



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105473580 A

(43) 申请公布日 2016. 04. 06

(21) 申请号 201480046665. 4

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2014. 07. 09

C07D 409/14(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 31/4436(2006. 01)

61/844, 540 2013. 07. 10 US

A61P 35/00(2006. 01)

C07D 409/12(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016. 02. 23

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2014/062983 2014. 07. 09

(87) PCT国际申请的公布数据

W02015/004618 EN 2015. 01. 15

(71) 申请人 葛兰素史密斯克莱知识产权(第2号)有限公司

地址 英国米德尔塞克斯

(72) 发明人 J. L. 伯吉斯 S. D. 奈特

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 曹立莉 何伟

权利要求书8页 说明书41页

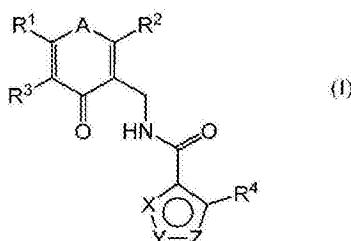
(54) 发明名称

Zeste 同源物增强子 2 抑制剂

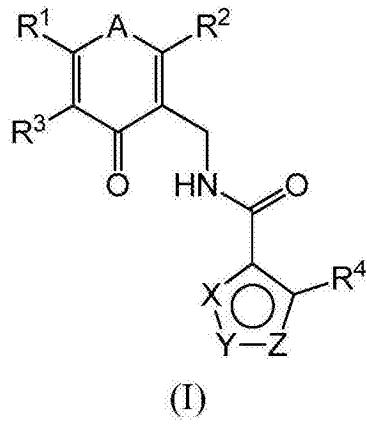
(57) 摘要

本发明涉及式(I)的新的化合物,其是 Zeste 同源物增强子 2(EZH2) 的抑制剂,涉及含有它们的药物组合物、它们的制备方法和它们在治疗癌

症的疗法中的用途。



1. 式(I)化合物,或其药学上可接受的盐,式(I)化合物为:



(I)

其中:

A 为O或NH;

X 为O、N、S、CR⁶或NR⁷;

Y 为O、N、S、CR⁶或NR⁷;

Z 为CR⁵或NR⁸;其中当 X 为O、S或NR⁷时, Y 为N或CR⁶和 Z 为CR⁵;当 Y 为O、S或NR⁷时, X 为N或CR⁶和 Z 为CR⁵;和当 Z 为NR⁸时, Y 为N或CR⁶和 X 为N或CR⁶;

R^1 、 R^2 和 R^3 各自独立地选自氢、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₈)烷基、(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-、卤代(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基、羟基(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、R^aO(O)CNH(C₁-C₄)烷基-、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基、杂芳基(C₁-C₄)烷基-、卤素、氟基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-C(O)NR^aNR^aR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-NR^aNR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)R^b、-NR^aNR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)OR^a、-OR^a、-OC(O)R^a和-OC(O)NR^aR^b,其中各(C₃-C₈)环烷基、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:羟基、卤素、硝基、(C₁-C₄)烷基、氟基、(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b或-CO₂R^a;

R^4 选自氢、(C₁-C₃)烷氧基、(C₁-C₃)烷基、羟基、卤素、氟基、(C₃-C₆)环烷基、杂环烷基、-NR^aR^b、卤代(C₁-C₃)烷基和羟基(C₁-C₃)烷基;

R^5 选自(C₄-C₈)烷基、(C₂-C₈)烯基、(C₃-C₈)烷氧基、(C₄-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₂)烷基-、(C₃-C₈)环烷基氧基-、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₂)烷基-、杂环烷基氧基-、芳基、杂芳基和-NR^aR^b,其中所述(C₄-C₈)烷基、(C₂-C₈)烯基、(C₃-C₈)烷氧基、(C₄-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₂)烷基-、(C₃-C₈)环烷基氧基-、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₂)烷基-、杂环烷基氧基-、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:卤素、-OR^a、-NR^aR^b、-NHC₂O₂R^a、硝基、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氟基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、杂环烷基、芳基或杂芳基,其中所述(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1或2次:卤素、(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基、-CO(C₁-C₄)烷基、-CO₂(C₁-C₄)烷基、-NR^aR^b、-NHC₂O₂R^a、羟基、氧代基团、(C₁-C₄)烷氧基或(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-;或在所述(C₂-C₈)烯基上任意2个任选取代基与它们所连接的碳原子一起表示5-8元环,其任选地含有选自以下的杂原子:氧、氮和硫,其中所述环任选独立地被以下基团取

代1或2次:(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基、-CO(C₁-C₄)烷基、-CO₂(C₁-C₄)烷基、-NR^aR^b、-NHC₂R^a、羟基、氧代基团、(C₁-C₄)烷氧基或(C₁-C₄)烷基-(C₁-C₄)烷基-;

R⁶选自氢、卤素、(C₁-C₈)烷基、(C₁-C₄)烷氧基、-B(OH)₂、(C₃-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基、杂芳基(C₁-C₄)烷基、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-C(O)NR^aNR^aR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-NR^aNR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)R^b、-NR^aNR^aC(O)OR^a、-OR^a、-OC(O)R^a和-OC(O)NR^aR^b,其中各环烷基、二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:R^c-(C₁-C₆)烷基-0-、R^c-(C₁-C₆)烷基-S-、R^c-(C₁-C₆)烷基-、(C₁-C₄)烷基-杂环烷基-、卤素、(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₈)环烷基、卤代(C₁-C₆)烷基、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-OR^a、-OC(O)R^a、-OC(O)NR^aR^b、杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基(C₁-C₄)烷基或杂芳基(C₁-C₄)烷基;

R⁷选自氢、(C₁-C₈)烷基、(C₃-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基、杂芳基(C₁-C₄)烷基-、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-C(O)NR^aNR^aR^b、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b和R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-,其中各环烷基、二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:R^c-(C₁-C₆)烷基-0-、R^c-(C₁-C₆)烷基-S-、R^c-(C₁-C₆)烷基-、(C₁-C₄)烷基-杂环烷基-、卤素、(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₈)环烷基、卤代(C₁-C₆)烷基、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-OR^a、-OC(O)R^a、-OC(O)NR^aR^b、杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基(C₁-C₄)烷基或杂芳基(C₁-C₄)烷基;

R⁸选自(C₄-C₈)烷基、(C₄-C₈)环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₂)烷基-、芳基和杂芳基,其中所述(C₄-C₈)烷基、(C₄-C₈)环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₂)烷基-、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:卤素、-OR^a、-NR^aR^b、-NHC₂R^a、硝基、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、芳基或杂芳基;

各R^c独立地为-S(O)R^a、-SO₂R^a、-NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b或-CO₂R^a;和

R^a和R^b各自独立地为氢、(C₁-C₄)烷基、(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-、(C₃-C₁₀)环烷基、杂环烷基、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基(C₁-C₄)烷基-或杂芳基,其中任意所述环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:卤素、羟基、(C₁-C₄)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基、-N((C₁-C₄)烷基)₂、(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基、-CO₂H、-CO₂(C₁-C₄)烷基、-CONH₂、-CONH(C₁-C₄)烷基、-CON((C₁-C₄)烷基)₂、-SO₂(C₁-C₄)烷基、-SO₂NH₂、-SO₂NH(C₁-C₄)烷基或-SO₂N((C₁-C₄)烷基)₂;

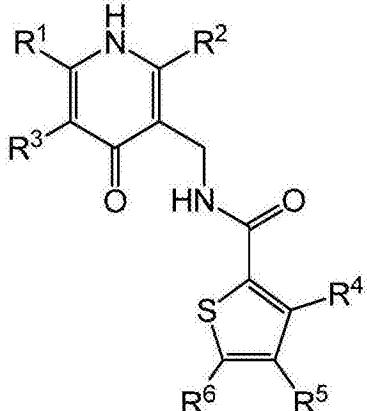
或R^a和R^b与它们所连接的氮一起表示5-8元饱和或不饱和环,其任选地含有另一选自氧、氮和硫的杂原子,其中所述环任选独立地被以下基团取代1、2或3次:(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基、-N((C₁-C₄)烷基)₂、羟基、氧代基团、(C₁-C₄)烷氧基或(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-,其中所述环任选地与(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合;

或R^a和R^b与它们所连接的氮一起表示6-至10-元桥连双环环系,其任选地与(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合。

2. 权利要求1的化合物,或其药学上可接受的盐,其中A为NH。

3. 权利要求1或权利要求2的化合物,或其药学上可接受的盐,其中X为O、S或NR⁷;Y为N或CR⁶;和Z为CR⁵。

4. 权利要求1的化合物,或其药学上可接受的盐,所述化合物由式(II)(a)表示:



(II)(a)

其中:

R¹、R²和R³各自独立地选自氢、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₈)烷基、(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-、卤代(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基、羟基(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、R^aO(O)CNH(C₁-C₄)烷基-、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基、杂芳基(C₁-C₄)烷基-、卤素、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-C(O)NR^aNR^aR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-NR^aNR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)R^b、-NR^aNR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)OR^a、-OR^a、-OC(O)R^a和-OC(O)NR^aR^b,其中各(C₃-C₈)环烷基、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:羟基、卤素、硝基、(C₁-C₄)烷基、氰基、(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b或-CO₂R^a;

R⁴选自氢、(C₁-C₃)烷氧基、(C₁-C₃)烷基、羟基、卤素、氰基、(C₃-C₆)环烷基、杂环烷基、-NR^aR^b、卤代(C₁-C₃)烷基和羟基(C₁-C₃)烷基;

R⁵选自(C₄-C₈)烷基、(C₃-C₈)烷氧基、(C₄-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基氧基-、杂环烷基、杂环烷基氧基-、芳基、杂芳基和-NR^aR^b,其中所述(C₄-C₈)烷基、(C₃-C₈)烷氧基、(C₄-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基氧基-、杂环烷基、杂环烷基氧基-、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:卤素、-OR^a、-NR^aR^b、-NHCO₂R^a、硝基、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、芳基或杂芳基;

R⁶选自氢、卤素、(C₁-C₈)烷基、(C₁-C₄)烷氧基、-B(OH)₂、(C₃-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基、杂芳基(C₁-C₄)烷基、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-C(O)NR^aNR^aR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-NR^aNR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)R^b、-NR^aNR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)OR^a

OR^a 、 $-OR^a$ 、 $-OC(O)R^a$ 和 $-OC(O)NR^aR^b$,其中各环烷基、二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次: $R^c-(C_1-C_6)$ 烷基- $O-$ 、 $R^c-(C_1-C_6)$ 烷基- $S-$ 、 $R^c-(C_1-C_6)$ 烷基-、 (C_1-C_4) 烷基-杂环烷基-、卤素、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_8) 环烷基、卤代(C_1-C_6)烷基、氰基、 $-C(O)R^a$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-C(O)NR^aR^b$ 、 $-SR^a$ 、 $-S(O)R^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^aR^b$ 、硝基、 $-NR^aR^b$ 、 $-NR^aC(O)R^b$ 、 $-NR^aC(O)NR^aR^b$ 、 $-NR^aC(O)OR^a$ 、 $-NR^aSO_2R^b$ 、 $-NR^aSO_2NR^aR^b$ 、 $-OR^a$ 、 $-OC(O)R^a$ 、 $-OC(O)NR^aR^b$ 、杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基(C_1-C_4)烷基或杂芳基(C_1-C_4)烷基;

各 R^c 独立地为 $-S(O)R^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-NR^aR^b$ 、 $-NR^aC(O)OR^a$ 、 $-NR^aSO_2R^b$ 或 $-CO_2R^a$;和

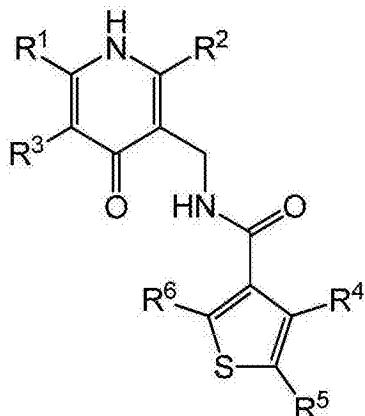
R^a 和 R^b 各自独立地为氢、 (C_1-C_4) 烷基、 (C_1-C_4) 烷氧基(C_1-C_4)烷基-、 (C_3-C_{10}) 环烷基、杂环烷基、芳基、芳基(C_1-C_4)烷基-、杂芳基(C_1-C_4)烷基-或杂芳基,其中任意所述环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:卤素、羟基、 (C_1-C_4) 烷氧基、氨基、 $-NH(C_1-C_4)$ 烷基、 $-N((C_1-C_4)$ 烷基)₂、 (C_1-C_4) 烷基、卤代(C_1-C_4)烷基、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2(C_1-C_4)$ 烷基、 $-CONH_2$ 、 $-CONH(C_1-C_4)$ 烷基、 $-CON((C_1-C_4)$ 烷基)₂、 $-SO_2(C_1-C_4)$ 烷基、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH(C_1-C_4)$ 烷基或 $-SO_2N((C_1-C_4)$ 烷基)₂;

或 R^a 和 R^b 与它们所连接的氮一起表示5-8元饱和或不饱和环,其任选地含有另一选自氧、氮和硫的杂原子,其中所述环任选独立地被以下基团取代1、2或3次: (C_1-C_4) 烷基、卤代(C_1-C_4)烷基、氨基、 $-NH(C_1-C_4)$ 烷基、 $-N((C_1-C_4)$ 烷基)₂、羟基、氧代基团、 (C_1-C_4) 烷氧基或 (C_1-C_4) 烷氧基(C_1-C_4)烷基-,其中所述环任选地与 (C_3-C_8) 环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合;

或 R^a 和 R^b 与它们所连接的氮一起表示6-至10-元桥连双环环系,其任选地与 (C_3-C_8) 环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合。

5. 权利要求1或权利要求2的化合物,或其药学上可接受的盐,其中Y为O、S或 NR^7 ;X为N或 CR^6 ;和Z为 CR^5 。

6. 权利要求1的化合物,或其药学上可接受的盐,所述化合物由式(III)(a)表示:



(III)(a)

其中:

R^1 、 R^2 和 R^3 各自独立地选自氢、 (C_1-C_4) 烷氧基、 (C_1-C_8) 烷基、 (C_1-C_4) 烷氧基(C_1-C_4)烷基-、卤代(C_1-C_4)烷基、 (C_3-C_8) 环烷基、羟基(C_1-C_4)烷基、 (C_3-C_8) 环烷基(C_1-C_4)烷基-、 $R^aO(C_1-C_4)NH$ 烷基-、 (C_6-C_{10}) 二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C_1-C_4)烷基-、芳基、芳基(C_1-C_4)烷基-、杂芳基、杂芳基(C_1-C_4)烷基-、卤素、氰基、 $-C(O)R^a$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-C(O)NR^aR^b$ 、 $-C(O)$

$\text{NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{S(O)R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、硝基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C(O)R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C(O)NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C(O)OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C(O)R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C(O)NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C(O)OR}^a$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-OC(\text{O})\text{R}^a$ 和 $-OC(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, 其中各(C_3 – C_8)环烷基、(C_6 – C_{10})二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次：羟基、卤素、硝基、(C_1 – C_4)烷基、氰基、(C_1 – C_4)烷氧基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 或 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ ；

R^4 选自氢、(C_1 – C_3)烷氧基、(C_1 – C_3)烷基、羟基、卤素、氰基、(C_3 – C_6)环烷基、杂环烷基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、卤代(C_1 – C_3)烷基和羟基(C_1 – C_3)烷基；

R^5 选自(C_4 – C_8)烷基、(C_3 – C_8)烷氧基、(C_4 – C_8)环烷基、(C_3 – C_8)环烷基氧基–、杂环烷基、杂环烷基氧基–、芳基、杂芳基和 $-\text{NR}^a\text{R}^b$, 其中所述(C_4 – C_8)烷基、(C_3 – C_8)烷氧基、(C_4 – C_8)环烷基、(C_3 – C_8)环烷基氧基–、杂环烷基、杂环烷基氧基–、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次：卤素、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NHCO}_2\text{R}^a$ 、硝基、(C_1 – C_3)烷基、 $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_3)\text{烷基}$ –、 $\text{R}^a\text{O}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_3)\text{烷基}$ –、(C_3 – C_8)环烷基、氰基、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{C(O)NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、芳基或杂芳基；

R^6 选自氢、卤素、(C_1 – C_8)烷基、(C_1 – C_4)烷氧基、 $-\text{B(OH)}_2$ 、(C_3 – C_8)环烷基、(C_3 – C_8)环烷基(C_1 – C_4)烷基–、(C_6 – C_{10})二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C_1 – C_4)烷基–、芳基、芳基(C_1 – C_4)烷基–、杂芳基、杂芳基(C_1 – C_4)烷基、氰基、 $-\text{C(O)R}^a$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{C(O)NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{C(O)NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{S(O)R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、硝基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{R}^a\text{R}^b\text{N}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基}$ –、 $-\text{NR}^a\text{C(O)R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C(O)NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C(O)OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C(O)R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C(O)NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-OC(\text{O})\text{R}^a$ 和 $-OC(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, 其中各环烷基、二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次： R^c –(C_1 – C_6)烷基– $0-$ 、 R^c –(C_1 – C_6)烷基– $S-$ 、 R^c –(C_1 – C_6)烷基–、(C_1 – C_4)烷基–杂环烷基–、卤素、(C_1 – C_6)烷基、(C_3 – C_8)环烷基、卤代(C_1 – C_6)烷基、氰基、 $-\text{C(O)R}^a$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{C(O)NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{S(O)R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、硝基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C(O)R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C(O)NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C(O)OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-OC(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-OC(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基(C_1 – C_4)烷基或杂芳基(C_1 – C_4)烷基；

各 R^c 独立地为 $-\text{S(O)R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C(O)OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 或 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ ；和

R^a 和 R^b 各自独立地为氢、(C_1 – C_4)烷基、(C_1 – C_4)烷氧基(C_1 – C_4)烷基–、(C_3 – C_{10})环烷基、杂环烷基、芳基、芳基(C_1 – C_4)烷基–、杂芳基(C_1 – C_4)烷基–或杂芳基, 其中任意所述环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次：卤素、羟基、(C_1 – C_4)烷氧基、氨基、 $-\text{NH}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基}$ –、 $-\text{N}((\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基})_2$ 、(C_1 – C_4)烷基、卤代(C_1 – C_4)烷基、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CONH}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基}$ –、 $-\text{CON}((\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基})_2$ 、 $-\text{SO}_2(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基}$ –、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基}$ 或 $-\text{SO}_2\text{N}((\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基})_2$ ；

或 R^a 和 R^b 与它们所连接的氮一起表示5–8元饱和或不饱和环, 其任选地含有另一选自氧、氮和硫的杂原子, 其中所述环任选独立地被以下基团取代1、2或3次：(C_1 – C_4)烷基、卤代(C_1 – C_4)烷基、氨基、 $-\text{NH}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基}$ –、 $-\text{N}((\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基})_2$ 、羟基、氧代基团、(C_1 – C_4)烷氧基或(C_1 – C_4)烷氧基(C_1 – C_4)烷基–, 其中所述环任选地与(C_3 – C_8)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合；

或 R^a 和 R^b 与它们所连接的氮一起表示6–至10–元桥连双环环系, 其任选地与(C_3 – C_8)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合。

7. 权利要求1或权利要求2的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其中 Z 为 NR^8 ; Y 为 N 或 CR^6 ; 和 X 为 N 或 CR^6 。

8. 权利要求1-7中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R¹、R²和R³各自独立地选自氢、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₄)烷基、(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-、卤代(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基、羟基(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、(C₁-C₄)烷基O(O)CNH(C₁-C₄)烷基-、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基、-N((C₁-C₄)烷基)₂、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基和杂芳基(C₁-C₄)烷基-,其中各(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1或2次:羟基、卤素、硝基、(C₁-C₄)烷基、氰基、(C₁-C₄)烷氧基、-NH(C₁-C₄)烷基、-N((C₁-C₄)烷基)₂或-CO₂(C₁-C₄)烷基。

9. 权利要求8的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R¹、R²和R³各自独立地选自氢、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₄)烷基、(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-、卤代(C₁-C₄)烷基、羟基(C₁-C₄)烷基、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基和-N((C₁-C₄)烷基)₂。

10. 权利要求1-9中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R¹和R²各自独立地为(C₁-C₄)烷基。

11. 权利要求10的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R¹和R²各为甲基。

12. 权利要求1-11中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R³为氢。

13. 权利要求1-12中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁴选自氢、(C₁-C₃)烷基、羟基、卤素、卤素(C₁-C₃)烷基和羟基(C₁-C₃)烷基。

14. 权利要求13的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁴选自(C₁-C₃)烷基和卤素。

15. 权利要求14的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁴为甲基或氯。

16. 权利要求14的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁴为甲基。

17. 权利要求1-6或8-16中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁵选自(C₃-C₆)烷氧基、(C₃-C₆)环烷基氧基-、杂环烷基氧基-、杂环烷基、-NH((C₃-C₆)环烷基)、-N((C₁-C₃)烷基)((C₃-C₆)环烷基)、-NH(杂环烷基)和-N((C₁-C₃)烷基)(杂环烷基),其中任意所述(C₃-C₆)烷氧基、(C₃-C₆)环烷基氧基-、杂环烷基氧基-、杂环烷基或(C₃-C₆)环烷基任选独立地被以下基团取代1或2次:卤素、羟基、(C₁-C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₃)烷基、-N((C₁-C₃)烷基)₂、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基(C₁-C₃)烷基-、氨基(C₁-C₃)烷基-、((C₁-C₃)烷基)NH(C₁-C₃)烷基-、((C₁-C₃)烷基)₂N(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基或杂芳基。

18. 权利要求17的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁵选自(C₃-C₆)烷氧基、(C₃-C₈)环烷基氧基-和杂环烷基氧基-,其各自任选地被以下取代:羟基、(C₁-C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₃)烷基、-N((C₁-C₃)烷基)₂、(C₁-C₃)烷基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基、噻二唑基、吡啶基、哒嗪基、吡嗪基或嘧啶基,其中R^a为(C₁-C₄)烷基或苯基(C₁-C₂)烷基和R^b为氢或(C₁-C₄)烷基。

19. 权利要求17的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁵选自环戊基氧基、环己基氧基、吡咯烷基氧基、哌啶基氧基和四氢吡喃基氧基,其各自任选地被以下取代:羟基、(C₁-C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₃)烷基、-N((C₁-C₃)烷基)₂、(C₁-C₃)烷基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基、噻二唑基、吡啶基、哒嗪基、吡嗪基或嘧啶基,其中R^a为(C₁-C₄)烷基或苯基(C₁-C₂)烷基和R^b为氢或(C₁-C₄)烷基。

20. 权利要求1-6或8-16中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁵为-NR^aR^b。

21. 权利要求20的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R^a为氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫吗啉基或四氢吡喃基,其各自任选独立地被(C₁-

C₄)烷基取代1或2次,和R^b为氢或(C₁-C₄)烷基。

22. 权利要求20的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R^a为环戊基或环己基,其各自任选地被以下取代:氨基、-NH(C₁-C₄)烷基或-N((C₁-C₄)烷基)₂和R^b为氢或(C₁-C₄)烷基。

23. 权利要求1-22中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁶选自氢、-SO₂(C₁-C₄)烷基、卤素、(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₄)烷氧基、苯基、杂芳基和氰基,其中所述苯基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1或2次:(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b、R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-、(C₁-C₄)烷基杂环烷基-、卤素、(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基或杂环烷基。

24. 权利要求23的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁶为氢、卤素、(C₁-C₄)烷基或(C₁-C₄)烷氧基。

25. 权利要求23的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁶为氢、氟、氯或溴。

26. 权利要求1-3、5或8-25中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁷选自氢、(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₆)环烷基、苯基和杂芳基,其中所述苯基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1或2次:(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b、R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-、(C₁-C₄)烷基杂环烷基-、卤素、(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基或杂环烷基。

27. 权利要求26的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁷为氢或(C₁-C₄)烷基。

28. 权利要求1、2或7-25中任一项的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R⁸选自(C₄-C₆)烷基、(C₄-C₆)环烷基、杂环烷基和苯基,其中所述(C₄-C₆)烷基、(C₄-C₆)环烷基、杂环烷基或苯基任选独立地被以下基团取代1或2次:-OR^a、-NR^aR^b、-NHC₂O₂R^a、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO(C₁-C₃)烷基-、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b或-SO₂NR^aR^b。

29. 权利要求1的化合物,其为:

N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺;

N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺;

N-((5-氨基-2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺;或

2-溴-N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺;

或其药学上可接受的盐。

30. 药物组合物,其包含权利要求1-29中任一项的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的赋形剂。

31. 一种治疗癌症的方法,其包括向患有癌症的患者给药治疗有效量的权利要求1-29中任一项的化合物或其药学上可接受的盐或权利要求30的药物组合物。

32. 权利要求31的方法,其中所述癌症选自:脑癌(神经胶质瘤)、胶质母细胞瘤、白血病、淋巴瘤、Bannayan-Zonana综合征、考登病、莱尔米特-杜克洛病、乳腺癌、炎性乳腺癌、威尔姆氏肿瘤、尤因肉瘤、横纹肌肉瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、结肠癌、胃癌、膀胱癌、头颈癌、肾癌、肺癌、肝癌、黑素瘤、肾脏癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肉瘤、骨肉瘤、骨巨细胞瘤和甲状腺癌。

33. 权利要求1-29中任一项的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗由EZH2介

导的障碍的药物中的用途。

Zeste同源物增强子2抑制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及化合物,其抑制Zeste同源物增强子2(Enhancer of Zeste Homolog 2,EZH2),并因此用于在癌细胞中抑制增殖和/或诱导细胞凋亡。

背景技术

[0002] 表观遗传修饰(Epigenetic modification)在许多细胞过程(包括细胞增殖、分化和细胞存活)的调节中起着重要作用。总体表观遗传修饰在癌症中是常见的,且包括DNA和/或组蛋白甲基化的总体变化、非编码RNA的失调以及导致致癌基因、肿瘤抑制基因和信号通路的异常活化或失活的核小体重构。但是,不像癌症中出现的基因突变,这些表观遗传变化可通过选择性抑制所参与的酶而被逆转。已知参与组蛋白或DNA甲基化的多个甲基酶在癌症中失调。因此,特定甲基酶的选择性抑制剂将用于治疗增殖性疾病,例如癌症。

[0003] EZH2(人EZH2基因:Cardoso,C,等人;European J of Human Genetics,第8卷, No.3第174-180页,2000)为多梳抑制复合物2(Polycomb Repressor Complex 2)(PRC2)的催化亚单位,其功能是通过将组蛋白H3的赖氨酸27三甲基化(H3K27me3)来压制靶基因。组蛋白H3是参与真核细胞染色质结构的五种主要组蛋白之一。以主要球状结构域和长的N末端尾为特征的组蛋白涉及核小体结构,即'串珠'结构。虽然组蛋白被高度地翻译后修饰,但组蛋白H3是五种组蛋白中受到最广泛修饰的。单独的术语“组蛋白H3”是有意模糊的,因为它没有区分序列变体或修饰状态。组蛋白H3是表观遗传学(epigenetics)新领域中的重要蛋白,其中其序列变体和可变的修饰状态被认为在基因的动力学和长期调节中发挥着作用。

[0004] 已经在许多实体瘤(包括前列腺癌、乳腺癌、皮肤癌、膀胱癌、肝癌、胰腺癌、头颈癌)中观测到了增加的EZH2表达并且所述增加的EZH2表达与癌症恶化、转移和不良预后有关(Varambally等人,2002;Kleer等人,2003;Breuer等人,2004;Bachmann等人,2005;Weikert等人,2005;Sudo等人,2005;Bachmann等人,2006)。例如,在具有高EZH2水平的乳腺癌患者中,存在在前列腺切除术后在表达高水平EZH2的肿瘤中更高的复发风险、增加的转移、较短的无疾病生存期和增加的死亡(Varambally等人,2002;Kleer等人,2003)。最近,在UTX(泛转录三角四肽重复X)(即H3K27去甲基酶,其与EZH2的功能相反)中的失活突变已经在多个实体瘤和血液肿瘤类型中得以证实(包括肾肿瘤、成胶质细胞瘤、食管肿瘤、乳腺肿瘤、结肠肿瘤、非小细胞肺肿瘤、小细胞肺肿瘤、膀胱肿瘤、多发性骨髓瘤和慢性髓样白血病),且低UTX水平与乳腺癌中低存活有关,意味着UTX功能的丧失导致增加的H3K27me3和靶基因的抑制(Wang等人,2010)。总而言之,这些数据表明,在许多肿瘤类型中,增加的H3K27me3水平导致癌症的恶化,并且对EZH2活性的抑制可提供治疗益处。

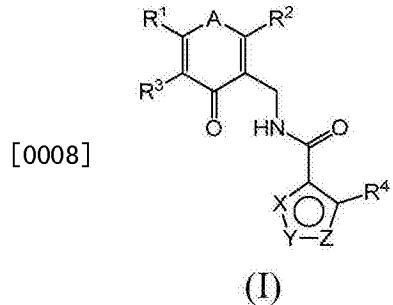
[0005] 许多研究报道,通过siRNA或shRNA直接敲除EZH2或通过SAH水解酶抑制剂3-去氮腺嘌呤A(deazaneplanocin A,DZNep)的治疗间接消耗EZH2均降低癌细胞系在体外的增殖与侵入并降低体内肿瘤生长(Gonzalez等人,2008,GBM 2009)。虽然不知道异常EZH2活性导致癌症进展的确切机理,但是许多EZH2靶基因是肿瘤抑制剂,意味着肿瘤抑制剂功能的丧

失是关键机理。此外，EZH2在永生化或原代上皮细胞中的过表达促进非停泊性生长和侵入且需要EZH2催化活性(Kleer等人,2003;Cao等人,2008)。

[0006] 因此,有力的证据显示,EZH2活性的抑制降低了细胞增殖和侵入。因此,抑制EZH2活性的化合物将可用于治疗癌症。

发明内容

[0007] 本发明涉及式(I)化合物:



[0009] 其中:

[0010] A为0或NH;

[0011] X为0、N、S、CR⁶或NR⁷;

[0012] Y为0、N、S、CR⁶或NR⁷;

[0013] Z为CR⁵或NR⁸;其中当X为0、S或NR⁷时,Y为N或CR⁶且Z为CR⁵;当Y为0、S或NR⁷时,X为N或CR⁶且Z为CR⁵;且当Z为NR⁸时,Y为N或CR⁶且X为N或CR⁶;

[0014] R¹、R²和R³各自独立地选自氢、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₈)烷基、(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-、卤代(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基、羟基(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、R^aO(O)CNH(C₁-C₄)烷基-、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基、杂芳基(C₁-C₄)烷基-、卤素、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-C(O)NR^aNR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-NR^aNR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)R^b、-NR^aNR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)OR^a、-OR^a、-OC(O)R^a和-OC(O)NR^aR^b,其中各(C₃-C₈)环烷基、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:羟基、卤素、硝基、(C₁-C₄)烷基、氰基、(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b或-CO₂R^a;

[0015] R⁴选自氢、(C₁-C₃)烷氧基、(C₁-C₃)烷基、羟基、卤素、氰基、(C₃-C₆)环烷基、杂环烷基、-NR^aR^b、卤代(C₁-C₃)烷基和羟基(C₁-C₃)烷基;

[0016] R⁵选自(C₄-C₈)烷基、(C₂-C₈)烯基、(C₃-C₈)烷氧基、(C₄-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₂)烷基-、(C₃-C₈)环烷基氧基-、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₂)烷基-、杂环烷基氧基-、芳基、杂芳基和-NR^aR^b,其中所述(C₄-C₈)烷基、(C₂-C₈)烯基、(C₃-C₈)烷氧基、(C₄-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₂)烷基-、(C₃-C₈)环烷基氧基-、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₂)烷基-、杂环烷基氧基-、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:卤素、-OR^a、-NR^aR^b、-NHCO₂R^a、硝基、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、杂环烷基、芳基或杂芳基,其中所述(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1或2次:卤素、(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基、-

$\text{CO}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{CO}_2(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NHC}_2\text{R}^a$ 、羟基、氧代基团、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷氧基或 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷氧基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-；或在所述 $(\text{C}_2\text{--}\text{C}_8)$ 烯基上任意两个任选取代基与它们所连接的碳原子一起表示5-8元环，其任选地含有选自以下的杂原子：氧、氮和硫，其中所述环任选独立地被以下基团取代1或2次： $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、卤代 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{CO}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{CO}_2(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NHC}_2\text{R}^a$ 、羟基、氧代基团、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷氧基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-；

[0017] R^6 选自氢、卤素、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_8)$ 烷基、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷氧基、 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 、 $(\text{C}_3\text{--}\text{C}_8)$ 环烷基、 $(\text{C}_3\text{--}\text{C}_8)$ 环烷基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-、 $(\text{C}_6\text{--}\text{C}_{10})$ 二环烷基、杂环烷基、杂环烷基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-、芳基、芳基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-、杂芳基、杂芳基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、氰基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、硝基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$ 和 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ ，其中各环烷基、二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次： $\text{R}^c-(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基- $0-$ 、 $\text{R}^c-(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基- $\text{S}-$ 、 $\text{R}^c-(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基-、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-杂环烷基-、卤素、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_3\text{--}\text{C}_8)$ 环烷基、卤代 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基、氰基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、硝基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基或杂芳基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基；

[0018] R^7 选自氢、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_8)$ 烷基、 $(\text{C}_3\text{--}\text{C}_8)$ 环烷基、 $(\text{C}_3\text{--}\text{C}_8)$ 环烷基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-、 $(\text{C}_6\text{--}\text{C}_{10})$ 二环烷基、杂环烷基、杂环烷基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-、芳基、芳基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-、杂芳基、杂芳基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 和 $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-，其中各环烷基、二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次： $\text{R}^c-(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基- $0-$ 、 $\text{R}^c-(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基- $\text{S}-$ 、 $\text{R}^c-(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基-、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-杂环烷基-、卤素、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_3\text{--}\text{C}_8)$ 环烷基、卤代 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ 烷基、氰基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、硝基、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基或杂芳基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基；

[0019] R^8 选自 $(\text{C}_4\text{--}\text{C}_8)$ 烷基、 $(\text{C}_4\text{--}\text{C}_8)$ 环烷基、杂环烷基、杂环烷基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)$ 烷基-、芳基和杂芳基，其中所述 $(\text{C}_4\text{--}\text{C}_8)$ 烷基、 $(\text{C}_4\text{--}\text{C}_8)$ 环烷基、杂环烷基、杂环烷基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)$ 烷基-、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次：卤素、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NHC}_2\text{R}^a$ 、硝基、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_3)$ 烷基、 $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_3)$ 烷基-、 $\text{R}^a\text{O}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_3)$ 烷基-、 $(\text{C}_3\text{--}\text{C}_8)$ 环烷基、氰基、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、芳基或杂芳基；

[0020] 各 R^c 独立地为 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NHC}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 或 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ ；和

[0021] R^a 和 R^b 各自独立地为氢、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷氧基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-、 $(\text{C}_3\text{--}\text{C}_{10})$ 环烷基、杂环烷基、芳基、芳基 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基-、杂芳基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次：卤素、羟基、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷氧基、氨基、 $-\text{NH}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{N}((\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基})_2$ 、 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、卤代 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2$ $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CONH}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{CON}((\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基})_2$ 、 $-\text{SO}_2(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基或 $-\text{SO}_2\text{N}((\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)\text{烷基})_2$ ；

[0022] 或 R^a 和 R^b 与它们所连接的氮一起表示5-8元饱和或不饱和环，其任选地含有另一选自氧、氮和硫的杂原子，其中所述环任选独立地被以下基团取代1、2或3次： $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基、卤

代(C₁-C₄)烷基、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基、-N((C₁-C₄)烷基)₂、羟基、氧代基团、(C₁-C₄)烷氧基或(C₁-C₄)烷基(C₁-C₄)烷基-,其中所述环任选地与(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合;

[0023] 或R^a和R^b与它们所连接的氮一起表示6-至10-元桥连双环环系,其任选地与(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合;

[0024] 或其药学上可接受的盐。

[0025] 本发明的另一方面涉及在实体瘤的癌细胞中诱导细胞凋亡的方法;治疗实体瘤癌症的方法。

[0026] 本发明的另一方面涉及药物制剂,其包含式(I)化合物和药学上可接受的赋形剂。

[0027] 在另一方面,提供了式(I)化合物和/或其药学上可接受的盐或溶剂合物在制备用于治疗由EZH2介导的疾病的药物中的用途,例如通过在癌细胞中诱导细胞凋亡。

[0028] 在另一方面,本发明提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐在治疗由EZH2介导的疾病中的用途。本发明还提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐作为活性治疗物质在治疗由EZH2介导的疾病中的用途。

[0029] 在另一方面,本发明提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗。

[0030] 在另一方面,提供了将本发明的式(I)化合物与其他活性成分共同给药的方法。

[0031] 发明详述

[0032] 本发明涉及上文定义的式(I)化合物。

[0033] 在一个实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中:

[0034] A为O或NH;

[0035] X为O、N、S、CR⁶或NR⁷;

[0036] Y为O、N、S、CR⁶或NR⁷;

[0037] Z为CR⁵或NR⁸;其中当X为O、S或NR⁷时,Y为N或CR⁶且Z为CR⁵;当Y为O、S或NR⁷时,X为N或CR⁶且Z为CR⁵;且当Z为NR⁸时,Y为N或CR⁶且X为N或CR⁶;

[0038] R¹、R²和R³各自独立地选自氢、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₈)烷基、(C₁-C₄)烷基(C₁-C₄)烷基-、卤代(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基、羟基(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、R^aO(0)CNH(C₁-C₄)烷基-、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基、杂芳基(C₁-C₄)烷基-、卤素、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-C(O)NR^aNR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-NR^aNR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)R^b、-NR^aNR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)OR^a、-OR^a、-OC(O)R^a和-OC(O)NR^aR^b,其中各(C₃-C₈)环烷基、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:羟基、卤素、硝基、(C₁-C₄)烷基、氰基、(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b或-CO₂R^a;

[0039] R⁴选自氢、(C₁-C₃)烷氧基、(C₁-C₃)烷基、羟基、卤素、氰基、(C₃-C₆)环烷基、杂环烷基、-NR^aR^b、卤代(C₁-C₃)烷基和羟基(C₁-C₃)烷基;

[0040] R⁵选自(C₄-C₈)烷基、(C₃-C₈)烷氧基、(C₄-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基氧基-、杂环烷基、杂环烷基氧基-、芳基、杂芳基和-NR^aR^b,其中所述(C₄-C₈)烷基、(C₃-C₈)烷氧基、(C₄-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基氧基-、杂环烷基、杂环烷基氧基-、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次:卤素、-OR^a、-NR^aR^b、-NHC₂O₂R^a、硝基、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO

(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、芳基或杂芳基；

[0041] R⁶选自氢、卤素、(C₁-C₈)烷基、(C₁-C₄)烷氧基、-B(OH)₂、(C₃-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基、杂芳基(C₁-C₄)烷基、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-C(O)NR^aNR^aR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-NR^aNR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)R^b、-NR^aNR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aNR^aC(O)OR^a、-OR^a、-OC(O)R^a和-OC(O)NR^aR^b，其中各环烷基、二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次：R^c-(C₁-C₆)烷基-0-、R^c-(C₁-C₆)烷基-S-、R^c-(C₁-C₆)烷基-、(C₁-C₄)烷基-杂环烷基-、卤素、(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₈)环烷基、卤代(C₁-C₆)烷基、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、-NR^aC(O)R^b、-NR^aNR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-OR^a、-OC(O)R^a、-OC(O)NR^aR^b、杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基(C₁-C₄)烷基或杂芳基(C₁-C₄)烷基；

[0042] R⁷选自氢、(C₁-C₈)烷基、(C₃-C₈)环烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、(C₆-C₁₀)二环烷基、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基、杂芳基(C₁-C₄)烷基-、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-C(O)NR^aNR^aR^b、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b和R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-，其中各环烷基、二环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次：R^c-(C₁-C₆)烷基-0-、R^c-(C₁-C₆)烷基-S-、R^c-(C₁-C₆)烷基-、(C₁-C₄)烷基-杂环烷基-、卤素、(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₈)环烷基、卤代(C₁-C₆)烷基、氰基、-C(O)R^a、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SR^a、-S(O)R^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、硝基、-NR^aR^b、-NR^aC(O)R^b、-NR^aC(O)NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b、-NR^aSO₂NR^aR^b、-OR^a、-OC(O)R^a、-OC(O)NR^aR^b、杂环烷基、芳基、杂芳基、芳基(C₁-C₄)烷基或杂芳基(C₁-C₄)烷基；

[0043] R⁸选自(C₄-C₈)烷基、(C₄-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基，其中所述(C₄-C₈)烷基、(C₄-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次：卤素、-OR^a、-NR^aR^b、-NHC₂O₂R^a、硝基、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、芳基或杂芳基；

[0044] 各R^c独立地为-S(O)R^a、-SO₂R^a、-NR^aR^b、-NR^aC(O)OR^a、-NR^aSO₂R^b或-CO₂R^a；和

[0045] R^a和R^b各自独立地为氢、(C₁-C₄)烷基、(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-、(C₃-C₁₀)环烷基、杂环烷基、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基(C₁-C₄)烷基-或杂芳基，其中任意所述环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1、2或3次：卤素、羟基、(C₁-C₄)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基、-N((C₁-C₄)烷基)₂、(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基、-CO₂H、-CO₂(C₁-C₄)烷基、-CONH₂、-CONH(C₁-C₄)烷基、-CON((C₁-C₄)烷基)₂、-SO₂(C₁-C₄)烷基、-SO₂NH₂、-SO₂NH(C₁-C₄)烷基或-SO₂N((C₁-C₄)烷基)₂；

[0046] 或R^a和R^b与它们所连接的氮一起表示5-8元饱和或不饱和环，其任选地含有另一选自氧、氮和硫的杂原子，其中所述环任选独立地被以下基团取代1、2或3次：(C₁-C₄)烷基、卤代(C₁-C₄)烷基、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基、-N((C₁-C₄)烷基)₂、羟基、氧代基团、(C₁-C₄)烷氧基或(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-，其中所述环任选地与(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合；

[0047] 或R^a和R^b与它们所连接的氮一起表示6-至10-元桥连双环环系，其任选地与(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基环稠合；

[0048] 或其药学上可接受的盐。

[0049] 在一个实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中A是NH。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中A是O。

[0050] 在一个实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中X是O、S或NR⁷;Y为N或CR⁶;和Z为CR⁵。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中X为O或S;Y为N或CR⁶;和Z为CR⁵。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中X为O或S;Y为CR⁶;和Z为CR⁵。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中X为S;Y为N;和Z为CR⁵。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中Y为O、S或NR⁷;X为N或CR⁶;和Z为CR⁵。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中Y为O或S;X为N或CR⁶;和Z为CR⁵。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中Y为O或S;X为CR⁶;和Z为CR⁵。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中Y为S;X为CR⁶;和Z为CR⁵。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中Z为NR⁸;Y为N或CR⁶;和X为N或CR⁶。

[0051] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R¹、R²和R³各自独立地选自氢、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₄)烷基、(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-、卤代(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基、羟基(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基(C₁-C₄)烷基-、(C₁-C₄)烷基O(O)CNH(C₁-C₄)烷基-、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基、-N((C₁-C₄)烷基)₂、杂环烷基、杂环烷基(C₁-C₄)烷基-、芳基、芳基(C₁-C₄)烷基-、杂芳基和杂芳基(C₁-C₄)烷基-,其中各(C₃-C₈)环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1或2次:羟基、卤素、硝基、(C₁-C₄)烷基、氰基、(C₁-C₄)烷氧基、-NH(C₁-C₄)烷基、-N((C₁-C₄)烷基)₂或-CO₂(C₁-C₄)烷基。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R¹、R²和R³各自独立地选自氢、(C₁-C₄)烷氧基、(C₁-C₄)烷基、(C₁-C₄)烷氧基(C₁-C₄)烷基-、卤代(C₁-C₄)烷基、羟基(C₁-C₄)烷基、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基和-N((C₁-C₄)烷基)₂。

[0052] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R¹和R²各自独立地为(C₁-C₄)烷基。

[0053] 在具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R¹为甲基。

[0054] 在另一具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R²为甲基。

[0055] 在另一具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R¹和R²各为甲基。

[0056] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R³为氢、氨基、-NH(C₁-C₄)烷基或-N((C₁-C₄)烷基)₂。在具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R³为氨基。在另一具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R³为氢。

[0057] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁴选自氢、(C₁-C₃)烷基、羟基、卤素、卤素(C₁-C₃)烷基和羟基(C₁-C₃)烷基。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁴为(C₁-C₃)烷基或卤素。在具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁴为甲基或氯。在另一具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁴为甲基。

[0058] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵选自(C₃-C₆)烷氧基、(C₃-C₆)环烷基氧基-、杂环烷基氧基-、杂环烷基、-NH((C₃-C₆)环烷基)、-N((C₁-C₃)烷基)((C₃-C₆)环烷基)、-NH(杂环烷基)和-N((C₁-C₃)烷基)(杂环烷基),其中任意所述(C₃-C₆)烷氧基、(C₃-C₆)环烷基氧基-、杂环烷基氧基-、杂环烷基或(C₃-C₆)环烷基任选独立地被以下基团取代1或2次:卤素、羟基、(C₁-C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₃)烷基、-N((C₁-C₃)烷基)₂、(C₁-C₃)烷基、

(C₁-C₃)烷氧基(C₁-C₃)烷基-、氨基(C₁-C₃)烷基-、((C₁-C₃)烷基)NH(C₁-C₃)烷基-、((C₁-C₃)烷基)₂N(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基或杂芳基。

[0059] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵选自(C₃-C₆)烷氧基、(C₃-C₈)环烷基氧基-和杂环烷基氧基-,其各自任选地被以下取代:羟基、(C₁-C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₃)烷基、-N((C₁-C₃)烷基)₂、(C₁-C₃)烷基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基或杂芳基。

[0060] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵为(C₃-C₆)环烷基氧基-,其任选独立地被以下基团取代1、2或3次:卤素、-OR^a、-NR^aR^b、硝基、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、芳基或杂芳基。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵为(C₃-C₆)环烷基氧基-,其任选独立地被以下基团取代1或2次:卤素、羟基、(C₁-C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₃)烷基、-N((C₁-C₃)烷基)₂、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基(C₁-C₃)烷基-、氨基(C₁-C₃)烷基-、((C₁-C₃)烷基)NH(C₁-C₃)烷基-、((C₁-C₃)烷基)₂N(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基或杂芳基。

[0061] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵为杂环烷基氧基-,其任选独立地被以下基团取代1、2或3次:卤素、-OR^a、-NR^aR^b、硝基、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、芳基或杂芳基。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵为杂环烷基氧基-,其任选独立地被以下基团取代1或2次:卤素、羟基、(C₁-C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₃)烷基、-N((C₁-C₃)烷基)₂、(C₁-C₃)烷基、(C₁-C₃)烷氧基(C₁-C₃)烷基-、氨基(C₁-C₃)烷基-、((C₁-C₃)烷基)NH(C₁-C₃)烷基-、((C₁-C₃)烷基)₂N(C₁-C₃)烷基-、(C₃-C₈)环烷基、氰基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基或杂芳基。

[0062] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵选自环戊基氧基、环己基氧基、吡咯烷基氧基、哌啶基氧基和四氢吡喃基氧基,其各自任选地被以下取代:羟基、(C₁-C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁-C₃)烷基、-N((C₁-C₃)烷基)₂、(C₁-C₃)烷基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基、噻二唑基、吡啶基、哒嗪基、吡嗪基或嘧啶基,其中R^a为(C₁-C₄)烷基或苯基(C₁-C₂)烷基且R^b为氢或(C₁-C₄)烷基。

[0063] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵为-NR^aR^b。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵为-NR^aR^b;R^a为氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫吗啉基或四氢吡喃基,其各自任选独立地被(C₁-C₄)烷基取代1或2次;且R^b为氢或(C₁-C₄)烷基。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵为-NR^aR^b;R^a为氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫吗啉基或四氢吡喃基;且R^b为甲基或乙基。

[0064] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵为-NR^aR^b;R^a为环戊基或环己基,其各自任选地被以下取代:氨基、-NH(C₁-C₄)烷基或-N((C₁-C₄)烷基)₂;和R^b为氢或(C₁-C₄)烷基。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁵为-NR^aR^b;R^a为环戊基或环己基,其各自任选地被以下取代:-N((C₁-C₂)烷基)₂;和R^b为甲基或乙基。

[0065] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶选自氢、-SO₂(C₁-C₄)烷基、卤素、(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₄)烷氧基、苯基、杂芳基和氰基,其中所述苯基或杂芳基任选独立地

被以下基团取代1或2次:(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b、R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-、(C₁-C₄)烷基杂环烷基-、卤素、(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基或杂环烷基。

[0066] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶选自氢、氰基、卤素、(C₁-C₄)烷氧基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻二唑基、异噻唑基、苯基、吡啶基、哒嗪基、吡嗪基、嘧啶基和三嗪基,其中所述呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻二唑基、异噻唑基、苯基、吡啶基、哒嗪基、吡嗪基、嘧啶基或三嗪基任选地被(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b、R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-、(C₁-C₄)烷基杂环烷基-、卤素、(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基或杂环烷基取代。

[0067] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶为苯基,其任选被-NR^aR^b或R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-取代。

[0068] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶为吡啶基,其任选被-NR^aR^b或R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-取代。

[0069] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶为氢、卤素、(C₁-C₄)烷基或(C₁-C₄)烷氧基。在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶为氢或卤素。在具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶为氢、氟、氯或溴。在具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶为氢或氯。在更具体的实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶为氯。在另一具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁶为氢。

[0070] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁷选自氢、(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₆)环烷基、苯基和杂芳基,其中所述苯基或杂芳基任选独立地被以下基团取代1或2次:(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b、R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-、(C₁-C₄)烷基杂环烷基-、卤素、(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基或杂环烷基。

[0071] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁷为氢或(C₁-C₄)烷基。

[0072] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁷选自呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻二唑基、异噻唑基、苯基、吡啶基、哒嗪基、吡嗪基、嘧啶基和三嗪基,其中所述呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻二唑基、异噻唑基、苯基、吡啶基、哒嗪基、吡嗪基、嘧啶基或三嗪基任选被(C₁-C₄)烷氧基、-NR^aR^b、R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-、(C₁-C₄)烷基杂环烷基-、卤素、(C₁-C₄)烷基、(C₃-C₈)环烷基或杂环烷基取代。

[0073] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁷为苯基,其任选被-NR^aR^b或R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-取代。

[0074] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁷为吡啶基,其任选被-NR^aR^b或R^aR^bN(C₁-C₄)烷基-取代。

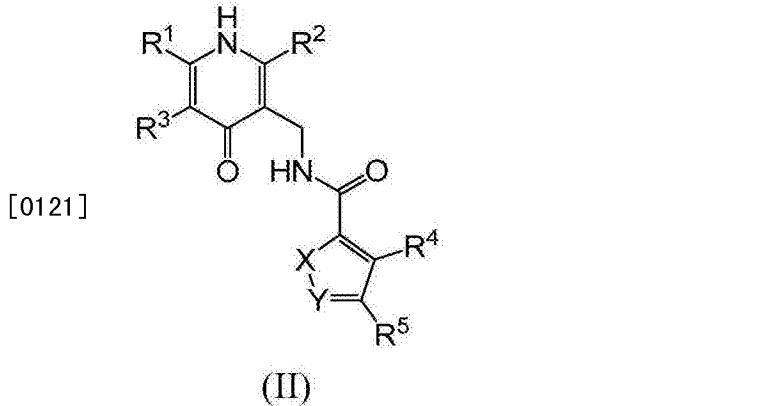
[0075] 在另一实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中R⁸选自(C₄-C₆)烷基、(C₄-C₆)环烷基、杂环烷基和苯基,其中所述(C₄-C₆)烷基、(C₄-C₆)环烷基、杂环烷基或苯基任选独立地被以下基团取代1或2次:-OR^a、-NR^aR^b、-NHCO₂R^a、(C₁-C₃)烷基、R^aR^bN(C₁-C₃)烷基-、R^aO(C₁-C₃)烷基-、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b或-SO₂NR^aR^b。

[0076] 在具体实施方案中,本发明涉及式(I)化合物,其中:

[0077] X为O、S或NR⁷;

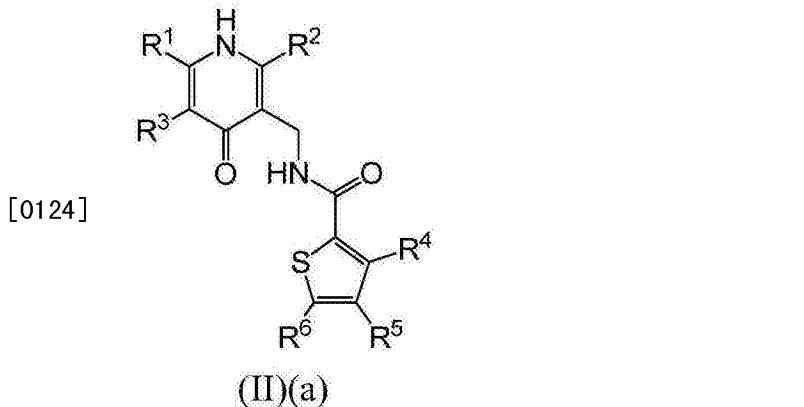
- [0078] Y为N或CR⁶；
- [0079] Z为CR⁵；
- [0080] R¹和R²各自独立地为(C₁–C₄)烷基；
- [0081] R³为氢；
- [0082] R⁴为甲基或氯；
- [0083] R⁵选自(C₃–C₆)烷氧基、(C₃–C₈)环烷基氧基-和杂环烷基氧基-，其各自任选地被以下取代：羟基、(C₁–C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁–C₃)烷基、-N((C₁–C₃)烷基)₂、(C₁–C₃)烷基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基或杂芳基；
- [0084] R⁶为氢、卤素、(C₁–C₄)烷基或(C₁–C₄)烷氧基；和
- [0085] R⁷为氢或(C₁–C₄)烷基；
- [0086] 或其药学上可接受的盐。
- [0087] 在另一具体实施方案中，本发明涉及式(I)化合物，其中：
- [0088] X为O、S或NR⁷；
- [0089] Y为N或CR⁶；
- [0090] Z为CR⁵；
- [0091] R¹和R²各自独立地为(C₁–C₄)烷基；
- [0092] R³为氢；
- [0093] R⁴为甲基或氯；
- [0094] R⁵为-NR^aR^b；
- [0095] R⁶为氢、卤素、(C₁–C₄)烷基或(C₁–C₄)烷氧基；和
- [0096] R⁷为氢或(C₁–C₄)烷基；
- [0097] 或其药学上可接受的盐。
- [0098] 在另一具体实施方案中，本发明涉及式(I)化合物，其中：
- [0099] X为N或CR⁶；
- [0100] Y为O、S或NR⁷；
- [0101] Z为CR⁵；
- [0102] R¹和R²各自独立地为(C₁–C₄)烷基；
- [0103] R³为氢；
- [0104] R⁴为甲基或氯；
- [0105] R⁵选自(C₃–C₆)烷氧基、(C₃–C₈)环烷基氧基-和杂环烷基氧基-，其各自任选地被以下取代：羟基、(C₁–C₃)烷氧基、氨基、-NH(C₁–C₃)烷基、-N((C₁–C₃)烷基)₂、(C₁–C₃)烷基、-CO₂R^a、-C(O)NR^aR^b、-SO₂NR^aR^b、苯基或杂芳基；
- [0106] R⁶为氢、卤素、(C₁–C₄)烷基或(C₁–C₄)烷氧基；和
- [0107] R⁷为氢或(C₁–C₄)烷基；
- [0108] 或其药学上可接受的盐。
- [0109] 在另一具体实施方案中，本发明涉及式(I)化合物，其中：
- [0110] X为N或CR⁶；
- [0111] Y为O、S或NR⁷；
- [0112] Z为CR⁵；

- [0113] R¹和R²各自独立地为(C₁-C₄)烷基；
- [0114] R³为氢；
- [0115] R⁴为甲基或氯；
- [0116] R⁵为-NR^aR^b；
- [0117] R⁶为氢、卤素、(C₁-C₄)烷基或(C₁-C₄)烷氧基；和
- [0118] R⁷为氢或(C₁-C₄)烷基；
- [0119] 或其药学上可接受的盐。
- [0120] 在另一实施方案中，本发明还涉及式(II)化合物：

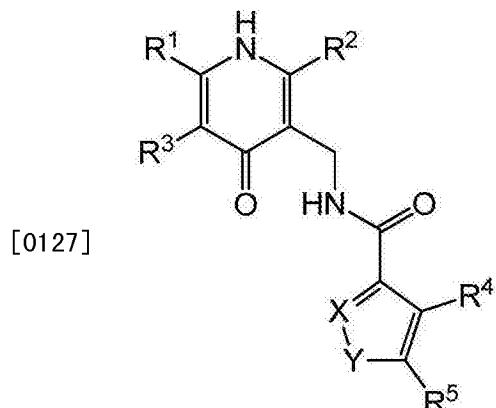


[0122] 或其药学上可接受的盐，其中X为O、S或NR⁷；Y为N或CR⁶；和R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶和R⁷如式(I)所定义。在另一实施方案中，本发明涉及式(II)化合物，其中X为O或S且Y为N或CR⁶。在另一实施方案中，本发明涉及式(II)化合物，其中X为O或S且Y为CR⁶。在另一实施方案中，本发明涉及式(II)化合物，其中X为O或S且Y为N。在另一实施方案中，本发明涉及式(II)化合物，其中X为S且Y为CR⁶。

- [0123] 在另一实施方案中，本发明还涉及式(II)(a)化合物：



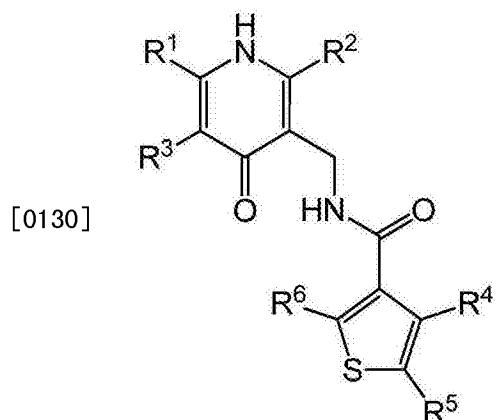
- [0125] 或其药学上可接受的盐，其中R¹、R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶如式(I)所定义。
- [0126] 在另一实施方案中，本发明还涉及式(III)化合物：



(III)

[0128] 或其药学上可接受的盐,其中Y为0、S或NR⁷;X为N或CR⁶;且R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶和R⁷如式(I)所定义。在另一实施方案中,本发明涉及式(III)化合物,其中Y为0或S且X为N或CR⁶。在另一实施方案中,本发明涉及式(III)化合物,其中Y为0或S且X为CR⁶。在另一实施方案中,本发明涉及式(III)化合物,其中Y为0或S且X为N。在另一实施方案中,本发明涉及式(III)化合物,其中Y为S且X为CR⁶。

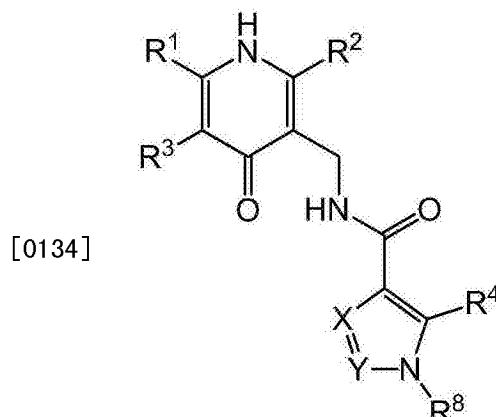
[0129] 在另一实施方案中,本发明还涉及式(III)(a)化合物:



(III)(a)

[0132] 或其药学上可接受的盐,其中R¹、R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶如式(I)所定义。

[0133] 在另一实施方案中,本发明还涉及式(IV)化合物:



(IV)

[0135] 或其药学上可接受的盐,其中X为N或CR⁶;Y为N或CR⁶;和R¹、R²、R³、R⁴、R⁶和R⁸如式(I)所定义。在另一实施方案中,本发明涉及式(IV)化合物,其中X为N和Y为CR⁶。在另一实施方案中,本发明涉及式(IV)化合物,其中X为CR⁶和Y为N。在另一实施方案中,本发明涉及式(IV)化合物,其中X和Y各自独立地为CR⁶。在另一实施方案中,本发明涉及式(IV)化合物,其中X和Y各为N。

[0136] 本发明的具体化合物包括:

[0137] N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺;

[0138] N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺;

[0139] N-((5-氨基-2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺;和

[0140] 2-溴-N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺;

[0141] 或其药学上可接受的盐。

[0142] 通常,但并非绝对,本发明的盐是药学上可接受的盐。含有碱性胺或其他碱性官能团的公开化合物的盐可通过本领域已知的任意合适的方法制备,包括将游离碱用无机酸处理,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等,或用有机酸处理,例如乙酸、三氟乙酸、马来酸、琥珀酸、扁桃酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、吡喃型糖苷酸(pyranosidyl acid)(例如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸)、α-羟基酸(例如柠檬酸或酒石酸)、氨基酸(例如天冬氨酸或谷氨酸)、芳香酸(例如苯甲酸或肉桂酸)、磺酸(例如对甲苯磺酸、甲磺酸、乙磺酸等)。药学上可接受的盐的实例包括硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、氯酸盐、溴酸盐、碘酸盐、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、富马酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、苯基乙酸盐、苯基丙酸盐、苯基丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、γ-羟基丁酸盐、乙醇酸盐、酒石酸盐、扁桃酸盐和磺酸盐(例如二甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、丙磺酸盐、萘-1-磺酸盐和萘-2-磺酸盐)。

[0143] 含有羧酸或其他酸性官能团的公开化合物的盐可通过与合适的碱反应制备。该药学上可接受的盐可用提供药学上可接受的阳离子的碱制备,其包括碱金属盐(尤其是钠和钾)、碱土金属盐(尤其是钙和镁)、铝盐和铵盐,以及由生理学上可接受的有机碱制成的盐,例如三甲胺、三乙胺、吗啉、吡啶、哌啶、甲基吡啶、二环己胺、N,N'-二苄基乙二胺、2-羟基乙胺、双-(2-羟基乙基)胺、三-(2-羟基乙基)胺、普鲁卡因、二苄基哌啶、去氢枞胺、N,N'-双去氢枞胺、葡萄糖胺、N-甲基葡萄糖胺、可力丁、奎宁、喹啉和碱性氨基酸(例如赖氨酸和精氨酸)。

[0144] 不是药学上可接受的其他的盐可用于制备本发明化合物且这些应被视为形成本发明的另一方面。尽管这些盐(例如草酸盐或三氟乙酸盐)本身不是药学上可接受的,但是它们可用于制备用作获得本发明化合物及其药学上可接受的盐的中间体的盐。

[0145] 式(I)化合物或其盐可以立体异构形式存在(例如,其含有一个或多个不对称碳原

子)。单一立体异构体(对映异构体和非对映异构体)及这些的混合物都包括在本发明的范围内。同样地,应理解,式(I)化合物或盐除了如式所示,还可以互变异构形式存在且这些都包括在本发明的范围内。应理解,本发明包括上述定义的具体基团的全部组合和子集。本发明的范围包括立体异构体混合物以及纯的对映异构体或富含对映体/非对映体的混合物。应理解,本发明包括上述定义的具体基团的全部组合和子集。

[0146] 本发明还包括同位素标记的化合物,其与式(I)及以下所提及的那些化合物相同,但是事实上,一个或多个原子被具有与自然界常见原子的原子质量或质量数不同的原子所代替。可并入本发明化合物及其药学上可接受的盐的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、氯和碘的同位素,例如²H、³H、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁷O、¹⁸O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F、³⁶Cl、¹²³I和¹²⁵I。

[0147] 含有上述同位素和/或其他原子的其他同位素的本发明化合物和所述化合物的药学上可接受的盐均包括在本发明的范围内。同位素标记的本发明化合物,例如放射性同位素(例如³H, ¹⁴C)并入其中的那些化合物,用于药物和/或底物组织分布测定。由于氚代(即,³H)和碳-14(即,¹⁴C)同位素易于制备和检测,因此它们是特别优选的。¹¹C和¹⁸F同位素尤其用于PET(正电子发射断层术)和¹²⁵I同位素尤其用于SPECT(单光子发射型计算机断层术),其全部用于脑成像。此外,用较重的同位素(例如氘,即,²H)的取代,由于其具有更好的代谢稳定性,因此可提供一定的治疗优势,例如延长的体内半衰期或降低的剂量需求,并因此在一些情况下是优选的。同位素标记的式(I)化合物和本发明的下列化合物通常可通过进行反应式和/或下述实施例所公开的操作来制备,其用易得的同位素标记试剂来代替无同位素标记的试剂。

[0148] 本发明还提供了药物组合物(也称为药物制剂),其包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐和一或多种赋形剂(在制药领域也称为载体和/或稀释剂)。所述赋形剂在与该制剂的其他成分相容且对其接受者(即,患者)无毒方面是可接受的。

[0149] 合适的药学上可接受的赋形剂将根据所选的具体剂型而改变。此外,合适的药学上可接受的赋形剂可根据它们在该组合物中所发挥的具体功能进行选择。例如,一些药学上可接受的赋形剂可根据它们促进均一剂型产生的能力进行选择。一些药学上可接受的赋形剂可根据它们促进稳定剂型产生的能力进行选择。一些药学上可接受的赋形剂可根据一旦将本发明的一种或多种化合物给药至患者,它们促进所述化合物或本发明化合物从机体的一个器官或一个部位运输或转移至机体的另一器官或另一部位的能力进行选择。一些药学上可接受的赋形剂可根据它们提高患者顺应性的能力进行选择。

[0150] 合适的药学上可接受的赋形剂包括以下赋形剂类型:稀释剂、填充剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、助流剂、粒化剂、包衣剂、湿润剂、溶剂、共溶剂、悬浮剂、乳化剂、甜味剂、调味剂、味道掩蔽剂、着色剂、抗结剂、水分保持剂(hemectant)、螯合剂、增塑剂、增粘剂、抗氧化剂、防腐剂、稳定剂、表面活性剂和缓冲剂。本领域技术人员将理解,根据该赋形剂存在于该制剂的多少以及在该制剂中所存在的其他成分,一些药学上可接受的赋形剂可发挥多种功能并可提供替代功能。

[0151] 本领域技术人员拥有本领域的知识和技术,使他们能够选出适当量的合适的药学上可接受的赋形剂以用于本发明。此外,有很多本领域技术人员可用的资源,其描述了药学上可接受的赋形剂且可用于选出合适的药学上可接受的赋形剂。实例包括Remington's Pharmaceutical Sciences(Mack Publishing Company)、The Handbook of

Pharmaceutical Additives(Gower Publishing Limited)和The Handbook of Pharmaceutical Excipients(the American Pharmaceutical Association和the Pharmaceutical Press)。

[0152] 本发明的药物组合物是使用本领域技术人员已知的技术和方法制备的。本领域常用的一些方法描述于Remington's Pharmaceutical Sciences(Mack Publishing Company)。

[0153] 药物组合物可以是每单位剂量含有预定量活性成分的单位剂量形式。该单位可含有治疗有效量的式(I)化合物或其盐或治疗有效量的一部分，使得多个单位剂型可在给定时间给药以实现所需治疗有效量。优选的单位剂型是如上文所述的含有日剂量或亚剂量活性成分的那些或其合适的分数。此外，该药物组合物可通过药学领域熟知的任意方法制备。

[0154] 药物组合物可适于任意合适的途径的给药，例如，口服(包括口腔或舌下)、直肠、鼻、局部(包括口腔、舌下或透皮)、阴道或胃肠外(包括皮下、肌内、静脉内或真皮内)途径。该组合物可通过药物领域已知的任意方法制备，例如，通过将活性成分与赋形剂(一种或多种)组合。

[0155] 当适用于口服给药时，药物组合物可为离散单位，例如片剂或胶囊；粉剂或颗粒；水性或非水液体中的溶液或混悬液；食用泡沫或泡沫(whips)；水包油的液体乳液或油包水的液体乳液。本发明的化合物或其盐或本发明的药物组合物还可被掺入糖果、华夫和/或口香糖制剂以用于以“速溶”药物的形式给药。

[0156] 例如，对于以片剂或胶囊形式的口服给药，所述活性药物成分可与口服、无毒的药学上可接受的惰性载体(例如乙醇、甘油、水等)组合。粉末或颗粒是通过以下制备的：将该化合物粉碎成合适的微细尺寸并与经类似研磨的药物载体，例如食用碳水化合物(例如淀粉或甘露醇)混合。还可存在调味剂、防腐剂、分散剂和着色剂。

[0157] 胶囊是通过以下制备的：如上所述制备粉末混合物并填充到成形的明胶或非凝胶状鞘中。可在填充操作前，将助流剂和润滑剂，例如胶体二氧化硅、滑石、硬脂酸镁、硬脂酸钙、固体聚乙二醇加至该粉末混合物中。还可加入崩解剂或增溶剂，例如琼脂、碳酸钙或碳酸钠，使得当该胶囊被摄取时提高药物的利用度。

[0158] 此外，当需要或必要时，还可将合适的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂掺入到该混合物中。合适的粘合剂包括淀粉、明胶、天然糖(例如葡萄糖或β-乳糖)、玉米甜味剂、天然和合成胶(例如阿拉伯胶、黄蓍胶)、海藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇、蜡等。在这些剂型中所用的润滑剂包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。崩解剂包括，但不限于，淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶等。

[0159] 片剂是通过如下制备的，例如，制备粉末混合物、制粒或重压(sludging)、添加润滑剂和崩解剂并压制成片。粉末混合物是通过以下制备的，将适当粉碎的化合物与上述稀释剂或碱混合，并任选地，与粘合剂(例如羧甲基纤维素和藻酸盐)、明胶或聚乙烯吡咯烷酮、溶液延缓剂(例如石蜡)、再吸收加速剂(resorption accelerator)(例如季盐)和/或吸收剂(例如膨润土、高岭土或磷酸二钙)混合。所述粉末混合物可通过如下进行造粒，将粘合剂(例如糖浆、淀粉糊、阿拉伯胶浆或纤维材料或聚合材料的溶液)润湿并加压过筛。作为制粒的替代方法，可将粉末混合物通过压片机，其结果是将未良好成形的预压片破裂成颗粒。通过加入硬脂酸、硬脂酸盐、滑石或矿物油，可将该颗粒润滑以防止粘附于片剂成形模上。

然后将该润滑的混合物压制成片。本发明化合物或盐还可与自由流动的惰性载体组合且无需进行制粒或预压步骤而直接压制成片。可提供由虫胶隔离层、糖或聚合材料的涂层和蜡的抛光涂层组成的澄清不透明的保护涂层。可将染料加至这些涂层以区分不同的剂量。

[0160] 口服液(例如溶液、糖浆和酏剂)可以单位剂量形式制备,使得给定的量含有预定量的活性成分。糖浆可通过将本发明化合物或其盐溶于适当调味的水溶液中进行制备,而酏剂通过使用无毒醇媒介物制备。混悬液可通过将本发明化合物或盐分散于无毒媒介物中进行配制。还可加入增溶剂和乳化剂(例如乙氧基化的异硬脂醇和聚氧乙烯山梨醇醚)、防腐剂、味道添加剂(例如薄荷油)、天然甜味剂、糖精或其他人造甜味剂等。

[0161] 在适当情况下,可将用于口服给药的剂量单位制剂微胶囊化。该制剂还可通过将微粒涂布或包埋于聚合物、蜡等中来制备以延长或维持释放。

[0162] 在本发明中,片剂和胶囊优先用于递送该药物组合物。

[0163] 根据本发明的另一方面,提供了制备药物组合物的方法,其包括将式(I)化合物或其盐与至少一种赋形剂混合(或掺合)。

[0164] 本发明还提供了在哺乳动物,尤其是人中的治疗方法。本发明的化合物和组合物用于治疗细胞增殖性疾病。可通过本申请提供的方法和组合物得到治疗的病症包括,但不限于,癌症(下文进一步讨论)、自身免疫性疾病、真菌疾病、关节炎、移植排斥、炎性肠病、医疗操作(medical procedure)后诱导的增殖,所述医疗操作包括,但不限于,手术、血管成形术等。应理解,在一些情况下,细胞可能并不在高增值或低增值状态(异常状态)但仍需要进行治疗。例如,在伤口愈合过程中,尽管细胞可能是“正常”增殖的,但仍可能需要增殖强化。因此,在一个实施方案中,本发明包括给药至患有或即将患有任一这些障碍或病症的细胞或个体。

[0165] 本申请提供的组合物和方法尤其被认为是用于治疗癌症,包括肿瘤,例如前列腺癌、乳腺癌、脑癌、皮肤癌、宫颈癌、睾丸癌等。它们尤其用于治疗转移性或恶性肿瘤。更具体地,可通过本发明的组合物和方法得到治疗的癌症包括,但不限于肿瘤类型,例如星形细胞癌、乳腺癌、子宫颈癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、食道癌、胃癌、头颈癌、肝细胞癌、喉癌、肺癌、口腔癌、卵巢癌、前列腺癌和甲状腺癌和肉瘤。更具体地,这些化合物可用于治疗:心脏:肉瘤(血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤)、粘液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤;肺:支气管原癌(鳞状上皮细胞癌、未分化小细胞癌、未分化大细胞癌、腺癌)、肺泡(细支气管)癌、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软骨错构瘤、间皮瘤;胃肠道:食道(鳞状上皮细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰腺(导管腺癌、胰岛瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤、舒血管肠肽瘤(vipoma))、小肠(腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波西肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠(腺癌、管状腺癌、绒毛状腺癌、错构瘤、平滑肌瘤);泌尿生殖道:肾(腺癌、威尔姆氏肿瘤(Wilm's tumor)(肾母细胞瘤)、淋巴瘤、白血病)、膀胱和尿道(鳞状上皮细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤)、睾丸(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌、畸胎癌、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样瘤、脂肪瘤);肝:肝癌(肝细胞癌)、胆管癌、肝胚细胞癌、血管肉瘤、肝细胞性腺瘤、血管瘤;胆道:胆囊癌、壶腹癌、胆管细胞癌;骨:成骨性肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨瘤(骨软骨外生骨疣(osteocartilaginous exostose))、良性软骨瘤、软骨

母细胞瘤、软骨粘液纤维瘤(chondromyxofibroma)、骨样骨瘤和巨细胞瘤；神经系统：头骨(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄色瘤、变形性骨炎)、脑膜(脑膜瘤、脑膜肉瘤(meningiosarcoma)、神经胶质瘤病)、脑(星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、神经胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤(松果体瘤)、多形性成胶质细胞瘤、少突神经胶质瘤(oligodendrolioma)、许旺细胞瘤、视网膜母细胞瘤、先天性肿瘤)、脊髓神经纤维瘤、脑膜瘤、神经胶质瘤、肉瘤)；妇科：子宫(子宫内膜癌)、子宫颈(宫颈癌、肿瘤前宫颈病变(pre-tumor cervical dysplasia))、卵巢(卵巢癌(浆液性囊腺癌、粘液性囊腺癌、不能分类的癌(unclassified carcinoma))、颗粒细胞瘤(granulosa-thecal cell tumor)、塞-莱细胞瘤(Sertoli-Leydig cell tumor)、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、外阴(鳞状上皮细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑色素瘤)、阴道(透明细胞癌、鳞状上皮细胞癌、葡萄状肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤)、输卵管癌)；血液方面：血液(髓细胞性白血病(急性和慢性)、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、骨髓增生性疾病、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome))、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤(恶性淋巴瘤)；皮肤：恶性黑色素瘤、基细胞癌、鳞状上皮细胞癌、卡波西肉瘤、发育不良痣(moles dysplastic nevi)、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤、瘢痕瘤、牛皮癣；和肾上腺：神经母细胞瘤。因此，本申请所述术语“癌细胞”包括患有任一上述病症或相关病症的细胞。

[0166] 本发明化合物可与其他治疗剂，尤其是可提高所述化合物活性及分布时间的药剂组合或共同给药。本发明的组合疗法包括给药至少一种本发明化合物并使用至少一种其他治疗方法。在一个实施方案中，本发明的组合疗法包括给药至少一种本发明化合物和手术治疗。在一个实施方案中，本发明的组合疗法包括给药至少一种本发明化合物和放射疗法。在一个实施方案中，本发明的组合疗法包括给药至少一种本发明化合物和至少一种支持疗法药物(例如，至少一种镇吐药)。在一个实施方案中，本发明的组合疗法包括给药至少一种本发明化合物和至少一种其他化疗剂。在一个具体实施方案中，本发明包括给药至少一种本发明化合物和至少一种抗肿瘤药。在另一实施方案中，本发明包括治疗方案，其中本公开的EZH2抑制剂本身并没有显示活性或并没有显示显著活性，但是当其与另一疗法组合时(所述另一疗法作为单独疗法时可以是有活性的或无活性的)，该组合提供有用的效果。

[0167] 本申请所用的术语“共同给药”及其衍生词语是指同时给药或以任意单独的方式相继给药本申请所述的EZH2抑制化合物和已知用于治疗癌症(包括化疗和放射治疗)的其他活性成分或组分。当向有治疗癌症需要的患者给药时，本申请所用术语其他活性成分或组分还包括已知的或被证明有有益性质的任意化合物或治疗剂。优选地，如果所述给药不是同时的，那么该化合物以彼此极接近的时间进行给药。此外，所述化合物是否以同一剂型给药并不重要，例如一种化合物可局部给药而另一化合物可口服给药。

[0168] 通常，任意对所治疗的易感肿瘤具有活性的抗肿瘤药均可在本发明具体癌症的治疗中被共同给药。该药物的实例可见于V.T.Devita和S.Hellman(编辑)的Cancer Principles and Practice of Oncology,第6版(2001年2月15日),Lippincott Williams&Wilkins Publishers。本领域技术人员将能够根据药物的具体特性及所涉及的癌症来判断何种药物组合是有用的。在本发明中使用的典型的抗肿瘤药包括，但不限于，抗微管药，例如二萜类化合物和长春花生物碱类；铂配位络合物；烷化剂，例如氮芥、氧氮磷环类

(oxazaphosphorines)、烷基磺酸盐、亚硝基脲类和三氮烯；抗菌药，例如蒽环类、放线菌素和博莱霉素；拓扑异构酶II抑制剂，例如表鬼臼毒素；抗代谢药，例如嘌呤和嘧啶类似物和抗叶酸化合物；拓扑异构酶I抑制剂，例如喜树碱；激素和激素类似物；DNA甲基转移酶抑制剂，例如阿扎胞苷和地西他滨；信号转导通路抑制剂；非受体酪氨酸激酶血管生成抑制剂；免疫治疗剂；促凋亡试剂(proapoptotic agent)；和细胞周期信号传导抑制剂。

[0169] 通常，任何对所治疗的易感肿瘤具有活性的化疗剂均可与本发明化合物组合使用，前提是所述具体试剂与该疗法所采用的本发明化合物在临幊上是兼容的。在本发明中使用的典型抗肿瘤药包括，但不限于：烷化剂、抗代谢药、抗肿瘤抗生素、抗有丝分裂药、核昔类似物、拓扑异构酶I和II抑制剂、激素和激素类似物；维生素A类、组蛋白去乙酰化酶抑制剂；信号转导通路抑制剂，包括细胞生长或生长因子功能的抑制剂、血管发生抑制剂和丝氨酸/苏氨酸或其他激酶抑制剂；细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂；反义疗法和免疫治疗剂，包括单克隆药物、疫苗或其他生物制剂。

[0170] 核昔类似物是转化成脱氧核昔酸三磷酸并代替阿糖胞苷被引入以复制DNA的那些化合物。DNA甲基转移酶共价结合至修饰碱基，导致无活性酶和降低的DNA甲基化。核昔类似物的实例包括阿扎胞苷和地西他滨，其用于治疗骨髓增生异常障碍。组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂包括伏立诺他，其用于治疗皮肤T细胞淋巴瘤。HDAC通过组蛋白的去乙酰作用来改变染色质。此外，它们具有各种作用底物，包括众多的转录因子和信号分子。其他HDAC抑制剂正在研发。

[0171] 信号转导通路抑制剂是那些阻断或抑制能够引起细胞内变化的化学过程的抑制剂。正如本申请所用，这一变化为细胞增殖或分化或存活。在本发明中所用的信号转导通路抑制剂包括，但不限于，受体酪氨酸激酶的抑制剂、非受体酪氨酸激酶的抑制剂、SH2/S3结构域阻断剂、丝氨酸/苏氨酸激酶的抑制剂、磷脂酰肌醇-3-OH激酶的抑制剂、肌醇信号传导的抑制剂和Ras致癌基因的抑制剂。信号转导通路抑制剂可与上述组合物和方法中的本发明化合物组合使用。

[0172] 受体激酶血管发生抑制剂还可用于本发明。涉及VEGFR和TIE-2的血管发生抑制剂在上述有关信号传导抑制剂中进行讨论(二者皆为受体酪氨酸激酶)。其他抑制剂可与本发明化合物组合使用。例如，抗VEGF抗体，其无法识别VEGFR(受体酪氨酸激酶)，但是会结合至配体；整联蛋白($\alpha_v\beta_3$)的小分子抑制剂，其抑制血管发生；内皮他丁和血管他丁(非RTK)也被证明可用于与本发明化合物的组合。VEGFR抗体的一个实例是贝伐单抗(AVASTIN[®])。

[0173] 正在研发生长因子受体的多个抑制剂并包括配体拮抗剂、抗体、酪氨酸激酶抑制剂、反义寡核昔酸和适配体。任一这些生长因子受体抑制剂可与本申请所述的任一组合物和方法/用途中的本发明化合物组合使用。曲妥珠单抗(Herceptin[®])是抗erbB2抗体的生长因子功能抑制剂的实例。抗erbB1抗体的生长因子功能抑制剂的一个实例是西妥昔单抗(ErbituxTM, C225)。贝伐单抗(Avastin[®])是针对VEGFR的单克隆抗体的一个实例。表皮生长因子受体的小分子抑制剂的实例包括但不限于拉帕替尼(Tykerb[®])和厄洛替尼(TARCEVA[®])。甲磺酸伊马替尼(GLEEVEC[®])是PDGFR抑制剂的一个实例。VEGFR抑制剂

的实例包括帕唑帕尼(Votrient[®])、ZD6474、AZD2171、PTK787、舒尼替尼和索拉非尼。

[0174] 抗微管或抗有丝分裂剂是相位特异性药物,其在细胞周期中的M期或分裂期有抗肿瘤细胞的微管的活性。抗微管剂的实例包括但不限于二萜类化合物和长春花生物碱。

[0175] 来源于天然的二萜类化合物是相位特异性的抗癌剂,其在细胞周期中的G₂/M期起作用。据信,二萜类化合物通过与微管的β-微管蛋白亚单位结合,使该蛋白稳定化。然后使蛋白质的分解受到抑制,有丝分裂停止,接着发生细胞死亡。二萜类化合物的实例包括但不限于紫杉醇及其类似物多西紫杉醇(docetaxel)。

[0176] 紫杉醇,5β,20-环氧-1,2α,4,7β,10β,13α-六羟基紫衫(tax)-11-烯-9-酮4,10-二乙酸酯2-苯甲酸酯13-(2R,3S)-N-苯甲酰基-3-苯基异丝氨酸酯,其是从太平洋紫杉树(*Taxus brevifolia*)中分离出来的天然二萜产物,且在商业上可得到可注射的溶液TAXOL[®]。其为萜类紫衫烷属的成员。其在1971年由Wani等人首次分离出来(J.Am.Chem.Soc., 93:2325, 1971),并通过化学和X-射线结晶学方法表征其结构。其活性的机理之一是紫杉醇能够结合微管蛋白,进而抑制癌细胞生长。Schiff等人, Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 77:1561-1565(1980); Schiff等人, Nature, 277:665-667(1979); Kumar, J.Biol.Chem., 256:10435-10441(1981)。有关某些紫杉醇衍生物的合成及抗癌活性的评述,请参见D.G.I.Kingston等人, Studies in Organic Chemistry vol.26, entitled "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W.Le Quesne, Eds. (Elsevier, Amsterdam, 1986) 219-235页。

[0177] 在美国,已经批准紫杉醇的临床使用,用于治疗顽固性卵巢癌(Markman等人, Yale Journal of Biology and Medicine, 64:583, 1991; McGuire等人, Ann.Int.Med., 111:273, 1989)并用于治疗乳腺癌(Holmes等人, J.Nat.Cancer Inst., 83:1797, 1991.)。它是治疗皮肤肿瘤(Einzig等人, Proc.Am.Soc.Clin.Oncol., 20:46)和头颈癌(Forastire等人, Sem.Oncol., 20:56, 1990)的可能的候选药物。该化合物还具有治疗多囊性肾病(Woo等人, Nature, 368:750, 1994)、肺癌和疟疾的潜力。采用紫杉醇治疗患者会造成骨髓抑制(多重细胞谱系(multiple cell lineages), Ignoff, R.J.等人, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998),这与高于阈浓度(50nM)的配量(dosing)的持续时间有关(Kearns, C.M.等人, Seminars in Oncology, 3(6)p.16-23, 1995)。

[0178] 多西紫杉醇,5β-20-环氧-1,2α,4,7β,10β,13α-六羟基紫杉-11-烯-9-酮4-乙酸酯2-苯甲酸酯13-(2R,3S)-N-羧基-3-苯基异丝氨酸N-叔丁基酯,三水合物,在商业上可得到可注射的溶液TAXOTERE[®]。多西紫杉醇的适应症为用于治疗乳腺癌。多西紫杉醇是适量(q.v.)紫杉醇的半合成衍生物,其是利用天然前体即从欧洲紫杉树的针叶中提取的10-去乙酰基浆果赤霉素III制备的。多西紫杉醇的剂量依赖性毒性是嗜中性白血球减少症。

[0179] 长春花生物碱是来源于长春花属植物的相位特异性的抗肿瘤药剂。长春花生物碱通过特异地结合微管蛋白而在细胞周期的M期(有丝分裂)起作用。因此,被结合的微管蛋白分子不能聚合成微管(microtubules)。据信,有丝分裂在中期被停止,随后细胞死亡。长春花生物碱的实例包括但不限于长春碱、长春新碱及长春瑞滨。

[0180] 长春碱,长春碱硫酸盐,在商业上可以VELBAN[®]注射液得到。尽管已经表明其可作为各种实体瘤的二线治疗,但是其最初是用于治疗睾丸癌和各种淋巴瘤,包括霍奇金

(Hodgkin)病及淋巴细胞性淋巴瘤和组织细胞性淋巴瘤。长春碱的剂量依赖性副作用是骨髓抑制(Myelosuppression)。

[0181] 长春新碱,22-氧代-长春碱硫酸盐(sulfate),在商业上可以ONCOVIN®注射液得到。长春新碱显示可用于治疗急性白血病,同时可用于治疗霍奇金和非霍奇金恶性淋巴瘤。脱发和神经影响是长春新碱最常见的副作用,并产生较小程度的骨髓抑制和胃肠粘膜炎作用。

[0182] 长春瑞滨,3',4'-二脱氢-4'-脱氧-C'-去甲长春碱(norvincaleukoblastine)[R-(R*,R*)-2,3-二羟基丁二酸酯(1:2)(盐)],商业上可以长春瑞滨酒石酸盐注射液(NAVELBINE®)得到,是半合成的长春花生物碱。长春瑞滨被指示可作为单独的药剂或与其它化学治疗剂如顺铂组合,用于治疗各种实体瘤,特别是非小细胞肺癌、晚期乳腺癌及激素难治的前列腺癌。骨髓抑制是长春瑞滨最常见的剂量依赖性副作用。

[0183] 铂配位络合物是非相位特异性的抗癌剂,其与DNA相互作用。铂络合物进入肿瘤细胞,经历水合作用,并与DNA形成内部和相互间的交叉连接,导致对肿瘤不利的生物学作用。铂配位络合物的实例包括但不限于顺铂和卡铂。

[0184] 顺铂,顺式-二氨二氯合铂,商业上可以PLATINOL®注射液得到。顺铂最初用于治疗转移性睾丸癌和卵巢癌以及晚期膀胱癌。顺铂的主要剂量依赖性副作用是肾毒性和耳毒性,所述肾毒性可通过水合和利尿来控制。

[0185] 卡铂,二氨[1,1-环丁烷-二羧酸根(2-)O,O']合铂,在商业上可以PARAPLATIN®注射液得到。卡铂最初用于晚期卵巢癌的一线和二线治疗。骨髓抑制是卡铂的剂量限制性毒性。

[0186] 烷化剂是非相位抗癌的特异性药剂和强的亲电试剂。通常,烷化剂借助于烷基化作用,通过DNA分子的亲核部分如磷酸基(phosphate)、氨基、巯基、羟基、羧基和咪唑基,与DNA形成共价连接。这种烷基化作用中断核酸功能,导致细胞死亡。烷化剂的实例包括但不限于氮芥如环磷酰胺、美法仑和苯丁酸氮芥,烷基磺酸酯如白消安,亚硝基脲如卡莫司汀,及三氮烯如达卡巴嗪。

[0187] 环磷酰胺,2-[双(2-氯乙基)氨基]四氢-2H-1,3,2-氧氮杂环磷酰胺2-氧化物一水合物,商业上可以CYTOXAN®注射液或片剂得到。环磷酰胺可作为单独的药剂或与其它化学治疗剂组合,用于治疗恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤和白血球过多症。脱发、恶心、呕吐和白血球减少症是环磷酰胺最常见的剂量依赖性副作用。

[0188] 美法仑,4-[双(2-氯乙基)氨基]-L-苯基丙氨酸,商业上可以ALKERAN®注射液或片剂得到。美法仑可用于多发性骨髓瘤和不可切除的卵巢上皮癌的姑息疗法(palliative treatment)。骨髓抑制是美法仑最常见的剂量依赖性副作用。

[0189] 苯丁酸氮芥,4-[双(2-氯乙基)氨基]苯丁酸,商业上可以LEUKERAN®片剂得到。苯丁酸氮芥可用于慢性淋巴细胞性白血病、恶性淋巴瘤如淋巴肉瘤、巨滤泡性淋巴瘤,及霍奇金病的姑息疗法。骨髓抑制是苯丁酸氮芥最常见的剂量依赖性副作用。

[0190] 白消安,1,4-丁二醇二甲磺酸酯,商业上可以MYLERAN®片剂得到。白消安用于慢性髓细胞性白血病的姑息疗法。骨髓抑制是白消安最常见的剂量依赖性副作用。

[0191] 卡莫司汀,1,3-[双(2-氯乙基)-1-亚硝基脲,商业上可以 BiCNU®单瓶装的冻干材料得到。卡莫司汀可作为单独的药剂或与其它药剂组合,用于脑癌、多发性骨髓瘤、霍奇金病和非霍奇金(non-Hodgkin's)淋巴瘤的姑息疗法。延迟的骨髓抑制是卡莫司汀最常见的剂量依赖性副作用。

[0192] 达卡巴嗪,5-(3,3-二甲基-1-三氮烯基)-咪唑-4-甲酰胺,商业上可以 DTIC-Dome®单瓶装的材料得到。达卡巴嗪可用于转移性恶性黑色素瘤的治疗,并且可与其它药剂组合,用于霍奇金病的二线治疗。恶心、呕吐和厌食是达卡巴嗪最常见的剂量依赖性副作用。

[0193] 抗生素类抗癌剂是非相位特异性的药物,其结合或插入DNA中。通常,这种作用导致稳定的DNA络合物或链断裂,中断核酸的正常功能,导致细胞死亡。抗生素类抗肿瘤药剂的实例包括但不限于放线菌素如放线菌素D;茴环霉素(anthracyclins)如柔红霉素和多柔比星;及博来霉素。

[0194] 放线菌素D(dactinomycin,英文名称还为actinomycin D),商业上可以 COSMEGEN®注射剂得到。放线菌素可用于维尔姆斯瘤和横纹肌肉瘤的治疗。恶心、呕吐和厌食是放线菌素最常见的剂量依赖性副作用。

[0195] 柔红霉素,(8S-顺式)-8-乙酰基-10-[(3-氨基-2,3,6-三脱氧- α -L-来苏-己吡喃糖基(hexopyranosyl))氧基]-7,8,9,10-四氢-6,8,11-三羟基-1-甲氧基-5,12-丁省二酮(naphthacenedione)盐酸盐,商业上可以 DAUNOXOME®脂质体注射剂或 CERUBIDINE®注射剂得到。柔红霉素可在急性非淋巴细胞白血病和晚期HIV相关的卡波西(Kaposi)肉瘤的治疗中用于诱导缓解。骨髓抑制是柔红霉素最常见的剂量依赖性副作用。

[0196] 多柔比星,(8S,10S)-10-[(3-氨基-2,3,6-三脱氧- α -L-来苏-己吡喃糖基)氧基]-8-乙醇酰基-7,8,9,10-四氢-6,8,11-三羟基-1-甲氧基-5,12-丁省二酮盐酸盐,商业上可以 RUBEX®或ADRIAMYCIN RDF®注射液得到。多柔比星主要用于急性成淋巴细胞性白血病和急性成髓细胞性白血病的治疗,但也可用作治疗某些实体瘤和淋巴瘤的组分。骨髓抑制是多柔比星最常见的剂量依赖性副作用。

[0197] 博来霉素,是从轮丝链霉菌菌株中分离出来的细胞毒素糖肽类抗生素的混合物,商业上可以 BLENOXANE®得到。博来霉素可作为单独的药剂或与其它药剂组合,用于鳞状细胞癌、淋巴瘤和睾丸癌的姑息疗法。肺部和表皮毒性是博来霉素最常见的剂量依赖性副作用。

[0198] 拓扑异构酶II抑制剂包括但不限于表鬼臼毒素。

[0199] 表鬼臼毒素是来源于曼德拉草(mandrake)植物的相位特异性的抗肿瘤药剂。表鬼臼毒素通常通过与拓扑异构酶II和DNA形成三元络合物,导致DNA链断裂来影响处于细胞周期的S和G₂期的细胞。链断裂物积聚,接着细胞死亡。表鬼臼毒素的实例包括但不限于依托泊苷和替尼泊苷。

[0200] 依托泊苷,4'-去甲基-表鬼臼毒素9[4,6-O-(R)-亚乙基- β -D-葡糖吡喃糖苷],商业上可以 VePESID®注射液或胶囊得到,并且常称之为VP-16。依托泊苷可作为单独的药剂或与其它化疗剂组合,用于治疗睾丸癌和非小细胞肺癌。骨髓抑制是依托泊苷最常见的

副作用。白血球减少症的发生率往往比血小板减少症的发生率更严重。

[0201] 替尼泊昔,4'-去甲基-表鬼臼毒素9[4,6-O-(R)-噻吩亚甲基-β-D-葡萄糖吡喃糖昔],商业上可以VUMON®注射液得到,并且常称之为VM-26。替尼泊昔可作为单独的药剂或与其它化疗剂组合,用于治疗儿童急性白血病。骨髓抑制是替尼泊昔最常见的剂量依赖性副作用。替尼泊昔可引起白血球减少症和血小板减少症。

[0202] 抗代谢类抗肿瘤药剂是相位特异性的抗肿瘤药剂,其作用于细胞周期的S期(DNA合成),抑制DNA的合成,或者通过抑制嘌呤或嘧啶碱基的合成进而限制DNA的合成。因此,S期不能继续下去,接着发生细胞死亡。抗代谢类抗肿瘤药剂的实例包括但不限于氟尿嘧啶、甲氨蝶呤、阿糖胞苷、巯嘌呤(mecaptoperine)、硫鸟嘌呤和吉西他滨。

[0203] 5-氟尿嘧啶,5-氟-2,4-(1H,3H)嘧啶二酮,商业上可以氟尿嘧啶得到。5-氟尿嘧啶的给药导致胸苷酸合成的抑制,并且还插入到RNA和DNA中。结果通常是细胞死亡。5-氟尿嘧啶可作为单独的药剂或与其它化疗剂组合,用于治疗乳腺癌、结肠癌、直肠癌、胃癌和胰腺癌。骨髓抑制和粘膜炎是5-氟尿嘧啶的剂量依赖性副作用。其它的氟嘧啶类似物包括5-氟脱氧尿嘧啶核苷(氟尿苷)和5-氟脱氧尿苷一磷酸。

[0204] 阿糖胞苷,4-氨基-1-β-D-阿糖呋喃基(arabinofuranosyl)-2(1H)-嘧啶酮,商业上可以CYTOSAR-U®得到,并且常称之为Ara-C。据信,阿糖胞苷在S-期具有细胞期相专一性(cell phase specificity),其通过将阿糖胞苷末端插入到生长的DNA链中而抑制DNA链的延长。阿糖胞苷可作为单独的药剂或与其它化疗剂组合,用于治疗急性白血病。其它的胞嘧啶类似物包括5-阿扎胞苷和2',2'-二氟脱氧胞苷酸(吉西他滨)。阿糖胞苷引起白血球减少症、血小板减少症和粘膜炎。

[0205] 巍嘌呤,1,7-二氢-6H-嘌呤-6-硫酮一水合物,商业上可以PURINETHOL®得到。巍嘌呤在S-期具有细胞期相专一性,其通过至今尚未清楚的机理抑制DNA的合成。巍嘌呤可作为单独的药剂或与其它化疗剂组合,用于治疗急性白血病。预期骨髓抑制和胃肠粘膜炎是高剂量巍嘌呤的副作用。可使用的巍嘌呤类似物是硫唑嘌呤。

[0206] 硫鸟嘌呤,2-氨基-1,7-二氢-6H-嘌呤-6-硫酮,商业上可以TABLOID®得到。硫鸟嘌呤在S-期具有细胞期相专一性,其通过至今尚未清楚的机理抑制DNA的合成。硫鸟嘌呤可作为单独的药剂或与其它化疗剂组合,用于治疗急性白血病。骨髓抑制,包括白血球减少症、血小板减少症和贫血是给药硫鸟嘌呤最常见的剂量依赖性副作用。然而,还发生胃肠副作用,而且该副作用可能是剂量限制性的。其它的嘌呤类似物包括喷司他丁、赤羟基壬基腺嘌呤(erythro hydroxynonyl adenine)、磷酸氟达拉滨和克拉屈滨。

[0207] 吉西他滨,2'-脱氧-2',2'-二氟胞嘧啶一盐酸盐(β-异构体),商业上可以GEMZAR®得到。吉西他滨在S-期具有细胞期相专一性,其阻断细胞通过G1/S边界的进化。吉西他滨可与顺铂组合,用于治疗局部的晚期非小细胞肺癌,也可以单独地用于治疗局部的晚期胰腺癌。骨髓抑制,包括白血球减少症、血小板减少症和贫血是给药吉西他滨最常见的剂量依赖性副作用。

[0208] 甲氨蝶呤,N-[4[[2,4-二氨基-6-蝶啶基]甲基]甲基氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酸,商业上可以甲氨蝶呤钠得到。甲氨蝶呤在S-期具有细胞期相专一性作用,其通过抑制合成嘌呤核苷酸和胸苷酸所需的脱氢叶酸还原酶(dihydrofolate reductase)来抑制DNA

的合成、修复和/或复制。甲氨蝶呤可作为单独的药剂或与其它化疗剂组合,用于治疗绒毛膜癌、脑膜白血病、非霍奇金淋巴瘤以及乳腺癌、头癌、颈癌、卵巢癌和膀胱癌。预期骨髓抑制(白血球减少症、血小板减少症和贫血)及粘膜炎是给药甲氨蝶呤的副作用。

[0209] 喜树碱,包括喜树碱和喜树碱衍生物,其可作为拓扑异构酶I抑制剂来使用或开发。据信,喜树碱细胞毒素活性与其拓扑异构酶I抑制活性相关。喜树碱的实例包括但不限于伊立替康、托泊替康,及下述7-(4-甲基哌嗪子基-亚甲基)-10,11-亚乙二氧基-20-喜树碱的各种旋光形式。

[0210] 伊立替康HCl,(4S)-4,11-二乙基-4-羟基-9-[(4-哌啶子基哌啶子基) 羰基氧基]-1H-吡喃并[3',4',6,7]呡嗪并[1,2-b]喹啉-3,14(4H,12H)-二酮盐酸盐,商业上可以CAMPTOSAR®注射液得到。

[0211] 伊立替康是喜树碱的衍生物,其与其活性代谢物SN-38一起结合在拓扑异构酶I-DNA络合物上。据信,由于双链不可修复的(irreparable)断裂,导致出现细胞毒性,所述断裂是由拓扑异构酶I:DNA:伊立替康或SN-38三元络合物与复制酶之间的相互作用引起的。伊立替康可用于治疗结肠或直肠的转移癌。伊立替康HCl的剂量依赖性副作用是骨髓抑制,包括嗜中性白血球减少症,以及包括腹泻的胃肠道效应。

[0212] 托泊替康HCl,(S)-10-[(二甲基氨基) 甲基]-4-乙基-4,9-二羟基-1H-吡喃并[3',4',6,7]呡嗪并[1,2-b]喹啉-3,14-(4H,12H)-二酮一盐酸盐,商业上可以HYCAMTIN®注射液得到。托泊替康是喜树碱的衍生物,其与拓扑异构酶I-DNA络合物结合,并阻止单链断裂的再连接,所述单链断裂是拓扑异构酶I响应DNA分子的扭曲张力(torsional strain)所引起的。托泊替康用于卵巢转移癌和小细胞肺癌的二线治疗。托泊替康HCl的剂量依赖性副作用是骨髓抑制,主要是嗜中性白血球减少症。

[0213] 药物组合物可存在于每单位剂量含有预定量的活性成分的单位剂量形式中。该单位依据所治疗的疾病、给药途径和患者的年龄、体重和状况,可含有,例如,0.5mg-1g,优选1mg-700mg,更优选5mg-100mg的式(I)化合物或药物组合物可存在于每单位剂量含有预定量的活性成分的单位剂量形式中。优选的单位剂量组合物是含有如上文所述的日剂量或亚剂量或其适当分数的那些。此外,该药物组合物可通过药学领域熟知的任意方法制备。

[0214] 药物组合物可适于任意合适的途径的给药,例如,口服(包括口腔或舌下)、直肠、鼻、局部(包括口腔、舌下或透皮)、阴道或胃肠外(包括皮下、肌内、静脉内或真皮内)途径。该组合物可通过药物领域已知的任意方法制备,例如,通过将式(I)化合物与载体(一种或多种)或赋形剂(一种或多种)组合。

[0215] 适用于口服给药的药物组合物可为离散单位,例如片剂或胶囊;粉剂或颗粒;水性或非水性液体中的溶液或混悬液;食用泡沫或泡沫;水包油的液体乳液或油包水的液体乳液。

[0216] 胶囊是通过以下制备的:如上所述制备粉末混合物并填充到成形的明胶鞘中。可在填充操作前,将助流剂和润滑剂,例如胶体二氧化硅、滑石、硬脂酸镁、硬脂酸钙、固体聚乙二醇加至该粉末混合物中。还可加入崩解剂或增溶剂,例如琼脂、碳酸钙或碳酸钠,使得当该胶囊被摄取时提高药物的利用度。

[0217] 此外,当需要或必要时,还可将合适的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂掺入到该混合物中。合适的粘合剂包括淀粉、明胶、天然糖(例如葡萄糖或β-乳糖)、玉米甜味剂、天然

和合成树胶(例如阿拉伯胶、黄蓍胶或海藻酸钠)、羧甲基纤维素、聚乙二醇、蜡等。在这些剂型中所用的润滑剂包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。崩解剂包括,但不限于,淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土、黄原胶等。片剂是通过如下制备的,例如,制备粉末混合物、制粒或预压片(slugging)、添加润滑剂和崩解剂并压制而成片。粉末混合物是通过以下制备的,将适当粉碎的化合物与上述稀释剂或碱混合,并任选地,与粘合剂(例如羧甲基纤维素和海藻酸盐)、明胶或聚乙烯吡咯烷酮、溶液延缓剂(例如石蜡)、再吸收加速剂(例如季盐)和/或吸收剂(例如膨润土、高岭土或磷酸二钙)混合。用片剂成形模,通过加入硬脂酸、硬脂酸盐、滑石或矿物油可将该粉末混合物制粒。然后将该润滑的混合物压制而成片。本发明化合物还可与自由流动的惰性载体组合且无需进行制粒或预压步骤而直接压制而成片。可提供由虫胶隔离层、糖或聚合材料的涂层和蜡的抛光涂层组成的澄清不透明的保护涂层。可将染料加至这些涂层以区分不同的单位剂量。

[0218] 口服液(例如溶液、糖浆和酏剂)可以单位剂量形式制备,使得给定量含有预定量的式(I)化合物。糖浆可通过将该化合物溶于适当调味的水溶液中进行制备,而酏剂通过使用无毒醇媒介物制备。混悬液可通过将该化合物分散于无毒媒介物中进行配制。还可加入增溶剂和乳化剂(例如乙氧基化的异硬脂醇和聚氧乙烯山梨醇醚)、防腐剂、味道添加剂(例如薄荷油)、天然甜味剂、糖精或其他人造甜味剂等。

[0219] 在适当情况下,可将用于口服给药的剂量单位药物组合物微胶囊化。该制剂还可通过将微粒涂布或包埋于聚合物、蜡等中来制备以延长或维持释放。

[0220] 适用于直肠给药的药物组合物可以栓剂或灌肠剂存在。

[0221] 适用于阴道给药的药物组合物可以阴道栓剂、棉塞、霜剂、凝胶剂、糊剂、泡沫剂或喷雾制剂存在。

[0222] 适用于胃肠外给药的药物制剂包括水性和非水性无菌注射溶液,其可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和溶质,该溶质使得该组合物与预期接受者的血液等渗;和水性和非水性无菌混悬液,其可包含悬浮剂和增稠剂。该药物组合物可存在于单位剂量或多剂量容器中,例如密闭的安瓿和小瓶且可储存于冷冻干燥的(冻干的)条件下,其仅需在使用前立即加入无菌液体载体,例如注射用水。临时注射溶液和混悬液可由无菌粉末、颗粒和片剂制备。

[0223] 应理解,除了上面特别提及的成分,该药物组合物可根据所探讨的制剂类型包含本领域常用的其他试剂,例如适用于口服给药的那些可包含调味剂。

[0224] 本发明化合物的治疗有效量将取决于许多因素,包括,例如,预期接受者的年龄和体重、需要治疗的明确病症和其严重性、该制剂的性质和给药途径且最终由开处方人员慎重决定。但是,治疗贫血的式(I)化合物的有效量的通常范围是每天0.001-100mg/kg接受者体重,适当地范围为每天0.01-10mg/kg体重。对于70kg成年哺乳动物,每天的实际量将适当地为7-700mg且该量可以每日单一剂量给予或以每天若干(例如2、3、4、5或6个)亚剂量给予使得总的每日剂量相同。盐或溶剂合物等的有效量可按式(I)化合物本身有效量的比例来确定。预期的是,类似的剂量将适用于治疗上述其他病症。

[0225] 定义

[0226] 术语以其被接受的含义使用。以下定义旨在阐明,而非限制所定义的术语。

[0227] 本申请所用术语“烷基”表示具有特定碳原子数的饱和、直链或支链烃部分。术语

“(C₁-C₆)烷基”是指含有1-6个碳原子的烷基。示例性的烷基包括,但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基和己基。

[0228] 当术语“烷基”与其他取代基组合使用时,例如“卤代(C₁-C₄)烷基”、“羟基(C₁-C₄)烷基”或“芳基(C₁-C₄)烷基-”,术语“烷基”旨在涵盖二价直链或支链烃基,其中连接点通过烷基部分。术语“卤代(C₁-C₄)烷基”旨在表示在含有1-4个碳原子的烷基(其可以是直链或支链碳基团)的1个或多个碳原子上具有1个或多个可相同或不同的卤素原子的基团。在本发明中所用的“卤代(C₁-C₄)烷基”的实例包括,但不限于,-CF₃(三氟甲基)、-CCl₃(三氯甲基)、1,1-二氟乙基、2,2,2-三氟乙基和六氟异丙基。在本发明中所用的“芳基(C₁-C₄)烷基-”的实例包括,但不限于,苄基(苯基甲基)、1-甲基苄基(1-苯基乙基)、1,1-二甲基苄基(1-苯基异丙基)和苯乙基(2-苯基乙基)。在本发明中所用的“羟基(C₁-C₄)烷基”的实例包括,但不限于,羟基甲基、羟基乙基和羟基异丙基。

[0229] “烷氧基”是指含有上文所定义的烷基的基团,其通过氧连接原子连接。术语“(C₁-C₄)烷氧基”是指具有至少1个和最多4个碳原子的直链或支链烃基,其通过氧连接原子连接。在本发明中所用的示例性的“(C₁-C₄)烷氧基”包括,但不限于,甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、异丁氧基和叔丁氧基。

[0230] 当使用“环烷基”时,其是指含有特定碳原子数的非芳族的、饱和、环状烃环。因此,例如,术语“(C₃-C₈)环烷基”是指具有3-8个碳原子的非芳族的环状烃环。在本发明中所用的示例性的“(C₃-C₈)环烷基”包括,但不限于,环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。

[0231] 本申请所用的术语“环烷基氧基-”是指含有上文定义的环烷基的基团,其通过氧连接原子连接。本发明中所用的示例性的“(C₃-C₈)环烷基氧基-”包括环丙基氧基、环丁基氧基、环戊基氧基、环己基氧基、环庚基氧基和环辛基氧基。

[0232] 本申请所用术语“二环烷基”是指含有特定碳原子数的饱和、桥连、稠合或螺环的双环烃环系统。示例性的“(C₆-C₁₀)二环烷基”包括,但不限于双环[2.1.1]己基、双环[2.1.1]庚基、双环[3.2.1]辛基、双环[2.2.2]辛基、双环[3.2.2]壬基、双环[3.3.1]壬基、双环[3.3.2]癸基、双环[4.3.1]癸基、双环[2.2.0]己基、双环[3.1.0]己基、双环[3.2.0]庚基、双环[4.1.0]庚基、八氢并环戊二烯基(octahydronaphthalenyl)、双环[4.2.0]辛基、十氢萘基、螺[3.3]庚基、螺[2.4]庚基、螺[3.4]辛基、螺[2.5]辛基、螺[4.4]壬基、螺[3.5]壬基和螺[4.5]癸基。

[0233] 术语“卤素”和“卤代”代表氯、氟、溴或碘取代基。“羟基”或“羟基团”旨在表示基团-OH。

[0234] “杂环烷基”代表基团或部分,其包含非芳族的、单价单环或双环基团,其为饱和或部分不饱和的,其含有3-10个环原子,其包含1-3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子,包括N-氧化物、硫氧化物和二氧化物。在本发明中所用的杂环烷基的示例性实例包括,但不限于,氮丙啶基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基、吡唑烷基、吡唑啉基、咪唑烷基、咪唑啉基、噁唑啉基、噻唑啉基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、1,3-二氧戊环基(dioxolanyl)、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫吗啉基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、1,3-二噁烷基、1,4-二噁烷基、1,3-二氧硫杂环戊烷基(oxathiolanyl)、1,3-二氧硫杂环己烷基(oxathianyl)、1,3-二噻烷基、1,4-二噻烷基、六氢-1H-1,4-二氮杂革基(diazepinyl)、氮杂双环[3.2.1]辛基、氮杂双环[3.3.1]壬基、氮杂

双环[4.3.0]壬基、氧杂双环[2.2.1]庚基、1,1-二氧代四氢-2H-噻喃基和1,5,9-三氮杂环癸基。

[0235] 本申请所用术语“杂环烷基氧基-”是指含有上文定义的杂环烷基的基团，其通过氧连接原子连接。在本发明中所用的杂环烷基氧基的示例性实例包括，但不限于，氮丙啶基氧基、氮杂环丁烷基氧基、吡咯烷基氧基、吡唑烷基氧基、吡唑啉基氧基、咪唑烷基氧基、咪唑啉基氧基、噁唑啉基氧基、噻唑啉基氧基、四氢呋喃基氧基、二氢呋喃基氧基、1,3-二氧戊环基氧基、哌啶基氧基、哌嗪基氧基、吗啉基氧基、硫吗啉基氧基、四氢吡喃基氧基、二氢吡喃基氧基、1,3-二噁烷基氧基、1,4-二噁烷基氧基、1,3-二氧杂环戊烷基氧基、1,3-二氧杂环己烷基氧基、1,3-二噻烷基氧基、六氢-1H-1,4-二氮杂基氧基、氮杂双环[3.2.1]辛基氧基、氮杂双环[3.3.1]壬基氧基、氮杂双环[4.3.0]壬基氧基、氧杂双环[2.2.1]庚基氧基、1,1-二氧代四氢-2H-噻喃基氧基和1,5,9-三氮杂环癸基氧基。

[0236] 术语“芳基”是指具有6-14个碳原子并具有至少一个符合Hückel规则的芳香环的单环或稠合的双环基团。芳基的实例包括，但不限于，苯基、萘基、茚基、薁基、芴基、蒽基、菲基、四氢萘基、茚满基、菲啶基等。除非另外提及，否则术语“芳基”还包括芳香烃基各个可能位点的异构体，例如1-萘基、2-萘基、5-四氢萘基、6-四氢萘基、1-菲啶基、2-菲啶基、3-菲啶基、4-菲啶基、7-菲啶基、8-菲啶基、9-菲啶基和10-菲啶基。

[0237] 本申请所用术语“杂芳基”是指芳香环系统，其含有碳(一个或多个)和至少一个选自氮、氧和硫的杂原子，包括N-氧化物。杂芳基可以是取代或未取代的单环或多环。单环杂芳基可在该环上具有1-4个杂原子，而多环杂芳基可含有1-8个杂原子。双环杂芳基环可含有8-10个成员原子。单环杂芳环可含有5-6个成员原子(碳原子和杂原子)。示例性的5-至6-元杂芳基包括，但不限于，呋喃基、苯硫基(thiophenyl)、噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噻唑基、异噻唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、噁唑基、异噁唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、噻二唑基、异噻唑基、四唑基、吡啶基、哒嗪基、吡嗪基、嘧啶基和三嗪基。其他示例性的杂芳基包括，但不限于苯并呋喃基、异苯并呋喃基、2,3-二氢苯并呋喃基、1,3-苯并二氧杂环戊烯基(benzodioxolyl)、二氢苯并二氧杂环己二烯基(dihydrobenzodioxinyl)、苯并噻吩基、吲哚基、吲哚基、异吲哚基、二氢吲哚基、异二氢吲哚基、苯并咪唑基、二氢苯并咪唑基、苯并噁唑基、二氢苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并异噁唑基、二氢苯并异噁唑基、吲唑基、吡咯并吡啶基、吡咯并嘧啶基、咪唑并吡啶基、咪唑并嘧啶基、吡唑并吡啶基、吡唑并嘧啶基、苯并噁二唑基、苯并噁二唑基、苯并三唑基、三唑并吡啶基、嘌呤基、喹啉基、四氢喹啉基、异喹啉基、四氢异喹啉基、喹喔啉基、噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、1,5-萘啶基、1,6-萘啶基、1,7-萘啶基、1,8-萘啶基和蝶啶基。

[0238] 本申请所用术语“氰基”是指基团-CN。

[0239] 本申请所用术语“任选地”是指随后描述的事件可能发生或不发生，且包括发生的事件和不发生的事件。

[0240] 除非另外提及，否则本申请所用短语“任选取代的”或其变体表示被一个或多个取代基任选取代，包括多取代程度。该短语不应被理解成重复本申请所述和描绘的取代基。

[0241] 本申请所用术语“治疗”是指在先前患有或确诊的患者或受试者中，减轻具体病症、消除或减少该病症的一种或多种症状、减缓或消除该病症的进展和预防或延迟该病症的复发。

[0242] 本申请所用术语“有效量”是指由例如研究人员或临床医师所探索的将引起组织、系统、动物或人的生物学或医学反应的药物或药剂的量。

[0243] 术语“治疗有效量”是指与未接受该量的相应受试者相比，引起疾病、障碍或副作用的改进的治疗、治愈、预防或改善，或降低疾病或障碍恶化速度的任意量。术语在其范围内还包括提高正常生理功能的有效量。对于在疗法中的用途，治疗有效量的式(I)化合物及其盐可作为化学原料给药。此外，所述活性成分可作为药物组合物存在。

[0244] 化合物的制备

[0245] 缩写

[0246]	Boc ₂ O	一缩二碳酸二叔丁酯
[0247]	CaCl ₂	氯化钙(II)
[0248]	CH ₃ Cl	氯仿
[0249]	CH ₃ CN	乙腈
[0250]	DCE	1,2-二氯乙烷
[0251]	DCM	二氯甲烷
[0252]	DMAP	4-二甲基氨基吡啶
[0253]	DMF	N,N-二甲基甲酰胺
[0254]	DMSO	二甲基亚砜
[0255]	EtOAc	乙酸乙酯
[0256]	EDC	N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐
[0257]	ES	电喷雾
[0258]	Et ₂ O	乙醚
[0259]	EtOAc	乙酸乙酯
[0260]	EtOH	乙醇
[0261]	H	小时
[0262]	HCl	盐酸
[0263]	H ₂ O	水
[0264]	HOAt	1-羟基-7-氮杂苯并三唑
[0265]	HOBT	1-羟基苯并三唑
[0266]	HPLC	高效液相色谱
[0267]	LCMS	液相色谱质谱联用
[0268]	MeOH	甲醇
[0269]	MgCl ₂	氯化镁
[0270]	MgSO ₄	硫酸镁
[0271]	min	分钟
[0272]	MS	质谱
[0273]	NaBH ₄	硼氢化钠
[0274]	NaBH(OAc) ₃	三乙酰氧基硼氢化钠
[0275]	Na ₂ CO ₃	碳酸钠
[0276]	NaHCO ₃	碳酸氢钠

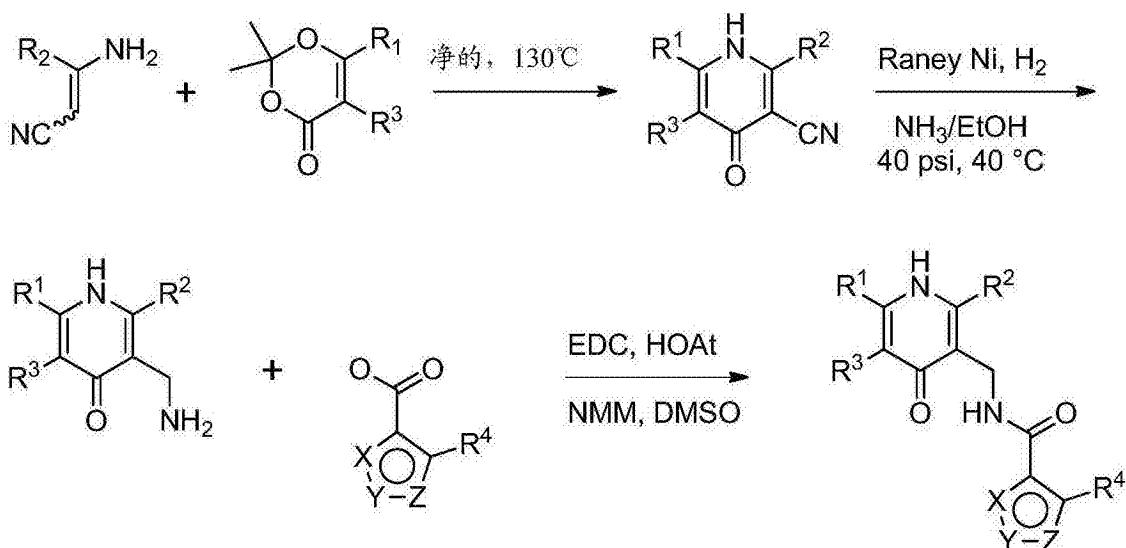
[0277]	NaOH	氢氧化钠
[0278]	Na ₂ S ₂ O ₃	硫代硫酸钠
[0279]	NBS	N-溴琥珀酰亚胺
[0280]	NH ₃	氨
[0281]	NH ₄ Cl	氯化铵
[0282]	NH ₄ OH	氢氧化铵
[0283]	NIS	N-碘琥珀酰亚胺
[0284]	NMM	N-甲基吗啉
[0285]	PyBroP [®]	三吡咯烷基溴化鎳六氟磷酸盐
[0286]	sat.	饱和的
[0287]	TBME	叔丁基甲基醚
[0288]	THF	四氢呋喃
[0289]	TFA	三氟乙酸
[0290]	<u>一般性合成反应式</u>	

[0291] 本发明化合物可通过各种方法,包括熟知的标准合成方法制备。示例性的一般性合成方法如下所示,然后具体的本发明化合物在操作实施例中进行制备。本领域技术人员将理解,如果本申请所描述的取代基与本申请所述的合成方法不一致,则该取代基可用对该反应条件稳定的合适的保护基团进行保护。该保护基团可在反应序列中合适的点进行脱除以提供所需的中间体或目标化合物。在下文所述的全部反应式中,根据合成化学的一般原则,在有必要的位点,使用敏感或反应性基团的保护基团。保护基团根据有机合成的标准方法进行操作(T.W.Green和P.G.M.Wuts,(1991)Protecting Groups in Organic Synthesis,John Wiley&Sons,其保护基团引入本申请作为参考)。使用本领域技术人员熟悉的方法,在该化合物合成的合适的阶段将这些基团脱除。方法及反应条件的选择以及它们的执行顺序应与本发明化合物的制备一致。起始材料是市售可得的或使用本领域技术人员已知的方法从市售可得的起始材料制备的。

[0292] 式(I)化合物可根据反应式1或类似的方法制备。通过加热,将适当取代的3-氨基丙烯腈与适当取代的1,3-二氧杂环己烯-4-酮缩合,得到1,4-二氢吡啶-4-酮。在合适的条件下,例如在氢气氛下,用Raney镍催化剂将该腈还原,然后将所得胺与合适取代的羧酸偶联,得到式(I)化合物。

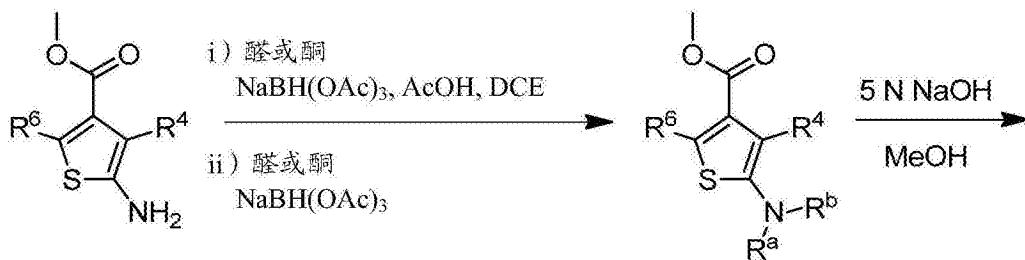
[0293] 反应式1:式(I)化合物的合成。

[0294]

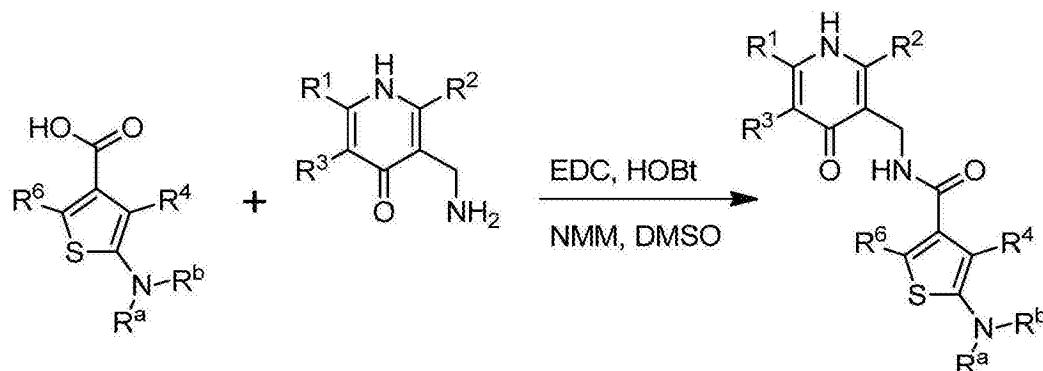


[0295] 根据反应式2或类似的方法,可制备式(I)化合物。用适当取代的醛或酮连续还原烷基化适当取代的5-氨基-噻吩-3-羧酸酯(或其区域异构体)提供取代的胺。皂化该酯,然后使适当取代的胺与所得羧酸偶联,得到式(I)化合物。

[0296] 反应式2:式(I)化合物的合成。



[0297]



[0298] 实验

[0299] 以下准则适用于本申请所述的全部实验操作。除非另外提及,否则所有反应是在正氮气压下,使用烘干的玻璃器具进行的。所指定的温度是外部的(即浴温度)且是近似的。通过注射器转移对空气和湿度敏感的液体。试剂按原样使用。所用的溶剂是那些供应商标注为“无水”的溶剂。溶液试剂所标注的摩尔浓度是近似的且在使用前并未相对于相应的标准进行滴定。除非另外提及,否则所有的反应是通过搅拌棒进行搅拌的。除非另外提及,否则加热是使用含有硅油的加热浴进行的。反应是使用配有Biotage微波EXP小瓶(0.2–20mL)和隔垫和瓶盖的Biotage Initiator™ 2.0,用微波照射(0–400W, 2.45GHz)进行的。基于溶剂和离子电荷所使用的辐射水平(即高、正常、低)是基于供应商的说明。使用干冰/丙酮或

干冰/2-丙醇将温度冷却至-70°C以下。用作干燥剂的硫酸镁和硫酸钠是无水级别的且可互换使用。被描述为“真空”或“减压下”除去的溶剂是通过旋转蒸发完成的。

[0300] 制备型正相硅胶色谱是使用以下进行的：配有RediSep或ISCO Gold硅胶筒(4g-330g)的Teledyne ISCO CombiFlash Companion或配有SF25硅胶筒(4g-3-00g)的Analogix IF280或配有HP硅胶筒(10g-100g)的Biotage SP1。除非另外提及，否则反相HPLC纯化是使用YMC-填充柱(ODS-A 75x30mm)作为固相进行的。除非另外提及，否则使用25mL/min A (CH₃CN-0.1%TFA):B(水-0.1%TFA)的移动相，10-80%梯度A(10min)，在214nm处进行UV检测。

[0301] PE Sciex API 150单四极质谱仪(PE Sciex, Thornhill, Ontario, Canada)是阳离子检测模式下，使用电喷雾电离进行操作。该雾化气体产生自纯气发生器(Balston Inc., Haverhill, MA, USA)并以65psi递送，而所述气帘(curtain gas)是在50psi的高纯氮下从Dewar液氮容器中递送的。施加到电喷雾针上的电压是4.8kV。室口(orifice)设定在25V且质谱仪以0.5次扫描/秒的速率进行扫描，其使用0.2amu的步幅质量并收集分布数据。

[0302] 方法A,LCMS。使用配有hamilton 10uL注射器(其执行向Valco 10通进样阀的注入)的CTC PAL自动采样器(LEAP Technologies, Carrboro, NC)，将样品送入该质谱仪。所述HPLC泵是Shimadzu LC-10ADvp(Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD)，其以0.3mL/min和线性梯度4.5%A至90%B操作3.2分钟，暂停0.4分钟。流动相由容器A中的100%(H₂O 0.02%TFA)和容器B中的100%(CH₃CN 0.018%TFA)组成。固定相是Aquasil(C18)且柱尺寸为1mm x 40mm。检测是由214nm处的UV、蒸发光散射(ELSD)和MS进行的。

[0303] 方法B,LCMS。或者，使用具有LC/MS的Agilent 1100分析型HPLC系统并在1mL/min和线性梯度5%A至100%B操作2.2min，暂停0.4min。流动相由容器A中的100%(H₂O 0.02%TFA)和容器B中的100%(CH₃CN 0.018%TFA)组成。固定相是具有3.5um颗粒尺寸的Zobax(C8)且柱尺寸为2.1mm x 50mm。检测是由214nm处的UV、蒸发光散射(ELSD)和MS进行的。

[0304] 方法C,LCMS。或者，使用配有毛细管柱(50×4.6mm, 5μm)的MDSSCIEX API 2000。HPLC是在配有柱Zorbax SB-C18(50×4.6mm, 1.8μm)的Agilent-1200系列UPLC系统上进行的，其用CH₃CN:醋酸铵缓冲液进行洗脱。该反应是在微波(CEM, Discover)中进行的。

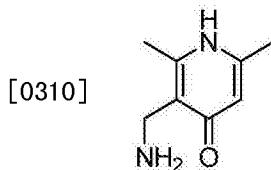
[0305] ¹H-NMR谱在400MHz进行记录，其使用Bruker AVANCE 400MHz仪器，配有ACD Spect manager v.10用于再处理。所指代的多样性为：s=单峰，d=双峰，t=三重峰，q=四重峰，quint=五重峰，sxt=六重峰，m=多重峰，dd=双二重峰，dt=双三重峰等和br表示宽信号。除非另外提及，否则所有NMR是在DMSO-d₆中。

[0306] 分析型HPLC：产物用以下进行分析，Agilent 1100分析型色谱系统，有4.5x 75mm Zorbax XDB-C18柱(3.5um)，梯度从5%CH₃CN(0.1%甲酸)至95%CH₃CN(0.1%甲酸)的H₂O溶液(0.1%甲酸)以2mL/min经4min，和暂停1min。

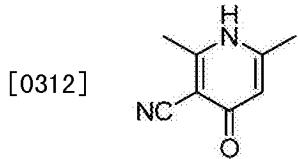
[0307] 中间体

[0308] 中间体1

[0309] 3-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐

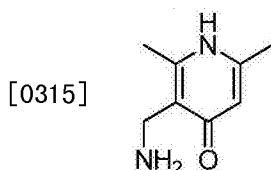


[0311] a)2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-甲腈



[0313] 向250mL圆底烧瓶中加入3-氨基丁-2-烯腈(10.00g,122mmol)、2,2,6-三甲基-4H-1,3-二氧杂环己烯-4-酮(32.4mL,244mmol)和磁力搅拌子。该烧瓶配有回流冷凝器和CaCl₂管并将该反应混合物在130℃加热1h。将该反应冷却至室温并用EtOAc(100mL)稀释。将形成的固体收集,用EtOAc(20mL)洗涤并干燥,得到2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-甲腈(3.5g,19.4%),其为米色固体。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ11.94(br.s.,1H),6.04(s,1H),2.41(s,3H),2.21(s,3H)。MS(ES)[M+H]⁺148.9。

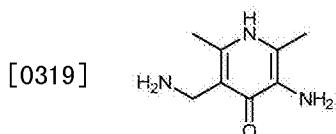
[0314] b)3-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐



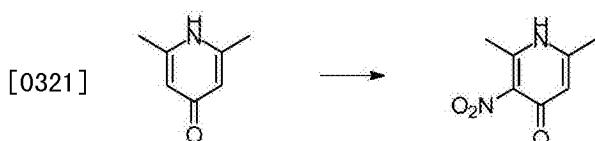
[0316] 向250mL锥形瓶中加入2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-甲腈(360mg,2.430mmol)和冷的2M氨/乙醇(39.5mL,79mmol)中的溶液。加入EtOH(40mL)以溶解剩余反应物。将该溶液通过连续流动氢化反应器(40psi,40℃,1mL/min)上的Raney Ni筒,持续16h。将该反应溶剂真空除去并将残余物溶于EtOH(1mL)和CHCl₃(15mL)中,然后真空浓缩。将残余物溶解并在CHCl₃(2x 15mL)和DCM(15mL)中浓缩。将粘性残余物悬浮于乙醚(30mL)中,并用4M HCl的1,4-二噁烷溶液(10.63mL,42.5mmol)处理。将该混悬液在室温搅拌过夜,之后通过真空过滤收集该白色固体,用Et₂O(10mL)洗涤并在高真空下干燥,得到3-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐(200mg,80%),其为白色固体。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ 6.26(br.s.,1H),3.90(br.s.,2H),2.64(s,1H),2.38(s,3H),2.32(s,3H),1.22-1.30(m,2H)。MS(ES)[M+H]⁺152.9。

[0317] 中间体2

[0318] 3-氨基-5-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮

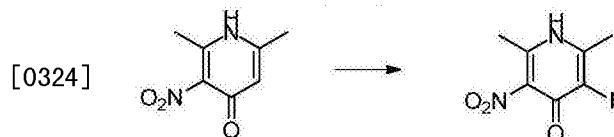


[0320] a)2,6-二甲基-3-硝基吡啶-4(1H)-酮



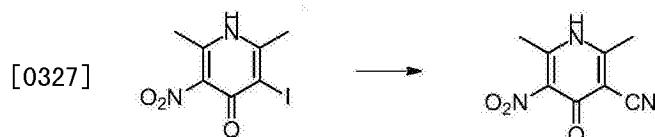
[0322] 历时5min,向冷却的(0℃)硫酸溶液(4.0mL,16.24mmol)中缓慢加入硝酸(发烟)(4.0mL,16.24mmol)。将该混合物搅拌30min,之后历时5min分批加入2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮(2.0g,16.24mmol)。将该反应温热至室温,然后在100℃加热2h,之后将其冷却至室温。将该反应倒至冰(33g)中并将该混合物在冰浴中冷却。加入8M NaOH并将该pH调节至5.3。将固体过滤并收集,得到2,6-二甲基-3-硝基吡啶-4(1H)-酮(440mg,15.79%)。¹H NMR(DMSO-d6) δ 11.84(br.s.,1H), 6.18(s,1H), 2.28(s,3H), 2.22(s,3H)。MS(ES)[M+H]⁺ 168.99。

[0323] b)3-碘-2,6-二甲基-5-硝基吡啶-4(1H)-酮



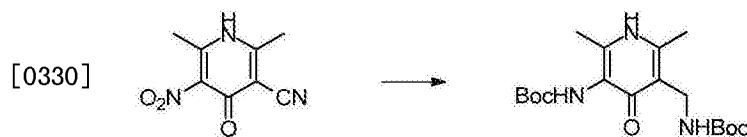
[0325] 向2,6-二甲基-3-硝基吡啶-4(1H)-酮(0.44g,2.62mmol)在乙酸(13mL)中的混合物中加入NIS(0.765g,3.40mmol)。将该反应在105℃加热2h。然后将该反应用冰/水(100mL)淬灭并加入0.1M Na₂S₂O₃(2mL)。将该固体过滤并收集,得到3-碘-2,6-二甲基-5-硝基吡啶-4(1H)-酮(596mg,69.7%)。¹H NMR(DMSO-d6) δ 12.32(br.s.,1H), 2.28-2.31(m,3H)。MS(ES)[M+H]⁺ 294.9。

[0326] c)2,6-二甲基-5-硝基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-甲腈



[0328] 将3-碘-2,6-二甲基-5-硝基吡啶-4(1H)-酮(0.59g,2.006mmol)和氰化亚铜(I)(0.359g,4.01mmol)在N-甲基-2-吡咯烷酮(10mL)中的混合物在125℃加热2h。然后将该反应用冰/饱和NH₄Cl(100mL)淬灭并在冰浴中冷却1h。将该固体过滤并收集,得到2,6-二甲基-5-硝基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-甲腈(176mg,40.9%)。¹H NMR(DMSO-d6) δ 12.78(br.s.,1H), 2.44-2.48(m,3H), 2.30-2.38(m,3H)。MS(ES)[M+H]⁺ 193.9。

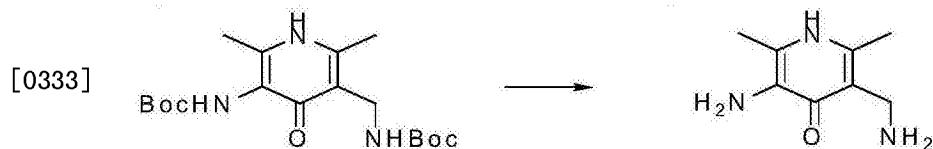
[0329] d){[5-({[(1,1-二甲基乙基)氧基]羰基}氨基)-2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢-3-吡啶基]甲基}氨基甲酸1,1-二甲基乙酯



[0331] 向2,6-二甲基-5-硝基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-甲腈(1.6g,6.21mmol)在MeOH(60mL)中的冷却的(0℃)溶液中加入Boc₂O(4.33mL,18.64mmol)和氯化镍六水合物(0.738g,3.11mmol),然后历时约2min缓慢加入NaBH₄(2.350g,62.1mmol)。将该反应在0℃搅拌10min,然后在室温搅拌过夜。向该混合物中加入二亚乙基三胺(2.70mL,24.85mmol)。将该反应搅拌1h,之后将其用饱和NaHCO₃淬灭,用4:1EtOAc/THF萃取并浓缩。将该残余物溶于MeOH/DCM,吸附于硅胶并用柱色谱纯化(12g硅胶柱;梯度B:10-85%,A:DCM,B:10%MeOH的DCM溶液),得到{[5-({[(1,1-二甲基乙基)氧基]羰基}氨基)-2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢-3-吡啶基]甲基}氨基甲酸1,1-二甲基乙酯(880mg,38.6%)。¹H NMR(DMSO-d6) δ 11.08

(s, 1H), 7.57(br.s., 1H), 6.45(t, J=5.1Hz, 1H), 3.94(d, J=5.3Hz, 2H), 2.24–2.33(m, 2H), 2.08–2.16(m, 4H), 1.40(s, 12H), 1.33–1.37(m, 7H)。MS(ES)[M+H]⁺368.2。

[0332] e)3-氨基-5-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮二盐酸盐

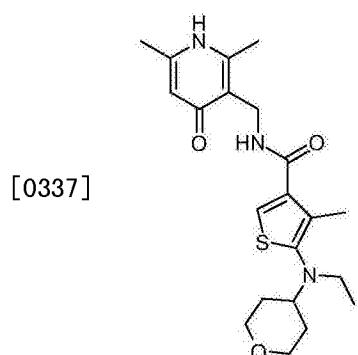


[0334] 向4M HCl/二噁烷溶液(10.18mL, 40.7mmol)中缓慢加入{[5-({[(1,1-二甲基乙基)氨基]羰基}氨基)-2,6-二甲基-4-氧化代-1,4-二氢-3-吡啶基]甲基}氨基甲酸1,1-二甲基乙酯(880mg, 2.395mmol)在EtOAc(25mL)和CH₃C1(5mL)中的溶液。将该反应在40℃加热4h, 之后将其用Et₂O(100mL)稀释并浓缩, 得到3-氨基-5-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮(686mg, 119%), 其为二盐酸盐。¹H NMR(DMSO-d6)δ8.17(br.s., 3H), 3.82–3.92(m, 2H), 2.52(s, 3H), 2.44–2.48(m, 3H), 2.35–2.40(m, 2H)。MS(ES)[M+H]⁺168.0。

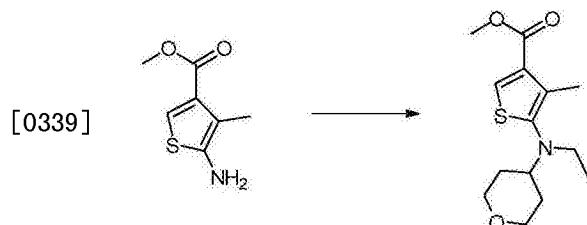
实施例

[0335] 实施例1

[0336] N-((2,6-二甲基-4-氧化代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺



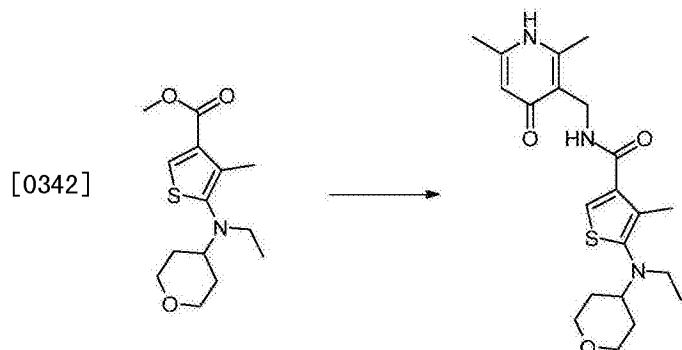
[0338] a)5-(乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯



[0340] 向市售可得的5-氨基-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(500mg, 2.92mmol)在DCE(10mL)中的溶液中加入乙酸(0.334mL, 5.84mmol)和二氢-2H-吡喃-4(3H)-酮(322mg, 3.21mmol)。将该反应在室温保持20min, 之后分批加入NaBH(OAc)₃(2476mg, 11.68mmol)。将该反应搅拌90min。LCMS显示该反应完成。向该反应混合物中加入乙醛(0.198mL, 3.50mmol)和NaBH(OAc)₃(约500mg)。将该反应搅拌1h, 之后将其用饱和NaHCO₃淬灭, 用DCM萃取并浓缩。将该残余物用硅胶色谱纯化(Varian 971IF, 0–50% EtOAc/己烷, SF25–40g, 15分钟), 得到5-(乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(750mg, 89%), 其为褐色油状物。¹H NMR(400MHz, CDCl₃)δ7.95(s, 1H) 3.99(dt, J=10.36, 2.02Hz, 2H) 3.86(s, 3H) 3.37(td, J=

11.87, 2.02Hz, 2H) 2.94–3.04(m, 3H) 2.35(s, 3H) 1.75–1.82(m, 2H) 1.58–1.62(m, 2H) 0.96(t, J=7.20Hz, 3H). MS(ES)[M+H]⁺ 284.0。

[0341] b) N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺

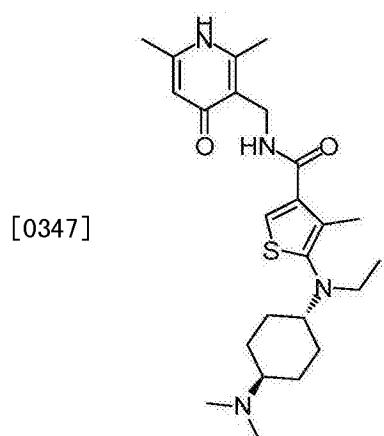


[0343] 向5-(乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(150mg, 0.529mmol)在MeOH中的溶液中加入5N NaOH(0.529mL, 2.65mmol)。将该反应在40℃搅拌2h。将该反应冷却至室温并用6N HCl(0.441mL, 2.65mmol)稀释。将该混合物浓缩,用DCM稀释并再次浓缩。

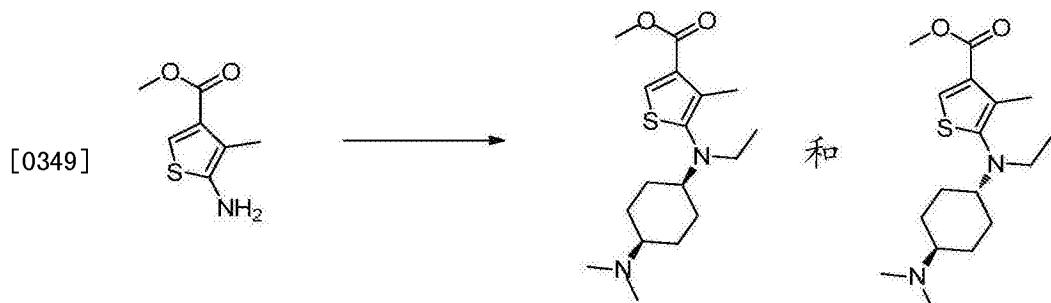
[0344] 向粗制残余物在DMSO(5mL)中的溶液中加入NMM(0.291mL, 2.65mmol)、3-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮(97mg, 0.635mmol)、EDC(122mg, 0.635mmol)、HOBT(97mg, 0.635mmol)和更多的NMM(0.291mL, 2.65mmol)。将该反应保持在室温75h,之后将其用反相HPLC纯化(Gilson; 5–60%CH₃CN/水+0.1%TFA, YMC ODS-A C18柱75x30mm ID S-5um)。将该残余物分配于EtOAc/MeOH和饱和NaHCO₃水溶液之间。将有机层浓缩,用DCM稀释并再次浓缩,得到N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺(95mg, 42.3%),其为灰白色泡沫固体。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆)δ 11.02(br.s., 1H) 7.99(br.s., 1H) 7.64(s, 1H) 5.88(br.s., 1H) 4.18(d, J=5.31Hz, 2H) 3.83(d, J=14.15Hz, 2H) 3.21–3.29(m, 2H) 2.89–2.95(m, 3H) 2.32(s, 3H) 2.14–2.17(m, 6H) 1.68(dd, J=12.25, 1.89Hz, 2H) 1.33–1.44(m, 2H) 0.85–0.89(m, 3H). MS(ES)[M+H]⁺ 404.1。

[0345] 实施例2

[0346] N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺



[0348] a)5-(((顺式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯和5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯



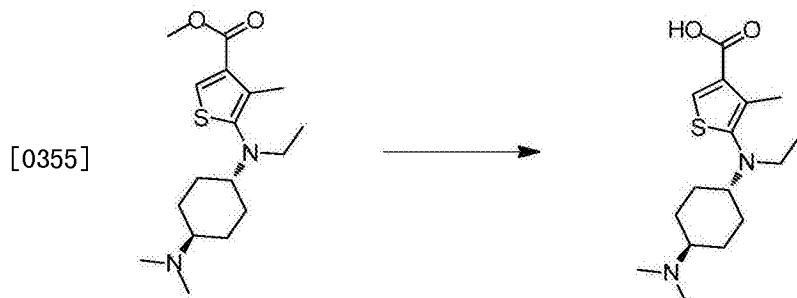
[0350] 向5-氨基-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(800mg, 4.67mmol)在DCE(25mL)中的溶液中加入乙酸(0.535mL, 9.34mmol)和4-(二甲基氨基)环己酮(660mg, 4.67mmol)。将该反应在室温保持40min,之后分批加入NaBH(OAc)₃(3961mg, 18.69mmol)。将该反应在室温搅拌30min,之后加入乙醛(0.317mL, 5.61mmol)和更多NaBH(OAc)₃(990mg, 4.67mmol)。将该反应搅拌1h,之后将其用NaHCO₃淬灭,用DCM萃取并浓缩。将该粗制残余物用反相Gilson HPLC纯化(10-70%CH₃CN/水+0.1%TFA, YMC ODS-A C18柱75x30mm ID S-5um, 12mL柱6min)。将半纯残余物分配于EtOAc和NaHCO₃(饱和水溶液)之间。将有机相浓缩,用DCM稀释并蒸发,得到5-((4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(顺式和反式异构体的混合物),其为棕色油状物。MS(ES)[M+H]⁺325.1。

[0351] 该顺式和反式异构体用手性HPLC分离(Gilson; IC 20x 250mm柱; 20mL/min; 5:95EtOH:庚烷),得到:

[0352] 5-(((顺式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(180mg, 11.87%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃)δ7.93(s, 1H)3.85(s, 3H)2.94-3.00(m, 3H)2.37(s, 3H)2.28(s, 6H)2.16(br. s., 1H)1.83-1.91(m, 2H)1.71-1.80(m, 2H)1.44-1.51(m, 4H)0.93(t, J=7.20Hz, 3H)。MS(ES)[M+H]⁺325.2。

[0353] 5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(387mg, 25.5%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃)δ7.91(s, 1H)3.85(s, 3H)2.98(q, J=7.07Hz, 2H)2.31(s, 3H)2.24-2.28(m, 6H)2.10(m, J=10.89, 7.36, 3.51, 3.51Hz, 1H)1.98(d, J=10.11Hz, 2H)1.89-1.93(m, 2H)1.20-1.32(m, 4H)0.93(t, J=7.07Hz, 3H)。MS(ES)[M+H]⁺325.2。

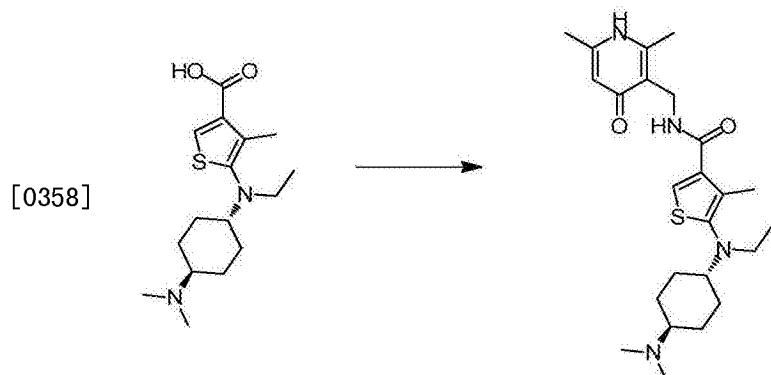
[0354] b)5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸



[0356] 向5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(380mg, 1.71mmol)在MeOH中的溶液中加入5N NaOH(1.71mL, 5.86mmol)。将该混合物在37℃

搅拌过夜,之后加入6N HCl(1.05mL)。将该混合物浓缩,得到5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸(690mg,95%),其为固体。MS(ES)[M+H]⁺311.2。

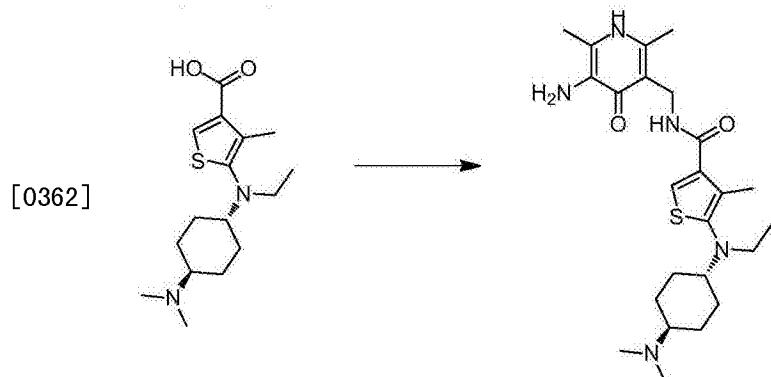
[0357] c) N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺



[0359] 向5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸(150mg,0.483mmol)在DMSO(5mL)中的溶液中加入NMM(0.266mL,2.416mmol)和3-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮(88mg,0.580mmol),然后加入EDC(185mg,0.966mmol)、HOEt(148mg,0.966mmol)和更多的NMM(0.266mL,2.416mmol)。将该反应在室温搅拌12h。将该反应通过反相HPLC直接纯化(Gilson,5-55%CH₃CN/水+0.1%TFA,YMC ODS-A C18柱75x 30mm ID S-5um,12nM柱)。将该残余物分配于EtOAc/MeOH和0.1N NaOH之间。将该有机相浓缩,用DCM稀释并再次浓缩,得到N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺(80mg,35.4%),其为灰白色泡沫固体。¹H NMR(600MHz,DMSO-d₆)δ0.85(t,J=6.80Hz,3H)1.11-1.24(m,4H)1.77(d,J=9.82Hz,2H)1.86(d,J=9.82Hz,2H)2.05(d,J=8.69Hz,1H)2.12(br.s.,3H)2.14(br.s.,6H)2.15(br.s.,3H)2.31(s,3H)2.66(br.s.,1H)2.91(q,J=6.80Hz,2H)4.17(d,J=4.15Hz,2H)5.87(br.s.,1H)7.59(s,1H)7.94(br.s.,1H)11.01(br.s.,1H).MS(ES)[M+H]⁺445.3。另外的NMR研究(NOE)确定了该反式几何构型。

[0360] 实施例3

[0361] N-((5-氨基-2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺

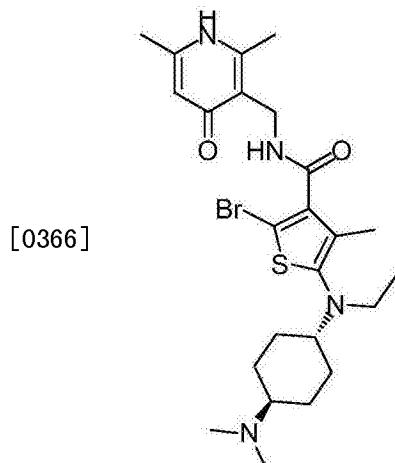


[0363] 向5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸(170mg,0.274mmol)在DMSO(3mL)中的溶液中加入3-氨基-5-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-

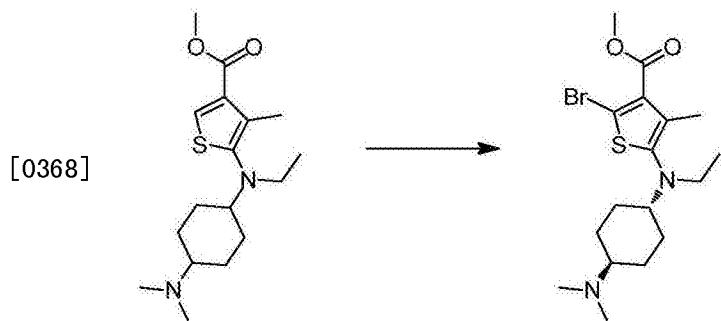
4(1H)-酮二盐酸盐(79mg, 0.324mmol)、HOAt(45mg, 0.329mmol)和EDC(63mg, 0.329mmol), 然后加入NMM(2.196mL, 19.97mmol)。将该反应在室温搅拌2h, 之后加入水(2mL)并将该反应静置过夜。将该反应通过制备型HPLC直接纯化(Gilson; 梯度B:8–45%, A:水+0.1%TFA, B:CH₃CN+0.1%TFA)。将所得残余物溶于MeOH/DCM和TEA(0.3ml)中, 吸附于硅胶上并用柱色谱纯化(4g硅胶柱; 梯度B:25–100%, A:DCM, B:90/10/1的CHCl₃/MeOH/NH₄OH)。将残余物通过用CH₃CN, 然后用TBME蒸发从而固化, 得到N-((5-氨基-2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺(51mg, 39%)。¹H NMR(DMSO-d₆)δ10.82(s, 1H), 8.01(t, J=5.1Hz, 1H), 7.58(s, 1H), 4.15–4.30(m, 4H), 2.90(q, J=6.9Hz, 2H), 2.65(d, J=3.3Hz, 1H), 2.29(s, 3H), 2.07–2.18(m, 12H), 2.01(br.s., 1H), 1.85(d, J=10.1Hz, 2H), 1.76(d, J=9.9Hz, 2H), 1.12–1.25(m, 4H), 0.84(t, J=6.9Hz, 3H)。MS(ES)[M+H]⁺460.3。

[0364] 实施例4

[0365] 2-溴-N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺



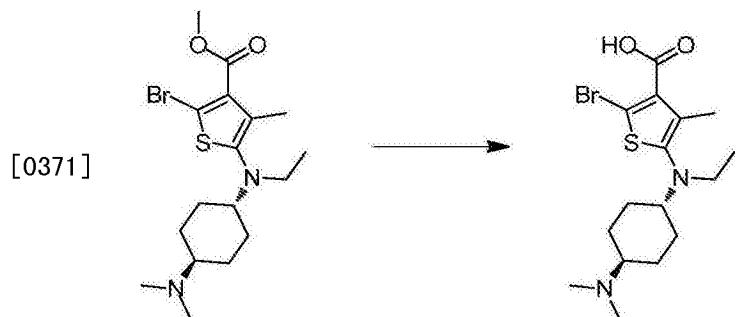
[0367] a) 2-溴-5-(((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯



[0369] 将5-((4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(5.21g, 16.06mmol)在DMF(32mL)中的溶液用NBS(4.00g, 22.48mmol)处理并在室温氩气下搅拌30min。将该反应用水(10mL)和饱和Na₂CO₃溶液(pH 9, 1mL)稀释。将所得混悬液用EtOAc(3x 75mL)萃取。将有机相用水(50mL)洗涤, 用MgSO₄干燥并在硅胶上浓缩。将该物质在24g硅胶的ISCO®Combiflash Rf上纯化, 使用梯度CHCl₃:MeOH(含有1%NH₄OH)(0–15%)。将产物级分合并并浓缩, 得到2-溴-5-((4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸。

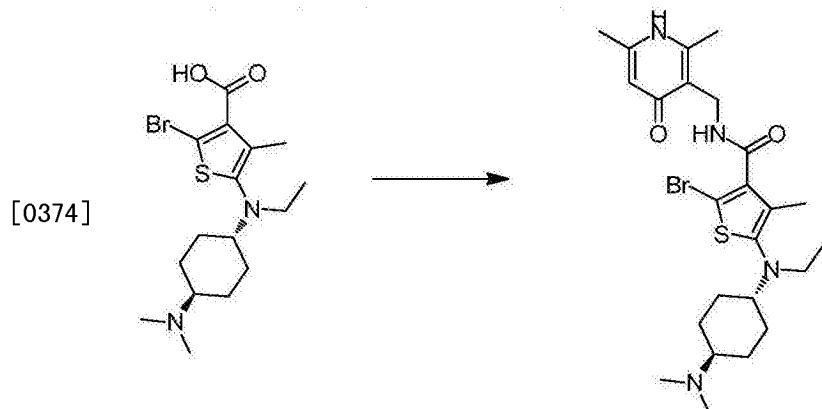
甲酯(3.83g),其为顺式和反式环己基异构体的混合物。然后将该混合物用HPLC分离(Chiraldpak AD-H,5微米,50mm x 250mm,97:3:0.1CH₃CN:异丙醇:异丙胺,100mL/min),得到2-溴-5-((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(2.64g,6.41mmol,39.9%产率),其为橙色油。¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ3.90(s,3H)2.94(q,J=7.07Hz,2H)2.64-2.77(m,1H)2.27(s,6H)2.21(s,3H)2.05-2.16(m,1H)1.89-2.00(m,4H)1.16-1.34(m,4H)0.96(t,J=7.07Hz,3H)。MS(ES)[M+H]⁺403,405。

[0370] b)2-溴-5-((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸



[0372] 将2-溴-5-((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸甲酯(0.150g,0.372mmol)在MeOH(1.5mL)和THF(0.300mL)中的溶液用6M NaOH(0.310mL,1.859mmol)处理。将该反应在45℃油浴中加热18h。将该反应用5M HCl(0.372mL,1.859mmol)中和并浓缩至干。MS(ES)[M+H]⁺389。

[0373] c)2-溴-N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺



[0375] 将2-溴-5-((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酸(0.145g,0.372mmol)、3-(氨基甲基)-2,6-二甲基吡啶-4(1H)-酮盐酸盐(0.070g,0.372mmol)和DMAP(4.55mg,0.037mmol)在DMSO(2mL)中的混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(0.260mL,1.490mmol),然后加入PyBroP[®](0.191g,0.410mmol)。将该反应在室温氩气下搅拌。LCMS显示了产物与起始原料的2:1混合物。将该反应用MeOH(1mL)稀释并过滤。将该残余物通过制备型HPLC纯化(Waters Sunfire 30x150mm柱;10-40%CH₃CN/0.1%TFA于水中),得到2-溴-N-((2,6-二甲基-4-氧代-1,4-二氢吡啶-3-基)甲基)-5-((反式)-4-(二甲基氨基)环己基)(乙基)氨基)-4-甲基噻吩-3-甲酰胺(54mg,26%)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ11.03(s,1H)8.20(t,J=4.89Hz,1H)5.87(s,1H)4.20(d,J=4.77Hz,2H)2.88(q,J=6.86Hz,2H)2.62-2.71(m,1H)2.31(s,3H)2.16(s,3H)2.12(s,6H)1.98-2.07(m,1H)1.92(s,

3H)1.85(d,J=10.04Hz,2H)1.77(d,J=11.04Hz,2H)1.07–1.26(m,4H)0.89(t,J=7.03Hz,3H).MS(ES)[M+H]⁺523.2。

[0376] 测定方案1

[0377] 评估了本申请包含的化合物抑制PRC2复合物中EZH2的甲基转移酶活性的能力。人PRC2复合物是通过如下制备的：在SF9细胞中共表达5个成员蛋白(FLAG-EZH2、EED、SUZ12、RbAp48、AEBP2)的每一个，然后共纯化。酶活性是通过闪烁迫近分析法(SPA)测定的，其中将氟代甲基从³H-SAM转移至单核小体组蛋白H3上的赖氨酸残基上，所述单核小体是从HeLa细胞纯化得到的。单核小体在SPA珠上被捕获并将所得信号在ViewLux读板器上读取。

[0378] 部分A. 化合物的制备

[0379] 1. 将固体溶于100%DMSO中制备10mM化合物储液。

[0380] 2. 在384孔板上，将各测试化合物溶于100%DMSO以建立11个点的连续稀释(1:3稀释，最高浓度10mM)，留下第6栏和第18栏作为DMSO对照。

[0381] 3. 将100nL化合物从稀释板分配至反应板(Grenier Bio-One, 384孔, Cat# 784075)。

[0382] 部分B. 试剂的制备

[0383] 制备以下溶液：

[0384] 1.50mM Tris-HCl, pH 8: 每1L碱缓冲液，混合1M Tris-HCl, pH 8(50mL)和蒸馏水(950mL)。

[0385] 2.1x测试缓冲液：每10mL 1x测试缓冲液，混合50mM Tris-HCl, pH8(9958uL), 1M MgCl₂(20uL), 2M DTT(20uL)和10%吐温-20(2uL)以提供50mM Tris-HCl, pH 8, 2mM MgCl₂, 4mM DTT, 0.002% Tween-20的最终浓度。

[0386] 3.2x酶溶液：每10mL 2x酶溶液，混合1x测试缓冲液和PRC2复合物以提供10nM的最终酶浓度。

[0387] 4.SPA珠子混悬液：每1mL的SPA珠混悬液，混合PS-PEI包被的LEADSeeker珠子(40mg)和H₂O(1mL)，以提供40mg/mL的最终浓度。

[0388] 5.2x底物溶液：每10mL 2x底物溶液，混合1x测试缓冲液(9728.55uL), 800ug/mL单核小体(125uL), 1mM冷的SAM(4uL)和7.02uM³H-SAM(142.45uL; 0.55mCi/mL)以提供5ug/mL核小体、0.2uM冷的SAM和0.05uM ³H-SAM的最终浓度。

[0389] 6.2.67x淬灭/珠子混合物：每10mL 2.67x淬灭/珠子混合物，混合ddH₂O(9358uL), 10mM冷的SAM(267uL), 40mg/mL珠子混悬液(375uL)以提供100uM冷的SAM和0.5mg/mL SPA珠子的最终浓度。

[0390] 部分C. 在384孔Grenier Bio-One板中的测试反应

[0391] 化合物的添加

[0392] 1. 将100nL/孔的100x化合物分配至测试孔中(如上所述)。

[0393] 2. 将100nL/孔的100%DMSO分配至第6和18栏，分别用于高对照和低对照。

[0394] 测定

[0395] 1. 将5uL/孔的1x测试缓冲液分配至第18栏(低对照反应)。

[0396] 2. 将5uL/孔的2x酶溶液分配至第1-17、19-24栏。

[0397] 3. 以500rpm旋转该测试板约1分钟。

- [0398] 4. 堆叠该测试板, 覆盖最顶端的板。
- [0399] 5. 在室温, 用该酶孵育该化合物/DMSO 30分钟。
- [0400] 6. 将5uL/孔的2x底物溶液分配至第1-24栏。
- [0401] 7. 以500rpm旋转该测试板约1分钟。
- [0402] 8. 堆叠该测试板, 覆盖最顶端的板。
- [0403] 9. 在室温孵育该测试板1小时。
- [0404] 淬灭/珠子的添加
- [0405] 1. 将5uL/孔的3x淬灭/珠混合物分配至第1-24栏。
- [0406] 2. 用胶带TopSeal密封各测试板的顶部。
- [0407] 3. 以500rpm旋转该测试板约1分钟。
- [0408] 4. 使该板保持平衡>20min。
- [0409] 读板
- [0410] 1. 在Viewlux读板器上读取测试板, 其采用613nm的发射滤片, 300秒的读取时间。
- [0411] 试剂的加入可手动进行或用自动液体处理器进行。
- [0412] *该测试中的最终DMSO浓度为1%。
- [0413] *阳性对照是在第6栏; 阴性对照是在第18栏。
- [0414] *化合物的最终起始浓度为100μM。
- [0415] 结果
- [0416] 抑制百分比是由各化合物浓度相对于DMSO对照计算的并将所得值使用ABASE数据拟合软件包内的标准IC₅₀拟合参数进行拟合。
- [0417] 实施例1-3的化合物通常根据上述或类似的测定进行测试的且被发现是EZH2的抑制剂。根据这种测试测定的具体生物活性列于下表。重复该测试流程可得到略有不同的IC₅₀值。
- [0418]
- | 实施例 | EZH2 IC ₅₀ (nM) |
|-----|----------------------------|
| 1 | 316 |
| 2 | 32 |
| 3 | 32 |
- [0419] 测定方案2
- [0420] 评估了本申请包含的化合物抑制PRC2复合物中EZH2的甲基转移酶活性的能力。人PRC2复合物是通过如下制备的:在SF9细胞中共表达5个成员蛋白(FLAG-EZH2、EED、SUZ12、RbAp48、AEBP2)的每一个,然后共纯化。酶活性是通过闪烁近分析法(SPA)测定的,其中将氚代甲基从³H-SAM转移至由组蛋白H3衍生的生物素化的、未甲基化肽底物上的赖氨酸残基上。该肽在链亲和素包被的SPA珠上被捕获并将所得信号在ViewLux读板器上读取。
- [0421] 部分A. 化合物的制备
- [0422] 4. 将固体溶于100%DMSO中制备10mM化合物原液。
- [0423] 5. 在384孔板上,将各测试化合物溶于100%DMSO以建立11个点的连续稀释(1:4稀释,最高浓度10mM),保留第6栏和第18栏为DMSO对照。
- [0424] 6. 将10nL化合物从稀释板分配至反应板(Corning, 384孔聚苯乙烯NBS, Cat#

3673)。

[0425] 部分B. 试剂的制备

[0426] 制备以下溶液：

[0427] 7.1x碱缓冲液, 50mM Tris-HCl, pH 8, 2mM MgCl₂: 每1L碱缓冲液, 混合1M Tris-HCl, pH 8(50mL), 1M MgCl₂(2mL)和蒸馏水(948mL)。

[0428] 8.1x测试缓冲液: 每10mL 1x测试缓冲液, 混合1x碱缓冲液(9.96mL), 1M DTT(40uL)和10%吐温-20(1uL)以提供50mM Tris-HCl, pH 8, 2mM MgCl₂, 4mM DTT, 0.001% Tween-20的最终浓度。

[0429] 9.2x酶溶液: 每10mL 2x酶溶液, 混合1x测试缓冲液(9.99mL)和3.24uM EZH25成员复合物(6.17uL)以提供1nM的最终酶浓度。

[0430] 10.SPA珠溶液: 每1mL的SPA珠溶液, 混合链亲和素包被的SPA珠(PerkinElmer, Cat#RPNQ0261, 40mg)和1x测试缓冲液(1mL), 以提供40mg/mL的工作浓度。

[0431] 11.2x底物溶液: 每10mL 2x底物溶液, 混合40mg/mL SPA珠溶液(375uL), 1mM生物素化组蛋白H3K27肽(200uL), 12.5uM 3H-SAM(240uL; 1mCi/mL), 1mM冷的SAM(57uL)和1x测试缓冲液(9.13mL)以提供0.75mg/mL SPA珠溶液、10uM生物素化组蛋白H3K27肽, 0.15uM 3H-SAM(~12uCi/mL 3H-SAM)和2.85uM冷的SAM的最终浓度。

[0432] 12.2.67x淬灭溶液: 每10mL 2.67x淬灭溶液, 混合1x测试缓冲液(9.73mL)和10mM冷的SAM(267uL)以提供100uM冷的SAM的最终浓度。

[0433] 部分C. 在384孔Grenier Bio-One板上的测试反应

[0434] 化合物的添加

[0435] 3. 将10nL/孔的1000x化合物加至(stamp)测试孔中(如上所述)。

[0436] 4. 将10nL/孔的100%DMSO加至第6和18栏(分别用于高对照和低对照)。

[0437] 测定

[0438] 10. 将5uL/孔的1x测试缓冲液分配至第18栏(低对照反应)。

[0439] 11. 将5uL/孔的2x底物溶液分配至第1-24栏(注意: 应将底物溶液在分配至基质储存库前混合以确保形成均一珠混悬液)。

[0440] 12. 将5uL/孔的2x酶溶液分配至第1-17栏、19-24栏。

[0441] 13. 在室温培养该反应60分钟。

[0442] 淬灭

[0443] 5. 将6uL/孔的2.67x淬灭溶液分配至第1-24栏。

[0444] 6. 密封各测试板并以500rpm旋转约1分钟。

[0445] 7. 在ViewLux设备中将板避光15-60min。

[0446] 读板

[0447] 2. 在Viewlux读板器上读取测试板, 其采用613nm的发射滤片或无色滤片(暴露300s)。

[0448] 试剂的加入可手动进行或用自动液体处理器进行。

[0449] 结果

[0450] 抑制百分比是由各化合物浓度相对于DMSO对照计算的并将所得值使用ABASE数据拟合软件包内的标准IC₅₀拟合参数进行拟合。

[0451] 实施例2-4的化合物通常根据上述或类似的测定进行测试的且被发现是EZH2的抑制剂。根据所述测试测定的具体生物活性列于下表。重复该测试流程可得到略有不同的IC₅₀值。

[0452]

实施例	EZH2 IC ₅₀ (nM)
2	100
3	16
4	160