(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119053604 A
(43)申请公布日 2024.11.29

(21)申请号 202380034888.8
(22)申请日 2023.02.17
(30)优先权数据
2202199.2 2022.02.18 GB
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.10.18
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/GB2023/050369 2023.02.17
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/156791 EN 2023.08.24
(71)申请人 癌症研究技术有限公司
地址 英国
(72)发明人 萨姆·巴特沃斯
奥利弗·理查德·史密斯
查尔斯·尼古拉斯·乔治·埃文斯
凯瑟琳·乔治娜·法恩根
(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司 11332
专利代理师 刘明海 胡彬
(51)Int.Cl.
C07D 487/04(2006.01)
A61K 31/5513(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61P 25/04(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

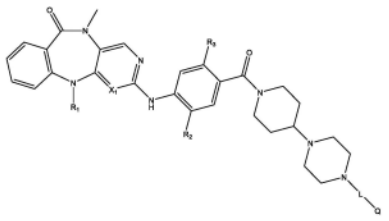
权利要求书11页 说明书58页 附图14页

(54)发明名称

用于治疗ERK5介导的疾病的杂环化合物

(57)摘要

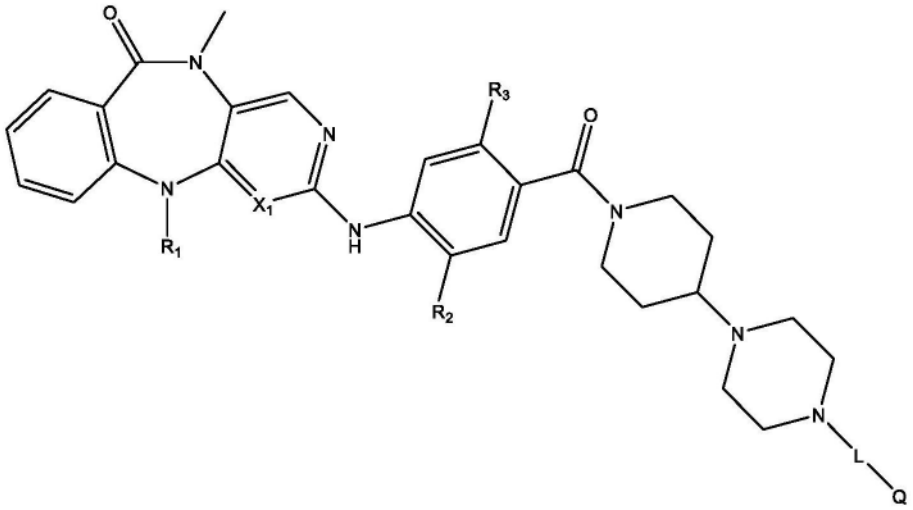
本发明涉及用作ERK5激酶降解剂的如下所示的式(I)的化合物,其中R_1、R_2、R_3、X_1、L和Q各自如本文所定义。所述化合物可用于治疗:纤维化疾病;增殖性病况,例如癌症;糖尿病;疼痛;和/或中枢神经系统(CNS)病症。



式(I)

CN 119053604 A

1.一种化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其具有结构式(I),如下所示:



式(I)

其中

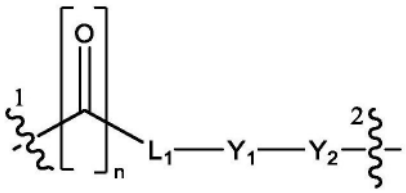
R_1是-S(O)$_2$-(1-3C)烷基;

R_2是(1-4C)烷氧基;

R_3选自氢、氟、甲基、甲氧基、三氟甲基或三氟甲氧基;

X_1是N或CH;

L是具有下式的接头:



其中:

 表示与哌嗪环的N原子的连接点;

表示与Q的连接点;

n是0或1;

L_1是(2-10C)亚烷基接头或具有下式的PEG链-[CH_2CH_2-O]$_{1-3}$-[CH_2]$_{1-3}$-;

Y_1和Y_2一起形成:

亚乙炔基(-C≡C-);

亚乙基(-CH=CH-);

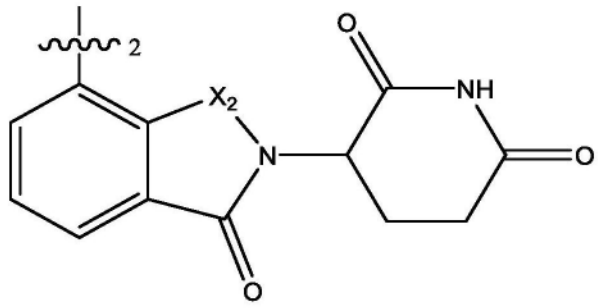
-CH_2-O-;

-CH_2-NH-;或者

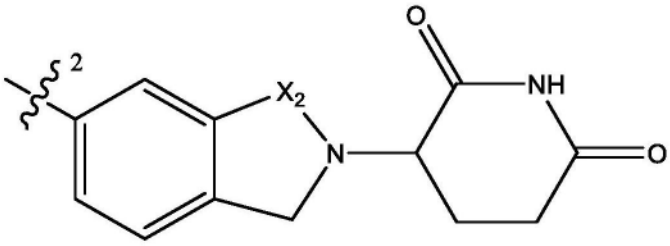
-CH_2-CH_2-;

Q选自：

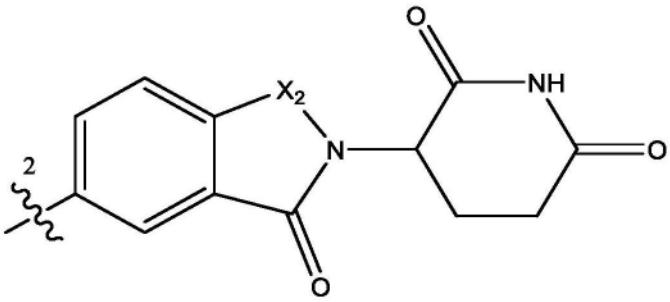
(i)



(ii)



(iii)



其中：

表示与Y_2或L基团的连接点；

X_2选自-CH_2-或-C(O)-；条件是当Y_1和Y_2一起形成亚乙炔基(-C≡C-)时，X_2不是-C(O)-。

2.根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，其中R_1为-$S(O)_2$-CH_3。

3.根据权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，其中R_2为(1-3C)烷氧基。

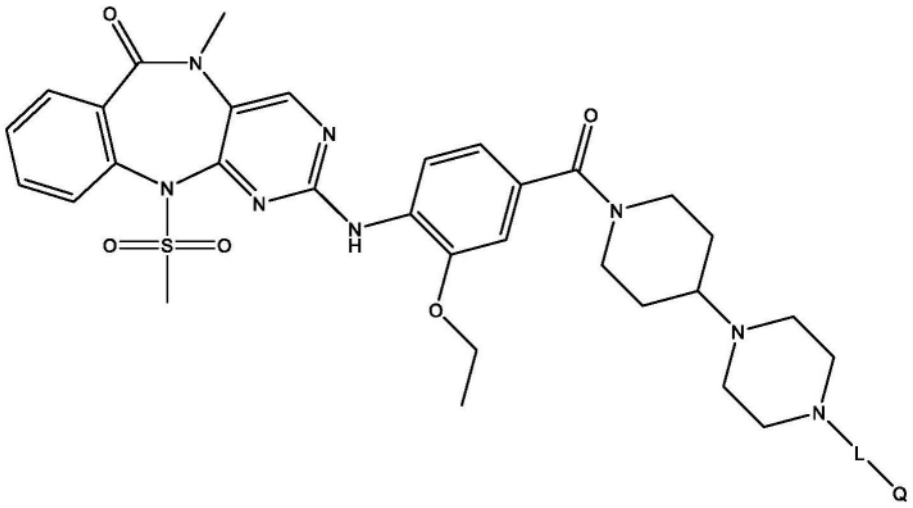
4.根据权利要求1到3中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，其中R_2为乙氧基。

5.根据权利要求1到4中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，其中R_3选自氢、氟或甲基。

6.根据权利要求1到5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中R_3为氢。

7.根据权利要求1到6中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中X_1为N。

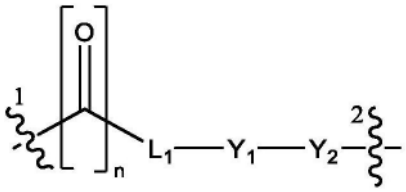
8.根据前述权利要求中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其具有以下所示的结构式(Ia):



式(Ia)

其中L和Q如权利要求1中所定义。

9.根据权利要求1到8中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中L为具有下式的接头:



其中:

表示与哌嗪环的N原子的连接点;

表示与Q的连接点;

n是0或1;

L_1是(2-8C)亚烷基接头或具有下式的PEG链

$-[CH_2CH_2-O]_{1-3}-[CH_2]_{1-2}-$;并且

Y_1和Y_2一起形成:

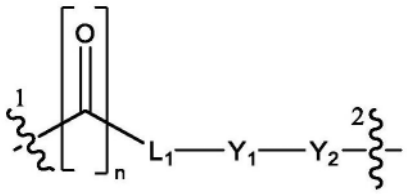
亚乙炔基(-C≡C-);

$-CH_2-O-$;

$-CH_2-NH-$;或者

$-CH_2-CH_2-$。

10.根据权利要求1到9中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中L为具有下式的接头:



其中:

 表示与哌嗪环的N原子的连接点;

表示与Q的连接点;

n是0或1;

L_1是(2-8C)亚烷基接头或具有下式的PEG链

$-[CH_2CH_2-O]_{1-2}-[CH_2]_{1-2}-$;并且

Y_1和Y_2一起形成:

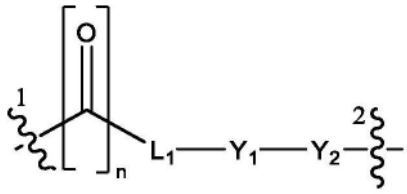
亚乙炔基(-C≡C-);

$-CH_2-O-$;

$-CH_2-NH-$;或者

$-CH_2-CH_2-$。

11.根据权利要求1到10中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中L为具有下式的接头:



其中:

 表示与哌嗪环的N原子的连接点;

表示与Q的连接点;

n是0或1;

L_1是(2-8C)亚烷基接头;并且

Y_1和Y_2一起形成:

亚乙炔基(-C≡C-);

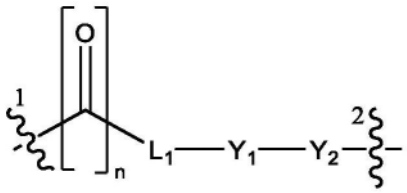
$-CH_2-O-$;

$-CH_2-NH-$;或者

$-CH_2-CH_2-$。

12.根据权利要求1到11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂

化物,其中L为具有下式的接头:



其中:

 表示与哌嗪环的N原子的连接点;

表示与Q的连接点;

n是0;

L_1是(2-8C)亚烷基接头或具有下式的PEG链

$-[CH_2CH_2-O]_{1-2}-[CH_2]_{1-2}-$;并且

Y_1和Y_2一起形成:

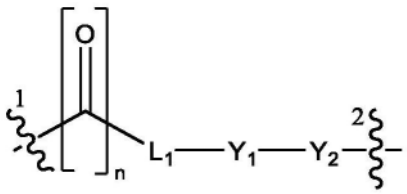
亚乙炔基(-C≡C-);

$-CH_2-O-$;

$-CH_2-NH-$;或者

$-CH_2-CH_2-$。

13.根据权利要求1到12中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中L为具有下式的接头:



其中:

 表示与哌嗪环的N原子的连接点;

表示与Q的连接点;

n是0或1;

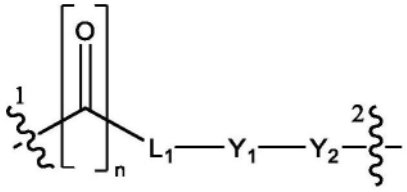
L_1是(2-8C)亚烷基接头或具有下式的PEG链

$-[CH_2CH_2-O]_{1-2}-[CH_2]_{1-2}-$;并且

Y_1和Y_2一起形成:

亚乙炔基(-C≡C-)。

14.根据权利要求1到13中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中L为具有下式的接头:



其中：

 表示与哌嗪环的N原子的连接点；

表示与Q的连接点；

n是0；

L_1是(3-8C)亚烷基接头；并且

Y_1和Y_2一起形成：

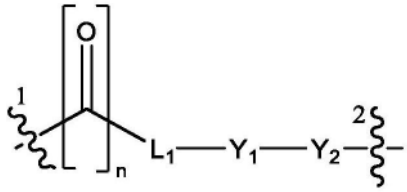
亚乙炔基(-C≡C-)；

$-CH_2-O-$；

$-CH_2-NH-$；或者

$-CH_2-CH_2-$。

15.根据权利要求1到14中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，其中L为具有下式的接头：



其中：

 表示与哌嗪环的N原子的连接点；

表示与Q的连接点；

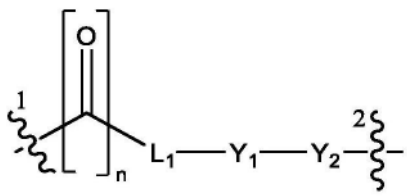
n是0；

L_1是(3-8C)亚烷基接头；并且

Y_1和Y_2一起形成：

亚乙炔基(-C≡C-)。

16.根据权利要求1到15中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，其中L为具有下式的接头：



其中：



表示与哌嗪环的N原子的连接点；



表示与Q的连接点；

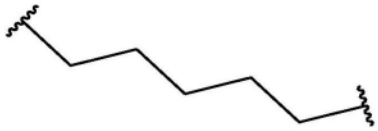
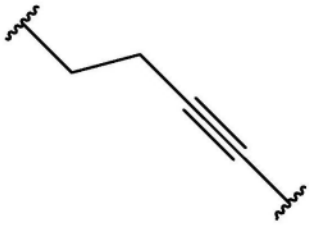
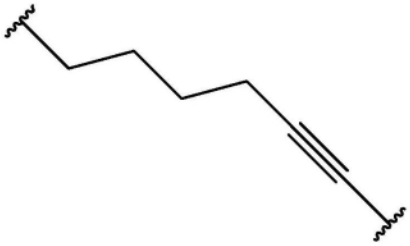
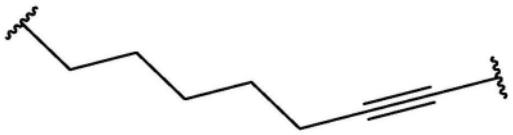
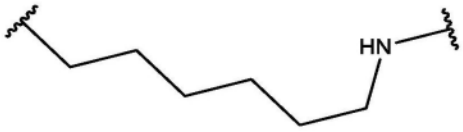
n是0；

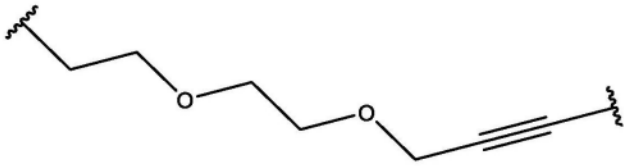
L_1是(5-8C)亚烷基接头；并且

Y_1和Y_2一起形成：

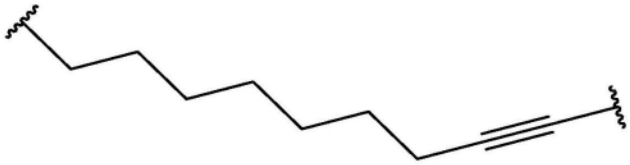
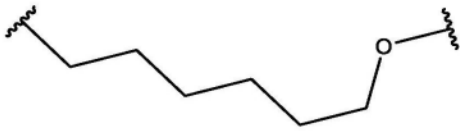
亚乙炔基(-C≡C-)。

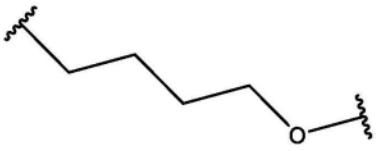
17.根据权利要求1到16中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，其中L是具有选自以下的式的接头：

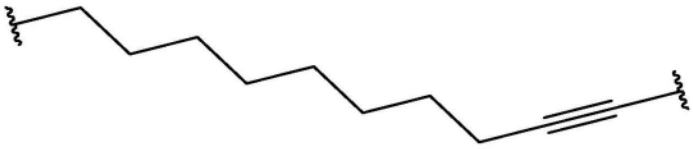
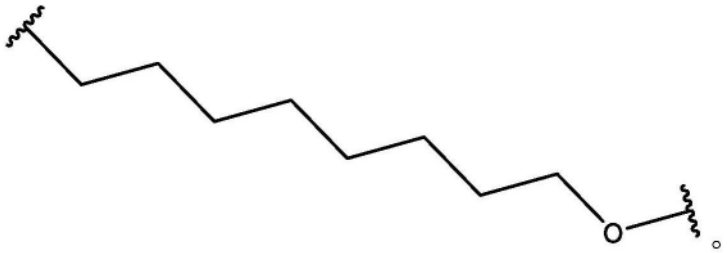

，

，

，

，

，


，


，

，

，


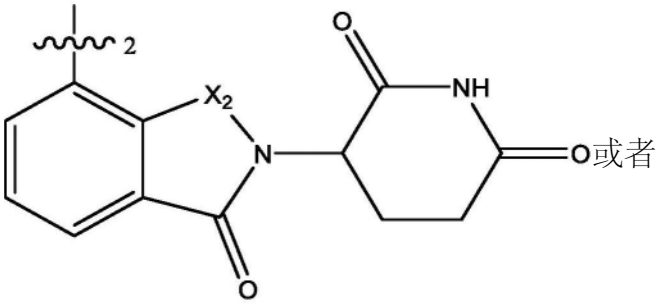
，


，

或


。

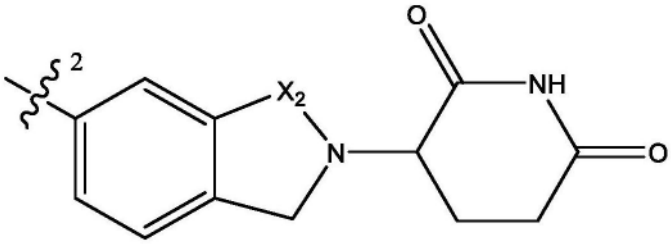
18.根据权利要求1到17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中Q选自:

(i)



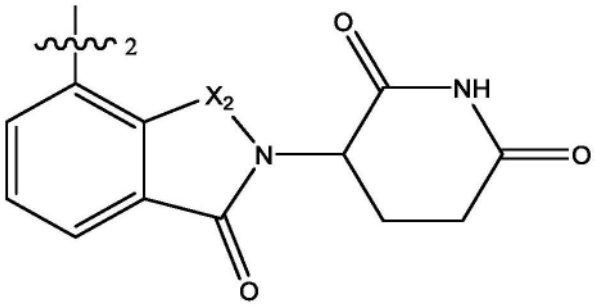
或者

(ii)



其中X_2如权利要求1中所定义。

19.根据权利要求1到18中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中Q为:



其中X_2如权利要求1中所定义。

20.根据权利要求1到19中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,其中X_2为$-CH_2-$。

21.一种化合物,选自:

2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-(5-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)戊基)异吲哚啉-1,3-二酮;

3-(4-(5-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)戊-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

3-(4-(4-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)丁-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

3-(4-(6-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)己-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

3-(4-(7-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)庚-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)己基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮;

3-(4-(3-(2-(2-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)乙氧基)乙氧基)丙-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

3-(4-(8-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)辛-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

3-(4-(9-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)壬-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)己基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮;

2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-(4-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)丁氧基)异吲哚啉-1,3-二酮;

3-(4-(10-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)癸-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((8-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)辛基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮;

或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。

22.一种药物组合物,其包含根据权利要求1到21所述的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,以及药学上可接受的稀释剂或载体。

23.根据权利要求1到21中任一项所定义的化合物、或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或权利要求22所定义的药物组合物,用于治疗。

24.根据权利要求1到21中任一项所定义的化合物、或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或权利要求22所定义的药物组合物,用于治疗:

a)纤维化疾病,例如受损的伤口愈合、肺纤维化,

b)炎性疾病,例如银屑病、哮喘,

c)增殖性病况,例如癌症,如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌、鳞状细胞癌,

d)糖尿病,

e)疼痛,或者

f)中枢神经系统(CNS)病症,例如帕金森氏病、痴呆;

任选地,其中所述化合物用于治疗癌症。

25.一种在需要这种治疗的患者中治疗以下疾病的方法:

a)纤维化疾病,例如受损的伤口愈合、肺纤维化,

b)炎性疾病,例如银屑病、哮喘,

c)增殖性病况,例如癌症,如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌、鳞状细胞癌,

d)糖尿病,

e)疼痛,或者

f)中枢神经系统(CNS)病症,例如帕金森氏病、痴呆;

所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的根据权利要求1到21的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如权利要求22中所定义的药物组合物。

用于治疗ERK5介导的疾病的杂环化合物

技术领域

[0001] 本发明涉及某些用作针对ERK5激酶的蛋白水解靶向嵌合体(PROTAC)的化合物。本发明还涉及制备这些化合物的方法,涉及包含它们的药物组合物,以及它们在治疗增殖性病症如癌症以及涉及ERK5活性的其他疾病或病况中的用途。

背景技术

[0002] 由MAPK7基因编码的细胞外信号调节激酶5(ERK5,也称为大MAP激酶1,BMK1)蛋白是丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)家族的成员。ERK5信号级联可以被环境压力、丝裂原和细胞因子激活。这些刺激激活MEKK2和MEKK3,它们能够磷酸化和激活MEK5。一旦被激活,MEK5磷酸化ERK5激酶结构域的激活环中的TEY基序,从而导致ERK5激活(综述见Hoang等人,2017.Cancer letters;Drew等人,2012.Biochimica et Biophysica Acta;Nithianandarajah-Jones等人,2012.Cellular Signalling)。

[0003] ERK5是在MAPK家族中具有独特功能的MAPK,即在细胞周期进程和转录激活中的非激酶功能。ERK5在几乎所有癌症中都上调。MEK5/ERK5上调或过度激活与多种癌症的不良结果和治疗耐药性相关,包括间皮瘤、骨肉瘤、三阴性乳腺癌、食道癌、前列腺癌和肺癌。ERK5具有非常小的体内平衡功能,它是一种在病理学中“开启”的应激激酶,使其成为一种有吸引力的药物靶点。

[0004] 迄今为止,降低ERK5激酶活性的方法主要集中在激酶抑制上。这种方法有几个问题。已经发现激酶抑制可以引起ERK5的异常激活。激酶抑制剂也是非特异性的,并对健康所需的蛋白质如BRD4具有活性。此外,ERK5激酶抑制剂的特定迭代不能重现ERK5缺失的表型(遗传/siRNA)。对于免疫效应来说尤其如此。这是因为激酶抑制剂不能抑制ERK5功能的所有方面,即激酶和非激酶依赖性功能。

[0005] 需要减少ERK5活性而不抑制的替代方法,例如可以影响ERK5功能的所有方面(激酶和非激酶依赖性)并通过药理学方法重现ERK5缺失(遗传/siRNA)的强抗癌表型的化合物。一种这样的方法包括降解。

[0006] 本发明的一个目的是提供降解ERK5激酶的化合物。

发明内容

[0007] 一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0008] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的药物组合物,其包含如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0009] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,其用于治疗。

[0010] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,其用于治疗增殖性病况。合适地,所述增殖性病况是癌

症。

[0011] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,其用于治疗:

[0012] a)纤维化疾病,例如受损的伤口愈合、肺纤维化,

[0013] b)炎性疾病,例如银屑病、哮喘,

[0014] c)增殖性病况,例如癌症,如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌、鳞状细胞癌,

[0015] d)糖尿病,

[0016] e)疼痛,或者

[0017] f)中枢神经系统(CNS)病症,例如帕金森氏病、痴呆。

[0018] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,其用于治疗癌症,例如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌和鳞状细胞癌;炎性疾病,例如系统性红斑狼疮、自身免疫介导的肾小球肾炎、类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、自身免疫性糖尿病、湿疹过敏反应、哮喘、COPD、鼻炎和上呼吸道疾病;心血管疾病,例如心脏肥大、再狭窄、动脉粥样硬化;神经退行性病症,例如阿尔茨海默病、痴呆、AIDS相关的痴呆、帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化、色素性视网膜炎、脊髓性肌肉萎缩和小脑变性;肾小球肾炎;骨髓发育不良综合征、缺血性损伤相关的心肌梗塞、中风和再灌注损伤、心律失常、动脉粥样硬化、毒素诱导的或酒精相关的肝病,血液病,例如慢性贫血和再生障碍性贫血;肌肉骨骼系统的退行性疾病,例如骨质疏松症和关节炎、阿司匹林敏感性鼻窦炎、囊性纤维化、多发性硬化、肾脏疾病、糖尿病、疼痛、纤维化疾病,例如受损的伤口愈合和肺纤维化;和癌症疼痛。

[0019] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,其用于治疗癌症。在具体实施方案中,所述癌症是人类癌症。在具体实施方案中,所述癌症选自三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌或鳞状细胞癌。

[0020] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,其用于治疗中枢神经系统(CNS)病症。在具体实施方案中,所述中枢神经系统(CNS)病症是帕金森氏病或痴呆。

[0021] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,其用于降解ERK5激酶或降低其量。

[0022] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于治疗增殖性病况的药物中的用途。

[0023] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于治疗以下疾病的药物中的用途:

[0024] a)纤维化疾病,例如受损的伤口愈合、肺纤维化,

[0025] b)炎性疾病,例如银屑病、哮喘,

[0026] c)增殖性病况,例如癌症,如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌、鳞状细胞癌,

[0027] d)糖尿病,

[0028] e)疼痛,或者

[0029] f)中枢神经系统(CNS)病症,例如帕金森氏病、痴呆。

[0030] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于治疗以下疾病的药物中的用途:癌症,例如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌和鳞状细胞癌;炎性疾病,例如系统性红斑狼疮、自身免疫介导的肾小球肾炎、类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、自身免疫性糖尿病、湿疹过敏反应、哮喘、COPD、鼻炎和上呼吸道疾病;心血管疾病,例如心脏肥大、再狭窄、动脉粥样硬化;神经退行性病症,例如阿尔茨海默病、痴呆、AIDS相关的痴呆、帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化、色素性视网膜炎、脊髓性肌肉萎缩和小脑变性;肾小球肾炎;骨髓发育不良综合征、缺血性损伤相关的心肌梗塞、中风和再灌注损伤、心律失常、动脉粥样硬化、毒素诱导的或酒精相关的肝病,血液病,例如慢性贫血和再生障碍性贫血;肌肉骨骼系统的退行性疾病,例如骨质疏松症和关节炎、阿司匹林敏感性鼻窦炎、囊性纤维化、多发性硬化、肾脏疾病、糖尿病、疼痛、纤维化疾病,例如受损的伤口愈合和肺纤维化;和癌症疼痛。

[0031] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。合适地,该药物用于治疗人类癌症。

[0032] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于降解ERK5激酶或降低其量的药物中的用途。

[0033] 另一方面,本发明提供了一种体外或体内降解ERK5的方法,所述方法包括将细胞与有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物接触。

[0034] 另一方面,本发明提供了一种体外或体内抑制细胞增殖的方法,所述方法包括将细胞与有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物接触。

[0035] 另一方面,本发明提供了一种在需要这种治疗的患者中治疗以下疾病的方法:

[0036] a)纤维化疾病,例如受损的伤口愈合、肺纤维化,

[0037] b)炎性疾病,例如银屑病、哮喘,

[0038] c)增殖性病况,例如癌症,如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌、鳞状细胞癌,

[0039] d)糖尿病,

[0040] e)疼痛,或者

[0041] f)中枢神经系统(CNS)病症,例如帕金森氏病、痴呆;

[0042] 所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物。

[0043] 另一方面,本发明提供了一种治疗以下疾病的方法:癌症,例如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌和鳞状细胞癌;炎性疾病,例如系统性红斑狼疮、自身免疫介导的肾小球肾炎、类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、自身免疫性糖尿病、湿疹过敏反应、哮喘、COPD、鼻炎和上呼吸道疾病;心血管疾病,例如心脏肥大、再狭窄、动脉粥样硬化;神经退行性病症,例如阿尔茨海默病、痴呆、AIDS相关的痴呆、帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化、色素性视网膜炎、脊髓性肌肉萎缩和小脑变性;肾小球肾炎;骨髓发育不良综合征、缺血性损伤相关的心肌梗塞、中风和再灌注损伤、心律失常、动脉粥样硬化、毒素诱导的或酒精相关的肝病,血液病,例如慢性贫血和再生障碍性贫血;肌肉骨骼系统的退行性疾病,

例如骨质疏松症和关节炎、阿司匹林敏感性鼻窦炎、囊性纤维化、多发性硬化、肾脏疾病、糖尿病、疼痛、纤维化疾病,例如受损的伤口愈合和肺纤维化;和癌症疼痛。

[0044] 另一方面,本发明提供了一种在需要这种治疗的患者中治疗增殖性病症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物。

[0045] 另一方面,本发明提供了一种在需要这种治疗的患者中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物。

[0046] 本发明进一步提供了一种合成如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的方法。

[0047] 另一个方面,本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其可通过本文定义的合成方法获得,或通过本文定义的合成方法获得,或直接获得。

[0048] 另一方面,本发明提供了如本文所定义的新中间体,其适用于如本文所述的任何一种合成方法。

[0049] 本发明的任何一个特定方面的优选的、合适的和可选的特征也是任何其他方面的优选的、合适的和可选的特征。

具体实施方式

[0050] 定义

[0051] 除非另有说明,否则说明书和权利要求书中使用的下列术语具有以下含义。

[0052] 应当理解,提及“治疗”或“处理”包括预防以及减轻病况的既定症状。因此,“治疗”或“处理”一种状态、病症或病况包括:(1)预防或延迟在可能患有或易患该状态、病症或病况但尚未经历或表现出该状态、病症或病况的临床或亚临床症状的人中发展的该状态、病症或病况的临床症状的出现,(2)抑制该状态、病症或病况,即,阻止、减少或延迟疾病的发展或其复发(在维持治疗的情况下)或其至少一种临床或亚临床症状,或(3)缓解或减轻疾病,即引起状态、病症或病况或其至少一种临床或亚临床症状的消退。

[0053] “治疗有效量”是指当给哺乳动物施用以治疗疾病时,足以实现该疾病治疗的化合物的量。“治疗有效量”将根据化合物、疾病及其严重性以及被治疗的哺乳动物的年龄、体重等而变化。

[0054] 在本说明书中,术语“烷基”包括直链和支链烷基。提到单个烷基如“丙基”时,仅针对直链形式,提到单个支链烷基如“异丙基”时,仅针对支链形式。例如,“(1-6C)烷基”包括(1-4C)烷基、(1-3C)烷基、丙基、异丙基和叔丁基。类似的惯例适用于其它基团,例如“苯基(1-6C)烷基”包括苯基(1-4C)烷基、苄基、1-苯基乙基和2-苯基乙基。

[0055] 单独使用或作为前缀使用的术语“(m-nC)”或“(m-nC)基团”是指具有m至n个碳原子的任何基团。

[0056] “亚烷基”、“亚烯基”或“亚炔基”是位于两个其它化学基团之间并用于连接它们的烷基、烯基或炔基。因此,“(1-6C)亚烷基”是指1-6个碳原子的直链饱和二价烃基或3-6个原子的支链饱和二价烃基,例如亚甲基、亚乙基、亚丙基、2-甲基亚丙基、亚戊基等。

[0057] “(2-6C)亚烯基”是指含有至少一个双键的2-6个碳原子的直链二价烃基或3-6个

碳原子的支链二价烃基,例如亚乙烯基、2,4-戊二烯基等。

[0058] “(2-6C)亚炔基”是指含有至少一个三键的2-6个碳原子的直链二价烃基或3-6个碳原子的支链二价烃基,例如亚乙炔基、亚丙炔基和亚丁炔基等。

[0059] “(3-8C)环烷基”是指含有3-8个碳原子的烃环,例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基或双环[2.2.1]庚基。

[0060] “(3-8C)环烯基”是指含有至少一个双键的烃环,例如环丁烯基、环戊烯基、环己烯基或环庚烯基,如3-环己烯基-1-基或环辛烯基。

[0061] “(3-8C)环烷基-(1-6C)亚烷基”是指共价连接到(1-6C)亚烷基上的(3-8C)环烷基,两者均如本文所定义。

[0062] 术语“卤素”或“卤代”是指氟、氯、溴和碘。

[0063] 术语“杂环基”、“杂环的”或“杂环”是指非芳族饱和或部分饱和的单环、稠合、桥连或螺双环杂环系统。术语杂环基包括单价物质和二价物质。单环杂环包含约3至12个(合适地3至7个)环原子,在环中具有1至5个(合适地1、2或3个)选自氮、氧或硫的杂原子。双环杂环在环中含有7至17个成员原子,合适地为7至12个成员原子。双环杂环包含约7至约17个环原子,合适地为7至12个环原子。双环杂环可以是稠环、螺环或桥环系统。杂环基团的例子包括环醚,例如环氧乙烷基、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、二氧杂环己烷基(dioxanyl)和取代的环醚。含氮杂环包括例如氮杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、四氢三嗪基、四氢吡唑基等。典型的含硫杂环包括四氢噻吩基、二氢-1,3-二硫醇、四氢-2H-噻喃和六氢噻吩。其他杂环包括二氢-氧硫杂戊环基(oxathiolyl)、四氢噁唑基、四氢噁二唑基、四氢二噁唑基、四氢-氧杂噻唑基(oxathiazolyl)、六氢三嗪基、四氢噁嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、四氢嘧啶基、二氧杂环戊烷基(dioxolinyl)、八氢苯并呋喃基、八氢苯并咪唑基和八氢苯并噻唑基。对于含硫杂环,还包括含有SO或SO_2基团的氧化硫杂环。例子包括四氢噻吩基和硫代吗啉基的亚砜和砜形式,例如四氢噻吩1,1-二氧化物和硫代吗啉基1,1-二氧化物。带有1或2个氧代(=O)或硫代(=S)取代基的杂环基的合适值是例如2-氧代吡咯烷基、2-硫代吡咯烷基、2-氧代咪唑烷基、2-硫代咪唑烷基、2-氧代哌啶基、2,5-二氧代吡咯烷基、2,5-二氧代咪唑烷基或2,6-二氧代哌啶基。具体的杂环基是含有1、2或3个选自氮、氧或硫的杂原子的饱和单环3-7元杂环基,例如氮杂环丁烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、吡咯烷基、吗啉基、四氢噻吩基、四氢噻吩基1,1-二氧化物、硫代吗啉基、硫代吗啉基1,1-二氧化物、哌啶基、高哌啶基、哌嗪基或高哌嗪基。如技术人员将理解的,任何杂环可以通过任何合适的原子,例如通过碳或氮原子连接到另一个基团上。然而,本文提及的哌啶基或吗啉代是指通过环氮连接的哌啶-1-基或吗啉-4-基环。

[0064] “桥环系统”是指其中两个环共享两个以上原子的环系统,参见例如Jerry March的《高级有机化学》(Advanced Organic Chemistry),第4版,Wiley Interscience,第131-133页,1992。桥接的杂环基环系统的例子包括氮杂双环[2.2.1]庚烷、2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚烷、氮杂双环[2.2.2]辛烷、氮杂双环[3.2.1]辛烷和奎宁环。

[0065] “杂环基(1-6C)烷基”是指共价连接到(1-6C)亚烷基上的杂环基,两者均如本文所定义。

[0066] 术语“杂芳基”或“杂芳族”是指并入一个或多个(例如1-4个,特别是1、2或3个)选自氮、氧或硫的杂原子的芳族单环、双环或多环。术语杂芳基包括单价物质和二价物质。杂

芳基的例子是含有5-12个环成员,更通常是5-10个环成员的单环和双环基团。杂芳基可以是例如5或6元单环或9或10元双环,例如由稠合的5元环和6元环或两个稠合的6元环形成的双环结构。每个环可以含有最多约4个通常选自氮、硫和氧的杂原子。典型地,杂芳基环将包含最多3个杂原子,更通常最多2个,例如单个杂原子。在一个实施方案中,杂芳基环包含至少一个环氮原子。杂芳基环中的氮原子可以是碱性的,如在咪唑或吡啶的情况下,或者基本上是非碱性的,如在吲哚或吡咯氮的情况下。通常,杂芳基中存在的碱性氮原子数,包括环上的任何氨基取代基,将少于五个。

[0067] 杂芳基的例子包括呋喃基、吡咯基、噻吩基、噁唑基、异噁唑基、咪唑基、吡唑基、噻唑基、异噻唑基、噁二唑基、噻二唑基、三唑基、四唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、1,3,5-三氮烯基(triazenyl)、苯并呋喃基、吲哚基、异吲哚基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、苯并噻唑基、吲唑基、嘌呤基、苯并呋咱基、喹啉基、异喹啉基、喹唑啉基、喹喔啉基、噌嗪基、蝶啶基、萘啶基、咔唑基、吩嗪基、苯并异喹啉基、吡啶并哒嗪基、噻吩并[2,3-b]呋喃基、2H-呋喃并[3,2-b]吡喃基、5H-吡啶并[2,3-d]-o-噁嗪基、1H-吡唑并[4,3-d]噁唑基、4H-咪唑并[4,5-d]噻唑基、吡嗪并[2,3-d]哒嗪基、咪唑并[2,1-b]噻唑基、咪唑并[1,2-b][1,2,4]三嗪基。“杂芳基”还包括部分芳族的双环或多环体系,其中至少一个环是芳环,一个或多个其它环是非芳族的饱和或部分饱和的环,条件是至少一个环含有一个或多个选自氮、氧或硫的杂原子。部分芳族杂芳基的例子包括,例如,四氢异喹啉基、四氢喹啉基、2-氧代-1,2,3,4-四氢喹啉基、二氢苯并噻吩基、二氢苯并呋喃基、2,3-二氢-苯并[1,4]二噁英基(dioxinyl)、苯并[1,3]二氧杂环戊烯基(dioxolyl)、2,2-二氧代-1,3-二氢-2-苯并噻吩基、4,5,6,7-四氢苯并呋喃基、吲哚啉基、1,2,3,4-四氢-1,8-萘啶基、1,2,3,4-四氢吡啶并[2,3-b]吡嗪基和3,4-二氢-2H-吡啶并[3,2-b][1,4]噁嗪基。

[0068] 五元杂芳基的例子包括但不限于吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、呋咱基、噁唑基、噁二唑基、噁三唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡唑基、三唑基和四唑基。

[0069] 六元杂芳基的例子包括但不限于吡啶基、吡嗪基、哒嗪基、嘧啶基和三嗪基。

[0070] 双环杂芳基可以是例如选自以下的基团:

[0071] 与含有1、2或3个环杂原子的5或6元环稠合的苯环;

[0072] 与含有1、2或3个环杂原子的5或6元环稠合的吡啶环;

[0073] 与含有1或2个环杂原子的5或6元环稠合的嘧啶环;

[0074] 与含有1、2或3个环杂原子的5或6元环稠合的吡咯环;

[0075] 与含有1或2个环杂原子的5或6元环稠合的吡唑环;

[0076] 与含有1或2个环杂原子的5或6元环稠合的吡嗪环;

[0077] 与含有1或2个环杂原子的5或6元环稠合的咪唑环;

[0078] 与含有1或2个环杂原子的5或6元环稠合的噁唑环;

[0079] 与含有1或2个环杂原子的5或6元环稠合的异噁唑环;

[0080] 与含有1或2个环杂原子的5或6元环稠合的噻唑环;

[0081] 与含有1或2个环杂原子的5或6元环稠合的异噻唑环;

[0082] 与含有1、2或3个环杂原子的5或6元环稠合的噻吩环;

[0083] 与含有1、2或3个环杂原子的5或6元环稠合的呋喃环;

[0084] 与含有1、2或3个环杂原子的5或6元杂芳环稠合的环己基环;和

[0085] 与含有1、2或3个环杂原子的5或6元杂芳环稠合的环戊基环。

[0086] 含有与五元环稠合的六元环的双环杂芳基的具体例子包括但不限于苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并噻唑基、苯并异噻唑基、异苯并呋喃基、吲哚基、异吲哚基、吲哚嗪基(indolizinyl)、吲哚啉基、异吲哚啉基、嘌呤基(例如腺嘌呤基、鸟嘌呤基)、吲唑基、苯并二氧杂环戊烯基和吡唑并吡啶基。

[0087] 含有两个稠合六元环的双环杂芳基的具体例子包括但不限于喹啉基、异喹啉基、色满基(chromanyl)、硫色满基、色烯基(chromenyl)、异色烯基、色满基、异色满基、苯并二氧杂环己烷基、喹嗪基(quinolizinyl)、苯并噁嗪基、苯并二嗪基、吡啶并吡啶基、喹喔啉基、喹唑啉基、噌啉基、酞嗪基、萘啶基和蝶啶基。

[0088] “杂芳基(1-6C)烷基”是指与(1-6C)亚烷基共价连接的杂芳基,两者均如本文所定义。杂芳基烷基的例子包括吡啶-3-基甲基、3-(苯并呋喃-2-基)丙基等。

[0089] 术语“芳基”是指具有5至12个碳原子的环状或多环芳香环。术语芳基包括单价物质和二价物质。芳基的例子包括但不限于苯基、联苯基、萘基等。在特定的实施方案中,芳基是苯基。

[0090] 术语“芳基(1-6C)烷基”是指与(1-6C)亚烷基共价连接的芳基,两者均如本文所定义。芳基-(1-6C)烷基的例子包括苄基、苯乙基等。

[0091] 本说明书还使用几个复合术语来描述包含一个以上官能性的基团。本领域技术人员将理解这样的术语。例如,杂环基(m-nC)烷基包括被杂环基取代的(m-nC)烷基。

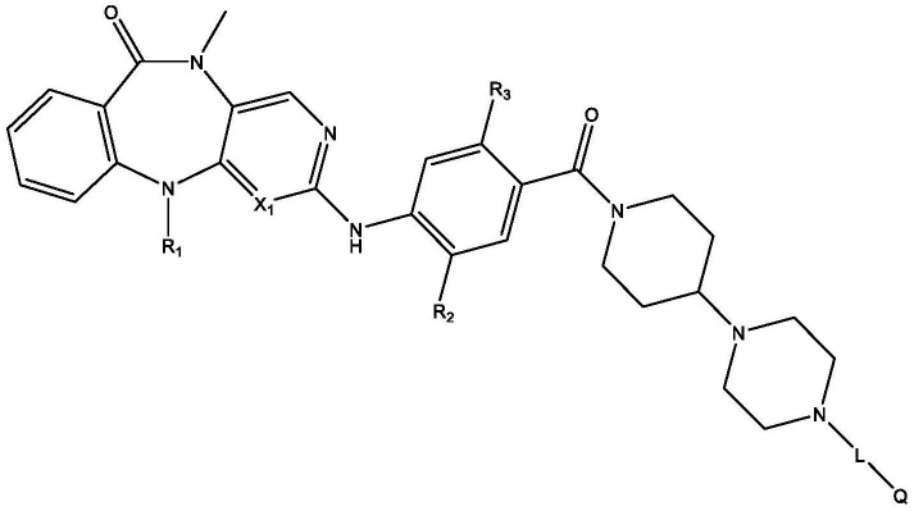
[0092] 术语“任选取代的”是指取代的和未取代的基团、结构或分子。术语“其中R^1基团中的一个/任何CH、CH_2、CH_3基团或杂原子(即NH)任选被取代”合适地表示R^1基团中的(任何)一个氢基团被相关的规定基团取代。

[0093] 当任选的取代基选自“一个或多个”基团时,应理解该定义包括选自一个特定基团的所有取代基或选自两个或多个特定基团的取代基。

[0094] 短语“本发明的化合物”是指本文公开的那些化合物,包括一般的和具体的。

[0095] 本发明的化合物

[0096] 一方面,本发明涉及具有结构式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,如下所示:

[0097] 

式(I)

[0098] 其中

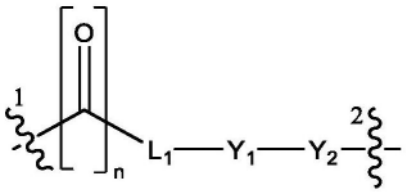
[0099] R_1是-S(O)$_2$-(1-3C)烷基;

[0100] R_2是(1-4C)烷氧基;

[0101] R_3选自氢、氟、甲基、甲氧基、三氟甲基或三氟甲氧基;

[0102] X_1是N或CH;

[0103] L是具有下式的接头:

[0104] 

[0105] 其中:

[0106]  表示与哌嗪环的N原子的连接点;

[0107] 表示与Q的连接点;

[0108] n是0或1;

[0109] L_1是(2-10C)亚烷基接头或具有下式的PEG链

[0110] -[CH_2CH_2-O]$_{1-3}$-[CH_2]$_{1-3}$-;

[0111] Y_1和Y_2一起形成:

[0112] 亚乙炔基(-C≡C-);

[0113] 亚乙基(-CH=CH-);

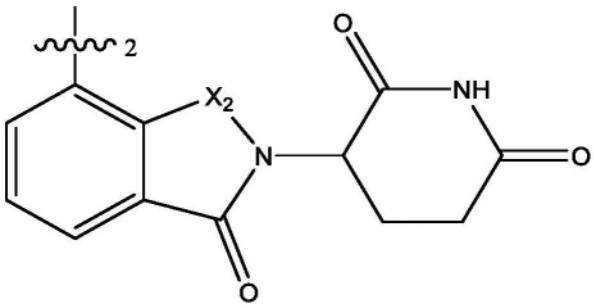
[0114] -CH_2-O-;

[0115] -CH_2-NH-;或者

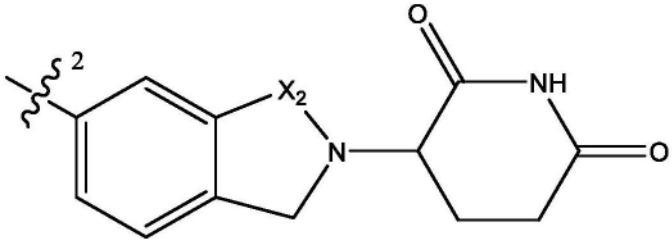
[0116] -CH_2-CH_2-;

[0117] Q选自:

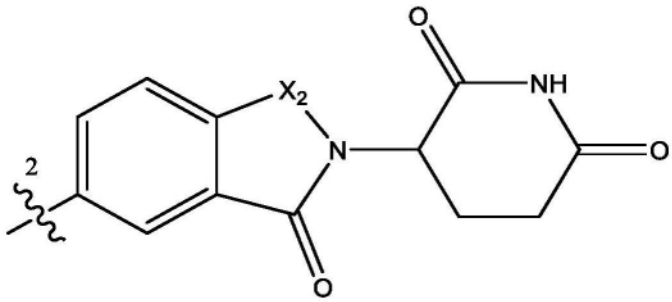
[0118] (i)

[0119] 

[0120] (ii)

[0121] 

[0122] (iii)

[0123] 

[0124] 其中：

[0125] 表示与Y_2或L基团的连接点；

[0126] X_2选自-CH_2-或-C(O)-；条件是当Y_1和Y_2一起形成亚乙炔基

[0127] (-C≡C-)时，X_2不是-C(O)-。

[0128] 本发明的具体化合物包括，例如，式(I)的化合物，或其药学上可接受的盐和/或溶剂化物，其中，除非另有说明，否则R_1、R_2、R_3、L、Q以及任何相关的取代基各自具有上文或下文第(1)至(55)段中定义的任何含义：

[0129] (1)R_1是-$S(O)_2$-CH_3。

[0130] (2)R_2是(1-3C)烷氧基。

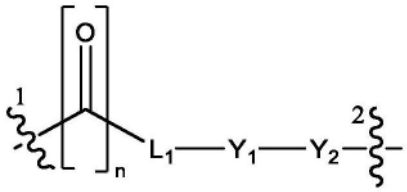
[0131] (3)R_2是乙氧基。

[0132] (4)R_3选自氢、氟或甲基。

[0133] (5)R_3是氢。

[0134] (6)X_1是N。

[0135] (7)L是具有下式的接头：

[0136] 

[0137] 其中：

[0138]  表示与哌嗪环的N原子的连接点；

[0139] 表示与Q的连接点；

[0140] n是0或1；

[0141] L_1是(2-8C)亚烷基接头或具有下式的PEG链

[0142] $-[CH_2CH_2-O]_{1-3}-[CH_2]_{1-2}-$；并且

[0143] Y_1和Y_2一起形成：

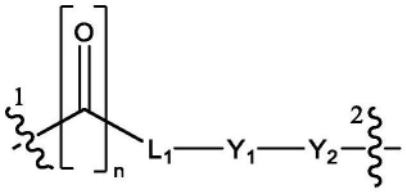
[0144] 亚乙炔基(-C≡C-)；

[0145] $-CH_2-O-$；

[0146] $-CH_2-NH-$；或者

[0147] $-CH_2-CH_2-$。

[0148] (8)L是具有下式的接头：

[0149] 

[0150] 其中：

[0151]  表示与哌嗪环的N原子的连接点；

[0152] 表示与Q的连接点；

[0153] n是0或1；

[0154] L_1是(2-8C)亚烷基接头或具有下式的PEG链

[0155] $-[CH_2CH_2-O]_{1-2}-[CH_2]_{1-2}-$；并且

[0156] Y_1和Y_2一起形成：

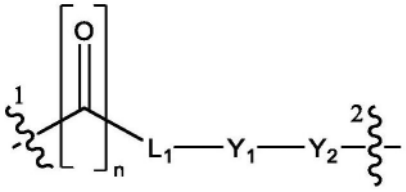
[0157] 亚乙炔基(-C≡C-)；

[0158] $-CH_2-O-$；

[0159] $-CH_2-NH-$；或者

[0160] $-CH_2-CH_2-$。

[0161] (9)L是具有下式的接头：

[0162] 

[0163] 其中：

[0164]  表示与哌嗪环的N原子的连接点；

[0165] 表示与Q的连接点；

[0166] n是0或1；

[0167] L_1是(2-8C)亚烷基接头；并且

[0168] Y_1和Y_2一起形成：

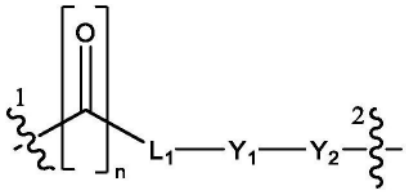
[0169] 亚乙炔基(-C≡C-)；

[0170] $-CH_2-O-$；

[0171] $-CH_2-NH-$；或者

[0172] $-CH_2-CH_2-$。

[0173] (10)L是具有下式的接头：

[0174] 

[0175] 其中：

[0176]  表示与哌嗪环的N原子的连接点；

[0177] 表示与Q的连接点；

[0178] n是0；

[0179] L_1是(2-8C)亚烷基接头或具有下式的PEG链

[0180] $-[CH_2CH_2-O]_{1-2}-[CH_2]_{1-2}-$；并且

[0181] Y_1和Y_2一起形成：

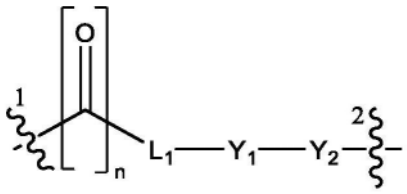
[0182] 亚乙炔基(-C≡C-)；

[0183] $-CH_2-O-$；

[0184] $-CH_2-NH-$；或者

[0185] $-CH_2-CH_2-$。

[0186] (11)L是具有下式的接头：

[0187] 

[0188] 其中：

[0189]  表示与哌嗪环的N原子的连接点；

[0190] 表示与Q的连接点；

[0191] n是0或1；

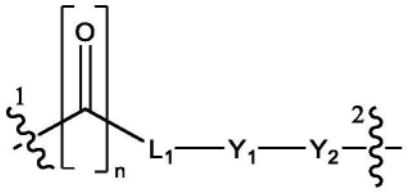
[0192] L_1是(2-8C)亚烷基接头或具有下式的PEG链

[0193] $-[CH_2CH_2-O]_{1-2}-[CH_2]_{1-2}-$；并且

[0194] Y_1和Y_2一起形成：

[0195] 亚乙炔基(-C≡C-)。

[0196] (12)L是具有下式的接头：

[0197] 

[0198] 其中：

[0199]  表示与哌嗪环的N原子的连接点；

[0200] 表示与Q的连接点；

[0201] n是0；

[0202] L_1是(3-8C)亚烷基接头；并且

[0203] Y_1和Y_2一起形成：

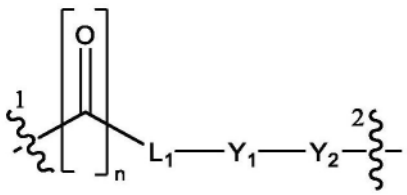
[0204] 亚乙炔基(-C≡C-)；

[0205] $-CH_2-O-$；

[0206] $-CH_2-NH-$；或者

[0207] $-CH_2-CH_2-$。

[0208] (13)L是具有下式的接头：

[0209] 

[0210] 其中：

[0211]  表示与哌嗪环的N原子的连接点；

[0212] 表示与Q的连接点；

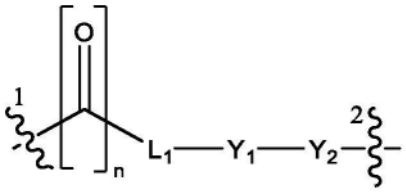
[0213] n是0；

[0214] L_1是(3-8C)亚烷基接头；并且

[0215] Y_1和Y_2一起形成：

[0216] 亚乙炔基(-C≡C-)。

[0217] (14)L是具有下式的接头：

[0218] 

[0219] 其中：

[0220]  表示与哌嗪环的N原子的连接点；

[0221] 表示与Q的连接点；

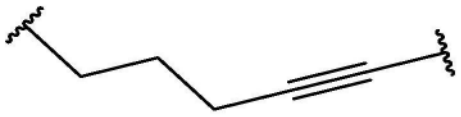
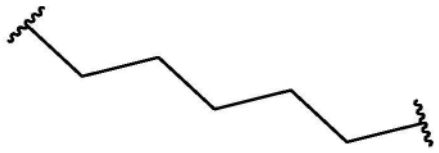
[0222] n是0；

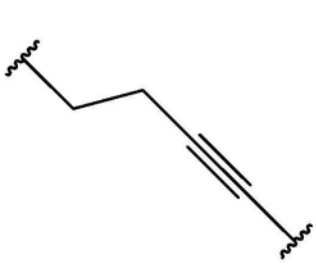
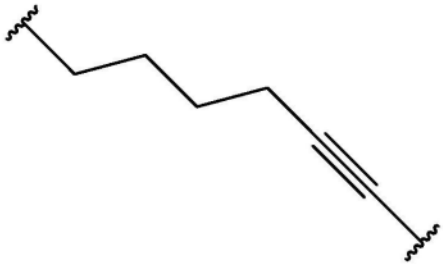
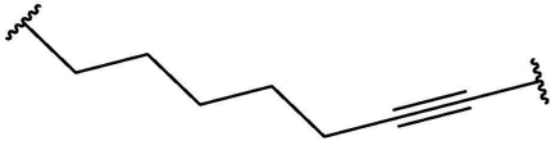
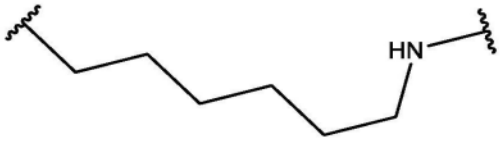
[0223] L_1是(5-8C)亚烷基接头；并且

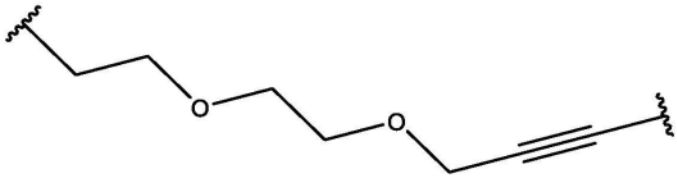
[0224] Y_1和Y_2一起形成：

[0225] 亚乙炔基(-C≡C-)。

[0226] (15)L是具有选自以下的式的接头：

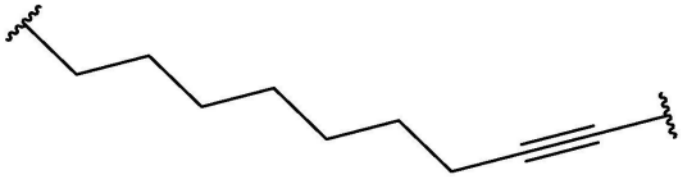
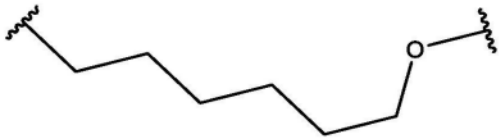
[0227] ，，

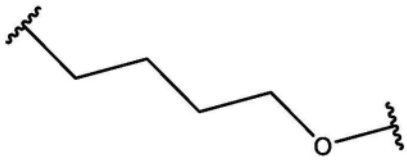

，

，

，


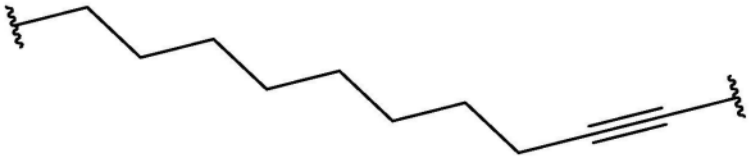
，


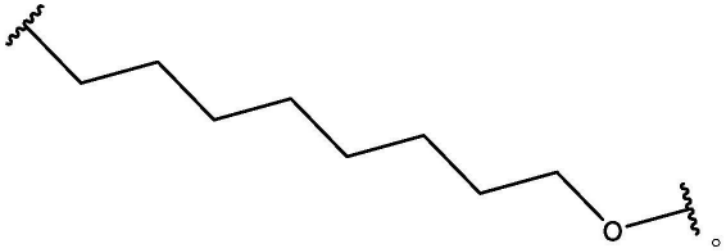
，

[0228]

，

，


，


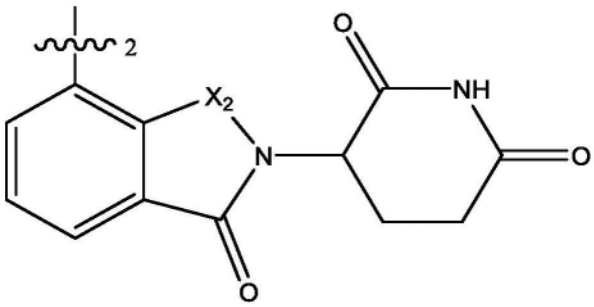
，

或

[0229]


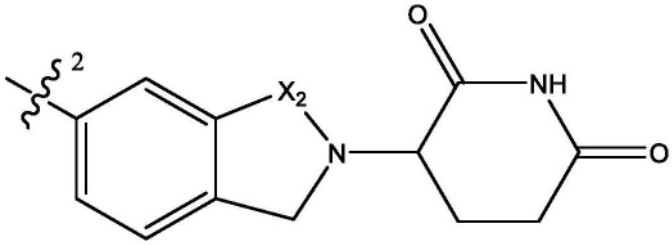
。

[0230] (16)Q选自：

[0231] (i)

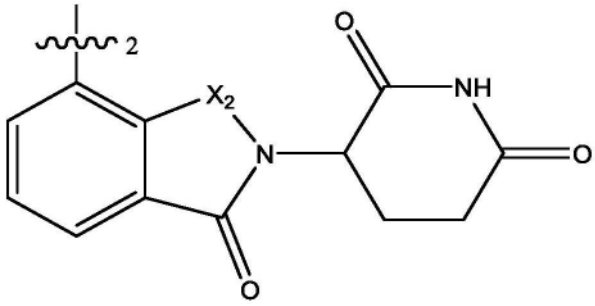
[0232]  或者

[0233] (ii)

[0234] 

[0235] 其中X_2如本文所定义。

[0236] (17)Q是:

[0237] 

[0238] 其中X_2如本文所定义。

[0239] 合适地,本文定义的杂芳基或杂环基是包含一个、两个或三个选自N、O或S的杂原子的单环杂芳基或杂环基。

[0240] 合适地,杂芳基是包含一个、两个或三个选自N、O或S的杂原子的5元或6元杂芳基环。

[0241] 合适地,杂环基是包含一个、两个或三个选自N、O或S的杂原子的4、5或6元杂环基环。最合适地,杂环基是包含一个、两个或三个选自N、O或S的杂原子的5或6元环[例如吗啉基(例如4-吗啉基)、氧杂环丁烷、甲基氧杂环丁烷(例如3-甲基氧杂环丁烷)、吡咯烷酮(例如吡咯烷-2-酮)]。

[0242] 合适地,芳基是苯基。

[0243] 合适地,R_1如以上段落(1)中所定义,即R_1是$-S(O)_2-CH_3$。

[0244] 合适地,R_2如以上段落(2)和(3)中所定义。最合适地,R_2如段落(3)中所定义,即R_2是乙氧基。

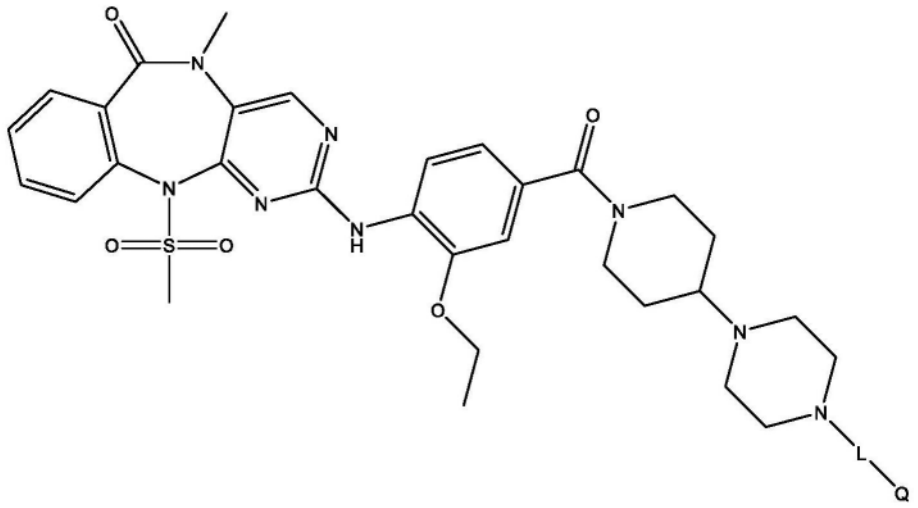
[0245] 合适地,R_3如以上段落(4)和(5)中所定义。最合适地,R_3如段落(5)中所定义,即R_3是氢。

[0246] 合适地,X_1如段落(6)中所定义,即X_1是N。

[0247] 合适地,L如以上段落(7)至(15)中任一段所定义。更合适地,L如段落(10)至(15)中任一段所定义。最合适地,L如段落(14)或(15)中所定义。

[0248] 合适地,Q如段落(16)或(17)中所定义。最合适地,Q如段落(17)中所定义。

[0249] 在本发明的一组特定化合物中,R_1如段落(1)中所定义,R_2如段落(3)中所定义,R_3如段落(5)中所定义,X_1如段落(6)中所定义;即该化合物具有如下所示的结构式(Ia)(式(I)的子定义):

[0250] 

[0251] 式(Ia)

[0252] 其中L和Q如本文所定义。

[0253] 在式(Ia)化合物的一个实施方案中:

[0254] L如以上段落(7)至(15)中任一段所定义;

[0255] Q如以上段落(16)或(17)中所定义。

[0256] 在式(Ia)化合物的一个实施方案中:

[0257] L如以上段落(10)至(15)中任一段所定义;

[0258] Q如以上段落(16)或(17)中所定义。

[0259] 在式(Ia)化合物的一个实施方案中:

[0260] L如以上段落(10)至(15)中任一段所定义;

[0261] Q如以上段落(17)中所定义。

[0262] 在式(Ia)化合物的一个实施方案中:

[0263] L如以上段落(14)或(15)中所定义;

[0264] Q如以上段落(17)中所定义。

[0265] 本发明的特定化合物包括在本申请中举例说明的任何化合物,或其药学上可接受的盐或溶剂化物,特别是下列任何化合物:

[0266] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-(5-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)戊基)异吲哚啉-1,3-二酮;

[0267] 3-(4-(5-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)戊-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

[0268] 3-(4-(4-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)丁-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

[0269] 3-(4-(6-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)己-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

[0270] 3-(4-(7-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)庚-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

[0271] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)己基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮;

[0272] 3-(4-(3-(2-(2-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)乙氧基)乙氧基)丙-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

[0273] 3-(4-(8-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)辛-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

[0274] 3-(4-(9-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)壬-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

[0275] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)己基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮;

[0276] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-(4-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)丁氧基)异吲哚啉-1,3-二酮;

[0277] 3-(4-(10-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)癸-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮;

[0278] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((8-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)辛基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮;

[0279] 或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

[0280] 通常选择构成式(I)的化合物的各种官能团和取代基,使得式(I)的化合物的分子量不超过1000。更通常地,化合物的分子量将小于900,例如小于800,或小于750,或小于700,或小于650。更优选地,分子量小于600,并且例如为550或更小。

[0281] 本发明化合物的合适的药学上可接受的盐是例如具有足够的碱性的本发明化合物的酸加成盐,例如,与例如无机酸或有机酸,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、三氟乙酸、甲

酸、柠檬酸、甲烷磺酸或马来酸的酸加成盐。此外,足够酸性的本发明化合物的合适的药学上可接受的盐是碱金属盐,例如钠盐或钾盐,碱土金属盐,例如钙盐或镁盐,铵盐或与提供药学上可接受的阳离子的有机碱形成的盐,例如与甲胺、二甲胺、三甲胺、哌啶、吗啉或三-(2-羟乙基)胺形成的盐。

[0282] 具有相同分子式但其原子的键合性质或顺序或原子在空间的排列不同的化合物被称为“异构体”。空间原子排列不同的异构体被称为“立体异构体”。彼此不为镜像的立体异构体被称为“非对映异构体”,而彼此为非重叠镜像的那些被称为“对映异构体”。当化合物具有不对称中心,例如它键合到四个不同基团时,可能存在一对对映异构体。对映异构体可通过其不对称中心的绝对构型来表征并且通过Cahn和Prelog的R-和S-顺序法则,或通过其中分子使偏振光平面旋转并且被指定为右旋或左旋的方式(即,分别以(+)或(-)-异构体)来描述。手性化合物可以以单独的对映异构体或以其混合物存在。含有等比例对映异构体的混合物被称为“外消旋混合物”。

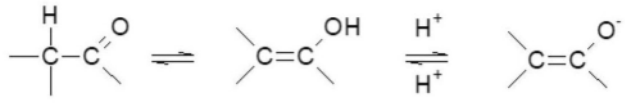
[0283] 本发明的化合物可以具有一个或多个不对称中心;因此,这种化合物可以以单独的(R)或(S)立体异构体或其混合物的形式生产。除非另有说明,说明书和权利要求书中对特定化合物的描述或命名旨在包括其单个对映异构体及其混合物、外消旋或其他形式。测定立体化学和分离立体异构体的方法是本领域众所周知的(参见“高级有机化学”第4章的讨论,第4版,J.March,John Wiley and Sons,New York,2001),例如通过从光学活性原料合成或通过拆分外消旋形式。本发明的一些化合物可以具有几何异构中心(E和Z异构体)。应当理解,本发明包括所有具有抗增殖活性的旋光异构体、非对映异构体和几何异构体及其混合物。

[0284] 本发明还包括本文定义的本发明的化合物,其包含一个或多个同位素取代。例如,H可以是任何同位素形式,包括^{1}H、^{2}H(D)和^{3}H(T);C可以是任何同位素形式,包括^{12}C、^{13}C和^{14}C;并且O可以是任何同位素形式,包括^{16}O和^{18}O等等。

[0285] 还应当理解,某些式(I)的化合物可以以溶剂化和非溶剂化形式存在,例如水合形式。应当理解,本发明包括所有这些具有抗增殖活性的溶剂化形式。

[0286] 还应当理解,某些式(I)的化合物可能表现出多态性,并且本发明包括所有这些具有抗增殖活性的形式。

[0287] 式(I)的化合物可以以许多不同的互变异构形式存在,提及式(I)的化合物时包括所有这些形式。为了避免疑问,当一种化合物可以以几种互变异构形式中的一种存在,并且只具体描述或显示了一种时,所有其它的都包括在式(I)中。互变异构形式的例子包括酮-、烯醇-和烯醇盐-形式,例如以下互变异构体对:酮/烯醇(如下所示)、亚胺/烯胺、酰胺/亚氨基醇、脒/脒、亚硝基/肟、硫酮/烯硫醇和硝基/酸-硝基。

[0288] 

[0289] 含有胺官能团的式(I)的化合物也可能形成N-氧化物。本文提及的含有胺官能团的式(I)的化合物也包括N-氧化物。当化合物含有几个胺官能团时,一个或一个以上的氮原子可以被氧化形成N-氧化物。N-氧化物的具体例子是叔胺或含氮杂环的氮原子的N-氧化

物。N-氧化物可以通过用氧化剂(例如过氧化氢或过酸(如过氧羧酸))处理相应的胺来形成,参见例如Jerry March的《高级有机化学》,第4版,Wiley Interscience,pages。更具体地说,N-氧化物可以通过L.W.Deady(Syn.Comm.1977,7,509-514)的程序制备,其中胺化合物与间氯过氧苯甲酸(mCPBA)在例如惰性溶剂(例如二氯甲烷)中反应。

[0290] 式(I)的化合物可以以前药的形式施用,该前药在人体或动物体内分解释放出本发明的化合物。前药可用于改变本发明化合物的物理性质和/或药物代谢动力学性质。当本发明的化合物含有合适的基团或取代基时,可以形成前药,改性基团可以连接到该基团或取代基上。前药的例子包括可在式(I)的化合物的羧基或羟基形成的体内可裂解酯衍生物和可在式(I)的化合物的羧基或氨基形成的体内可裂解酰胺衍生物。

[0291] 因此,本发明包括如上定义的式(I)的那些化合物,当通过有机合成获得时,以及当通过其前药的裂解在人体或动物体内获得时。因此,本发明包括通过有机合成方法产生的式(I)的那些化合物,以及通过前体化合物的代谢在人体或动物体内产生的此类化合物,即式(I)的化合物可以是合成产生的化合物或代谢产生的化合物。

[0292] 式(I)的化合物的合适的药学上可接受的前药是基于合理的医学判断的药物,其适于对人或动物体施用,而没有不期望的药理活性和过度的毒性。

[0293] 已经描述了各种形式的前药,例如在以下文件中:

[0294] a)Methodsin Enzymology,Vol.42,p.309-396,edited by K.Widder,et al.(Academic Press,1985);

[0295] b)Design of Pro-drugs,edited by H.Bundgaard,(Elsevier,1985);

[0296] c)A Textbook of Drug Design and Development,edited by Krogsgaard-Larsen and H.Bundgaard,Chapter 5“Design and Application of Pro-drugs”,by H.Bundgaard p.113-191(1991);

[0297] d)H.Bundgaard,Advanced Drug Delivery Reviews,8,1-38(1992);

[0298] e)H.Bundgaard,et al.,Journal of Pharmaceutical Sciences,77,285(1988);

[0299] f)N.Kakeya,et al.,Chem.Pharm.Bull.,32,692(1984);

[0300] g)T.Higuchi and V.Stella,“Pro-Drugs as Novel Delivery Systems”,A.C.S.Symposium Series,Volume 14;和

[0301] h)E.Roche(editor),“Bioreversible Carriers in Drug Design”,Pergamon Press,1987。

[0302] 具有羧基的式(I)的化合物的合适的药学上可接受的前药是例如其体内可裂解的酯。含有羧基的式(I)的化合物的体内可裂解的酯是,例如,在人体或动物体内裂解产生母体酸的药学上可接受的酯。羧基的合适的药学上可接受的酯包括C_{1-6}烷基酯,例如甲基、乙基和叔丁基,C_{1-6}烷氧基甲酯,例如甲氧基甲酯,C_{1-6}烷酰氧基甲酯,例如新戊酰氧基甲酯、3-邻苯二甲酰基酯(3-phthalidyl ester),C_{3-8}环烷基羰基氧基-C_{1-6}烷基酯,例如环戊基羰基氧基甲酯和1-环己基羰基氧基乙酯,2-氧代-1,3-二氧杂环戊烯基甲酯(2-oxo-1,3-dioxolenylmethyl ester),例如5-甲基-2-氧代-1,3-二氧杂环戊烯-4-基甲酯,和C_{1-6}烷氧基羰基氧基-C_{1-6}烷基酯,例如甲氧基羰基氧基甲酯和1-甲氧基羰基氧基乙酯。

[0303] 具有羟基的式(I)的化合物的合适的药学上可接受的前药是例如其体内可裂解的酯或醚。含有羟基的式(I)的化合物的体内可裂解的酯或醚是,例如,在人体或动物体内裂

解产生母体羟基化合物的药学上可接受的酯或醚。羟基的合适的药学上可接受的成酯基团包括无机酯,例如磷酸酯(包括磷酰胺环酯)。羟基的其它合适的药学上可接受的成酯基团包括C_{1-10}烷酰基,例如乙酰基、苯甲酰基、苯乙酰基和取代的苯甲酰基和苯乙酰基,C_{1-10}烷氧羰基,例如乙氧羰基、N,N-$(C_{1-6})_2$氨基甲酰基、2-二烷基氨基乙酰基和2-羧基乙酰基。苯乙酰基和苯甲酰基上的环取代基的例子包括氨基甲基、N-烷基氨基甲基、N,N-二烷基氨基甲基、吗啉代甲基、哌嗪-1-基甲基和4-(C_{1-4}烷基)哌嗪-1-基甲基。羟基的合适的药学上可接受的成醚基团包括α-酰氧基烷基,例如乙酰氧基甲基和新戊酰氧基甲基。

[0304] 具有羧基的式(I)的化合物的合适的药学上可接受的前药是例如其体内可裂解的酰胺,例如与胺形成的酰胺,所述胺例如氨,C_{1-4}烷基胺例如甲胺,$(C_{1-4}$烷基$)_2$胺,例如二甲胺、N-乙基-N-甲胺或二乙胺,C_{1-4}烷氧基-C_{2-4}烷基胺,例如2-甲氧基乙胺,苯基-C_{1-4}烷基胺,例如苄胺,以及氨基酸,例如甘氨酸或其酯。

[0305] 具有氨基的式(I)的化合物的合适的药学上可接受的前药是例如其体内可裂解的酰胺衍生物。氨基的合适的药学上可接受的酰胺包括,例如由C_{1-10}烷酰基形成的酰胺,所述C_{1-10}烷酰基例如乙酰基、苯甲酰基、苯乙酰基和取代的苯甲酰基和苯乙酰基。苯乙酰基和苯甲酰基上的环取代基的例子包括氨基甲基、N-烷基氨基甲基、N,N-二烷基氨基甲基、吗啉代甲基、哌嗪-1-基甲基和4-(C_{1-4}烷基)哌嗪-1-基甲基。

[0306] 式(I)的化合物的体内作用可部分通过施用式(I)的化合物后在人体或动物体内形成的一种或多种代谢物来发挥。如上所述,式(I)的化合物的体内作用也可以通过前体化合物(前药)的代谢来发挥。

[0307] 尽管本发明可以通过任选的、优选的或合适的特征或以特定实施方案的方式涉及本文定义的任何化合物或特定化合物组,但是本发明也可以涉及明确排除所述任选的、优选的或合适的特征或特定实施方案的任何化合物或特定化合物组。

[0308] 合适地,本发明排除了不具有本文定义的生物活性的任何单个化合物。

[0309] 合成

[0310] 本发明的化合物可以通过本领域已知的任何合适的技术制备。制备这些化合物的具体方法在所附实施例中进一步描述。

[0311] 在本文所述合成方法的描述中和在用于制备原料的任何参考合成方法中,应该理解的是,本领域技术人员可以选择所有提出的反应条件,包括选择溶剂、反应气氛、反应温度、实验持续时间和后处理程序。

[0312] 有机合成领域的技术人员可以理解,分子不同部分上存在的官能性必须与所用的试剂和反应条件相适应。

[0313] 应当理解,在本文定义的方法中合成本发明化合物的过程中,或者在合成某些原料的过程中,可能需要保护某些取代基以防止它们发生不希望的反应。熟练的化学家会理解何时需要这种保护,以及如何将这种保护基团置于适当的位置,然后再除去。

[0314] 有关保护基团的例子,请参阅有关该主题的许多一般文本之一,例如Theodora Green的《有机合成中的保护基团》(Protective Groups in Organic Synthesis);(出版商:John Wiley&Sons)。保护基团可以通过文献中描述的或熟练的化学家已知的适合于除去所讨论的保护基团的任何方便的方法除去,选择这样的方法以便在对分子中其他基团的干扰最小的情况下实现保护基团的去除。

[0315] 因此,如果反应物包括例如氨基、羧基或羟基等基团,则在本文提及的一些反应中可能需要保护该基团。

[0316] 举例来说,氨基或烷基氨基的合适保护基团是例如酰基,例如烷酰基,例如乙酰基,烷氧羰基,例如甲氧羰基、乙氧羰基或叔丁氧羰基,芳基甲氧羰基,例如苄氧羰基,或芳酰基,例如苯甲酰基。上述保护基团的去保护条件必然随着保护基团的选择而变化。因此,例如,酰基如烷酰基或烷氧羰基或芳酰基可通过例如用合适的碱如碱金属氢氧化物如氢氧化锂或氢氧化钠水解来除去。或者,酰基如叔丁氧羰基可例如通过用合适的酸如盐酸、硫酸或磷酸或三氟乙酸处理而除去,芳基甲氧羰基如苄氧羰基可例如通过在催化剂如碳载钯上氢化,或通过用路易斯酸如三(三氟乙酸)硼烷处理而除去。伯氨基的合适的替代保护基团是例如邻苯二甲酰基,其可以通过用烷基胺,例如二甲基氨基丙胺,或用肼处理来除去。

[0317] 羟基的合适保护基团是例如酰基,例如烷酰基如乙酰基,芳酰基如苯甲酰基,或芳基甲基如苄基。上述保护基团的去保护条件将必然随着保护基团的选择而变化。因此,例如,酰基如烷酰基或芳酰基可以例如通过用合适的碱如碱金属氢氧化物如氢氧化锂、氢氧化钠或氨水解来除去。或者,可以通过例如在催化剂如碳载钯上氢化来除去芳基甲基如苄基。

[0318] 羧基的合适保护基团是例如酯化基团,例如可以通过例如用碱如氢氧化钠水解除去的甲基或乙基,或者例如可以通过例如用酸如有机酸如三氟乙酸处理除去的叔丁基,或者例如可以通过例如在催化剂如碳载钯上氢化除去的苄基。

[0319] 树脂也可以用作保护基团。

[0320] 用于合成式(I)的化合物的方法将根据R_1、R_2、R_3、X_1、L和Q,以及任何与其相关的取代基的性质而变化。它们的合适制备方法在所附实施例中进一步描述。

[0321] 一旦通过本文定义的任何一种方法合成了式(I)的化合物,该方法可进一步包括以下附加步骤:

[0322] (i)除去任何存在的保护基团;

[0323] (ii)将式(I)的化合物转化成另一种式(I)的化合物;

[0324] (iii)形成其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物;和/或

[0325] (iv)形成其前药。

[0326] 上述(ii)的一个例子是当合成式(I)的化合物时,然后R_1、R_2、R_3、X_1、L和Q的一个或多个基团可以进一步反应以改变该基团的性质并提供替代的式(I)的化合物。例如,该化合物可以反应将R_3转变成除氢以外的取代基。

[0327] 所得式(I)的化合物可用本领域熟知的技术分离和纯化。

[0328] 生物活性

[0329] 在所附的生物学实施例部分中描述的测定可用于测量本发明化合物的药理作用。参照附图:

[0330] 图1显示了蛋白质印迹数据,证明了在不同OS1浓度下MDA-MB-468中ERK5的水平。图表显示了相对于β-肌动蛋白的蛋白质水平的量化。左图显示不同OS1浓度下的ERK5,右图显示不同OS1浓度下的BRD4水平。图2显示了在不同浓度的CE207、OS3和OS4下,在MDA_MB-468中ERK5蛋白质印迹和ERK5水平相对于β-肌动蛋白的图解定量。

[0331] 图3显示了在不同浓度的OS6和OS7下,在MDA-MB-468中ERK5蛋白质印迹和ERK5水

平相对于β-肌动蛋白的图解定量。

[0332] 图4显示了在不同浓度的OS9、OS10和OS11下,在MDA-MB-468中ERK5蛋白质印迹和ERK5水平相对于β-肌动蛋白的图解定量。

[0333] 图5显示了在不同浓度的OS12、OS13和OS14下,在MDA_MB-468中ERK5蛋白质印迹和ERK5水平相对于β-肌动蛋白的图解定量。

[0334] 图6显示了在三阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-468中,响应于不同浓度的OS17,BRD4、ERK5和β-肌动蛋白的蛋白质印迹。标准化为β-肌动蛋白的ERK5的相对蛋白水平图示于右侧图表。

[0335] 图7显示了在不同浓度的OS11、OS13和OS17下,ERK5相对于β-肌动蛋白的相对蛋白水平。

[0336] 图8显示了在三种三阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MDA-MB-468和SUM159中,响应于不同浓度的OS1,ERK5、ERK5的磷酸化形式、ERK5的上游激活剂MEK5以及BRD4、ERK1/2和β-肌动蛋白的蛋白质印迹。标准化为β-肌动蛋白的相对蛋白水平图示于右侧图表。

[0337] 图9显示了在三种三阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MDA-MB-468和SUM159中,响应于1μM OS1或2.5μM AX15836(ERK5激酶抑制剂5,11-二氢-2-[[2-乙氧基-4-[[4-(4-甲基-1-哌嗪基)-1-哌啶基]羰基]苯基]氨基]-5-甲基,11-(甲磺酰基)-6H-嘧啶并[4,5-b][1,4]苯并二氮杂环庚烯-6-酮),ERK5、BRD4、MEK5和β-肌动蛋白的蛋白质印迹,显示了单剂量OS1的作用持续时间和每48小时重复添加OS1的作用,最长2周。ERK5激酶抑制剂AX15836用作比较。

[0338] 图10显示了1μM OS1或2.5μM AX15836对ERK5水平和三种三阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MDA-MB-468和SUM159的形态的影响的免疫荧光图像。

[0339] 图11显示了在三种三阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MDA-MB-468和SUM159中,响应于0.1或1μM OS1处理24小时,EMT、血管生成和炎症调节因子的相对mRNA水平。将结果标准化为内部加载对照PGK1或ACTB。

[0340] 图12和13分别显示了OS1和OS11与WO2021061894的实施例7的比较。

[0341] 图14A显示了OS11在体内肿瘤区室和PBMC中有效敲低ERK5。图14B

[0342] 显示了OS11具有等同于PD1抑制的抗肿瘤作用,并且OS11与PD1抑制的组合治疗没有超过任一药剂单独作用的进一步作用。

[0343] 尽管如预期的那样,式(I)的化合物的药理学性质随结构变化而变化,但发现本发明的化合物在这些测定中是有活性的。

[0344] 药物组合物

[0345] 根据本发明的另一方面,提供了一种药物组合物,其包含上文定义的本发明化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,以及药学上可接受的稀释剂或载体。

[0346] 本发明的组合物可以是适合于口服使用的形式(例如作为片剂、锭剂、硬胶囊或软胶囊、水悬浮液或油性悬浮液、乳剂、可分散的粉末或颗粒、糖浆或酏剂)、适合于局部使用的形式(例如作为乳膏、软膏、凝胶或水或油性溶液或悬浮液)、适合于通过吸入施用的形式(例如作为细碎粉末或液体气雾剂)、适合于通过吹入施用的形式(例如作为细碎粉末)或适合于肠胃外施用的形式(例如作为用于静脉内、皮下、肌内、腹膜内或肌内给药的无菌水溶液或油性溶液,或作为用于直肠给药的栓剂)。

[0347] 本发明的组合物可以通过使用本领域公知的常规药物赋形剂的常规方法获得。因此,用于口服的组合物可以包含例如一种或多种着色剂、甜味剂、调味剂和/或防腐剂。

[0348] 用于治疗的本发明化合物的有效量是足以治疗或预防本文所指的增殖性病况、减缓其进展和/或减轻与该病况相关的症状的量。

[0349] 与一种或多种赋形剂组合以产生单一剂型的活性成分的量必然根据所治疗的个体和特定的施用途径而变化。例如,用于人类口服施用的制剂通常包含例如0.5mg至0.5g的活性剂(更合适地0.5至100mg,例如1至30mg),与适当且方便量的赋形剂混合,所述赋形剂可以占总组合物重量的约5%至约98%。

[0350] 根据众所周知的医学原理,用于治疗或预防目的的式(I)化合物的剂量大小将根据病况的性质和严重程度、动物或患者的年龄和性别以及施用途径而自然变化。

[0351] 在将本发明的化合物用于治疗或预防目的时,通常施用所述化合物,以便获得例如0.1mg/kg至75mg/kg体重范围内的每日剂量(如果需要的话以分剂量给药)。一般来说,当采用胃肠外途径时,将施用较低的剂量。因此,例如,对于静脉内或腹膜内施用,通常使用0.1mg/kg至30mg/kg体重范围内的剂量。同样,对于吸入施用,将使用例如0.05mg/kg至25mg/kg体重范围内的剂量。口服施用也是合适的,尤其是片剂形式。通常,单位剂型将含有约0.5mg至0.5g的本发明的化合物。

[0352] 治疗用途和应用

[0353] 本发明提供了作为ERK5降解剂的化合物。

[0354] 因此,本发明提供了一种体外或体内降低ERK5酶活性的方法,所述方法包括将细胞与有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物接触。

[0355] 本发明还提供了一种治疗疾病或病症的方法,其中在需要这种治疗的患者中涉及ERK5活性,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,或药物组合物。

[0356] 本发明提供了一种体外或体内抑制细胞增殖的方法,所述方法包括将细胞与有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物接触。

[0357] 本发明提供了一种治疗以下疾病的方法:癌症,例如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌和鳞状细胞癌;炎性疾病,例如系统性红斑狼疮、自身免疫介导的肾小球肾炎、类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、自身免疫性糖尿病、湿疹过敏反应、哮喘、COPD、鼻炎和上呼吸道疾病;心血管疾病,例如心脏肥大、再狭窄、动脉粥样硬化;神经退行性病症,例如阿尔茨海默病、痴呆、AIDS相关的痴呆、帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化、色素性视网膜炎、脊髓性肌肉萎缩和小脑变性;肾小球肾炎;骨髓发育不良综合征、缺血性损伤相关的心肌梗塞、中风和再灌注损伤、心律失常、动脉粥样硬化、毒素诱导的或酒精相关的肝病,血液病,例如慢性贫血和再生障碍性贫血;肌肉骨骼系统的退行性疾病,例如骨质疏松症和关节炎、阿司匹林敏感性鼻窦炎、囊性纤维化、多发性硬化、肾脏疾病、糖尿病、疼痛、纤维化疾病,例如受损的伤口愈合和肺纤维化;和癌症疼痛。

[0358] 本发明提供了一种在需要这种治疗的患者中治疗以下疾病的方法:

[0359] a)纤维化疾病,例如受损的伤口愈合、肺纤维化,

[0360] b)炎性疾病,例如银屑病、哮喘,

[0361] c)增殖性病况,例如癌症,如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、

肺癌、鳞状细胞癌，

[0362] d)糖尿病，

[0363] e)疼痛，或者

[0364] f)中枢神经系统(CNS)病症，例如帕金森氏病、痴呆；

[0365] 所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或药物组合物。

[0366] 本发明提供了一种在需要这种治疗的患者中治疗增殖性病症的方法，所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，或药物组合物。

[0367] 本发明提供了一种在需要这种治疗的患者中治疗癌症的方法，所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，或药物组合物。合适地，所述癌症选自三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌或鳞状细胞癌。

[0368] 本发明提供了一种在需要这种治疗的患者中治疗中枢神经系统(CNS)病症的方法，所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，或药物组合物。合适地，所述中枢神经系统(CNS)病症是帕金森氏病或痴呆。

[0369] 本发明提供了用于治疗的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，或药物组合物。

[0370] 本发明提供了用于治疗增殖性病况的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，或药物组合物。

[0371] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或如本文所定义的药物组合物，其用于治疗癌症，例如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌和鳞状细胞癌；炎性疾病，例如系统性红斑狼疮、自身免疫介导的肾小球肾炎、类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、自身免疫性糖尿病、湿疹过敏反应、哮喘、COPD、鼻炎和上呼吸道疾病；心血管疾病，例如心脏肥大、再狭窄、动脉粥样硬化；神经退行性病症，例如阿尔茨海默病、痴呆、AIDS相关的痴呆、帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化、色素性视网膜炎、脊髓性肌肉萎缩和小脑变性；肾小球肾炎；骨髓发育不良综合征、缺血性损伤相关的心肌梗塞、中风和再灌注损伤、心律失常、动脉粥样硬化、毒素诱导的或酒精相关的肝病，血液病，例如慢性贫血和再生障碍性贫血；肌肉骨骼系统的退行性疾病，例如骨质疏松症和关节炎、阿司匹林敏感性鼻窦炎、囊性纤维化、多发性硬化、肾脏疾病、糖尿病、疼痛、纤维化疾病，例如受损的伤口愈合和肺纤维化；和癌症疼痛。

[0372] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，或药物组合物，其用于治疗：

[0373] a)纤维化疾病，例如受损的伤口愈合、肺纤维化，

[0374] b)炎性疾病，例如银屑病、哮喘，

[0375] c)增殖性病况，例如癌症，如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌、鳞状细胞癌，

[0376] d)糖尿病，

[0377] e)疼痛,或者

[0378] f)中枢神经系统(CNS)病症,例如帕金森氏病、痴呆。

[0379] 本发明提供了用于治疗癌症的如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,或药物组合物。在具体实施方案中,所述癌症是人类癌症。在具体实施方案中,所述癌症选自三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌或鳞状细胞癌。

[0380] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,或如本文所定义的药物组合物,用于治疗中枢神经系统(CNS)病症。在具体实施方案中,所述中枢神经系统(CNS)病症是帕金森氏病或痴呆。

[0381] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,用于降低ERK5酶活性。

[0382] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,用于治疗涉及ERK5活性的疾病或病症。

[0383] 涉及ERK5的疾病或病症包括癌症,例如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌和鳞状细胞癌;炎性疾病,例如系统性红斑狼疮、自身免疫介导的肾小球肾炎、类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、自身免疫性糖尿病、湿疹过敏反应、哮喘、COPD、鼻炎和上呼吸道疾病;心血管疾病,例如心脏肥大、再狭窄、动脉粥样硬化;神经退行性病症,例如阿尔茨海默病、痴呆、AIDS相关的痴呆、帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化、色素性视网膜炎、脊髓性肌肉萎缩和小脑变性;肾小球肾炎;骨髓发育不良综合征、缺血性损伤相关的心肌梗塞、中风和再灌注损伤、心律失常、动脉粥样硬化、毒素诱导的或酒精相关的肝病,血液病,例如慢性贫血和再生障碍性贫血;肌肉骨骼系统的退行性疾病,例如骨质疏松症和关节炎、阿司匹林敏感性鼻窦炎、囊性纤维化、多发性硬化、肾脏疾病、糖尿病、疼痛、纤维化疾病,例如受损的伤口愈合和肺纤维化;和癌症疼痛。

[0384] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物在制备用于治疗增殖性病况的药物中的用途。

[0385] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物在制备用于治疗以下疾病的药物中的用途:癌症,例如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌和鳞状细胞癌;炎性疾病,例如系统性红斑狼疮、自身免疫介导的肾小球肾炎、类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、自身免疫性糖尿病、湿疹过敏反应、哮喘、COPD、鼻炎和上呼吸道疾病;心血管疾病,例如心脏肥大、再狭窄、动脉粥样硬化;神经退行性病症,例如阿尔茨海默病、痴呆、AIDS相关的痴呆、帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化、色素性视网膜炎、脊髓性肌肉萎缩和小脑变性;肾小球肾炎;骨髓发育不良综合征、缺血性损伤相关的心肌梗塞、中风和再灌注损伤、心律失常、动脉粥样硬化、毒素诱导的或酒精相关的肝病,血液病,例如慢性贫血和再生障碍性贫血;肌肉骨骼系统的退行性疾病,例如骨质疏松症和关节炎、阿司匹林敏感性鼻窦炎、囊性纤维化、多发性硬化、肾脏疾病、糖尿病、疼痛、纤维化疾病,例如受损的伤口愈合和肺纤维化;和癌症疼痛。

[0386] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物在制备用于治疗以下疾病的药物中的用途:

[0387] a)纤维化疾病,例如受损的伤口愈合、肺纤维化,

[0388] b)炎性疾病,例如银屑病、哮喘,

[0389] c)增殖性病况,例如癌症,如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌、鳞状细胞癌,

[0390] d)糖尿病,

[0391] e)疼痛,或者

[0392] f)中枢神经系统(CNS)病症,例如帕金森氏病、痴呆。

[0393] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。合适地,该药物用于治疗人类癌症。更合适地,所述癌症选自三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌或鳞状细胞癌。

[0394] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物在制备用于治疗中枢神经系统(CNS)病症的药物中的用途。合适地,该药物用于治疗帕金森氏病或痴呆。

[0395] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物在制备用于降低ERK5酶活性的药物中的用途。

[0396] 本发明提供了如本文所定义的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物在制备用于治疗涉及ERK5活性的疾病或病症的药物中的用途。

[0397] 术语“增殖性病症”在本文中可互换使用,且涉及不希望的过量或异常细胞的不希望的或不受控制的细胞增殖,例如肿瘤或增生性生长,无论是在体外还是在体内。增殖性病况的例子包括但不限于,恶性前和恶性细胞增殖,包括但不限于,恶性赘生物和肿瘤、癌症、白血病、银屑病、骨病、纤维增殖性病症(例如,结缔组织的)和动脉粥样硬化。可以处理任何类型的细胞,包括但不限于肺、结肠、乳腺、卵巢、前列腺、肝、胰腺、脑和皮肤。

[0398] 本发明化合物的抗增殖作用在人类癌症的治疗中具有特殊的应用(由于它们通过ERK5酶的降解降低ERK5酶活性)。

[0399] 抗癌作用可以通过一种或多种机制产生,包括但不限于调节细胞增殖、抑制血管生成(新血管的形成)、抑制转移(肿瘤从其起源处的扩散)、抑制侵袭(肿瘤细胞扩散到邻近的正常结构)或促进凋亡(程序性细胞死亡)。

[0400] 在本发明的具体实施方案中,待治疗的增殖性病况是癌症。在具体实施方案中,所述癌症选自三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌或鳞状细胞癌。

[0401] 在本发明的具体实施方案中,待治疗的纤维化疾病是受损的伤口愈合或肺纤维化。

[0402] 在本发明的具体实施方案中,待治疗的炎性疾病是银屑病或哮喘。

[0403] 在本发明的具体实施方案中,待治疗的中枢神经系统(CNS)病症是帕金森氏病或痴呆。

[0404] 在本发明的具体实施方案中,待治疗的疾病或病症选自癌症,例如三阴性乳腺癌、间皮瘤、原发性骨癌、成胶质细胞瘤、肺癌和鳞状细胞癌;炎性疾病,例如系统性红斑狼疮、自身免疫介导的肾小球肾炎、类风湿性关节炎、银屑病、炎性肠病、自身免疫性糖尿病、湿疹过敏反应、哮喘、COPD、鼻炎和上呼吸道疾病;心血管疾病,例如心脏肥大、再狭窄、动脉粥样硬化;神经退行性病症,例如阿尔茨海默病、痴呆、AIDS相关的痴呆、帕金森氏病、肌萎缩性侧索硬化、色素性视网膜炎、脊髓性肌肉萎缩和小脑变性;肾小球肾炎;骨髓发育不良综合

征、缺血性损伤相关的心肌梗塞、中风和再灌注损伤、心律失常、动脉粥样硬化、毒素诱导的或酒精相关的肝病,血液病,例如慢性贫血和再生障碍性贫血;肌肉骨骼系统的退行性疾病,例如骨质疏松症和关节炎、阿司匹林敏感性鼻窦炎、囊性纤维化、多发性硬化、肾脏疾病、糖尿病、疼痛、纤维化疾病,例如受损的伤口愈合和肺纤维化;和癌症疼痛。

[0405] 施用途径

[0406] 本发明的化合物或包含这些化合物的药物组合物可以通过任何方便的施用途径施用于受试者,无论是全身/外周还是局部(即,在期望作用的位置)。

[0407] 施用途径包括但不限于口服(例如,通过摄入);颊部;舌下;透皮(包括,例如,通过贴片、膏药等);跨粘膜(包括,例如,通过贴片、膏药等);鼻内(例如,通过鼻喷剂);眼部(例如,通过滴眼液);肺部(例如,使用例如气溶胶通过吸入或吹入疗法,例如通过嘴或鼻子);直肠(例如,通过栓剂或灌肠剂);阴道(例如,通过阴道栓剂);肠胃外,例如通过注射,包括皮下、皮内、肌内、静脉内、动脉内、心内、鞘内、椎管内、囊内、包膜下、眶内、腹膜内、气管内、表皮下、关节内、蛛网膜下和胸骨内;通过例如皮下或肌内植入贮库或储库。

[0408] 组合疗法

[0409] 上文定义的抗增殖治疗可以作为单一疗法应用,或者除了本发明的化合物之外,还可以包括常规手术或放疗或化疗。这种化疗可包括一种或多种下列类别的抗肿瘤剂:-

[0410] (i)用于医学肿瘤学的其它抗增殖/抗肿瘤药物及其组合,例如烷化剂(例如顺铂、奥沙利铂、卡铂、环磷酰胺、氮芥、美法仑、苯丁酸氮芥、白消安、替莫唑胺和亚硝脲);抗代谢药(例如吉西他滨和抗叶酸药,例如氟嘧啶,如5-氟尿嘧啶和替加氟、雷替曲塞、甲氨蝶呤、胞嘧啶阿糖胞苷和羟基脲);抗肿瘤抗生素(例如蒽环类抗生素,如阿霉素(adriamycin)、博莱霉素、阿霉素(doxorubicin)、柔红霉素、表柔比星、伊达比星、丝裂霉素-C、更生霉素和光辉霉素);抗有丝分裂剂(例如长春花生物碱,如长春新碱、长春碱、长春地辛和长春瑞滨,以及紫杉烷类,如紫杉醇和多西紫杉醇,以及多激酶抑制剂);和拓扑异构酶抑制剂(例如表鬼臼毒素,如依托泊苷和替尼泊苷、安吖啶、托泊替康和喜树碱);

[0411] (ii)细胞抑制剂,例如抗雌激素(例如他莫昔芬、氟维司群、托瑞米芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬和碘氧芬(iodoxyfene))、抗雄激素(例如比卡鲁胺、氟他胺、尼鲁他胺(nilutamide)和醋酸环丙孕酮)、LHRH拮抗剂或LHRH激动剂(例如戈舍瑞林、亮丙瑞林和布舍瑞林)、孕激素(例如醋酸甲地孕酮)、芳香酶抑制剂(例如阿那曲唑、来曲唑、福拉唑(vorazole)和依西美坦)和5α-还原酶抑制剂,例如非那雄胺;(iii)抗侵袭剂[例如c-Src激酶家族抑制剂,如4-(6-氯-2,3-亚甲二氧基苯胺)-7-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙氧基]-5-四氢吡喃-4-基氧基喹唑啉(AZD0530;国际专利申请WO 01/94341)、N-(2-氯-6-甲基苯基)-2-{6-[4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基]-2-甲基嘧啶-4-基氨基}噻唑-5-甲酰胺(达沙替尼,BMS-354825;J.Med.Chem.,2004,47,6658-6661)和博舒替尼(SKI-606)和金属蛋白酶抑制剂如马立马司他、尿激酶纤溶酶原激活物受体功能抑制剂或乙酰肝素酶抗体];

[0412] (iv)生长因子功能的抑制剂:例如这类抑制剂包括生长因子抗体和生长因子受体抗体(例如抗erbB2抗体曲妥珠单抗[Herceptin™]、抗EGFR抗体帕尼单抗、抗erbB1抗体西妥昔单抗[Erbitux,C225]和Stern等人公开的任何生长因子或生长因子受体抗体(Critical reviews in oncology/haematology,2005,Vol.54,pp11-29);此类抑制剂还包括酪氨酸激酶抑制剂,例如表皮生长因子家族的抑制剂(例如EGFR家族酪氨酸激酶抑制剂,例如N-(3-

氯-4-氟苯基)-7-甲氧基-6-(3-吗啉代丙氧基)喹唑啉-4-胺(吉非替尼,ZD1839)、N-(3-乙炔基苯基)-6,7-双(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-胺(埃罗替尼,OSI-774)和6-丙烯酰胺基-N-(3-氯-4-氟苯基)-7-(3-吗啉代丙氧基)-喹唑啉-4-胺(CI 1033),erbB2酪氨酸激酶抑制剂,例如拉帕替尼);肝细胞生长因子家族的抑制剂;胰岛素生长因子家族的抑制剂;血小板衍生生长因子家族的抑制剂,例如伊马替尼和/或尼罗替尼(AMN107);丝氨酸/苏氨酸激酶的抑制剂(例如Ras/Raf信号传导抑制剂,例如法呢基转移酶抑制剂,例如索拉非尼(BAY 43-9006)、替吡法尼(R115777)和洛那法尼(SCH66336))、通过MEK和/或AKT激酶的细胞信号传导抑制剂、c-kit抑制剂、abl激酶抑制剂、PI3激酶抑制剂、Plt3激酶抑制剂、CSF-1R激酶抑制剂、IGF受体(胰岛素样生长因子)激酶抑制剂;极光激酶抑制剂(例如AZD1152、PH739358、VX-680、MLN8054、R763、MP235、MP529、VX-528和AX39459)和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂,例如CDK2和/或CDK4抑制剂;

[0413] (v)抗血管生成剂,例如抑制血管内皮生长因子作用的那些,[例如抗血管内皮细胞生长因子抗体贝伐单抗(Avastin™),和例如VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂,例如凡德他尼(ZD6474)、vatalanib(PTK787)、舒尼替尼(SU11248)、阿昔替尼(AG-013736)、帕唑帕尼(GW 786034)和4-(4-氟-2-甲基吲哚-5-基氧基)-6-甲氧基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)喹唑啉(AZD2171;WO 00/47212中的实施例240),化合物,例如国际专利申请WO97/22596、WO 97/30035、WO 97/32856和WO 98/13354中公开的那些和通过其它机制起作用的化合物(例如,利诺胺、整合素αvβ3功能抑制剂和血管抑素)];

[0414] (vi)血管损伤剂,例如康普瑞汀A4和国际专利申请WO 99/02166、WO 00/40529、WO 00/41669、WO 01/92224、WO 02/04434和WO 02/08213中公开的化合物;

[0415] (vii)内皮素受体拮抗剂,例如齐波坦(ZD4054)或阿曲生坦;

[0416] (viii)反义治疗剂,例如那些针对上面列出的靶标的治疗,例如ISIS2503,一种抗ras反义治疗剂;

[0417] (ix)基因治疗方法,包括例如替换异常基因(例如异常p53或异常BRCA1或BRCA2)的方法,GDEPT(基因导向的酶前药治疗)方法,例如使用胞嘧啶脱氨酶、胸苷激酶或细菌硝基还原酶的方法,以及增加患者对化疗或放疗的耐受性的方法,例如多药耐药性基因治疗;和

[0418] (x)免疫治疗方法,包括例如增加患者肿瘤细胞免疫原性的体外和体内方法,例如用细胞因子如白细胞介素2、白细胞介素4或粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子转染,减少T细胞无能的方法,使用转染的免疫细胞如细胞因子转染的树突细胞的方法,使用细胞因子转染的肿瘤细胞系的方法和使用抗独特型抗体的方法。

[0419] 在具体实施方案中,除了本发明的化合物之外,上文定义的抗增殖治疗还可以包括常规手术或放疗或化疗。

[0420] 这种组合治疗可以通过同时、依次或分别给予治疗的各个组分来实现。这种组合产品使用上文所述剂量范围内的本发明化合物和其批准剂量范围内的其它药物活性剂。

[0421] 根据本发明的这一方面,提供了一种用于治疗癌症(例如涉及实体瘤的癌症)的组合,其包含如上文所定义的本发明化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,以及另一种抗肿瘤剂。

[0422] 根据本发明的这一方面,提供了一种用于治疗增殖性病况如癌症(例如涉及实体

瘤的癌症)的组合,其包含如上文所定义的本发明化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,以及上文列出的任何一种抗肿瘤剂。

[0423] 在本发明的另一方面,提供了本发明的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,用于与另一种抗肿瘤剂组合治疗癌症,所述另一种抗肿瘤剂任选选自上文所列的一种。

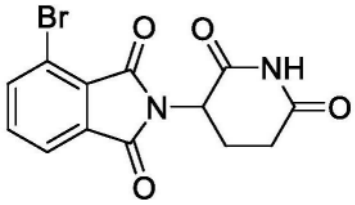
[0424] 在本文中,当使用术语"组合"时,应理解为是指同时、分别或依次施用。在本发明的一个方面,"组合"是指同时施用。在本发明的另一个方面,"组合"是指分别施用。在本发明的另一方面,"组合"是指依次施用。当依次或分别施用时,第二种组分的延迟施用不应导致组合的有益效果丧失。

[0425] 根据本发明的另一方面,提供了一种药物组合物,其包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物,与抗肿瘤剂(任选选自上文所列的一种)以及药学上可接受的稀释剂或载体组合。

[0426] 实施例

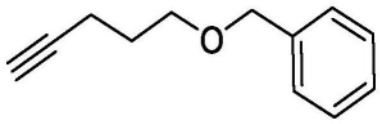
[0427] 化学合成

[0428] 4-溴-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0429] 

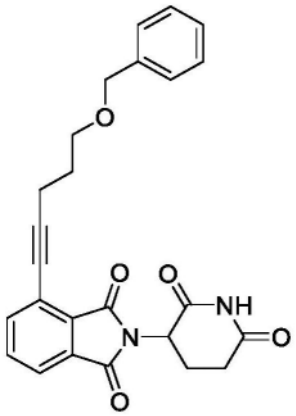
[0430] 将3-溴邻苯二甲酸酐(840mg和3.70mmol)、3-氨基哌啶-2,6-二酮盐酸盐(667mg和4.07mmol)和乙酸钠(364mg和4.44mmol)悬浮在(冰)乙酸(30mL)中,并在140℃加热过夜。将反应物冷却至25℃,真空浓缩,向粗产物中加入水(30mL)。滤出固体,得到4-溴-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮,为灰白色固体(730mg,59%)。^{1}mp:>300℃.^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.16(s,1H),8.07(d,J=8.2Hz,1H),7.94(d,J=7.3Hz,1H),7.79(app.t,J=7.7Hz,1H),5.18(dd,J=12.8,5.4Hz,1H),2.95-2.86(m,1H,),2.66-2.57(m,2H),2.11-2.05(m,1H).m/z(ES^{+})=336.7.

[0431] ((戊-4-炔-1-氧基)甲基)苯

[0432] 

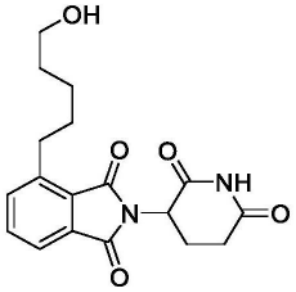
[0433] 将NaH(1.9g,47.6mmol)悬浮在THF(95mL)中,在0℃滴加4-戊炔醇(2.0g,23.8mmol)。然后滴加苄基溴(2.6mL,21.9mmol),并搅拌过夜。加入饱和氯化铵水溶液(50mL),混合物用EtOAc(3×50mL)萃取,有机物用硫酸镁干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱(20:1,己烷:EtOAc)纯化粗产物,真空浓缩干净的级分,得到((戊-4-炔-1-基氧基)甲基)苯,为黄色油状物(2.0g,52%)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.32-7.07(m,5H),4.42(s,2H),3.49(t,J=6.2Hz,2H),2.23(td,J=7.1,2.6Hz,2H),1.85(t,J=2.6Hz,1H),1.78-1.69(m,2H).

[0434] 4-(5-(苄氧基)戊-1-炔-1-基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0435] 

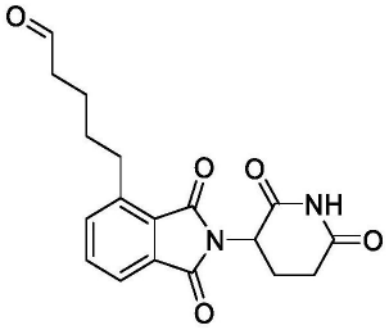
[0436] 将4-溴-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(1000mg和2.97mmol)、戊-4-炔-1-基氧基)甲基)苯(1030mg和5.95mmol)、碘化铜(66mg和0.35mmol)和$Pd(PPh_3)_2Cl_2$(126mg和0.18mmol)悬浮在DMF(10mL)中。在加入NEt_3(10mL)之前,用氩气吹扫并抽空反应物3次,再吹扫并抽空3次,并加热至60℃过夜。用水(50mL)稀释反应混合物,用EtOAc(3×50mL)萃取,用硫酸镁干燥并浓缩。通过快速柱色谱(3:1,己烷:EtOAc)纯化粗产物,真空浓缩干净的级分,得到4-(5-(苄氧基)戊-1-炔-1-基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮,为棕色固体(850mg,66%)。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.01(br.s,1H),7.71(m,1H),7.62-7.52(m,1H),7.31-7.20(m,5H),4.90(dd,J=12.3,5.3Hz,1H),4.48(s,2H),3.62(t,J=6.1Hz,2H),2.90-2.64(m,3H),2.59(t,J=7.0Hz,2H),2.12-2.01(m,1H),1.96-1.86(m,2H).m/z(ES^+)=431.3.

[0437] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-(5-羟基戊基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0438] 

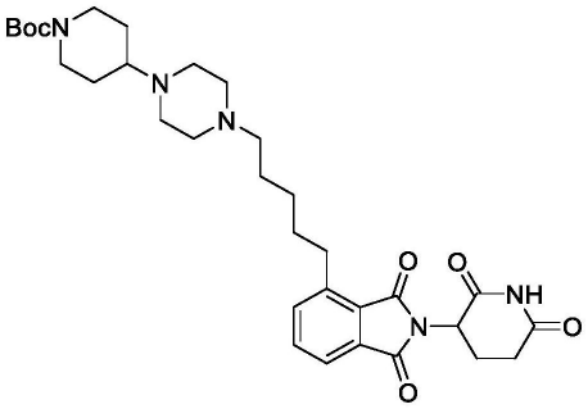
[0439] 将4-(5-(苄氧基)戊-1-炔-1-基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(126mg,0.21mmol)悬浮在EtOH(10mL)中。在氩气下加入碳载钯(10%w/w,20mg和0.023mmol),然后安装氢气球,并在25℃搅拌过夜。用EtOH(40mL)稀释反应物,通过硅藻土过滤,真空浓缩滤液,得到2-(,6-二氧代哌啶-3-基)-4-(5-羟基戊基)异吲哚啉-1,3-二酮,为白色固体(50mg,49%)。mp:176-178℃.^1H NMR(400MHz,甲醇-d_4)δ7.67-7.50(m,3H),5.03(dd,J=12.5,5.5Hz,1H),3.45(t,J=6.6Hz,2H),3.05-2.98(m,2H),2.84-2.57(m,3H),2.10-1.98(m,1H),1.91(s,1H),1.67-1.53(m,2H),1.52-1.44(m,2H),1.41-1.33(m,2H).m/z(ES^+)=345.1.

[0440] 5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)戊醛

[0441] 

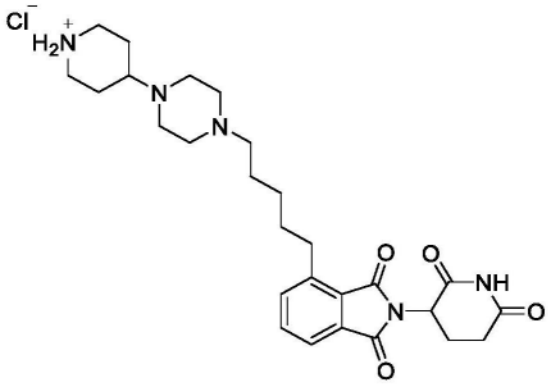
[0442] 将2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-(5-羟基戊基)异吲哚啉-1,3-二酮(623mg,1.80mmol)悬浮在DCM(20mL)中,一次性加入氯铬酸吡啶鎓(582mg,2.70mmol),并在25℃搅拌3小时。然后向反应混合物中加入含氟有机硅(Fluorosil),并再搅拌1小时,然后通过硅藻土垫过滤,硅藻土垫用DCM(50mL)洗涤并浓缩有机物,留下5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)戊醛,为灰色固体。m/z(ES$^+$)=343.3.

[0443] 4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)戊基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0444] 

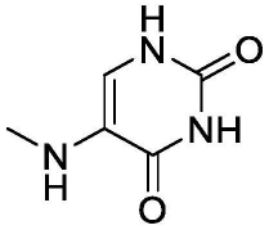
[0445] 将1-(1-Boc-哌啶-4-基)-哌嗪(39mg,0.13mmol)悬浮在4Å分子筛上的无水DCM(10mL)中,并搅拌10分钟。加入5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)戊醛(42mg,0.13mmol)并搅拌3小时。加入三乙酰氧基硼氢化钠(82mg,0.39mmol),在25℃搅拌3小时。加入水(20mL),用DCM(2×30mL)萃取。用硫酸镁干燥有机物并真空浓缩,得到4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)戊基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯,为无色油状物(40mg,54%(2步))。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.65(d,J=7.5Hz,1H),7.56(app.t,J=7.5Hz,1H),7.45(d,J=7.5Hz,1H),4.94-4.85(m,1H),4.13-3.99(m,2H),3.00(td,J=7.4,4.2Hz,2H),2.88-2.21(m,14H),2.12-2.04(m,1H),1.80-1.42(m,9H),1.38-1.28(m,12H).m/z(ES$^+$)=596.0.

[0446] 4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)戊基)哌嗪-1-基)哌啶-1-鎓盐酸盐

[0447] 

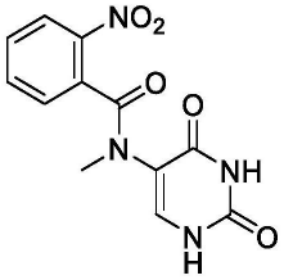
[0448] 将4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)戊基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(40mg,0.067mmol)悬浮于THF(5mL)中。加入HCl的二噁烷溶液(4N,3mL),并在25℃搅拌过夜。将反应物在减压下浓缩,留下4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)戊基)哌嗪-1-基)哌啶-1-鎓盐酸盐,为白色固体(32mg,92%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.11(s,1H,NH(酰亚胺)),7.84-7.65(m,3H),5.15(dd,J=13.2,6.4Hz,1H),3.64(t,J=6.6Hz,2H),3.40(t,J=5.7Hz,2H),3.16-3.00(m,4H),2.99-2.78(m,4H),2.68-2.53(m,2H),2.40-1.83(m,7),1.82-1.69(m,4H),1.63(h,J=6.8,5.8Hz,2H),1.56-1.46(m,2H).DMSO峰下缺少2个脂肪族质子。m/z(ES^{+})=495.9.

[0449] 5-(甲氨基)嘧啶-2,4-(1H,3H)-二酮

[0450] 

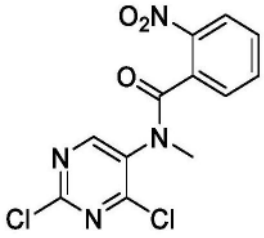
[0451] 将5-溴尿嘧啶(19.10g,100.00mmol)悬浮在40%甲胺水溶液(160mL)中,并在80℃加热过夜。将反应物冷却至室温,用3M HCl水溶液酸化,形成白色沉淀,过滤并用水洗涤,得到5-(甲氨基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮,为白色固体(9.3g,66%)。^{2}mp:199-202℃.^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.09(s,1H),10.14(s,1H),6.19(d,J=5.0Hz,1H),4.46(q,J=5.5Hz,1H)(DMSO峰下的Me峰).m/z(ES^{+})=141.1.

[0452] N-(2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-基)-N-甲基-2-硝基苯甲酰胺

[0453] 

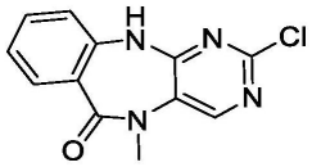
[0454] 将5-(甲氨基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(2.00g,14.80mmol)悬浮于THF(10mL)中,并在0℃冷却,加入氢氧化钠水溶液(2M,20mL),然后滴加2-硝基苯甲酰氯(2.30mL,17.8mmol)。添加后,将反应物升温至25℃并搅拌48小时。用4MHCl水溶液将反应物酸化至pH 4,并静置48h。将固体过滤并用水洗涤,得到N-(2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-基)-N-

甲基-2-硝基苯甲酰胺,为白色固体(2.60g,61%)。[2]mp:259-261℃(降解).[1]H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.35(s,1H),10.88(d,J=3.8Hz,1H),8.10(dd,J=8.2,1.2Hz,1H),7.75(td,J=7.5,1.2Hz,1H),7.64(ddd,J=8.2,7.5,1.2Hz,1H),7.43-7.33(m,2H),3.15(s,3H).N-(2,4-二氯嘧啶-5-基)-N-甲基-2-硝基苯甲酰胺

[0455] 

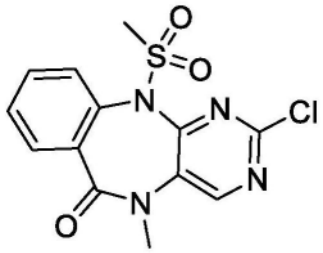
[0456] 将N-(2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-基)-N-甲基-2-硝基苯甲酰胺(9.00g,27.6mmol)悬浮于磷酰氯(50mL)和N,N-二甲基苯胺(2.5mL)中。将反应物加热至100℃保持18小时,然后冷却至25℃。在真空中浓缩,并将粗产物直接用于下一步骤(还原和环化)。[2]

[0457] 2-氯-5-甲基-5,11-二氢-6H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-6-酮

[0458] 

[0459] 将N-(2,4-二氯嘧啶-5-基)-N-甲基-2-硝基苯甲酰胺(假定27.6mmol)的粗产物悬浮在乙酸(100mL)中,加入铁粉(9.1g)并加热至60℃持续4小时。将反应物冷却至25℃,真空除去乙酸,将粗产物溶解在DCM/MeOH(50mL/20mL)中,通过硅藻土过滤并浓缩,得到白色固体。加入冷的EtOH,通过过滤收集固体,得到2-氯-5-甲基-5,11-二氢-6H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-6-酮,为白色固体(5.8g,82%(2步))。[2]mp:196-201℃.[1]H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.22(s,1H),7.98(dd,J=8.2,1.6Hz,1H),7.45-7.33(m,1H),7.13(ddd,J=8.2,7.3,1.0Hz,1H),6.81(dd,J=8.2,1.0Hz,1H),6.66(s,1H),3.51(s,3H).m/z=261.2(^{35}Cl),263.2(^{37}Cl).

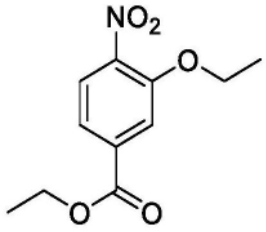
[0460] 2-氯-5-甲基-11-(甲磺酰基)-5,11-二氢-6H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-6-酮

[0461] 

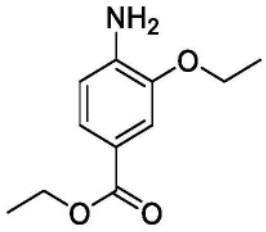
[0462] 将2-氯-5-甲基-5,11-二氢-6H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-6-酮(200mg,0.77mmol)悬浮于THF(10mL)中。在0℃加入氢化钠(60%矿物油悬浮液61mg,1.53mmol),搅拌1小时。滴加甲烷磺酰氯(0.13mL和1.53mmol),搅拌1小时。用水(10mL)猝灭反应,用EtOAc(3×20mL)萃取,用硫酸镁干燥有机物并真空浓缩。通过快速柱色谱(1:1,己烷:EtOAc)纯化粗产物,真空浓缩干净的级分,得到2-氯-5-甲基-11-(甲磺酰基)-5,11-二氢-6H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-6-酮,为白色固体(151mg,61%)。[2]mp:

101-104℃.^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.06(s,1H),7.87-7.79(m,1H),7.72-7.67(m,2H),7.54(ddd,J=8.2,5.9,2.5Hz,1H),3.78(s,3H),3.56(s,3H).m/z(ES^{+})=339.2(^{35}Cl),341.2(^{37}Cl).

[0463] 3-乙氧基-4-硝基苯甲酸乙酯

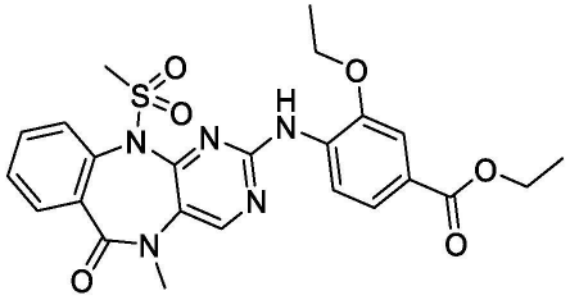
[0464] 

[0465] 将3-羟基-4-硝基苯甲酸(1.00g,5.46mmol)、碳酸钾(3.00g,16.45mmol)悬浮在DMF(20mL)中。滴加碘乙烷(1.3mL,21.74mmol),并在25℃搅拌18小时。向反应混合物中加入水(50mL),用EtOAc(3×50mL)萃取。用盐水(30mL)洗涤有机物,用硫酸镁干燥,并真空浓缩,得到3-乙氧基-4-硝基苯甲酸乙酯,为橙色油状物(1.01g,83%)。^{2} ^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.81(d,J=8.3Hz,1H),7.75(app s,1H),7.69(dd,J=8.3,1.5Hz,1H),4.48-4.39(q,J=6.9Hz,2H),4.31-4.23(q,J=7.1Hz,2H),1.50(t,J=6.9Hz,3H),1.44(t,J=7.1Hz,3H).4-氨基-3-乙氧基苯甲酸乙酯

[0466] 

[0467] 将3-乙氧基-4-硝基苯甲酸乙酯(570mg 2.39mmol)悬浮在EtOH(10mL)和THF(10mL)中。在氩气下加入碳载钯(10%w/w,20mg,0.23mmol),然后将反应混合物置于氢气气氛中并搅拌18小时。用EtOH(20mL)稀释反应物,通过硅藻土过滤并真空浓缩,得到4-氨基-3-乙氧基苯甲酸乙酯,为棕色固体(500mg,100%)。^{2}mp:86-88℃.^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.73(d,J=8.3Hz,1H),7.66(d,J=1.6Hz,1H),7.60(dd,J=8.3,1.6Hz,1H),4.35(q,J=7.1Hz,2H),4.18(q,J=7.0Hz,2H),1.42(t,J=7.0Hz,3H),1.35(t,J=7.1Hz,3H).m/z(ES^{+})=210.0.

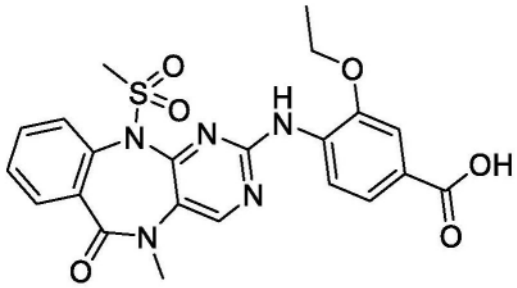
[0468] 3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酸乙酯

[0469] 

[0470] 将2-氯-5-甲基-11-(甲磺酰基)-5,11-二氢-6H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-6-酮(270mg,1.04mmol)、4-氨基-3-乙氧基苯甲酸乙酯(261mg,1.25mmol)、

K_2CO_3(828mg,6.00mmol)和$_t$BuXPhos Gen 3前催化剂(65mg,0.08mmol)悬浮在$_t$BuOH(15mL)中,抽空并用氩气吹扫3次,然后在100℃加热18小时。加入水(50mL)并用EtOAc(3×30mL)萃取,用硫酸镁干燥并真空浓缩。通过快速柱色谱(10:1,甲苯:EtOAc)纯化粗产物,在减压下浓缩干净的级分,得到3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酸乙酯,为橙色油状物(110mg,23%)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.51(d,J=1.5Hz,1H),8.46(dd,J=8.5,1.4Hz,1H),8.01(s,1H),7.94(dt,J=7.8,1.6Hz,1H),7.73(dt,J=8.5,1.7Hz,1H),7.60-7.54(m,2H),7.53-7.43(m,2H),4.37(q,J=7.0Hz,2H),4.25(q,J=7.2Hz,2H),3.62(s,3H),3.49(s,3H,N-Me),1.51(t,J=7.0Hz,3H),1.40(t,J=7.2,3H).m/z=511.1.

[0471] 3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酸

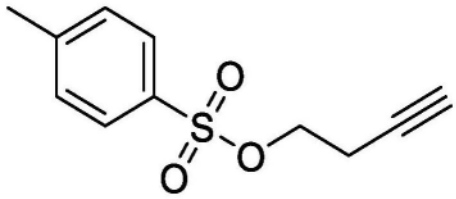
[0472] 

[0473] 将3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酸(40mg,0.08mmol)和LiOH(10mg,0.43mmol)悬浮在THF(5mL)、H_2O(1mL)和MeOH(1mL)中,并在25℃搅拌19小时。将反应物减压浓缩,将粗产物溶于DCM(50mL)中,用1M盐酸水溶液(2×30mL)洗涤。用硫酸镁干燥有机物并真空浓缩,得到3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酸,为白色固体(30mg,77%)。mp:265-266℃.^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ12.81(s,1H),8.98(s,1H),8.79(s,1H),7.99(d,J=8.3Hz,1H),7.78(dd,J=7.9,1.5Hz,1H),7.68-7.56(m,2H)7.59(dd,J=8.3,4.0Hz,1H),7.54-7.44(m,2H),4.16(app qt,J=7.0Hz,2H),3.78(s,3H,N-Me),3.50(s,3H),1.32(t,J=7.0Hz,3H).m/z(ES$^+$)=484.3.

[0474] 方法A

[0475] 将炔醇(1当量)、TsCl(1.2当量)、催化剂DMAP和NEt_3(3当量)溶解在DCM(0.1mM)中,在25℃搅拌17小时。加入饱和碳酸氢钠水溶液(20mL),用DCM(2×20mL)萃取粗产物,合并有机物,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩。粗物质不经进一步纯化就进入下一步。

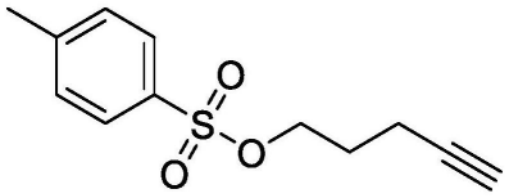
[0476] 丁-3-炔-1-基4-甲基苯磺酸酯

[0477] 

[0478] 使用方法A合成。553mg,44%。^{1}H NMR(500MHz,氯仿-d)δ7.83(d,J=8.1Hz,2H),7.37(d,J=8.1Hz,2H),4.13(t,J=7.0Hz,2H),2.58(td,J=7.0,2.7Hz,2H),2.48(s,3H),

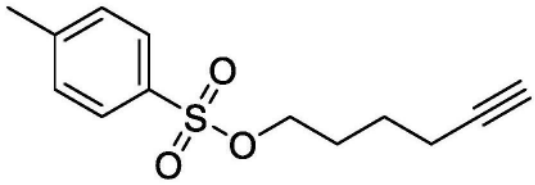
1.99(t,J＝2.7Hz,1H).

[0479] 戊-4-炔-1-基4-甲基苯磺酸酯

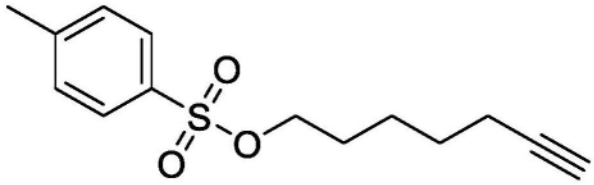
[0480] 

[0481] 使用方法A合成。600mg,57％。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.79(d,J＝8.3Hz,2H),7.35(d,J＝8.1Hz,2H),4.05(t,J＝6.3Hz,2H),2.45(s,3H),2.16(td,J＝7.0,2.7Hz,2H),1.92(t,J＝2.7Hz,1H),1.82-1.72(m,2H),1.61-1.51(m,2H).

[0482] 己-5-炔-1-基4-甲基苯磺酸酯

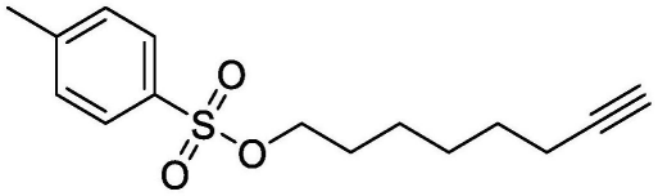
[0483] 

[0484] 使用方法A合成。1.01g,62％。^{1}H NMR(500MHz,氯仿-d)δ7.75-7.68(m,2H),7.28(d,J＝8.0Hz,2H),3.96(t,J＝6.5Hz,2H),2.38(s,3H),2.08(td,J＝6.8,2.7Hz,2H),1.86(t,J＝2.7Hz,1H),1.64-1.54(m,2H),1.46-1.29(m,4H).庚-6-炔-1-基4-甲基苯磺酸酯

[0485] 

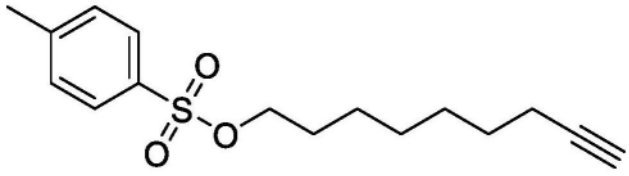
[0486] 使用方法A合成。物质直接进入下一步。

[0487] 辛-7-炔-1-基4-甲基苯磺酸酯

[0488] 

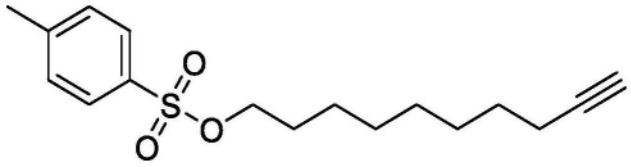
[0489] 使用方法A合成。物质直接进入下一步。

[0490] 壬-8-炔-1-基4-甲基苯磺酸酯

[0491] 

[0492] 使用方法A合成。2.5g,65％。^{1}H NMR(500MHz,氯仿-d)δ7.72(d,J＝8.2Hz,2H),7.28(d,J＝8.0Hz,2H),3.95(t,J＝6.5Hz,2H),2.38(s,3H),2.09(td,J＝7.1,2.7Hz,2H),1.86(t,J＝2.6Hz,1H),1.63-1.53(m,2H),1.44-1.38(m,2H),1.33-1.13(m,6H).

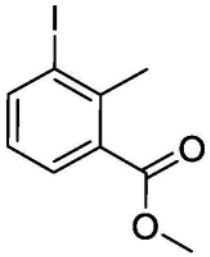
[0493] 癸-9-炔-1-基4-甲基苯磺酸酯

[0494] 

[0495] 使用方法A合成。500mg,61％。

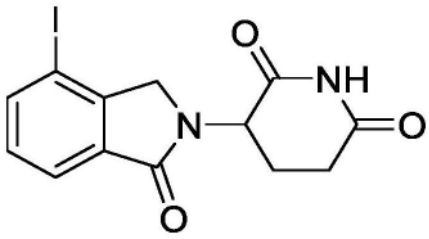
[0496] ^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.84-7.74(m,2H),7.34(d,J＝8.0Hz,2H),4.01(t,J＝6.5Hz,2H),2.43(d,J＝14.4Hz,3H),2.16(td,J＝7.1,2.6Hz,2H),1.93(t,J＝2.7Hz,1H),1.63(d,J＝14.3Hz,4H),1.50(dq,J＝14.6,6.9Hz,2H),1.43-1.19(m,11H).

[0497] 3-碘-2-甲基苯甲酸甲酯

[0498] 

[0499] 将3-碘-2-甲基苯甲酸(1.00g,3.81mmol)悬浮在MeOH(40mL)中。在0℃滴加$SOCl_2$(0.28mL,3.81mmol),并加热至80℃保持2小时。反应混合物真空浓缩。残余物用饱和碳酸氢钠(40mL)水溶液淬灭,并用EtOAc(3×20mL)萃取,用硫酸镁干燥有机物,过滤并浓缩,得到3-碘-2-甲基苯甲酸甲酯(0.85g,80％)。^{1}H NMR(500MHz,氯仿-d)δ7.98(dd,J＝7.8,1.3Hz,1H),7.73(dd,J＝7.8,1.3Hz,1H),6.92(app.t,J＝7.8Hz,1H),3.90(s,3H),2.66(s,3H).

[0500] 3-(4-碘-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮

[0501] 

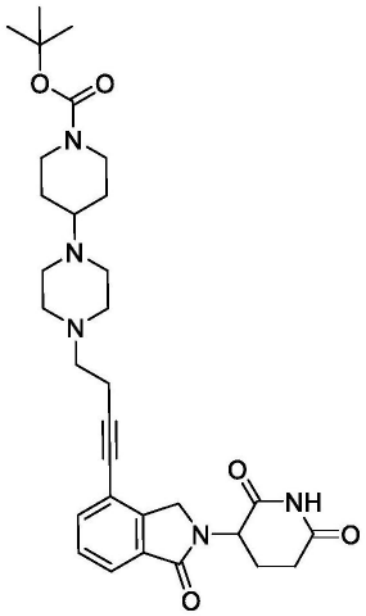
[0502] 将3-碘-2-甲基苯甲酸甲酯(850mg,3.07mmol)悬浮在碳酸二乙酯(8mL)中,一次性加入NBS(653mg,3.69mmol)和AIBN(101mg,0.616mmol),在80℃搅拌17小时。将反应混合物真空浓缩,然后悬浮在MeCN(10mL)中,加入3-氨基哌啶酮盐酸盐(595mg,3.64mmol)和NEt_3(0.66mL,4.66mmol),并在80℃加热持续17h。将反应混合物冷却并真空浓缩,加入水(25mL),过滤所得固体,得到3-(4-碘-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮,为紫色固体。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ11.03(s,1H),8.05(d,J＝7.8Hz,1H),7.79(d,J＝7.5Hz,1H),7.37(app.t,J＝7.6Hz,1H),5.17(dd,J＝13.3,5.1Hz,1H),4.37-4.10(m,2H),2.98-2.88(m,1H),2.68-2.44(m,3H),2.10-1.99(m,1H).

[0503] 方法B

[0504] 将炔烃甲苯磺酸盐(1当量)、4-哌嗪-1-基-哌啶-1-羧酸叔丁酯(2当量)、Cs_2CO_3(3当量)和NaI(催化剂)溶解在MeCN(0.1mM)中。将反应混合物在80℃加热17小时。真空浓缩反应混合物,用EtOAc稀释粗产物(30mL),用饱和碳酸氢钠(2x20mL)水溶液洗涤。用硫酸镁干燥有机物,过滤并真空浓缩。粗混合物进入下一步。

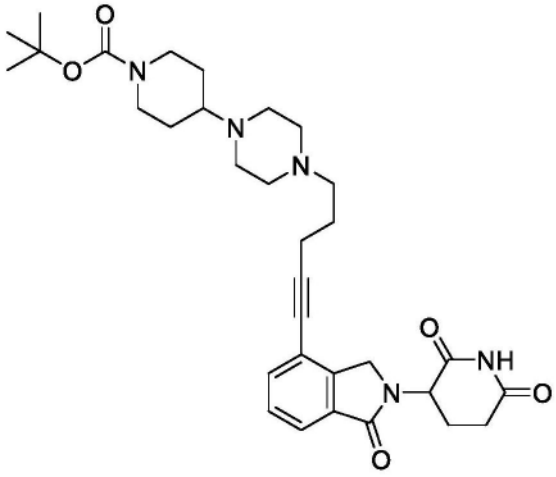
[0505] 将3-(4-碘-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(1当量)、炔烃(2当量),Pd(PPh$_3$)$_2$Cl$_2$(0.06当量),CuI(0.03当量)溶解在DMF(0.1mM)中,用氩气吹扫,加入NEt$_3$(10当量)并加热至80℃持续2小时。将反应物冷却至室温,加入H$_2$O(20mL)并用EtOAc(3×20mL)萃取。将有机物在硅藻土上干燥,并通过酸性反相纯化,取出干净的级分并真空浓缩。

[0506] 4-(4-(4-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)丁-3-炔-1-基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(OS3的中间体)

[0507] 

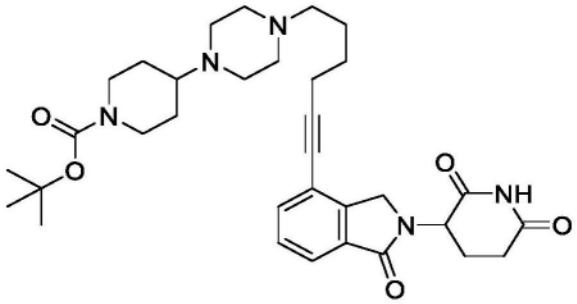
[0508] 使用方法B合成。61mg,10%。m/z(ES$^+$)=564.4,

[0509] 4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)戊-4-炔-1-基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(CE207的中间体)

[0510] 

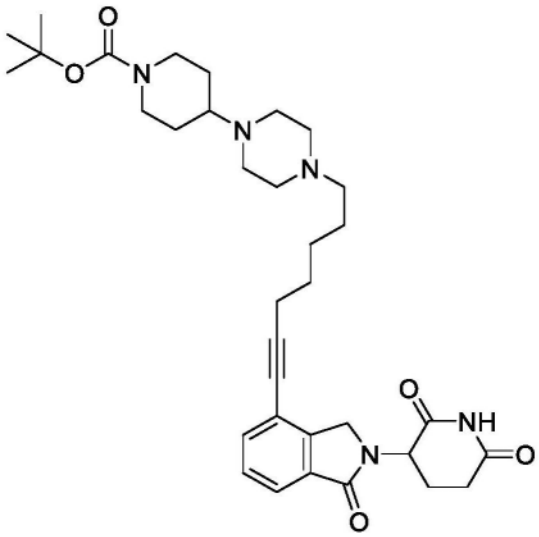
[0511] 使用方法B合成。46mg,64%。m/z(ES$^+$)=578.1

[0512] 4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)己-5-炔-1-基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(OS4的中间体)

[0513] 

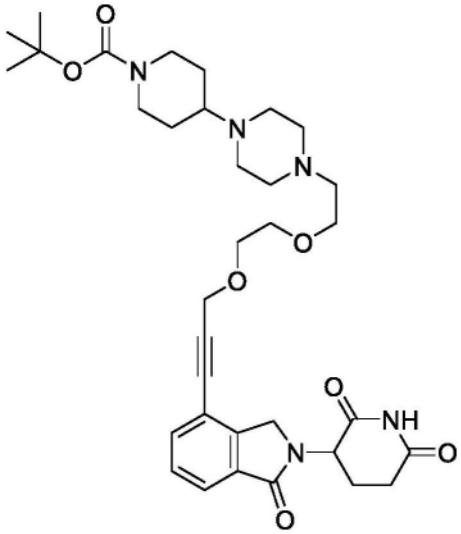
[0514] 使用方法B合成。90mg,33％。m/z(ES$^+$)＝592.5

[0515] 4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)庚-6-炔-1-基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(OS6的中间体)

[0516] 

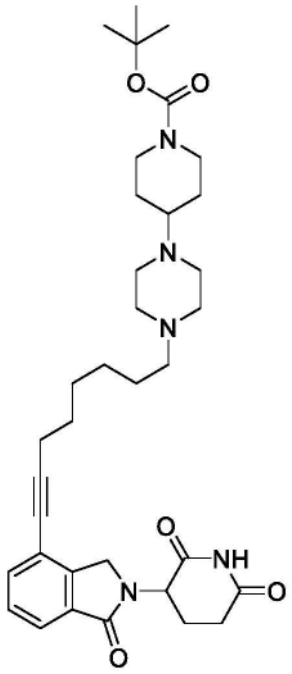
[0517] 使用方法B合成。40mg,41％。m/z(ES$^+$)＝626.5

[0518] 4-(4-(2-(2-((3-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)丙-2-炔-1-基)氧基)乙氧基)乙基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(OS9的中间体)

[0519] 

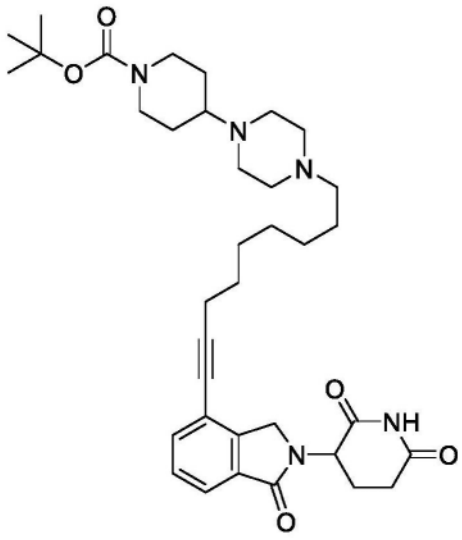
[0520] 使用方法B合成。120mg,35％。m/z(ES$^+$)＝638.5

[0521] 4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)辛-7-炔-1-基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(OS10的中间体)

[0522] 

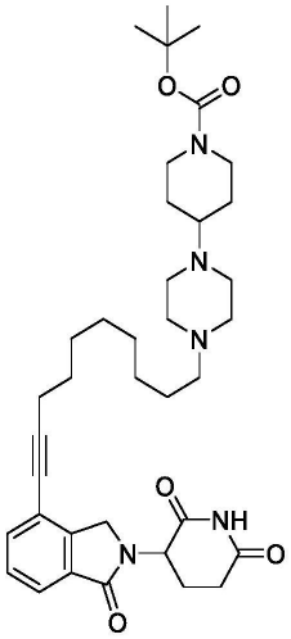
[0523] 使用方法B合成。40mg,22％。m/z(ES$^+$)＝620.4

[0524] 4-(4-(5-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)壬-8-炔-1-基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(OS11的中间体)

[0525] 

[0526] 使用方法B合成。121mg,36％。m/z(ES$^+$)＝634.1

[0527] 4-(4-(10-(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-4-基)癸-9-炔-1-基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(OS14的中间体)

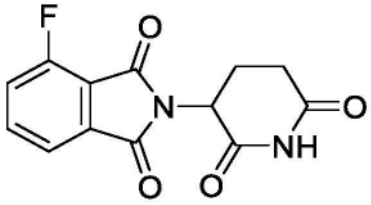
[0528] 

[0529] 使用方法B合成。100mg,32％。m/z(ES$^+$)＝648.4

[0530] 方法C

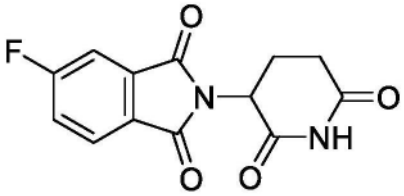
[0531] 将邻苯二甲酸酐(1当量)、3-氨基哌啶-2,6-二酮盐酸盐(1.2当量)和乙酸钠(1.2当量)悬浮在乙酸(冰冷的,0.1mmol)中,并在140℃加热过夜。将反应物冷却至25℃,真空浓缩,用水(30mL)稀释,过滤固体,得到所需产物。这些产物在MS中电离效果不佳。

[0532] 4-氟-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0533] 

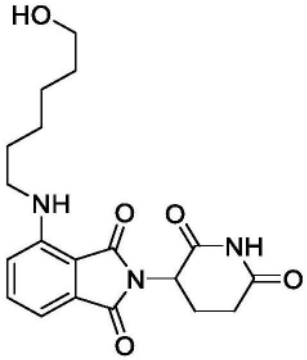
[0534] 使用方法C合成。800mg,48％。

[0535] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-氟异吲哚啉-1,3-二酮

[0536] 

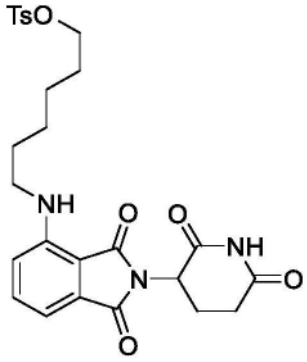
[0537] 使用方法C合成。800mg,48％。

[0538] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-羟基己基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0539] 

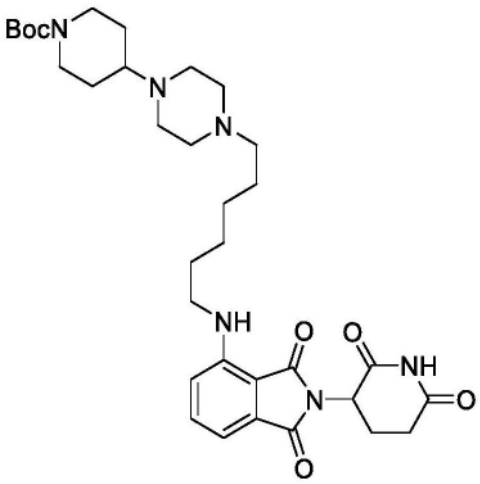
[0540] 将4-氟-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(200mg,0.72mmol)、6-氨基己醇(84mg,0.72mmol)和DIPEA(0.38mL,2.1mmol)悬浮在DMF(5mL)中,并在80℃加热17小时。将反应物冷却,用H_2O(30mL)稀释,并用EtOAc(3×10mL)萃取,合并有机物,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩,通过酸性反相纯化该物质,得到2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-羟基己基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮,为棕色油状物(30mg,11%)。m/z(ES^+)=374.3

[0541] 6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)己基4-甲基苯磺酸酯

[0542] 

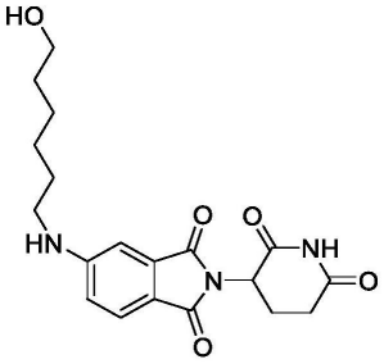
[0543] 将2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-羟基己基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮(30mg,0.080mmol)、TsCl(17mg,0.088mmol)和NEt_3(0.02mL,0.12mmol)悬浮在DCM(5mL)中,加入催化量的DMAP,并在25℃搅拌17小时。用饱和碳酸氢钠水溶液(15mL)猝灭反应混合物,并用DCM(3x 10mL)萃取。合并有机物,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩。物质直接进入下一步。

[0544] 4-(4-(6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)己基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0545] 

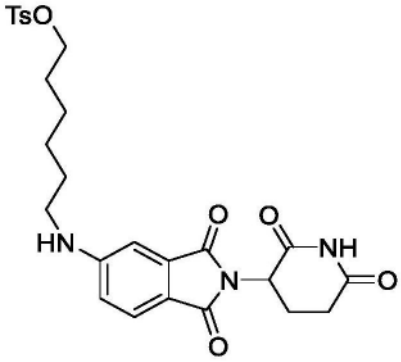
[0546] 将来自前一步骤的物质溶于MeCN(5mL)中,加入4-哌嗪-1-基-哌啶-1-羧酸叔丁酯(58mg,0.19mmol)、Cs_2CO_3(61mg,0.19mmol)和NaI(3mg,0.03mmol)并加热至50℃保持17h。然后将物质真空浓缩,将粗产物溶于饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)中,并用EtOAc(3×10mL)萃取,合并有机物,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩。通过酸性反相纯化该物质,取出干净的级分并真空浓缩,留下4-(4-(6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)己基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(11mg,34%)。m/z(ES^+)=625.2

[0547] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-5-((6-羟基己基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0548] 

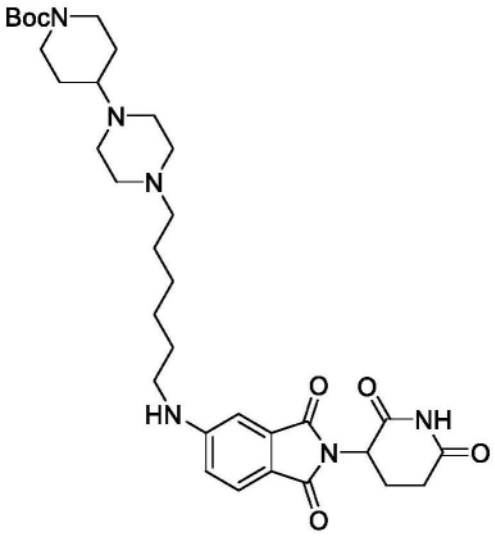
[0549] 将4-氟-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(200mg,0.72mmol)、6-氨基己醇(252mg,2.1mmol)和DIPEA(0.38mL,2.1mmol)悬浮在NMP(5mL)中,并在80℃加热17小时。将反应物冷却,用H_2O(30mL)稀释,并用EtOAc(3×10mL)萃取,合并有机物,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩,通过酸性反相纯化该物质,得到2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-羟基己基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮(60mg,22%)。m/z(ES^+)=374.3

[0550] 6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-5-基)氨基)己基4-甲基苯磺酸酯

[0551] 

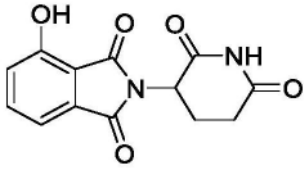
[0552] 将2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-羟基己基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮(60mg,0.16mmol)、TsCl(36mg,0.19mmol)和NEt_3(0.07mL,0.48mmol)悬浮在DCM(3mL)中,加入催化量的DMAP,并在25℃搅拌17小时。用饱和碳酸氢钠水溶液(15mL)猝灭反应混合物,并用DCM(3x 10mL)萃取。合并有机物,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩。物质直接进入下一步。

[0553] 4-(4-(6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-5-基)氨基)己基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0554] 

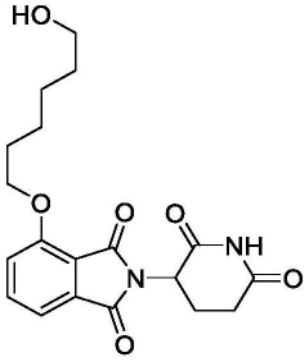
[0555] 将来自前一步骤的物质溶于MeCN(5mL)中,加入4-哌嗪-1-基-哌啶-1-羧酸叔丁酯(58mg,0.19mmol)、Cs_2CO_3(61mg,0.19mmol)和NaI(3mg,0.03mmol)并加热至50℃保持17h。然后将物质真空浓缩,将粗产物溶于饱和碳酸氢钠水溶液(10mL)中,并用EtOAc(3×10mL)萃取,合并有机物,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩。通过酸性反相纯化该物质,取出干净的级分并真空浓缩,留下4-(4-(6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氨基)己基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(11mg,34%)。m/z(ES^+)=625.3

[0556] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-羟基异吲哚啉-1,3-二酮

[0557] 

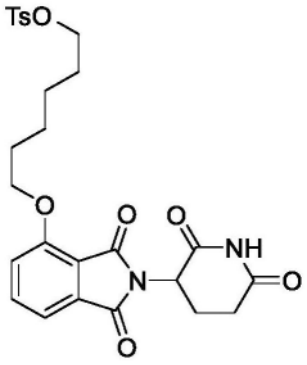
[0558] 使用方法C合成。2.5g,56%。m/z(ES^+)=273.1

[0559] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-羟基己基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0560] 

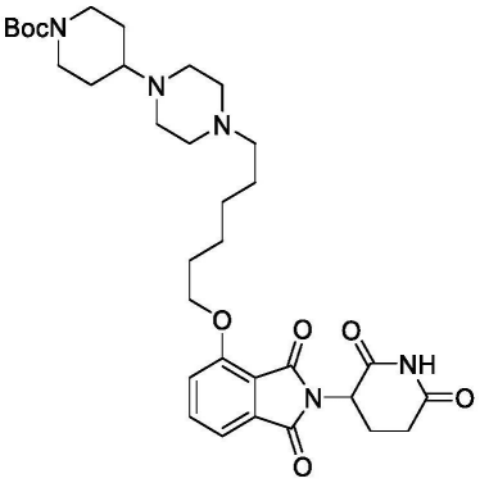
[0561] 将1,6-己二醇(212mg,2.16mmol)和三苯基膦(561mg,2.16mmol)悬浮在THF(5mL)中,向溶液中滴加DIAD(0.42mL,2.16mmol),并在25℃搅拌30分钟。一次性加入2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-羟基异吲哚啉-1,3-二酮(500mg,1.80mmol),并在25℃搅拌3小时。然后真空浓缩反应混合物,向粗产物中加入水(30mL),然后用EtOAc(3x 20mL)萃取,用硫酸镁干燥有机物,过滤并真空浓缩。然后将粗产物溶于EtOH(15mL)中,一次性加入$ZnCl_2$(700mg,5.49mmol),并在25℃再搅拌17h。然后过滤混合物,得到2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((8-

羟基辛基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮(600mg,40%)。m/z(ES$^+$)=375.36-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氧基)己基4-甲基苯磺酸酯

[0562] 

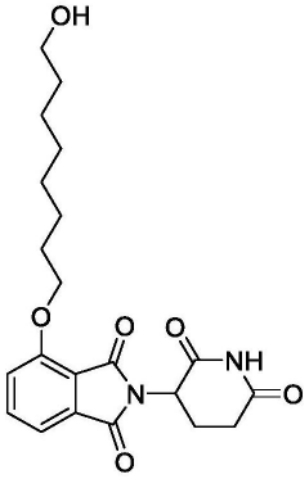
[0563] 将2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-羟基己基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮(80mg,0.21mmol)、TsCl(50mg,0.25mmol)、NEt_3(0.09mL,0.63mmol)和催化剂DMAP悬浮在DCM(5mL)中,并在25℃搅拌17h。用饱和碳酸氢钠水溶液(3×10mL)稀释反应物,并用EtOAc(3×10mL)萃取,合并有机物,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩,留下6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代吲哚啉-4-基)氧基)己基4-甲基苯磺酸酯(75mg,68%)。

[0564] 4-(4-(6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氧基)己基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0565] 

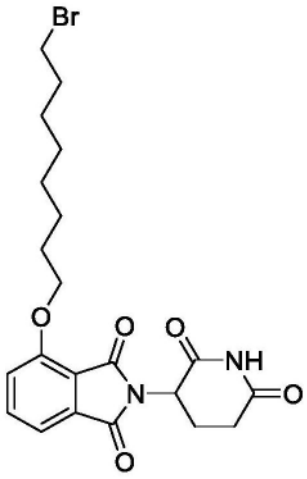
[0566] 将6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氧基)己基4-甲基苯磺酸酯(75mg,0.14mmol)、4-(哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯盐酸盐(86mg,0.28mmol)、Cs_2CO_3(136mg,0.42mmol)和催化剂NaI悬浮在MeCN(5mL)中,并加热至80℃保持17h。将反应物冷却并真空浓缩,用H_2O(10mL)稀释,并用EtOAc(3×10mL)萃取。通过酸性反相纯化粗产物,取出干净的级分并真空浓缩,留下4-(4-(6-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氧基)己基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(50mg,57%)。m/z(ES$^+$)=626.4

[0567] 2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((8-羟基辛基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0568] 

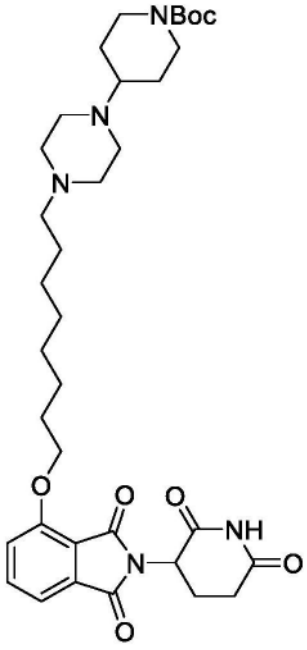
[0569] 将1,8辛二醇(1.6g,10.99mmol)和三苯基膦(1.15g,4.36mmol)悬浮在THF(40mL)中,向溶液中滴加DIAD(0.8mL,4.36mmol),并在25℃搅拌30分钟。一次性加入2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-羟基异吲哚啉-1,3-二酮(1.00g,3.66mmol),并在25℃搅拌3小时。然后真空浓缩反应混合物,向粗产物中加入水(30mL),然后用EtOAc(3x 20mL)萃取,用硫酸镁干燥有机物,过滤并真空浓缩。然后将粗产物溶于EtOH(30mL)中,一次性加入氯化锌(1.36g,10.99mmol),并在25℃再搅拌17小时。然后过滤混合物,得到2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((8-羟基辛基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮(600mg,40%)。m/z(ES^+)=403.1

[0570] 4-((8-溴辛基)氧基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮

[0571] 

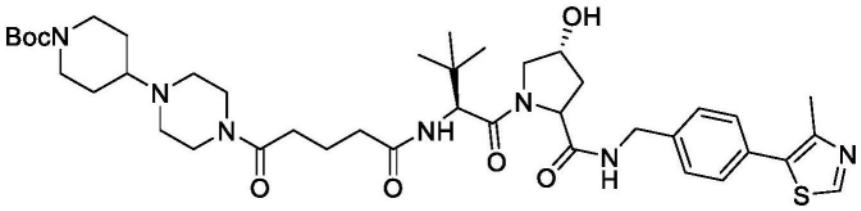
[0572] 将2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((8-羟基辛基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮(600mg,1.48mmol)、四溴化碳(738mg,2.23mmol)和PPh_3(596mg,2.29mmol)悬浮在THF(20mL)中,并加热至50℃保持17小时。将反应物真空浓缩,用H_2O(30mL)稀释,用EtOAc(3×30mL)萃取。用硫酸镁干燥有机物,过滤并真空浓缩。然后将粗产物溶于EtOH(30mL)中,一次性加入$ZnCl_2$(600mg,4.41mmol),并在25℃再搅拌17小时。然后过滤混合物,浓缩滤液并通过快速柱色谱(已烷/EtOAc(1:5))纯化。取出干净的级分真空浓缩,得到4-((8-溴辛基)氧基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(70mg,10%)。

[0573] 4-(4-(8-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氧基)辛基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

[0574] 

[0575] 将4-((8-溴辛基)氧基)-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮(70mg,0.15mmol)、4-(哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯盐酸盐(45mg,0.15mmol)、Cs_2CO_3(146mg,0.45mmol)和催化剂NaI悬浮在MeCN(5mL)中,并加热至80℃保持17h。将反应混合物冷却并真空浓缩,用饱和碳酸氢钠水溶液(15mL)猝灭粗产物,并用EtOAc(3×20mL)萃取,留下4-(4-(8-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)氧基)辛基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯(70mg,71%)。m/z(ES^+)=654.1.

[0576] 4-(4-(5-(((2S)-1-((4R)-4-羟基-2-((4-(4-甲基噻唑-5-基)苄基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-5-氧代戊酰基)哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯

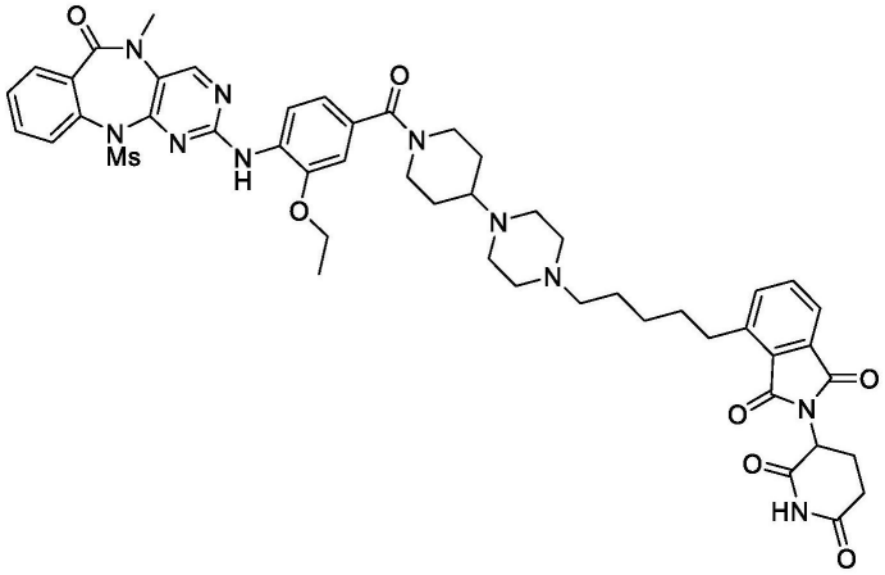
[0577] 

[0578] 将VHL tocris(20mg,0.036mmol)、4-(哌嗪-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁酯盐酸盐(12mg,0.039mmol)和HATU(16mg,0.043mmol)悬浮在DMF(1mL)中,加入DIPEA(12.5μL,0.072mmol),并在25℃搅拌1小时。用EtOAc(10mL)稀释,用盐水(3×10mL)洗涤,用$MgSO_4$干燥,过滤并真空浓缩。通过碱性反相色谱纯化该粗产物,取出干净的级分,合并并真空浓缩,得到无色油状物(22mg,77%)。m/z(ES^+)=810.5

[0579] 方法D

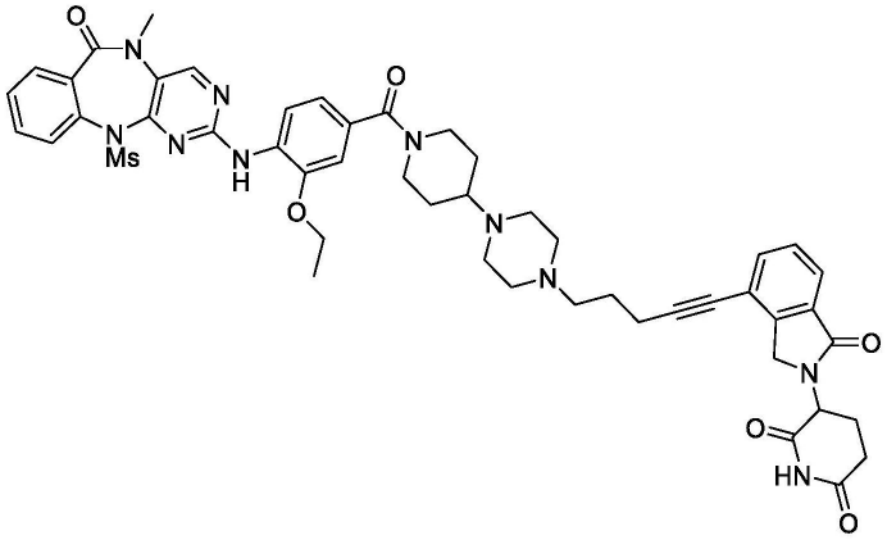
[0580] 将连接酶结合剂(1当量)溶解在DCM中,缓慢加入TFA(DCM量的一半),并在25℃搅拌2小时。反应混合物真空浓缩。向该粗物质中加入3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酸(1当量)、HATU(3当量)和DIPEA(5当量)并悬浮在DMF中。将反应混合物搅拌17h。加入水(10mL)并用EtOAc(3×10mL)萃取,在硅藻土上干燥并通过酸性反相纯化,合并干净的级分,得到所

需的最终化合物。实施例1:2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-(5-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)戊基)异吲哚啉-1,3-二酮(OS1)

[0581] 

[0582] 使用方法D合成。(7mg,23%)。mp:190-192℃(降解).^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.13(s,1H),9.01(s,1H),8.72(s,1H),7.85-7.67(m,5H),7.66-7.59(m,2H),7.47(ddd,J=8.2,6.3,2.1Hz,1H),7.06-7.03(m,1H),6.97(dd,J=8.0,1.7Hz,1H),5.13(dd,J=12.7,5.4Hz,1H),4.17-3.99(m,2H),3.73(s,3H),3.48(s,3H),3.04(t,J=7.7Hz,3H),2.89(ddd,J=16.7,13.7,5.3Hz,3H),2.69-2.52(m,4H),2.30(d,J=5.9Hz,2H),2.11-2.01(m,1H),1.80(s,2H),1.68-1.57(m,2H),1.45-1.29(m,4H),1.24(t,J=6.8Hz,3H).DMSO峰下缺少9个脂肪族质子。m/z(ES$^+$)=961.4

[0583] 实施例2:3-(4-(5-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)戊-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(CE207)

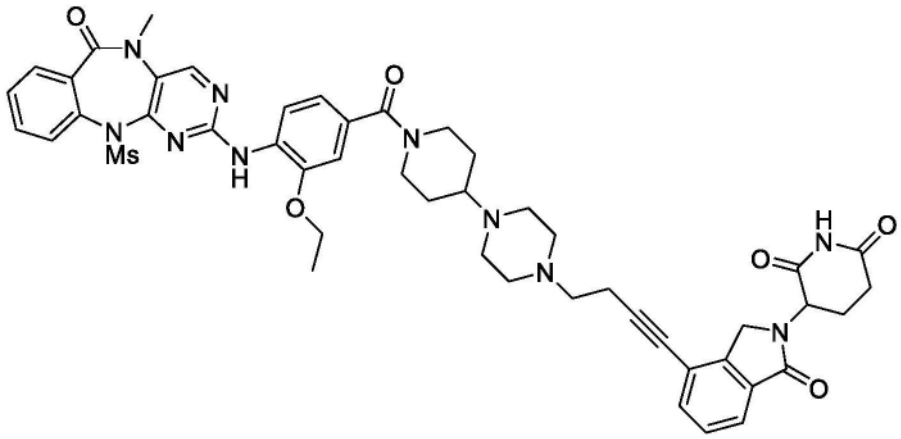
[0584] 

[0585] 使用方法D合成。10mg,14%m/z(ES$^+$)=941.1

[0586] ^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ11.03(s,1H),8.99(s,1H),8.73(s,1H),7.83-7.68(m,

3H),7.55-7.42(m,2H),7.04(s,1H),6.98(d,J＝8.1Hz,1H),5.17(dd,J＝13.3,5.2Hz,1H),4.50-4.27(m,3H),4.16-4.03(m,2H),3.74(s,3H),3.18(d,J＝4.5Hz,1H),2.93(ddd,J＝17.9,13.7,5.5Hz,2H),2.46-2.33(m,5H),2.06-1.98(m,1H),1.78-1.70(m,2H),1.43-1.31(m,2H),1.25(t,J＝6.9Hz,3H).

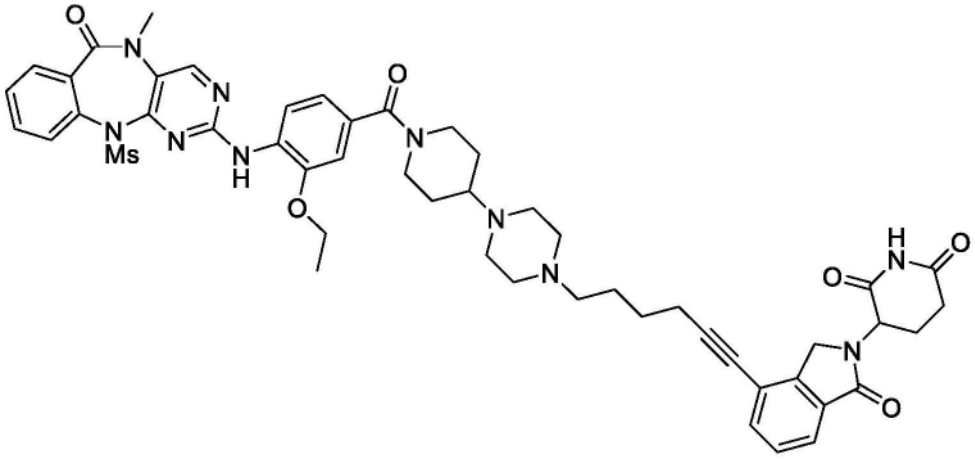
[0587] 实施例3:3-(4-(4-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)丁-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(OS3)

[0588] 

[0589] 使用方法D合成。24mg,23％.m/z(ES$^+$)＝929.3

[0590] ^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ11.09(s,1H),9.06(s,1H),8.79(s,1H),8.20(s,1H),7.87-7.77(m,3H),7.72-7.64(m,3H),7.59(t,J＝7.6Hz,1H),7.53(ddd,J＝8.2,5.8,2.7Hz,1H),7.11(d,J＝1.7Hz,1H),7.05(dd,J＝8.1,1.7Hz,1H),5.23(dd,J＝13.3,5.1Hz,1H),4.56-4.32(m,2H),4.22-4.09(m,2H),3.80(s,3H),3.55(s,3H),2.73-2.59(m,2H),2.53-2.41(m,1H),2.13(s,2H),2.13-1.95(m,3H),1.56(d,J＝12.8Hz,2H),1.32(t,J＝6.9Hz,3H).

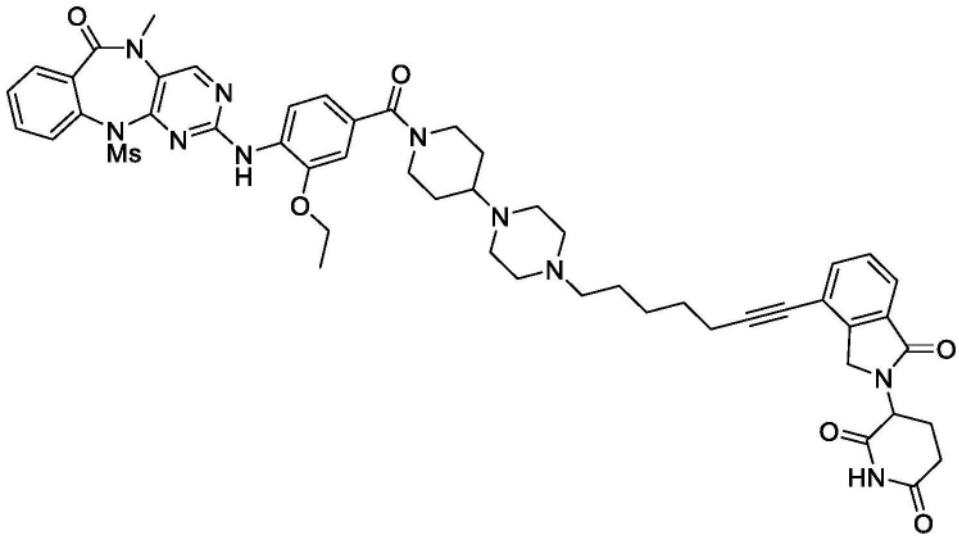
[0591] 实施例4:3-(4-(6-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)己-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(OS4)

[0592] 

[0593] 使用方法D合成。7mg,18％。m/z(ES$^+$)＝957.3 ^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ11.02(s,1H),9.01(s,1H),8.73(s,1H),7.81-7.71(m,2H),7.67-7.60(m,2H),7.54(t,J＝7.6Hz,

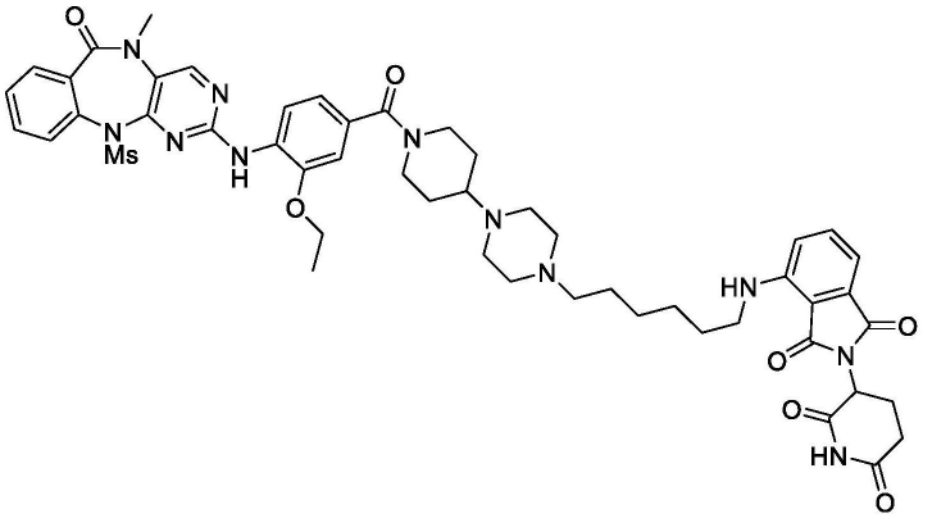
1H),7.51-7.46(m,1H),7.05(d,J＝1.7Hz,1H),6.99(d,J＝8.1Hz,1H),5.17(dd,J＝13.3,5.1Hz,1H),4.58-4.26(m,3H),4.16-4.04(m,2H),3.74(s,3H),3.49(s,3H),3.00-2.88(m,3H),2.64-2.53(m,3H),2.47-2.33(m,2H),2.11-1.95(m,2H),1.66-1.57(m,2H),1.26(t,J＝6.9Hz,3H).

[0594] 实施例5:3-(4-(7-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)庚-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(OS6)

[0595] 

[0596] 使用方法D合成。4mg,10%。m/z(ES$^+$)＝971.4.^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ9.00(s,1H),8.57(s,1H),8.45(s,1H),7.91(dd,J＝27.5,8.6Hz,2H),7.84-7.76(m,1H),7.50-7.46(m,1H),7.46-7.31(m,3H),7.18-7.01(m,1H),5.16-5.08(m,1H),4.97-4.83(m,1H),4.59-4.33(m,4H),4.30-4.16(m,2H),3.90-3.75(m,1H),3.72-3.60(m,2H),3.51-3.39(m,4H),2.80-2.64(m,3H),2.45-2.24(m,6H),2.18-1.88(m,6H),1.81-1.68(m,2H),1.55-1.36(m,4H).

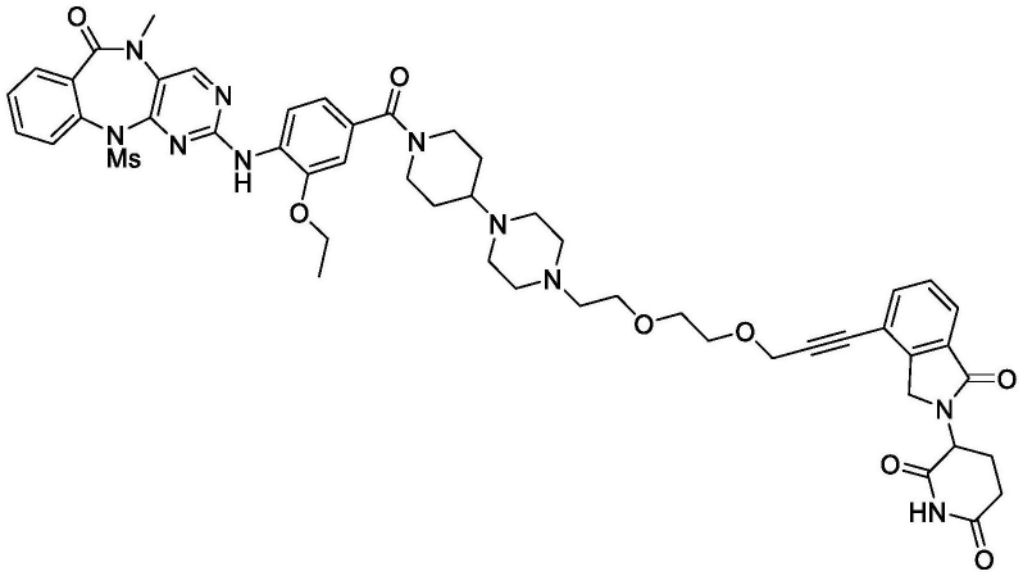
[0597] 实施例6:2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)己基)氨基)异吲哚啉-1,3-二酮(OS7)

[0598] 

[0599] 使用方法D合成。11mg,63％m/z(ES$^+$)＝990.3

[0600] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.10(s,1H),9.00(s,1H),8.73(s,1H),7.80-7.55(m,6H),7.51-7.44(m,1H),7.13-6.94(m,4H),6.54(t,J＝6.0Hz,1H),5.06(dd,J＝12.7,5.4Hz,1H),4.17-4.03(m,2H),3.73(s,4H),3.49(s,4H),3.11-2.76(m,8H),1.59(d,J＝7.8Hz,4H),1.44-1.28(m,9H),1.26(t,J＝6.9Hz,3H).

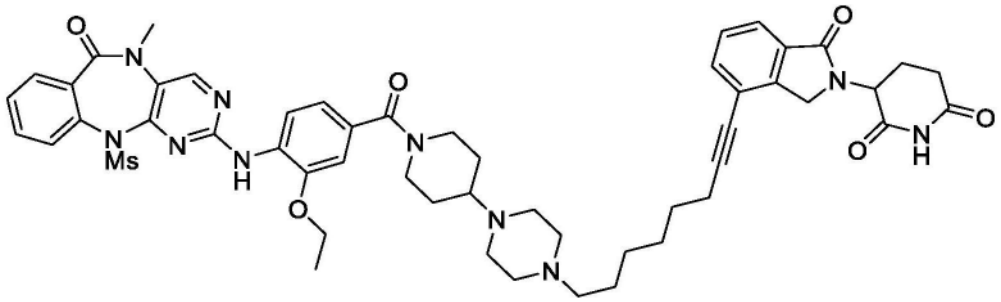
[0601] 实施例7:3-(4-(3-(2-(2-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)乙氧基)乙氧基)丙-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(OS9)

[0602] 

[0603] 使用方法D合成。9mg,10％。m/z(ES$^+$)＝1003.3

[0604] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ11.04(s,1H),9.01(s,1H),8.72(s,1H),8.19(s,1H),7.74(dd,J＝16.5,7.7Hz,3H),7.65-7.42(m,4H),7.04-6.93(m,2H),5.15(dd,J＝13.3,5.1Hz,1H),4.53-4.28(m,5H),4.17-4.01(m,3H),3.78-3.44(m,14H),3.00-2.52(m,7H),2.05-1.61(m,5H),1.40-1.09(m,8H).

[0605] 实施例8:3-(4-(8-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)辛-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(OS10)

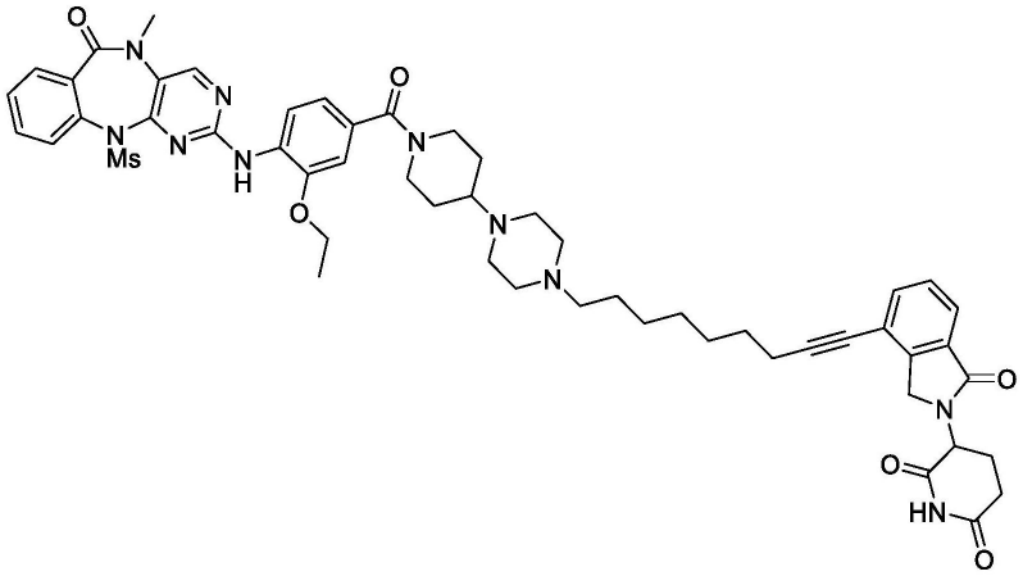
[0606] 

[0607] 使用方法D合成。5mg,8％。m/z(ES$^+$)＝985.4,

[0608] ^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ11.03(s,1H),9.02(s,1H),8.73(s,1H),8.14(d,J＝8.0Hz,1H),7.96(s,1H),7.81-7.69(m,3H),7.66-7.59(m,3H),7.56-7.45(m,2H),7.04(d,J

＝1.7Hz,1H),6.98(dd,J＝8.0,1.7Hz,1H),5.17(dd,J＝13.4,5.1Hz,1H),4.49-4.27(m,3H),4.16-4.05(m,2H),3.74(s,3H),3.49(s,3H),2.90(s,4H),2.74(s,3H),2.65-2.55(m,2H),2.47-2.31(m,2H),2.10-1.99(m,2H),1.83(s,3H),1.63-1.52(m,4H),1.50-1.29(m,6H),1.25(t,J＝6.9Hz,3H).

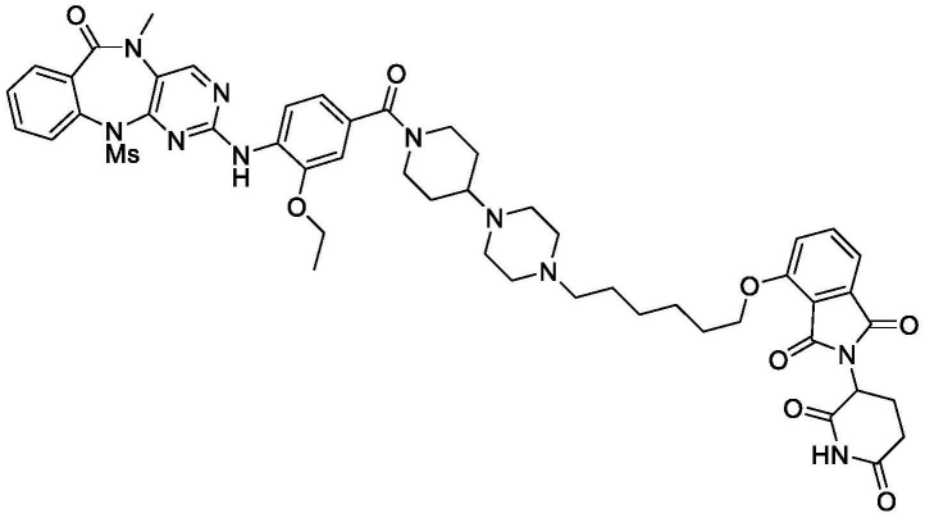
[0609] 实施例9:3-(4-(9-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)壬-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(OS11)

[0610] 

[0611] 使用方法D合成。40mg,60%。m/z(ES$^+$)＝999.3

[0612] ^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ11.08(s,1H),9.01(s,1H),8.75(s,1H),7.81-7.71(m,3H),7.67-7.60(m,3H),7.57-7.47(m,2H),7.05(d,J＝1.7Hz,1H),6.99(dd,J＝8.1,1.7Hz,1H),5.17(dd,J＝13.3,5.1Hz,1H),4.54-4.24(m,3H),4.20-4.03(m,2H),3.76(s,3H),3.51(s,3H),2.98-2.89(m,2H),2.68-2.58(m,2H),2.07-1.99(m,1H),1.62-1.55(m,2H),1.49-1.24(m,12H).

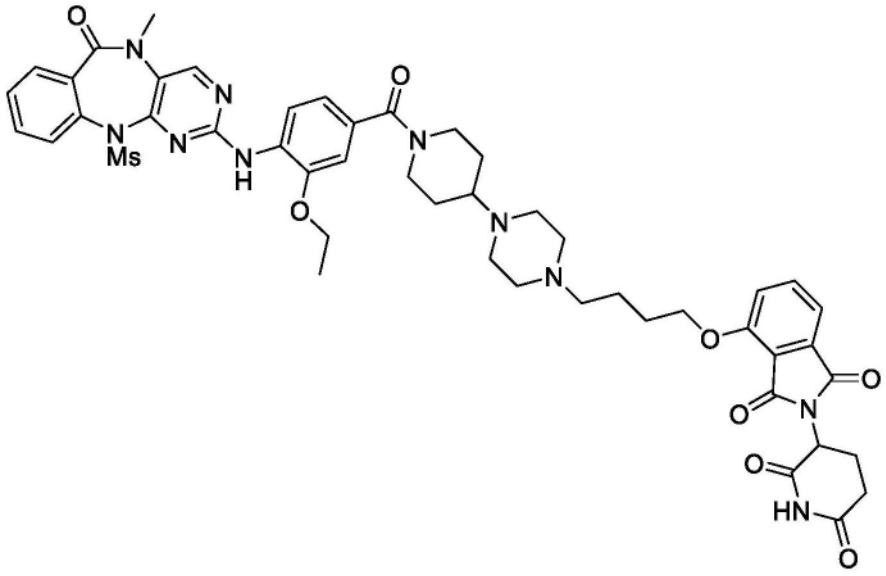
[0613] 实施例10:2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((6-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)己基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮(OS12)

[0614] 

[0615] 使用方法D合成。3mg.4%m/z(ES$^+$)＝990.1

[0616] ^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ9.03(s,1H),8.75(s,1H),8.27(s,1H),7.88-7.71(m,1H),7.68-7.55(m,1H),7.49(t,J＝7.4Hz,1H),7.23-6.91(m,3H),5.07(dd,J＝12.8,5.5Hz,1H),4.17-3.99(m,2H),3.76(s,1H),3.51(s,2H),3.09-2.63(m,4H),2.44-1.70(m,7H),1.63-1.02(m,8H),0.91-0.80(m,1H).

[0617] 实施例11:2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-(4-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)丁氧基)异吲哚啉-1,3-二酮(OS13)

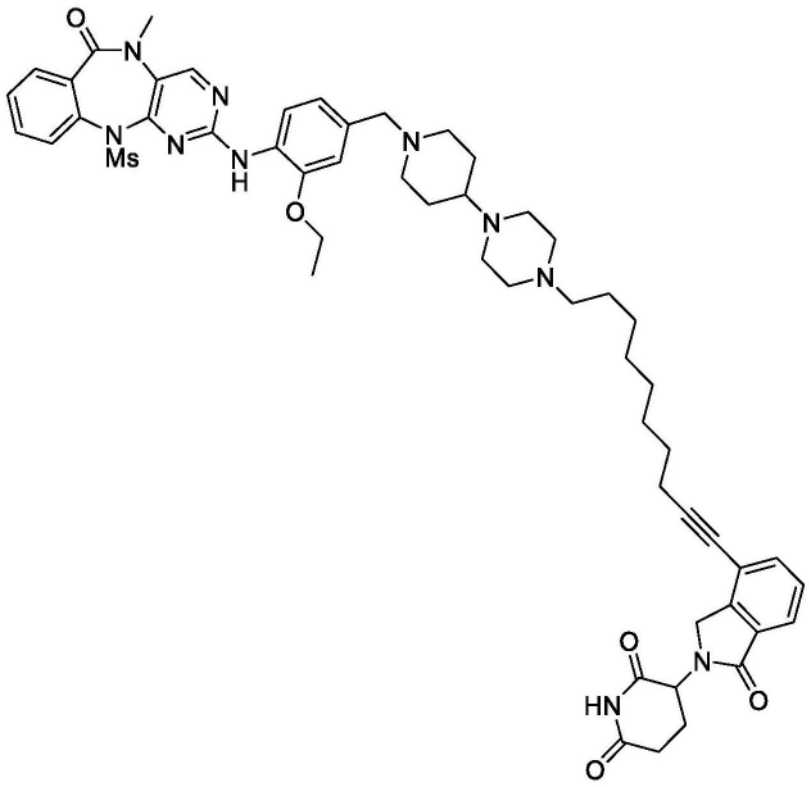
[0618] 

[0619] 使用方法D合成。7mg,11%m/z(ES$^+$)＝991.3

[0620] ^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ11.12(s,1H),9.01(s,1H),8.73(d,J＝1.6Hz,1H),7.86-7.72(m,2H),7.62(d,J＝5.6Hz,1H),7.54-7.44(m,2H),7.14-6.91(m,2H),5.09(dd,J＝13.0,5.4Hz,1H),4.22(t,J＝5.8Hz,1H),4.15-4.04(m,2H),3.74(s,2H),3.49(d,J＝1.6Hz,3H),3.14-2.84(m,5H),2.08-1.99(m,1H),1.84-1.72(m,3H),1.66(s,2H),1.51(s,2H),1.46-1.32(m,3H),1.31-1.22(m,3H).

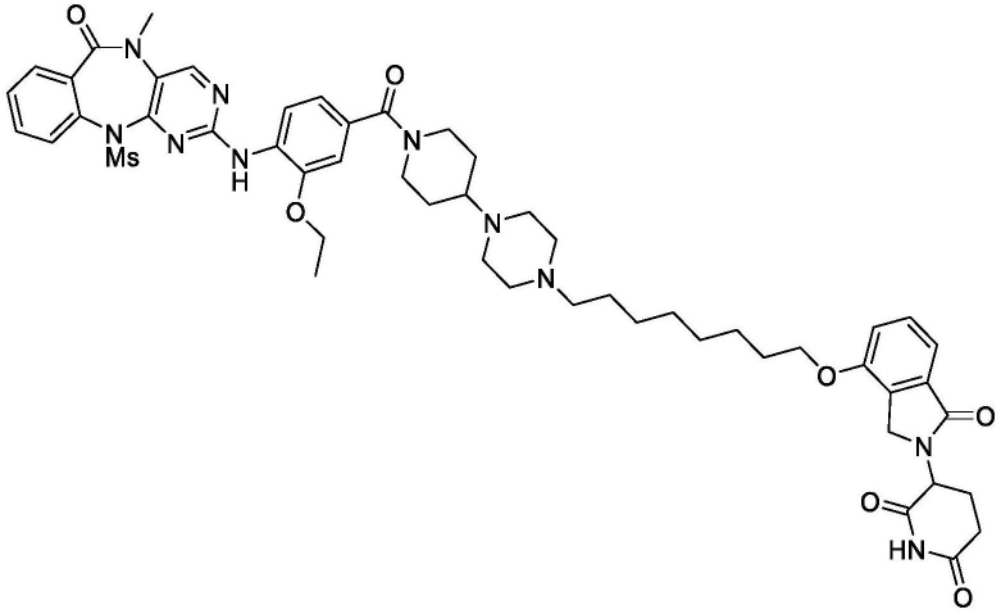
[0621] 实施例12:3-(4-(10-(4-(1-(3-乙氧基-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,

11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)癸-1-炔-1-基)-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮(OS14)

[0622] 

[0623] 使用方法D合成。12mg,15%m/z(ES+)=1013.2

[0624] 实施例13:2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-4-((8-(4-(1-(3-乙氧基)-4-((5-甲基-11-(甲磺酰基)-6-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[e]嘧啶并[5,4-b][1,4]二氮杂环庚烯-2-基)氨基)苯甲酰基)哌啶-4-基)哌嗪-1-基)辛基)氧基)异吲哚啉-1,3-二酮(OS17)

[0625] 

[0626] 使用方法D合成。40mg,39%。m/z(ES+)=1019.2

[0627] ^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6)δ11.14(s,1H),9.00(s,1H),8.75(s,1H),7.86-7.71(m,3H),7.71-7.59(m,2H),7.56-7.42(m,3H),7.05(d,J=1.7Hz,1H),6.99(dd,J=8.1,1.7Hz,

1H),5.10(dd,J＝12.9,5.5Hz,1H),4.22(t,J＝6.4Hz,2H),4.12(dtt,J＝16.6,9.6,7.0Hz,2H),3.76(s,3H),3.51(s,3H),3.44-3.29(m,3H),2.90(ddd,J＝16.9,14.0,5.5Hz,2H),2.65-2.56(m,2H),2.50-2.21(m,7H),2.05(dtd,J＝12.9,5.2,2.2Hz,1H),1.77(p,J＝6.5Hz,3H),1.51-1.23(m,13H).生物学实施例

[0628] 实施例化合物的活性数据(图1至5)

[0629] 免疫印迹。

[0630] 在含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA测定缓冲液中提取蛋白质。提取物(30μg)通过SDS/PAGE分离并电泳转移到Immun-Blot®PVDF膜(Bio-Rad)上。将膜在3％脱脂奶粉或3％ BSA中饱和,并在4℃用针对ERK5、BRD4、p-ERK5、MEK5、ERK1/2和β-肌动蛋白的抗体(1:1,000稀释,除非另有说明)探测过夜,如所示出的。我们用与辣根过氧化物酶偶联的IgG作为第二抗兔和抗小鼠抗体(Abcam),通过增强化学发光检测免疫复合物。

[0631] 显示不同浓度的实施例1-12下的MDA468中ERK5水平的蛋白质印迹数据显示在图1-5中。提供了该数据的图示,以证明相对于DMSO对照的表达。图1的右图还包括ERK5(底线)和BRD4(上线)的表达。

[0632] 免疫印迹信号的图示:使用ImageJ测量免疫印迹上目的蛋白质条带的显微测密术(densitometry)。相对于加载对照(b-肌动蛋白)计算蛋白质水平,并表示为对照-处理的载体的倍数。

[0633] 特异性测试-对OS1:3TNBC细胞系的8点剂量反应(图8)

[0634] 材料和方法

[0635] 免疫印迹。

[0636] 我们在含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA测定缓冲液中提取蛋白质。我们通过SDS/PAGE分离提取物(30μg),并电泳转移到Immun-Blot®PVDF膜(Bio-Rad)上。将膜在3％脱脂奶粉或3％ BSA中饱和,并在4℃用针对ERK5、P-ERK5、ERK1/2、BRD4、MEK5和β-肌动蛋白的抗体(1:1,000稀释,除非另有说明)探测过夜。我们用与辣根过氧化物酶偶联的IgG作为第二抗兔和抗小鼠抗体(Abcam),通过增强化学发光检测免疫复合物。

[0637] 附图显示:

[0638] 左侧的图是蛋白质印迹图像,显示了蛋白质响应于一系列OS1剂量的相对表达。右侧的图是定量蛋白质印迹图像的图,以显示相对于加载对照β-肌动蛋白的ERK5、磷酸-ERK5、ERK1/2和BRD4蛋白水平。

[0639] 图8中的数据显示OS1是特异性的,并且在一系列TNBC细胞系中降解>90％的ERK5。OS1对结构相似的蛋白质(ERK1/2)或文献ERK5抑制剂的已知非靶标(BRD4)没有脱靶效应。OS1在1uM时最有效,但10uM的剂量会引起钩效应(hook effect)。

[0640] 在较高剂量下,OS1也具有激酶抑制剂活性,如免疫印迹上p-ERK5的减少所例证的。这是预期的,因为ERK5靶向弹头是基于ERK5激酶抑制剂。OS1重复给药最长2周(图9)

[0641] 材料和方法

[0642] 免疫印迹。

[0643] 我们在含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA测定缓冲液中提取蛋白质。我们通过SDS/PAGE分离提取物(30μg),并电泳转移到Immun-Blot®PVDF膜(Bio-Rad)上。将膜

在3％脱脂奶粉或3％ BSA中饱和,并在4℃用针对ERK5、BRD4、MEK5和β-肌动蛋白的抗体(1:1,000稀释,除非另有说明)探测过夜。我们用与辣根过氧化物酶偶联的IgG作为第二抗兔和抗小鼠抗体(Abcam),通过增强化学发光检测免疫复合物。

[0644] 附图显示:

[0645] 图9中的数据显示,每48小时重复给药OS1不会影响OS1的特异性。

[0646] 重复给药最长两周,对ERK1/2(结构相似的激酶)或BRD4(文献激酶抑制剂的已知非靶标)均无影响。ERK5的上游激活剂MEK5也不受OS1重复给药的影响。

[0647] 我们可以由此得出结论,所有使用OS1的数据都是ERK5特异性丢失的结果。

[0648] TNBC细胞的形态(图10)

[0649] 材料和方法

[0650] 接种细胞并进行处理。吸出培养基,用PBS洗涤细胞,随后在10％福尔马林中固定10分钟。在PBS中洗涤固定的细胞,然后用PBS中的0.1％(v/v)Triton-100渗透10分钟。用PBS洗涤细胞,通过与1％ BSA孵育30分钟来封闭非特异性结合位点。通过在4℃与稀释在1％ BSA中的100μl第一抗体(见表)一起孵育过夜来识别目的靶标。用PBS洗涤后,样品进一步与偶联到荧光标签的物种特异性第二抗体(见抗体表)在室温下在黑暗中孵育1小时。一些样品在室温下进一步与100μl的1％ BSA中的1:200鬼笔环肽(Invitrogen,A12381)孵育2小时,以鉴定肌动蛋白丝结构。按照制造商说明书中的描述拆除EZ-slides外壳,并在蒸馏H_2O中清洗载玻片。将样品与一滴含有DAPI(abcam)的固定介质(Mounting Medium)在室温下在黑暗中孵育5分钟,以使细胞核可视化。将盖玻片加到每个载玻片上,并在室温下干燥。使用20x/0.80Plan Apochromat物镜(蔡司)和DAPI、FITC和TRITC滤光片组在3D-Histech Pannoramic-250显微镜载玻片扫描仪上获得图像。使用Case Viewer软件(3D-Histech)拍摄载玻片扫描的快照。然后使用ImageJ处理和分析图像。

[0651] 附图显示:

[0652] 三种三阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MDA-MB-468和SUM159中的免疫荧光染色。

[0653] 图10显示OS1影响TNBC细胞的形态,而AX15836(激酶抑制)不影响。这一数据与TNBC的shERK5和CRISPR研究的数据一致,在这些研究中,ERK5的缺失导致形态学变化。这里观察到的形态学变化表明迁移和转移能力的丧失。

[0654] 重申OS1有效降解ERK5,如OS1处理的细胞中ERK5染色(绿色)的丧失所示。

[0655] 用OS1处理诱导TNBC细胞系的形态学变化,这种变化是特异性激酶抑制剂不能再现的(AX15836)。

[0656] 这些形态学变化与TNBC的研究一致,在所述研究中通过遗传和siRNA方法敲低或消除了EKR5。

[0657] 观察到的形态学变化与TNBC细胞中向较少迁移、较少转移的表型转变相一致。在siRNA/CRISPR敲低ERK5研究中出现了与此处相似的形态学变化,在这些研究中,它们直接映射到TNBC体内临床前模型中的抗转移表型。因此,我们可以推断OS1在体内具有抗转移作用。

[0658] 相比之下,特异性激酶抑制剂不能重现这种表型,在体内预防TNBC转移可能无效。

[0659] 因此,对于TNBC,降解方法是靶向ERK5以获得治疗增益的最合适的方法。响应OS1处理24小时的qRT-PCR(图11)

[0660] 材料和方法

[0661] qRT-PCR:使用TRIZOL和/或miRNeasy mini试剂盒(Qiagen)从细胞中分离总RNA。我们如Green,D.,Eyre,H.,Singh,A.等人(Targeting the MAPK7/MMP9axis for metastasis in primary bone cancer.Oncogene 39,5553-5569(2020))先前所述进行cDNA合成。我们使用SYBR Green I core试剂盒(Eurogentec)进行qPCR。在ABI PRISM® 7700序列检测系统(Thermo Fisher Scientific)中检测PCR产物。我们使用2-ΔΔG方法分析结果。基因表达标准化为PGK1或ACTB。

[0662] 附图显示:

[0663] 与内部对照PGK1或ACTB相比,三种三阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MDA-MB-468和SUM159中的相对mRNA水平。

[0664] 图11中的数据显示,通过OS1的ERK5的缺失导致促进EMT、血管生成和肿瘤前炎症的基因表达缺失。

[0665] 用OS1而不是特异性ERK5激酶抑制剂(AX15836)治疗,诱导促进EMT、迁移和转移行为(N-钙粘蛋白、细胞角蛋白和B1-整联蛋白)、血管生成(VEGF)和肿瘤前炎症(IL6、IL1b)的基因表达缺失。

[0666] 相反,ERK5降解(通过OS1)导致阻断EMT、迁移和转移行为(E-钙粘蛋白)的基因表达增加。

[0667] 剂量为1uM的OS1在影响基因表达方面最有效,因此我们得出结论,在TNBC细胞系中,需要ERK5蛋白损失>80%才能引起最大的表型效应。

[0668] OS1和OS11与WO2021061894的实施例7的比较(图12和13)

[0669] 材料和方法

[0670] 免疫印迹

[0671] 我们在含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA测定缓冲液中提取蛋白质。我们通过SDS/PAGE分离提取物(30μg),并电泳转移到Immun-Blot®PVDF膜(Bio-Rad)上。将膜在3%脱脂奶粉或3% BSA中饱和,并在4℃用针对ERK5、BRD4、MEK5和β-肌动蛋白的抗体(1:1,000稀释,除非另有说明)探测过夜。我们用与辣根过氧化物酶偶联的IgG作为第二抗兔和抗小鼠抗体(Abcam),通过增强化学发光检测免疫复合物。

[0672] 附图显示:

[0673] 图12和13中的数据显示了在用单剂量的ERK5-PROTAC:OS1(图12)、OS11(图13)和WO2021061894的实施例7(下文称为“对比例7”(Comp Ex 7))处理MDA-MB-468细胞48小时后,ERK5和BRD4水平相对于b-肌动蛋白的蛋白质印迹。OS1和OS11以比对比例7更低的浓度降解EKR5。OS1在0.1μM的剂量下能有效降解ERK5,而OS11则需0.01μM的剂量。相比之下,对比例7需要5μM的剂量才能实现与0.1μM OS1或0.01μM OS11类似的ERK5降解。OS1或OS11不引起ERK5靶向药物的已知非靶标:BRD4的降解。然而,对比例7在降解ERK5所需的剂量下(对比例7的5μM)引起BRD4的同时降解。因此,OS1和OS11都比ERK5-PROTAC化合物对比例7更有效和特异。

[0674] 结论

[0675] 本文提供的生物学实施例证明ERK5-PROTAC方法是可行的。本发明的化合物对ERK5具有特异性和效力。此外,数据表明:

[0676] • 本发明的化合物可以在TNBC细胞中诱导抗迁移和抗转移表型,而激酶抑制不能。

[0677] • 本发明的化合物可以防止TNBC细胞中的肿瘤前炎症信号传导,而激酶抑制不能。

[0678] • 与ERK5激酶抑制剂不同,本发明的化合物可以再现从使用遗传或siRNA方法靶向ERK5的临床前癌症研究中看到的抗癌效果。

[0679] • ERK5降解方法是在未满足需求的多种癌症中靶向ERK5以获得治疗增益的最合适的方法。

[0680] OS11在TNBC免疫能力模型中的体内功效

[0681] 材料和方法

[0682] 体内功效测试

[0683] 将鼠TNBC细胞系EMT6原位植入8-10周龄的Balb/c小鼠(乳房脂肪垫)。通过卡尺测量肿瘤,一旦肿瘤达到100-150mm^3,将小鼠随机分成4个治疗组:载体对照组、单独PD1抑制剂组、单独OS11组(20mg/kg)和组合治疗组。实验是在盲态下进行的。允许肿瘤生长直到终点<1000mm^3,除非观察到由于转移引起的不良表型,这种情况下需要更早的终点。在终点,收集终末血样和肿瘤用于分析。

[0684] 免疫印迹

[0685] 我们在含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA测定缓冲液中从终末血样和离体肿瘤活检中提取蛋白质。我们通过SDS/PAGE分离提取物(30μg),并电泳转移到Immun-Blot®PVDF膜(Bio-Rad)上。将膜在3%脱脂奶粉或3% BSA中饱和,并在4℃用针对ERK5和β-肌动蛋白的抗体(1:1,000稀释,除非另有说明)探测过夜。我们用与辣根过氧化物酶偶联的IgG作为第二抗兔和抗小鼠抗体(Abcam),通过增强化学发光检测免疫复合物。

[0686] 附图显示:

[0687] 图14A中的数据显示了OS11在体内肿瘤区室和PBMC(来源于终末血样)中有效敲低ERK5。图14B中的数据显示OS11具有等同于PD1抑制的抗肿瘤作用,并且OS11与PD1抑制的组合治疗没有超过任一药剂单独作用的进一步作用。

[0688] 结论

[0689] 本发明的化合物在体内对ERK5的降解有效,无论是在肿瘤区室还是在外周血中,并且在TNBC的原位、免疫能力模型中,其作为抗癌剂的效果与PD1抑制剂一样有效。

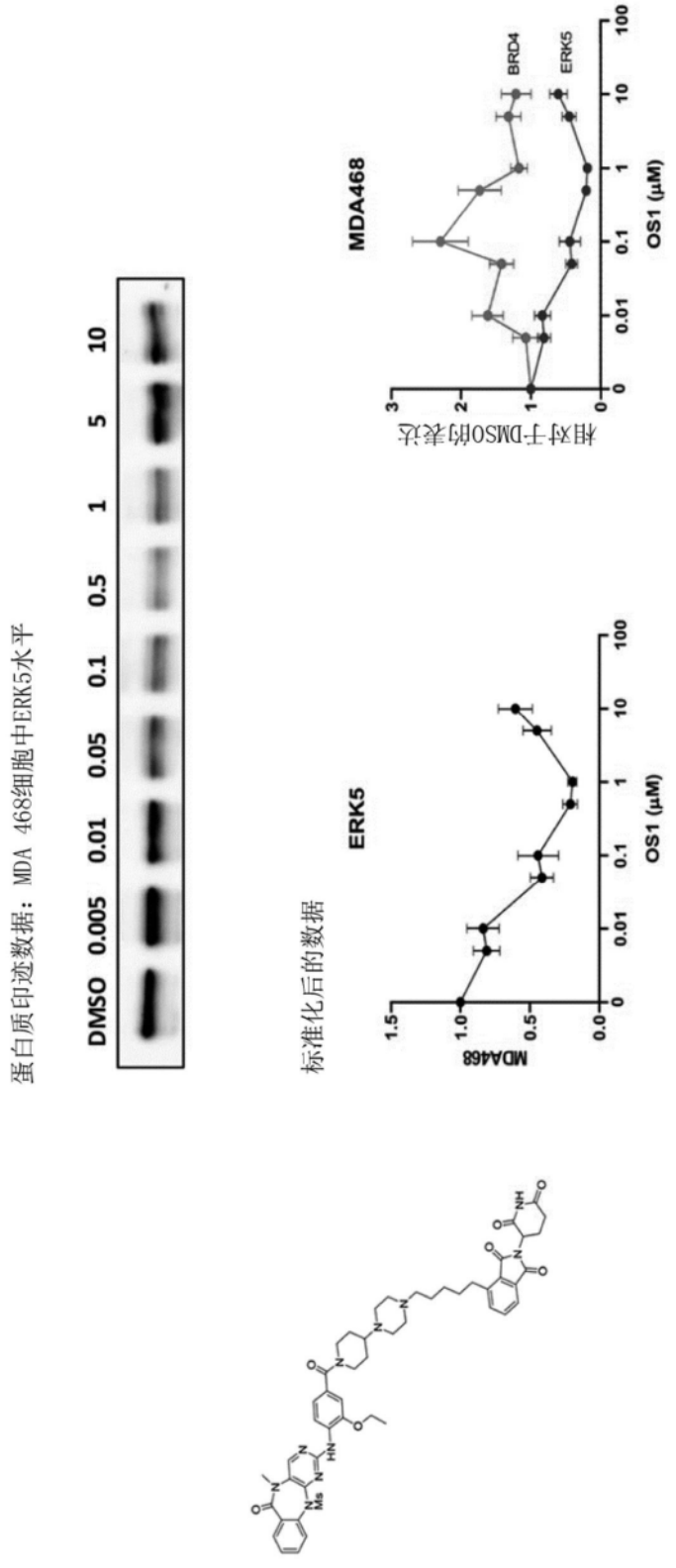

蛋白质印迹数据：MDA 468细胞中ERK5水平
DMSO 0.005 0.01 0.05 0.1 0.5 1 5 10
标准化后的数据
ERK5
MDA468
OS1 (μM)
MDA468
BRD4
ERK5
相对于DMSO的表达
OS1 (μM)

图1

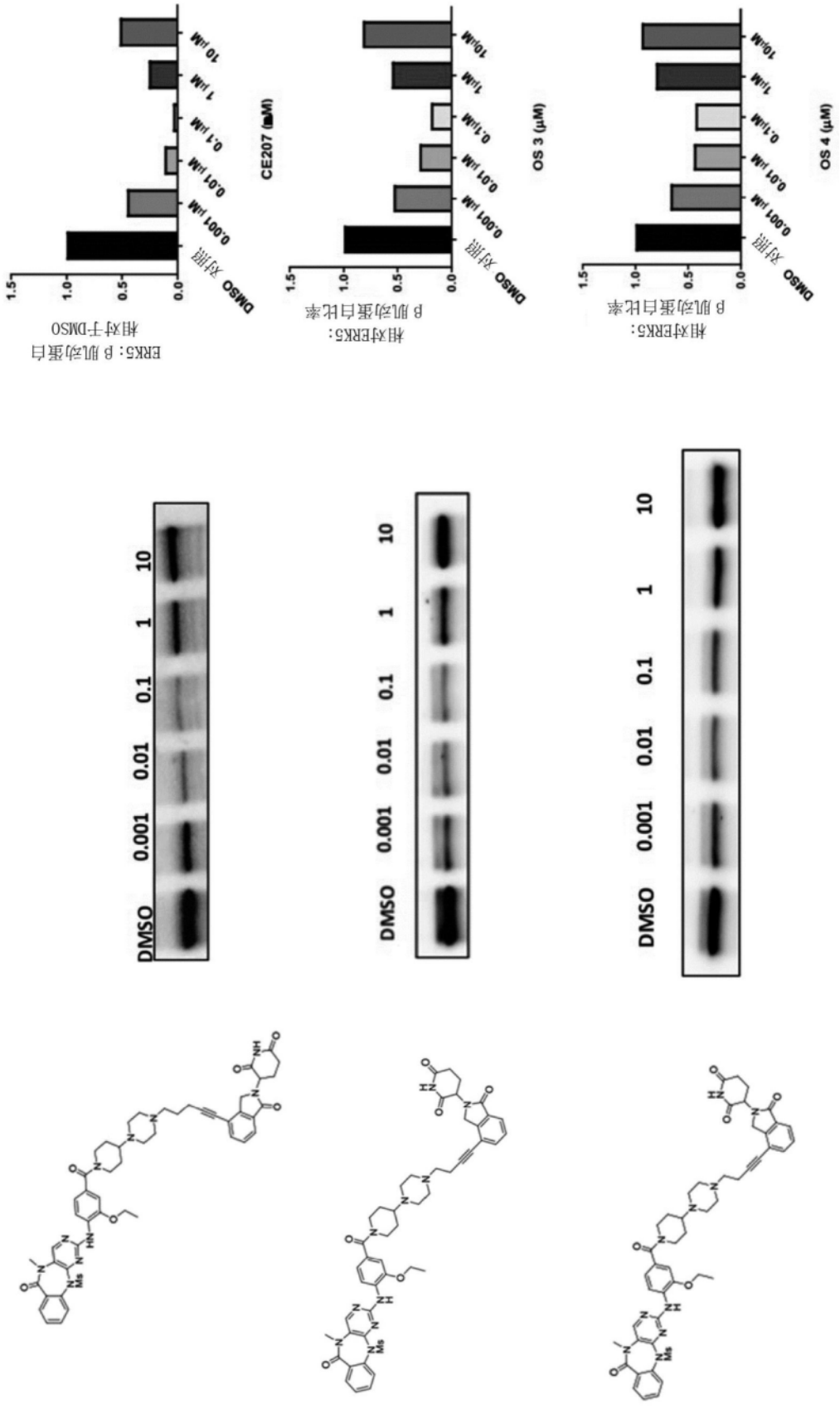

CE207 (■M)
OS 3 (μM)
OS 4 (μM)
DMSO
对照
0.001 μM
0.01 μM
0.1 μM
1 μM
10 μM
相对ERK5：β肌动蛋白比率
ERK5：β肌动蛋白
相对于DMSO
DMSO
0.001
0.01
0.1
1
10

图2

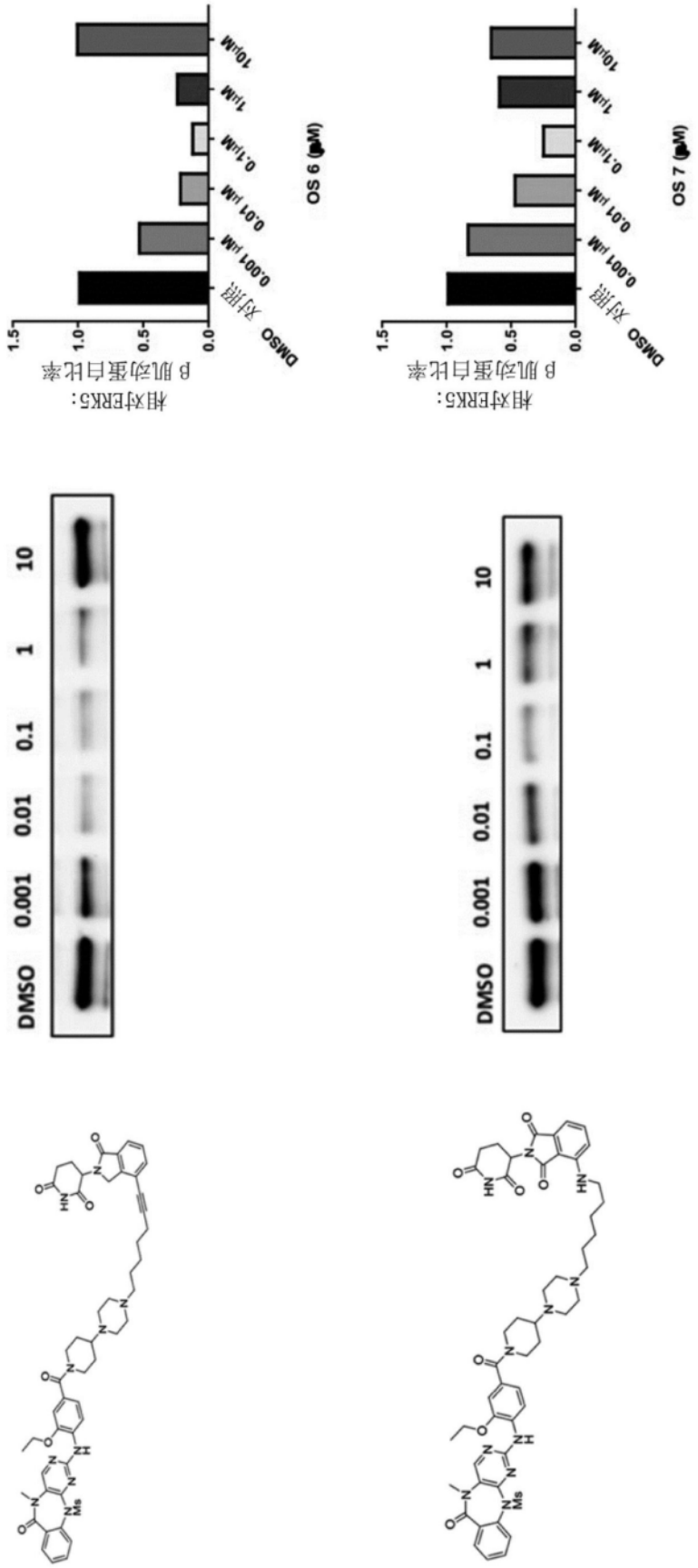

OS 6 (pM)
OS 7 (pM)
相对ERK5：
β 肌动蛋白比率
DMSO
对照
0.001 μM
0.01 μM
0.1 μM
1 μM
10 μM
DMSO 0.001 0.01 0.1 1 10

图3

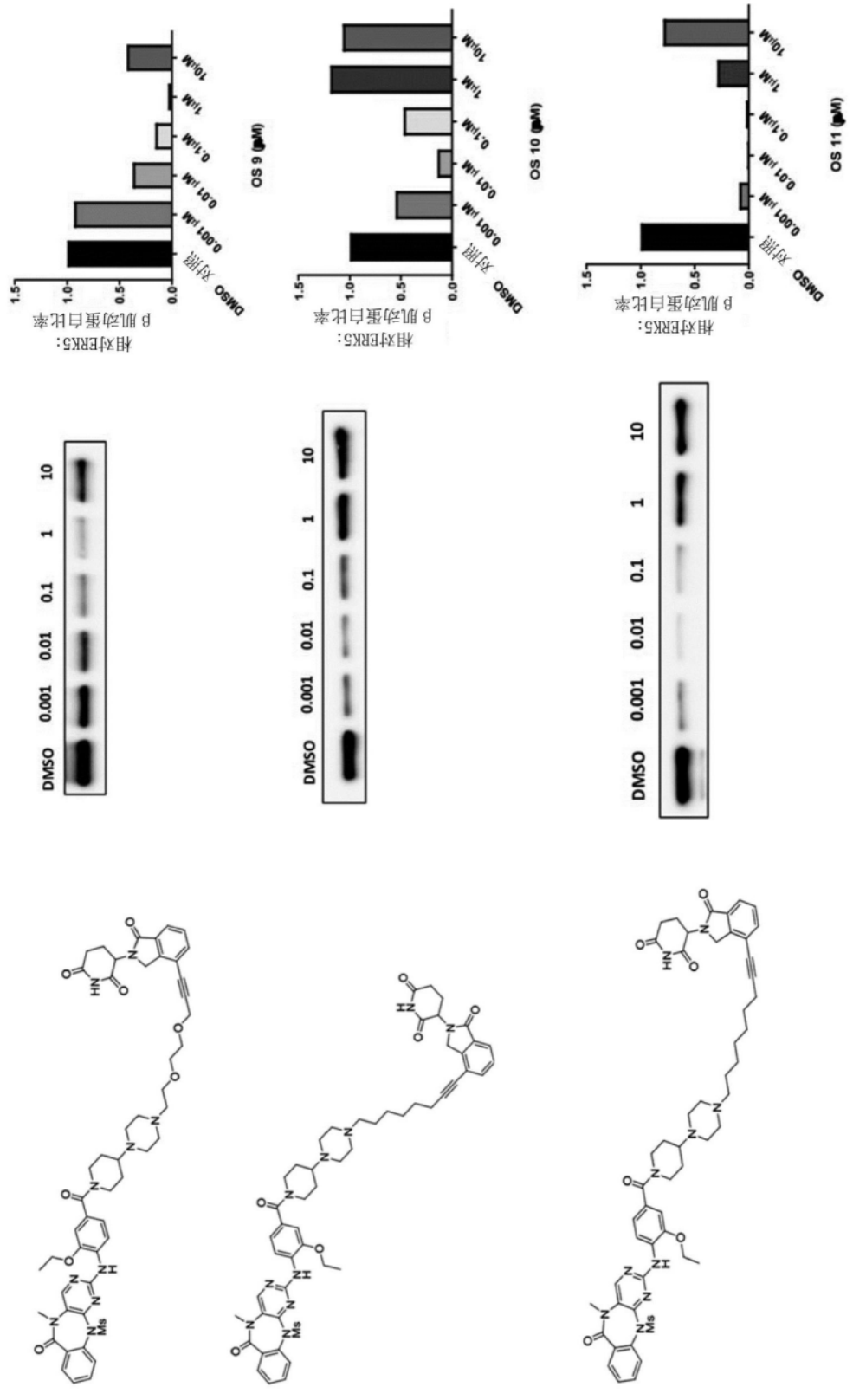

OS 9 (μM)
OS 10 (μM)
OS 11 (μM)
相对ERK5：β肌动蛋白比率
DMSO
对照
0.001 μM
0.01 μM
0.1 μM
1 μM
10 μM
DMSO 0.001 0.01 0.1 1 10

图4

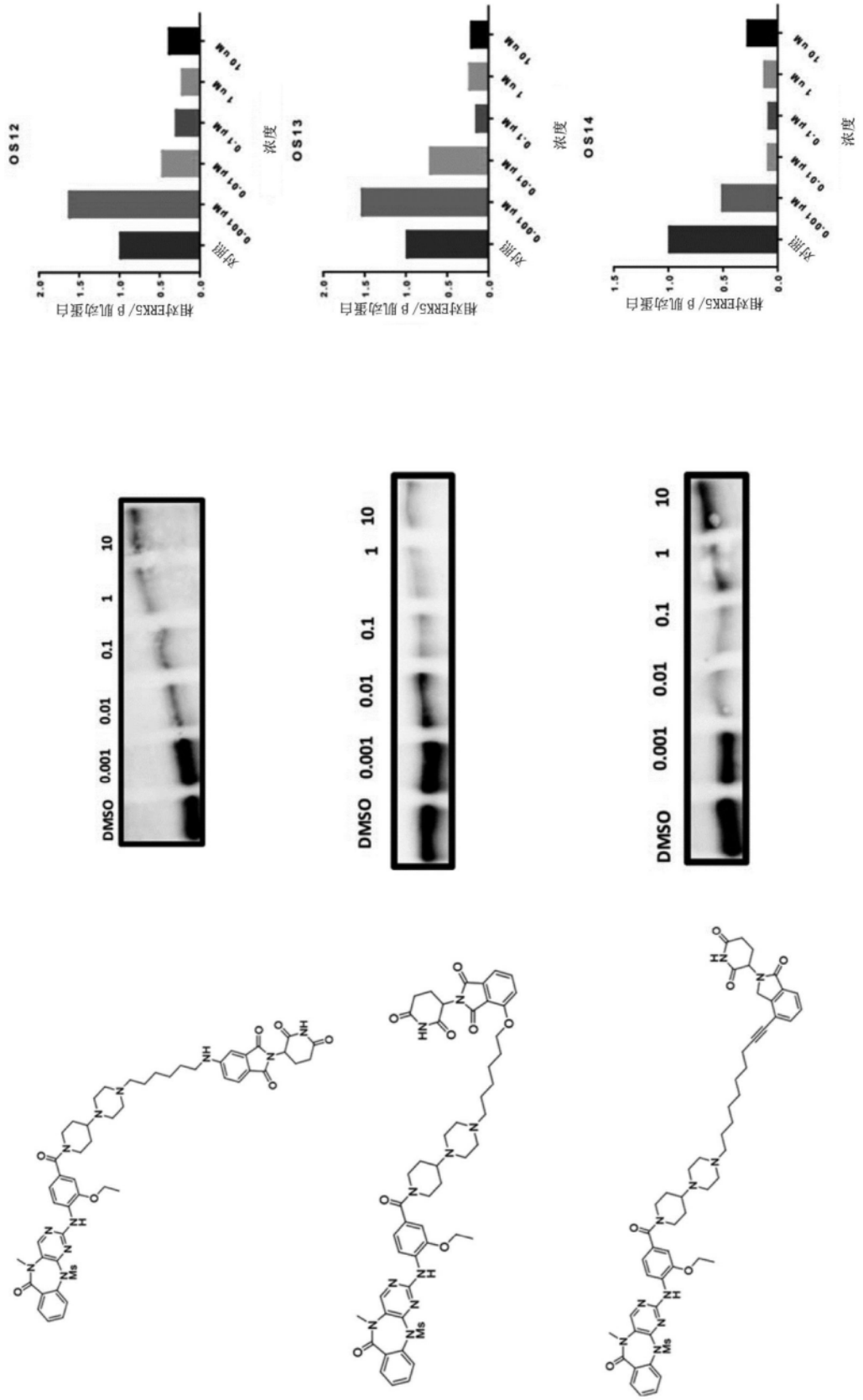

OS12
OS13
OS14
浓度
对照
0.001 μM
0.01 μM
0.1 μM
1 μM
10 μM
相对ERK5/β肌动蛋白
DMSO
0.001
0.01
0.1
1
10
Ms

图5

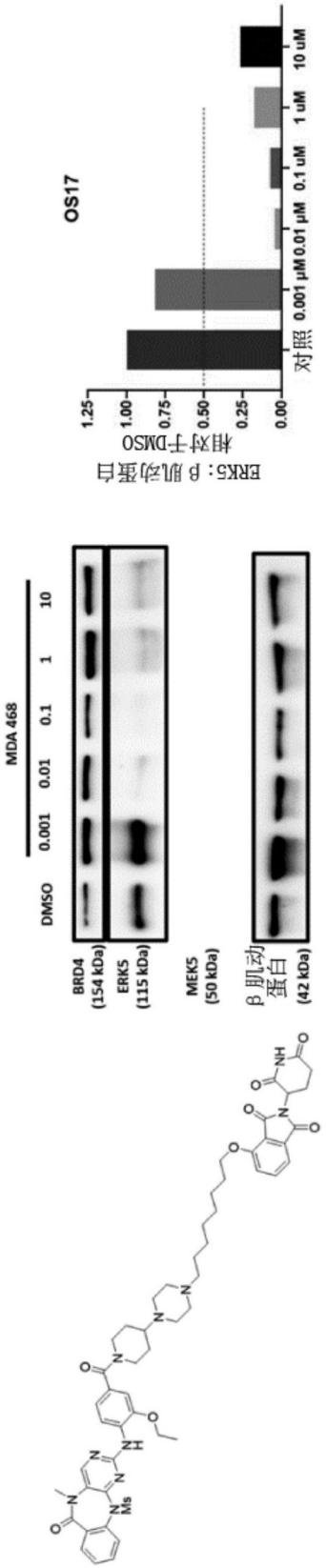
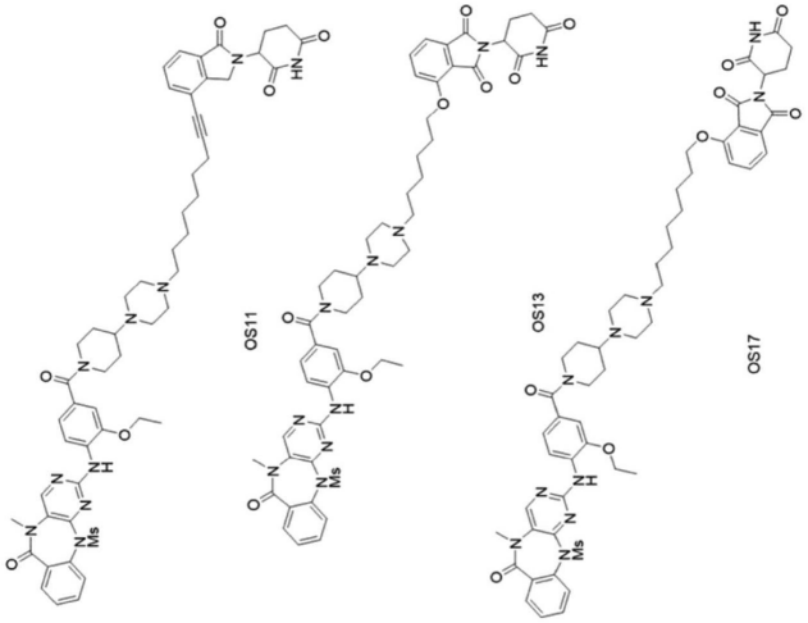

ERK5: β 肌动蛋白
相对于DMSO
1.25
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
OS17
对照
0.001 μM
0.01 μM
0.1 uM
1 uM
10 uM
MDA 468
DMSO
0.001
0.01
0.1
1
10
BRD4 (154 kDa)
ERK5 (115 kDa)
MEK5 (50 kDa)
β 肌动蛋白 (42 kDa)
NH
O
N
Ms
H

图6


OS11
OS13
OS17

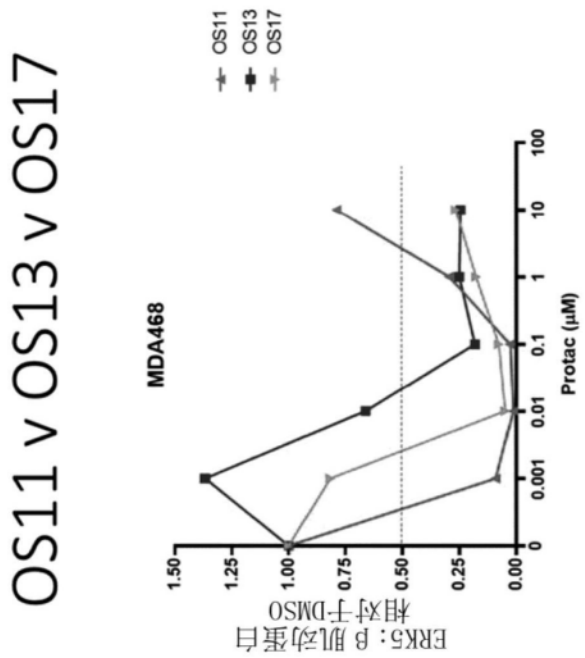

OS11 v OS13 v OS17
OS11
OS13
OS17
MDA468
ERK5：β 肌动蛋白
相对于DMSO
1.50
1.25
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Protac (μM)

图7

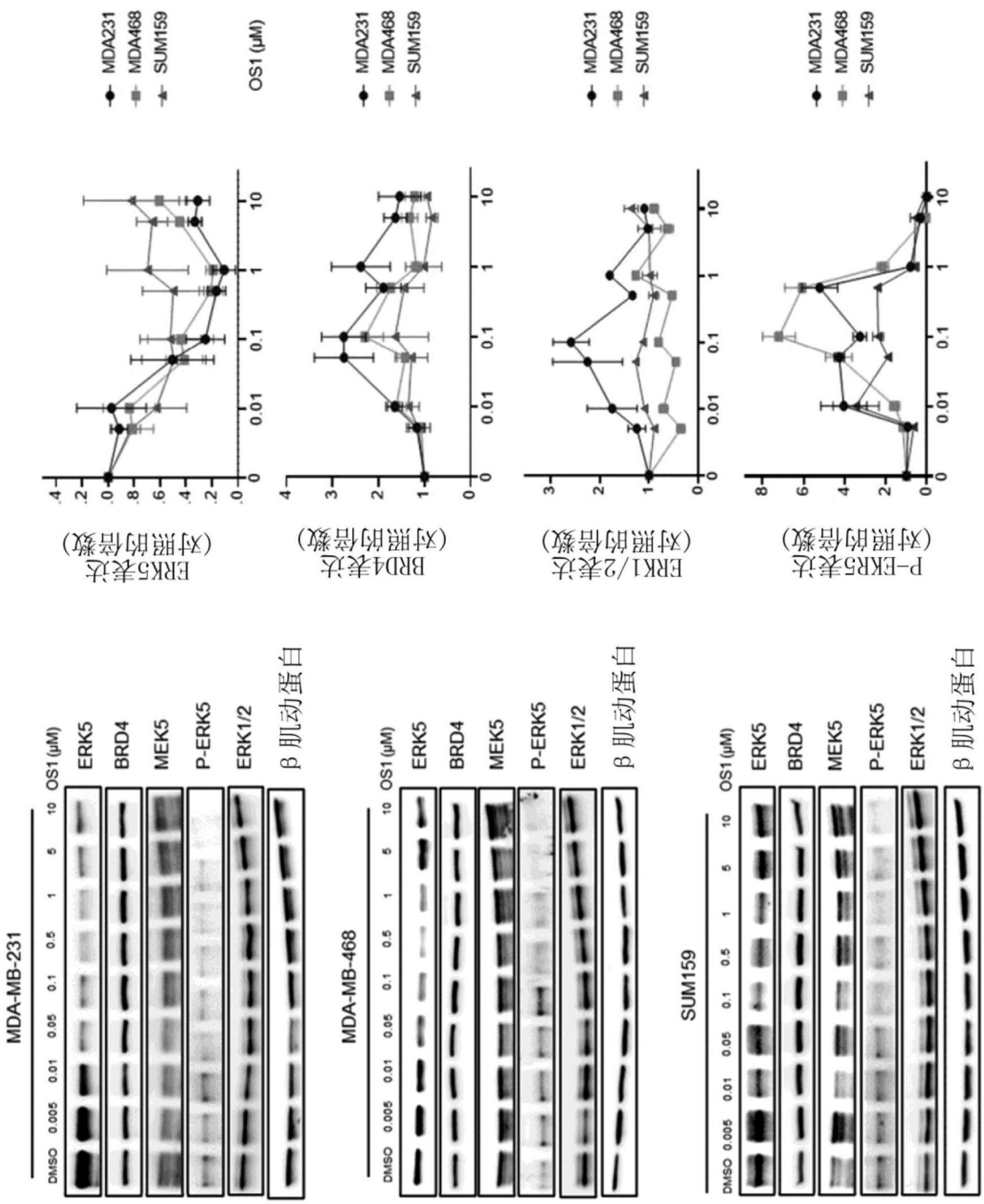

MDA-MB-231
MDA-MB-468
SUM159
DMSO 0.005 0.01 0.05 0.1 0.5 1 5 10 OS1 (μM)
ERK5
BRD4
MEK5
P-ERK5
ERK1/2
β 肌动蛋白
P-ERK5表达 (对照的倍数)
ERK1/2表达 (对照的倍数)
BRD4表达 (对照的倍数)
ERK5表达 (对照的倍数)
MDA231
MDA468
SUM159
OS1 (μM)

图8

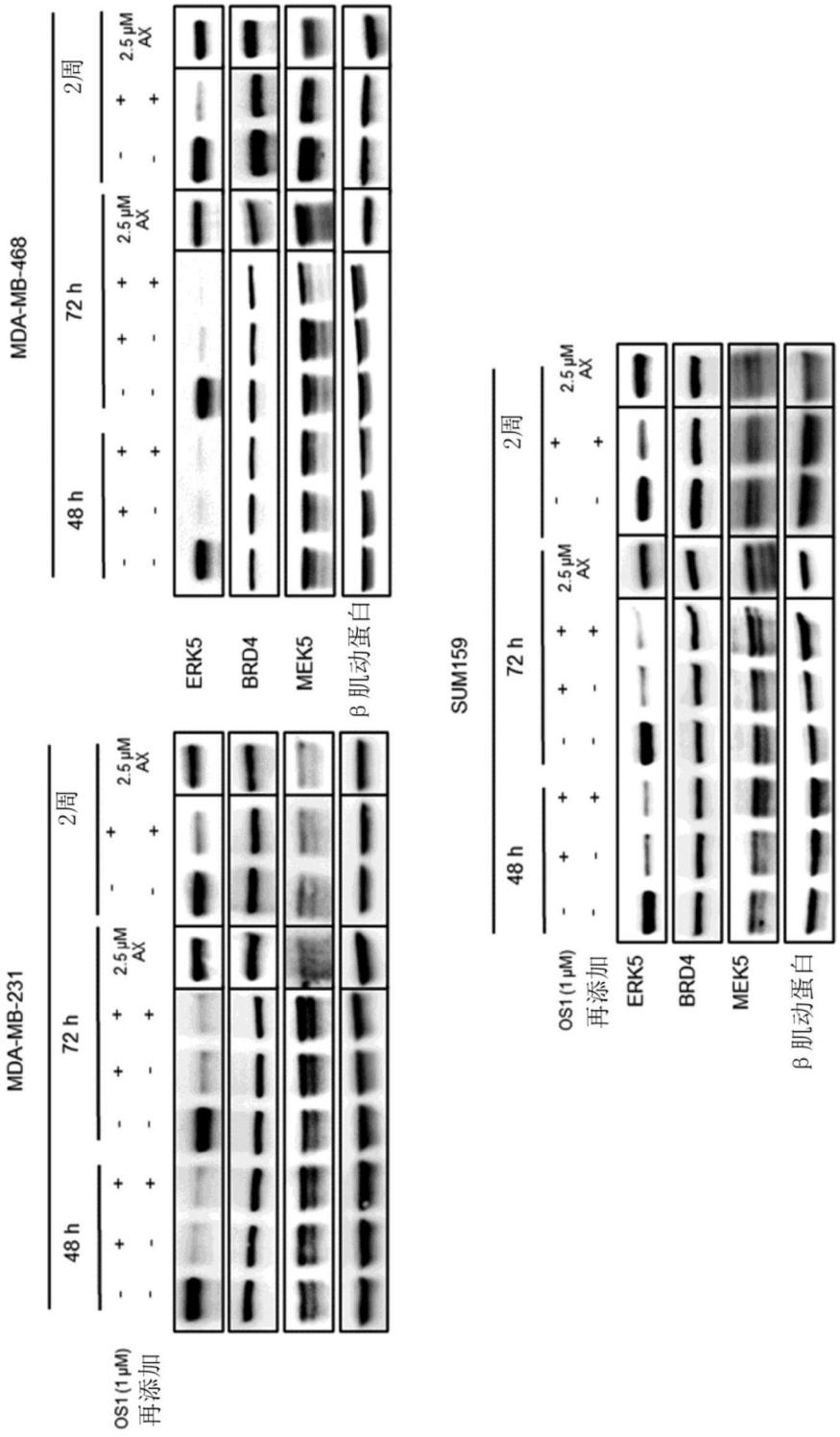

MDA-MB-231
MDA-MB-468
SUM159
48 h
72 h
2周
2.5 μM AX
OS1(1 μM) 再添加
ERK5
BRD4
MEK5
β 肌动蛋白

图9

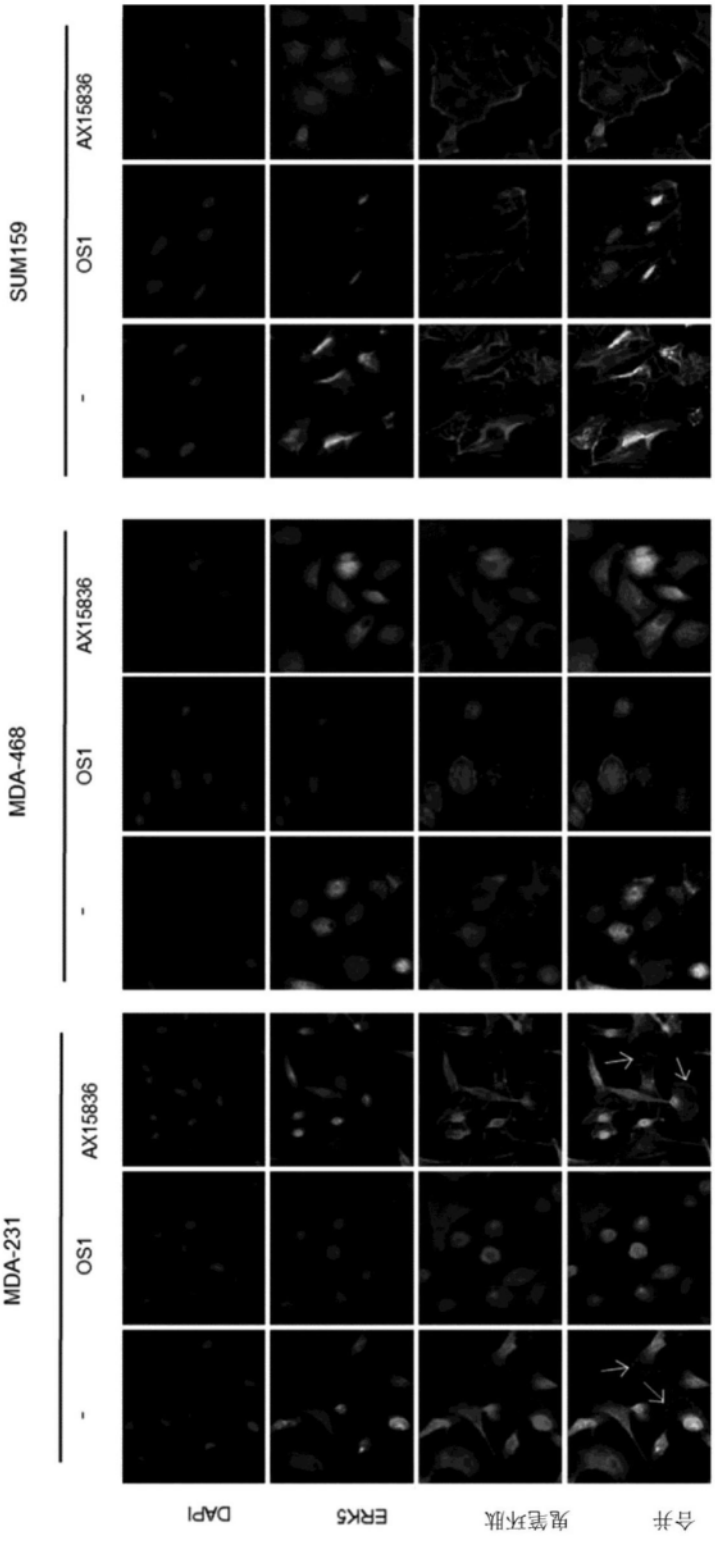


图10

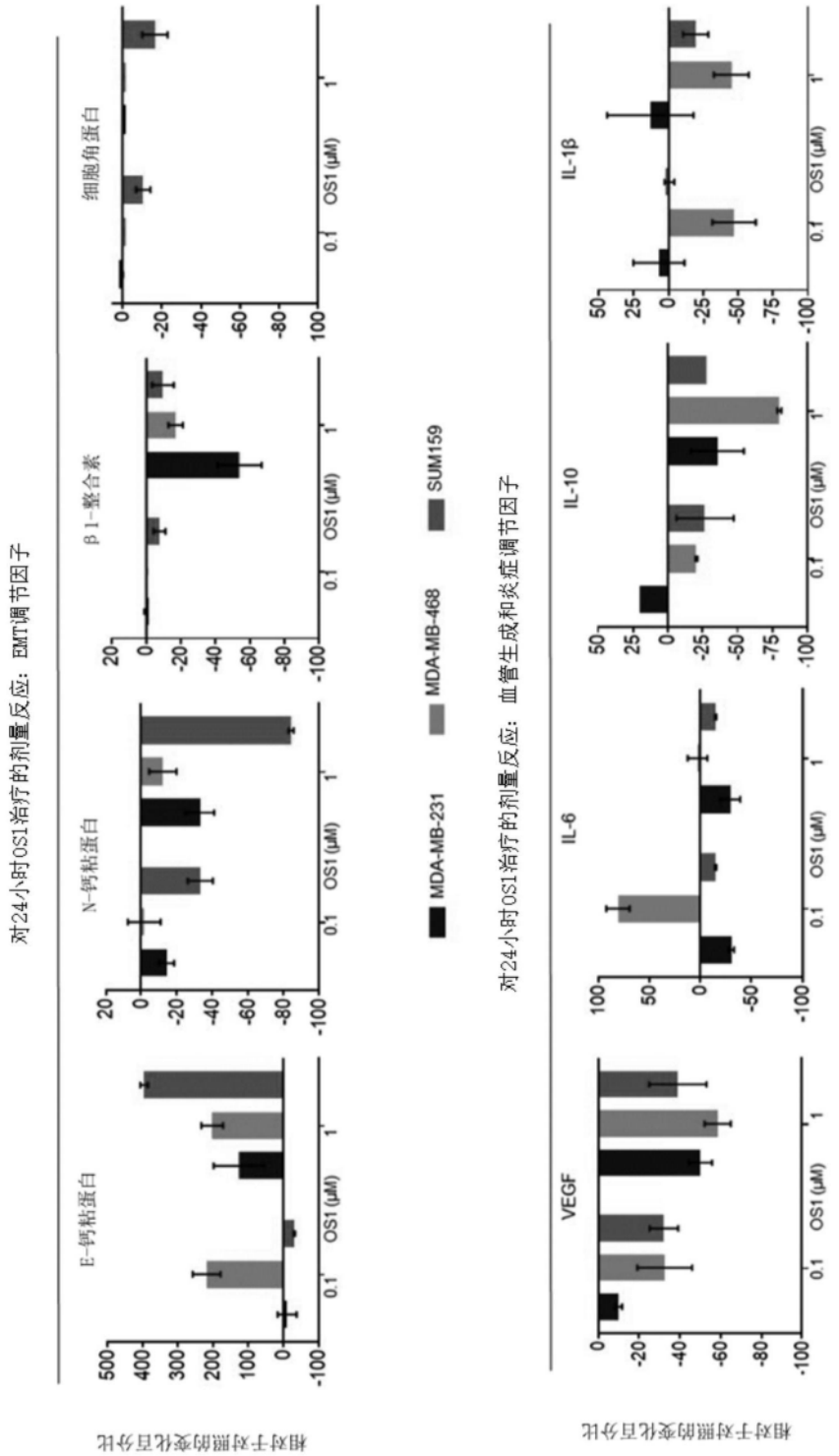

对24小时OS1治疗的剂量反应：EMT调节因子
E-钙粘蛋白
N-钙粘蛋白
β1-整合素
细胞角蛋白
相对于对照的变化百分比
OS1 (μM)
0.1
1
MDA-MB-231
MDA-MB-468
SUM159
对24小时OS1治疗的剂量反应：血管生成和炎症调节因子
VEGF
IL-6
IL-10
IL-1β
相对于对照的变化百分比
OS1 (μM)

图11

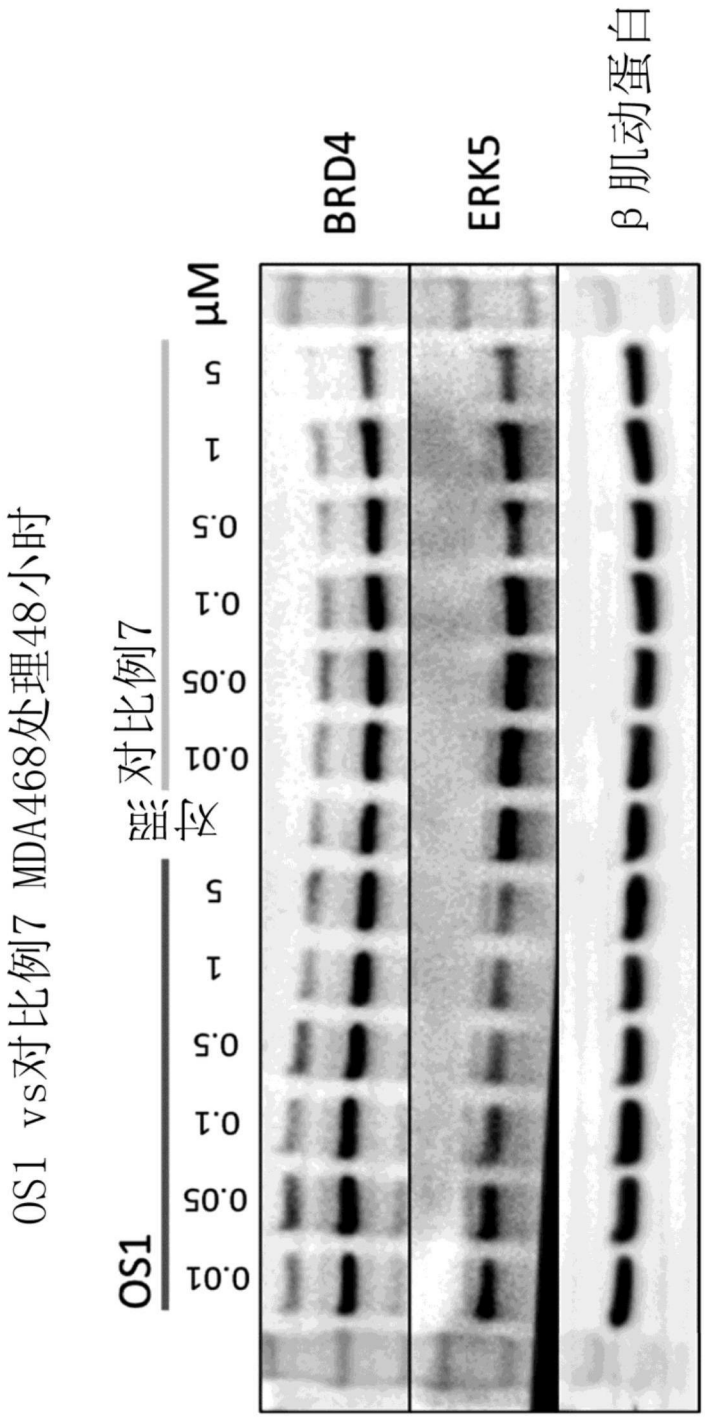

OS1 vs对比例7 MDA468处理48小时
OS1
0.01
0.05
0.1
0.5
1
5
对照
对比例7
0.01
0.05
0.1
0.5
1
5
μM
BRD4
ERK5
β肌动蛋白

图12

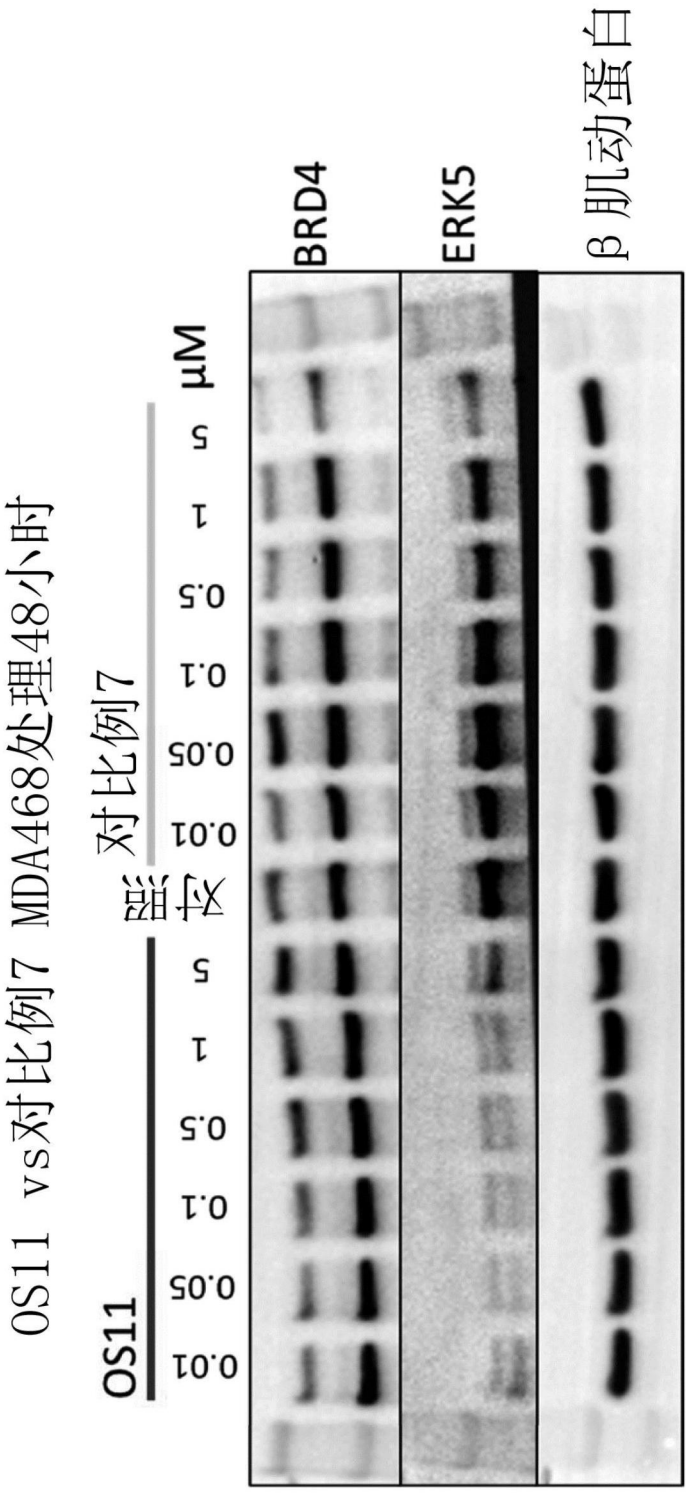

OS11 vs对比例7 MDA468处理48小时
OS11
对照
对比例7
μM
5
1
0.5
0.1
0.05
0.01
BRD4
ERK5
β肌动蛋白

图13

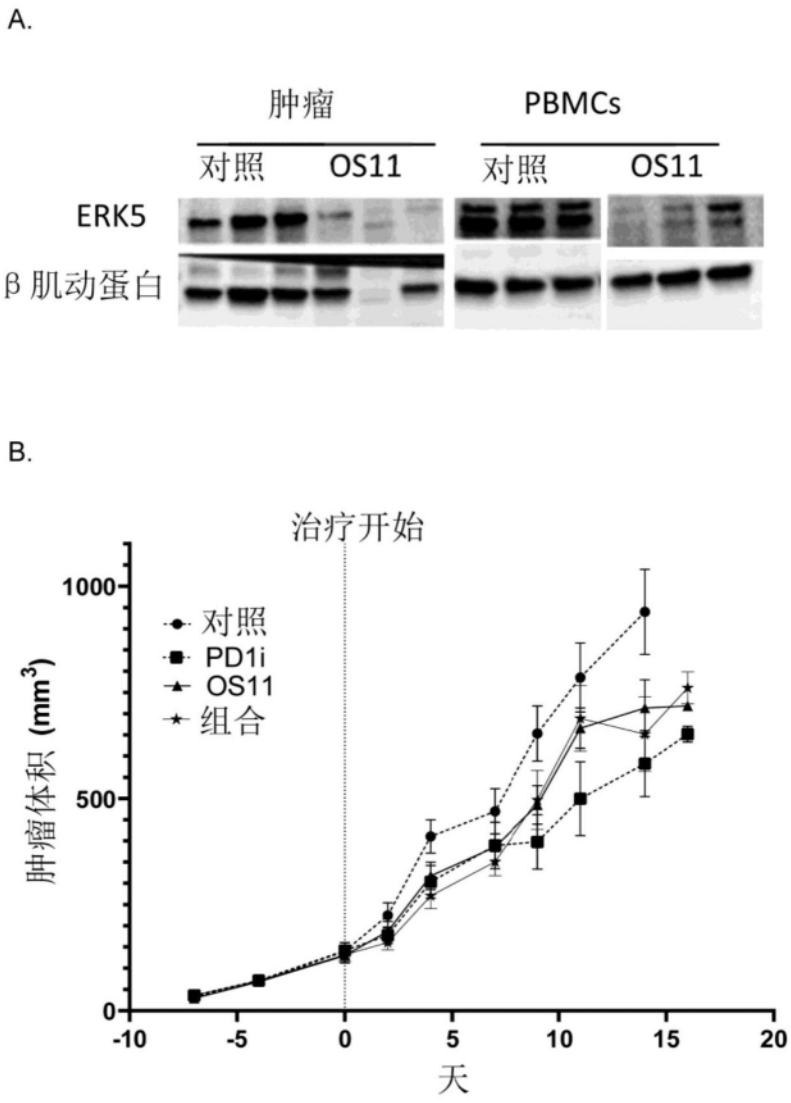

A.
肿瘤
PBMCs
对照
OS11
对照
OS11
ERK5
β 肌动蛋白
B.
治疗开始
对照
PD1i
OS11
组合
肿瘤体积 (mm3)
1000
500
0
-10
-5
0
5
10
15
20
天

图14