

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：94101746

※ 申請日期：94.6.29

※IPC 分類：

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K 31/517, (2006.01)

用作 PARP 抑制劑之經取代的 2-烷基喹啉酮衍生物

SUBSTITUTED 2-ALKYL QUINAZOLINONE DERIVATIVES AS PARP
INHIBITORS

A61K 31/536, (2006.01)

二、申請人：(共 1 人)

A61K 31/41 (2006.01)

姓名或名稱：(中文/英文)

比商健生藥品公司

JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.

代表人：(中文/英文)

寇菲立/DE CORTE, FILIP

住居所或營業所地址：(中文/英文)

比利時國 B-2340 比爾斯市賓河街 30 號

Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium

國 籍：(中文/英文)

比利時/Belgium

三、發明人：(共 5 人)

姓 名：(中文/英文)

1.馬賽爾/VAN DER AA, MARCEL JOZEF MARIA

2.席亞伯/VAN HEERTUM, ALBERTUS HENRICUS MARIA THERESIA

3.杜傑伯/VAN DUN, JACOBUS ALPHONSUS JOSEPHUS

4.桑瑪莉/SOMERS, MARIA VICTORINA FRANCISCA

5.伍瓦特/WOUTERS, WALTER BOUDEWIJN LEOPOLD

國 籍：(中文/英文)

1.~5.為比利時/Belgium

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

歐洲專利公約；西元 2004 年 06 月 30 日；04076887.1

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

國 籍：(中文/英文)

1.~5.為比利時/Belgium

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

歐洲專利公約；西元 2004 年 06 月 30 日；04076887.1

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於 PARP 抑制劑以及提供化合物與含被揭露的化合物之組成物，此外，本發明提供使用所揭露的 PARP 抑制劑作為醫藥品的方

【先前技術】

核的酵素，聚(ADP-核糖)聚合酶-1(PARP-1)是 PARP 酵素家族的成員之一，此成長中的 PARP 酵素類包括，例如：PARP-1，PARP-2，PARP-3 與 Vault-PARP；以及錨蛋白酶類(Tankyrases, TANKs)，例如：TANK-1，TANK-2 與 TANK-3；PARP 也被歸之為聚(腺苷 5'-二磷酸-核糖)聚合酶或 PARS (聚(ADP-核糖)合成酶)。

PARP-1 是具有 116 kDa 的主要的核蛋白，組成自三個區域：N-端 DNA 結合的區域，其含有兩個含鋅指形結合位點(zinc fingers)，自動修飾區域與 C-端催化性區域，它存在於幾乎所有的真核生物中，此酵素合成聚(ADP-核糖)，一種可包含超過 200 個 ADP-核糖單位之分枝的聚合物，聚(ADP-核糖)的蛋白質受器類直接地或間接地參與維持 DNA 的完整性，它們包括組織蛋白類，拓撲異構酶類，DNA 以及 RNA 聚合酶類，DNA 連接酶類，與 Ca^{2+} -及 Mg^{2+} -依賴的核酸內切酶類；PARP 蛋白質被高度表現於許多的組織中，最著稱的是在免疫系統、心臟、腦及種系(germ-line)細胞，在正常的生理狀況下，PARP 是處於最

低的活性狀況，然而，當 DNA 受損會立即引起高達 500 倍的 PARP 活化反應。

錨蛋白酶(Tankyrases, TANKs)被發現是作為人類端粒的複合物(human telomeric complex)的組成分，它們也被提出在泡囊非法交易(vesicle trafficking)過程中扮演某種角色且可能在蛋白質參與各種的其他的細胞內的過程中提供作為一種臨時舞臺；在染色體的維持與安定性方面極其重要的端粒，係受到一種特殊化的反轉轉錄酶--端粒酶(Telomeres)來維持，TANK 類為具有一些同時為帶信號的與細胞骨架蛋白質兩種特徵之(ADP-核糖)轉移酶，它們含有 PARP 區域，用於催化受質蛋白質類之聚-ADP-核糖化反應，與某些傳訊息的分子共有之 SAM(sterile alpha motif)，以及 ANK 區域，其含有 24 個相同於細胞骨架蛋白錨蛋白之錨蛋白(ankyrin)重覆單元，此 ANK 區域與端粒的蛋白質-端粒重覆結合的因子-1(Telomere Repeat binding Factor-1, TRF-1)交互作用，這些蛋白質因此被命名為 TRF1-交互作用的，錨蛋白-相關的 ADP-核糖聚合酶(TANKs)。

TANK 的更特殊的官能之一是 TRF-1 之 ADP-核糖化作用；人類端粒功能需要兩個端粒-專性的 DNA 結合的蛋白質，TRF-1 與 TRF-2，TRF-2 保護染色體末端，而 TRF-1 用於調節端粒的長度，ADP-核糖化反應抑制 TRF-1 結合至端粒的 DNA 之能力，此種 TRF-1 的聚-ADP-核糖化作用自端粒釋放 TRF-1，打開端粒的複合物並允許接近至端

粒酶，因此，TANK 的作用如同端粒長度的正調節物，允許藉由端粒酶加長端粒。

在許多因 PARP (尤其是 PARP-1)提供的功能中，其主要角色為：藉由 ADP-核糖化作用使 DNA 修復變成容易，並因此係共同協力於許多的 DNA 修復蛋白質，在 PARP 活化後， NAD^+ 值明顯降低，強力的 PARP 活化作用，使得遭逢嚴重 DNA 損害之細胞中的 NAD^+ 值大幅滑落，聚(ADP-核糖)的短半-生期導致快速的流動率，一旦聚(ADP-核糖)被形成，它很快地受到結構地活性聚(ADP-核糖)醣水解酶(PARG)，一起與磷酸二酯酶以及(ADP-核糖)蛋白質裂解酶之作用而被降解；PARP 與 PARG 形成一循環用於轉換大量的 NAD^+ 成 ADP-核糖，在少於 1 小時內，PARP 之過度-刺激可引起 NAD^+ 與 ATP 之滑落至少於正常值之 20%，這樣的情節在局部缺血期間，氧氣的剝奪已劇烈地危及細胞能量輸出時尤其不利，接著在再流通時產生游離基被認為是引起組織傷害的主要原因，部分的 ATP 降落，在局部缺血與再流通期間，在許多器官中為典型的反應，可由於聚(ADP-核糖)的轉移被連結至 NAD^+ 消耗，於是，PARP 或 PARG 之抑制作用被預期能用於保存細胞能量值，於是可使組織在受到局部缺血傷害後得以增加存活的能力。

聚(ADP-核糖)合成也參與發炎反應必要之許多基因之誘導表現，PARP 抑制劑類壓制可誘發的一氧化氮合成酶(iNOS)產生於巨噬細胞，P-類型選擇素(selectin)與分子

間的粘附分子-1 (ICAM-1)產生於內皮細胞，這樣的活性構成 PARP 抑制劑類呈現之強力的抗-發炎效果，PARP 抑制作用能夠藉由預防嗜中性球的移位與浸潤至受傷組織而減少壞死。

5 PARP 被損壞的 DNA 斷片活化，且一旦被活化，其催化粘附達 100 ADP-核糖單位至各種的核蛋白質，包括組織蛋白質與 PARP 本身，在較大的細胞壓力，PARP 被強力活化下，由於儲存的能量被消耗殆盡而可能迅速地導致細胞的傷害或死亡，由於每四分子的 ATP 供應每一 NAD^+ 分子之再生， NAD^+ 因大量的 PARP 活化作用而被消耗之時，為了再合成 NAD^+ ，ATP 也會被折損。

10 已有報告說，PARP 活化作用在 NMDA-與 NO-誘導的神經毒性中扮演了關鍵的角色，這也經證明於皮層的培養物與海馬區切片，其中毒性的預防係直接相關於 PARP 抑制作用潛力；PARP 抑制劑類在治療神經退化性疾病與頭部創傷的潛在角色因此被認知，雖然其真正的作用機制尚未被說明。

15 類似地，已證明，單純地注射 PARP 抑制劑類已可減少兔子心臟或骨骼肌因局部缺血與再灌流所造成之栓塞大小，這些研究中，單獨地注射 3-胺基-苯甲醯胺(10 毫克/公斤)，不管是在阻塞前一分鐘或再灌流前一分鐘施行，均有類似地縮減心臟梗塞(32-42%)的結果，而使用 1,5-二羥基異喹啉(1 毫克/公斤)，其為另種 PARP 抑制劑時，可縮減栓塞大小達相當的程度(38-48%)，由這些結果可合理

假設 PARP 抑制劑類可事先搶救缺血性心臟或骨骼肌組織的再灌流傷害。

PARP 活化作用也可被使用於測量導因於曝露在任何下述誘發劑所起之神經毒性凌辱後之傷害：穀胺酸(經由 NMDA 受體刺激作用)，具反應性的氧中間物，澱粉樣的 β -蛋白質，N-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氫吡啶(MPTP)或其活性代謝物 N-甲基-4-苯基吡啶(MPP⁺)，其參與病理的狀況，例如：中風，阿耳滋海默氏症與巴金森氏症，其他研究也持續發覺到 PARP 活化作用在試管中腦的粒細胞與在 MPTP 中之神經毒性的角色，過度的神經曝露於穀胺酸，其作為主導的中樞神經系統神經遞質且作用於 N-甲基 D-門冬胺酸(NMDA)受體類與其他的亞型受體類，最常出現為中風或其他神經退化過程之結果；在缺血性腦傷害期間，例如中風或心臟病，被奪走氧氣的神經元釋放出相當大量的穀胺酸，過量的穀胺酸回頭造成 N-甲基-D-門冬胺酸(NMDA)，AMPA，紅藻胺酸(Kainate)與 MGR 受體類之過度刺激(刺激毒性, excitotoxicity)，打開離子通道並允許不受管制的離子流動(例如，Ca²⁺與 Na⁺ 進入細胞而 K⁺流出細胞)，導致過度刺激神經元；被過度刺激的神經元分泌更多的穀胺酸，產生回饋圈或骨牌效應，最後經由產生蛋白酶、解脂酶與游離基等造成細胞傷害或死亡；穀胺酸受體類的過度的活化作用已被認為牽涉在許多的神經疾病與病況中，包括：癲癇，中風，阿耳滋海默氏症，巴金森氏病，肌萎縮性側索硬化(ALS)，亨丁頓氏症，人格分

裂症，慢性疼痛，缺氧後之局部缺血與神經損耗，低血糖症，絕血症，創傷，與神經受傷，穀胺酸曝露與刺激已被暗示為強迫症之原因，特別是藥物依賴性；證據包括，在很多種的動物中之調查，以及經處理穀胺酸或 NMDA 之在腦皮質培養物中，穀胺酸受體拮抗劑類(即，可阻斷穀胺酸結合至其受體或活化其受體之化合物類)阻斷了血管衝擊後之傷害，企圖藉由阻斷 NMDA、AMPA、紅藥胺酸與 MGR 受體類而預防刺激毒性的方式已被證明相當困難，乃由於各個受體具有多個穀胺酸可結合的位置，因此尋找有效的拮抗劑類或萬能的拮抗劑類以防止穀胺酸結合至所有受體及允許測試此種理論之混合物相當困難，再者，許多有效於阻斷這些受體的組成物，對動物也具有毒性，因此，目前仍不知可有效處理不正常的穀胺酸之組成物，被穀胺酸刺激之 NMDA 受體，例如，活化酵素神經元的一氧化氮合成酶(nNOS)，導致形成一氧化氮(NO)，其也媒介神經毒性，NMDA 神經毒性也受到以一氧化氮合成酶(NOS)抑制劑類處理或透過試管中 nNOS 的標靶的基因瓦解而被預防。

PARP 抑制劑類的其他用途為用於治療周圍神經傷害，與導致病理疼痛之綜合症狀，所知之神經病變性疼痛，例如因一般坐骨神經的慢性狹窄傷害(CCI)引起者與其中脊髓背側的角之經突觸的改變所引起者，特徵為出現胞質與核質的過度色素沈著(所謂的”暗色”神經元)。

證據也顯示，PARP 抑制劑類有用於供治療炎症腸

疾，例如結腸炎；具體地，對大鼠的管腔間施用溶解於 50% 乙醇之附著素(hepten)三硝基苯磺酸引起之結腸炎有治療效果，受治療的大鼠被接受 3-胺基苯甲醯胺，其為一種專性的 PARP 活性的抑制劑，PARP 活性的抑制減少及發炎反應並恢復遠端結腸的形態與能量。

進一步的證據顯示，PARP 抑制劑類有用於供治療關節炎，此外，PARP 抑制劑類似乎有用於供治療糖尿病，PARP 抑制劑類已證明有用於供治療內毒素休克或敗血性休克，PARP 抑制劑類也被用於延長壽命及細胞的增殖能力，包括疾病的治療，譬如皮膚老化，阿耳滋海默氏症，動脈硬化，骨關節炎骨質疏鬆症，肌肉營養不良症，骨骼肌的退化性疾病，包括複製衰老，與年紀相關的肌肉退化，免疫衰退，AIDS，與其他的免疫衰退疾病；並用於修改變衰老細胞之基因表現。

也已知，PARP 抑制劑類，例如 3-胺基苯甲醯胺，影響全面的 DNA 修復反應於，例如過氧化氫或離子照射。

PARP 在修復 DNA 股破損處的主要角色已被充分建立，尤其是直接受離子化照射所引起時，或間接地在受到甲基化劑、拓撲異構酶 I (topoisomerases I) 抑制劑類與其他的化學治療劑(例如順氯氨鉑與保米黴素)作用引起之 DNA 損傷的酵素性修復後；許多使用"剔除基因(knockout)"小鼠，轉移-顯性的(trans-dominant)抑制作用模式(DNA-結合區域的過度表現)，反義及小分子量抑制劑類的研究已證明，在誘導 DNA 損害後，PARP 在修復及細

胞存活上之角色，PARP 酵素活性的抑制作用必會導致腫瘤細胞對 DNA 損害的處理之提昇的敏感性。

PARP 抑制劑類已被報導為可有效放射性致敏化(缺氧性)腫瘤細胞，並有效的預防腫瘤細胞在經放射性療法後，從 DNA 的致命的與未達致死的傷害中，藉其阻止 DNA 股斷裂再結合與影響許多的 DNA 損壞訊號路徑的能力而復元。

PARP 抑制劑類已被使用於治療癌症，此外，U.S.專利 No.5,177,075 討論許多的異喹啉類被用於提升離子化照射或化學療法劑對腫瘤細胞之致死效果，Weltin et al., "Effect of 6(5-Phenanthridinone)，一種聚(ADP-核糖)聚合酶的抑制劑，on Cultured Tumor Cells", Oncol. Res., 6:9, 399-403 (1994)，討論 PARP 活性的抑制作用，腫瘤細胞之減少的增殖作用，與當以烷基化藥物一起用於治療時之明顯的增效作用。

本技藝的狀況的回顧，已被公開於：Li and Zhang in IDrugs 2001, 4(7); 804-812; Ame et al in Bioassays 2004, 26: 882-883 以及 Nguewa et al., in Progress in Biophysic & Molecular Biology 2005, 88: 143-172。

對於有效的與有潛力的 PARP 抑制劑類仍有持續的需求，特別是產生最低副作用之 PARP-1 抑制劑類，本發明提供化合物、組成物、方法、抑制的 PARP 活性供治療癌症及/或預防因壞死或自我凋亡造成細胞的傷害或死亡而產生之細胞的、組織及/或器官的傷害，本發明的化合物

與組成物尤其有用於提升化學療法與放射性療法之有效性，其中主要的治療效果為目標細胞中造成之 DNA 傷害。

【背景文獻】

5 GB 1062357, 公開於 1967 年 3 月 22 日, 揭露具有抗高血壓效果之喹唑酮衍生物。

DE 2258561, 公開於 1973 年 6 月 20 日, 揭露具有抗高血壓作用之經取代的吡啶酮衍生物。

10 EP 13612, 公開於 1983 年 11 月 11 日, 揭露經取代的六氫吡啶烷基喹唑啉衍生物類, 所揭露的化合物係血清素-拮抗劑類, 特別是本發明之 No. 63 化合物。

EP 669919, 公開於 1994 年 6 月 9 日, 揭露二甲基苯並呋喃與二甲基苯並吡喃類作為 5-HT₃ 拮抗劑類。

15 US 5374637, 公開於 1994 年 12 月 20 日, 揭露苯甲醯胺衍生物類, 此類化合物具有胃能動性之刺激性質。

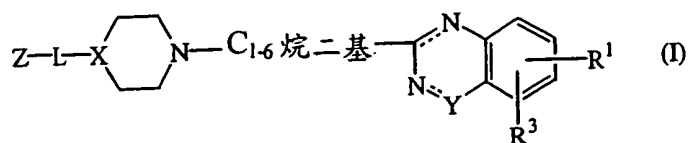
EP 885190, 公開於 1998 年 12 月 23 日, 揭露 1,4-二取代的六氫吡啶衍生物, 具有胃動能的性質。

EP 1036073, 公開於 1999 年 6 月 17 日, 揭露經取代的喹唑啉二酮衍生物類, 其具有累積放鬆的性質。

20 EP 1355888, 公開於 2002 年 6 月 20 日, 揭露喹唑啉酮衍生物類作為 PARP 抑制劑類。

【發明說明】

本發明相關於式(I)的化合物



5 其N-氧化物型式、藥學可接受的酸加成鹽類以及立體化學異構物，其中

點線代表選擇的鍵；

X為>N-，>CH-或>CR²-其中R²為胺基羰基；或

當X為>CR²-，則R²與-L-Z一起可形成雙價的下式基



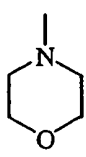
其中R¹⁰為苯基；

—N—Y— 為-N-C(O)-或-N=CR⁴-，其中R⁴為羥基；

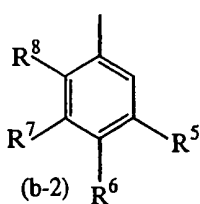
R¹ 為氫，鹵基，C₁₋₆烷氧基或C₁₋₆烷基；

R³ 為氫，或C₁₋₆烷氧基；

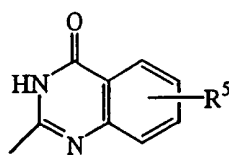
15 Z 為選自下列的基



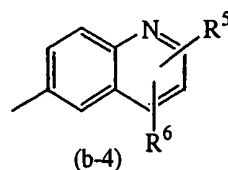
(b-1)



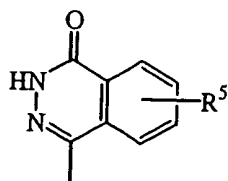
(b-2)



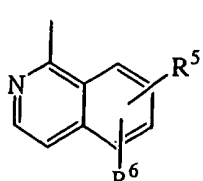
(b-3)



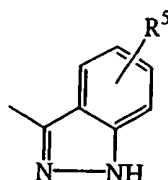
(b-4)



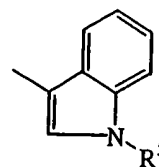
(b-5)



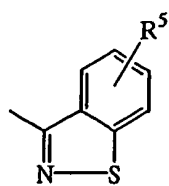
(b-6)



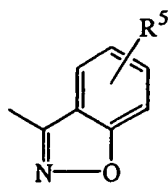
(b-7)



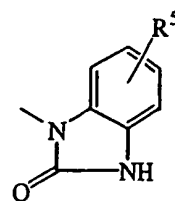
(b-8)



(b-9)



(b-10)

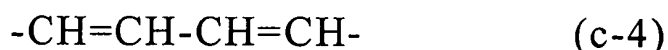
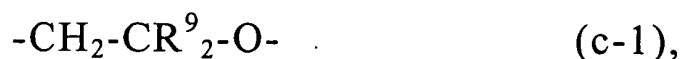


(b-11)

5

其中各 R^5 , R^6 , R^7 與 R^8 獨立地為選自氫, 鹵基, 胺基, C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基; 或

R^7 與 R^8 一起可形成具下式之雙價基:



其中各 R^9 為獨立地選自氫或 C_{1-6} 烷基; 且

L 為選自下列之雙價基: $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{1-6}$ 烷二基-或 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷二基-; 或

L 可以是直接鍵, 當X為 $>\text{CR}^2-$ 或當Z為式(b-11)之基時; 條件為: 當X為 $>\text{CH}-$, $-\text{N}\cdots\cdots\text{Y}-$ 為 $-\text{N}-\text{C}(\text{O})-$, 第2個點線不是一個鍵, Z為式(b-2)的基且L為 $-\text{C}(\text{O})-$, 則 $-\text{C}_{1-6}$ 烷二基-為異於 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 之基。

式(I)的化合物也可呈現為其互變異構物型式, 這類型式雖未明確將其出示於上述化學式中, 但被涵蓋於本發明的範圍中。

上述定義中用到的許多名詞將在後面予以說明, 這些名詞有時候被單獨使用, 有時候為複合名詞。

在前面及後面的定義中，鹵基係指氟，氯，溴與碘；
C₁₋₆ 烷基代表具有 1 至 6 個碳原子之直鏈或支鏈的飽和的
烴基，例如，甲基，乙基，丙基，丁基，戊基，己基，1-
甲基乙基，2-甲基丙基，2-甲基-丁基，2-甲基戊基，等等；
5 C₁₋₆ 烷二基係指具有 1 至 6 個碳原子之雙價的直鏈或支鏈
的飽和的烴基，例如，亞甲基，1,2-乙二基，1,3-丙二基，
1,4-丁二基，1,5-戊二基，1,6-己二基以及其分枝的異構
物，例如，2-甲基戊二基，3-甲基戊二基，2,2-二甲基丁
二基，2,3-二甲基丁二基，等等。

10 "藥學可接受的鹽類"一詞係指藥學可接受的酸或鹼加
成鹽類，上述的藥學可接受的酸或鹼加成鹽類係指式(I)
的化合物可形成之包括具治療活性的無毒性之酸與無毒
性的鹼加成鹽型式，具有鹼性性質之式(I)的化合物可被轉
變成為其藥學可接受的酸加成鹽型式，係以酸處理所述呈
15 鹼性型式之化合物，適當的酸類包括，例如，無機酸類，
例如氫鹵酸，例如，氫氯酸或氫溴酸；硫酸；硝酸；磷酸，
等等酸類；或有機酸類，例如，乙酸，丙酸，羥基乙酸，
乳酸，丙酮酸，草酸，丙二酸，琥珀酸(即，丁二酸)，順
丁烯二酸，反丁烯二酸，蘋果酸，酒石酸，檸檬酸，甲磺
20 酸，乙磺酸，苯磺酸，對-甲苯磺酸，環磺酸，水楊酸，
對-氨基水楊酸，巴沫酸(pamoic)，等等。

具有酸性性質之式(I)的化合物可被轉變成為其藥學可
接受的鹼加成鹽，係以適當的有機或無機鹼處理所述的酸
性型態的化合物而得，適當的鹼鹽型式包括，例如，銨鹽

類，鹼與鹼土金屬鹽類，例如鋰、鈉、鉀、鎂、鈣鹽等，有機鹼類之鹽類，例如，苯札辛(benzathine)，N-甲基-D-葡萄糖胺，海巴明(hydrabamine)鹽類，以及與胺基酸(例如精胺酸、離胺酸等)形成之鹽類。

5 酸或鹼加成鹽也包含式(I)化合物能形成之水合物與溶劑的加成物型式，這類型式的實例為水合物、醇化物等。

本文中，式(I)化合物之立體化學地異構物型式係指所有式(I)的化合物可能擁有的，由相同原子，以相同序列組成，但具有不能交換的不同三度空間結構之化合物，除非另有說明或指示，化合物的化學代號涵蓋所述化合物可能擁有的所有的立體異構型式，所述的混合物可含有所述化合物的基本分子結構之所有的非鏡像物及/或鏡像物，式(I)化合物之所有的立體異構物，包括純態或彼此的混合物，均在本發明的範圍之內。

15 式(I)的化合物之 N-氧化物型式係指式(I)的化合物，其中一或多個氮原子被氧化成所謂的 N-氧化物，特別是那些 N-氧化物，其中一或多個的六氫吡啶或六氫吡啶的氮為 N-氧化的。

20 “式(I)的化合物”一詞，也包括其 N-氧化物型，藥學可接受的酸或鹼加成鹽類與所有的立體異構物型式。

GB 1062357 揭露具有抗高血壓效果之喹唑酮衍生物；DE 2258561 揭露具有抗高血壓效果之經取代的吡啶酮衍生物；EP 13612 揭露作為血清素-拮抗劑類之經取代的六氫吡啶基烷基喹唑啉衍生物；EP 669919 揭露二甲基

5 苯並呋喃與二甲基苯並吡喃，作為 5-HT₃ 拮抗劑類；US 5374637 揭露具有胃腸的能動性刺激的性質之苯並醯胺衍生物；EP 885190 揭露具胃動能性質之 1,4-二取代的六氫吡啶衍生物；EP 1036073 揭露具有積累的鬆弛作用性質之經取代的喹唑啉二酮衍生物；EP 1355888 揭露作為 PARP 抑制劑類之喹唑啉衍生物類。

意外地，發現本發明的化合物顯現 PARP 抑制的活性。

10 第一組令人感興趣的化合物包括那些式(I)的化合物，其中適用一或多個下述限制：

- a) X為>N-或>CR²-，其中R²為胺基羰基；
- b) 當X為>CR²-，則R²與-L-Z可一起形成式(a-1)之雙價基；
- 15 c) —N·····Y— 為-N-C(O)-或-N=CR⁴-，其中R⁴為羥基且第二個點線為一個鍵；
- d) R¹為鹵基，C₁₋₆烷氧基或C₁₋₆烷基；
- e) R³為C₁₋₆烷氧基；
- f) Z為選自下列之基：(b-1)，(b-3)，(b-4)，(b-5)，(b-6)，
20 (b-7)，(b-8)，(b-9)，(b-11)，(b-11)；
- g) 各R⁵，R⁶，R⁷與R⁸為獨立地選自氫，胺基，C₁₋₆烷基或C₁₋₆烷氧基；
- h) L為選自下列的雙價基：-C(O)-NH-，-C(O)-C₁₋₆烷二基-或-C(O)-O-C₁₋₆烷二基-。

第二組令人感興趣的化合物包括那些式(I)的化合物，其中適用一或多個下述限制：

- a) X為 $>\text{CH}-$ 或 $>\text{CR}^2-$ ，其中 R^2 為胺基羰基；
- b) 當X為 $>\text{CR}^2-$ ，則 R^2 與 $-\text{L}-\text{Z}$ 可一起形成式(a-1)之雙價基；
- c) R^1 為氫；
- d) R^3 為氫；
- e) Z為式(b-1)，(b-2)或(b-11)之基；
- f) 各 R^5 ， R^6 ， R^7 與 R^8 為獨立地選自氫或鹵基；
- g) L為選自 $-\text{C}(\text{O})-$ ， $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ，或 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{1-6}$ 烷二基-之雙價基；且
- h) L可為直接鍵，係當X為 $>\text{CR}^2-$ 或當Z為式(b-11)之基時。

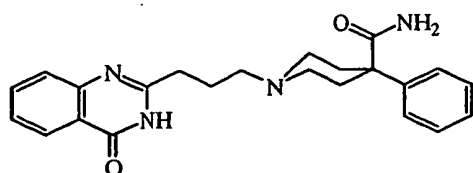
第三組令人感興趣的化合物包括那些式(I)的化合物，其中適用一或多個下述限制：

- a) X為 $>\text{CH}-$ 或 $>\text{CR}^2-$ ，其中 R^2 為胺基羰基；
- b) R^1 為氫；
- c) R^3 為氫；
- d) Z為式(b-1)或(b-2)之基；
- e) 各 R^5 ， R^6 ， R^7 與 R^8 為獨立地選自氫或鹵基；
- f) L為選自 $-\text{C}(\text{O})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ 之雙價基；且
- g) L可為直接鍵，係當X為 $>\text{CR}^2-$ 時。

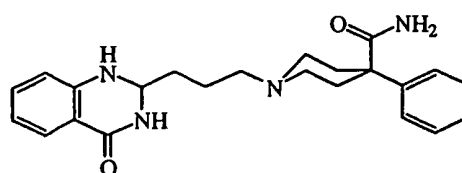
一組較佳的化合物包括那些式(I)的化合物，其中，X 為 $>\text{CH}-$ 或 $>\text{CR}^2-$ ，其中 R^2 為胺基羰基；當 X 為 $>\text{CR}^2-$ ，則 R^2 可與 $-\text{L}-\text{Z}$ 一起形成式(a-1)之雙價基； R^1 為氫； R^3 為氫；Z 為式(b-1)，(b-2)或(b-11)之基；各個 R^5 ， R^6 ， R^7 與 R^8 為獨立地選自氫或鹵基；L 為選自下列的雙價基： $-\text{C}(\text{O})-$ ， $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ，或 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{1-6}$ 烷二基-；且 L 可為直接鍵，係當 X 為 $>\text{CR}^2-$ 或當 Z 為式(b-11)之基時。

較佳的一組化合物包括那些式(I)的化合物，其中，X 為 $>\text{CH}-$ 或 $>\text{CR}^2-$ ，其中 R^2 為胺基羰基； R^1 為氫； R^3 為氫；Z 為式(b-1)或(b-2)之基；各 R^5 ， R^6 ， R^7 與 R^8 為獨立地選自氫或鹵基；L 為選自下列之雙價基： $-\text{C}(\text{O})-$ 或 $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ 且 L 可為直接鍵，係當 X 為 $>\text{CR}^2-$ 時。

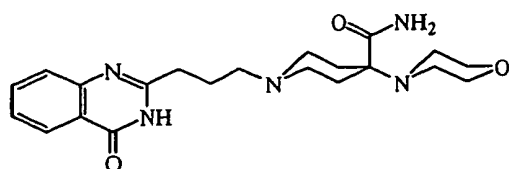
最佳的化合物為 No.4、No.5、No.11、No.12 與 No.14 之化合物。



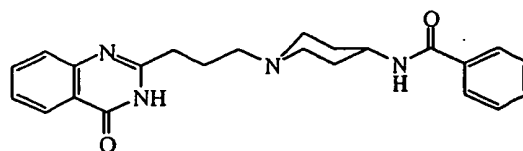
化合物 4



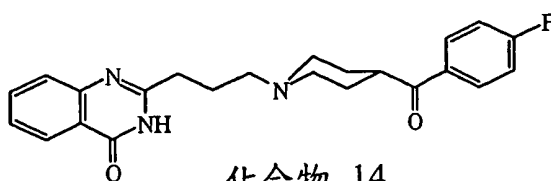
化合物 5



化合物 11



化合物 12

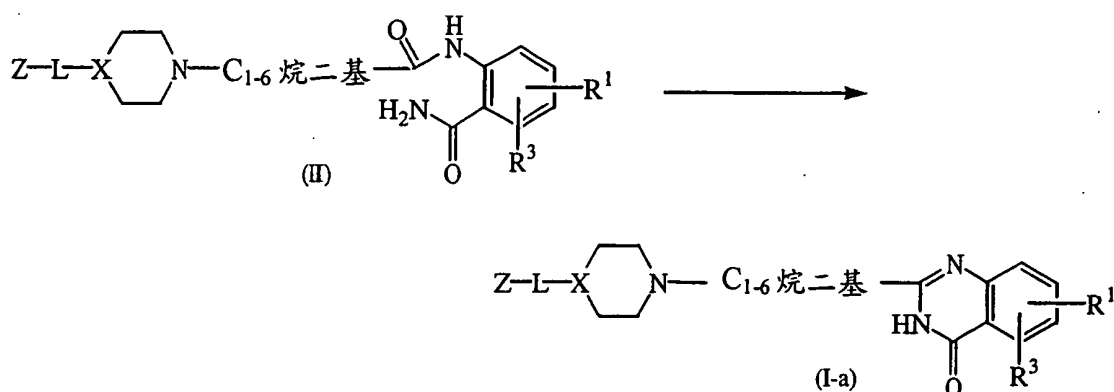


化合物 14

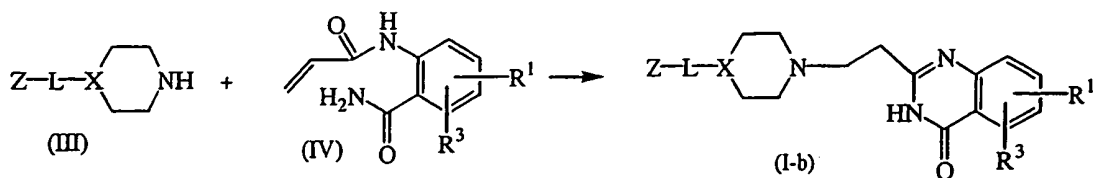
式(I)的化合物可根據揭露於 EP13612 中的一般方法製備，起始化合物及一些中間物為已知的化合物且為可購得的或可根據通常為本技藝中已知之傳統反應方法製得者。

一些製備方法將於後面作更詳細的描述，其他供取得最後的式(I)化合物的方法被描述於實例中。

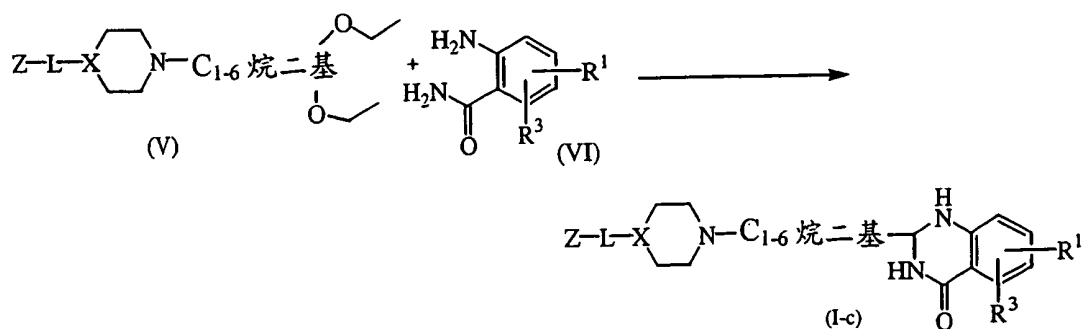
式(I)化合物，其中—N·····Y— 為-N-C(O)-且第2個點線為鍵結者，在這兒被歸之為式(I-a)的化合物，可藉由將後者進行文獻已知的環化反應被衍生自適當的式(II)之經取代的 2-氨基羰基苯甲醯胺



或者，式(I)的化合物，其中-C₁₋₆ 烷二基-為-CH₂-CH₂-且—N·····Y— 為-N-C(O)-且第2個點線為鍵結者，被歸之為式(I-b)的化合物，可利用文獻中所知的環化方法，以適當的式(IV)之經取代的 2-氨基羰基苯甲醯胺將式(III)的中間物進行環化而得。



式(I)的化合物，其中 $\text{—N}\cdots\text{Y—}$ 為 —N—C(O)— 且第二個點線不是鍵結者，被歸之為式(I-c)之化合物，可藉由與適當的經取代的式(VI)的中間物環化式(V)之適當的經取代之2-胺基苯甲醯胺而得，所述的環化反應可方便地在適當的溶劑(例如，醇類，例如甲醇，乙醇，丙醇等)存在下，將反應劑一起攪拌而進行，稍微加溫並添加催化性劑量的適當的強酸，例如鹽酸等，可提高反應速率。



式(I)的化合物也可經由文獻已知的反應或官能基轉形反應被彼此轉換，部分這類的轉形反應已在前面被描述過；其他實例為：水解羧酸酯類成相關的羧酸或醇；水解醯胺類成相關的羧酸或胺；水解腈類成相關的醯胺類；利用文獻所知的重氮化反應及接著的以氫置換重氮基，可將在咪唑或苯基上的胺基被取代成氫；醇類可被轉變成其酯類與醚類；一級胺類可被轉變成二級或三級胺類；雙鍵可

被氫化成相關的單鍵；位於苯基上的碘基，在適當的鈀催化劑存在下藉由一氧化碳插入反應，可被轉變成一種酯基。

本發明也相關於使用被定義如上的式(I)化合物作為醫藥品之用途。

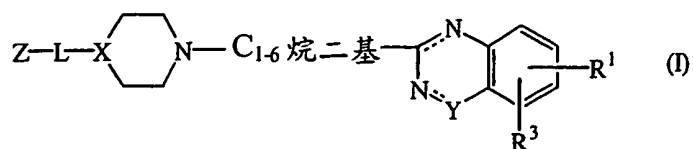
本發明的化合物具有 PARP 抑制的性質，從下面的實驗部分可以看出。

"PARP"一詞在本文中的意義係指一種具有聚-ADP-核糖化作用活性之蛋白質，就此種定義，PARP 涵蓋由 parp 基因、其變種所編碼得的所有蛋白質，以及其薄片蛋白質，此外，本文中的"PARP"一詞包含 PARP 同功的(analogues)，同源的(homologues)與其他動物之同功物。

"PARP"一詞，包括，但不限於 PARP-1，就此含義，可包括 PARP-2，PARP-3，Vault-PARP (PARP-4)，PARP-7 (TiPARP)，PARP-8，PARP-9(Bal)，PARP-10，PARP-11，PARP-12，PARP-13，PARP-14，PARP-15，PARP-16，TANK-1，TANK-2，與 TANK-3。

能同時抑制 PARP-1 與錨蛋白酶 2 之化合物具有有利的性質，在癌症細胞中，它們具有增加的生長抑制的活性。

本發明也盤算使用化合物用於製備供治療被描述於此的動物中發生之疾病及病況之醫藥的用途，其中所述化合物為式(I)的化合物



5 其N-氧化物型式，藥學可接受的加成鹽類以及立體化學的異構物型，其中，

點線代表選擇的鍵結；

X為 $>\text{N}-$ ， $>\text{CH}-$ 或 $>\text{CR}^2-$ ，其中 R^2 為胺基羰基；或

當X為 $>\text{CR}^2-$ ，則 R^2 與 $-\text{L}-\text{Z}$ 可形成下述之雙價基



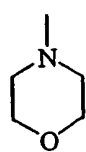
其中 R^{10} 為苯基；

$-\text{N} \cdots \text{Y}-$ 為 $-\text{N}-\text{C}(\text{O})-$ 或 $-\text{N}=\text{CR}^4-$ ，其中 R^4 為羥基；

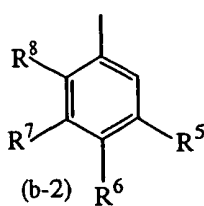
R^1 為氫，鹵基， C_{1-6} 烷氧基或 C_{1-6} 烷基；

R^3 為氫，或 C_{1-6} 烷氧基；

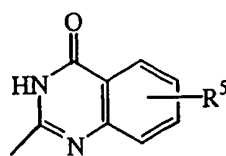
15 Z 為選自下列的基：



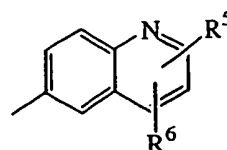
(b-1)



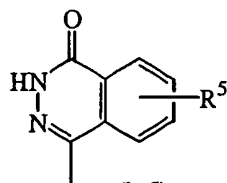
(b-2)



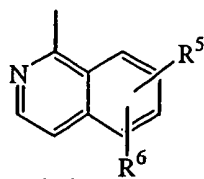
(b-3)



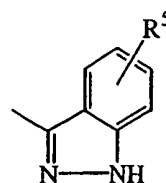
(b-4)



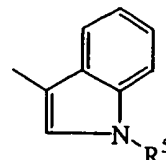
(b-5)



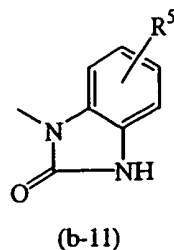
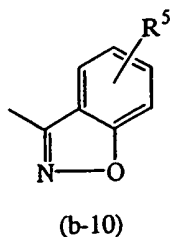
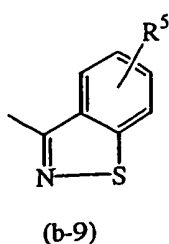
(b-6)



(b-7)



(b-8)



5

其中各 R^5 , R^6 , R^7 與 R^8 獨立地為選自氫, 鹵基, 胺基, C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基; 或

R^7 與 R^8 一起可形成下列之雙價基:



其中各 R^9 獨立地為選自氫或 C_{1-6} 烷基; 且

L為選自下列的雙價基: -C(O)-, -C(O)-NH-, -C(O)- C_{1-6} 烷二基-或-C(O)-O- C_{1-6} 烷二基-; 或

L可為直接鍵, 係當X為 $>CR^2$ -或當Z為式(b-11)之基時。

本發明的化合物以其 PARP 結合的性質來看, 可被使用作為參考化合物或示蹤化合物, 在其中分子的原子之一可被取代成, 例如, 放射性同位素。

為製備本發明的藥學組成物, 將作為活性組成分之有效量的特定化合物, 呈鹼或酸加成鹽型式者, 與藥學可接受的載劑密切混合, 其中的載劑視供投與的製劑之型式而有多種型式, 這些藥學組成物有必要呈單位的劑量型式, 適於, 較佳地經由口服、直腸、皮下、或非經胃腸注射的

方式投與，例如，製備呈口服劑型的組成物時，可應用任何習用的製藥學的介質，例如，製備像是懸浮劑、濃漿液、酏劑與溶液劑時，可使用水、甘醇類、油類，醇類，等等；或使用像是澱粉、糖、高嶺土、潤滑劑、粘結劑、崩散劑等固體載劑以製備呈粉劑、丸粒、膠囊與錠劑之組成物；由於易於投與起見，錠劑與膠囊劑為最有利的劑量單位型式，其中顯然要使用固體藥學載劑。非經胃腸投藥的組成物之載劑通常包括無菌水，至少佔一大部分，也可加入其他的組成分，例如，助溶劑；可注射的溶液類，其載劑可包括，例如，食鹽溶液，葡萄糖溶液或食鹽溶液與葡萄糖混合之溶液；可注射的懸浮液可應用適當的液體載劑、懸浮劑等製備；在適於供皮下施用的組成物中，載劑可選擇地包含助穿透劑及/或適當的可濕劑，選擇地併用微量比例之任何適當的天然物，其不會造成皮膚明顯傷害者；這類添加物可協助容易地施用至皮膚及/或有助於配製所要的組成物，這些組成物可用各種方式被投與，例如，作成經皮膚的貼片、作成供點上的組成物、作成油膏；尤其有利的是，將上述藥學組成物配製成劑量型式供易於投與型式與均勻的劑量型式，在說明書及專利中所稱之劑量單位型式係指適於作為單獨的呈物理分離的單位，各單位中含有預定量的活性組成分，其為經計算與所要的藥學載劑在一起能產生所要治療效果的量者，這類劑型單位型式的實例為錠劑(包括藥心與包衣的錠劑)、膠囊劑、丸劑、粉劑藥包、薄酥片、可注射的溶液劑或懸浮劑、茶匙、湯匙等

等，以及其分隔的多重型式。

本發明的化合物可治療或預防因壞死或自我凋亡所引起的細胞受損或死亡而造成之組織傷害；可改善神經的或心血管組織的傷害，包括病灶缺血、心肌梗塞、及再灌流的傷害；可治療受 PPAR 活性引起的或惡化的多種疾病與病況；可延長或增加細胞的壽命或增殖能力；可改變衰老細胞的基因表現；可放射性致敏化(radiosensitize)及/或化學致敏化(chemosensitize)細胞，通常，PARP 活性的抑制，可減少細胞能量的損失，以神經細胞之情況下，預防其發生神經元的不可逆的去極化作用，於是可用於神經保護作用。

基於前述的理由，本發明也相關於投與足以抑制 PARP 活性之具治療有效量的上述被定義的化合物，用於治療或預防產生自壞死或自我凋亡的細胞受損或死亡而致之組織傷害，非藉由 NMDA 毒性媒介之用於影響神經活性，藉由 NMDA 毒性媒介之用於影響神經活性，用於治療產生自局部缺血及再灌流傷害之神經組織傷害，神經性疾病以及神經退化性疾病；用於預防或治療血管衝擊；用於治療或預防心血管疾病；用於治療其他病況及/或疾病，例如與年紀相關的肌肉退化，AIDS 及其他免疫衰老疾病，炎症，風濕痛，關節炎，動脈硬化，惡病質，癌症，包含複製的衰老之骨骼肌的退化性疾病，糖尿病，頭部創傷，炎性腸疾(例如結腸炎與局部性迴腸炎)，肌肉萎縮，骨關節炎，骨質疏鬆症，慢性及/或急性疼痛(例如神經病

變性疼痛)，腎衰竭，視網膜的局部缺血，敗血性休克(例如內毒素性休克)，以及皮膚老化，延長細胞的壽命與增殖能力；用於改變衰老細胞的基因表現；化學致敏化及/或放射性致敏化(缺氧性)腫瘤細胞，本發明也關於治療動物的疾病與病況係包括對所述的動物投與具治療有效量的上述已鑑別之化合物類。

明確地，本發明係關於一種治療、預防或抑制動物的神經的疾病的方法，其係包括對所述動物投與具治療有效量的上述已鑑別之化合物類，神經的疾病係選自包括下列疾病：因物理傷害或疾病狀態引起的周圍神經病變，創傷性腦傷害，脊髓的物理傷害，因中風相隨的腦傷害，病灶性局部缺血，總體性局部缺全，再灌流的傷害，髓鞘脫失的疾病以及與神經退化相關的神經性疾病。

本發明也企圖使用式(I)的化合物供抑制 PARP 活性，供治療、預防或抑制因壞死或自我凋亡之細胞傷害所引起的組織傷害，供治療、預防或抑制動物之神經疾病。

"預防神經退化作用"包括有能力去預防新近被診斷為帶有神經退化性疾病或有危險發展成為新的神經退化性疾病者，以及供預防已遭遇神經退化或具有神經退化的病徵患者的病情惡化。

"治療"一詞係涵蓋在動物，特別是人類中的疾病及/或病況之治療，且包括：(i) 對於尚未被診斷出具有疾病，但有傾向發生疾病及/或狀況之對象給予預防疾病及/或病況；(ii) 抑制疾病及/或病況，即，制止其發展；(iii) 解

除疾病及/或病況，即，使疾病及/或病況復元。

"放射致敏劑(radiosensitizer)"係指一種分子，宜為低分子量分子，經投與治療有效量給動物後，能增加細胞對於離子化照射之敏感性及/或促進可藉離子化照射治療的疾病之治療者；可藉離子化照射治療的疾病包括贅生瘤疾病，良性的與惡性的腫瘤，以及癌細胞，未被列示於此之其他疾病的離子化放射性治療也為本發明企圖涵蓋之部分。

"化學致敏劑(chemosensitizer)"係指一種分子，宜為低分子量分子，經投與治療有效量給動物後，能增加細胞對於化學療法之敏感性及/或促進可藉化學療法治療的疾病之治療者；可藉化學療法治療的疾病包括贅生瘤疾病，良性的與惡性的腫瘤，以及癌細胞，未被列示於此之其他疾病的化學療法治療也為本發明企圖涵蓋之部分。

本發明的化合物、組成物及方法，特別有用於供治療或預防因壞死或自我凋亡之細胞死亡或傷害所引起的組織傷害。

本發明的化合物可以是"抗-癌劑類"，此名詞也包含"抗-腫瘤細胞生長劑"與"抗-贅生瘤劑"，例如，本發明的方法有用於供治療癌症與癌症中的化學致敏的及/或放射性致敏的腫瘤細胞，例如 ACTH-產生的腫瘤，急性淋巴性血癌，急性非淋巴性血癌，腎上腺皮質癌，膀胱癌，腦癌，乳癌，頸部的癌症，慢性淋巴癌，慢性髓母細胞血癌，大腸直腸癌，皮下 T-細胞淋巴癌，子宮內膜癌，食道癌，

Ewing's 肉瘤膽囊癌，髮細胞血癌，頭&頸癌，Hodgkin's 淋巴瘤，Kaposi's 肉瘤，腎癌，肝癌，肺癌(小型及/或非小型細胞)，惡性的腹腔擴散液，惡性的胸腔擴散液，黑色素瘤，中皮層瘤，多重骨髓瘤，神經母細胞瘤，非-Hodgkin's 淋巴瘤，骨癌，卵巢癌，卵(精細胞)癌，前列腺癌，胰臟癌，陰莖癌，視網膜胚細胞瘤，皮膚癌，軟組織肉瘤，鱗狀細胞癌，胃癌，睪丸癌甲狀腺癌，滋養葉的贅生瘤，子宮癌，陰道癌，會陰癌以及 Wilm's 腫瘤。

因此，本發明的化合物可被用作為"放射性致敏劑"及/或"化學致敏劑"。

放射性致敏劑是為人所知之一種化合物，其被用於增加癌性細胞被曝露於離子照射下毒性效果之敏感性，放射性致敏劑作用模式的許多機制，已在文獻中被提及，包括：缺氧性細胞放射性致敏劑類(例如，2-硝基咪唑化合物類，與苯並三吡二氧化物化合物類)，在缺氧下模仿氧或行為像是生物還原劑；非-缺氧性細胞放射性致敏劑類(例如，鹵化的嘧啶類)可作為 DNA 鹼基之類似物且優先被結合至癌細胞之 DNA 並因此促進放射-誘發的 DNA 分子的斷裂及/或防止正常 DNA 修復機制；與各種已被假設於放射性致敏劑用於治療疾病之其他潛在的作用機制。

目前的許多癌症治療程序，應用放射性致敏劑與 X-射線的照射，X-射線活化的放射性致敏劑之實例包括，但不限於：metronidazole，misonidazole，desmethylnisonidazole，pimonidazole，etanidazole，

nimorazole, mitomycin C, RSU 1069, SR 4233, E09, RB 6145, 菸鹼鹽胺, 5-溴去氧尿苷(BUdR), 5-碘去氧尿苷(IUdR), 溴去氧胞苷, 氟去氧尿苷(FudR), 羥基尿素, 順氯氬鉑, 與具治療效果的類似物以及相同的衍生物。

5 癌症的光照療法(Photodynamic therapy, PDT)應用可視光作為放射性致敏劑之放射活化劑, 光動能的放射性致敏劑的實例包括, 但不限於: 血吡咯紫質(hematoporphyrin)衍生物類, Photofrin, 苯並吡咯紫質(benzoporphyrin)衍生物類, 錫(etio porphyrin), pheoborbide-a, 細菌葉綠素-a (bacteriochlorophyll-a), 萘酞氰類(naphthalocyanines), 酞
10 氰類(phthalocyanines), 酞氰鋅(zinc phthalocyanine), 與具治療效果的類似物以及相同的衍生物。

放射性致敏劑可與具治療效果量的一或多種其他化合物一起使用, 包括, 但不限於: 能促進放射性致敏劑進入標靶細胞之化合物; 能控制治療劑、營養物、及/或氧氣的流動至標靶細胞之化合物類; 不管有無另外的照射下能作用腫瘤之治療劑; 或其他供處理之癌症或其他疾病具治療效果的化合物; 可被與放射性致敏劑聯合使用的其他的治療劑之實例包括, 但不限於: 5-氟嘧啶二酮, 福林酸
15 (leucovorin), 5'-胺基-5'去氧胸苷, 氧氣, 高壓氧(carbogen), 紅細胞轉輸(red cell transfusions), 高氟烴類(perfluorocarbons, 例如, Fluosol 10 DA), 2,3-DPG, BW12C, 鈣通道阻斷劑類, pentoxifylline, 抗血管生成化合物類, hydralazine, 與 LBSO; 可被與放射性致敏劑聯
20

合使用的化學治療劑之實例包括，但不限於：adriamycin，camptothecin，carboplatin，順氯氨鉑(cisplatin)，daunorubicin，docetaxel，doxorubicin，干擾素(alpha，beta，gamma)，白細胞介素 2，伊林諾貼肯(irinotecan)，太平洋紫杉醇(paclitaxel)，托波貼肯(topotecan)，與治療有效的類似物與其衍生物。

化學致敏劑類可被與具有治療劑有效量的一或多種其他的化合物類聯合使用，包括，但不限於：

能促進化學致敏劑進入標靶細胞之化合物；能控制治療劑、營養物、及/或氧氣的流動至標靶細胞之化合物類；作用腫瘤之治療劑或其他供處理癌症或其他疾病具治療效果的化合物；可被與化學致敏劑聯合使用的其他的治療劑之實例包括，但不限於：甲基化劑，拓撲異構酶 I 抑制劑類與其他的化學致敏劑類，例如，順氯氨鉑與保米黴素(bleomycin)。

式(I)的化合物可被用於供偵測或鑑定 PARP，特別是 PARP-1 受體，在此目的下，式(I)的化合物可被標記，所述標記物可選自包括：放射性同位素，旋轉標記(spin label)，抗原標記(antigen label)，酵素標記(enzyme label)螢光基(fluorescent group)或化學冷光基(chemiluminiscent group)。

從事本行的行家由後面呈現的試驗可容易地決定出有效量，通常，被建議的有效量將為自 0.001 毫克/公斤至 100 毫克/公斤體重，且特別是自 0.005 毫克/公斤至 10 毫

克/公斤體重，可以將適當量的一天用劑量分成二、三、四或多次分量，在適當的時間間隔下施用，所述的分量可被配製成單位劑量型式，例如，每單位劑量型式含有 0.05 至 500 毫克，且特別是含有 0.1 毫克至 200 毫克的活性組成分者。

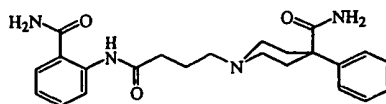
實驗部分

之後，"DCM" 係代表二氯甲烷，"DMF" 係代表 *N,N*-二甲基甲醯胺，"MeOH" 係代表甲醇，"MIK" 代表甲基異丁基酮，"MEK" 代表甲基乙基酮，"TEA" 代表三乙基胺且 "THF" 代表四氫呋喃。

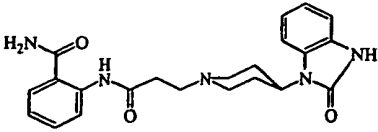
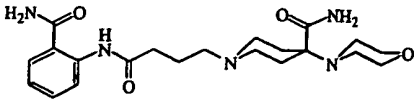
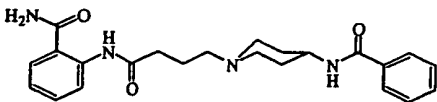
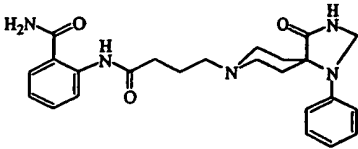
A. 中間化合物之製備

實例 A1

中間物 1 之製備

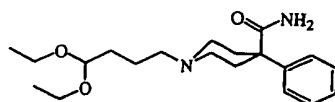


將 2-[(4-氯-1-酮基丁基)胺基]-苯甲醯胺(0.03 莫耳)，4-苯基-4-六氫吡啶羧醯胺(0.03 莫耳)與 TEA (0.1 莫耳)混合於乙腈 (150 毫升)後，攪拌迴流過夜，濃縮除去溶劑後，加水至殘留物中，油質層經三氯甲烷萃取，乾燥，過濾，再蒸發除去溶劑，殘留物以置於玻璃過濾器上之矽膠純化(溶離液：三氯甲烷/MeOH 95/5)，收集含產物之劃分，蒸發除去溶劑，收得 5 克(40.8%)的中間物 1。

	
中間物2；實例. [A1]；熔點 144.2°C	中間物3；實例. [A1]
	
中間物4；實例. [A1]	中間物5；實例. [A1]；熔點210°C

實例 A2

中間物6之製備

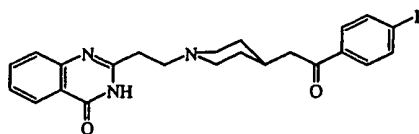


將 4-氯-1,1-二乙氧基-丁烷(0.05 莫耳)，4-苯基-4-六氫吡啶羧醯胺(0.03 莫耳)，碳酸鈉(0.05 莫耳)與碘化鉀(q.s.)混合於 4-甲基-2-戊酮(250 毫升)後，攪拌並迴流過夜，反應混合物冷卻後，加水，分層後，將有機層乾燥，過濾，濃縮，製得 9 克(86%)的中間物 6。

B. 最後化合物之製備

實例 B1

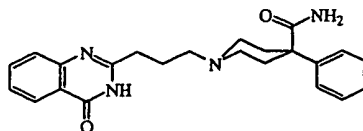
化合物3 之製備



將 2-[(1-酮基-2-丙烯基)胺基]-苯甲醯胺(0.02 莫耳)，
1-(4-氟苯基)-2-(4-六氫吡啶基)-乙酮(0.02 莫耳)與碳酸氫
鈉(4 克)混合於 2-丙醇(150 毫升)後，攪拌及迴流過夜，趁
熱將反應混合物過濾，蒸發除去溶劑，殘留物經管柱層析
法在矽膠上層析兩遍(流洗液：三氯甲烷/MeOH 95/5)，收
集含產物的劃分，蒸發除去溶劑，殘留物置於 2-丙醇予以
再結晶，收集沈澱，可得 2 克(25%)的化合物 3，熔點
159.1°C。

實例 B2

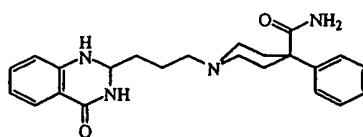
化合物 4 之製備



將中間物 1 (0.012 莫耳)混合於氫化鈉(60 毫升)與乙醇
(100 毫升)後，攪拌迴流加熱 1.5 小時，蒸發除去溶劑，加
水至殘留物中，油質層經三氯甲烷萃取，乾燥，過濾，蒸
發除去溶劑，自 MIK/2-丙醇進行再結晶，收集所要產物，
乾燥，製得 2 克(41.7%)的化合物 4，熔點 138.9°C。

實例 B3

化合物 5 之製備



將 2-胺基-苯甲醯胺(0.027 莫耳)與中間物 6 (0.027 莫

耳)混合於乙醇(100 毫升)後，加熱並以鹽酸 c.p.(3 毫升)將混合物酸化，反應混合物經攪拌迴流過夜，蒸發除去溶劑後，濃縮，加入 NH_4OH 溶液，濾下所得沈澱，溶解入三氯甲烷，乾燥，過濾，蒸發除去溶劑，殘留物自 MeOH 中再結晶，收集所得沈澱，可得 3 克(28%)的化合物 5，熔點 216.1°C 。

表F-1列出的化合物係根據上述實例之一製備者。

Co.No. 1, EP 13612	Co. No. 3; Ex. [B1]; mp. 159.1°C
Co. No. 4; Ex. [B2]; mp. 138.9°C	Co. No. 5; Ex. [B3]; mp. 216.1°C
Co. No. 9; Ex. [B1]; mp. 188.2°C	Co. No. 10; Ex. [B2]; mp. 234.3°C
Co. No. 11; Ex. [B2]	Co. No. 12; Ex. [B2]; mp. > 300°C
Co. No. 2; Ex. [B2]; mp. 243°C	Co. No.6; Ex. [B3]; mp. 251°C
Co. No. 7; Ex. [B3]; mp. 239.8°C	Co. No. 8; Ex. [B3]; mp. 194.4°C
Co. No. 13; Ex. [B3]; mp. 232.9°C	Co. No. 14; Ex. [B2]

藥學的實例

以試管中閃爍標記測定法(Scintillation Proximity Assay, SPA) 測定PARP-1抑制的活性

本發明的化合物以 SPA 技術(proprietary to Amersham Pharmacia Biotech)，在試管中分析被測試。

原則上，此分析係仰賴已充分被建立之 SPA 技術，其係供偵測生物素化的標靶蛋白質類(即組織蛋白質)之聚(ADP-核糖基)，此核糖化作用係使用切斷的(nicked) DNA 活化的 PARP-1 酵素與 [^3H]-菸鹼鹽胺腺苷二核苷酸 ([^3H]-NAD $^+$)作為 ADP-核糖基供應者。

作為 PARP-1 酵素活性的誘導物，製備切斷的 DNA，為此，將 25 毫克的 DNA (供應者: Sigma)溶解於 25 毫升的 DNase 緩衝液(10 mM Tris-HCl, pH 7.4; 0.5 毫克/毫升之牛血清白蛋白(BSA); 5 mM MgCl $_2$.6H $_2$ O 與 1 mM KCl)後，加入 50 微升的 DNase 溶液(1 毫克/毫升，溶解於 0.15 M 的 NaCl)，在 37°C 下培育 90 分鐘後，經添加 1.45 克的 NaCl 中止反應，接著在 58°C 下再培育 15 分鐘，在冰浴上將反應混合物冷卻後，在 4°C 下以 1.5 升的 0.2M KCl 分別透析 1.5 與 2 小時，並以 1.5 升的 0.01M KCl 分別透析 1.5 與 2 小時兩次，將混合物作成分量，並儲存於-20°C; 使用 Amersham 的生物素化反應套組將組織蛋白(1 毫克/毫升，類型 II-A，供應商: Sigma)予以生物素化並分量地儲存於-20°C 下，製備溶解於 PBS 之 100 毫克/毫升 SPA 聚(乙烯基甲苯) (PVT)珠粒(供應商: Amersham)的儲備

液；利用添加 120 微升的 $[^3\text{H}]\text{-NAD}^+$ (0.1 mCi/毫升，供應商：NEN)至 6 毫升的培育緩衝液(50 mM Tris/HCl, pH 8; 0.2 mM DTT; 4 mM MgCl_2)以製備 $[^3\text{H}]\text{-NAD}^+$ 之儲備溶液，製備溶解於培育緩衝液(得自儲存於 -20°C ，在水中之 100 mM 儲備溶液)之 4 mM NAD^+ (供應商：Roche)溶液；

5 PARP-1 酵素係使用文獻已知的技術產生，即，從人類肝 cDNA 開始進行無性繁殖與表現蛋白質；有關使用的 PARP-1 酵素的蛋白質序列之相關資訊包括文獻參考資料可得自 Swiss-Prot 資料庫，主要登錄號為 P09874，將生物素化的組織蛋白與 PVT-SPA 珠粒混合並在室溫下預培育 30 分鐘；PARP-1 酵素(濃度視批次而定)與切斷的 DNA 混合後，在 4°C 下預培育 30 分鐘，將等份量的此種組織蛋白/PVT-SPA 珠粒溶液與 PARP-1 酵素/DNA 溶液混合並將 75 微升的此混合物與 1 微升的化合物置於 DMSO，對 96 槽

10 微滴定板中的每槽加入 25 微升的 $[^3\text{H}]\text{-NAD}^+$ ，培育混合物中含有各物的最後濃度為：2 微克/毫升的生物素化的組織蛋白，2 毫克/毫升的 PVT-SPA 珠粒，2 微克/毫升的切斷的 DNA 與介於 5-10 微克/毫升的 PARP-1 酵素，在室溫下將混合物培養 15 分鐘後，添加在培養緩衝液中之 100 微升的 4 mM NAD^+ (最後濃度為 2 mM)並將板子混合。

15

20

讓珠粒沈降至少 15 分鐘，板子被移置至 TopCountNXT™ (Packard)供閃爍計數，所得數值以每分鐘閃爍數(cpm)表示，就每次實驗，平行測試對照組(含 PARP-1 酵素與 DMSO，不含化合物)、空白培育組(僅含

DMSO，不含 PARP-1 酵素或化合物)以及樣品組(含 PARP-1 酵素與溶解於 DMSO 中之化合物)，所有試驗的化合物均是被溶解於 DMSO 且進一步被稀釋於 DMSO，初次測試時，化合物在 10^{-5} 的濃度下被測試，當化合物在 10^{-5} M 顯示活性時，製出其中化合物濃度為介於 10^{-5} 與 10^{-8} 間的濃度之劑量-反應曲線，各個試驗均從對照組與樣品組減去空白值，對照樣品代表最大的 PARP-1 酵素活性，對各樣品，cpm 的量相對於對照組的 cpm 被表示成百分比，適當地，可使用線性內插法，從介於 50% 值上下的實驗點，由電腦推算出 IC_{50} 值(用於減少 PARP-1 酵素活性達對照組的 50% 之藥物的濃度)，此處的試驗化合物的效果被表示成 pIC_{50} (IC_{50} 值的負對數值)，至於參考化合物，4-氨基-1,8-萘亞醯胺也被包含於確認 SPA 分析，試驗的化合物在最初試驗濃度為 10^{-5} M 下顯現抑制的活性(見表-2)。

試管中過濾分析 PARP-1 抑制的活性

本發明的化合物以試管中的過濾分析被測試取得 PARP-1 活性(在切斷的 DNA 存在下被啟動)之情形，藉由其組織蛋白聚(ADP-核糖基)化作用活性，使用 $[^{32}P]$ -NAD 作為 ADP-核糖供應者，具放射性的核糖基化的組織蛋白類以三氯乙酸(TCA)沉澱於 96-槽濾板，而加入的 $[^{32}P]$ 使用閃爍計數器測量。

將組織蛋白(儲備液：5 毫克/毫升，在 H_2O 中)、 NAD^+ (儲備液：100 mM，在 H_2O 中)、與 $[^{32}P]$ - NAD^+ 混合

置入培育緩衝液內(50 mM Tris/HCl, pH 8; 0.2 mM DTT; 4 mM MgCl₂)，另準備 PARP-1 酵素(5 -10 微克/毫升)與切斷的 DNA 之混合物，切斷的 DNA 係如描述的方式在試管中製備於 SPA 供測試 PARP-1 抑制的活性，將 75 微升的 PARP-1 酵素/DNA 混合物，一起與 1 微升溶解於 DMSO 中的化合物與 25 微升的組織蛋白-NAD⁺/[³²P]-NAD⁺混合物加至 96-槽過濾板(0.45 微米，供應商：Millipore)之每一槽中，在培育混合物中的最後濃度為 2 微克/毫升的組織蛋白，0.1 mM 的 NAD⁺，200 μM(0.5 μC)的[³²P]-NAD⁺與 2 微克/毫升的切斷的 DNA；板子在室溫下被培育 15 分鐘，中止反應係藉由添加 10 微升冰冷的 100% TCA，接著添加 10 微升冰冷的 BSA 溶液(1%之水溶液)，在 4°C 下放置 10 分鐘以沈澱蛋白質劃分，板子以抽真空過濾，板子中各槽在室溫下相繼以 1 毫升，10% 冰冷的 TCA、1 毫升，5% 冰冷的 TCA 與 1 毫升，5% 冰冷的 TCA 洗滌，最後在各槽加入 100 微升的閃爍溶液(Microscint 40，Packard)，將板子移置至 TopCountNXT™ (供應商：Packard)供閃爍計數，所得值以每分鐘閃爍數表示(cpm)，就每個實驗，平行測試對照組(含 PARP-1 酵素與 DMSO，不含化合物)、空白培育組(僅含 DMSO，不含 PARP-1 酵素或化合物)以及樣品組(含 PARP-1 酵素與溶解於 DMSO 中之化合物)，所有試驗的化合物均是被溶解於 DMSO 且進一步被稀釋於 DMSO，初次測試時，化合物在 10⁻⁵ 的濃度下被測試，當化合物在 10⁻⁵M 顯示活性時，製出其中化合物濃度為介

於 10^{-5} 與 10^{-8} 間的濃度之劑量-反應曲線，各個試驗均從對照組與樣品組減去空白值，對照樣品代表最大的 PARP-1 酵素活性，對各樣品，cpm 的量相對於對照組的 cpm 被表示成百分比，適當地，可使用線性內插法，從介於 50% 值上下的實驗點，由電腦推算出 IC_{50} 值(用於減少 PARP-1 酵素活性達對照組的 50% 之藥物的濃度)，此處的試驗化合物的效果被表示成 pIC_{50} (IC_{50} 值的負對數值)，至於參考化合物，4-胺基-1,8-萘亞醯胺也被包含於確認過濾分析，試驗的化合物在最初試驗濃度為 10^{-5} M 下顯現抑制的活性(見表-2)。

以試管中閃爍標記測定法(SPA) 測定TANK-2抑制的活性

本發明的化合物以 SPA 技術使用 Ni 閃光板(Flash plate, 96 或 384 槽)，進行試管中分析被測試。

原則上，此分析係仰賴 SPA 技術，使用 [3H]-菸鹼醯胺腺苷二核苷酸([3H]- NAD^+)作為 ADP-核糖基供應者，供偵測 TANK-2 蛋白質之自動-聚(ADP-核糖基)化作用。

[3H]- NAD^+ /NAD 儲備溶液之製備：將 64.6 微升的 [3H]- NAD^+ (0.1 毫 Ci/毫升，供應商：Perkin Elmer)與 46.7 微升 NAD-儲備液(10.7 mM，被儲存於 -20°C，供應商：Roche)加至 1888.7 微升的分析緩衝液中(60 mM Tris/HCl, pH 7.4；0.9 mM DTT；6 mM $MgCl_2$)；TANK-2 酵素的產生，如揭露於 EP1238063 中方法，將 60 微升的分析緩衝液，一起與 1 微升溶解於 DMSO 中的化合物，20 微升的

[³H]-NAD⁺/NAD 及 20 微升的 TANK-2 酵素(最後濃度為 6 微克/毫升)加至 96-槽經 Ni 塗覆的閃爍板(Perkin Elmer)上之每一槽中，在室溫下培育 120 分鐘後，添加 60 微升的中止溶液(42.6 毫克 NAD，於 6 毫升水中)，覆蓋上封口板，置於 TopCountNXT™ (Packard)中進行閃爍計數，其數值以每分鐘閃爍次數(cpm)表示，就每次實驗，平行測試對照組(含 TANK-2 酵素與 DMSO，不含化合物)、空白培育組(僅含 DMSO，不含 TANK-2 酵素或化合物)以及樣品組(含 TANK-2 酵素與溶解於 DMSO 中之化合物)，所有試驗的化合物均是被溶解於 DMSO 且進一步被稀釋於 DMSO，初次測試時，化合物在 10⁻⁵ 的濃度下被測試，當化合物在 10⁻⁵M 顯示活性時，製出其中化合物濃度為介於 10⁻⁵ 與 10⁻⁸ 間的濃度之劑量-反應曲線，各個試驗均從對照組與樣品組減去空白值，對照樣品代表最大的 TANK-2 酵素活性，對各樣品，cpm 的量相對於對照組的 cpm 被表示成百分比，適當地，可使用線性內插法，從介於 50%值上下的實驗點，由電腦推算出 IC₅₀ 值(用於減少 TANK-2 酵素活性達對照組的 50%之藥物的濃度)，此處的試驗化合物的效果被表示成 pIC₅₀(IC₅₀ 值的負對數值)，至於參考化合物，3-胺基苯甲醯胺與 4-胺基-1,8-萘亞醯胺也被包含於確認 SPA 分析，本試驗係在 96-槽板中進行，在 384-槽板的分析中，使用相同的最後濃度與容積，如果 96-槽板結果可取得，這些結果被併入至表-2，否則係示出得自 384-槽板之結果。

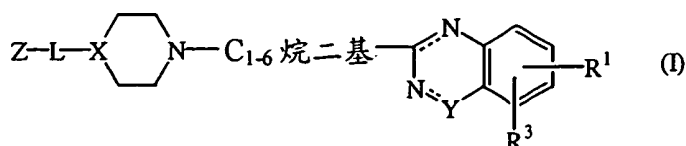
表 -2

化合物號碼	試管過濾分析 PARP-1 pIC50	試管SPA分析 PARP-1 pIC50	試管SPA分析 TANK-2 pIC50
1			<5
2	5.303	6.414	<5
3	5.371	6.252	5.605
4	7.115	7.699	<5
5	6.523	7.64	<5
6	5.669	6.75	5.129
7	5.381	6.233	>5
8	5.804	6.627	<5
9	5.243	6.214	<5
10	5	6.376	5.674
11	5.942	6.725	<5
12	6.172	6.931	<5
13	5.332	6.497	6.028
14	6.263	7.232	<5

這些化合物可進一步在細胞內的化學-及/或放射性致敏化分析中被評估，此分析係測定在癌細胞株中內生的 PARP-1 活性之抑制作用以及最後在活體內之放射性致敏性試驗。

五、中文發明摘要：

本發明提供式(I)的化合物、其用作 PARP 抑制劑之用途以及含有所述的式(I)化合物之醫藥組成物



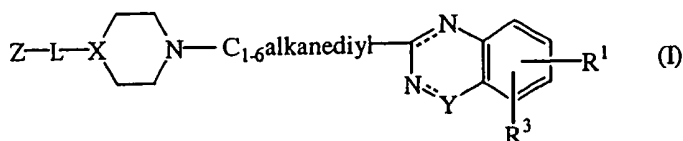
其中， R^1 ， R^3 ，L，X，Y 與 Z 具有被定義的含義。

10

六、英文發明摘要：

The present invention provides compounds of formula (I), their use as PARP inhibitors as well as pharmaceutical compositions comprising said compounds of formula (I)

15



Wherein R^1 , R^3 , L, X, Y and Z have defined meanings.

20

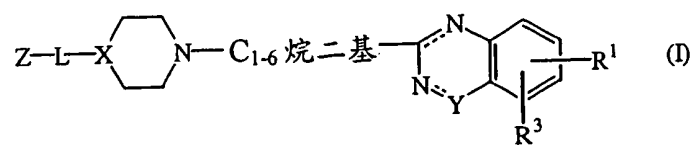
七、指定代表圖：

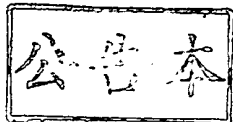
(一)本案指定代表圖為：第（ 無 ）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



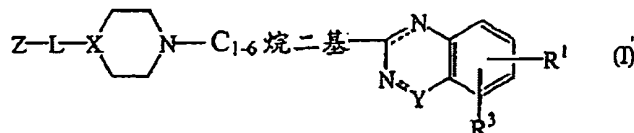


(100年6月10日修正本)

專利申請案第 94121746 號
ROC Patent Application No. 94121746
修正之申請專利範圍中文本 - 附件 (二)
Amended Claims in English-Encl. (II)
(民國 100 年 6 月 10 日送呈)
(Submitted on June 10, 2011)

十、申請專利範圍：

1. 一種具式(I)的化合物



其N-氧化物型式、藥學可接受的酸加成鹽類或立體化學異構物型式，其中

點線代表選擇的鍵；

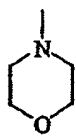
X為 $>\text{CH}-$ 或 $>\text{CR}^2-$ 其中 R^2 為胺基羰基；

$-\text{N}\cdots\cdots\text{Y}-$ 為 $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-$ 或 $-\text{N}=\text{CR}^4-$ ，其中 R^4 為羥基；

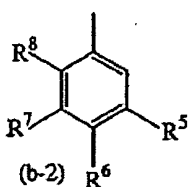
R^1 為氫，鹵基， C_{1-6} 烷氧基或 C_{1-6} 烷基；

R^3 為氫，或 C_{1-6} 烷氧基；

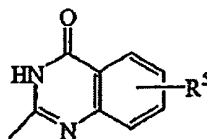
Z 為選自下列的基



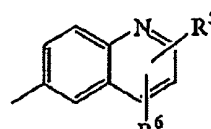
(b-1)



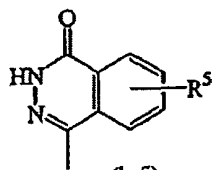
(b-2)



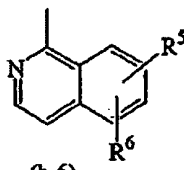
(b-3)



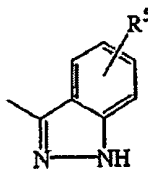
(b-4)



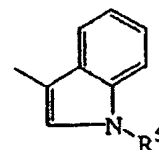
(b-5)



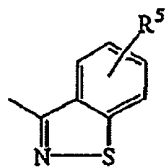
(b-6)



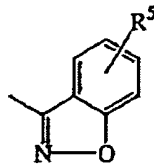
(b-7)



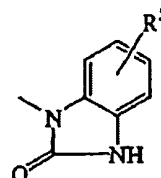
(b-8)



(b-9)



(b-10)



(b-11)

其中各 R^5 , R^6 , R^7 與 R^8 獨立地為選自氫, 鹵基, 胺基, C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基; 且

L 為選自下列之雙價基: $-C(O)-NH-$ 或 $-C(O)-C_{1-6}$ 烷二基-; 或

L 可以是直接鍵, 當X為 $>CR^2-$ 或當Z為式(b-11)之基時。

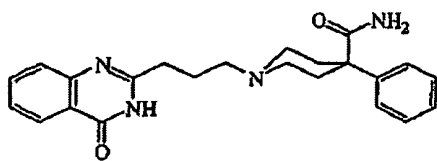
2. 根據申請專利範圍第1項的化合物, 其中

R^1 為氫; R^3 為氫; Z為式(b-1), (b-2)或(b-11)之基; 各個 R^5 , R^6 , R^7 與 R^8 為獨立地選自氫或鹵基。

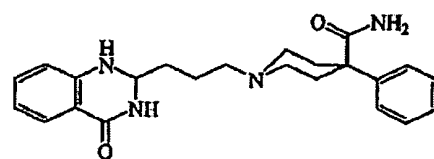
3. 根據申請專利範圍第1項的化合物, 其中

R^1 為氫; R^3 為氫; Z為式(b-1)或(b-2)之基; 各個 R^5 , R^6 , R^7 與 R^8 為獨立地選自氫或鹵基; L為 $-C(O)-NH-$; 或L可為直接鍵結, 係當X為 $>CR^2-$ 時。

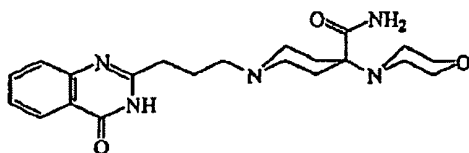
4. 根據申請專利範圍第1項的化合物, 其中化合物係選自化合物No.4、No.5、No.11與No.12



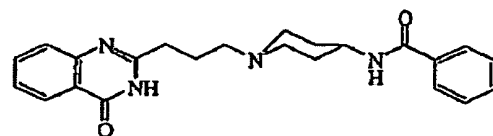
化合物 4



化合物 5



化合物 11



化合物 12

5. 根據申請專利範圍第1至4項中任一項的化合物，其作為醫藥。
6. 一種藥學組成物，其係包含藥學可接受的載劑與作為活性成分之具治療效果量的根據申請專利範圍第1至4項中的化合物。
7. 一種製備根據申請專利範圍第6項的藥學組成物的方法，其中藥學可接受的載劑與根據申請專利範圍第1至4項的化合物被密切地混合。
8. 一種根據申請專利範圍第1至4項中任一項的使用化合物用於製備一種供治療PARP媒介的疾病之醫藥品的用途。
9. 一種使用根據申請專利範圍第8項之化合物的用途，其用於製備供治療一種PARP-1媒介的疾病之醫藥品。
10. 根據申請專利範圍第8與第9項的用途，其中治療包含化學致敏性作用。
11. 根據申請專利範圍第8與第9項的用途，其中治療包含放射性致敏性作用。
12. 一種式(I)的化合物與化學療劑的組合物。
13. 一種根據申請專利範圍第8項之化合物的用途，其用於製備供治療癌症之醫藥品。