



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101910182 B

(45) 授权公告日 2013. 07. 17

(21) 申请号 200880123107. 8

(22) 申请日 2008. 12. 26

(30) 优先权数据

2007-339456 2007. 12. 28 JP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 06. 28

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2008/073864 2008. 12. 26

(87) PCT申请的公布数据

W02009/084693 JA 2009. 07. 09

(73) 专利权人 田边三菱制药株式会社

地址 日本大阪府

(72) 发明人 三好真司 大池进介 岩田和宪

冰川英正 菅原邦夫

(74) 专利代理机构 北京天昊联合知识产权代理有限公司 11112

代理人 丁业平 张天舒

(51) Int. Cl.

C07D 495/14 (2006. 01)

A61K 31/55 (2006. 01)

A61K 45/00 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

A61P 43/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

WO 2006/129623 A1, 2006. 12. 07,

CN 1237180 A, 1999. 12. 01,

US 5712274 A, 1998. 01. 27,

审查员 冯姝雯

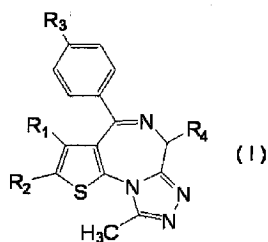
权利要求书3页 说明书16页

(54) 发明名称

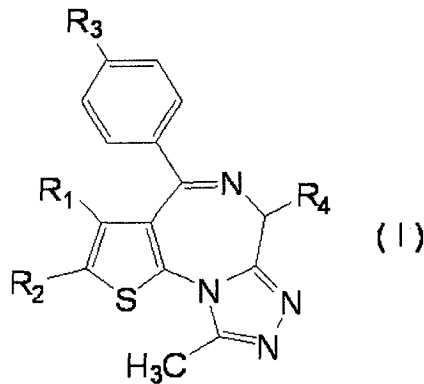
抗癌剂

(57) 摘要

本发明涉及一种新型抗癌剂,其包含作为有效成分的一种化合物,该化合物抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合,优选地,包含由下式 (I) 表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物作为有效成分,式中各符号的定义与说明书中的定义相



1. 由下式 (I) 表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或 (S)-2-[4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺二水合物或其可药用盐, 在制备用于缩小或杀死癌、或防止癌生长的药物中的用途,



其中

R_1 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

R_2 为氢原子, 卤素原子, 或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基,

R_3 为卤素原子; 可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基; $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$, 其中 R_5 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, m 为 0-4 的整数, 并且 R_6 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 或 $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$, 其中 R_7 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, n 为 0-2 的整数, 并且 R_8 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 以及

R_4 为 $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$, 其中 a 为 1-4 的整数, 并且 R_9 为具有 1-4 个碳原子的烷基, 具有 1-4 个碳原子的羟烷基, 具有 1-4 个碳原子的烷氧基, 或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基; 或 $-(CH_2)_b-COOR_{10}$, 其中 b 为 1-4 的整数, 并且 R_{10} 为具有 1-4 个碳原子的烷基。

2. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中式 (I) 中与取代基 R_4 相连的不对称碳原子的立体构型是 S 型。

3. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中式 (I) 中的 R_1 为甲基。

4. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中式 (I) 中的 R_2 为甲基。

5. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中式 (I) 中的 R_3 为氯原子、氰基苯基、苯基氨基或苯乙基羰基氨基。

6. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中式 (I) 中的 R_4 为羟基苯基氨基羰基甲基或甲氧基羰基甲基。

7. 根据权利要求 1 所述的用途, 其中所述由式 (I) 表示的化合物为 (S)-2-[4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺或其二水合物、(S)-{4-(3'-氰基联苯基-4-基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基}乙酸甲酯、(S)-{2,3,9-三甲基-4-(4-苯基氨基苯基)-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基}乙酸甲酯或 (S)-{2,3,9-三甲基-4-[4-(3-苯基丙酰氨基)]

苯基]-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基}乙酸甲酯。

8. 根据权利要求1至7中任意一项所述的用途,其中所述癌症为血液肿瘤、骨髓瘤、肝癌、卵巢癌、前列腺癌、肺癌、骨肉瘤或结直肠癌。

9. 根据权利要求1所述的用途,其中所述的由式(I)表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合。

10. 根据权利要求9所述的用途,其中所述乙酰化组蛋白为乙酰化组蛋白H3或乙酰化组蛋白H4。

11. 根据权利要求9或10所述的用途,其中所述乙酰化组蛋白为乙酰化组蛋白H4。

12. 根据权利要求9至10中任意一项所述的用途,其中所述溴区包含蛋白是BET家族蛋白。

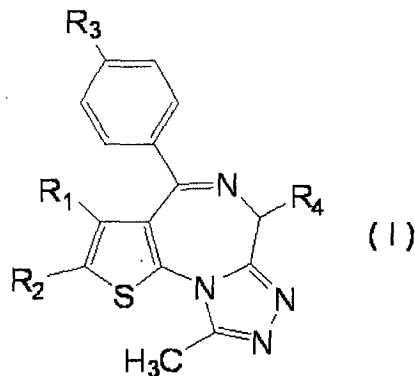
13. 根据权利要求12所述的用途,其中所述BET家族蛋白为BRD2、BRD3、BRD4或BRDt。

14. 根据权利要求12所述的用途,其中所述BET家族蛋白为BRD2, BRD3或BRD4。

15. (S)-2-[4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺或其二水合物,

在制备用于缩小或杀死癌、或防止癌生长的药物中的用途,其中所述的癌为肺癌。

16. 由下式(I)表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或(S)-2-[4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺二水合物或其可药用盐,在制备用于抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合的抑制剂中的用途,



其中

R_1 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

R_2 为氢原子, 卤素原子, 或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基,

R_3 为卤素原子; 可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基; $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$, 其中 R_5 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, m 为 0-4 的整数, 并且 R_6 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 或 $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$, 其中 R_7 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, n 为 0-2 的整数, 并且 R_8 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 以及

R_4 为 $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$, 其中 a 为 1-4 的整数, 并且 R_9 为具有 1-4 个碳原子的烷基, 具有 1-4 个碳原子的羟烷基, 具有 1-4 个碳原子的烷氧基, 或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基; 或 $-(CH_2)_b-COOR_{10}$, 其

中 b 为 1-4 的整数, 并且 R_{10} 为具有 1-4 个碳原子的烷基。

抗癌剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种包含作为有效成分的化合物的抗癌剂,所述化合物抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合,更具体地说是一种包含噻吩并三唑并二氮杂卓化合物作为有效成分的抗癌剂。

背景技术

[0002] 组蛋白是一种通过离子与基因组 DNA 结合的碱性蛋白,其通常存在于从包括人类在内的多细胞生物体,到由真菌(霉菌、酵母)所代表的单细胞生物体的真核细胞的细胞核中。组蛋白通常由跨越生物物种的高度相似的 5 种成分(H1、H2A、H2B、H3 和 H4)组成,就组蛋白 H4 而言,例如,出芽酵母组蛋白 H4(全长序列为 102 个氨基酸)和人组蛋白 H4(全长序列为 102 个氨基酸)的 92% 的氨基酸序列是相同的,只有 8 个残基不同。在一个生物体中假定存在着数万种天然蛋白,在这其中已知组蛋白是一种在真核物种之间保守性最高的蛋白质。基因组 DNA 由于与组蛋白有规则地结合而折叠,并且二者的复合物形成一种被称作核小体的基本结构单位。然后核小体凝聚形成染色体染色质结构。组蛋白在被称为组蛋白尾的 N 末端部分经修饰如乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、SUMO 化等,并保持或特异性地转换染色质结构,以控制发生在染色体 DNA 上的反应,例如基因表达、DNA 复制、DNA 修复等。组蛋白的翻译后修饰是一种表观遗传学调控机制,并且认为对于真核细胞的基因调控是必不可少的。例如,组蛋白的乙酰化由一对修饰酶控制(即,组蛋白乙酰化酶和脱乙酰化酶),通常,脱乙酰化酶的作用占优势,并且组蛋白保持在脱乙酰化状态。当细胞被刺激激活时,组蛋白乙酰化酶使组蛋白赖氨酸残基的氨基乙酰化,并且中和氨基的正电荷。因此,核小体之间的相互作用变得松散,并且征募转录因子开始转录。

[0003] 已知溴区是与组蛋白的乙酰化赖氨酸结合的蛋白质结构域。人类有三十多种溴区包含蛋白,这其中 BRD2、BRD3 和 BRD4 是与乙酰化组蛋白 H3/H4 相互作用的蛋白质,这其中已知 BRD4 是与细胞周期和基因表达相关的蛋白质(非专利文献 1:Nature 399,491-496,1999)(非专利文献 2:JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY Vol. 282No. 1813141-13145,2007)。BRD4 属于在一个分子中具有两个溴区和一个超末端区的 BET(溴区和超末端区,bromodomain andextraterminal)家族蛋白。作为 BRD4 以外的 BET 家族蛋白,已知还有来源于人类的 BRD2、BRD3 和 BRDt。迄今为止,还未发现能抑制乙酰化组蛋白和这种 BET 家族蛋白之间结合的化合物。

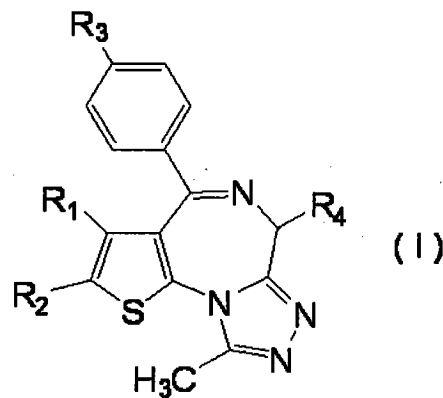
[0004] 在组蛋白的乙酰化方面,已知能抑制组蛋白脱乙酰化酶的化合物对于肿瘤细胞具有停止细胞周期、诱导分化和诱导凋亡的活性(非专利文献 3:Exp. Cell Res.,177,122-131,1988,非专利文献 4:Cancer Res.,47,3688-3691,1987)。但是,没有有关能抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间结合的化合物是否影响肿瘤细胞的报导。

[0005] 近年来,有一些关于 BRD4-NUT 融合蛋白在诸如胸腺、气道、肺等体内上部组织的上皮细胞癌(中线癌)中表达的案例。已知表达这种融合蛋白的患者对放射治疗和化学治疗具有耐受性,并且显示预后很差(非专利文献 6:Cancer Research vol.63 January

152003p304-307, 非专利文献 7: Journal of clinical oncology Vol. 22No. 20October 152004 p4135-4139)。此外, 据报道, 在中线癌中, 染色体 9 和染色体 15 间的 t(9;15) 染色体异位也使 BRD3 蛋白和 NUT 蛋白形成融合蛋白 BRD3-NUT。据报道, 在来源于表达 BRD3-NUT 融合蛋白或 BRD4-NUT 融合蛋白的患者的癌细胞系中, 通过 siRNA 基因抑制融合蛋白的表达能导致癌细胞生长停止 (非专利文献 8: Oncogene advance online publication 15 October 2007; doi:10.1038/sj.onc.1210852)。因此, 能抑制这种融合蛋白功能的药物有望成为一种抗癌剂。但是, 尚没有报导揭示, 抑制乙酰化组蛋白和融合蛋白上的溴区之间的结合能抑制这些融合蛋白的功能。

[0006] 另一方面, 已知由下式 (I) 表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物具有细胞粘附抑制作用, 对于炎性肠疾病是有用的, 并且具有抑制 T 细胞上 CD28 共刺激信号的作用, 因此对于移植排斥反应、自身免疫性疾病和过敏性疾病是有用的 (专利文献 1: WO 98/11111, 专利文献 2: WO 2006/129623)。但是, 完全不知道这些化合物具有抑制乙酰化组蛋白和 BET 家族蛋白之间结合的作用, 以及抗癌作用, 所述式 (I) 为:

[0007]



[0008] 其中

[0009] R₁ 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0010] R₂ 为氢原子, 卤素原子, 或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0011] R₃ 为卤素原子; 可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基; -NR₅-(CH₂)_m-R₆, 其中 R₅ 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, m 为 0-4 的整数, 并且 R₆ 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 或 -NR₇-CO-(CH₂)_n-R₈, 其中 R₇ 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, n 为 0-2 的整数, 并且 R₈ 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 以及

[0012] R₄ 为 -(CH₂)_a-CO-NH-R₉, 其中 a 为 1-4 的整数, 并且 R₉ 为具有 1-4 个碳原子的烷基, 具有 1-4 个碳原子的羟烷基, 具有 1-4 个碳原子的烷氧基, 或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基; 或 -(CH₂)_b-COOR₁₀, 其中 b 为 1-4 的整数, 并且 R₁₀ 为具有 1-4 个碳原子的烷基。

[0013] 专利文献 1: WO 98/11111

[0014] 专利文献 2: WO 2006/129623

[0015] 非专利文献 1: Nature 399, p491-496, 1999

[0016] 非专利文献 2: JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY Vol. 282No. 18p13141-13145,

2007

[0017] 非专利文献 3 :Exp. Cell Res. ,177, p122-131,1988

[0018] 非专利文献 4 :Cancer Res. ,47, p3688-3691,1987

[0019] 非专利文献 5 :American Journal of Pathology Vol.159 No.6, p1987-1992December 2001

[0020] 非专利文献 6 :Cancer Research vol.63, p304-307 January 152003

[0021] 非专利文献 7 :Journal of clinical oncology Vol.22 No.20, p4135-4139 October 152004

[0022] 非专利文献 8 :Oncogene advance online publication 15 October2007 ;doi : 10.1038/sj.onc.1210852

发明内容

[0023] 本发明所要解决的问题

[0024] 本发明的目的是提供一种新型抗癌剂。

[0025] 解决问题的方法

[0026] 本发明人进行深入的研究,试图解决上述问题,并且发现通过使用抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合的化合物,优选由下式 (I) 表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物作为有效成分,能提供一种新型抗癌剂,从而完成本发明。

[0027] 因此,本发明的要点如下。

[0028] 1. 一种抗癌剂,其包含一种化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物作为有效成分,所述化合物抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合,

[0029] 2. 根据 1 所述的抗癌剂,其中所述乙酰化组蛋白为乙酰化组蛋白 H3 或乙酰化组蛋白 H4,

[0030] 3. 根据 1 或 2 所述的抗癌剂,其中乙酰化组蛋白为乙酰化组蛋白 H4,

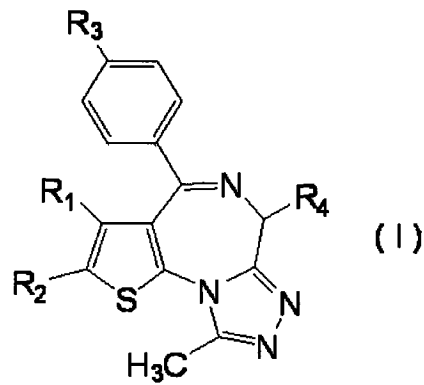
[0031] 4. 根据 1 至 3 中任意一项所述的抗癌剂,其中所述溴区包含蛋白是 BET 家族蛋白,

[0032] 5. 根据 4 所述的抗癌剂,其中所述 BET 家族蛋白为 BRD2、BRD3、BRD4 或 BRDt,

[0033] 6. 根据 4 或 5 所述的抗癌剂,其中所述 BET 家族蛋白为 BRD2, BRD3 或 BRD4,

[0034] 7. 根据 1 至 6 中任意一项所述的抗癌剂,其中所述抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合的化合物是由下式 (I) 表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物,

[0035]



[0036] 其中

[0037] R_1 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0038] R_2 为氢原子, 卤素原子, 或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0039] R_3 为卤素原子; 可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基; $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$, 其中 R_5 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, m 为 0-4 的整数, 并且 R_6 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 或 $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$, 其中 R_7 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, n 为 0-2 的整数, 并且 R_8 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 以及

[0040] R_4 为 $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$, 其中 a 为 1-4 的整数, 并且 R_9 为具有 1-4 个碳原子的烷基, 具有 1-4 个碳原子的羟烷基, 具有 1-4 个碳原子的烷氧基, 或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基; 或 $-(CH_2)_b-COOR_{10}$, 其中 b 为 1-4 的整数, 并且 R_{10} 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0041] 8. 根据 7 所述的抗癌剂, 其中式 (I) 中与取代基 R_4 相连的不对称碳原子的立体构型是 S 型,

[0042] 9. 根据 7 或 8 所述的抗癌剂, 其中式 (I) 中的 R_1 为甲基。

[0043] 10. 根据 7 至 9 中任意一项所述的抗癌剂, 其中式 (I) 中的 R_2 为甲基,

[0044] 11. 根据 7 至 10 中任意一项所述的抗癌剂, 其中式 (I) 中的 R_3 为氯原子、氰基苯基、苯基氨基或苯乙基羰基氨基,

[0045] 12. 根据 7 至 11 中任意一项所述的抗癌剂, 其中式 (I) 中的 R_4 为羟基苯基氨基羰基甲基或甲氧基羰基甲基,

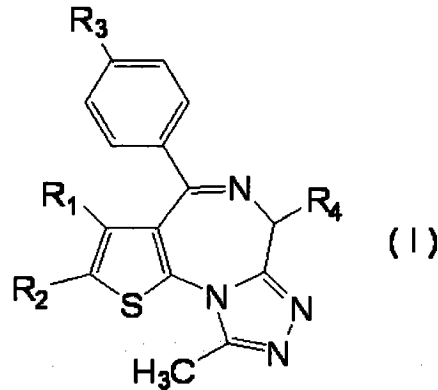
[0046] 13. 根据 7 至 12 中任意一项所述的抗癌剂, 其中所述由式 (I) 表示的化合物为 (S)-2-[4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺或其二水合物、(S)-{4-(3'-氰基联苯基-4-基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基}乙酸甲酯、(S)-{2,3,9-三甲基-4-(4-苯基氨基苯基)-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基}乙酸甲酯或 (S)-{2,3,9-三甲基-4-[4-(3-苯基丙酰氨基)苯基]-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基}乙酸甲酯,

[0047] 14. 根据 1 至 13 中任意一项所述的抗癌剂, 其中所述癌症为血液肿瘤、骨髓瘤、肝癌、卵巢癌、前列腺癌、肺癌、骨肉瘤或结直肠癌,

[0048] 15. 一种抗肺癌剂,其包含(S)-2-[4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺或其二水合物作为有效成分,

[0049] 16. 一种抗癌剂,其包含由下式(I)表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物作为有效成分,

[0050]



[0051] 其中

[0052] R_1 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

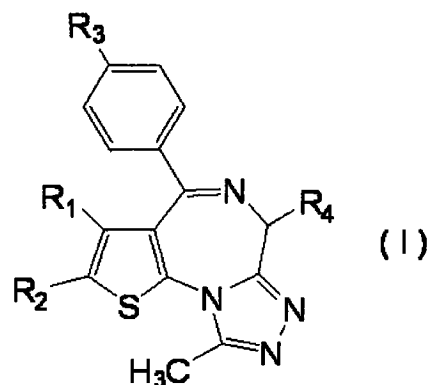
[0053] R_2 为氢原子,卤素原子,或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0054] R_3 为卤素原子;可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基; $-\text{NR}_5-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_6$,其中 R_5 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, m 为 0-4 的整数,并且 R_6 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基;或 $-\text{NR}_7-\text{CO}-(\text{CH}_2)_n-\text{R}_8$,其中 R_7 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, n 为 0-2 的整数,并且 R_8 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基,以及

[0055] R_4 为 $-(\text{CH}_2)_a-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}_9$,其中 a 为 1-4 的整数,并且 R_9 为具有 1-4 个碳原子的烷基,具有 1-4 个碳原子的羟烷基,具有 1-4 个碳原子的烷氧基,或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基;或 $-(\text{CH}_2)_b-\text{COOR}_{10}$,其中 b 为 1-4 的整数,并且 R_{10} 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0056] 17. 一种能抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合的抑制剂,其包含由下式(I)表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物作为有效成分,

[0057]



[0058] 其中

[0059] R_1 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0060] R_2 为氢原子, 卤素原子, 或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基,

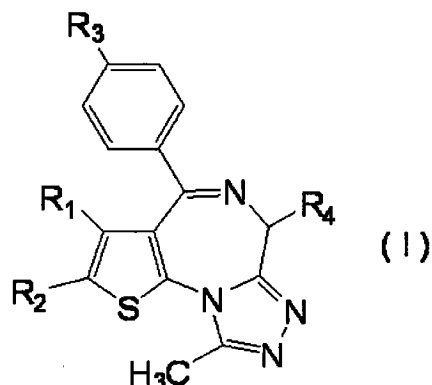
[0061] R_3 为卤素原子; 可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基; $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$, 其中 R_5 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, m 为 0-4 的整数, 并且 R_6 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 或 $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$, 其中 R_7 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, n 为 0-2 的整数, 并且 R_8 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 以及

[0062] R_4 为 $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$, 其中 a 为 1-4 的整数, 并且 R_9 为具有 1-4 个碳原子的烷基, 具有 1-4 个碳原子的羟烷基, 具有 1-4 个碳原子的烷氧基, 或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基; 或 $-(CH_2)_b-COOR_{10}$, 其中 b 为 1-4 的整数, 并且 R_{10} 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0063] 18. 一种治疗癌症的方法, 包括将有效量的抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间结合的化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物施用于哺乳动物。

[0064] 19. 一种治疗癌症的方法, 包括将有效量的由下式 (I) 表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物施用于哺乳动物, 所述化合物抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合,

[0065]



[0066] 其中 R_1 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0067] R_2 为氢原子, 卤素原子, 或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基,

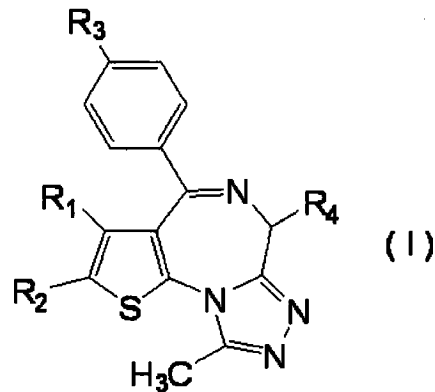
[0068] R_3 为卤素原子; 可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基; $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$, 其中 R_5 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, m 为 0-4 的整数, 并且 R_6 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 或 $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$, 其中 R_7 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, n 为 0-2 的整数, 并且 R_8 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 以及

[0069] R_4 为 $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$, 其中 a 为 1-4 的整数, 并且 R_9 为具有 1-4 个碳原子的烷基, 具有 1-4 个碳原子的羟烷基, 具有 1-4 个碳原子的烷氧基, 或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基; 或 $-(CH_2)_b-COOR_{10}$, 其中 b 为 1-4 的整数, 并且 R_{10} 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0070] 20. 抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合的化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物在制造用于预防或治疗癌症的制剂中的用途，

[0071] 21. 下式 (I) 表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物在制造用于预防或治疗癌症的制剂中的用途，所述式 (I) 表示的化合物抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合，

[0072]



[0073] 其中

[0074] R₁ 为具有 1-4 个碳原子的烷基，

[0075] R₂ 为氢原子，卤素原子，或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基，

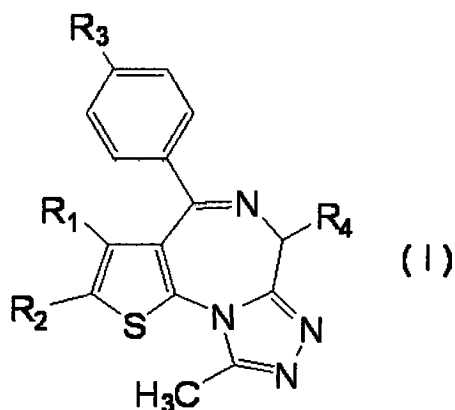
[0076] R₃ 为卤素原子；可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基；-NR₅-(CH₂)_m-R₆，其中 R₅ 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基，m 为 0-4 的整数，并且 R₆ 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基；或 -NR₇-CO-(CH₂)_n-R₈，其中 R₇ 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基，n 为 0-2 的整数，并且 R₈ 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基，以及

[0077] R₄ 为 -(CH₂)_a-CO-NH-R₉，其中 a 为 1-4 的整数，并且 R₉ 为具有 1-4 个碳原子的烷基，具有 1-4 个碳原子的羟烷基，具有 1-4 个碳原子的烷氧基，或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基；或 -(CH₂)_b-COOR₁₀，其中 b 为 1-4 的整数，并且 R₁₀ 为具有 1-4 个碳原子的烷基，

[0078] 22. 一种抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合的化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物，其用于预防或治疗癌症的方法，

[0079] 23. 一种由下式 (I) 表示的抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间的结合的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物，其用于预防或治疗癌症的方法，

[0080]



[0081] 其中

[0082] R_1 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0083] R_2 为氢原子, 卤素原子, 或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0084] R_3 为卤素原子; 可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基; $-NR_5-(CH_2)_m-R_6$, 其中 R_5 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, m 为 0-4 的整数, 并且 R_6 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 或 $-NR_7-CO-(CH_2)_n-R_8$, 其中 R_7 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, n 为 0-2 的整数, 并且 R_8 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 以及

[0085] R_4 为 $-(CH_2)_a-CO-NH-R_9$, 其中 a 为 1-4 的整数, 并且 R_9 为具有 1-4 个碳原子的烷基, 具有 1-4 个碳原子的羟烷基, 具有 1-4 个碳原子的烷氧基, 或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基; 或 $-(CH_2)_b-COOR_{10}$, 其中 b 为 1-4 的整数, 并且 R_{10} 为具有 1-4 个碳原子的烷基。

[0086] 发明效果

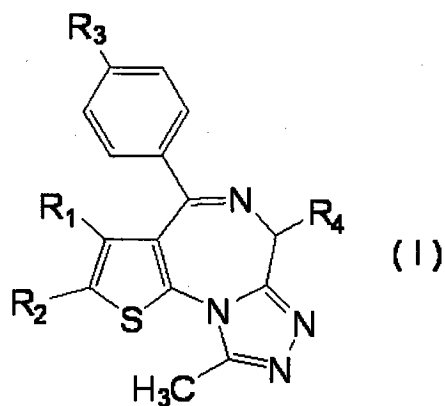
[0087] 本发明可以提供一种新型抗癌剂。

[0088] 本发明的最佳实施方案

[0089] 本发明提供的所述抗癌剂, 包含作为有效成分的抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之间结合的化合物。如前所述, 组蛋白由 5 种成分组成, 在本发明中, 优选使用抑制乙酰化组蛋白 H3 或乙酰化组蛋白 H4 和溴区包含蛋白之间结合的化合物作为有效成分, 其中 H3 或 H4 是乙酰化的。溴区包含蛋白优选为属于 BET 家族的蛋白。已知 BET 家族蛋白除了包括来源于人类的那些蛋白, 还包括来源于苍蝇、酵母等的蛋白。在本发明中, 优选使用能抑制来源于人类的 BET 家族蛋白和乙酰化组蛋白之间结合的化合物作为有效成分。来源于人类的 BET 家族蛋白的具体例子包括 BRD2、BRD3、BRD4 和 BRDt, 优选 BRD2、BRD3 和 BRD4。因此, 在本发明中优选用作有效成分的化合物是能抑制乙酰化组蛋白 H3 或乙酰化组蛋白 H4 (优选乙酰化组蛋白 H4) 和 BRD2、BRD3 或 BRD4 之间结合的化合物。

[0090] 在本发明中用作有效成分的所述化合物的具体结构的例子包括由下式 (I) 表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物或其可药用盐、或者它们的水合物或溶剂化物,

[0091]



[0092] 其中

[0093] R_1 为具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0094] R_2 为氢原子, 卤素原子, 或可任选地被卤素原子或羟基取代的具有 1-4 个碳原子的烷基,

[0095] R_3 为卤素原子; 可任选地被卤素原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基或氰基取代的苯基; $-\text{NR}_5-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_6$, 其中 R_5 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, m 为 0-4 的整数, 并且 R_6 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基; 或 $-\text{NR}_7-\text{CO}-(\text{CH}_2)_n-\text{R}_8$, 其中 R_7 为氢原子或具有 1-4 个碳原子的烷基, n 为 0-2 的整数, 并且 R_8 为可任选地被卤素原子取代的苯基或吡啶基, 以及

[0096] R_4 为 $-(\text{CH}_2)_a-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}_9$, 其中 a 为 1-4 的整数, 并且 R_9 为具有 1-4 个碳原子的烷基, 具有 1-4 个碳原子的羟烷基, 具有 1-4 个碳原子的烷氧基, 或可任选地被具有 1-4 个碳原子的烷基、具有 1-4 个碳原子的烷氧基、氨基或羟基取代的苯基或吡啶基; 或 $-(\text{CH}_2)_b-\text{COOR}_{10}$, 其中 b 为 1-4 的整数, 并且 R_{10} 为具有 1-4 个碳原子的烷基。

[0097] 在本说明书中, 具有 1-4 个碳原子的烷基是指直链或支链烷基, 例如, 可以列举甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基等。

[0098] 卤素原子是指氟原子、氯原子、溴原子或碘原子。

[0099] 具有 1-4 个碳原子的烷氧基是指直链或支链烷氧基, 例如, 可以列举甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基等。

[0100] 具有 1-4 个碳原子的羟烷基是指上述具有 1-4 个碳原子并且被 1 至 9 个羟基取代的烷基, 具体的例子包括羟甲基、羟乙基等。

[0101] R_1 的一个优选的例子为甲基。

[0102] R_2 的优选实例包括卤素原子、甲基和羟甲基, 更优选的实例包括氯原子、甲基和羟甲基, 最优选的实例包括甲基。

[0103] R_3 的优选的例子包括卤素原子; 甲氧苯基; 氰基苯基; $-\text{NR}_5-(\text{CH}_2)_{m'}-\text{R}_6$, 其中 R_5 为氢原子或甲基, m' 为 0 或 1, R_6 为苯基、吡啶或由氟原子取代的苯基; 以及 $-\text{NR}_7-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{n'}-\text{R}_8$, 其中 R_7 为氢原子, n' 为 2, R_8 为苯基。并且更优选的例子包括氯原子、氰基苯基、苯基氨基和苯乙基羰基氨基, 最优选的例子包括氯原子和 3- 氰基苯基。

[0104] R_4 的优选的例子包括 $-(\text{CH}_2)_{a'}-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}_9$, 其中 a' 为 1, R_9 为甲基、羟乙基、甲氧基、氨基苯基、羟基苯基、吡啶基或甲氧吡啶基; 以及 $-(\text{CH}_2)_{b'}-\text{COOR}_{10}$, 其中 b' 为 1, R_{10} 为甲基或乙基。更优选的例子包括羟基苯基氨基羰基甲基或甲氧基羰基甲基。最优选的例子包括

4-羟基苯基氨基羰基甲基和甲氧基羰基甲基。此外,与R₄相连的碳原子为不对称碳原子,其立体构型可为S型、R型及其混合物中的任何一种构型,并且S型是较适宜的。

[0105] 由式(I)表示的化合物的优选的例子包括(S)-2-[4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺及其二水合物(实施例中的化合物1)、

[0106] (S)-{4-(3'-氰基联苯基-4-基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基}乙酸甲酯(实施例中的化合物2)、

[0107] (S)-{2,3,9-三甲基-4-(4-苯基氨基苯基)-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基}乙酸甲酯(实施例中的化合物8)、

[0108] (S)-{2,3,9-三甲基-4-[4-(3-苯基丙酰氨基)苯基]-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基}乙酸甲酯(实施例中的化合物10),并且

[0109] 更优选的例子包括(S)-2-[4-(4-氯苯基)-2,3,9-三甲基-6H-噻吩并[3,2-f][1,2,4]三唑并[4,3-a][1,4]二氮杂卓-6-基]-N-(4-羟苯基)乙酰胺及其二水合物。

[0110] 本发明中能够用作有效成分的化合物可为游离形式的化合物或可药用盐。可药用盐的例子包括无机酸(例如盐酸、硫酸、溴化氢盐、磷酸等)盐,有机酸(例如甲磺酸、对甲苯磺酸、乙酸、草酸、柠檬酸、苹果酸、富马酸等)盐,碱金属(例如钠、钾等)盐,碱土金属(例如镁等)盐,胺(例如氨、乙醇胺、2-氨基-2-甲基-1-丙醇等)盐。除了这些,只要是可药用的,对盐的种类没有特别限定。

[0111] 此外,本发明中能够用作有效成分的化合物可使用溶剂化物。溶剂化物的例子包括与乙醇、乙酸乙酯形成的溶剂化物等。除了这些,只要是可药用的,对溶剂化物的种类没有特别限定。

[0112] 由式(I)表示的所有化合物都是已知化合物,并且本领域普通技术人员可根据WO 98/11111、WO 2006/129623 等中描述的方法容易地合成。

[0113] 本发明所述有效成分能够与可药用载体(赋形剂、粘合剂、崩解剂等)混合,并且能以药物组合物或制剂(如片剂、液体制剂等)的形式口服或非口服给药。所述药物组合物可根据传统方法来制备。

[0114] 所述有效成分的剂量根据患者在接受治疗时的年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药时间、给药方式、清除率、联合用药和疾病状态来确定,并且还要考虑其他因素。在一个具体的例子中,日剂量根据患者的状况和体重、化合物种类、给药途径等变化而不同,例如以0.01-1000mg/kg 体重/天口服给药,并且可以一天一次或多次给药,也可以0.01-100mg/kg 体重/天非口服给药,并且可以一天一次或多次给药。

[0115] 本发明提供的所述抗癌剂能够应用于不论其类型的任何癌症,具体的例子包括血液肿瘤、骨髓瘤、肝癌、卵巢癌、前列腺癌、肺癌、骨肉瘤、结直肠癌、乳腺癌、皮肤癌和上皮细胞癌(中线癌)。其中,适合的癌症类型包括血液肿瘤、骨髓瘤、肝癌、卵巢癌、前列腺癌、肺癌、骨肉瘤和结直肠癌,更适合的癌症类型包括血液肿瘤、前列腺癌、肺癌和结直肠癌。在本发明中,血液肿瘤包括淋巴瘤及白血病。在本发明中,所述抗癌剂的概念包括用于预防和/或治疗癌症以及提供缩小或杀死癌、或防止癌生长效果的治癌剂、抗肿瘤药物等,此外,在本发明中,“预防”是指对还没有患上疾病的健康个体施用本发明有效成分的行为,其目的是(例如)防止发病。“治疗”是指对由医生诊断已经患上疾病的人(患者)施用本发明有

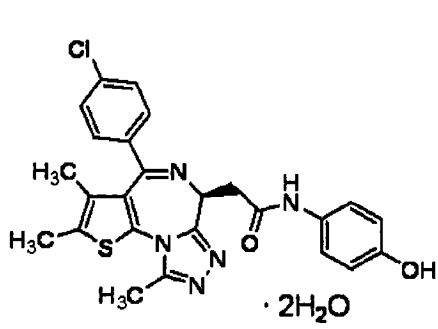
效成分的行为,其目的是(例如)减轻疾病或症状、防止癌生长、或恢复发病前的状态。当给药主体为患者时,即使给药目的是防止疾病或症状的加重,或防止癌生长,这也是治疗的行为。

实施例

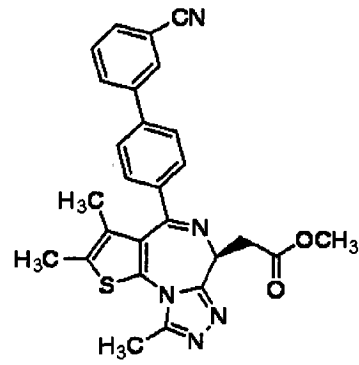
[0116] 下面参照实施例更详细地解释本发明,但并不作为限制性解释。合成实施例

[0117] 下面所示化合物 1 是根据 W098/11111 实施例 2 中描述的方法来合成,化合物 2 是根据 W02006/129623 实施例 8 中描述的方法来合成,其它化合物 3-18 也是根据 W098/11111 或 W02006/129623 中实施例描述的方法来合成。

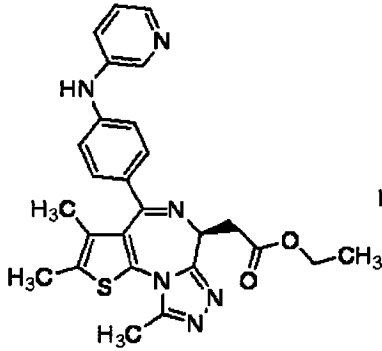
[0118]



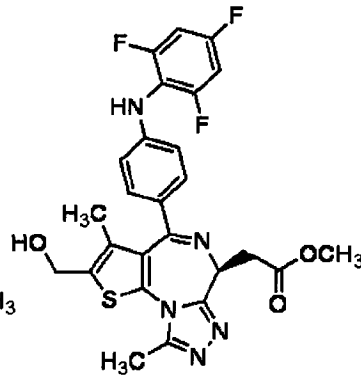
化合物 1



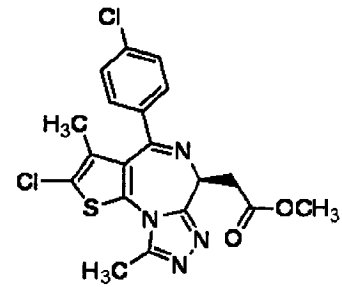
化合物 2



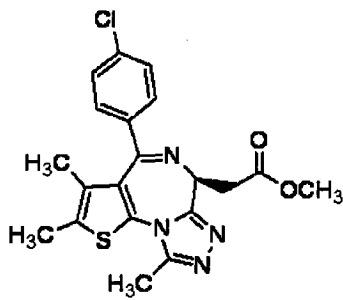
化合物 3



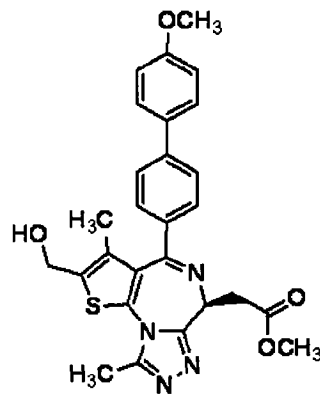
化合物 4



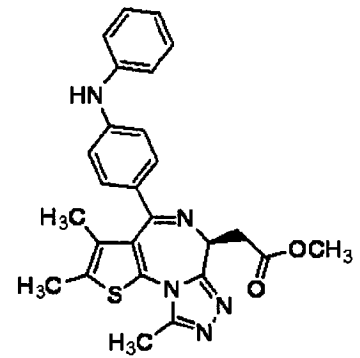
化合物 5



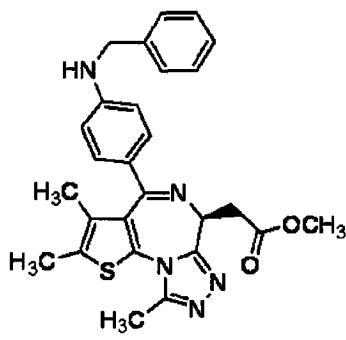
化合物 6



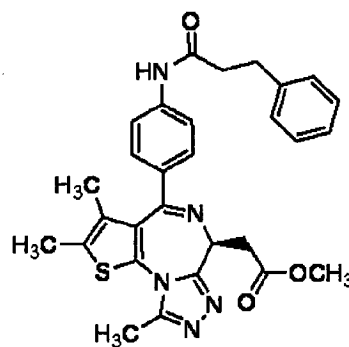
化合物 7



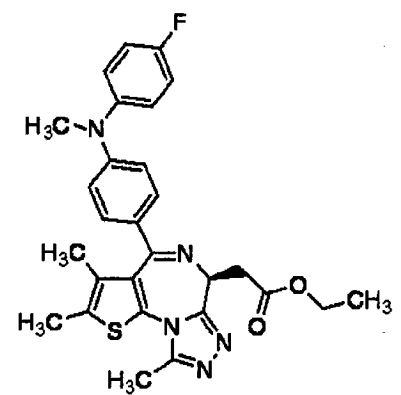
化合物 8



化合物 9

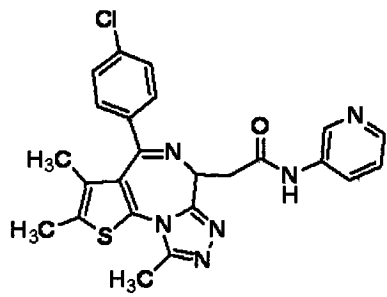


化合物 10

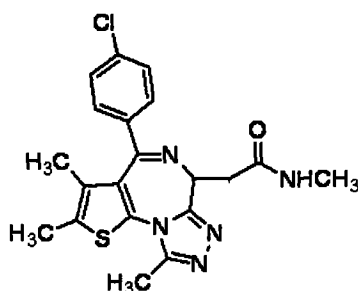


化合物 11

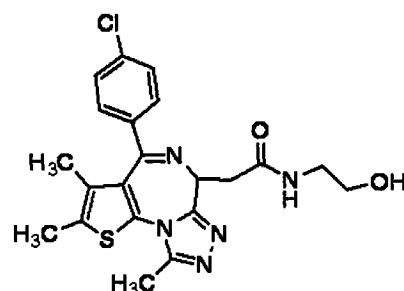
[0119]



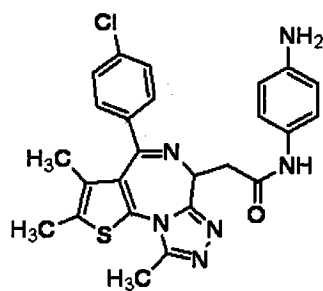
化合物 12



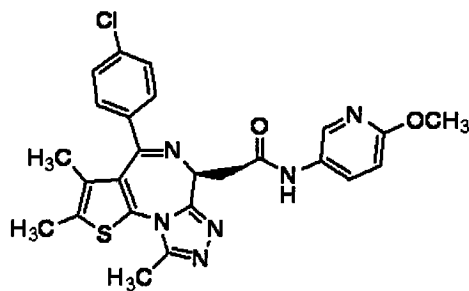
化合物 13



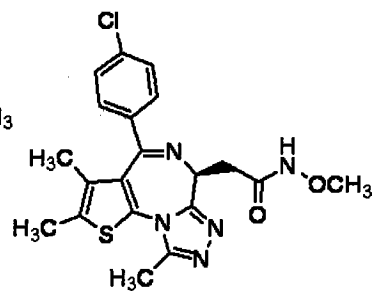
化合物 14



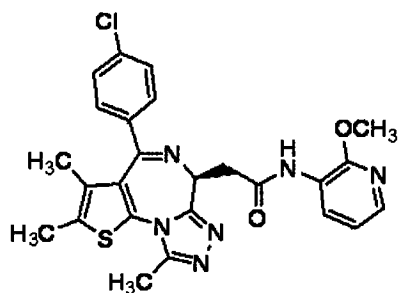
化合物 15



化合物 16



化合物 17



化合物 18

[0120] 实施例 1 乙酰化组蛋白 H4 与 BRD2、3 和 4 的结合抑制试验

[0121] 将加上了 Flag 标签的包含 BRD2、3 和 4 的 cDNA 的表达载体转染到 CHO 细胞中, 并且 24 小时后制备细胞裂解液。乙酰化组蛋白 H4 和 BRD 的结合通过时间分辨荧光共振能量转移 (TR-FRET) 的方法来确认。在 384 孔白板 (Coaster 制造) 上, 加入 50nmol/L 生物素标记的乙酰化组蛋白 H4 肽 (Upstate 制造) 和逐级稀释的受试化合物。此外, 再加入转染了 BRD 表达载体的 CHO 细胞裂解液、铕标记的抗 Flag 抗体 (Cisbio 制造) 以及 XL-665- 标记的亲合素 (Cisbio 制造), 并将该混合物在室温下反应 30 分钟至 2 小时。使用 EnVision 2103 多标记检测仪 (Perkin Elmer 制造) 以 FRET 来测量荧光。结合抑制活性由化合物添加组对于化合物非添加组的数量减少率来表示, 并且, 从剂量 - 反应曲线确定 IC_{50} 值, 所述剂量 - 反应曲线显示了通过改变化合物的浓度获得的数量减少率和化合物的浓度。

[0122] 化合物 1 对乙酰化组蛋白 H4-BRD2 的 IC_{50} 值 (nmol/L) 为 55.5, 对乙酰化组蛋白 H4-BRD3 的 IC_{50} 值为 120.2, 对乙酰化组蛋白 H4-BRD4 的 IC_{50} 值为 136.1, 对其他化合物的 IC_{50} 值如表 2 所示。

[0123] 实施例 2 针对癌细胞的生长抑制活性试验

[0124] 使用补加了 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基 (Sigma 制造), 在 37°C, 5% CO₂ 条件下分别培养人早幼粒细胞性白血病衍生细胞系 HL-60、人急性淋巴细胞白血病衍生细胞系 MOLT4、人 Burkitt's 淋巴瘤衍生细胞系 Daudi, 以及人多发性骨髓瘤衍生细胞系 RPMI-8226, 此外, 使用补加了 10% 胎牛血清的 ISKOV 培养基 (Sigma 制造), 在 37°C, 5% CO₂ 条件下培养人慢性粒细胞白血病衍生细胞系 MV4-11, 并且使用补加了 10% 胎牛血清的 DMEM/F-12 培养基 (Sigma 制造), 在 37°C, 5% CO₂ 条件下分别培养人肺癌细胞衍生细胞系 EBC-1、人肝细胞癌衍生细胞系 Kim-1、人结肠癌衍生细胞系 HCT-116、人前列腺癌衍生细胞系 PC-3、人卵巢癌衍生细胞系 A2780、以及人骨肉瘤衍生细胞系 Saos2。将这些细胞接种于 96 孔板中并培养 1 天。另外加入用培养基稀释的终浓度为 0.0003-10 μM (DMSO 终浓度为 0.4%) 的化合物。在继续培养 3 天后, 向培养基中加入 WST-8 (0.16mg/mL), 并且培养细胞 2 小时。从 450nm 的吸光度减去 650nm 的吸光度。生长抑制活性由化合物添加组对于化合物非添加组的吸光度减少率来表示, 并且, 从剂量-反应曲线确定 GI₅₀ 值, 所述剂量-反应曲线显示了通过改变化合物的浓度获得的吸光度减少率和化合物的浓度。

[0125] 化合物 1 和 2 的 GI₅₀ (μmol/L) 值如表 1 所示。

[0126] 表 1

[0127] 表 1 化合物 1 和 2 对抗癌型细胞增殖抑制活性

[0128]

细胞系所由来的癌类型	细胞系	细胞增殖的抑制活性 GI ₅₀ (μmol/L)
------------	-----	--

[0129]

		化合物 1	化合物 2
早幼粒细胞性白血病	HL-60	0.149	0.007
慢性粒细胞白血病	MV4-11	0.0607	0.019
Burkitt's 淋巴瘤	Daudi	0.611	0.0674
多发性骨髓瘤	RPMI-8226	0.1299	0.06944
肝细胞癌	Kim-1	0.569	0.1036
急性淋巴细胞白血病	MOLT-4	0.08	0.106
卵巢癌	A-2780	0.6191	0.1295
前列腺癌	PC-3	1.03	0.199
非小细胞肺癌	EBC-1	0.491	0.2071
骨肉瘤	Saos2	0.4807	0.2686
结直肠癌	HCT-116	0.5633	0.356

[0130] 其他化合物的 GI_{50} (nmol/L) 如表 2 所示。

[0131] 表 2

[0132] 表 2 化合物 2-18 的测试结果

[0133]

	乙酰化组蛋白 H4 和 BRD4 的结合抑制活性 IC_{50} (nmol/L)	对 MV4-11 的生长抑制活性 GI_{50} (nmol/L)
化合物 2	121.2	19
化合物 3	54.9	20
化合物 4	77.2	95
化合物 5	54.2	73
化合物 6	18.2	26
化合物 7	113.0	55
化合物 8	123.5	9
化合物 9	73.6	39
化合物 10	47.1	7
化合物 11	225.3	95
化合物 12	107.8	30
化合物 13	17.3	22
化合物 14	21.0	42
化合物 15	119.8	34
化合物 16	116.4	28
化合物 17	12.8	14
化合物 18	146.8	48

[0134] 通过以上结果,能够阐明抑制乙酰化组蛋白(更具体地说是乙酰化组蛋白 H4)和溴区包含蛋白(更具体地说是人的 BET 家族蛋白 BRD2、BRD3 和 BRD4)之间结合的化合物能够用作抗癌剂。而且,还能够阐明由上式 (I) 表示的抑制乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白之

间结合的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物能够用作抗癌剂。此外,还能够阐明由上式 (I) 表示的噻吩并三唑并二氮杂卓化合物具有针对乙酰化组蛋白和溴区包含蛋白的结合抑制活性。

[0135] 工业适用性

[0136] 根据本发明,可以提供一种新型抗癌剂。

[0137] 本申请基于在日本提交的专利申请 No. 2007-339456,它的全部内容并入本文。