乙酯 (2 \times 200mL) 萃取后, 合并有机相, MgSO_4 干燥、过滤、蒸发, 得到粗产物, 不经纯化用于下一步 (12.2g, 98%)。对于 $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{ClN}_5\text{O}_4$ 的ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$, 计算值410.2, 实测值410.1。

[0636] 步骤c: 1) 在0℃下, 将对甲苯磺酰氯 (1.68g, 8.8mmol) 的吡啶 (5ml) 溶液滴加到步骤b的产物 (3.0g, 7.33mmol) 的吡啶 (45ml) 溶液中。将混合物在0℃下搅拌30分钟, 然后温热至室温。搅拌过夜后, 将反应浓缩至干。所得原料在乙酸乙酯中进行再生, 用饱和 NaHCO_3 和盐水洗涤, 用 MgSO_4 干燥, 并减压浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 10%至60%的EtOAc和己烷梯度)

获得所需的甲苯磺酸酯 (3.61g, 87%)。对于 $C_{25}H_{30}ClN_5O_6S$ 的ESI MS $[M+H]^+$, 计算值564.2, 实测值564.2。

[0637] 2) 向上述甲苯磺酸酯 (1.0g, 1.77mmol) 于DMF (8.85mL) 中的溶液中加入叠氮化钠 (345mg, 5.31mmol)。将所得悬浮液密封并加热至80°C过夜。冷却至室温后, 将反应混合物在乙酸乙酯和水之间分配。将有机层用水和盐水洗涤, 用 $MgSO_4$ 干燥, 并减压浓缩。标题化合物 (548mg) 无需进一步纯化即可使用。对于 $C_{18}H_{23}ClN_8O_3$ 的ESI MS $[M+H]^+$, 计算值435.2, 实测值435.2。

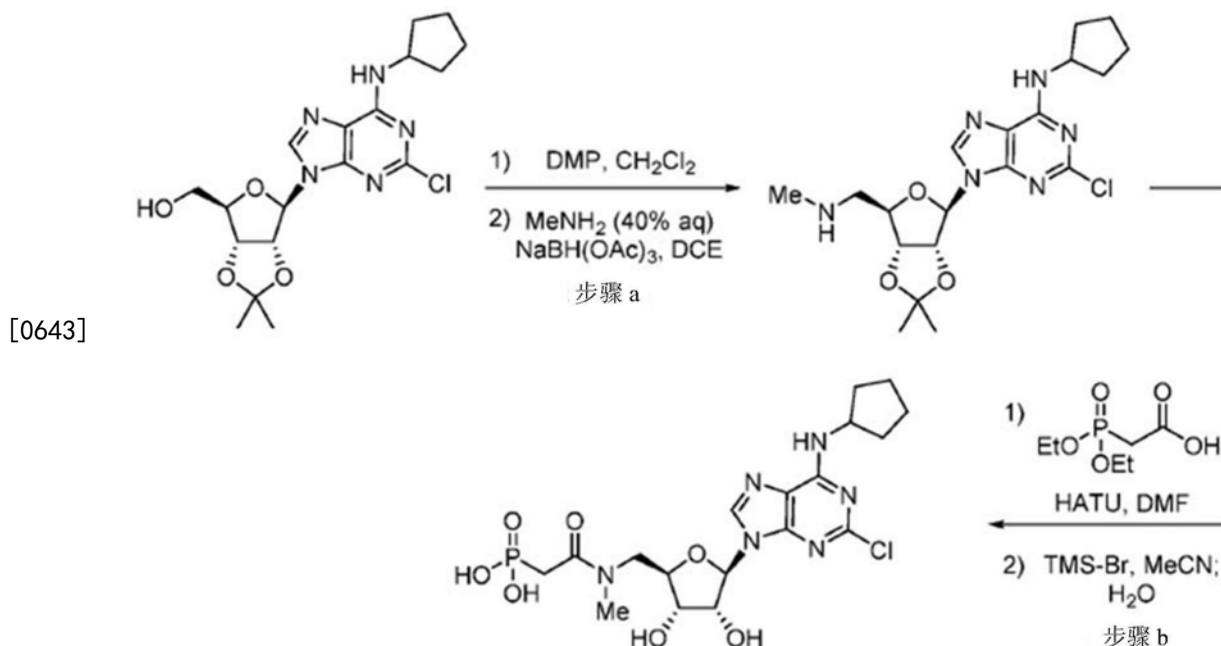
[0638] 步骤d: 在室温下, 向步骤c的产物 (548mg, 1.26mmol) 于THF (6.3mL) 和水 (0.42mL) 的溶液中加入三苯基膦 (992mg, 3.78mmol)。搅拌过夜后, 将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 并用1M NaOH、水和盐水洗涤。将有机物用 $MgSO_4$ 干燥, 并减压浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 0至10%的甲醇和 CH_2Cl_2 梯度液) 获得标题化合物。对于 $C_{18}H_{25}ClN_6O_3$ 的ESI MS $[M+H]^+$, 计算值409.2, 实测值409.2。

[0639] 步骤e: 1) 在室温下, 向步骤d的产物 (1.26mmol)、二乙基膦酰乙酸 (1.51mmol) 和二异丙基乙胺 (1.10mL, 6.3mmol) 的DMF (6mL) 溶液中加入HATU (574mg, 1.51mmol)。将混合物搅拌1小时, 然后用乙酸乙酯稀释, 并依次用10%柠檬酸、饱和 $NaHCO_3$ 、水和盐水洗涤。将有机物用 $MgSO_4$ 干燥, 并减压浓缩。通过柱色谱法 (SiO_2 , 0至10%的甲醇和 CH_2Cl_2 梯度洗脱) 获得标题化合物 (553mg, 75%, 两步)。对于 $C_{24}H_{36}ClN_6O_7P$ 的ESI MS $[M+H]^+$, 计算值587.2, 实测值587.3。

[0640] 2) 向上述产物 (540mg, 0.921mmol) 的乙腈 (5mL) 溶液中加入三甲基溴硅烷 (1ml)。将反应在室温搅拌3小时, 加入水 (1mL), 并将反应搅拌过夜。将反应混合物用氮气流浓缩, 用水 (3mL) 稀释, 并直接通过制备型HPLC (C18, 乙腈和水的梯度, 含有0.1% TFA) 纯化。 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.48 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 8.35 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.99 (t, $J=5.9$ Hz, 1H), 5.79 (d, $J=6.2$ Hz, 1H), 4.68-4.51 (m, 1H), 4.43 (q, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.07 (dd, $J=5.3, 3.4$ Hz, 1H), 3.93 (td, $J=5.5, 3.3$ Hz, 1H), 3.39 (dt, $J=14.4, 5.4$ Hz, 2H), 2.75-2.55 (m, 2H), 2.15-1.83 (m, 2H), 1.78-1.44 (m, 6H)。对于 $C_{17}H_{24}ClN_6O_7P$ 的ESI MS $[M+H]^+$, 计算值491.1, 实测值491.2。

[0641] 实施例9

[0642] [({[(2R, 3S, 4R, 5R)]-5-[2-氯-6-(环戊基胺基)-9H-嘌呤-9-基]-3, 4-二羟基氧杂戊环-2-基]甲基} (甲基) 氨基甲酰基) 甲基] 磷酸的合成



[0644] 步骤a: 1) 在0℃下,向来自实施例8的步骤b的产物(6.29g)的二氯乙烷(125mL)溶液中,加入戴斯-马丁试剂(7.17g,16.9mmol)。使所得悬浮液温热至室温并搅拌过夜。将反应用乙酸乙酯稀释,并用1M NaOH、水和盐水洗涤。将有机层用MgSO₄干燥,并减压浓缩。粗物质无需进一步纯化即可使用。对于C₁₈H₂₄C₁N₅O₅的ESI MS [M+H⁺],计算值426.2,实测值426.3。

[0645] 2) 向装有上一步骤粗醛的烧瓶中加入二氯乙烷(150mL)。向所得溶液中加入甲胺(40重量%于水中,2.4g,30.6mmol),然后加入三乙酰氧基硼氢化钠(3.89g,18.4mmol)。两小时后反应完成,并在乙酸乙酯和1M NaOH之间进行分配。将有机层用水和盐水洗涤,用MgSO₄干燥,并减压浓缩。通过柱色谱法(SiO₂,0至15%的甲醇和CH₂Cl₂的梯度)纯化,得到灰白色固体状的标题化合物(2.7g,43%)。对于C₁₉H₂₇C₁N₆O₃的ESI MS [M+H⁺],计算值423.2,实测值423.3。

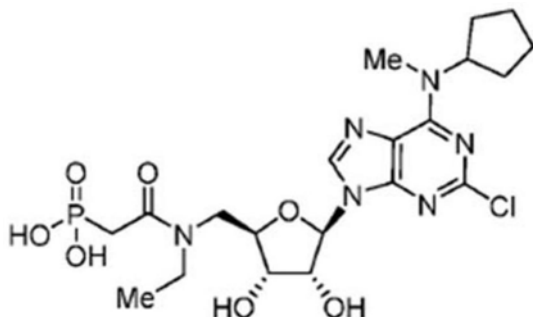
[0646] 步骤b: 1) 在室温下,向步骤a的产物(146mg,0.345mmol)、二乙基膦酰基乙酸(81mg,0.414mmol)和二异丙基乙胺(0.30mL,1.73mmol)的DMF(3.5mL)溶液中加入HATU(157mg,0.414mmol)。将混合物搅拌1小时,然后用乙酸乙酯稀释,并依次用10%柠檬酸、饱和NaHCO₃、水和盐水洗涤。将有机物用MgSO₄干燥,并减压浓缩。通过柱色谱法(SiO₂,0至10%的甲醇和CH₂Cl₂梯度)得到缩丙酮(acetonide)保护的膦酰基-乙酰胺(125mg,60%)。对于C₂₅H₃₈C₁N₆O₇P的ESI MS [M+H⁺],计算值601.2,实测值601.4。

[0647] 2) 向上述产物(125mg)的乙腈(5mL)溶液中加入三甲基溴硅烷(0.5mL)。将反应在室温搅拌3小时,加入水(0.5mL),并将反应搅拌过夜。将反应混合物用氮气流浓缩,用水(5mL)稀释,并直接通过制备型HPLC(C18,乙腈和水的梯度,含有0.1%TFA)纯化。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.49-8.40(m,0.6H),8.39-8.32(m,0.4H),5.83(d,0.4H),5.80(d,J=6.2Hz,0.6H),5.28-4.93(m,0.4H),4.67-4.57(m,1H),4.56-4.34(m,1H),4.18-4.00(m,2H),3.90-3.70(m,1H),3.51-3.38(m,1H),3.05(s,2H),3.02-2.82(m,1H),2.80(s,1H),1.94(d,J=8.8Hz,2H),1.73(d,J=16.3Hz,3H),1.66-1.44(m,4H)。对于C₁₈H₂₆C₁N₆O₇P的ESI MS [M-H]⁻计算值503.1,实测值503.1。

[0648] 实施例10

[0649] [({[(2R,3S,4R,5R)-5-{2-氯-6-[环戊基(甲基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}-3,4-二羟基氧杂戊环-2-基]甲基(乙基)氨基甲酰基)甲基]磷酸的合成

[0650]

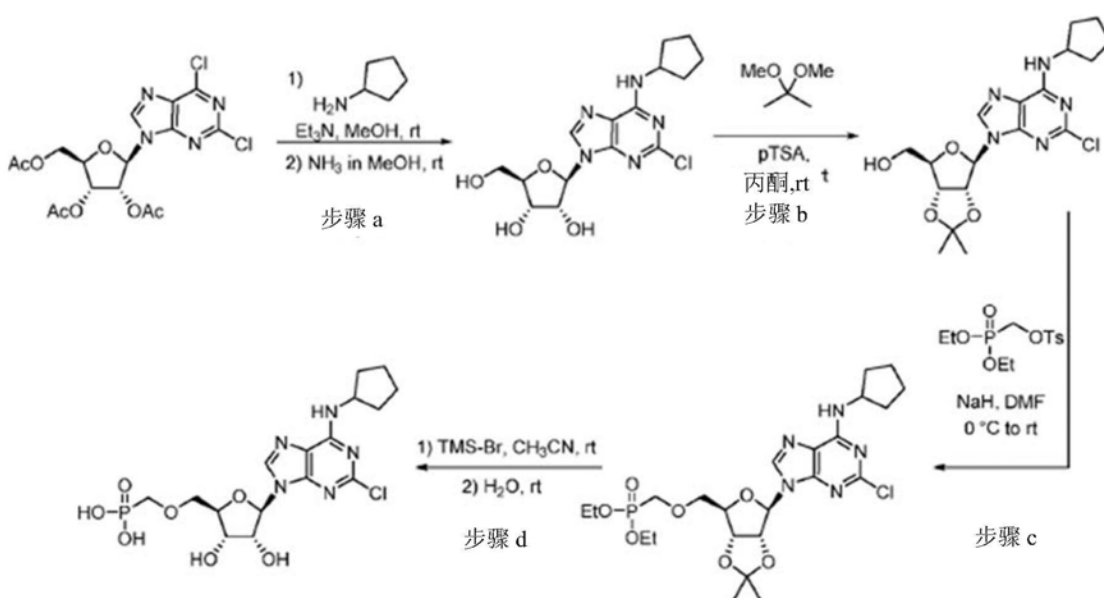


[0651] 使用与实施例8和实施例8相同的步骤,从乙胺盐酸盐开始,得到白色固体状的标题化合物:¹H NMR(旋转异构体的混合物,400MHz,DMSO-d₆) δ8.50(s,1H),8.37(s,1H),5.86(d,J=4.4Hz,0.5H),5.82(d,J=6.2Hz,1H),4.65(dd,J=6.3,4.6Hz,1H),4.50(t,J=4.8Hz,0.5H),4.11(tt,J=5.7,2.8Hz,3H),3.85-3.66(m,2H),3.44(dq,J=14.6,7.4Hz,3H),3.34-3.20(m,1H),2.94-2.66(m,3H),1.92-1.57(m,2H),1.80-1.54(m,9H),1.06(t,J=7.1Hz,3H),0.97(t,J=7.0Hz,2H).对于C₂₀H₃₀C₁N₆O₇P的ESI MS[M-H]⁻,计算值531.2,实测值531.2。

[0652] 实施例11

[0653] ([(2R,3S,4R,5R)-5-[2-氯-6-(环戊基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-3,4-二羟基氧杂戊环-2-基]甲氧基)甲基]磷酸的合成

[0654]



[0655] 步骤a: 2,6-二氯-9-(2,3,5-三-O-乙酰基-β-D-呋喃核糖基)嘌呤(13.5g,30mmol)、环戊胺(3.2mL,33mmol,1.1当量)和三乙胺(4.6mL,33mmol,1.1当量)于MeOH(60mL)中的混合物,室温搅拌过夜。加入7M NH₃于MeOH(20mL)中的溶液,并将反应在室温下搅拌1天。蒸发反应混合物,粗产物不经纯化即用于下一步。对于C₁₅H₂₁C₁N₅O₄的ESI MS[M+H]⁺,计算值370.1,实测值370.2。

[0656] 步骤b: 来自步骤a的产物溶解于丙酮(100mL)和2,2-丙二醇二甲醚(40mL)中,并加

入p-TsOH×H₂O (7.1g, 37.5mmol, 1.25当量)。反应混合物在室温下搅拌过夜,然后用盐水(100mL)稀释,用饱和NaHCO₃(200mL)小心淬灭。EtOAc (2×200mL)萃取后,合并有机相, MgSO₄干燥、过滤、蒸发,得到粗产物,不经纯化用于下一步(12.2g, 98%)。对于C₁₈H₂₅C₁N₅O₄的ESI MS [M+H]⁺, 计算值410.2, 实测值410.1。

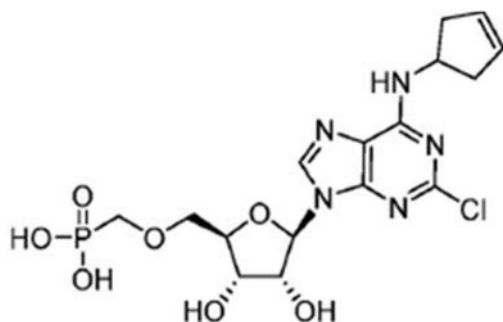
[0657] 步骤c: 来自步骤b的产物(410mg, 1mmol)溶解于无水DMF (5mL)中,并冷至0℃,然后加入60%NaH (60mg, 1.5mmol, 1.5当量),并在0℃搅拌反应混合物1h。加入对甲苯磺酰氧甲基磷酸二乙酯(386mg, 1.2mmol, 1.2当量),将反应缓慢升温至室温,搅拌过夜。用H₂O (20mL)稀释并用MTBE (2×10mL)萃取,将合并的有机物用MgSO₄干燥、过滤并蒸发,得到粗产物,其无需纯化即可用于下一步。对于C₂₃H₃₆C₁N₅O₇P的ESI MS [M+H]⁺, 计算值560.2, 实测值560.1。

[0658] 步骤d: 将来自步骤c的产物溶解在无水CH₃CN (5mL)中,加入TMS-Br (0.5mL),并将反应在室温搅拌过夜。用H₂O (1mL)淬灭,并在室温搅拌4h,或直至LCMS分析显示缩丙酮保护基团的完全裂解。蒸发反应混合物并通过反相HPLC (C18柱,和0%至30%梯度的乙腈和水,含有0.1% TFA)纯化,得到白色固体形式的产物,收率为18.5% (107mg): ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.41 (s, 1H), 8.39-8.26 (m, 1H), 5.84 (d, J=5.9Hz, 1H), 4.53 (t, J=5.5Hz, 1H), 4.48-4.35 (m, 1H), 4.12 (dd, J=4.9, 3.3Hz, 1H), 4.05 (q, J=3.8Hz, 1H), 3.79-3.65 (m, 2H), 3.62 (d, J=8.9Hz, 2H), 2.05-1.85 (m, 2H), 1.78-1.44 (m, 6H)。对于C₁₆H₂₄C₁N₅O₇P的ESI MS [M+H]⁺, 计算值464.1, 实测值464.2。

[0659] 实施例12

[0660] ({[(2R, 3S, 4R, 5R) -5- {2-氯-6- [(环戊-3-烯-1-基) 氨基] -9H-嘌呤-9-基} -3, 4-二羟基氧杂戊环-2-基] 甲氧基} 甲基) 磷酸的合成

[0661]



[0662] 以类似于实施例11的方式合成标题化合物: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.53 (d, J=7.2Hz, 1H), 8.43 (s, 1H), 5.85 (d, J=5.8Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.78-4.66 (m, 1H), 4.54 (t, J=5.5Hz, 1H), 4.14-4.09 (m, 1H), 4.05 (q, J=3.7Hz, 1H), 3.80-3.65 (m, 2H), 3.61 (d, J=8.9Hz, 2H), 2.85-2.61 (m, 2H), 2.46-2.27 (m, 2H)。对于C₁₆H₂₂C₁N₅O₇P的ESI MS [M+H]⁺, 计算值462.1, 实测值462.1。

[0663] 生物实验

[0664] CD73抑制测定

[0665] 材料和方法

[0666] 在指出之处或下面的实施例中使用以下通用材料和方法:

[0667] 科学文献中描述了分子生物学中的标准方法(参见例如Sambrook和Russell (2001) 分子克隆, 第3版, 冷泉港实验室出版社, 冷泉港, NY; 和Ausubel等(2001) 分子生物学最新方案, 第1-4卷, 约翰威利父子公司, 纽约, 纽约州, 其描述了在细菌细胞中的克隆和DNA

诱变(第1卷),在哺乳动物细胞和酵母中的克隆(第2卷),糖缀合物和蛋白质表达(第3卷)和生物信息学(第4卷)。

[0668] 科学文献描述了用于蛋白质纯化的方法,包括免疫沉淀、色谱法、电泳、离心和结晶,以及化学分析、化学修饰、翻译后修饰、融合蛋白的产生和蛋白质的糖基化(参见,例如 Coligan等人(2000)蛋白质科学实验室指南(Current Protocols in Protein Science),第1-2卷,约翰威利父子公司,纽约)。

[0669] 用于确定例如抗原片段、前导序列、蛋白质折叠、功能域、糖基化位点和序列比对的软件包和数据库是可获得的(参见,例如GCG威斯康星包装(Accelrys公司,圣地亚哥,加利福尼亚州);和DeCypher™(TimeLogic公司,水晶湾,内华达州)。

[0670] 文献中有丰富的可用作评价本文所述化合物的基础的分析和其他实验技术。

[0671] 抑制胞外-5'-核苷酸酶活性。评估化合物以确定它们的胞外-5'-核苷酸酶(CD73)抑制活性。简而言之,使用人CD73(<http://www.uniprot.org/uniprot/P21589>)和哺乳动物瞬时表达载体(P21589.1)的分子克隆,由LakePharma(贝尔蒙,加利福尼亚州)产生稳定转染人CD73的CHO-K1细胞。在含有5μg/mL嘌呤霉素和200μg/mL潮霉素B的CD OptiCHO细胞培养基(英杰,货号#12681-011)中进行抗生素选择后,收集CHO-CD73细胞的悬浮池,并在7.5%DMSO中在没有抗生素的细胞培养基中冷冻。

[0672] 在实验当天,将一小瓶CHO-CD73细胞解冻并悬浮在由20mM HEPES,pH 7.4,137mM NaCl,5.4mM KCl,1.3mM CaCl₂,4.2mM NaHCO₃和0.1%葡萄糖组成的测定培养基中。为了测试化合物抑制CD73酶活性的能力,将2μL的500μM溶于DMSO(50x)的化合物加入到含有58μL测定缓冲液的96孔聚苯乙烯板中。接下来,将20μL在测定缓冲液中的CHO-CD73细胞加入到测定板中,然后加入20μL在测定缓冲液中的125μM AMP(腺苷5'-单磷酸盐一水合物)。最终测定条件由在2%DMSO和25μMAMP底物中的每孔2500个细胞组成。孵育50分钟(37°C和5%CO₂)后并在225×g下离心5分钟,将80μL上清液转移到预先分配有20μL PiColorLock Gold比色测定试剂(赛默(Thermo),目录号30 300 30)的96孔色谱板(Spectra Plate)(珀金埃尔默,cat#6005640)中。通过在EnVision多功能分析仪(珀金埃尔默)上读取620nm处的吸光度来测定无机磷酸盐的量。CD73的酶活性基于磷酸盐的量生成。活性百分比是基于DMSO和没有细胞的对照孔计算的。通过GraphPad Prism软件中活性百分比的四参数非线性回归拟合确定化合物的IC₅₀值。

[0673] 药效学和药代动力学评价。药效学测定可以基于CD73介导的腺苷血清水平的测量。腺苷水平可以通过HPLC分析确定,并且血清化合物水平也可以任选地在相同的HPLC运行中测定。

[0674] 人肝细胞稳定性测定

[0675] 本文定义的人肝细胞稳定性是指“CL_{INT}<10μL/min/百万细胞”。可以按照Riley RJ,McGinnity DF和Austin RP(2005)中所述的进行评估。一种根据肝细胞和微粒体中的体外固有清除率数据用于预测人的肝脏代谢清除率的模型。药物代谢作用与处置(Drug Metab Dispos)33:1304-11.

[0676] Caco-2细胞渗透性测定

[0677] 在van Breemen RB,Li Y中公开了可用于本文所述表征的细胞通透性测定。Caco-2细胞通透性测定以测量药物吸收。药物代谢毒理学专家意见(Expert Opin Drug Metab

Toxicol) 1 (2) :175-85 (2005) .

[0678] 人血浆蛋白结合测定

[0679] 有几种方法可用于通过超滤、超速离心或平衡透析评估人血浆蛋白的结合。这些描述如下:

[0680] 1. Bowers WF, Fulton S, Thompson J. 用于测定游离级分的超滤与平衡透析法 (Ultrafiltration vs. equilibrium dialysis for determination of free fraction). 临床药代动力学 (Clin. Pharmacokinet.) 9 (1), 49-60 (1984) .19

[0681] 2. Lee KJ, Mower R, Hollenberck T等. 超滤蛋白结合研究中非特异性结合的调节 (Modulation of nonspecific binding in ultrafiltration protein binding studies). 药学研究 (Pharm. Res.) 20 (7), 1015-1021 (2003) .20

[0682] 3. Zhang F, Xue J, Shao J等. 222种药物的血浆蛋白结合数据汇编和研究设计指南. (Compilation of 222 drugs' plasma protein binding data and guidance for study designs) 当今药物发现 (Drug Discov. Today) 17 (9-10), 475-485 (2012) .

[0683] 溶解度测定

[0684] 同样, 以下提供了候选化合物的溶解度测定:

[0685] 1. D. J. W. Grant和T. Higuchi. 有机化合物的溶解行为 (SOLUBILITY BEHAVIOR OF ORGANIC COMPOUNDS): 约翰威利父子公司, 1990年, 纽约。

[0686] 2. S. H. Yalkowsky和S. Banerjee. 估算有机化合物的水溶性方法 (AQUEOUS SOLUBILITY METHODS OF ESTIMATION FOR ORGANIC COMPOUNDS), 马塞尔·德克尔: 纽约, 1992年。

[0687] 3. P. Augustin和M. E. 布鲁斯特. 溶剂系统及其在药物和生物药物中的选择 (SOLVENT SYSTEMS AND THEIR SELECTION IN PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS). 施普林格-AAPS出版社: 阿林顿县, 维吉尼亚州, 2007

[0688] 计算的物理性质

[0689] 为了计算其他性质, 可以使用ChemAxon的方法。可以在ChemAxon网站上找到这些内容的详细说明。

[0690] cLog P

[0691] 分配系数的对数。分配系数是分子在辛醇中的浓度与分子在水中的浓度之比。ChemAxon使用基于片段的方法, 一些研究人员将其称为cLogP计算。CDD Vault使用离子logP算法; 有些人可能认为这不是“真正的”logP, 但也可能有用。对于可电离的化合物, 此logP可能与pI处的logD一致。

[0692] cLog D

[0693] 分布系数的对数。该分布系数logD考虑了化合物所有离子化和非离子化形式的浓度比。CDD Vault中的LogD值是针对pH 7.4计算的。

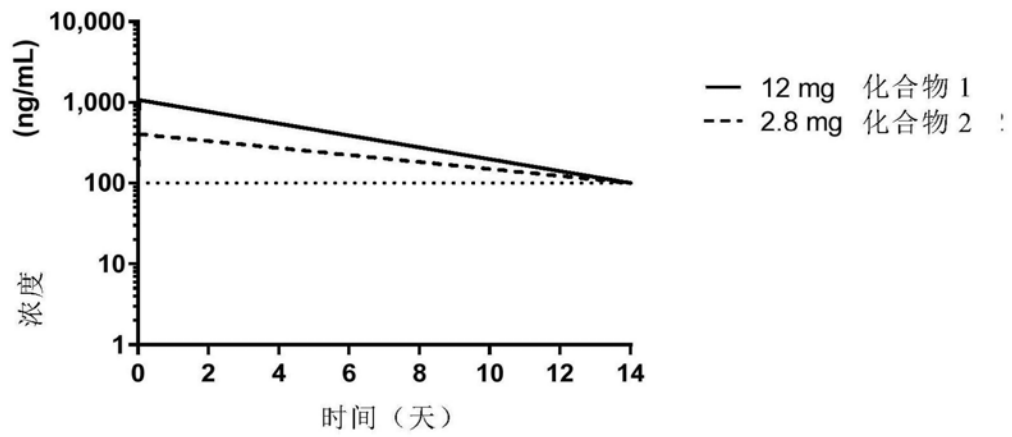
[0694] 拓扑极性表面积

[0695] 拓扑极性表面积 (tPSA) 由分子的极性原子形成。这是一个描述符, 表明它与膜的被动分子转运具有良好的相关性。因此, tPSA可用于估计药物转运性质。tPSA的估算是基于Ertl等人在《药物化学杂志》2000, 43 (20), 3714-3717中给出的方法, 不包括硫和磷原子 (参见Chemaxon文档)。

[0696] 使用例如Chemaxon程序评估表1的化合物,并得到所提供的参数。

[0697] 本发明描述了特定实施方式,包括发明人已知的用于实施本发明的最佳方式。在阅读前述说明后,所公开的实施方案的变化对于本领域的技术人员而言将变得显而易见,并且预期这些技术人员可以适当地采用这样的变化。因此,本发明旨在以不同于本文具体描述的方式来实施,并且本发明包括适用法律允许的所附权利要求书中所述主题的所有修改和等同物。此外,除非本文另有说明或者与上下文明显矛盾,否则本发明涵盖上述要素在其所有可能变型中的任何组合。

[0698] 本说明书中引用的所有出版物、专利申请、登录号和其他参考文献都通过引用并入本文,如同每个单独的出版物或专利申请被具体地和单独地指出通过引用并入。



静脉内给药（恒定输注 1 小时）化合物 1 和化合物 2 后，预测的浓度-时间曲线

图1