

發明專利說明書 200424187

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：93108684

※ 申請日期：93.3.30

※IPC 分類：C07D333/261
A61K31/381

壹、發明名稱：(中文/英文)

新穎肱衍生物及其作為醫藥活性劑之用途

NEW OXIME DERIVATIVES AND THEIR USE AS
PHARMACEUTICALLY ACTIVE AGENTS

貳、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

瑞士商赫孚孟拉羅股份公司

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

代表人：(中文/英文)

1. 菲杜林 克勞士納

KLAUSNER, FRIDOLIN

2. 丹尼斯 史崔柏

STREBEL, DENISE

住居所或營業所地址：(中文/英文)

瑞士貝士勞市格蘭山查街124號

124 GRENZACHERSTRASSE CH-4070 BASEL SWITZERLAND

國籍：(中文/英文)

瑞士 SWITZERLAND

參、發明人：(共 6 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 喬治 佛提
FERTIG, GEORG
2. 法蘭克 赫廷
HERTING, FRANK
3. 曼福瑞 庫畢斯
KUBBIES, MANFRED
4. 安佳 林伯格
LIMBERG, ANJA
5. 爾里克 里福
REIFF, ULRIKE
6. 麥克 維德尼爾
WEIDNER, MICHAEL

住居所地址：(中文/英文)

1. 德國潘茲堡市渥夫包爾路6號
WOLFBAUERWEG 6, D-82377 PENZBERG, GERMANY
2. 德國潘茲堡市夫洛恩斯克街38號
FRAUENSCHUHSTRASSE 38, D-82377 PENZBERG, GERMANY
3. 德國潘茲堡市葛拉斯溫德街7C號
GLASWANDSTRASSE 7C, D-82377 PENZBERG, GERMANY
4. 德國慕尼黑市伍爾希街58號
WUERMASEESTRASSE 58, D-81476 MUENCHEN, GERMANY
5. 德國潘茲堡市韋登路6號
WEIDENWEG 6, D-82377 PENZBERG, GERMANY
6. 德國潘茲堡市路易-梅爾茲街39A號
LUDWIG-MAERZ STRASSE 39A, D-82377 PENZBERG, GERMANY

國 籍：(中文/英文)

- 1-6. 均德國 GERMANY

肆、聲明事項：

本案係符合專利法第二十條第一項 第一款但書或 第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

本案申請前已向下列國家（地區）申請專利：

1. 歐洲專利機構；2003年04月04日；03007829.9

2.

3.

4.

5.

主張國際優先權(專利法第二十四條)：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 歐洲專利機構；2003年04月04日；03007829.9

2.

3.

4.

5.

主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

主張專利法第二十六條微生物：

國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明之標的為新穎衍生物及其醫藥上可接受之鹽類。本發明亦有關製造此等通式I化合物之方法、含有該等化合物之醫藥組合物、及其用於製造供治療疾病諸如癌症使用之藥物的用途。

【先前技術】

癌症為主要死因之一，超過心臟及腦血管疾病，故花費許多經費及時間進行許多研究以期克服癌症。然而，儘管有各種治療方法，諸如外科手術、放射線療法及化學療法，但仍極需要改良之抗癌療法。在此等療法中，化學療法為癌症治療之主要領域中之一。大部分藥物主要是經由影響DNA來表現其細胞毒性，藉以傷害腫瘤細胞，而顯示出其藥效。然而，其因缺乏選擇性而無法充分辨識腫瘤細胞及正常細胞，在正常細胞中所表現出來之副作用限制了其醫療用途。截至目前為止，皆未發現令人滿意之藥物，因此極期待具有較低毒性、較佳耐受性及高療效之抗癌藥物。

本發明化合物係為組織蛋白脫乙酰酶(HDAC)之抑制劑，因此顯示抗增殖及分化-誘發活性，導致腫瘤細胞增殖之抑制、細胞凋亡之誘發及疾病侵襲之抑制。

轉錄調節係為細胞分化、增殖、及凋亡之主要事件(event)。一組基因之轉錄活化決定了細胞目的地，是故，轉錄係由各種因子來嚴格調節。過程中所涉及之調節機制中之一為DNA三級結構之改變，此因子藉由調整轉錄因子

到達其標的DNA鏈段之能力而影響轉錄。核小體整體性(nucleosomal integrity)係藉由核心組織蛋白之乙醯化狀況來調整。在乙醯化過低情況下，核小體緊縮，因而無法容許轉錄。另一方面，核小體藉由核心組織蛋白之乙醯化而鬆弛，如此可容許轉錄。該組織蛋白之乙醯化狀態係由組織蛋白乙醯基轉移酶(HAT)及組織蛋白脫乙醯酶(HDAC)之活性平衡來調控。近來，發現HDAC抑制劑於數種癌細胞中遏止生長並誘發凋亡，包括結腸癌細胞、T-細胞淋巴瘤細胞、及紅白血病細胞。假設凋亡為癌症發展之決定性因素，則HDAC抑制劑為極有可能在癌症療法中作為有效之凋亡誘發劑的試劑(Koyama, Y.等，Blood 96 (2000) 1490-1495)。

EP-A 0 847 992描述作為細胞分化誘發劑的單醯化鄰-伸苯二胺衍生物。相同類型之化合物亦為EP-A 0 242 851之標的。此等申請案所描述之化合物幾乎僅有以苄酸衍生加以單醯化之鄰-伸苯基衍生物。WO 03/013484揭示作為抗增殖且誘發分化之藥劑的N-單醯化碳環但非芳族或雜芳族鄰-伸苯二胺。然而，仍需提供具有改良之治療性質的化合物，諸如改良之活性、耐受性、選擇性、安定性、較低毒性及/或較低副作用，這僅是少數幾項。

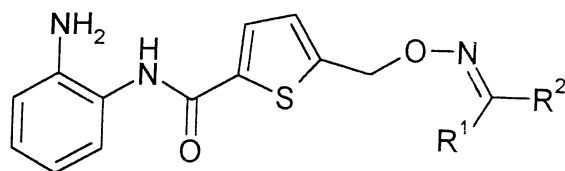
單醯化鄰-伸苯二胺係為技術界已知用以製備對應之苯并咪唑的前驅物，該製備方法係例如描述於DE-A 2 062 265；FR 2 167 954；Rastogi, R.及Sharma, S., Indian J. Chem., Sect. B, 21B (5) (1982) 485-487；Moll, R.等，Z. Chem. 17 (1977) 133-134；及Hassan, H.等，Indian J. Chem.

39B (2000) 764-768 中。

【發明內容】

已發現通式I化合物係為具有抗增殖及分化誘發活性之HDAC抑制劑，其抑制腫瘤細胞增殖、誘發凋亡且抑制疾病侵襲。此等化合物因此可用於治療人類或動物疾病，諸如癌症。

本發明因此有關新穎之通式I化合物及其醫藥上可接受之鹽類



(通式 I)

其中

R^1 係為氫或

C_1 - C_4 -烷基；

R^2 係為芳基、雜芳基或雜環基；所有基團皆可視情況經一或多個下列基團所取代

烷基；

鹵素；

-O-烷基；

-NH(烷基)；

-N(烷基)₂；或

R^1 與 R^2 與其所鍵結之碳原子一起形成環烴。

本發明之標的係為通式I化合物、其醫藥上可接受之鹽及

其鏡像異構形式、非鏡像異構物及消旋物；前述化合物之製備、含有該化合物之醫藥及其製造、及前述化合物作為組織蛋白脫乙酰酶(HDAC)之抑制劑且因而用以防治或預防前述病症及疾病或用於製造對應之醫藥的用途。

不論所示辭句係單獨或組合出現，皆可應用以下對本發明所使用之一般用辭的定義。

"鹵素"一辭係表示氟、氯、溴或碘。

"C₁-C₄-烷基"一辭係表示含有1至4個碳原子之飽和直鏈或分支鏈烷基，例如甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、異丁基、2-丁基、第三丁基。

"烷基"一辭係表示含有1至12個碳原子之飽和直鏈-或分支鏈烴，例如甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、異丁基、2-丁基、第三丁基、戊基、己基及其類者。該烷基可視情況被鹵素所單或多取代，較佳係四個，諸如例如三氟甲基或五氟乙基及其類者。

"芳基"一辭係表示芳族6至10員單-或雙環烴，例如苯基或萘基環，及其類者。

"雜芳基"一辭係表示5或6員單環芳族烴，其中一或兩碳原子被氧、氮或硫所置換。實例有咪唑基、吡唑基、噻唑基、呋唑基、吡啶基、嘧啶基、及其類者。

"雜環基"一辭係表示6至10員、單-或雙環非芳族或部分芳族烴，其中一或兩碳原子被氧或氮所置換。實例有嗎福啉基、哌啶基、2,3-二氮-苯并咪唑基、苯并[1,3]間二氧雜戊烯基、2,3-二氮苯并[1,4]二氧己環基或2,3-二氮-1H-吡啶

基、及其類者。

本發明所使用之"環煙"一辭係表示9或10員雙環、非芳族或部分芳族煙，由 R^1 及 R^2 與其所鍵結之碳原子一起形成。實例有1,2,3,4-四氫-亞萘、亞氫茛、及其類者。

"醫藥上可接受之鹽"一辭係表示保持生物效果及通式I化合物之性質且自適當之無毒有機或無機酸或有機或無機鹼形成的習用酸加成鹽或鹼加成鹽。酸加成鹽之樣品係包括自無機酸衍生物者，該無機酸係諸如鹽酸、氫溴酸、氫碘酸、硫酸、胺基磺酸、磷酸及硝酸；及自有機酸衍生物者，該有機酸係諸如對-甲苯磺酸、水楊酸、甲磺酸、草酸、琥珀酸、檸檬酸、蘋果酸、乳酸、反丁烯二酸、及其類者。樣品鹼加成鹽包括自銨、鉀、鈉及四級銨氫氧化物所衍生物者，諸如例如氫氧化四甲基銨。醫藥化合物(即藥物)化學修飾成為鹽係為醫藥化學家所熟知用以得到化合物改良之物理及化學安定性、收濕性、流動性及溶解度的技術。參照例如 Ansel, H.等, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 6th ed., 1995, 第196頁及1456至1457頁。

本發明具體實例係通式I化合物及其醫藥上可接受之鹽類，其中

R^1 係為氫；

R^2 係為吡啶基；

2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基；

苯并[1,3]間二氧雜環戊烯-5-基；或

苯基，其可視情況經一或數個下列基團所取代

鹵素；

-O-烷基；

-NH(烷基)；或

-N(烷基)₂。

該等化合物有例如

5-(3,4-二氯-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-亞苄基胺基氧甲基-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(苯并[1,3]間二氧雜戊烯-5-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-氯-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(3,4-二甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-氟-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(2-氟-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(3-甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-三氟甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-三氟甲基-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-二乙胺基-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-二丁胺基-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；或

5-(吡啶-3-基-亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺。

本發明另一具體實例係為通式I化合物及其醫藥上可接受之鹽類，其中

R¹ 係為 C₁-C₄-烷基；

R² 係為苯基或2,3-二氫-苯并呋喃-4-基；該兩基團皆可視情況經一或數個下列基團所取代

鹵素；

烷基；或

-O-烷基。

該等化合物係為例如

5-[1-(4-丙基-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-[1-(2-甲基-2,3-二氫-苯并呋喃-4-基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-[1-(2,4-二氯-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-[1-(3,4-二氯-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸

(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-[1-(3,4-二甲氧-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸

(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(1-苯基-亞乙基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；或

5-[1-(4-氟-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺。

本發明另一具體實例為通式I化合物及其醫藥上可接受之鹽類，其中

R^1 及 R^2 與其所鍵結之碳原子一起形成環烴。

該等化合物係為例如

5-(亞氫節-2-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(亞氫節-2-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺鹽酸鹽；

5-(亞氫節-2-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺甲磺酸鹽；或

5-(亞氫節-1-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺。

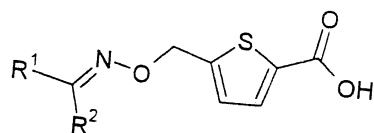
【實施方式】

通式I之胥衍生物或其醫藥上可接受之鹽可藉任何可用於製備化學上相關之化合物的已知方法製備。該等方法在用以製備通式I之胥衍生物或其醫藥上可接受之鹽時係供作本發明之另一特徵，且係以下列代表性實例說明，其中

(除非另有陳述)R¹及R²係具有前文所定義之意義。起始物質可藉著有機化學之標準方法製得。該等起始物質之製備係描述於附帶實施例內。或必要起始物質可藉由類似所說明者之方法製得，其係涵蓋於有機化學家之一般技術範圍內。

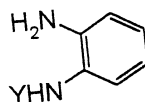
較佳方法及本發明另一具體實例係為一種製造通式I化合物之方法，其中

(a)通式II化合物



(通式II)

其中R¹及R²係如前定義，
與通式III之化合物進行反應



(通式III)

其中Y係表示氫或適當之胺基保護基；

(b)切除Y所表示之胺基保護基，若其存在，以產生通式I之化合物；及

(c)該通式I化合物係自該反應混合物單離，且若需要，則轉變成醫藥上可接受之鹽。

本發明所使用之"胺基保護基"係自胜肽化學得知。該等保護基有例如苄氧羰基(藉氫化或於乙酸中以氫溴酸切除)、第三丁氧羰基(藉強酸諸如三氟乙酸(純酸或於二氯甲烷中)或於二噁烷中之鹽酸(HCL)切除)、9-芴甲氧羰基(藉二級胺諸如哌啶切除)。

該反應一般包括雙階單鍋方法。在第一步驟中，通式II之羧酸鹽係藉著該化合物於惰性溶劑或稀釋劑(例如二氧甲烷或四氫呋喃(THF))中於活化劑存在下進行反應而活化。

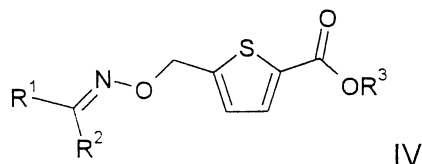
酸之適當反應性衍生物有例如醯基鹵，例如藉著該酸與無機醯基氯(例如亞硫醯氯或草二醯氯)進行反應所形成之醯基氯；混合酐，例如藉由該酸與氯甲酸酯諸如氯甲酸異丁酯進行反應所形成之酐；活性酯，例如藉該酸與酚諸如五氟苯酚進行反應所形成之酯；藉該酸與N-羥基苯并三唑進行反應所形成之活性酯；醯基疊氮，例如藉該酸與疊氮化物諸如二苯基磷醯疊氮進行反應所形成之疊氮化物；醯基氯，例如藉由酸與氯化物諸如二乙基磷醯氯進行反應所形成之氯化物；或該酸與碳化二醯亞胺諸如N-3-二甲基胺基丙基-N-乙基碳化二醯亞胺或二環己基碳化二醯亞胺之反應產物；或該酸與N,N'-羰基二咪唑之反應產物；或該酸與脲鎘鹽諸如四氟硼酸O-(1H-苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基-脲鎘之反應產物；或該酸與以磷為主之試劑例如雙(2-合氧基-3-呋唑啉基)-磷醯氯之反應產物。該反應係於30°C及60°C之間進行，以於0°C或低於0°C下較恰當。

第二步驟中，化合物III係添加於含有經活化之酸的溶液中。若Y係為保護基，則其最終需切除(方法參照前文)以產生通式I化合物。

此等方法係一般技術者所熟知。基本上，胜肽化學中用以合成醯胺之所有方法，如例如Houben-Weyl於：Methoden der organischen Chemie, Vols. XV/1及XV/2中所描述，亦可

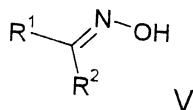
使用。未經保護之伸苯二胺之單醯化係描述於EP-974 576中。

通式II化合物可藉著切除通式IV化合物之 R^3 基團而製備

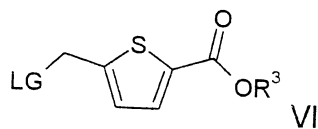


其中 R^3 係為烷基，且該烷基具有前文所示之意義。 R^3 之實例有甲基及乙基。該反應係於鹼(例如氫氧化鋰、氫氧化鈉或氫氧化鉀)存在下，於惰性溶劑或稀釋劑(例如甲醇、乙醇、二噁烷、THF、水)中進行。

通式IV之化合物可例如藉著通式V之肟



與通式VI之化合物的取代反應而製備

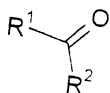


其中LG係為適於該取代之脫離基；LG之實例有Br、Cl、I、甲苯磺酸基、甲磺酸基。

該反應係於惰性溶劑中，例如於二氯甲烷、丙酮、二甲基甲醯胺(DMF)、THF、乙腈、乙酸乙酯、二甲基亞砜(DMSO)中，且較佳於鹼(例如碳酸鉀(K_2CO_3)、氫氧化鈉(NaOH)、氫化鈉(NaH))存在下進行。將碘化鉀或硫酸氫四丁銨添加

於反應混合物中可能在特定情況下具有優點。若需要，則反應混合物可加熱。

許多通式V化合物係市售品。其他情況下，其可藉已知方法製備，例如對應之醛或酮



與羥基胺或羥基鹽酸鹽於惰性溶劑(例如乙醇、甲醇、水、二噁烷)中且較佳於鹼(例如吡啶、氫氧化鉀、氫氧化鈉、乙酸鈉)存在下之縮合反應。若需要，則該反應混合物可加熱。

某些通式VI之化合物係描述於文獻中。例如，5-溴甲基-噻吩-2-羧酸甲酯係描述於例如 Curtin, M.L.等, J. Med. Chem. 41 (1998) 74-95中。

通式I化合物可含有一或數個對掌性中心，故可存在消旋或旋光性形式。該消旋物可根據已知方法分離成鏡像異構物。可藉結晶分離之非鏡像異構鹽較佳係藉著與旋光性酸(諸如例如D-或L-酒石酸、扁桃酸、蘋果酸、乳酸或樟腦磺酸)反應而自消旋混合物形成。此外，該消旋化合物可藉著於分析、半製備或製備規格層析分離成其鏡像異構物，其係使用適當之旋光性靜態相及適當之溶離物。適當之旋光性靜態相係包括(但不限於)二氧化矽(例如 ChiraSper, Merck; Chiralpak OT/OP, Baker)、纖維素酯或胺基甲酸酯(例如 Chiracel OB/OY, Baker)或其他(例如 Crownpak, Daicel 或 Chiracel OJ-R, Baker)。

通式I化合物及其醫藥上可使用之加成鹽具有重要之醫

藥性質。已發現其具有抗增殖及分化誘發活性，導致腫瘤細胞增殖之抑制、凋亡之誘發及疾病侵襲之抑制。因此，此等化合物可用於治療人類或動物之疾病，諸如癌症。是故，本發明另一具體實例係使用通式I化合物來治療癌症。另一具體實例係使用通式I化合物來製造對應之用以抑制腫瘤生長的醫藥。

本發明化合物作為HDAC抑制劑之活性係使用細胞乙醯化檢定來證明。其中組織蛋白之乙醯化係於PC3細胞中偵測。高度乙醯化與化合物抑制組織蛋白脫乙醯化有關。同時偵測細胞活力，以估計化合物之胞毒性。

人類前列腺腫瘤細胞系PC3細胞係以1800細胞/井洞之形式接種於384-井洞微量滴定盤之PRMI 1640 (包含5% FCS、2 mM 穀胺醯胺及pen/strep)中。

於37°C下48小時之後，添加預先稀釋之化合物，直至最終濃度1 μ M。化合物於二甲基亞砜(DMSO)中預先稀釋，以產生最終濃度0.5% DMSO/井洞。

保溫培養24小時之後，藉著添加細胞增殖試劑WST-1 (Roche Molecular Biochemicals)來測定細胞活力。在60分鐘之後，測量光學密度(OD)(450奈米對690奈米)。

測量之後，製備用以進行ELISA反應之細胞層。吸取培養基，且將細胞於-20°C下之乙醇中固定60分鐘。以PBS/Tween洗滌之後，添加阻抑溶液(PBS/ 5% FCS / Tween)且再次洗滌細胞層。於37°C下在1:200稀釋度下添加對抗經乙醯化組織蛋白H3或H4之抗體(兔多株IgG，Upstate

Biotechnologies) 歷經 60 分鐘。第二抗體則使用羊抗兔 IgG (H+L) 人類 IgG 吸附 -HRP 共軛體 (Dako) (1:2000 稀釋度)。細胞經洗滌 3 次，於 37°C 下使過氧化酶受質 ABTS 反應 30 至 60 分鐘。於 405 奈米下測量 OD。

乙醯化百分比係於扣除空白組 O.D.s 之後計算：

$$\frac{\frac{\text{平均 O.D. 乙醯化}}{\text{平均 O.D. DMSO 對照組}}}{\frac{\text{平均 O.D. WSTI}}{\text{平均 O.D. DMSO 對照組}}} \times 100\%$$

Ex-No.	化合物名稱	細胞乙醯化 (PC3')[對照組 %]
	4-乙醯胺基-N-(2-胺基-苯基)-苯醯胺(參考化合物，得自 EP0242851 實施例 1)	152
4-6	5-亞苄基胺基氧甲基-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	180
4-7	5-(亞氫苄-2-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	182
4-9	5-[1-(3,4-二甲氧-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	158
4-12	5-(3,4-二甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	137
3	5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	116
4-17	5-(4-三氟甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	127
4-21	5-(吡啶-3-基-亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	135

本發明化合物之效果可藉下列試驗來評估：

8至10週大之NMRI nu/nu-雄鼠(n=每組15隻)皮下注射 5×10^6 PC3前列腺腫瘤細胞。第10日，任意取出腫瘤體積約150毫米³之動物以作為治療組。以於7.5%明膠-0.22% NaCl懸浮液中之微米懸浮液形式投予試驗化合物，以實質體重計之投藥體積為10毫升/公斤。由約第10日至第27日進行每日經口治療一次，治療時間表為每週5至7次。

由下列問題決定腫瘤體積：

腫瘤體積 $=1/2ab^2$ ，其中"a"及"b"個別係為腫瘤之長及短直徑。

本發明另一具體實例係為含有前述通式I化合物作為活性成份之醫藥，若需要則同時含有醫藥上可接受之佐劑。該醫藥，例如為醫藥製劑形式，可經口投藥，例如為錠劑、塗錠、糖衣丸、硬質及軟質明膠膠囊、溶液、乳液或懸浮液形式。然而，該投藥亦可經直腸進行，例如栓劑形式，或非經腸進行，例如注射溶液形式。

前述醫藥製劑可藉著以醫藥惰性、無機或有機載劑處理本發明化合物而製得。可使用乳糖、玉米粉或其衍生物、滑石、硬脂酸或其鹽類及其類者，例如作為供錠劑、塗錠、糖衣丸及硬質明膠膠囊使用之載劑。適用於軟質明膠膠囊之載劑有例如植物油、蠟、脂肪、半固體及液體多元醇及其類者。然而，視活性物質之性質而定，軟質明膠膠囊通常不需要載劑。適於製造溶液及糖漿之載劑有例如水、多元醇、甘油、植物油及其類者。適用於栓劑之載劑有例如

天然或硬化油、蠟、脂肪、半液體或液體多元醇及其類者。

該醫藥製劑亦可含有防腐劑、促溶解劑、安定劑、潤濕劑、乳化劑、甜味劑、著色劑、調味劑、用以改變滲透壓之鹽類、緩衝劑、掩蓋劑或抗氧化劑。其亦可含有其他治療有效物質。

較佳醫藥製劑係包含下列調配物：

a)錠劑調配物(濕式造粒法)：

項目	成份	毫克/錠劑			
1.	通式I化合物	5	25	100	500
2.	無水乳糖DTG	125	105	30	150
3.	Sta-Rx 1500	6	6	6	30
4.	微晶纖維素	30	30	30	150
5.	硬脂酸鎂	1	1	1	1
	總量	167	167	167	831

製造方法：

1. 混合第1、2、3及4項，且以純水造粒。
2. 於50°C下乾燥該顆粒。
3. 使該顆粒通經適當之碾磨設備。
4. 添加第5項，且混合三分鐘；於適當之壓機上壓製。

b)膠囊調配物：

項目	成份	毫克/錠劑			
1.	通式I化合物	5	25	100	500
2.	水合乳糖	159	123	148	---
3.	玉米粉	25	35	40	70

4.	滑石	10	15	10	25
5.	硬脂酸鎂	1	2	2	5
	總量	200	200	300	600

製造方法：

1. 於適當之混合器中混合第1、2及330分鐘。
2. 添加第4及5項，且混合3分鐘。
3. 填入適當之膠囊內。

劑量係視各種因素而定，諸如投藥方式、種類、年齡及/或個別健康狀況。

以下實施例及參考資料係幫助明瞭本發明，實際範圍係設定於所附之申請專利範圍內。應明瞭可在不偏離本發明精神之情況下針對所述方法進行修飾。

以下實施例中，除非另有陳述：

- i) 蒸發係於真空中藉旋轉蒸發器進行，且加工方法係於移除殘留固體(諸如乾燥劑)之後諸如藉過濾進行；
- ii) 操作係於室溫下進行，即介於18至25°C範圍內，且於惰性氣體氛圍下，諸如氫或氮；
- iii) 管柱層析(使用快速方法)及高壓液相層析(HPLC)係於購自E. Merck, Darmstadt, Germany之Merck Kieselgel二氧化矽或Merck Lichroprep RP-18逆相二氧化矽上進行；
- iv) 產率係僅供說明，而非必然為可達到之最大值；
- v) 熔點係使用Mettler SP62自動熔點裝置、油浴裝置或Kofler熱板裝置測定；

- vi) 通式 I 產物之結構係藉核(通常為質子)磁共振光譜(NMR)及質譜技術(使用 APCI 之 Micromass Platform II 機或使用電動噴霧之 Micromass Platform ZMD)確認；
- vii) 中間體通常未充分定性，純度係藉薄層層析評估；
- viii) 使用下列縮寫：

DMF N,N-二甲基甲醯胺；

DMSO 二甲基亞砜；

THF 四氫呋喃；

MeOH 甲醇；

HCl 鹽酸；

NaH 氫化鈉；

CH₂Cl₂ 二氯甲烷；

H₂SO₄ 硫酸；

sat. 飽和；

sol. 溶液；

h 小時；

d 日；

rt 室溫；

eq 當量；

mp 熔點 [°C]

MW calc'd 分子量，計算值 [克/莫耳]

MW found 分子量，質譜測定值 [克/莫耳]

實施例 1

5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-

噻吩-2-羧酸甲酯

500毫克(2.13毫莫耳) 5-溴甲基-噻吩-2-羧酸甲酯及381毫克(2.13毫莫耳) 2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-甲醛肟於2毫升二氯甲烷中之溶液於劇烈攪拌下添加2.0毫升2.2 M氫氧化鈉水溶液及902毫克(2.55毫莫耳)硫酸氫四丁銨。10分鐘之後，添加另外2.0毫升2.2 M氫氧化鈉水溶液及902毫克(2.55毫莫耳)硫酸氫四丁銨。此程序再重複一次。20分鐘之後，添加8毫升飽和碳酸氫鹽水溶液。水相以乙酸乙酯萃取三次，且結合之有機相以鹽水洗滌，並以 Na_2SO_4 乾燥。蒸發溶劑，殘留物進行矽膠層析(己烷/乙酸乙酯4:1，之後3:1)產生214毫克(0.64毫莫耳) 5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸甲酯；實際MW [M+H] calc'd: 334.07；MW found [M+H]: 334.2。

實施例2**5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸**

200毫克(0.60毫莫耳) 5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸甲酯於2.4毫升THF中之溶液中添加1.2毫升1 M LiOH水溶液，反應混合物加熱至70°C歷經5小時。添加水，混合物進行酸化且以乙酸乙酯萃取。結合之有機相以鹽水洗滌，以 Na_2SO_4 乾燥，且蒸發溶劑，產生190毫克(0.59毫莫耳) 5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸；實際MW [M+H] calc'd: 320.06；MW found [M+H]: 320.2。

實施例 3**5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-
噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺**

100毫克(0.31毫莫耳) 5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸、65毫克(0.47毫莫耳) 1-羥基苯并三唑、92毫克(0.47毫莫耳) N'-(3-二甲胺基丙基)-N-乙基碳化二醯亞胺及65毫克(0.47毫莫耳)三乙胺於3毫升二氯甲烷中之溶液攪拌15分鐘。添加68毫克(0.63毫莫耳)仲苯二胺之後，反應混合物攪拌隔夜。蒸發溶劑，且殘留物進行製備HPLC，產生88毫克(0.21毫莫耳) 5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺(17)；實際MW [M+H] calc'd: 410.12；MW found [M+H]: 410.2。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$): δ = 9.67 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.14-7.09 (m, 3H), 6.97 (m, 1H), 6.91 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.58 (m, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.90 (s, 2H), 4.26 (m, 4H)

實施例 4

依循實施例3所述之方式，使用文獻所述之已知方法(例如標準著作諸如 Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart; Organic Reactions, John Wiley & Sons, Inc., New York)，製備下列化合物：

Cpd. No.	名稱	實際MW [M+H] calc'd	MW found [M+H]
4-1	5-[1-(4-丙基-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	408.17	408.2
4-2	5-[1-(2-甲基-2,3-二氫-苯并呋喃-4-基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	422.15	422.2
4-3	5-[1-(2,4-二氯-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	434.05	434.1
4-4	5-[1-(3,4-二氯-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	434.05	434.3
4-5	5-(3,4-二氯-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	420.03	420.3
4-6	5-亞苄基胺基氧甲基-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺 ¹ H-NMR (400 MHz, (CH ₃) ₂ SO): δ = 9.68 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.87-7.86 (m, 1H), 7.66-7.63 (m, 2H), 7.45-7.43 (m, 3H), 7.22 (m, 1H), 7.10 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.58 (m, 1H), 5.28 (s, 2H), 4.89 (s, 2H)	352.11	352.3
4-7	5-(亞氫茛-2-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺 ¹ H-NMR (400 MHz, (CH ₃) ₂ SO): δ = 9.66 (s, 1H), 7.84 (m, 1H), 7.31-7.29 (m, 2H), 7.24-7.21 (m, 2H), 7.12 (m, 1H), 7.10 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.58 (m, 1H), 5.28 (s, 2H), 4.89 (s, 2H), 3.77 (s, 4H)	378.13	378.3
4-8	5-(苯并[1,3]二氧雜環戊烯-5-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	396.1	396.2

4-9	5-[1-(3,4-二甲氧-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺 ¹ H-NMR (400 MHz, (CH ₃) ₂ SO): δ = 9.67 (s, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.33 (m, 1H), 7.24-7.20 (m, 2H), 7.10 (m, 1H), 7.00-6.95 (m, 2H), 6.77 (m, 1H), 6.58 (m, 1H), 5.34 (s, 2H), 4.89 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 2.19 (s, 3H)	426.15	426.2
4-10	5-(1-苯基-亞乙基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	366.13	366.3
4-11	5-(4-氯-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	386.07	386.2
4-12	5-(3,4-二甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	412.13	412.2
4-13	5-(4-氯-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	370.1	370.2
4-14	5-(2-氯-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	370.1	370.2
4-15	5-[1-(4-氯-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	384.12	384.3
4-16	5-(3-甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	382.12	382.2
4-17	5-(4-三氟甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺 ¹ H-NMR (400 MHz, (CH ₃) ₂ SO): δ = 9.69 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.78 (m, 2H), 7.45 (m, 2H), 7.23 (m, 1H), 7.10 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.58 (m, 1H), 5.36 (s, 2H), 4.90 (s, 2H)。	436.09	436.1
4-18	5-(4-三氟甲基-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	420.1	420.2

4-19	5-(4-二乙胺基-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	423.19	423.2
4-20	5-(4-二丁胺基-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	479.25	479.3
4-21	5-(吡啶-3-基-亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺 ¹ H-NMR (400 MHz, (CH ₃) ₂ SO): δ = 9.69 (s, 1H), 8.80 (m, 1H), 8.62 (m, 1H), 8.40 (m, 1H), 8.04 (m, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.47 (m, 1H), 7.24 (m, 1H), 7.10 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.58 (m, 4H), 5.37 (s, 2H). 4.91 (s, 2H)	353.11	353.1
4-22	5-(吡啶-4-基-亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	353.11	353.1
4-23	5-(吡啶-2-基-亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	353.11	353.1
4-24	5-(亞氫苧-2-基-胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	413.93	413.9
4-25	5-(亞氫苧-2-基-胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺甲磺酸鹽	473.57	473.6
4-26	5-(亞氫苧-1-基-胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺	378.13	378.1

參考資料

Ansel, H. 等, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery System, 6th ed., 1995, 第196頁及1546至1457頁

Curtin, M.L. 等, J. Med. Chem. 41 (1998) 74-95

DE-A 2 062 265

EP 0 974 576

EP-A 0 242 851

EP-A 0 847 992

FR 2 167 954

Hassan, H. 等, Indian J. Chem. 39B (2000) 764-768

Houben-Weyl, In:Methoden der organischen Chemie, Vols.
XV/1及XV/2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Koyama, Y. 等, Blood 96 (2000) 1490-1495

Moll, R. 等, Z. Chem. 17 (1977) 133-134

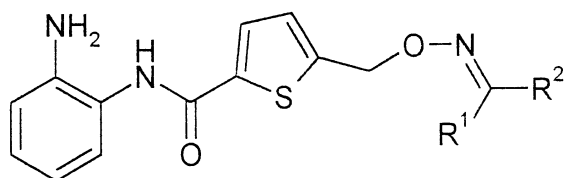
Organic Reactions, John Wiley & Sons, Inc., New York

Rastogi, R.,及Sharma, S., Indian J. Chem. Sect. B, 21B
(5) (1982) 485-487

WO 03/013484

伍、中文發明摘要：

本發明之標的係為式I之化合物

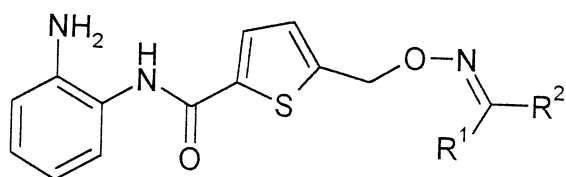


(通式 I)

其醫藥上可接受之鹽類及其鏡像異構形式、非鏡像異構物及消旋異構物；前述化合物之製備、含該化合物之醫藥及其製造、以及前述化合物作為組織蛋白脫乙酰酶(HDAC)之抑制劑且因此用於防治或預防前述病症及疾病之用途、或於製造對應藥劑的用途。

陸、英文發明摘要：

Objects of the present invention are the compounds of formula I,

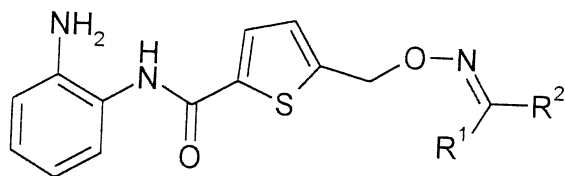


(formula I)

their pharmaceutically acceptable salts as well as their enantiomeric forms, diastereoisomers and racemates; the preparation of the above-mentioned compounds, medicaments containing them and their manufacture, as well as the use of the above-mentioned compounds as inhibitors of histone deacetylase (HDAC) and therefore in the control or prevention of illnesses and disorders as mentioned above, or in the manufacture of corresponding medicaments.

拾、申請專利範圍：

1. 一種具有通式I之化合物



通式I

其中

R^1 係為氫或

C_1-C_4 -烷基；

R^2 係為芳基、雜芳基或雜環基；所有基團皆可視情況

經一或多個下列基團所取代

烷基；

鹵素；

-O-烷基；

-NH(烷基)；

-N(烷基)₂；或

R^1 與 R^2 與其所鍵結之碳原子一起形成環狀烴；

及其醫藥上可接受之鹽類。

2. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中

R^1 係為氫；

R^2 係為吡啶基；

2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基；

苯并[1,3]間二氧雜環戊烯-5-基；或

苯基，其可視情況經一或數個下列基團所取代

鹵素；

-O-烷基；

-NH(烷基)；或

-N(烷基)₂；

及其醫藥上可接受之鹽類。

3. 如申請專利範圍第1或2項之化合物，

5-(3,4-二氯-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-亞苄基胺基氧甲基-噻吩-2-羧酸(2-胺基苯基)-醯胺；

5-(苯并[1,3]間二氧雜戊烯-5-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-氯-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(3,4-二甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-氟-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(2-氟-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(3-甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(2,3-二氫-苯并[1,4]二氧己環-6-基亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-三氟甲氧-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺

基-苯基)-醯胺；

5-(4-三氟甲基-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-二乙胺基-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(4-二丁胺基-亞苄基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；或

5-(吡啶-3-基-亞甲基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺。

4. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中

R^1 係為 C_1-C_4 -烷基；

R^2 係為苯基或2,3-二氫-苯并呋喃-4-基；該兩基團皆可視情況經一或數個下列基團所取代

鹵素；

烷基；或

-O-烷基；

及其醫藥上可接受之鹽類。

5. 如申請專利範圍第1或4項之化合物，

5-[1-(4-丙基-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-[1-(2-甲基-2,3-二氫-苯并呋喃-4-基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-[1-(2,4-二氯-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-[1-(3,4-二氯-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸
(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-[1-(3,4-二甲氧-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸
(2-胺基-苯基)-醯胺；

5-(1-苯基-亞乙基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；或

5-[1-(4-氟-苯基)-亞乙基胺基氧甲基]-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺。

6. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中

R^1 及 R^2 與其所鍵結之碳原子一起形成環狀烴；

及其醫藥上可接受之鹽類。

7. 如申請專利範圍第1或6項之化合物，

5-(亞氫蒞-2-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺；

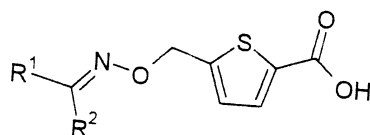
5-(亞氫蒞-2-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺鹽酸鹽；

5-(亞氫蒞-2-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺甲磺酸鹽；或

5-(亞氫蒞-1-基胺基氧甲基)-噻吩-2-羧酸(2-胺基-苯基)-醯胺。

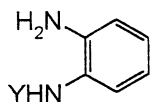
8. 一種製造通式I化合物之方法，其中

(a) 通式II化合物



(通式II)

其中 R^1 及 R^2 係如申請專利範圍第 1 項之定義，
與通式 III 之化合物進行反應



(通式 III)

其中 Y 係表示氫或適當之胺基保護基；

- (b) 切除 Y 所表示之胺基保護基，若其存在，以產生通式 I 之化合物；及
- (c) 該通式 I 化合物係自該反應混合物單離，且若需要，則轉變成醫藥上可接受之鹽。
9. 一種含有一或多種如申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之化合物及醫藥上可接受之賦形劑的藥劑。
 10. 如申請專利範圍第 9 項之藥劑，其用於抑制腫瘤生長。
 11. 一種如申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之化合物用以治療癌症之用途。
 12. 一種如申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之化合物用以製造對應之用來抑制腫瘤生長的藥劑之用途。

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

