

(21) 申請案號：104139003

(22) 申請日：中華民國 104 (2015) 年 11 月 24 日

(51) Int. Cl. : C07D409/14 (2006.01)

A61K31/4436(2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2014/12/05

美國

62/088,045

(71) 申請人：美國禮來大藥廠(美國) ELI LILLY AND COMPANY (US)

美國

(72) 發明人：余 國隆 YU, KUO-LONG (US) ; 郭 德基 GUO, DEQI (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：19 項 圖式數：0 共 28 頁

(54) 名稱

EZH2 抑制劑

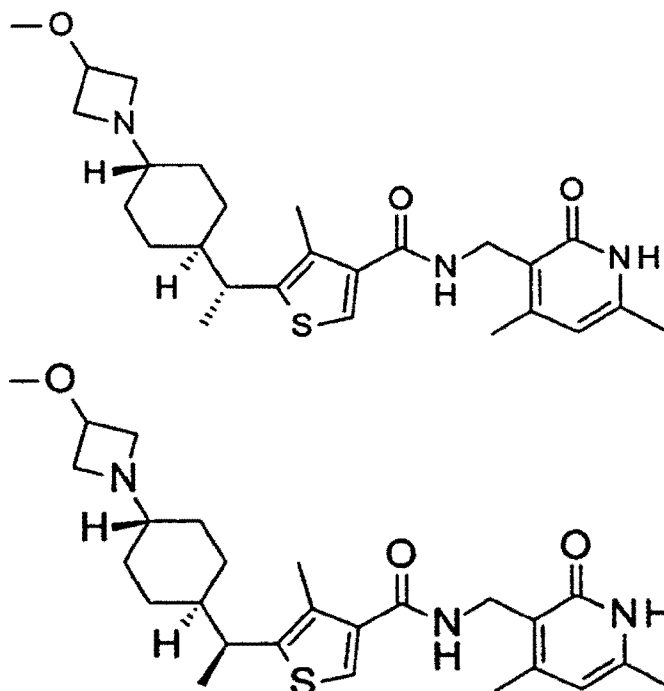
INHIBITORS OF EZH2

(57) 摘要

本發明係關於抑制組蛋白離胺酸 N-甲基轉移酶(Zeste 同源物增強子 2；EZH2)活性之化合物、包含該等化合物之醫藥組合物及使用該等化合物治療諸如血液及實體腫瘤之癌症的方法。

The present invention relates to compounds that inhibit activity of the histone lysine N-methyltransferase, Enhancer of Zeste Homolog 2 (EZH2), pharmaceutical compositions comprising the compounds, and methods of using the compounds to treat cancer, such as hematologic and solid tumors.

特徵化學式：



發明摘要

※ 申請案號：104139003

※ 申請日：104.11.24

※IPC 分類：C07D 409/14 (2006.01)

A61K 31/4436 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

【發明名稱】

EZH2抑制劑

INHIBITORS OF EZH2

【中文】

本發明係關於抑制組蛋白離胺酸N-甲基轉移酶(Zeste同源物增強子2；EZH2)活性之化合物、包含該等化合物之醫藥組合物及使用該等化合物治療諸如血液及實體腫瘤之癌症的方法。

【英文】

The present invention relates to compounds that inhibit activity of the histone lysine N-methyltransferase, Enhancer of Zeste Homolog 2 (EZH2), pharmaceutical compositions comprising the compounds, and methods of using the compounds to treat cancer, such as hematologic and solid tumors.

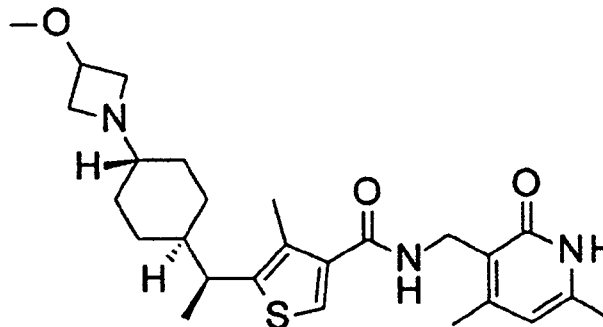
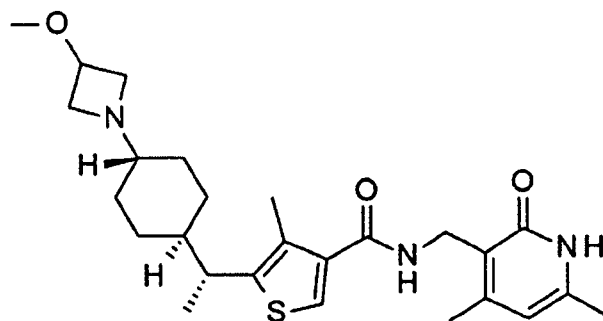
【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

EZH2抑制劑

INHIBITORS OF EZH2

本發明係關於抑制組蛋白離胺酸N-甲基轉移酶(Zeste同源物增強子2；EZH2)之活性之化合物、包含該等化合物之醫藥組合物及使用該等化合物治療諸如血液及實體腫瘤之癌症的方法。

EZH2係人類中藉由EZH2基因所編碼之酶，且係負責染色質中組蛋白3上之離胺酸27 (H3K27)之甲基化之多梳抑制複合物2 (PRC2)內之催化組份。業內認為EZH2過表現會促進癌症，此乃因組蛋白甲基化之增加壓制腫瘤抑制基因的表現。EZH2之催化活性係藉由130個胺基酸之Su(var)3-9、zeste增強子及trithorax (SET)域所調介，該域提供S-腺苷甲硫胺酸(SAM)輔因子及離胺酸受質殘基之結合袋。核心PRC2複合物包含EZH2及蛋白質EED (胚胎外層發育蛋白)、SUZ12 (zeste同源物12阻抑劑)及RbAp46/48 (亦稱為RBBP7/4)，且可亦包括其他蛋白質例如JARID2 AEBP2及多梳樣蛋白(PCL)1/2/3。

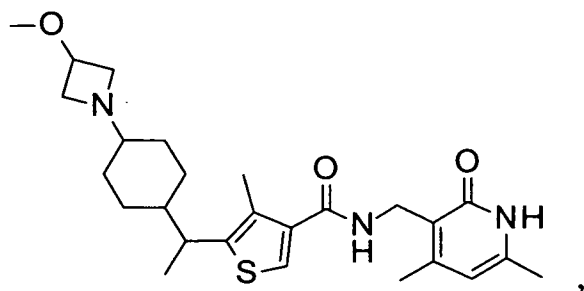
除EZH2之過表現之外，亦可因增加EZH2催化效率之突變(例如Y641N、A677G及A678V)而出現增加之H3K27甲基化。另外，染色質重構蛋白質SNF5 (亦稱作SMARCB1/INI1)缺乏或有缺陷之腫瘤可展示增加之藉由PRC2之甲基化及抑制。亦報導在實體腫瘤中可藉助各種信號傳導通路調節H3K27甲基化程度，例如涉及VEGFR2及PI3K/AKT之信號傳導通路。

EZH2抑制劑在文獻中已知。例如，參見WO2012/142504、

WO2012/142513 、 WO2013/120104 、 WO2013/17344 及 WO2014/177982 。

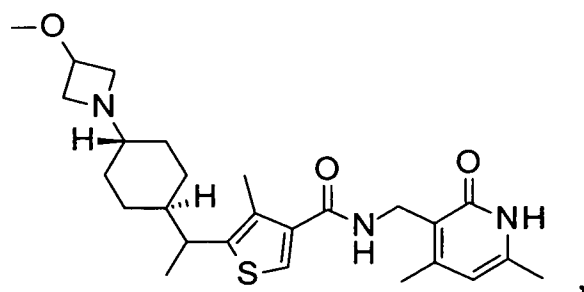
仍需要提供用於治療癌症之替代EZH2抑制劑。因此，本發明提供可用於治療癌症之某些EZH2抑制劑。

本發明提供化合物N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{[4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺：



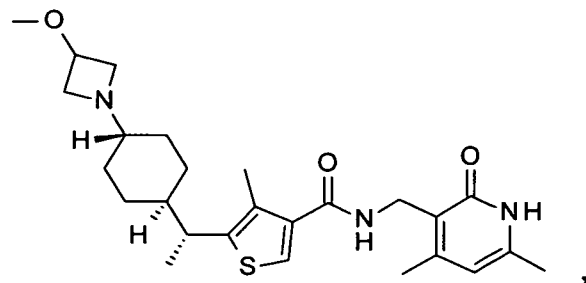
或其醫藥上可接受之鹽。

本發明亦提供化合物N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺：



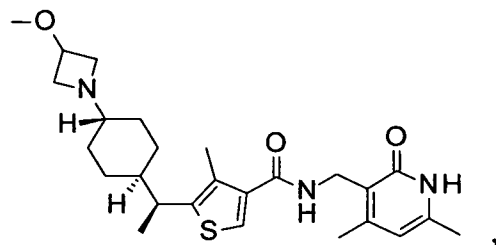
或其醫藥上可接受之鹽。

較佳地，本發明提供選自由以下組成之群之化合物：N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-[(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基]-4-甲基噻吩-3-甲醯胺：



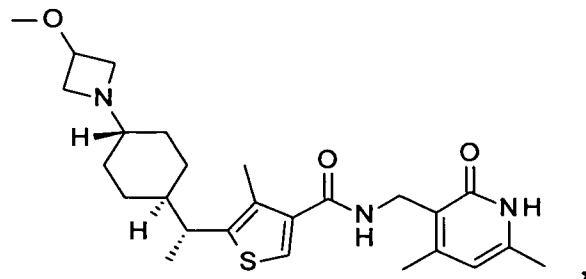
或其醫藥上可接受之鹽，及

N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{(1S)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺：



或其醫藥上可接受之鹽。

更佳地，本發明提供選自由以下組成之群之化合物：N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺：



或其醫藥上可接受之鹽。

作為具體實施例，本發明提供化合物N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺。

作為具體實施例，本發明亦提供化合物N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{(1S)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺。

本發明提供治療癌症之方法，該癌症較佳係淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤及依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤、SNF5缺乏或有缺陷之惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤(例如滑囊肉瘤)、膠質母細胞瘤、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、胃腸癌、結腸直腸癌、肺癌、腎癌、乳癌、卵巢癌及前列腺癌，該方法包含將有效量之本發明之化合物或鹽投與需要此治療之患者。較佳地，癌症係彌漫性大B細胞淋巴瘤。較佳地，癌症係依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤。較佳地，癌症係惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤。較佳地，癌症係SNF5缺乏或有缺陷之實體腫瘤。較佳地，癌症係多發性骨髓瘤。較佳地，癌症係胃癌。較佳地，癌症係卵巢癌。

本發明亦提供包含本發明化合物或鹽及一或多種醫藥上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑之醫藥組合物。

本發明亦提供用於治療中之本發明之化合物或鹽。此外，本發明提供用於治療癌症之本發明化合物或鹽，該癌症較佳係淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤、惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤、SNF5缺乏或有缺陷之實體腫瘤(例如滑囊肉瘤)、膠質母細胞瘤、多發性骨髓瘤、胃腸癌、結腸直腸癌、肺癌、腎癌、乳癌、卵巢癌及前列腺癌。較佳地，癌症係彌漫性大B細胞淋巴瘤。較佳地，癌症係依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤。較佳地，癌症係惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤。較佳地，癌症係SNF5缺乏或有缺陷之實體腫瘤。較佳地，癌症係多發性骨髓瘤。較佳地，癌症係胃癌。較佳地，癌症係卵巢癌。此外，本發明提供本發明之化合物或鹽在製造用於治療癌症之藥劑中之用途，該癌症較佳係淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤、惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤、SNF5缺乏或有缺陷之實體腫瘤(例如滑囊肉瘤)、膠質母細胞瘤、多發性骨髓

瘤、胃腸癌、結腸直腸癌、肺癌、腎癌、乳癌、卵巢癌及前列腺癌。較佳地，癌症係彌漫性大B細胞淋巴瘤。較佳地，癌症係依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤。較佳地，癌症係惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤。較佳地，癌症係SNF5缺乏或有缺陷之實體腫瘤。較佳地，癌症係多發性骨髓瘤。較佳地，癌症係胃癌。較佳地，癌症係卵巢癌。

本發明亦提供用於在癌症治療中與一或多種化學治療劑或輻射組合地同時、單獨或依序投與之本發明化合物或鹽。

熟習此項技術之讀者將瞭解本發明化合物能夠形成鹽。本發明化合物係鹼，且因此與多種無機及有機酸中之任一者反應以形成醫藥上可接受之鹽。此等醫藥上可接受之酸加成鹽及其一般製備方法在業內係眾所周知的。例如，參見P. Stahl等人，HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE, (VCHA/Wiley-VCH, 2008)；S.M. Berge等人，「Pharmaceutical Salts」，*Journal of Pharmaceutical Sciences*，第66卷，第1期，1977年1月。

本發明化合物或鹽可藉由業內已知之各種程序來製備，其中一些在下文製備及實例中予以說明。所闡述特定合成步驟可以不同方式組合以製備本發明之化合物或鹽。合成步驟之產物可藉由業內眾所周知的習用方法來回收，該等方法包括萃取、蒸發、沈澱、層析、過濾、研磨及結晶。熟習此項技術者可容易地獲得試劑及起始材料。

本發明之一些中間體或化合物可具有一或多個對掌性中心。本發明涵蓋該等化合物之所有個別鏡像異構物或非鏡像異構物以及鏡像異構物與非鏡像異構物之混合物，包括外消旋物。含有至少一個對掌性中心之本發明之化合物較佳作為單一鏡像異構物或非鏡像異構物存在。單一鏡像異構物或非鏡像異構物可以對掌性試劑開始或藉由立體S

選擇性或立體特異性合成技術來製備。或者，單一鏡像異構物或非鏡像異構物可藉由標準對掌性層析或結晶技術自混合物分離。熟習此項技術者將瞭解，在一些情形中由於層析管柱及流動相不同，鏡像異構物或非鏡像異構物之溶析順序可不同。

保護及去保護條件已為熟習此項技術者所熟知且闡述於文獻中(例如，參見「*Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*」，第4版，Peter G.M. Wuts及Theodora W. Greene, John Wiley and Sons公司，2007)。

【圖式簡單說明】

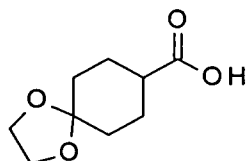
無

某些縮寫如下：「ACN」係指乙腈；「AdoMet」係指S-腺苷-L-甲硫胺酸；「AEBP」係指脂肪細胞增強子結合蛋白質；「bid」係指每天兩次給藥；「BSA」係指牛血清白蛋白；「CDI」係指1,1'-羰基二咪唑；「Ci」係指居裡(Curie)；「CPM」係指每百萬計數；「DMEA」係指二甲基乙基胺；「DMF」係指二甲基甲醯胺；「DMSO」係指二甲基亞砷；「DNase」係指去氧核糖核酸酶；「DTT」係指二硫蘇糖醇；「EDCI」係指1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳二亞胺鹽酸鹽；「ee」係指鏡像異構物過量；「EED」係指胚胎外層發育；「EtOAc」係指乙酸乙酯；「EtOH」係指乙醇或乙基醇；「Ex」係指實例；「GAPDH」係指甘油醛3-磷酸脫氫酶；「HEC」係指羥乙基纖維素；「HOAt」係指1-羥基-7-偶氮苯并三唑；「³H-SAM」係指腺苷-L-甲硫胺酸、S[甲基-³H]；「IC₅₀」係指可產生試劑的最大可能抑制反應之50%之該試劑之濃度；「min」係指分鐘；「IPA」係指異丙基醇或異丙醇；「LiHMDS」係指雙(三甲基矽烷基)胺基鋰；「MeOH」係指MeOH或甲基醇；「MTBE」係指甲基第三丁基醚；「mut」係指突變體；「PBS」係指磷酸鹽緩衝鹽水；

「PCR」係指聚合酶鏈式反應；「Pd(OAc)₂」係指乙酸鈹；
 「PRC2」係指多梳抑制複合物2；「Prep」係指製備；「RBBP4」係指視網膜母細胞瘤結合蛋白質4；「RNase」係指核糖核酸酶；
 「rpm」係指每分鐘轉數；「R_t」係指以分鐘計的保留時間；
 「SFC」係指超臨界流體層析；「SPA」係指鄰近閃爍分析；
 「THF」係指四氫呋喃；「Tris」係指叁(羥基甲基)胺基甲烷；
 「WT」係指野生型；且「XPhos Pd Gen2」係指氯(2-二環己基膦基-2',4',6'-三異丙基-1,1'-聯苯基)[2-(2'-胺基-1,1'-聯苯基)]鈹(II)。

製備1

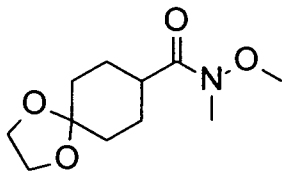
1,4-二氧雜螺[4.5]癸烷-8-甲酸



向4-側氧基環己烷甲酸乙酯(900 g, 5.29 mol)於EtOH (4 L)中之溶液中添加原甲酸三乙酯(2.35 kg, 2.65 L, 15.9 mol)及對甲苯磺酸(2.8 g, 16 mmol)及乙二醇(1.64 kg, 26.4 mol)並在50°C下將混合物攪拌1小時直至起始酮消失。冷卻至23°C並經20分鐘緩慢添加5 M NaOH水溶液(4.24 L, 21.18 mol)並攪拌2小時。蒸發大部分EtOH並添加水(5 L)及MTBE (4 L)，攪拌，使相分離，並丟棄有機相。冷卻水相至15°C並藉由緩慢添加5 M鹽酸水溶液直至pH約3.3 (約3.7 L)來酸化。添加CH₂Cl₂ (8 L)並在Na₂SO₄上乾燥有機相，並蒸發以獲得作為黏性油之標題化合物，其在靜置時緩慢固化為白色低熔點固體(887 g, 4.76 mol, 90%)，其在未進一步純化之情形下用於下一步驟中。(GC/MS) (m/z): 99 (M-87)。

製備2

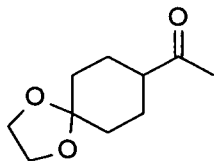
N-甲氧基-N-甲基-1,4-二氧雜螺[4.5]癸烷-8-甲醯胺



經20分鐘將CDI (915 g, 5.64 mol)以小份緩慢添加至1,4-二氧雜螺[4.5]癸烷-8-甲酸(988.6 g, 5.31 mol)於CH₂Cl₂ (10 L)中之溶液中，同時觀察CO₂氣體劇烈放出並攪拌1小時。經15分鐘以小份添加N-甲氧基甲胺鹽酸鹽(577 g, 5.92 mol)並攪拌12小時。添加額外N-甲氧基甲胺鹽酸鹽(53 g, 0.55 mol)並再攪拌12小時。添加水(10 L)，使相分離，並收集有機層。使用水(5 L)及飽和氯化鈉水溶液(5 L)洗滌有機相，在Na₂SO₄上乾燥，過濾並蒸發以獲得作為無色油之粗製標題化合物(1.24 kg, 102%)，其在未進一步純化之情形下使用。ES/MS (m/z): 230 (M+H)。

製備3

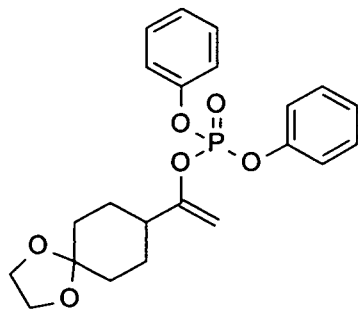
1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙酮



在N₂下將N-甲氧基-N-甲基-1,4-二氧雜螺[4.5]癸烷-8-甲醯胺(400 g, 1.74 mol)於THF (3.5 L)中之溶液冷卻至0°C並經30分鐘添加3 M CH₃MgBr之二乙基醚溶液(697.87 mL, 2.1 mol)。攪拌30分鐘同時加溫至23°C。藉由緩慢添加飽和NH₄Cl水溶液(1 L)來淬滅反應並用MTBE (500 mL × 3)萃取。使用飽和氯化鈉水溶液洗滌有機萃取物，在Na₂SO₄上乾燥，過濾並蒸發以獲得作為淡黃色油之粗製標題化合物(275 g, 86%)，其在未進一步純化之情形下使用。GC/MS (m/z): 86.1, 99.1。

製備4

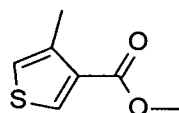
磷酸1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙烯基酯二苯基酯



將1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙酮(150 g, 0.81 mol)於THF (1 L)中之溶液冷卻至 -70°C 並經30分鐘逐滴添加於THF中之1 M LiHMDS (896 mL, 0.89 mol)。將混合物在 -60°C 下攪拌15分鐘且然後在 -70°C 下逐滴添加於THF (450 mL)中之氯磷酸二苯酯(240.6 g, 896 mmol)。將反應混合物攪拌14小時，同時加溫至 20°C 。使用 NaHCO_3 飽和水溶液(1 L)來淬滅反應並攪拌1小時。使用MTBE (8 L \times 3)萃取，在 Na_2SO_4 上乾燥有機相，過濾並蒸發。藉由矽膠層析使用己烷:EtOAc 50:1至2:1溶析來純化粗製材料以獲得作為黃色油之標題化合物(190 g, 56%)。ES/MS (m/z): 417 (M+H)。

製備5

4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯

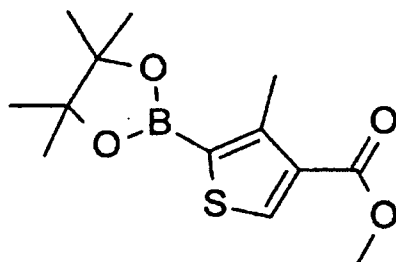


將3-溴-4-甲基-噻吩(1.00 kg, 5.65 mol)及三乙基胺(1.43 kg, 14.12 mol)溶解於N,N-二甲基乙醯胺(2.5 L)及MeOH (1.32 L)中並添加二苯基膦基二茂鐵(187.9 g, 0.34 mol)及 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (63.4 g, 0.28 mol)。在50 psi之CO氣氛下在 80°C 下將混合物攪拌16小時。將混合物冷卻至 23°C ，添加EtOAc (5 L)，並使用10%檸檬酸水溶液(1.6 L \times 2)、飽和 NaHCO_3 水溶液(1.6 L \times 2)、水(1.2 L \times 2)及飽和氯化鈉水溶液(1 L \times 2)來洗滌。在 MgSO_4 上乾燥有機相，過濾並蒸發至殘留物。藉由矽膠層析使用於己烷中之5% EtOAc溶析來純化殘留物，以獲得作為黃色

油之標題化合物(653 g, 74%)。ES/MS (m/z): 157 (M+H)。

製備6

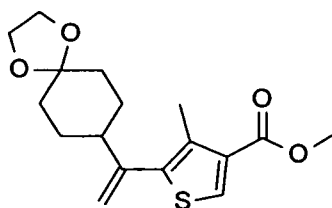
4-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼烷-2-基)噻吩-3-甲酸甲酯



於環己烷(2.5 L)中混合4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(250 g, 1.60 mol)、4-第三丁基-2-(4-第三丁基-2-吡啶基)吡啶(8.59 g, 32.01 mmol)及雙(1,5-環辛二烯)- μ -甲氧基二鈹(I)(5.37 g, 8.00 mmol)。將混合物在真空下脫氣並使用N₂ (3 x)沖洗。經1小時以小份添加4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼烷(409.67 g, 3.20 mol)並在70°C下將所得混合物攪拌3小時。將混合物冷卻至23°C並在真空下蒸發溶劑。藉由矽膠層析使用己烷:EtOAc (200:1至100:1)溶析來純化粗製材料以獲得作為固體之標題化合物(300 g, 66%)。ES/MS (m/z): 283 (M+H)。

製備7

5-[1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙烯基]-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯

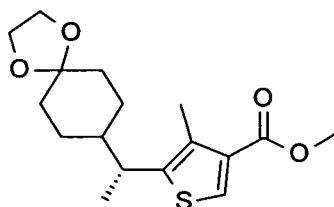


在23°C下，攪拌磷酸1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙烯基酯二苯基酯(240 g, 576.37 mmol)、4-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧雜硼烷-2-基)噻吩-3-甲酸甲酯(211.4 g, 749.28 mmol)及K₃PO₄ (367 g, 1.73 mol, 於水中2 M)於二噁烷(2.4 L)中之混合物。添加XPhos Pd Gen 2 (9.07 g, 11.53 mmol)並在80°C下攪拌3小時。在減壓下蒸發有機溶劑並使用EtOAc (750 mL x 2)萃取。使用水(150 mL)洗滌有機萃取物，

在Na₂SO₄上乾燥，過濾並蒸發至乾燥。藉由矽膠層析使用於己烷中之5% EtOAc溶析來純化粗製材料以獲得作為固體之標題化合物(375 g, 67%)。ES/MS (m/z): 323 (M+H)。

製備8

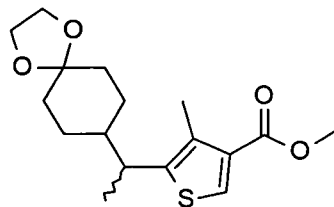
5-[(1R)-1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯



向5-[1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(60 g, 186 mmol)於CH₂Cl₂ (1.86 L)之溶液中添加((4R,5R)-(+)-O-[1-苄基-1-(5-甲基-2-苯基-4,5-二氫噁唑-4-基)-2-苯基乙基] (二環己基次膦酸酯)(1,5-環辛二烯)銻(I) 四(3,5-雙(三氟甲基)苯基硼酸鹽(1.61 g, 0.93 mmol)並藉助具有80巴氫氣氣氛之48 mL不銹鋼反應器以12 mL/分鐘在23°C下溶析溶液，直至所有溶液經處理。過濾溶液並蒸發至乾燥以獲得作為棕色油之粗製標題化合物(60 g, 定量產率)，不進行進一步純化。ES/MS (m/z): 325 M+H)。

製備9

外消旋5-[1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯

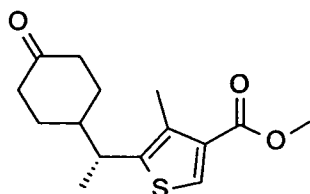


向不銹鋼高壓滅菌器容器裝載5-[1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(22.6 g, 70.1 mmol)、EtOH (226 mL)、EtOAc (68 mL)及三乙基胺(24.4 mL)。添加10% Pd/C濕膏(2.26 g)並裝備高壓滅菌器頭部。使用氫氣淨化，然後使用氫氣再充滿至1400

kPa。在環境溫度下攪拌過夜。藉助矽藻土過濾並濃縮濾液以獲得作為無色油之標題化合物(22.0 g, 96%)。ES/MS (m/z): 325 (M+H)。

製備 10

4-甲基-5-[(1R)-1-(4-側氧基環己基)乙基]噻吩-3-甲酸甲酯



將1 N HCl (450 mL, 5.53 mol)添加至5-[(1R)-1-(1,4-二氧雜螺[4.5]癸-8-基)乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(64.7 g, 178 mmol)於THF (450 mL)中之溶液中，並在23°C下攪拌16小時並在45°C下攪拌2小時。蒸發有機溶劑，添加MTBE (500 mL)並使相分離。使用水(200 mL)、飽和NaHCO₃水溶液(100 mL)及飽和氯化鈉水溶液(100 mL)洗滌有機相，在MgSO₄上乾燥，過濾，並蒸發至乾燥以獲得作為棕色油之粗製標題化合物(53.3 g, 96%)，其在未進一步純化之情形下使用。ES/MS (m/z): 281 (M+H)。

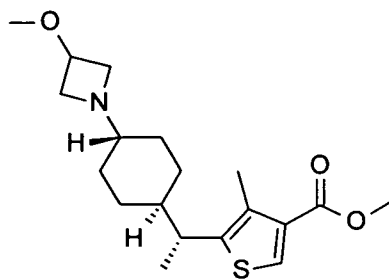
大體上藉由製備10之方法製備以下化合物，但有以下變化。在23°C下將反應混合物攪拌16小時。添加MTBE並使相分離。後處理係根據製備10完成並藉由矽膠層析使用己烷/MTBE 10%至30%溶析來純化材料。

表1

製備號	化學名	結構	ES/MS (m/z)
11	外消旋4-甲基-5-[1-(4-側氧基環己基)乙基]噻吩-3-甲酸甲酯		281 (M+1)

製備 12

5-[(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯



將3-甲氧基氮雜環丁烷鹽酸鹽(43.4 g, 351 mmol)及N,N-二異丙基乙基胺(48.2, 65 mL, 373 mmol)於MeOH (500 mL)中之溶液在23°C下攪拌45分鐘。將此添加至4-甲基-5-[(1R)-1-(4-側氧基環己基)乙基]噻吩-3-甲酸甲酯(50.0 g, 160 mmol)於THF (250 mL)中之溶液中並在23°C下攪拌40分鐘。在-70°C下冷卻混合物並經25分鐘以5份添加LiBH₄ (4.9 g, 220 mmol)。允許攪拌4小時同時加溫至-20°C。將混合物緩慢傾倒至1 M鹽酸水溶液(500 mL)中並攪拌10分鐘。蒸發大部分有機溶劑，添加CH₂Cl₂ (500 mL)及5 M K₂CO₃水溶液以調節pH至9。萃取有機相並再次使用CH₂Cl₂ (250 mL)洗滌水相。合併有機萃取物，使用飽和氯化鈉水溶液洗滌，在MgSO₄上乾燥，過濾並蒸發至乾燥。添加EtOAc (50 mL)並再次蒸發。使用矽膠層析使用於2%三乙基胺/己烷中之20% EtOAc溶析來純化粗製材料以獲得油。將油溶解於MTBE (200 mL)中，使用1 M鹽酸水溶液(200 mL)洗滌並添加2 M K₃PO₄水溶液至水相以調節pH至7.5。使用EtOAc (300 mL × 2)萃取溶液，在MgSO₄上乾燥，過濾並蒸發至乾燥以獲得作為淺黃色油之標題化合物(15.5 g, 57%)。ES/MS (m/z): 352 (M+H)。

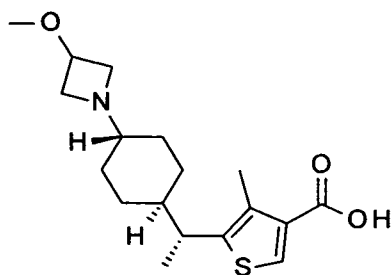
大體上藉由製備12之方法製備以下化合物，藉助以下進行大體上相同之後處理：使用CH₂Cl₂萃取，使用氯化鈉洗滌，在MgSO₄上乾燥，過濾並蒸發至乾燥以獲得製備13之粗製標題化合物。該材料在未進一步純化之情形下使用。

表2

製備號	化學名	結構	ES/MS (m/z)
13	外消旋5-((1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯		352 (M+H)

製備 14

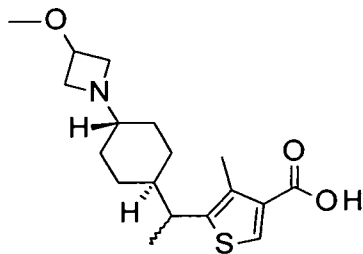
5-[(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸



將氫氧化鉀(15.1 g, 229 mmol)於2-丙醇(170 mL)中之溶液添加至5-[(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(33.5 g, 90.5 mmol)於2-丙醇(170 mL)中之溶液中，並在80°C下將混合物攪拌2小時。使用冷水冷卻反應且然後以小份經30分鐘添加於1,4-二噁烷(57 mL, 228 mmol)中之4 M鹽酸。15分鐘後，蒸發所有揮發成分，在THF中溶解殘留物並再次蒸發。在THF中溶解殘留物，添加庚烷，並蒸發揮發成分以獲得作為白色固體之標題化合物(30.5 g, 定量)。ES/MS (m/z): 338 (M+H)。

製備 15

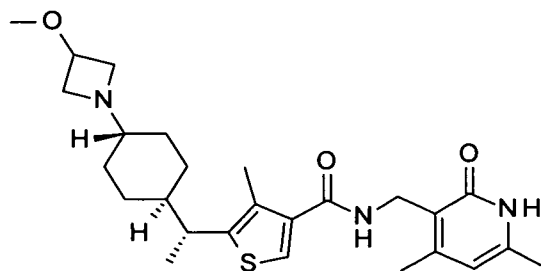
外消旋5-((1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基)-4-甲基噻吩-3-甲酸



將氫氧化鉀(6.98 g, 106 mmol)於2-丙醇(140 mL)中之溶液添加至外消旋5-[1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(17.58 g, 42.0 mmol)於2-丙醇(140 mL)中之溶液中並在80 °C下將混合物攪拌90分鐘。使用冷水冷卻反應且然後經5分鐘添加於1,4-二噁烷(26.3 mL, 99 mmol)中之4 M鹽酸。攪拌90分鐘，藉助矽藻土過濾固體，使用IPA (150 mL)及CH₂Cl₂ (150 mL)洗滌濾餅並濃縮渾濁濾液。添加ACN (300 mL)並蒸發至發泡體。使用MTBE研磨並蒸發以獲得作為白色固體之粗製標題化合物(18.4 g, 75%)，其在未進一步純化之情形下使用。ES/MS (m/z): 338 (M+H)。

實例1

N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-[(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基]-4-甲基噻吩-3-甲醯胺

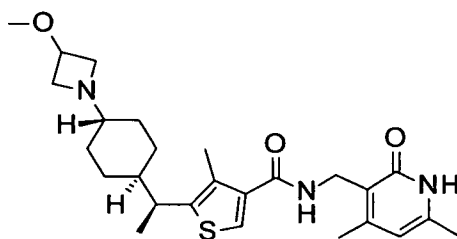


將3-(胺基甲基)-4,6-二甲基吡啶-2(1H)-酮鹽酸鹽(25.8 g, 137 mmol)及N, N-二異丙基乙基胺(65 mL, 373 mmol)添加至5-[(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基]-4-甲基噻吩-3-甲酸(30.5 g, 90.5 mmol)於CH₂Cl₂ (400 mL)中之懸浮液中並在23°C下將混合物攪拌30分鐘。添加1-(3-二甲基胺基丙基)3-乙基碳二亞胺鹽酸鹽(26.4 g, 138 mmol)及1-羥基苯并三唑(3.65 g, 27.0 mmol)並在23°C下攪拌16小

時。添加水(200 mL)並攪拌直至所有固體溶解。使層分離並使用水(200 mL)、飽和氯化鈉水溶液(100 mL)洗滌有機相，在 Na_2SO_4 上乾燥，過濾(使用溶劑徹底洗滌)並蒸發至乾燥。藉由矽膠層析使用70/30 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{ACN}$ 溶析來純化粗製殘留物，向其添加6體積%之於MeOH中之2 M NH_3 ，隨後添加6%於MeOH中之7 N NH_3 。合併適宜部分並蒸發至乾燥以獲得灰白色柔軟固體。將丙酮(400 mL)添加至該固體並攪拌1.5小時，過濾並在 40°C 下在真空下乾燥以獲得標題化合物(31.6 g, 72%)。ES/MS (m/z): 472 (M+H), $[\alpha]_D^{20} -9.95$ (c=1.0, MeOH)，對掌性分析：CHIRALPAK® AD (4.6 × 150 mm, 5 μM)；EtOH (0.2% DMEA)；0.75 mL/min；uv= 254 nM； $R_t = 6.97$ min；>96% ee。

實例2

N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{(1S)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺



將3-(胺基甲基)-4,6-二甲基吡啶-2(1H)-酮鹽酸鹽(40.3 g, 169 mmol)添加至外消旋5-{1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲酸(55.0 g, 130 mmol)、EDCI (55.0 g, 287 mmol)及HOAt (19.9 g, 143 mmol)於DMF (275 mL)中之混合物中並在 23°C 下攪拌6小時。添加水(800 mL)並將混合物攪拌30分鐘。過濾，收集固體並丟棄濾液。於EtOAc (500 mL)與水(800 mL)之間分配固體並添加1 M鹽酸水溶液直至pH = 3。使相分離並丟棄有機相。使用1 M氫氧化鈉水溶液調節水相pH直至pH = 8至9，過濾固體並丟棄濾液。將固體溶解於 CH_2Cl_2 中，使用 MgSO_4 乾燥，過濾並蒸發至乾燥。藉由矽膠層

析使用CH₂Cl₂/ACN 70/30與MeOH中之5% 2 M氨之混合物溶析來純化粗製材料以獲得外消旋材料(33 g, 54%)。ES/MS (m/z): 472 (M+H)。收集混合物部分並在50°C下在丙酮(250 mL)中加熱過夜。冷卻至室溫，過濾固體並在真空下在45°C下乾燥以獲得固體，其係藉由矽膠層析使用CH₂Cl₂/ACN 70/30與MeOH中之5% 2 M氨之混合物溶析來純化。使經分離材料在熱丙酮中結晶以獲得外消旋材料(4.5 g)，併合併經分離大量外消旋材料(37.5 g, 60.8%)。ES/MS (m/z): 472 (M+H)。藉由SFC對掌性層析使用以下條件分離外消旋材料：管柱：CHIRALPAK® AD 5 μm, 5×25 cm，流動相：CO₂與35% EtOH (2% DMEA)，流速250 g/分鐘，UV 254 nm及以下分析條件：SFC Chiralpak Ad (4.6 ×5 μm)，流動相：於CO₂中之35% EtOH (0.2% DMEA)，2.5 mL/min，在40°C及100巴出口壓力下，以獲得實例1 (12.7 g, 21%, R_t=2.35分鐘，94% ee)及實例2 (8.7 g, 14%, R_t=2.86分鐘，88% ee)。ES/MS (m/z) : 472 (M+H)

生物分析

以下分析之結果展示，本文實例1及2之化合物係有用的EZH2抑制劑且可用於治療癌症。如本文所用，「IC₅₀」係指可產生試劑之最大可能抑制反應之50%之該試劑之濃度(相對IC₅₀)，或產生與安慰劑對照相比對靶標酶活性之50%抑制之該試劑之濃度(絕對IC₅₀)。

EZH2 WT/Y641N突變體384孔生物化學分析

此分析之目的係量測在PRC2複合物情況中化合物對EZH2 WT/Y641N之催化活性之效應。

使用Sf9細胞中之桿狀病毒表現系統使FLAG標記之EZH2或EZH2 Y641N表現為由EZH2、EED、SUZ12、RBBP4及AEBP蛋白質組成之PRC2 5員(5聚體)複合物，並使用FLAG®親和純化(Sigma-Aldrich)來純化。使用分析緩衝液(50 mM Tris-HCl pH 8.5, 10 mM DTT, 0.005% S

TRITON®-X 100)將酶複合物稀釋為3.33 nM之工作儲液(6.67 nM用於突變體分析)。在WT分析中，將非生物素離胺酸27三甲基化組蛋白H3 (21-44)共活化劑肽(CPC Scientific目錄號869799)稀釋至上述酶工作溶液中達13.33 nM之終濃度。將用於WT分析之生物素組蛋白H3 (21-44)肽受質(殘基21-44，CPC Scientific目錄號811115)或用於突變體分析之生物素離胺酸27二甲基化組蛋白H3 (21-44)肽受質(CPC Scientific，目錄號830754)與³H-SAM (腺苷-L-甲硫胺酸，S-(甲基)-³H (Adomet)，批號169500/12，15 Ci/mmol或0.55 mCi/mL，36.7 μM，Perkin Elmer NET155)於分析緩衝液中共稀釋至4 μM (WT分析)或2 μM (突變體分析)之終濃度。

將於100% DMSO中之測試化合物(50 μL用於WT分析之4 mM儲液或50 μL用於突變體分析之0.2 mM儲液)添加至384孔Nunc板(Thermo Scientific，目錄號264573)。將20 μL 100% DMSO置於稀釋孔中。藉由自一孔轉移10 μL至下一孔實施3×連續稀釋。在WT分析中，將2 μL連續稀釋化合物與38 μL之DMSO混合於Labcyte 384孔板(目錄號P-05525)中，而在突變體分析中，將全部20 μL連續稀釋化合物轉移至384孔Labcyte低容量板(目錄號LP-0200)中。轉移200 nL (WT分析)或以聲學方式轉移100 nL (突變體分析)化合物至接收384孔分析板(Corning 3706)中。在WT分析中，將15 μL酶/三甲基H3共活化劑肽混合物分配至分析板中，隨後分配5 μL生物素H3肽受質/³H-SAM混合物。將板密封並在室溫下搖動2小時。最後分析條件係2.5 nM酶複合物、10 nM三甲基組蛋白/共活化劑H3肽、1 μM生物素受質肽、1 μM³H-SAM及1 μM最高濃度之測試化合物(WT分析)；或5 nM酶複合物、0.5 μM生物素受質肽、0.5 μM³H-SAM及1 μM最高濃度之測試化合物(突變體分析)。以1 mg/mL (WT分析)或0.5 mg/mL (突變體分析)於3 M胍-HCL中重構矽酸銨鏈黴抗生物素蛋白SPA珠粒(Perkin Elmer，目錄

號RPNQ0012)。以20 μ L/孔將珠粒混合物添加至分析板中，搖動10分鐘，並使其在室溫下沉降1小時，然後於Microbeta上計數。使用Genedata化驗分析儀根據抑制% = $100 - [(測試化合物CPM - 中位最小CPM) / (中位最大CPM - 中位最小CPM) \times 100]$ 來計算原始數據(CPM)並正規化至抑制%。使用Genedata Condoseo根據抑制% (y軸)對log化合物濃度(x軸)繪製正規化數據之圖並描繪曲線，並使用4參數非線性邏輯擬合算法測定IC₅₀值。在此分析中大體上如上文所闡述來測試在本發明範圍內之化合物。實例1及2之化合物之生物化學IC₅₀結果展示在PRC2複合物情況中對重組WT/突變體EZH2之甲基轉移酶活性之抑制。例如，實例1之化合物顯示對抗WT 5聚體EZH2之 0.93 ± 0.5 nM (n=3)之IC₅₀及對抗突變體5聚體EZH2之1.43 nM (n=1)之IC₅₀。實例2之化合物顯示對抗WT 5聚體EZH2之6.45 nM (n=1)之IC₅₀及對抗突變體5聚體EZH2之14.8 nM (n=1)之IC₅₀。

基於H3K27me3細胞之ELISA

此分析之目的係藉由量測細胞三甲基化H3K27之含量來評估化合物抑制細胞中EZH2之功能活性之能力。將MDA MB-231 (EZH2 WT)或Karpas-422 (EZH2 Y641N)細胞以3500個細胞/100 μ L/孔(對於MDA MB-231)或5000個細胞/100 μ L/孔(對於Karpas-422)平鋪於黑色96孔BD BioCoat Cellware聚離胺酸板(BD Biosciences, 目錄號354640)中。利用添加40 μ L/孔之10 mM化合物(表示20 μ M之起始終濃度)或40 μ L DMSO於Nunc™ 96孔聚丙稀微孔板(Thermo Scientific目錄號249944)中製備化合物板，然後藉助自一孔轉移20 μ L至另一孔來製備連續稀釋液。將5 μ L測試化合物添加至單獨Nunc™ 96孔聚丙稀微孔板中之245 μ L/孔之生長培養基中，並將11 μ L化合物/培養基混合物壓印至細胞板上。將細胞板置於37°C 培育器中48小時。將板自培育器移出，將板在室溫下放置15分鐘至20分鐘，並將板在1000 rpm下旋轉5分鐘。5

在室溫下使用30 μL 16%多聚甲醛將細胞固定15分鐘。去除多聚甲醛並使用100 μL /孔之減去鈣或鎂(-/-)之含有0.1% TRITON® X-100之PBS在室溫下對細胞進行20分鐘之滲透化處理。使用PBS (-/-) (2 \times)洗滌板，隨後將50 μL /孔之一級抗體溶液(Diagenode抗H3K27me3 MAb-181-050；於加有鈣及鎂(+/+)-之含有1% BSA之PBS中之1:5000 (對於MDA MB-231)或1:3000 (對於Karpas-422)稀釋液)在室溫下培育2小時。使用PBS-/-洗滌板(3 \times)，隨後使用50 μL /孔二級抗體溶液(Invitrogen山羊抗小鼠IgG Alexa 488，目錄號A11001；於PBS+/+中之1:1000稀釋液)在室溫下在黑暗中培育1小時。使用PBS-/-洗滌板(3 \times)，隨後添加50 μL /孔之5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 碘化丙啶(Invitrogen；目錄號p3566)於含有200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ RNase (Invitrogen；目錄號12091021)之PBS中之染液。使用黑色封板膜覆蓋板並使用Ex 488nm/Em 505nm-530nm (H3K27m3信號)及LP655nm (細胞核信號)於Acumen雷射掃描細胞計數器(TTP Lab Tech)上掃描。在此分析中大體上如上文所述來測試在本發明範圍內之化合物。實例1之化合物於MDA MB-231及Karpas-422中分別顯示 1.88 ± 0.66 nM (n=3)或 3.79 ± 1.02 nM (n=4)之細胞H3K27me3 IC₅₀。實例2之化合物於MDA MB-231及Karpas-422中分別顯示 9.02 ± 2.69 nM (n=2)或 144 ± 232 nM (n=2)之細胞H3K27me3 IC₅₀。

Karpas-422增殖分析

此分析之目的係展示測試化合物活體外抑制腫瘤細胞生長之能力。

將Karpas-422細胞以5000個細胞/100 μL /孔之密度平鋪於黑色96孔BD BioCoat Cellware聚離胺酸板(BD Biosciences，目錄號354640)之96個孔中。將40 μL 之10 mM測試化合物(表示20 μM 之初始終濃度)或100% DMSO添加至Nunc 96孔聚丙烯微孔板(Thermo Scientific目錄號249944)中。藉助自一孔轉移20 μL 至另一孔來實施連續稀釋。將5 μL

化合物添加至單獨Nunc 96孔聚丙烯微孔板中之245 μL /孔之生長培養基中，並將11 μL 化合物/培養基混合物壓印至細胞板上。在37°C下將細胞板培育7天。將100 μL /孔之Cell Titer GLO®試劑(Promega，目錄號G7671)添加至細胞板中。搖動2分鐘並使用讀板器量測發光。在此分析中大體上如上文所述來測試在本發明範圍內之化合物。實例1之化合物顯示 49.7 ± 33.9 nM (n=4)之 IC_{50} 。實例2之化合物顯示526 nM (n=1)之 IC_{50} 。

異種移植研究

此分析之目的係評估測試化合物活體內抑制腫瘤EZH2功能及EZH2調介之腫瘤生長之能力。

大體上如McCabe等人，(2012) Nature 492:108-12中所闡述使用Karpas-422異種移植模型來實施使用實例1之化合物之活體內靶標抑制及效能研究，其具有以下改變/規範：1)使用羥基乙基纖維素(1% HEC/0.25% TWEEN® 80/0.05%消泡劑)替代20% CAPTISOL®作為調配物媒劑；2)藉由經口胃管灌食而非藉由腹腔內注射來投與化合物；3)當腫瘤體積達到200 mm^3 至250 mm^3 範圍(對於效能實驗)及300 mm^3 至350 mm^3 範圍(對於靶標抑制實驗)時，開始化合物治療及；4)在第7天而非第10天量測對腫瘤甲基化或腫瘤TNFRSF21表現之抑制。

腫瘤源性三甲基化H3K27之基於ELISA之量測

為了自腫瘤酸萃取組蛋白，將約0.5 cm \times 0.25 cm或重20 mg至30 mg之腫瘤切片置於具有勻漿化珠粒(MP Biomedicals，目錄號6913-500)之Lysing Matrix D 500 \times 2 mL添加無RNASE/DNASE管中。添加650 μL 酸裂解緩衝液(0.4 N HCl，含有蛋白酶抑制劑混合錠劑(Roche；目錄號11836153001))。於FastPrep FP120勻漿機中將腫瘤試樣在6 m/秒速度下持續20秒勻漿化2次至3次。將試樣置於冰上1小時以分離。將上清液轉移至微量離心管中並置於管旋轉器上以在4°C下5

裂解過夜。將試樣在8000 rpm下在4°C下旋轉10分鐘。將上清液轉移至新管中並量測蛋白質濃度。

將150 µL/孔之MSD封閉溶液A (Meso Scale Discovery (MSD) ; 3%之終濃度)添加至MULTI-SPOT®三甲基組蛋白H3(K27) Singleplex板(MSD ; 目錄號N45CA-1)中。在室溫下搖動1小時。使用1× MSD Tris洗滌緩衝液™ (MSD)洗滌板(3×)。以一式三份將0.25 µg腫瘤裂解產物分配於25 µL酸裂解緩衝液/孔中。在4°C下搖動過夜。使用1× MSD Tris洗滌緩衝液™洗滌板(3×)。添加25 µL/孔之在抗體稀釋緩衝液中稀釋至1.5 µg/µL終濃度之偵測抗體SULFO-TAG™ -三甲基-組蛋白H3 (K27) (終濃度為1% MSD封閉劑A ; 0.1% MSD封閉劑D-B及0.1% MSD®封閉劑D-G)。在室溫下搖動1小時至2小時。使用1× MSD Tris洗滌緩衝液洗滌板(3×)。利用添加100 µL/孔之於PBS中之4%甲醛來固定板。在室溫下搖動30分鐘。使用1× MSD Tris洗滌緩衝液洗滌板(3×)。添加150 µL/孔之1× MSD®讀取緩衝液並使用MSD SECTOR® Imager 6000儀器來量測電化學發光。在此分析中大體上如上文所述來測試在本發明範圍內之化合物。例如，在小鼠中BID投與50 mpk之實例1化合物產生53%之腫瘤甲基化抑制(n=8隻小鼠 ; p<0.0001)。

腫瘤源性TNFRSF21 mRNA表現之基於qPCR之量測

為自腫瘤組織分離RNA，將約0.5 cm × 0.25 cm或重20 mg至30 mg之腫瘤切片置於具有勻漿化珠粒(MP Biomedicals , REF: 6913-500)之Lysing Matrix D 500 × 2 mL添加無RNASE/DNASE之管中。自RNeasy®套組(Qiagen ; 目錄號74104)添加650 µLRLT緩衝液。於FastPrep FP120勻漿機中將試樣在速度6下持續20秒勻漿化2次至3次。將試樣置於冰上冷卻10分鐘。在4°C下在13 000 rpm下離心10分鐘。將上清液置入QIA管中並使用RNeasy®套組(Qiagen ; 目錄號74104)分離RNA。

使用高容量 cDNA 反轉錄套組 (Applied Biosystems ; 目錄號 4368813) 自 3 µg 腫瘤 RNA 製備 cDNA 並將試樣於 PCR 溫度循環儀中使用以下循環條件來培育：25°C 下 10 分鐘；37°C 下 2 小時，保持在 4°C。在 Applied Biosystems ViiA 7™ 實時 PCR 循環儀中使用 Thermo Scientific Absolute Blue QPCR ROX 混合機 (Applied Biosystems ; 目錄號 AB-4139) 及用於 TNFRSF21 之 Taqman 探針 (Applied Biosystems ; 目錄號 Hs01560899_m1) 及管家基因 GAPDH (Applied Biosystems ; 目錄號 Hs02758991-g1) 來擴增 cDNA 產物。計算 TNFRSF21 循環臨限值並正規化至其各別試樣之 GAPDH 含量。在此分析中大體上如上文所述來測試在本發明範圍內之化合物。例如，BID 投與 50 mpk 之實例 1 化合物使腫瘤 TNFRSF21 基因表現增加 25 倍 (n=8 隻小鼠；p<0.0001)。

本發明化合物較佳調配為藉由各種途徑投與之醫藥組合物。最佳地，此等組合物係用於經口投與。此等醫藥組合物及其製備方法已係業內眾所周知的。例如，參見 REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (D. Troy 等人編輯，第 21 版，Lippincott Williams & Wilkins，2005)。

本發明化合物通常在寬劑量範圍內有效。例如，每天之劑量通常落在約 1 mg/天至 1000 mg/天、較佳約 1 mg/天至 500 mg/天之每天範圍內，以一或多次劑量投與。然而，將理解，化合物之實際投與量將由內科醫師根據包括以下之相關情況來確定：所治療之病狀、所選投與途徑、所投與之實際化合物、個別患者之年齡、體重及反應以及患者症狀之嚴重程度。

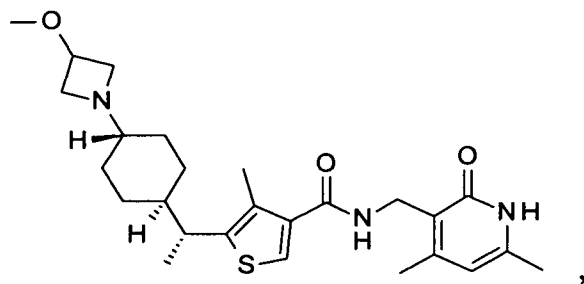
【符號說明】

無

申請專利範圍

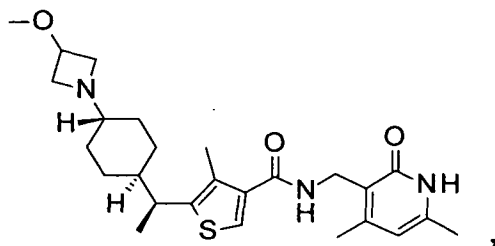
1. 一種化合物，其選自由以下組成之群：

N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺：



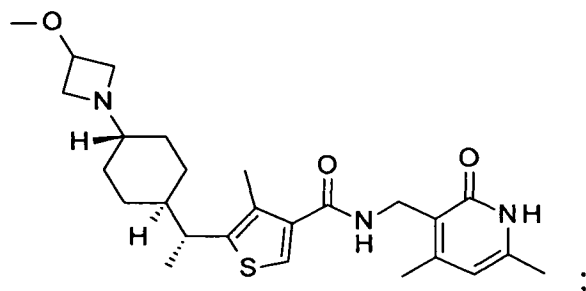
或其醫藥上可接受之鹽，及

N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{(1S)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺：



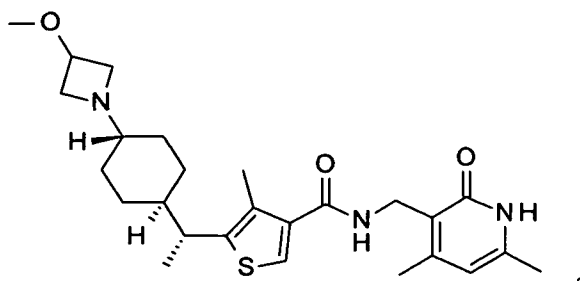
或其醫藥上可接受之鹽。

2. 如請求項1之化合物，其係N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-{(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基}-4-甲基噻吩-3-甲醯胺：



或其醫藥上可接受之鹽。

3. 如請求項2之化合物，其係N-[(4,6-二甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-3-基)甲基]-5-[(1R)-1-[反-4-(3-甲氧基氮雜環丁-1-基)環己基]乙基]-4-甲基噻吩-3-甲醯胺：



4. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至3中任一項之化合物或鹽，及一或多種醫藥上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑。
5. 一種治療癌症之方法，其包含將有效量之如請求項1至3中任一項之化合物或鹽投與有其需要之患者。
6. 如請求項5之方法，其中該癌症選自由以下組成之群：淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤及依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤、惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤或SNF5缺乏或有缺陷之其他腫瘤、滑囊肉瘤、膠質母細胞瘤、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、胃腸癌、結腸直腸癌、肺癌、腎癌、乳癌、卵巢癌及前列腺癌。
7. 如請求項6之方法，其中該癌症係彌漫性大B細胞淋巴瘤。
8. 如請求項6之方法，其中該癌症係依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤。
9. 如請求項6之方法，其中該癌症係惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤。
10. 如請求項6之方法，其中該癌症係SNF5缺乏或有缺陷之實體腫瘤。

11. 如請求項6之方法，其中該癌症係多發性骨髓瘤。
12. 如請求項1至3中任一項之化合物或鹽，其用於治療。
13. 如請求項1至3中任一項之化合物或鹽，其用於治療癌症。
14. 如請求項13使用之化合物或鹽，其中該癌症選自由以下組成之群：淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤、惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤、SNF5缺乏或有缺陷之實體腫瘤及多發性骨髓瘤。
15. 如請求項14使用之化合物或鹽，其中該癌症係彌漫性大B細胞淋巴瘤。
16. 如請求項14使用之化合物或鹽，其中該癌症係依賴於激活突變體或野生型EZH2之濾泡型淋巴瘤。
17. 如請求項14使用之化合物或鹽，其中該癌症係惡性及非典型畸胎橫紋肌樣瘤。
18. 如請求項14使用之化合物或鹽，其中該癌症係SNF5缺乏或有缺陷之實體腫瘤。
19. 如請求項14使用之化合物或鹽，其中該癌症係多發性骨髓瘤。