



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111107851 B

(45) 授权公告日 2023.05.12

(21) 申请号 201880048755.5

(22) 申请日 2018.07.23

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 111107851 A

(43) 申请公布日 2020.05.05

(30) 优先权数据  
17305998.1 2017.07.25 EP  
62/536,121 2017.07.24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2020.01.20

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2018/069901 2018.07.23

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02019/020559 EN 2019.01.31

(73) 专利权人 赛诺菲

地址 法国巴黎

(72) 发明人 M·布阿布拉 M·硕马里 F·桑

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494  
专利代理师 陈桢

(51) Int.Cl.  
A61K 31/519 (2006.01)  
A61K 31/40 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 108884079 A, 2018.11.23  
CN 105828822 A, 2016.08.03

审查员 甘露

权利要求书1页 说明书17页 附图3页

(54) 发明名称

组合及其用于治疗癌症的用途

(57) 摘要

本申请提供帕博西尼和6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[ (3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸或其药学上可接受的盐的组合、包含这种组合的药物组合物及其治疗用途,特别是其用于治疗癌症(包括乳腺癌)的治疗用途。

1. 一种组合产品,其包含6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸或其药学上可接受的盐和帕博西尼。

2. 根据权利要求1所述的组合产品,其显示治疗协同作用。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的组合产品,其用于治疗癌症。

4. 根据权利要求3所述的组合产品,其中所述癌症是乳腺癌。

5. 根据权利要求1或权利要求2所述的组合产品,其中两种化合物分开、同时或间隔一段时间给药。

6. 一种药物组合物,其包含6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸或其药学上可接受的盐和帕博西尼和至少一种药学上可接受的赋形剂。

7. 根据权利要求6所述的药物组合物,其中将6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸或其药学上可接受的盐和帕博西尼同时、分开或间隔一段时间给药。

8. 根据权利要求6或权利要求7所述的药物组合物,其用于治疗癌症。

9. 根据权利要求8所述的药物组合物,其中所述癌症是乳腺癌。

10. 化合物6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸或其药学上可接受的盐与帕博西尼在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

11. 根据权利要求10所述的用途,其中所述化合物与帕博西尼同时、分开或间隔一段时间给药。

12. 一种药物试剂盒,其包含:

(i) 第一药物组合物,其包含6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸或其药学上可接受的盐和至少一种药学上可接受的赋形剂;

(ii) 第二药物组合物,其包含帕博西尼和至少一种药学上可接受的赋形剂;

药物组合物(i)和(ii)两者处于单独的隔室中并且意在独立地给药,每一药物组合物相对于另一药物组合物都是同时、分开或间隔时间给药。

## 组合及其用于治疗癌症的用途

### 技术领域

[0001] 本申请提供帕博西尼和6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸的组合、包含这种组合的药物组合物及这种组合和药物组合物的治疗用途,特别是用于治疗癌症的治疗用途。

### 背景技术

[0002] 雌激素受体 $\alpha$  (ESR1) 在大多数乳腺肿瘤中表达,使得乳腺肿瘤能够响应雌激素的促有丝分裂作用。

[0003] 6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸,以下称为“化合物(1)”,是选择性雌激素受体降解剂(SERD),其具有完全的雌激素受体拮抗剂性质并且加速雌激素受体的蛋白酶体降解。该化合物公开于作为W0 2017/140669公开的专利申请PCT/EP2017/053282中。

[0004] 帕博西尼(Palbociclib),也称为6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-2-[5-(1-哌嗪基)吡啶-2-基氨基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮,是细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)4和6的抑制剂。帕博西尼以商品名**Ibrance**<sup>®</sup>上市销售并且指示与芳香酶抑制剂组合、或与氟维司群组合,用于治疗已接受先前内分泌治疗的妇女的激素受体(HR)-阳性、人表皮生长因子受体2(HER2)-阴性的局部晚期或转移性乳腺癌。在绝经前或围绝经期妇女中,内分泌治疗应与促黄体激素释放激素(LHRH)激动剂组合。

[0005] 一直需要寻找新的抗肿瘤治疗方法。如今,已显示化合物(1)与帕博西尼的组合具有良好的耐受性,与单独的每种活性成分相比,所述组合表现出强的抗肿瘤功效并且诱导肿瘤消退。

### 发明内容

[0006] 本申请提供包含化合物(1)和帕博西尼的组合。

[0007] 在本申请提供的组合中,化合物(1)不仅可以两性离子(即具有酸性基团和碱性基团的整体呈中性的分子)的形式存在,而且可以与酸或碱的加成盐的形式存在。这种加成盐可用于上述组合中。因此,本申请提供包含化合物(1)或其药学上可接受的盐和帕博西尼的组合。

### 具体实施方式

[0008] 在一个实施方案中,化合物(1)或其药学上可接受的盐与帕博西尼的组合显示出治疗上的协同作用。如果组合的治疗效果优于该组合中的单独任一种活性剂的累加效果,则表明该组合具有治疗上的协同作用。

[0009] 在另一实施方案中,化合物(1)或其药学上可接受的盐和帕博西尼通过口服途径给药。

[0010] 本申请还提供化合物(1)或其药学上可接受的盐和帕博西尼的组合,其用作药物。

[0011] 本申请还提供药物组合物,其包含化合物(1)或其药学上可接受的盐和帕博西尼以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0012] 赋形剂选自本领域技术人员已知的常规赋形剂。更特别地,赋形剂选自以任何形式(液体溶液、分散液或悬浮液、片剂、胶囊等)用于口服给药的那些赋形剂。

[0013] 在另一实施方案中,化合物(1)或其药学上可接受的盐和帕博西尼可同时给药、分开给药或间隔一段时间给药(顺序给药)。因此,本申请提供的组合不仅仅限于通过单一药物组合物中各成分的物理缔合得到的组合,而且还涉及允许分开给药、可以同时或间隔(或“分散开”)时间给药的那些组合。

[0014] 本申请还提供药物试剂盒,其包含:

[0015] (i) 第一药物组合物,其包含化合物(1)或其药学上可接受的盐和至少一种药学上可接受的赋形剂;

[0016] (ii) 第二药物组合物,其包含帕博西尼和至少一种药学上可接受的赋形剂;

[0017] 药物组合物(i)和(ii)两者处于单独的隔室中并且意在独立地给药,每一药物组合物相对于另一药物组合物都是同时、分开或分散开时间(顺序)给药。

[0018] 在上述组合、药物组合物和药物试剂盒中,化合物(1)或其药学上可接受的盐和帕博西尼有利地以有效剂量存在,考虑到所治疗的病理及其所给药的患者的病况进行适应调整。特别是对于帕博西尼,成人患者的癌症治疗的推荐起始剂量为125mg/天,持续治疗21天,然后停止治疗7天,以及根据个体安全性和耐受性中断剂量给药和/或降低剂量。

[0019] 本申请还提供如上所述的包含化合物(1)或其药学上可接受的盐和帕博西尼的组合以及药物组合物和试剂盒,其用于治疗癌症。

[0020] 本申请还提供化合物(1)或其药学上可接受的盐,其通过与帕博西尼共同给药用于治疗癌症。

[0021] 本申请还提供帕博西尼,其通过与化合物(1)或其药学上可接受的盐共同给药用于治疗癌症。

[0022] 在另一实施方案中,该癌症是激素依赖性癌症。

[0023] 在另一实施方案中,该癌症是雌激素受体依赖性癌症,特别地该癌症是雌激素受体 $\alpha$ 依赖性癌症。

[0024] 在另一实施方案中,该癌症对抗激素治疗具有抗性。

[0025] 在另一实施方案中,该癌症是具有野生型雌激素受体的癌症。

[0026] 在另一实施方案中,该癌症是雌激素受体功能失调的癌症,所述雌激素受体功能失调与雌激素受体的至少一种表观遗传和遗传变异例如突变、扩增、剪接变体有关,但不限于此。

[0027] 在另一实施方案中,该癌症是雌激素受体突变的癌症。

[0028] 在另一实施方案中,雌激素受体的突变可包括但不限于新的或已知的突变,例如Leu536Arg、Tyr537Ser、Tyr537Asn或Asp538Gly。

[0029] 在另一实施方案中,该癌症是雌激素敏感性癌症。

[0030] 在另一实施方案中,该癌症是乳腺癌,更特别地是雌激素受体阳性乳腺癌(ER $\alpha$ 阳性乳腺癌)或其转移,例如脑转移。

[0031] 本申请还提供治疗上述病理状况、特别是乳腺癌的方法,其包括向有此需要的受

试者给药治疗有效量的化合物(1)或其药学上可接受的盐和治疗有效量的帕博西尼。

[0032] 本申请还提供治疗上述病理状况、特别是乳腺癌的方法,其包括向有此需要的受试者给药如上所述的药物组合物。

[0033] 本申请还提供治疗上述病理状况、特别是乳腺癌的方法,其包括向有此需要的受试者给药如上所述的组合。

[0034] 本申请还提供治疗上述病理状况、特别是乳腺癌的方法,其包括向有此需要的受试者共同给药化合物(1)或其药学上可接受的盐和帕博西尼。

[0035] 本申请还提供治疗上述病理状况、特别是乳腺癌的方法,其包括向有此需要的受试者共同给药帕博西尼和化合物(1)或其药学上可接受的盐。

[0036] 在上述方法的一个实施方案中,该受试者是人。

[0037] 本申请还提供包含化合物(1)或其药学上可接受的盐和帕博西尼的组合,其用于制备可用于治疗上述病理状况、特别是乳腺癌的药物。

[0038] 本申请还提供化合物(1)或其药学上可接受的盐通过与帕博西尼共同给药在制备用于治疗上述病理状况、特别是乳腺癌的药物中的用途。

[0039] 本申请还提供帕博西尼通过与化合物(1)或其药学上可接受的盐共同给药在制备用于治疗上述病理状况、特别是乳腺癌的药物中的用途。

[0040] 本申请还提供制品、包装或给药单元,其包含:

[0041] -包装材料;

[0042] -上述定义的组合、药物组合物或药物试剂盒;和

[0043] -包含在所述包装材料中的标签或包装插页,指示将所述组合、药物组合物或药物试剂盒给药于患者用于治疗癌症。

[0044] 实施例

[0045] 以下实施例显示如何合成化合物(1),以及用化合物(1)、帕博西尼及它们的组合抵抗小鼠的乳腺癌细胞系异种移植物所获得的药理学结果。

[0046] 1-合成6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸

[0047] 专利申请W0 2017/140669中所述用于合成6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸(化合物(1))的实验方案连同其分析数据复制如下。用于合成化合物(1)的合成方案参见图1。

[0048]  $^1\text{H}$  NMR光谱在Bruker Avance DRX-400光谱仪上进行,其中在303K的温度在溶剂二甲基亚砜-d<sub>6</sub> (d<sub>6</sub>-DMSO)中的化学位移( $\delta$ ,以ppm计)以2.5ppm为基准。偶合常数(J)以赫兹给出。

[0049] 液相色谱/质谱(LC/MS)通过如下获得:UPLC Acquity Waters仪器,光散射检测器Sedere和SQD Waters质谱仪,使用UV检测DAD 210<1<400nm和柱Acquity UPLC CSH C18 1.7 $\mu\text{m}$ ,尺寸2.1x30 mm,流动相H<sub>2</sub>O+0,1% HCO<sub>2</sub>H/CH<sub>3</sub>CN+0,1% HCO<sub>2</sub>H。

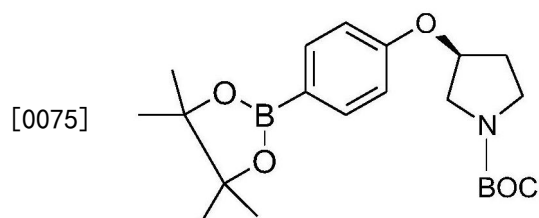
[0050] 使用以下缩写和经验式:

[0051] AcOEt 乙酸乙酯

[0052] AlCl<sub>3</sub> 三氯化铝

[0053] Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 碳酸铯

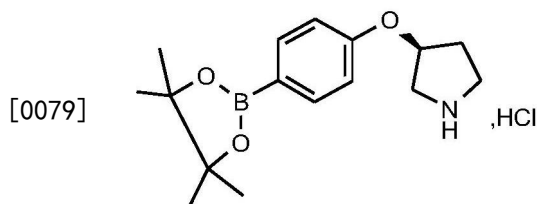
- [0054] DCM 二氯甲烷
- [0055] DMF N,N-二甲基甲酰胺
- [0056] DMSO 二甲基亚砷
- [0057] HCl 氯化氢
- [0058]  $K_2CO_3$  碳酸钾
- [0059] LC/MS 液相色谱/质谱
- [0060] MeOH 甲醇
- [0061]  $MgSO_4$  硫酸镁
- [0062]  $NaHCO_3$  碳酸氢钠
- [0063] NaOH 氢氧化钠
- [0064]  $Pd(dppf)Cl_2$  1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)
- [0065]  $Ph_3P$ 或 $P(Ph)_3$  三苯基膦
- [0066]  $Ph_3P=O$  三苯基氧化膦
- [0067]  $^{\circ}C$  摄氏度
- [0068] ml 毫升
- [0069] mmol 毫摩尔
- [0070]  $\mu mol$  微摩尔
- [0071]  $\mu M$  微摩尔浓度
- [0072] nM 纳摩尔浓度
- [0073] ppm 百万分之一
- [0074] 中间体(c) . (3S)-3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0076] 在氩气下,向商购可得的4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯酚(a) (82.7g, 364.51mmol) 在THF (2L) 中的溶液中加入(R)-1-N-Boc-3-羟基吡咯烷(b) (84.43g, 437.41mmol), 随后加入N,N,N',N'-四甲基偶氮二甲酰胺(99.1g, 546.77mmol)。澄清的反应混合物变成橙色, 加入三苯基膦(143.41g, 546.77mmol)。在室温将反应混合物搅拌24小时, 同时形成三苯基氧化膦( $Ph_3P=O$ )析出物。将反应混合物倒入水(1.5L)中, 用乙酸乙酯(AcOEt) (3x1.5L) 萃取。将收集的有机相经硫酸镁( $MgSO_4$ )干燥, 过滤, 在减压下浓缩。将残留物吸收于二异丙醚(1.5L)中, 过滤形成的固体( $Ph_3P=O$ )。在减压下浓缩溶剂, 残留物通过柱色谱用庚烷与AcOEt的混合物(90/10; v/v)洗脱来纯化, 得到145g (100%)的(3S)-3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(c), 其为无色油。

[0077]  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ppm) : 1.27 (s:12H) ; 1.39 (s:9H) ; 2.05 (m:1H) ; 2.14 (m:1H) ; 3.37 (3H) ; 3.55 (m:1H) ; 5.05 (s:1H) ; 6.94 (d, J=8.4Hz:2H) ; 7.61 (d, J=8.4Hz:2H) 。

[0078] 中间体(d)。(3S)-3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基]吡咯烷盐酸盐



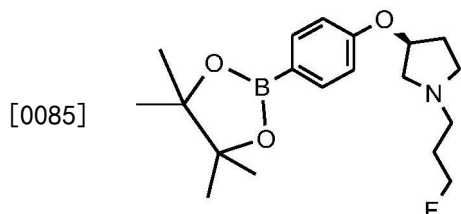
[0080] 向(S)-3-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(c)(80g,195.23mmol)在MeOH(450ml)中的溶液中缓慢加入4NHC1/二噁烷(250ml)。

[0081] 1.5小时后,将反应混合物在减压下浓缩,在搅拌下将残留物溶于Et<sub>2</sub>O中,得到固体,然后将其过滤,在真空下干燥,得到61.8g(95%)的(3S)-3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基]吡咯烷盐酸盐(d),其为白色粉末。

[0082] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>,δppm):1.28(s:12H);2.10(m:1H);2.21(m:1H);3.31(3H);3.48(m:1H);5.19(m:1H);6.97(d,J=8.4Hz:2H);7.63(d,J=8.4Hz:2H);9.48(s:1H);9.71(s:1H)。

[0083] LC/MS(m/z,MH<sup>+</sup>):290

[0084] 中间体(e)。(3S)-1-(3-氟丙基)-3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基]吡咯烷

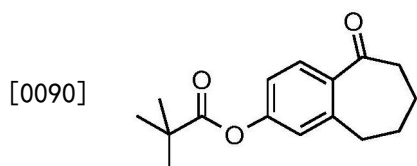


[0086] 在氩气下,向(S)-3-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基)吡咯烷盐酸盐(d)(20g,61.42mmol)在乙腈(100ml)中的悬浮液中加入K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(21.22g,153.54mmol)和1-碘-3-氟丙烷(12.15g,61.42mmol)。在40℃将反应混合物搅拌24小时。冷却至室温后,将反应混合物过滤,用乙腈洗涤。在减压下浓缩滤液,将残留物吸收于DCM中。将形成的固体过滤,用DCM洗涤。浓缩滤液,得到21.5g(100%)的(3S)-1-(3-氟丙基)-3-[4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基]吡咯烷(e),其为黄色泡沫。

[0087] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>,δppm):1.27(s:12H);1.77(m:2H);1.84(m:1H);2.27(m:1H);2.41(m:1H);2.49(2H);2.62(dd,J=2.6and 10.4Hz:1H);2.69(m:1H);2.83(dd,J=6.2and 10.4Hz:1H);4.47(td,J=6.2and 47Hz:2H);4.99(m:1H);6.77(d,J=8.4Hz:2H);7.58(d,J=8.4Hz:2H)。

[0088] LC/MS(m/z,MH<sup>+</sup>):350

[0089] 中间体(B)。2,2-二甲基丙酸5-氧代-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-2-基酯



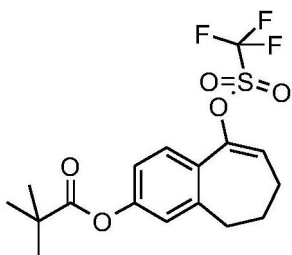
[0091] 向2-羟基-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-5-酮(A) (1.52g, 8.63mmol) 在丙酮(60ml) 中的溶液中加入 $K_2CO_3$  (1.19g, 8.63mmol) 和新戊酰氯 (1.06ml, 8.63mmol)。在室温将反应混合物搅拌16小时, 过滤, 在减压下浓缩。将残留物通过快速色谱用庚烷/AcOEt的梯度(100/0至85/15, v/v) 洗脱来纯化, 得到1.55g (69%) 的2,2-二甲基丙酸5-氧代-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-2-基酯(B), 其为无色油。

[0092]  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ppm) : 7.65 (d, 1H) ; 7.10-7.04 (m, 2H) ; 2.95 (t, 2H) ; 2.68 (t, 2H) ; 1.85-1.65 (m, 4H) 。

[0093] LC/MS (m/z,  $MH^+$ ) : 261

[0094] 中间体(C) . 2,2-二甲基丙酸9-(三氟甲磺酰基氧基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基酯

[0095]

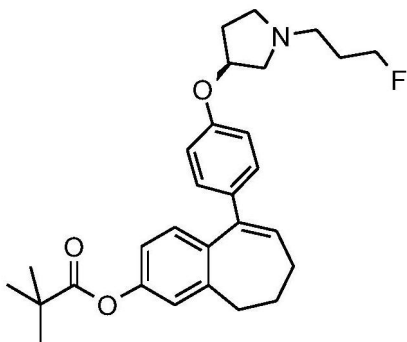


[0096] 在氩气下, 向2,2-二甲基丙酸5-氧代-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-2-基酯(B) (15g, 57.62mmol) 在DCM (500ml) 中的溶液中逐滴加入吡啶 (7.28ml, 86.43mmol) 和三氟甲磺酸酐 (19.58ml, 115.24mmol)。在室温将反应混合物搅拌2小时, 加入冰 (200g)。分离各相, 水相用DCM洗涤, 将收集的有机相经 $MgSO_4$ 干燥, 过滤, 在减压下蒸发, 得到22g (97%) 的2,2-二甲基丙酸9-(三氟甲磺酰基氧基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基酯(C), 其为白色固体。

[0097] LC/MS (m/z,  $MH^+$ ) : 391

[0098] 中间体(D) . 2,2-二甲基丙酸9-(4-{[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基}苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基酯

[0099]

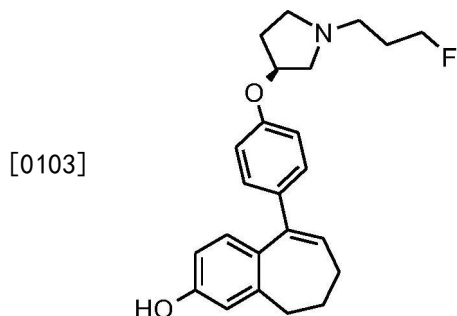


[0100] 在氩气下, 向2,2-二甲基丙酸9-(三氟甲磺酰基氧基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基酯(C) (22g, 56.07mmol) 和(3S)-1-(3-氟丙基)-3-[4-(四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基]吡咯烷(e) (20.56g, 58.87mmol) 在二噁烷(420ml) 和水(120ml) 中的溶液中加入Pd(dppf) $Cl_2$  (2.75g, 3.36mmol) 和 $CS_2CO_3$  (36.57g, 112.13mmol)。在室温将反应混合物搅拌1小时, 在水和DCM之间分配。水相用DCM洗涤, 收集的有机相经 $MgSO_4$ 干燥, 过滤, 在减压下浓缩。将残留物通过柱色谱用MeOH/DCM的梯度(0至5%; V/V) 洗脱来纯化, 得到31g (100%) 的2,2-二甲基丙酸9-(4-{[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基}苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基酯(D)。



[0101] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>) : 466

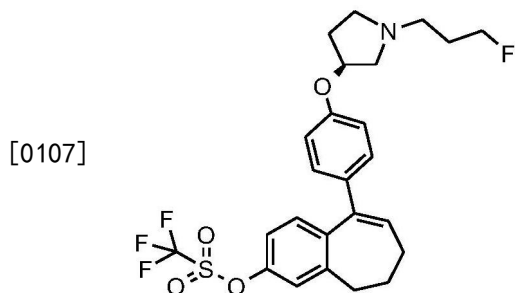
[0102] 中间体 (E) .9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基) -6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-醇



[0104] 在氩气下,向的2,2-二甲基丙酸9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基) -6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基酯 (D) (24.8g, 53.26mmol) 在MeOH(300ml) 中的溶液中加入5M NaOH(23ml, 115.00mmol)。在室温将反应混合物搅拌2小时。然后通过加入6N HCl水溶液将pH调节至7。在减压下浓缩MeOH, 然后加入DCM。将有机相经MgSO<sub>4</sub>干燥, 在减压下浓缩。将残留物通过快速色谱用DCM/MeOH为100/0至95/05的梯度洗脱来纯化, 得到18.8g (93%) 的9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基) -6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-醇 (E), 其为米色固体。

[0105] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>) : 382

[0106] 中间体 (F) .三氟甲磺酸9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基) -6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基酯

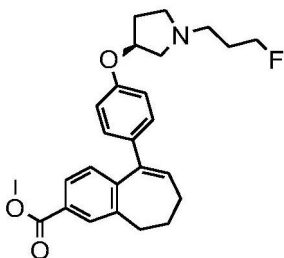


[0108] 在氩气下,向冷却至5℃(冰浴)的9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基) -6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-醇 (E) (20.6g, 54.00mmol) 在DCM(200ml) 和吡啶(6.55ml, 81.00mmol) 中的溶液中逐滴加入三氟甲磺酸酐(18.93ml, 108.00mmol), 反应温度保持<15℃。移除冰浴, 在室温将棕色悬浮液搅拌2小时。加入冰(200g) 和DCM(200ml), 分离各相。将有机相经MgSO<sub>4</sub>干燥, 在减压下浓缩。将残留物通过快速色谱用DCM/MeOH为100/0至95/05的梯度洗脱来纯化, 得到24.7g (89.1%) 的三氟甲磺酸9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基) -6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基酯 (F), 其为棕色油。

[0109] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>) : 514

[0110] 中间体 (G) .9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基) -6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯

[0111]

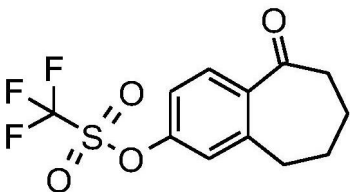


[0112] 向三氟甲磺酸9-(4-{{(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基}氧基}苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-基酯(F) (10.1g, 19.67mmol) 在DMF (66ml) 和MeOH (33ml) 中的溶液中加入Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (909mg, 1.18mmol) 和二异丙基乙胺 (7.21ml)。将黑色悬浮液在高压釜中于70°C在5巴的CO下羰基化5小时。将反应混合物过滤,然后将滤液在减压下部分浓缩。将残留物在AcOEt和水之间分配。将有机相用水(2x 100ml)洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,在减压下浓缩。将残留物通过快速色谱用DCM/MeOH为100/0至95/05的梯度洗脱来纯化,得到7.13g (86%) 的9-(4-{{(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基}氧基}苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯(G),其为棕色胶。

[0113] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>): 424

[0114] 中间体(A1). 三氟甲磺酸5-氧代-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-2-基酯

[0115]



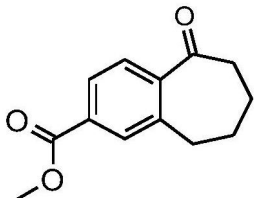
[0116] 在氩气下,向冷却于5°C的商购可得的2-羟基-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-5-酮(A) (18.5g, 105mmol) 在DCM (185ml) 和卢剔啶 (13.35ml, 113.505mmol) 中的溶液中逐滴加入三氟甲磺酸酐 (20.22ml, 123.29mmol), 同时保持温度在10°C和20°C之间。在5°C将反应混合物搅拌1小时,然后在室温搅拌1小时。

[0117] 然后,加入冰 (200g), 浆液在水和DCM之间分配。将有机相用NaHCO<sub>3</sub>水溶液洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 在减压下浓缩。将残留物通过快速色谱用庚烷/AcOEt为100至90/10的梯度洗脱来纯化, 得到28.2g (87%) 的三氟甲磺酸5-氧代-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-2-基酯(A1), 其为橙色油。

[0118] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>): 309

[0119] 中间体(B1). 5-氧代-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-2-甲酸甲酯

[0120]



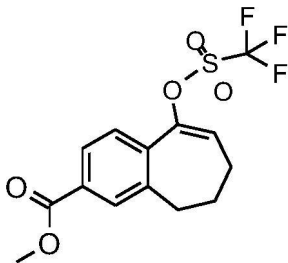
[0121] 向三氟甲磺酸5-氧代-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-2-基酯(A1) (5.03g, 16.32mmol) 在DMF (24ml) 和MeOH (12ml) 中的溶液中加入Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (754mg, 0.98mmol) 和二异丙基乙胺 (6ml)。将黑色悬浮液在高压釜中于70°C在5巴的CO下羰基化2.5小时。过滤反应混合物,然后将滤液在减压下部分浓缩,将残留物在AcOEt和水之间分配。将有机相用水

(2x 75ml) 和0.5N HCl水溶液洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,在减压下浓缩。将残留物通过快速色谱用庚烷/AcOEt为100/0至90/10的梯度洗脱来纯化,得到3.4g (95%) 的5-氧代-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-2-甲酸甲酯 (B1), 其为无色油。

[0122] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>): 219

[0123] 中间体 (C1) .9-(三氟甲磺酰基氧基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯

[0124]

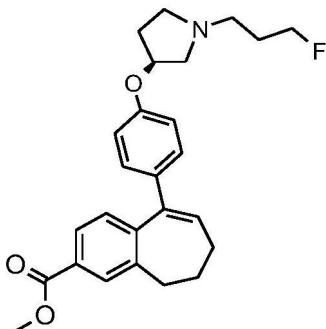


[0125] 在氩气下,向于5°C冷却的5-氧代-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]轮烯-2-甲酸甲酯 (B1) (18, 19g, 83, 34mmol) 在DCM (500ml) 和无水吡啶 (11ml, 130, 56mmol) 中的溶液中逐滴加入三氟甲磺酸酐 (30ml, 176, 54mmol)。在室温将反应混合物(稠的悬浮液)搅拌24小时,然后加入冰,在水和DCM之间分配。将有机相经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,在减压下浓缩,得到29g (100%) 的9-(三氟甲磺酰基氧基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯 (C1), 其为黄色胶。

[0126] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>): 351

[0127] 中间体 (G) .9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯

[0128]



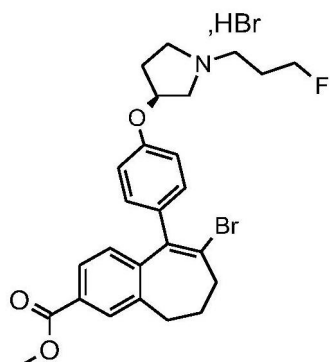
[0129] 在氩气下,向9-(三氟甲磺酰基氧基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯 (C1) (29g, 82.9mmol)、(3S)-1-(3-氟丙基)-3-[4-(四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)苯氧基]吡咯烷 (e) (28.9g, 82.9mmol) 在二噁烷 (225ml) 中的溶液中加入Pd (dppf) Cl<sub>2</sub>与DCM的络合物 (3.73g, 4.57mmol) 和1.5M Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液 (111.12ml, 166.68mmol)。在60°C将反应混合物搅拌1小时。

[0130] 冷却至室温后,将反应混合物倒入水 (500ml) 和AcOEt (400ml) 的混合物中。将有机相用盐水洗涤,经干燥MgSO<sub>4</sub>,在硅藻土上过滤,在减压下浓缩。将残留物通过快速色谱用DCM/MeOH为100/0至95/05的梯度洗脱来纯化,得到23g (65%) 的9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯 (G), 其为棕色胶。

[0131] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>): 424

[0132] 中间体 (H) .8-溴-9-(4- {[ (3S) -1-(3-氟丙基) 吡咯烷-3-基] 氧基} 苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯氢溴酸盐

[0133]

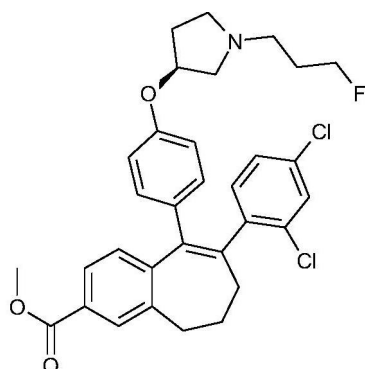


[0134] 在氩气下,向9-(4-[[ (3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基]苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯(G) (13.93g, 32.89mmol) 在DCM(150ml) 中的溶液中加入三溴化吡啶鎓(15.78g, 44.41mmol)。在室温将反应混合物搅拌1小时。加入水(200ml), 然后将有机相经MgSO<sub>4</sub>干燥, 在减压下浓缩。将残留物通过快速色谱用DCM/MeOH为100/0至95/05的梯度洗脱来纯化, 得到16.4g (85%) 的8-溴-9-(4-[[ (3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基]苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯氢溴酸盐(H), 其为黄色蛋糖霜样物(meringue)。

[0135] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>): 502

[0136] 中间体(I). 6-(2,4-二氯-苯基)-5-{4-[1-(3-氟-丙基)-吡咯烷-3-基氧基]-苯基}-8,9-二氢-7H-苯并环庚烯-2-甲酸甲酯。

[0137]

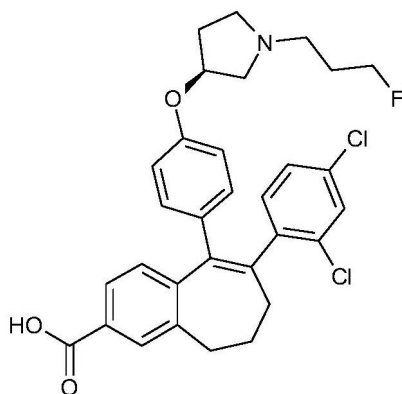


[0138] 向8-溴-9-(4-[[ (3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基]苯基)-6,7-二氢-5H-苯并[7]轮烯-3-甲酸甲酯氢溴酸盐(H) (150mg, 298.56μmol) 在二噁烷(12ml) 和水(2ml) 中的溶液中加入2,4-二氯苯基-硼酸(62.67mg, 328.41μmol)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (204.48mg, 626.97μmol) 和Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (14.63mg, 17.91μmol)。在90℃将反应混合物加热3小时, 在AcOEt和水之间分配。分离各相, 有机相用盐水洗涤, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 在减压下浓缩。残留物通过柱色谱用DCM、乙腈和MeOH的混合物(96/2/2; V/V/V) 洗脱来纯化, 得到80mg (47%) 的6-(2,4-二氯-苯基)-5-{4-[1-(3-氟-丙基)-吡咯烷-3-基氧基]-苯基}-8,9-二氢-7H-苯并环庚烯-2-甲酸甲酯(I)。

[0139] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>): 568

[0140] 化合物(1). 6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸

[0141]



[0142] 向6-(2,4-二氯-苯基)-5-{4-[1-(3-氟-丙基)-吡咯烷-3-基氧基]-苯基}-8,9-二氢-7H-苯并环庚烯-2-甲酸甲酯(I) (80mg, 140.72 $\mu$ mol) 在MeOH (5ml) 中的溶液中加入NaOH溶液 (562.88 $\mu$ l, 5M), 在60 $^{\circ}$ C将反应混合物加热5小时, 在减压下除去溶剂。将残留物吸收于水 (10ml) 中, 加入HCl水溶液 (5M) 至pH为7。将浆液用DCM萃取, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 在减压下浓缩。固体通过柱色谱用DCM、乙腈和MeOH的混合物 (90/5/5; V/V/V) 洗脱来纯化, 得到60mg (77%) 的6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸。

[0143] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ ppm) : 1.68 (m, 1H) ; 1.79 (dm, J=25.3Hz, 2H) ; 2.07 to 2.23 (m, 5H) ; 2.38 (m, 1H) ; 2.46 (t, J=7.2Hz, 2H) ; 2.52 (m, 1H) ; 2.62 (m, 1H) ; 2.55 to 2.89 (m, 3H) ; 4.47 (td, J=6.2 and 47.6Hz, 2H) ; 4.72 (m, 1H) ; 6.63 (d, J=8.9Hz, 2H) ; 6.71 (m, 3H) ; 7.18 (d, J=8.4Hz, 1H) ; 8.26 (dd, J=2.0 and 8.4Hz, 1H) ; 7.58 (d, J=2.0Hz, 1H) ; 7.63 (d, J=8.4Hz, 1H) ; 7.79 (s, 1H) ; 12.3 (m, 1H)

[0144] LC/MS (m/z, MH<sup>+</sup>) : 554

[0145] 2-评价6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸与帕博西尼的组合抵抗雌性裸鼠的皮下乳腺癌细胞系异种移植物的功效

[0146] 在本研究中, 研究6-(2,4-二氯苯基)-5-[4-[(3S)-1-(3-氟丙基)吡咯烷-3-基]氧基苯基]-8,9-二氢-7H-苯并[7]轮烯-2-甲酸 (“化合物(1)”) 与细胞周期蛋白依赖性激酶4 (CDK4) 抑制剂帕博西尼的组合抵抗雌性裸鼠的皮下MCF7-Y537S人乳腺癌细胞系异种移植物的30天治疗后的抗肿瘤功效。

[0147] 治疗组包括单独剂量为5mg/kg的化合物(1), 单独剂量为100mg/kg的帕博西尼, 以及相同剂量和方案的化合物(1)和帕博西尼的组合。

[0148] 化合物(1)每天口服两次 (BID), 帕博西尼每天一次口服 (QD), 持续30天。通过肿瘤体积测量来评价抗肿瘤功效。

[0149] 2-1: 实验程序

[0150] 2-1-1: 动物、细胞系、化合物

[0151] 雌性无胸腺裸鼠得自Harlan (Indianapolis, IN, USA)。在研究登记前, 使动物适应至少四天。在治疗开始时, 小鼠为12至13周龄, 体重为20.2至27.3克。根据美国农业部的实验室动物福利法, 将这些动物圈养在美国国立卫生研究院实验动物护理和使用指南概述的条件下。

[0152] 亲本MCF7细胞得自美国典型培养物保藏中心(ATCC®HTB-22™)。MCF7-Y537S(ESR1)细胞系是表达由Sanofi Biology Discovery Group产生的ER.Y537S变体的MCF7细胞。Y537S突变通过定点诱变而引入ESR1构建体(GenBank NM\_000125.3)中(Toy W.等人, Cancer Discovery, 2017, 7, 277-287)。将构建体转染入MCF7细胞中,因其在不存在雌二醇的条件下生长,故选择MCF7细胞。MCF-Y537S是ESR1突变,其赋予ER $\alpha$ (雌激素受体 $\alpha$ )雌激素非依赖性活性且导致内分泌抵抗性疾病(Robinson D.R.等人, Nat Genet., 2013, 45(12), 1446-1451)。使细胞于37°C在5% CO<sub>2</sub>中,在补充有10%胎牛血清(FBS)、人胰岛素的Eagle最低必需培养基(EMEM)中生长。将细胞收获于0.25%胰蛋白酶EDTA中,用Dulbecco磷酸盐缓冲盐水(DPBS)洗涤,再悬浮于含50%基质胶的BPBS(Becton Dickinson目录号356234,批号32277)中。将细胞(20 $\times$ 10<sup>6</sup>个细胞/小鼠)皮下(SC)植入雌性裸鼠的右肋腹。

[0153] 当建立MCF7-Y537S肿瘤时,将肿瘤保留为用于碎片植入的肿瘤储备物。肿瘤通过碎片组织移植在皮下连续繁殖。将碎片肿瘤组织皮下植入雌性裸鼠的右肋腹。在该实验中分配50只小鼠。

[0154] 化合物(1)和帕博西尼(商购可得,以商品名Ibrance®上市销售)配制如下:

[0155] .媒介物A:20%Labrasol®(由Gattefosse SAS,France提供);

[0156] .媒介物B:5%葡萄糖。

[0157] 化合物(1)在媒介物A中制备,然后加入Solutol HS15(购自Sigma)至最终浓度为5%,将溶液保持搅拌一小时以完全溶解。此后,加入媒介物B。最终pH为5.5。

[0158] 化合物(1)的给药剂量体积:通过口服管饲法喂饲10ml/kg。

[0159] 剂量:5mg/kg(上述体积的化合物(1)的剂量)。

[0160] 帕博西尼在媒介物A中制备,然后加入Solutol HS15至最终浓度为5%,将溶液保持搅拌一小时以完全溶解。此后,加入媒介物B。最终pH为5.5。

[0161] 剂量体积:通过口服管饲法喂饲10ml/kg。

[0162] 剂量:100mg/kg(上述体积的帕博西尼的剂量)。

[0163] 2-1-2:研究设计、终点

[0164] 汇集实验所需的动物(加上其它动物),在第0天植入MCF7-Y537S肿瘤碎片组织。在植入后第21天,将小鼠汇集并且随机分配至治疗组和对照组(每组10只小鼠),其中每组的中位肿瘤体积为202.5至211.5mm<sup>3</sup>。在第22天开始化合物(1)和帕博西尼的治疗。化合物(1)以5mg/kg BID口服给药(间隔至少5小时),帕博西尼以100mg/kg QD口服给药,持续30天。每天评估动物体重。

[0165] 剂量以mg/kg表示,基于每只动物的每天体重。媒介物治疗的动物用作对照。每天检查小鼠并且记录不良临床反应。每天对每只小鼠称重,直到实验结束。当观察到病态或体重减轻 $\geq$ 20%时,对小鼠实施安乐死。用卡尺测量肿瘤,每周两次直至最终处死。当肿瘤大小达到约2000mm<sup>3</sup>或存在动物健康问题(40%面积的肿瘤发生溃疡)时,对动物实施安乐死并且记录死亡日期。从二维肿瘤测量值估计实体肿瘤体积,根据以下方程式计算:

$$[0166] \quad \text{肿瘤体积 (mm}^3\text{)} = \frac{\text{长度 (mm)} \times \text{宽度}^2 \text{ (mm}^2\text{)}}{2}$$

[0167] 毒性终点:

[0168] 除非在某些情况下可认为体重减轻或动物死亡与药物无关,否则对单只小鼠连续3天期间造成15%体重减轻、1天期间造成20%体重减轻或10%或更多的与药物相关的死亡的剂量被视为是过度毒性的剂量。实例包括动物处理问题,例如管饲错误(misgavage);肿瘤模型相关的问题,例如肿瘤引起的恶病质,导致体重减轻,这可在对照组或媒介物治疗组中观察到;以及肿瘤过度溃疡。具有与药物无关的死亡或明显体重减轻的小鼠不会被视为是有毒的,会被排除在统计分析之外。动物体重包括肿瘤重量。

[0169] 功效终点:

[0170] 主要功效终点包括通过治疗组和对照组之间肿瘤体积从基线开始的变化的中位数之比( $\Delta T / \Delta C$ )总结的肿瘤体积从基线开始的变化。通过从指定观察日的肿瘤体积中减去第一治疗日(分期日)的肿瘤体积,计算出各治疗组(T)和对照组(C)的各只动物在每一天的肿瘤体积变化。计算治疗组的中位数 $\Delta T$ ,计算对照组的中位数 $\Delta C$ 。计算比率 $\Delta T / \Delta C$ ,表示为百分比:

$$[0171] \quad \Delta T / \Delta C = \left( \frac{\text{中位数 } \Delta T}{\text{中位数 } \Delta C} \right) \times 100$$

[0172]  $\Delta T / \Delta C \leq 40\%$  被视为具有治疗活性,  $\Delta T / \Delta C = 0\%$  被视为肿瘤淤滞,  $\Delta T / \Delta C < 0\%$  被视为肿瘤消退(极具活性)。 $\Delta T / \Delta C > 40\%$  被视为治疗无效。

[0173] 肿瘤消退百分比定义为在指定的观察日治疗组与开始研究时的肿瘤体积相比肿瘤体积减少的%(百分比)。在指定时间点(t),对于各只动物,使用以下公式计算消退百分比:

$$[0174] \quad \% \text{消退(在 } t \text{ 时)} = \left( \frac{\text{体积}_{t_0} - \text{体积}_t}{\text{体积}_{t_0}} \right) \times 100$$

[0175] 然后,通过获取针对该组中各只动物计算的单个消退百分比值的中位数来计算给定日期中一个组的消退百分比中位数。计算日期由计算 $\Delta T / \Delta C$ 的日期确定,除非消退百分比中位数不能代表该组的活性。在这种情况下,该日期由消退百分比中位数最大的第一天确定。

[0176] 2-1-3:统计分析

[0177] 对从基线开始的肿瘤体积变化进行双因素方差(two-way Anova-Type)分析,双因素包括因素治疗和日期(重复)。随后对于多重性使用Bonferroni-Holm校正进行对比分析,以比较所有治疗组与对照组,比较在从第27天到第51天的各天的组合中所涉及的剂量的组合与各个单一药剂。

[0178] 在附图中,表示每天测量的各组的中位数和中位数绝对偏差(MAD)。

[0179] 在表格中,报告了每天测量的各组的中位数和标准化MAD( $nMAD = 1.4826 * MAD$ )。

[0180] 通过从指定观察日的肿瘤体积中减去首次治疗当天(第21天)的肿瘤体积,计算出各只动物每天的从基线开始的肿瘤体积变化。

[0181] 所有统计分析都使用SAS 9.2版软件进行。小于5%( $p < 0.05$ )的概率认为是具有显著性的。

[0182] 2-2:结果

[0183] 在这项研究中,化合物(1) 5mg/kg BID、帕博西尼100mg/kg QD及相同剂量和方案

的化合物(1)和帕博西尼的组合持续30天的耐受性良好,显示每组在最低点(组中体重下降的最低值)以%计的平均体重变化分别为-1.7%(第22天)、-2.0%(第22天)和-6.4%(第26天)。

[0184] 化合物(1)以5mg/kg BID的剂量持续30天对肿瘤生长具有最小作用,其中在第51天的 $\Delta T/\Delta C$ 值为59% ( $p=0.4113$ )。帕博西尼以100mg/kg QD的剂量持续30天实现抗肿瘤功效,其中在第51天的 $\Delta T/\Delta C$ 值为27% ( $p<0.0001$ )。当的化合物(1) 5mg/kg与帕博西尼100mg/kg的组合采用与化合物(1) BID和帕博西尼QD相同的剂量方案时,组合治疗显示强的抗肿瘤功效,其中在第51天 $\Delta T/\Delta C$ 值小于0 ( $p<0.0001$ ) 并且诱导肿瘤消退(中位数肿瘤消退32%)。统计分析表明,在第51天与单独的化合物(1)或单独的帕博西尼相比,组合作用显著不同 ( $p<0.0001$ )。详细结果显示在下表1、2和3中以及图2和3中:

[0185] -图2:化合物(1)与帕博西尼的组合抵抗裸鼠的皮下人乳腺癌细胞系MCF7-Y537S异种移植物的抗肿瘤活性:肿瘤体积的演变。曲线表示各组在每天的中位数+或-MAD(中位数绝对偏差);

[0186] -图3:化合物(1)与帕博西尼的组合抵抗裸鼠的皮下人乳腺癌细胞系MCF7-Y537S异种移植物的抗肿瘤活性:在第51天的从基线开始的肿瘤体积变化。点表示在第51天从基线开始的个体肿瘤体积变化,条形对应于中位数。

[0187] 通过该实验,我们得出结论,化合物(1) (5mg/kg,每天两次)与CDK4抑制剂帕博西尼(100mg/kg,每天一次)组合,在裸鼠的MCF7-Y537S人乳腺癌细胞系异种移植模型中引起显著的抗肿瘤功效和肿瘤消退,其优于单独的单一药剂。



[0188]

表 1: 化合物(1)与帕博西尼的组合抵抗裸鼠的皮下 MCF7-Y537S 人乳腺癌异种移植的功效。

药剂	途径/剂量(每次注射以 mL/kg/注射剂)	每次注射以 mg/kg 计的剂量(总剂量)	以天数的时间表(总共 30 天)	*计划外死亡(死亡日)	在最低点各组以%计的平均体重变化(最低点日)	在第 51 天以%计的 $\Delta T/\Delta C$	在第 51 天消退的位数%	消退		在第 47 天的 p 值#	生物解释
								部分	完全		
媒介物	PO, BID (10)	-	-	0/10	-2.2 (22)	100	-	0/10	0/10	-	-
化合物(1)	PO, BID (10)	5 (295) <sup>N.B.</sup>	22 至 51	2/10	-1.7 (22)	59	NR	0/8	0/8	p = 0.4113	不具有活性
帕博西尼	PO, QD (10)	100 (3000)	22 至 51	0/10	-2.0 (22)	27	NR	0/10	0/10	p < 0.0001	具有活性
化合物(1) + 帕博西尼	PO, BID (10)	5 (295) <sup>N.B.</sup> +	22 至 51	1/10	-2.3 (26)	<0	32	2/9	0/9	p < 0.0001	极其具有活性

PO: 口服(*per os*)

N.B.: 动物在开始日期接受一剂。

NR: 无消退(0%消退)。

#统计分析: 将各单一药剂和组合与对照组进行比较。使用对比分析如下获得 p 值: 在每天对于从基线开始的肿瘤体积变化的重复测量进行双因素方差分析后, 对于多重性使用 Bonferroni-Holm 校正来比较各治疗组与对照组。概率小于 5% (p &lt; 0.05) 认为是具有显著性的。

\*从统计分析中排除 3 只小鼠, 因为这些小鼠对应于研究期间与药物无关的死亡或终止。

[0189] 表 2: 化合物(1)与帕博西尼的组合抵抗裸鼠的皮下人乳腺癌细胞系 MCF7-Y537S 异种移植模型的功效。在每天将各组与对照组进行比较。

[0190]

从基线开始的肿瘤体积变化 mm <sup>3</sup> : 中位数(nMAD)*、n 和 p 值 <sup>#</sup>									
治疗组	整体	第 27 天	第 30 天	第 34 天	第 37 天	第 41 天	第 44 天	第 49 天	第 51 天
对照	-	111.5 (44.48) n=10	181.0 (78.58) n=10	296.0 (133.43) n=10	392.0 (235.73) n=10	663.0 (363.24) n=10	867.0 (456.64) n=10	1140.0 (615.28) n=10	1322.0 (633.07) n=10
化合物(1) 5 mg/kg	-	114.0 (19.27) n=8	171.5 (31.13) n=8	270.5 (112.68) n=8	336.0 (112.68) n=8	440.0 (39.29) n=8	498.5 (91.18) n=8	727.5 (160.86) n=8	782.0 (112.68) n=8
	0.3975	0.6333	0.3909	0.7343	0.5990	0.2495	0.1950	0.3770	0.4113
帕博西尼 100 mg/kg	-	68.5 (31.88) n=10	98.0 (25.20) n=10	121.5 (34.10) n=10	132.0 (31.88) n=10	193.5 (52.63) n=10	249.5 (43.74) n=10	298.5 (97.11) n=10	363.5 (108.23) n=10
	<0.0001	0.1164	0.0009	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
化合物(1) 5 mg/kg + 帕博西尼 100 mg/kg	-	-8.0 (63.75) n=9	-17.0 (97.85) n=9	-35.0 (74.13) n=9	-30.0 (57.82) n=9	-43.0 (60.79) n=9	-63.0 (45.96) n=9	-53.0 (72.65) n=9	-52.0 (72.65) n=9
	<0.0001	0.0077	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

#使用相对于对照的对比分析如下获得 p 值: 在每天对于从基线开始的肿瘤体积变化进行双因素方差分析后, 对于多重性使用 Bonferroni-Holm 校正。  
\* MAD=中位数绝对偏差; nMAD=标准化 MAD; nMAD=1.4826\*MAD。

对于帕博西尼(100 mg/kg), 从第 30 天到第 51 天, 与对照组相比, 对于从基线开始的肿瘤体积变化的作用是显著的。

对于化合物(1) (5 mg/kg)+ 帕博西尼(100 mg/kg)的组合, 从第 27 天到第 51 天, 与对照组相比, 对于从基线开始的肿瘤体积变化的作用是显著的。

n = 动物数量。从统计分析中排除 3 只小鼠, 因为这些小鼠对应于研究期间与药物无关的死亡或终止。

[0191] 表3: 化合物(1)与帕博西尼的组合抵抗裸鼠的皮下人乳腺癌细胞系MCF7-Y537S异种移植物模型的功效。在每天化合物(1) 5mg/kg和帕博西尼100mg/kg作为单一药剂相对于组合的比较。

[0192]

肿瘤体积从基线开始的变化 mm <sup>3</sup> : 中位数(nMAD)*、n 和 p 值 <sup>#</sup>									
治疗组	整体	第 27 天	第 30 天	第 34 天	第 37 天	第 41 天	第 44 天	第 49 天	第 51 天
化合物(1) 5 mg/kg + 帕博西尼 100 mg/kg	-	-8.0 (63.75) n=9	-17.0 (97.85) n=9	-35.0 (74.13) n=9	-30.0 (57.82) n=9	-43.0 (60.79) n=9	-63.0 (45.96) n=9	-53.0 (72.65) n=9	-52.0 (72.65) n=9
帕博西尼 100 mg/kg	-	68.5 (31.88) n=10	98.0 (25.20) n=10	121.5 (34.10) n=10	132.0 (31.88) n=10	193.5 (52.63) n=10	249.5 (43.74) n=10	298.5 (97.11) n=10	363.5 (108.23) n=10
	<0.0001	0.2417	0.0736	0.0026	0.0002	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
化合物(1) 5 mg/kg	-	114.0 (19.27) n=8	171.5 (31.13) n=8	270.5 (112.68) n=8	336.0 (112.68) n=8	440.0 (39.29) n=8	498.5 (91.18) n=8	727.5 (160.86) n=8	782.0 (112.68) n=8
	<0.0001	0.0342	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

<sup>#</sup>使用对比分析如下获得 p 值: 在每天对于从基线开始的肿瘤体积变化进行双因素方差分析后, 对于多重性使用 Bonferroni-Holm 校正来比较化合物(1)和帕博西尼的组合与在组合中涉及的剂量的各自单一药剂。

\* MAD=中位数绝对偏差; nMAD=标准化 MAD; nMAD=1.4826\*MAD

在第 34 天到第 51 天, 化合物(1)(5 mg/kg)+ 帕博西尼(100 mg/kg)的组合的作用显著大于单独的帕博西尼(100 mg/kg)的作用。

在第 27 天到第 51 天, 化合物(1)(5 mg/kg)+ 帕博西尼(100 mg/kg)的组合的作用显著大于单独的化合物(1)(5 mg/kg)的作用。

n = 动物数量。从统计分析中排除 3 只小鼠, 因为這些小鼠对应于研究期间与药物无关的死亡或终止。

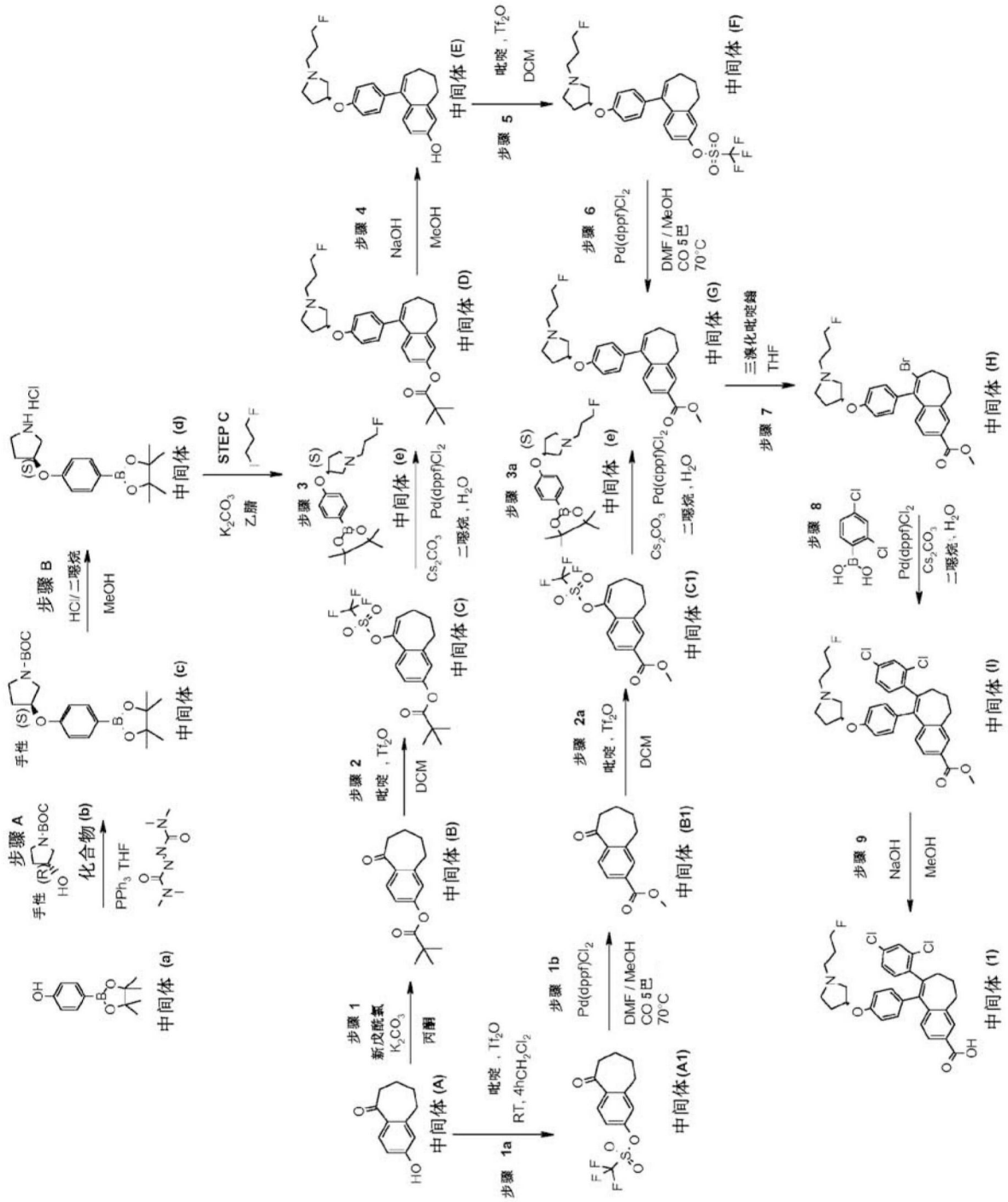


图1

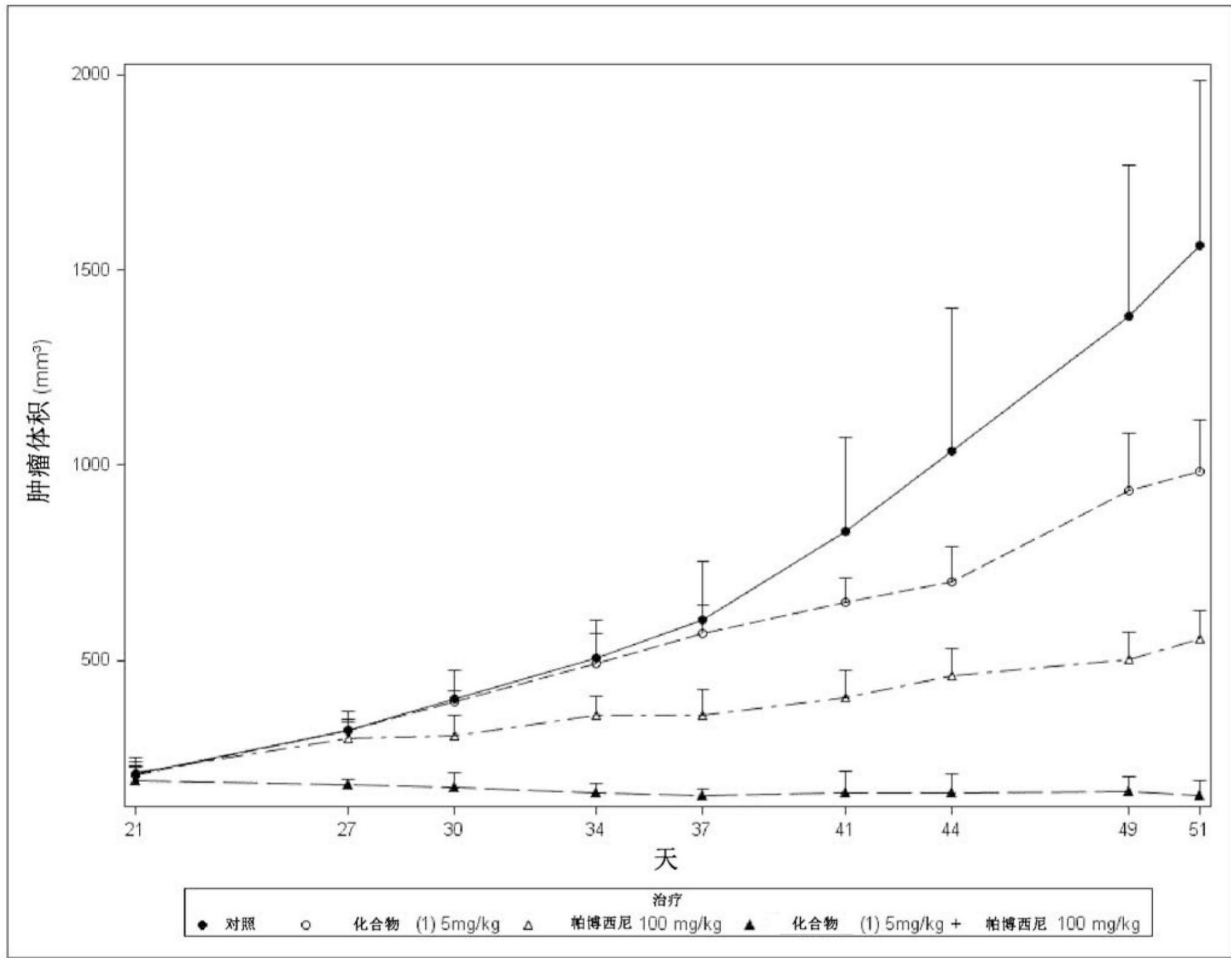


图2

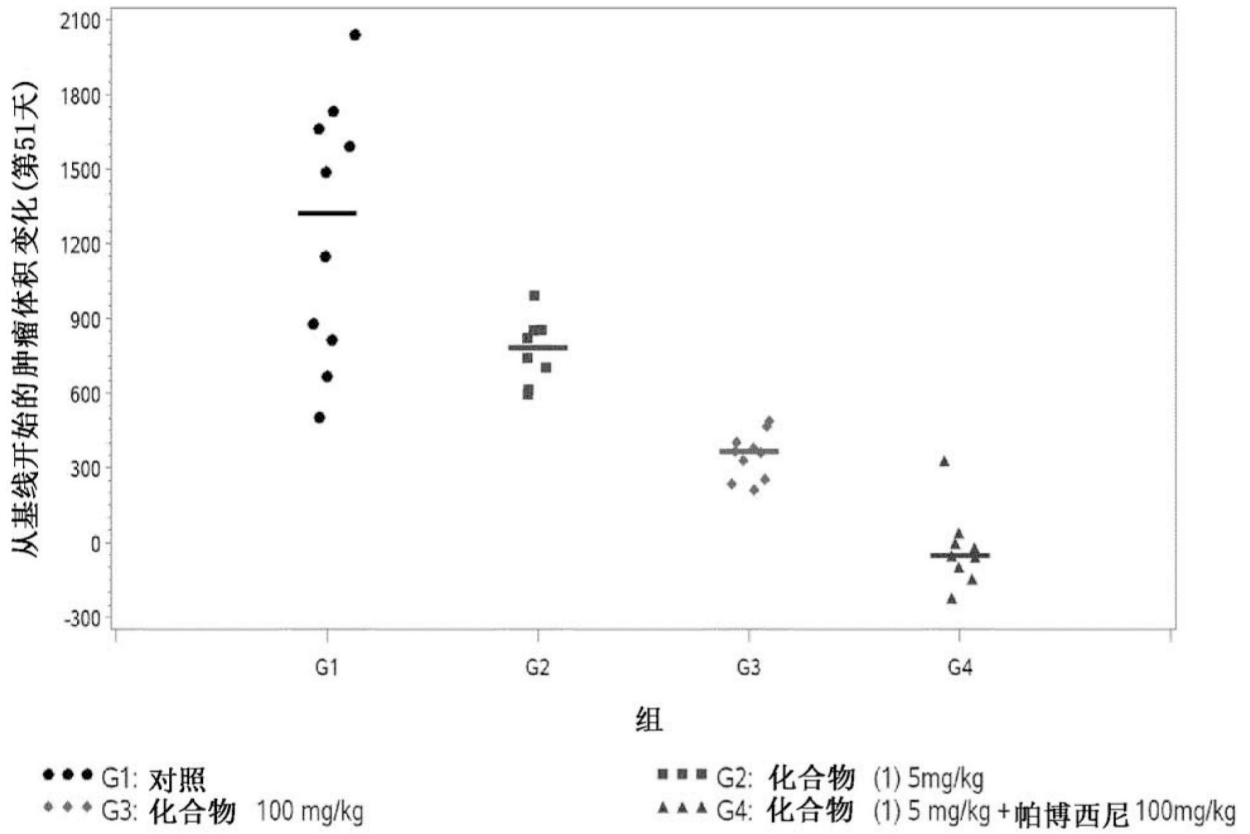


图3