

申請日期：

92/31/21

IPC分類

申請案號：

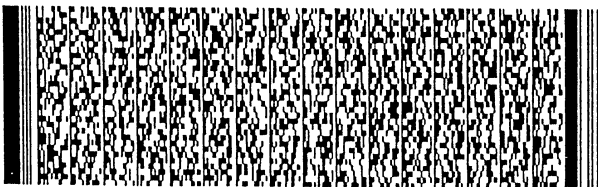
92/05285

(670413/045 A61K31/5065 A61P35/00)

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、 發明名稱	中文	作為新穎之組織蛋白去乙酰酶抑制劑之六氫吡啶-，六氫吡啶-及嗎福啉-衍生物
	英文	Piperazinyl-, piperidinyl- and morpholinyl-derivatives as novel inhibitors of histone deacetylase
二、 發明人 (共1人)	姓名 (中文)	1. 克文恩
	姓名 (英文)	1. Van Emelen Kristof
	國籍 (中英文)	1.
	住居所 (中文)	1. 比利時國比爾斯市賓河街30號
	住居所 (英文)	1. Turnhoutseweg 30, 2340 Beerse, Belgium
三、 申請人 (共1人)	名稱或姓名 (中文)	1. 比商健生藥品公司
	名稱或姓名 (英文)	1. Janssen Pharmaceutica N.V.
	國籍 (中英文)	1. 比利時 BE
	住居所 (營業所) (中文)	1. 比利時國B-2340比爾斯市賓河街30號 (本地址與前向貴局申請者相同)
	住居所 (營業所) (英文)	1. Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium
	代表人 (中文)	1. 寇菲立
	代表人 (英文)	1. Filip De Corte



92046(91ANSEN) .ptd

一、本案已向

國家(地區)申請專利	申請日期	案號	主張專利法第二十四條第一項優先權
美國 US	2002/03/13	60/363,799	有
專利合作條約(PCT)	PC2002/12/23	PCT/EP02/14833	有

二、☐主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

申請案號：

無

日期：

三、主張本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間

日期：

四、☐有關微生物已寄存於國外：

寄存國家：

無

寄存機構：

寄存日期：

寄存號碼：

☐有關微生物已寄存於國內(本局所指定之寄存機構)：

寄存機構：

寄存日期：

無

寄存號碼：

☐熟習該項技術者易於獲得,不須寄存。

五、發明說明 (1)

本發明係有關一種具有組織蛋白去乙醯酶(HDAC)抑制酵素活性之化合物。其並有關其製法、含其之組合物、及其於活體內及活體外抑制 HDAC 之用途及其作為醫藥之用途，例如：作為抑制增生性病徵(如：癌症與乾癬)之醫藥之用途。

所有真核生物細胞中，染色質中之基因組 DNA 與組織蛋白結合形成核體。各核體分別由各組織蛋白質 H2A、H2B、H3 與 H4 之兩套複本形成之蛋白質八聚體組成。DNA 環繞此蛋白質核心，以組織蛋白之鹼性胺基酸與 DNA 之帶負電價磷酸根交互作用。此等組織蛋白核心最常見之轉譯後修飾作用為已保留之高鹼性 N-末端離胺酸殘基之 ϵ -胺基之可逆性乙醯化作用。由組織蛋白乙醯基轉化酶(群)與本文中稱為"HDAC"之組織蛋白去乙醯酶(群)之間競爭形成之動力平衡建立組織蛋白乙醯化作用之穩定狀態。組織蛋白乙醯化作用與去乙醯化作用長久以來即與轉錄控制相關。近來所選殖出編碼不同組織蛋白乙醯基轉化酶及組織蛋白去乙醯酶之基因提供為組織蛋白乙醯化作用與轉錄控制之間關係之可能解釋。組織蛋白之可逆性乙醯化作用可造成染色質再造及作為基因轉錄之控制機轉。通常，組織蛋白之過度乙醯化作用會促使基因表現，而組織蛋白去乙醯化作用則與轉錄壓抑有相關性。已知組織蛋白乙醯基轉化酶具有作為轉錄共活化劑之作用，而組織蛋白去乙醯酶則屬於轉錄壓抑途徑。

組織蛋白乙醯化與去乙醯化之間之動力平衡係正常細

五、發明說明 (2)

胞生長所必需。抑制組織蛋白去乙醯酶則可造成細胞循環停止、細胞分化、細胞凋亡及使轉形之表型逆轉。因此，HDAC 抑制劑在治療細胞增生疾病或病症上具有極大醫療潛力(Marks 等人,Nature Reviews:Cancer 1:194-202,2001)

- 5 有關組織蛋白去乙醯酶(HDAC)之抑制劑研究顯示，此等酵素的確在細胞增生及分化上扮演重要角色。抑制劑三克定 A(Trichostatin A)(TSA)造成 G1 與 G2 期之細胞循環停止，使不同細胞株之已轉形表型反轉，並誘發弗瑞德(Friend)白血病細胞及其他細胞分化。已有文獻指出，
- 10 TSA(與辛二醯基替苯胺異羥肟酸 SAHA)在小白鼠體內，可抑制細胞生長，誘發末端分化，及防止腫瘤形成(Finnin 等人,Nature,401:188-193,1999)。

- 亦有文獻指出，三克定 A 適用於治療纖維變性例如：肝纖維變性與肝硬化(Greets 等人,1998 年 3 月 11 日公告之
- 15 歐洲專利申請案 EP 0 827 742)。

2001 年 5 月 31 日公告之專利申請案 WO 01/38322 特別揭示通式 $Cy-L^1-Ar-Y^1-C(O)-NH-Z$ 之其他組織蛋白去乙醯酶抑制劑，並提供治療細胞增生疾病與病症之組合物與方法。

- 20 2001 年 9 月 27 日公告之專利申請案 WO 01/70675 揭示如式 $Cy^2-Cy^1-X-Y^1-W$ 與 $Cy-S(O)_2-NH-Y^3-W$ 之組織蛋白去乙醯酶抑制劑，並進一步提供治療細胞增生疾病與病症之組合物與方法。

所要解決之問題為提供具有高酵素活性之組織蛋白去

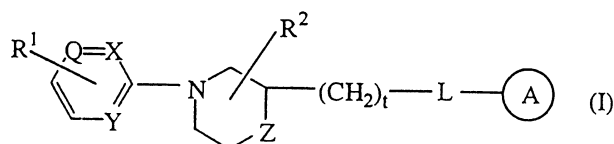
五、發明說明(3)

乙醯酶抑制劑，亦需具備有利性質，如：細胞活性及提高之生體可用率，最好提高口服之生體可用率，且副作用很小或沒有。

本發明新穎化合物可解決上述問題。本化合物之結構式不同於先前技藝。

本發明化合物展現優越之活體外組織蛋白去乙醯酶抑制酵素活性。本化合物在細胞活性上具有有利性質，且針對抑制 G1 與 G2 兩個檢查點之細胞循環發展具有專一性質(p21 誘發能力)。本發明化合物具有良好代謝安定性及高度生體可用率，更特定言之，其展現口服生體可用性。

本發明係有關式(I)化合物



15

其 N-氧化物型、其醫藥上可接受之加成鹽及立體化學異構型，其中

t 為 0、1、2、3 或 4，且當 t 為 0 時，則為一直接鍵結；

各 Q 為氮或 $-C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ ；

20 各 X 為氮或 $-C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ ；

各 Y 為氮或 $-C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ ；

各 Z 為 $-NH$ 、 $-O$ -或 $-CH_2-$ ；

R^1 為 $-C(O)NR^3R^4$ 、 $-NHC(O)NR^7$ 、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷二基 SR^7 、 $-NR^8C(O)N(OH)R^7$ 、 $-NR^8C(O)C_{1-6}$ 烷二基 SR^7 、 $-NR^8C(O)C$

五、發明說明（4）

$=N(OH)R^7$ 或另一個 Zn-螯合基，其中 R^3 與 R^4 分別獨立選自：氫、羥基、 C_{1-6} 烷基、羥基 C_{1-6} 烷基、胺基 C_{1-6} 烷基或胺芳基；

R^7 為氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷羰基、芳基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基吡啶基、吡啶酮、吡咯啉酮或甲基咪唑基；

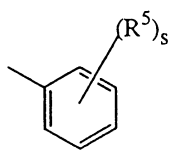
R^8 為氫或 C_{1-6} 烷基；

R^2 為氫、羥基、胺基、羥基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳基 C_{1-6} 烷基、胺羰基、羥羰基、胺基 C_{1-6} 烷基、胺羰基 C_{1-6} 烷基、羥羰基 C_{1-6} 烷基、羥胺羰基、 C_{1-6} 烷氧羰基、 C_{1-6} 烷胺基 C_{1-6} 烷基或二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基；

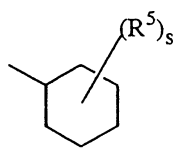
-L- 為選自下列之二價基團： $-NR^9C(O)-$ 、 $-NR^9SO_2-$ 或 $-NR^9CH_2-$ ，其中 R^9 為氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-10} 環烷基、羥基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基或二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基；

— $\bigcirc$ A 為選自下列之基團：

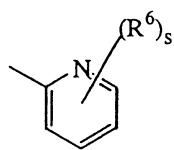
五、發明說明 (5)



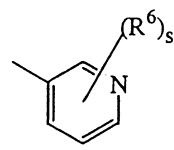
(a-1)



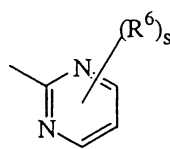
(a-2)



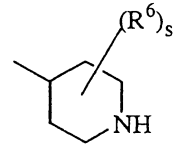
(a-3)



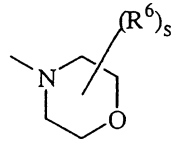
(a-4)



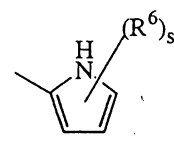
(a-5)



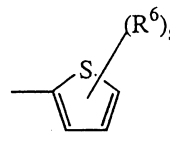
(a-6)



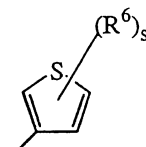
(a-7)



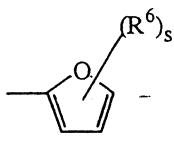
(a-8)



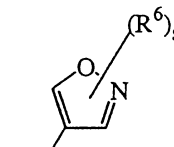
(a-9)



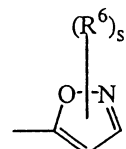
(a-10)



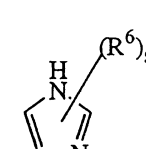
(a-11)



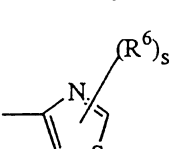
(a-12)



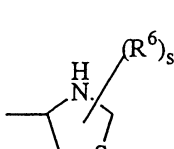
(a-13)



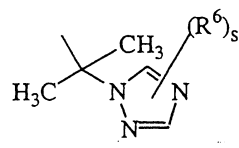
(a-14)



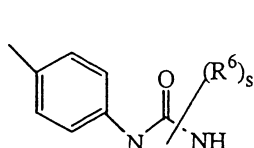
(a-15)



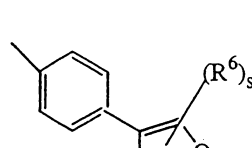
(a-16)



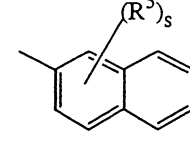
(a-17)



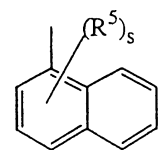
(a-18)



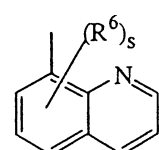
(a-19)



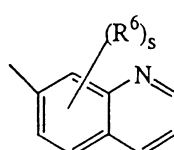
(a-20)



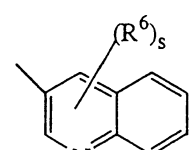
(a-21)



(a-22)

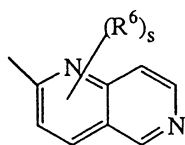


(a-23)

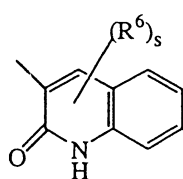


(a-24)

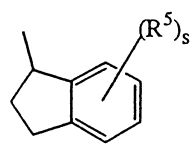
五、發明說明(6)



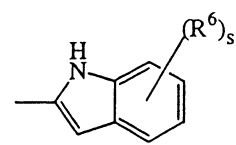
(a-25)



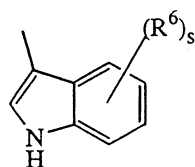
(a-26)



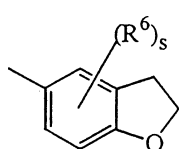
(a-27)



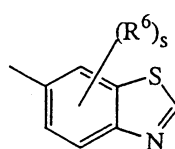
(a-28)



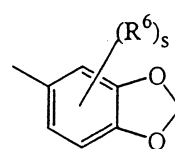
(a-29)



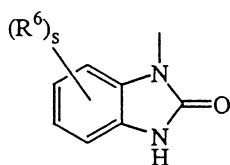
(a-30)



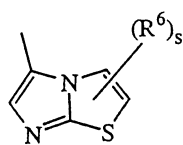
(a-31)



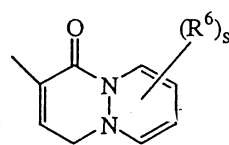
(a-32)



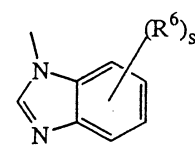
(a-33)



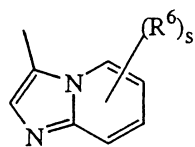
(a-34)



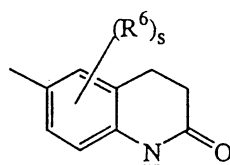
(a-35)



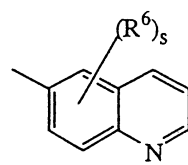
(a-36)



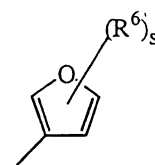
(a-37)



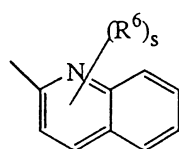
(a-38)



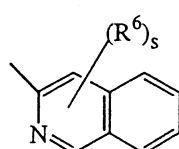
(a-39)



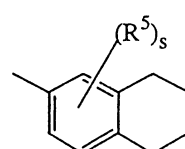
(a-40)



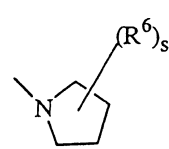
(a-41)



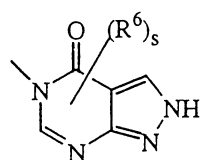
(a-42)



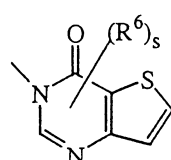
(a-43)



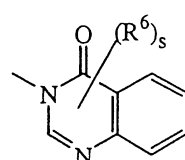
(a-44)



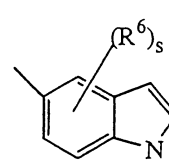
(a-45)



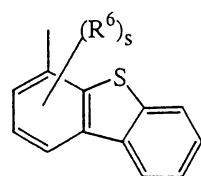
(a-46)



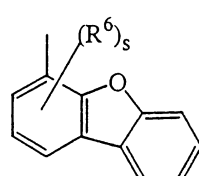
(a-47)



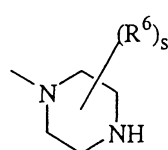
(a-48)



(a-49)



(a-50)



(a-51)

五、發明說明(7)

其中各 s 分別為 0、1、2、3、4 或 5；

各 R^5 與 R^6 分別獨立選自氫；鹵基；羥基；胺基；硝基；

三鹵 C_{1-6} 烷基；三鹵 C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷基；經芳基與

C_{3-10} 環烷基取代之 C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷氧基

5 C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷羰基； C_{1-6} 烷氧羰基； C_{1-6} 烷磺醯

基；氰基 C_{1-6} 烷基；羥基 C_{1-6} 烷基；羥基 C_{1-6} 烷氧基；

羥基 C_{1-6} 烷胺基；胺基 C_{1-6} 烷氧基；二(C_{1-6} 烷基)胺羰

基；二(羥基 C_{1-6} 烷基)胺基；(芳基)(C_{1-6} 烷基)胺基；二

(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷氧基；二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷

10 基；二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷胺基 C_{1-6} 烷基；芳基磺醯

基；芳基磺醯基胺基；芳氧基；芳氧基 C_{1-6} 烷基；芳

基 C_{2-6} 烯二基；二(C_{1-6} 烷基)胺基；二(C_{1-6} 烷基)胺基

C_{1-6} 烷基；二(C_{1-6} 烷基)胺基(C_{1-6} 烷基)胺基；二(C_{1-6} 烷

基)胺基(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基；二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷

15 基(C_{1-6} 烷基)胺基；二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基(C_{1-6} 烷基)

胺基 C_{1-6} 烷基；

胺基磺醯基胺基(C_{1-6} 烷基)胺基；

胺基磺醯基胺基(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基；

二(C_{1-6} 烷基)胺基磺醯基胺基(C_{1-6} 烷基)胺基；

20 二(C_{1-6} 烷基)胺基磺醯基胺基(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基；

氰基；硫苯基；

經下列基團取代之硫苯基：二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基

(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基、二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基、

C_{1-6} 烷基六氫吡啶基 C_{1-6} 烷基、羥基 C_{1-6} 烷基六氫吡啶

五、發明說明(8)

- 基 C_{1-6} 烷基、羥基 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷基、二(C_{1-6} 烷基)胺基磺醯基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基六氫吡咩基、 C_{1-6} 烷氧基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷基、嗎福咩基 C_{1-6} 烷基、羥基 C_{1-6} 烷基(C_{1-6} 烷基)胺基
- 5 C_{1-6} 烷基、或二(羥基 C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基；
- 呋喃基；經羥基 C_{1-6} 烷基取代之呋喃基；苯並呋喃基；
- 咪唑基；嘧啶基；經芳基與 C_{1-6} 烷基取代之嘧啶基； C_{1-6} 烷基三唑基；四唑基；吡咯啉基；吡咯基；六氫吡咩基 C_{1-6} 烷氧基；嗎福咩基； C_{1-6} 烷基嗎福咩基；嗎福
- 10 咩基 C_{1-6} 烷氧基；嗎福咩基 C_{1-6} 烷基；嗎福咩基 C_{1-6} 烷胺基；嗎福咩基 C_{1-6} 烷胺基 C_{1-6} 烷基；六氫吡咩基； C_{1-6} 烷基六氫吡咩基； C_{1-6} 烷基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷氧基；六氫吡咩基 C_{1-6} 烷基；萘磺醯基六氫吡咩基；萘磺醯基六氫吡咩基；萘磺醯基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷基；
- 15 C_{1-6} 烷基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷胺基； C_{1-6} 烷基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷胺基 C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷基六氫吡咩基磺醯基；胺基磺醯基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷氧基；胺基磺醯基六氫吡咩基；胺基磺醯基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷基；二(C_{1-6} 烷基)胺基磺醯基六氫吡咩基；二(C_{1-6} 烷基)胺基磺醯基六氫吡
- 20 咩基 C_{1-6} 烷基；羥基 C_{1-6} 烷基六氫吡咩基；羥基 C_{1-6} 烷基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷氧基六氫吡咩基； C_{1-6} 烷氧基六氫吡咩基 C_{1-6} 烷基；六氫吡咩基胺基 C_{1-6} 烷胺基；六氫吡咩基胺基 C_{1-6} 烷胺基 C_{1-6} 烷基；
- (C_{1-6} 烷基六氫吡咩基)(羥基 C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷胺基；

五、發明說明(9)

(C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基)(羥基 C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷胺基
C₁₋₆ 烷基；

羥基 C₁₋₆ 烷氧基 C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基；

羥基 C₁₋₆ 烷氧基 C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷基

5 (羥基 C₁₋₆ 烷基)(C₁₋₆ 烷基)胺基；(羥基 C₁₋₆ 烷基)(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基；

羥基 C₁₋₆ 烷胺基 C₁₋₆ 烷基；二(羥基 C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基；

吡咯啶基 C₁₋₆ 烷基；吡咯啶基 C₁₋₆ 烷氧基；吡唑基；硫
吡唑基；經選自 C₁₋₆ 烷基或三鹵 C₁₋₆ 烷基中兩個取代基

10 取代之吡唑基；

吡啶基；經 C₁₋₆ 烷氧基、芳氧基或芳基取代之吡啶基；

嘧啶基；四氫嘧啶基六氫吡啶基；四氫嘧啶基六氫吡啶
基 C₁₋₆ 烷基；喹啉基、吲哚基；苯基；經分別獨立選自

15 下列 1、2 或 3 個取代基取代之苯基：鹵基、胺基、硝
基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、羥基 C₁₋₄ 烷基、三氟甲
基、三氟甲氧基、羥基 C₁₋₄ 烷氧基、C₁₋₄ 烷基磺醯基、

C₁₋₄ 烷氧基 C₁₋₄ 烷氧基、C₁₋₄ 烷氧羰基、胺基 C₁₋₄ 烷氧
基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷氧基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基、

二(C₁₋₄ 烷基)胺羰基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷基、二

20 (C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷胺基 C₁₋₄ 烷基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基

(C₁₋₄ 烷基)胺基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄

烷基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷基(C₁₋₄ 烷基)胺基、二

(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷基(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷基、胺基

磺醯基胺基(C₁₋₄ 烷基)胺基、胺基磺醯基胺基(C₁₋₄ 烷基)

五、發明說明 (10)

- 胺基 C₁₋₄ 烷基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基磺醯基胺基(C₁₋₄ 烷基)
 胺基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基磺醯基胺基(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₆
 烷基、氰基、六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷氧基、吡咯啶基 C₁₋₄ 烷
 氧基、胺基磺醯基六氫吡啶基、胺基磺醯基六氫吡啶基
 5 C₁₋₄ 烷基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基磺醯基六氫吡啶基、二(C₁₋₄
 4 烷基)胺基磺醯基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、羥基 C₁₋₄ 烷基
 六氫吡啶基、羥基 C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄
 烷氧基六氫吡啶基、C₁₋₄ 烷氧基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、
 羥基 C₁₋₄ 烷氧基 C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基、羥基 C₁₋₄ 烷氧基
 10 C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、(羥基 C₁₋₄ 烷基)(C₁₋₄ 烷
 基)胺基、(羥基 C₁₋₄ 烷基)(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷基、二
 (羥基 C₁₋₄ 烷基)胺基、二(羥基 C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷
 基、呋喃基、經-CH=CH-CH=CH-取代之呋喃基、吡咯
 啶基 C₁₋₄ 烷基、吡咯啶基 C₁₋₄ 烷氧基、嗎福啉基、嗎福
 15 啉基 C₁₋₄ 烷氧基、嗎福啉基 C₁₋₄ 烷基、嗎福啉基 C₁₋₄ 烷
 胺基、嗎福啉基 C₁₋₄ 烷胺基 C₁₋₄ 烷基、六氫吡啶基、
 C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基、C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷氧
 基、六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷
 基、C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷胺基、C₁₋₄ 烷基六氫吡
 20 啶基 C₁₋₄ 烷胺基 C₁₋₆ 烷基、四氫嘧啶基六氫吡啶基、四
 氫嘧啶基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、六氫吡啶基胺基 C₁₋₄ 烷
 胺基、六氫吡啶基胺基 C₁₋₄ 烷胺基 C₁₋₄ 烷基，
 (C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基)(羥基 C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷胺基，
 (C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基)(羥基 C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷胺基

五、發明說明 (11)

C₁₋₄ 烷基，

吡啶基 C₁₋₄ 烷氧基、羥基 C₁₋₄ 烷胺基、羥基 C₁₋₄ 烷胺基
C₁₋₄ 烷基，

二(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷胺基、胺基噻二唑基，

- 5 胺基磺醯基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷氧基、或硫苯基 C₁₋₄ 烷胺基；
各 R⁵ 與 R⁶ 可置於氮上替代氫；

上述芳基為苯基，或經一個或多個分別獨立選自：鹵基、

C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、三氟甲基、氰基或羥羰基之取代基取代之苯基。

- 10 "組織蛋白去乙醯酶抑制劑"係指可與組織蛋白去乙醯酶
交互作用且可抑制其活性，更特定言之抑制其酵素活性之化
合物。抑制組織蛋白去乙醯酶酵素活性意指降低組織蛋白去
乙醯酶脫除組織蛋白之乙醯基之能力。較佳者，此等抑制作
用為專一性，亦即組織蛋白去乙醯酶抑制劑降低組織蛋白去
15 乙醯酶脫除組織蛋白之乙醯基之能力時所需濃度低於該抑
制劑為了產生一些其他不相關生物效應時所需濃度。

- 如上文與下文中定義所使用之鹵基通指氟、氯、溴與
碘；C₁₋₄ 烷基指含有 1 至 4 個碳原子之直鏈與分支鏈飽和
烴基，如，例如：甲基、乙基、丙基、丁基、1-甲基乙
20 基、2-甲基丙基，等等；C₁₋₆ 烷基包括 C₁₋₄ 烷基及含有 5
至 6 個碳原子之較高碳數同系物，如，例如：戊基、2-甲
基-丁基、己基、2-甲基戊基，等等；C₁₋₆ 烷二基指含有 1
至 6 個碳原子之二價直鏈與分支鏈飽和烴基，如，例如：
亞甲基、1,2-乙二基、1,3-丙二基、1,4-丁二基、1,5-戊二

五、發明說明 (12)

基、1,6-己二基，及其分支之異構物，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；三鹵 C₁₋₆ 烷基指含有三個相同或相異鹵基取代基之 C₁₋₆ 烷基，例如：三氟甲基；C₂₋₆ 烯二基指含有一個雙鍵及 2 至 6 個碳原子之二價直鏈與分支鏈烴基，如，例如：乙烯二基、2-丙烯二基、3-丁烯二基、2-戊烯二基、3-戊烯二基、3-甲基-2-丁烯二基，等等；胺芳基指經胺基取代之芳基；及 C₃₋₁₀ 環烷基包括含有 3 至 10 個碳原子之環狀烴基，如：環丙基、環丁基、環戊基、環戊烯基、環己基、環己烯基、環庚基、環辛基，等等。

"另一個 Zn-螯合劑"指可與 Zn-離子交互作用之基團，其可出現在酵素結合位置。

醫藥上可接受之加成鹽包括醫藥上可接受之酸加成鹽及醫藥上可接受之鹼加成鹽。如上述之醫藥上可接受之酸加成鹽包括式(I)化合物可形成之具醫療活性之無毒性酸加成鹽型。具有鹼性性質之式(I)化合物經過適當酸處理後，可轉化成其醫藥上可接受之酸加成鹽。適當之酸包括例如：無機酸類，如：氫鹵酸，例如：鹽酸或氫溴酸；硫酸；硝酸；磷酸，等等酸類；有機酸類如，例如：乙酸、三氟乙酸、丙酸、羥乙酸、乳酸、丙酮酸、草酸、丙二酸、琥珀酸(亦即丁二酸)、馬來酸、富馬酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、對甲苯磺酸、環己胺磺酸、水楊酸、對胺基-水楊酸、雙羥苯酸，等等酸類。

五、發明說明 (13)

具有酸性性質之式(I)化合物可經過適當有機或無機鹼處理後，轉化成其醫藥上可接受之鹼加成鹽。適當之鹼鹽型包括例如：銨鹽、鹼金屬與鹼土金屬鹽，例如：鋰、鈉、鉀、鎂、鈣鹽等等，與有機鹼形成之鹽例如：雙羥基
5 乙二胺、N-甲基-D-葡糖胺、哈胺青黴素之鹽類，及與胺基酸，如，例如：精胺酸、離胺酸，等等形成之鹽類。

"酸或鹼加成鹽"一詞亦包括式(I)化合物可形成之水合物及溶劑加成型。此等型式之實例為例如：水合物與醇化物，等等。

10 本文所採用"式(I)化合物之立體化學異構型"指由式(I)化合物之相同原子組成相同鍵結順序但具有無法交換之不同立體結構之所有可能化合物。除非另有說明，否則化合物之化學式包括該化合物可能出現之所有可能立體化學異構型之混合物。該混合物可包含該化合物基本分子結構之
15 所有非對映異構物與/或對映異構物。呈純型或其混合物之式(I)化合物之所有立體化學異構型均涵括在本發明範圍內。

式(I)化合物之 N-氧化物型包括彼等式(I)中一個或數個氮原子被氧化成所謂之 N-氧化物之化合物，特定言之，
20 彼等式中一個或多個六氫吡啶基、六氫吡啶基或六氫嗒吡基之氮為 N-氧化之 N-氧化物。

有些式(I)化合物亦可呈其互變異構型。此等型式雖然未出現在上式中，但亦包括在本發明範圍內。

五、發明說明 (14)

本文中若使用"式(I)化合物"一詞時，亦包括醫藥上可接受之加成鹽及所有立體異構型。

本文所採用"組織蛋白去乙醯酶"與"HDAC"意指可自組織蛋白之 N-末端離胺酸殘基之 ϵ -胺基上脫除乙醯基之酶素族群中之任一種。除非本文中另有說明，否則"組織蛋白"一詞意指來自任何物種之任何組織蛋白之蛋白質，包括 H1、H2A、H2B、H3、H4 與 H5。人類 HDAC 蛋白質或基因產物包括(但不限於)：HDAC-1、HDAC-2、HDAC-3、HDAC-4、HDAC-5、HDAC-6、HDAC-7、HDAC-8、HDAC-9 與 HDAC-10。組織蛋白去乙醯酶亦可衍生自原蟲或真菌來源。

第一類值得注意之化合物包括彼等式(I)中符合下列一項或多項限制之化合物：

- a)t 為 0 或 1；
- 15 b)各 Q 為 $-C \leq$ ；
- c)各 X 為氮；
- d) R^1 為 $-C(O)NH(OH)$ ；
- e) R^2 為氫、羥基、 C_{1-6} 烷基或芳基 C_{1-6} 烷基；
- f)-L-為選自 $-NHC(O)$ 或 $-NH SO_2$ -之二價基團；
- 20 g) — $\bigcirc A$ 為選自 (a-1) 或 (a-20) 之基團；
- h)各 s 分別獨立為 0 或 1；
- i)各 R^5 分別獨立選自氫或苯基。

第二類值得注意之化合物包括彼等式(I)中符合下列一項或多項限制之化合物：

五、發明說明 (15)

- a)t 為 1 ;
 b)各 Q 為 $-C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$;
 c)各 X 為 氮 ;
 d)各 Y 為 氮
 5 e)各 Z 為 -O- 或 -CH₂- ;
 f)R¹ 為 -C(O)NH(OH) ;
 g)R² 為 氮 ;
 h)-L- 為選自 -NHC(O) 或 -NH₂SO₂- 之二價基團 ;
 i) —(A)— 為選自 (a-1) 或 (a-20) 之基團 ;
 10 j 各 s 分別獨立為 0 或 1 ;
 k)各 R⁵ 分別獨立選自 氮 或 苯基。

第三類值得注意之化合物包括彼等式(I)中 R¹ 為 -C(O)NH(OH) 之化合物。

- 15 第四類值得注意之化合物包括彼等式(I)中 R¹ 為 -C(O)NH(OH) 且 R² 為 氮 之化合物。

第五類值得注意之化合物包括彼等式(I)中符合下列一項或多項限制之化合物：

- a)t 為 0 ;
 b)R¹ 為 -C(O)NR³R⁴、-C(O)C₁₋₆ 烷二基 SR⁷、-NR⁸C(O)N
 20 (OH)R⁷、-NR⁸C(O)C₁₋₆ 烷二基 SR⁷、-NR⁸C(O)C=N(OH)R⁷ 或另一個 Zn-螯合基，其中 R³ 與 R⁴ 分別獨立選自：氮、羥基、羥基 C₁₋₆ 烷基或胺基 C₁₋₆ 烷基；
 c)R² 為 氮、羥基、胺基、羥基 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、芳基 C₁₋₆ 烷基、胺羰基、胺基 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆

五、發明說明 (16)

烷胺基 C_{1-6} 烷基或二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基；

d)-L-為選自下列之二價基團： $-NHC(O)-$ 或 $-NHSO_2-$ ；

e) — $\textcircled{A}$ 為選自下列之基團： $(a-1)$ 、 $(a-3)$ 、 $(a-4)$ 、 $(a-5)$ 、
 $(a-6)$ 、 $(a-7)$ 、 $(a-8)$ 、 $(a-9)$ 、 $(a-10)$ 、 $(a-11)$ 、 $(a-12)$ 、 $(a-13)$ 、 $(a-14)$ 、 $(a-15)$ 、 $(a-16)$ 、 $(a-17)$ 、 $(a-18)$ 、 $(a-19)$ 、 $(a-20)$ 、 $(a-21)$ 、 $(a-22)$ 、 $(a-23)$ 、 $(a-24)$ 、 $(a-25)$ 、 $(a-26)$ 、 $(a-28)$ 、 $(a-29)$ 、 $(a-30)$ 、 $(a-31)$ 、 $(a-32)$ 、 $(a-33)$ 、 $(a-34)$ 、 $(a-35)$ 、 $(a-36)$ 、 $(a-37)$ 、 $(a-38)$ 、 $(a-39)$ 、 $(a-40)$ 、 $(a-41)$ 、 $(a-42)$ 、 $(a-44)$ 、 $(a-45)$ 、 $(a-46)$ 、 $(a-47)$ 、 $(a-48)$ 或 $(a-51)$ ；

10 f)各 s 分別為 0、1、2、3 或 4；

g) R^5 為氫；鹵基；羥基；胺基；硝基；三鹵 C_{1-6} 烷基；三鹵 C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷羰基； C_{1-6} 烷氧羰基； C_{1-6} 烷磺醯基；羥基 C_{1-6} 烷基；

芳氧基；二(C_{1-6} 烷基)胺基；氰基；硫苯基；呋喃基；經
 15 羥基 C_{1-6} 烷基取代之呋喃基；苯並呋喃基；咪唑基；噁唑基；經芳基與 C_{1-6} 烷基取代之噁唑基； C_{1-6} 烷基三唑基；四唑基；吡咯啉基；吡咯基；嗎福啉基； C_{1-6} 烷基嗎福啉基；六氫吡啶基； C_{1-6} 烷基六氫吡啶基；羥基 C_{1-6} 烷基六氫吡啶基； C_{1-6} 烷氧基六氫吡啶基；吡啶基；經
 20 選自 C_{1-6} 烷基或三鹵 C_{1-6} 烷基中一或兩個取代基取代之吡啶基；吡啶基；經 C_{1-6} 烷氧基、芳氧基或芳基取代之吡啶基；嘧啶基；喹啉基、吲哚基；苯基；或經分別獨立選自：鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基或三氟甲基中之 1 或 2 個取代基取代之苯基；

五、發明說明 (17)

- h) R^6 為氫；鹵基；羥基；胺基；硝基；三鹵 C_{1-6} 烷基；三鹵 C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷羰基； C_{1-6} 烷氧羰基； C_{1-6} 烷磺醯基；羥基 C_{1-6} 烷基；芳氧基；二(C_{1-6} 烷基)胺基；氰基；吡啶基、苯基；或經分別獨立選自：鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基或三氟甲基中之 1 或 2 個取代基取代之苯基。

第六類值得注意之化合物包括彼等式(I)中符合下列一項或多項限制之化合物：

- a) R^3 與 R^4 分別獨立選自：氫、羥基、羥基 C_{1-6} 烷基、胺基 C_{1-6} 烷基或胺芳基；
- b) — $\textcircled{A}$ — 為選自下列之基團：(a-1)、(a-2)、(a-3)、(a-4)、(a-5)、(a-6)、(a-7)、(a-8)、(a-9)、(a-10)、(a-11)、(a-12)、(a-13)、(a-14)、(a-15)、(a-16)、(a-17)、(a-18)、(a-19)、(a-20)、(a-21)、(a-22)、(a-23)、(a-24)、(a-25)、(a-26)、(a-27)、(a-28)、(a-29)、(a-30)、(a-31)、(a-32)、(a-33)、(a-34)、(a-35)、(a-36)、(a-37)、(a-38)、(a-39)、(a-40)、(a-41)、(a-42)、(a-43)或(a-44)；
- c) 各 R^5 與 R^6 分別獨立選自氫；鹵基；羥基；胺基；硝基；三鹵 C_{1-6} 烷基；三鹵 C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷羰基； C_{1-6} 烷磺醯基；氰基 C_{1-6} 烷基；羥基 C_{1-6} 烷基；羥基 C_{1-6} 烷氧基；羥基 C_{1-6} 烷胺基；胺基 C_{1-6} 烷氧基；二(C_{1-6} 烷基)胺羰基；二(羥基 C_{1-6} 烷基)胺基；(芳基)(C_{1-6} 烷基)胺基；二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷氧基；二(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷胺

五、發明說明 (18)

- 基；芳基磺醯基；芳基磺醯基胺基；芳氧基；芳基 C₂₋₆ 烯二基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基；氰基；硫苯基；經下列基團取代之硫苯基：二(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基、二(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷基或二(羥基 C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基；呋喃基；咪唑基；C₁₋₆ 烷基三唑基；四唑基；吡咯啉基；六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷氧基；嗎福啉基；C₁₋₆ 烷基嗎福啉基；嗎福啉基 C₁₋₆ 烷氧基；嗎福啉基 C₁₋₆ 烷基；C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基；C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷氧基；C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷基；C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基磺醯基；胺基磺醯基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷氧基；胺基磺醯基六氫吡啶基；胺基磺醯基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基磺醯基六氫吡啶基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基磺醯基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷基；羥基 C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基；羥基 C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷基；C₁₋₆ 烷氧基六氫吡啶基；C₁₋₆ 烷氧基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷基；羥基 C₁₋₆ 烷氧基 C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基；羥基 C₁₋₆ 烷氧基 C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷基；(羥基 C₁₋₆ 烷基)(C₁₋₆ 烷基)胺基；(羥基 C₁₋₆ 烷基)(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基；吡咯啉基 C₁₋₆ 烷氧基；吡唑基；硫吡唑基；經選自 C₁₋₆ 烷基或三鹵 C₁₋₆ 烷基中兩個取代基取代之吡唑基；吡啶基；經 C₁₋₆ 烷氧基或芳基取代之吡啶基；嘧啶基；

五、發明說明 (19)

- 噻啉基；吡啶基；苯基；經分別獨立選自下列 1、2 或 3
 個取代基取代之苯基：鹵基、胺基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧
 基、羥基 C_{1-4} 烷基、三氟甲基、三氟甲氧基、羥基 C_{1-4}
 烷氧基、 C_{1-4} 烷氧基 C_{1-4} 烷氧基、胺基 C_{1-4} 烷氧基、二
 5 (C₁₋₄ 烷基)胺基 C_{1-4} 烷氧基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基、二(C₁₋₄
 烷基)胺基 C_{1-4} 烷基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基 C_{1-4} 烷基(C₁₋₄ 烷
 基)胺基 C_{1-4} 烷基、六氫吡啶基 C_{1-4} 烷氧基、吡咯啉基
 C₁₋₄ 烷氧基、胺基磺醯基六氫吡啶基、胺基磺醯基六氫
 吡啶基 C_{1-4} 烷基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基磺醯基六氫吡啶基、
 10 二(C₁₋₄ 烷基)胺基磺醯基六氫吡啶基 C_{1-4} 烷基、羥基 C_{1-4}
 烷基六氫吡啶基、羥基 C_{1-4} 烷基六氫吡啶基 C_{1-4} 烷基、
 C₁₋₄ 烷氧基六氫吡啶基、 C_{1-4} 烷氧基六氫吡啶基 C_{1-4} 烷
 基、羥基 C_{1-4} 烷氧基 C_{1-4} 烷基六氫吡啶基、羥基 C_{1-4} 烷
 氧基 C_{1-4} 烷基六氫吡啶基 C_{1-4} 烷基、(羥基 C_{1-4} 烷基)(C₁₋₄
 15 烷基)胺基、(羥基 C_{1-4} 烷基)(C₁₋₄ 烷基)胺基 C_{1-4} 烷基、吡
 咯啉基 C_{1-4} 烷氧基、嗎福啉基 C_{1-4} 烷氧基、嗎福啉基 C_{1-4}
 烷基、 C_{1-4} 烷基六氫吡啶基、 C_{1-4} 烷基六氫吡啶基 C_{1-4} 烷
 氧基、 C_{1-4} 烷基六氫吡啶基 C_{1-4} 烷基、羥基 C_{1-4} 烷胺
 基、二(羥基 C_{1-4} 烷基)胺基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基 C_{1-4} 烷胺
 20 基、胺基噻二唑基、胺基磺醯基六氫吡啶基 C_{1-4} 烷氧
 基、或硫苯基 C_{1-4} 烷胺基。

有一類較佳化合物係由彼等式(I)中如下說明之化合物
 組成：

R^3 與 R^4 分別獨立選自：氫、羥基、羥基 C_{1-6} 烷基、胺基

五、發明說明 (20)

C₁₋₆ 烷基或胺芳基；

- (A) 為選自下列之基團：(a-1)、(a-2)、(a-3)、(a-4)、
(a-5)、(a-6)、(a-7)、(a-8)、(a-9)、(a-10)、(a-11)、(a-
12)、(a-13)、(a-14)、(a-15)、(a-16)、(a-17)、(a-18)、
5 (a-19)、(a-20)、(a-21)、(a-22)、(a-23)、(a-24)、(a-
25)、(a-26)、(a-27)、(a-28)、(a-29)、(a-30)、(a-31)、
(a-32)、(a-33)、(a-34)、(a-35)、(a-36)、(a-37)、(a-
38)、(a-39)、(a-40)、(a-41)、(a-42)、(a-43)或(a-44)；
各 R⁵ 與 R⁶ 分別獨立選自氫；鹵基；羥基；胺基；硝基；
10 三鹵 C₁₋₆ 烷基；三鹵 C₁₋₆ 烷氧基；C₁₋₆ 烷基；C₁₋₆ 烷氧
基；C₁₋₆ 烷氧基 C₁₋₆ 烷氧基；C₁₋₆ 烷羰基；C₁₋₆ 烷磺醯
基；氰基 C₁₋₆ 烷基；羥基 C₁₋₆ 烷基；羥基 C₁₋₆ 烷氧基；
羥基 C₁₋₆ 烷胺基；胺基 C₁₋₆ 烷氧基；二(C₁₋₆ 烷基)胺羰
基；二(羥基 C₁₋₆ 烷基)胺基；(芳基)(C₁₋₆ 烷基)胺基；二
15 (C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷氧基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷胺
基；芳基磺醯基；芳基磺醯基胺基；芳氧基；芳基 C₂₋₆
烯二基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷
基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷
基；氰基；硫苯基；經下列基團取代之硫苯基：二(C₁₋₆
20 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基、二(C₁₋₆ 烷
基)胺基 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷基或二
(羥基 C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基；呋喃基；咪唑基；C₁₋₆
烷基三唑基；四唑基；吡咯啉基；六氫吡啶基 C₁₋₆ 烷氧
基；嗎福啉基；C₁₋₆ 烷基嗎福啉基；嗎福啉基 C₁₋₆ 烷氧

五、發明說明 (21)

- 基；嗎福啉基 C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷基六氫吡啶基； C_{1-6} 烷基六氫吡啶基 C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷基六氫吡啶基 C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷基六氫吡啶基磺醯基；胺基磺醯基六氫吡啶基 C_{1-6} 烷氧基；胺基磺醯基六氫吡啶基；胺基磺醯基六氫吡啶基 C_{1-6} 烷基；二(C_{1-6} 烷基)胺基磺醯基六氫吡啶基；二(C_{1-6} 烷基)胺基磺醯基六氫吡啶基 C_{1-6} 烷基；羥基 C_{1-6} 烷基六氫吡啶基；羥基 C_{1-6} 烷基六氫吡啶基 C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷氧基六氫吡啶基； C_{1-6} 烷氧基六氫吡啶基 C_{1-6} 烷基；羥基 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基六氫吡啶基；
- 5 羥基 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基六氫吡啶基 C_{1-6} 烷基；(羥基 C_{1-6} 烷基)(C_{1-6} 烷基)胺基；(羥基 C_{1-6} 烷基)(C_{1-6} 烷基)胺基 C_{1-6} 烷基；
- 10 吡咯啉基 C_{1-6} 烷氧基；吡啶基；硫吡啶基；經選自 C_{1-6} 烷基或三鹵 C_{1-6} 烷基中兩個取代基取代之吡啶基；吡啶基；經 C_{1-6} 烷氧基或芳基取代之吡啶基；嘧啶基；喹啉基；吡啶基；苯基；經分別獨立選自下列 1、2 或 3 個取代基取代之苯基：鹵基、胺基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羥基 C_{1-4} 烷基、三氟甲基、三氟甲氧基、羥基 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 烷氧基 C_{1-4} 烷氧基、胺基 C_{1-4} 烷氧基、二
- 15 (C_{1-4} 烷基)胺基 C_{1-4} 烷氧基、二(C_{1-4} 烷基)胺基、二(C_{1-4} 烷基)胺基 C_{1-4} 烷基、二(C_{1-4} 烷基)胺基 C_{1-4} 烷基(C_{1-4} 烷基)胺基 C_{1-4} 烷基、六氫吡啶基 C_{1-4} 烷氧基、吡咯啉基 C_{1-4} 烷氧基、胺基磺醯基六氫吡啶基、胺基磺醯基六氫吡啶基 C_{1-4} 烷基、二(C_{1-4} 烷基)胺基磺醯基六氫吡
- 20

五、發明說明(22)

- 基、二(C₁₋₄ 烷基)胺基磺醯基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、羥基 C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基、羥基 C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基六氫吡啶基、C₁₋₄ 烷氧基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、羥基 C₁₋₄ 烷氧基 C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基、羥基 C₁₋₄ 烷氧基 C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、(羥基 C₁₋₄ 烷基)(C₁₋₄ 烷基)胺基、(羥基 C₁₋₄ 烷基)(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷基、吡咯啶基 C₁₋₄ 烷氧基、嗎福啉基 C₁₋₄ 烷氧基、嗎福啉基 C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基、C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷氧基、C₁₋₄ 烷基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷基、羥基 C₁₋₄ 烷胺基、二(羥基 C₁₋₄ 烷基)胺基，
- 二(C₁₋₄ 烷基)胺基 C₁₋₄ 烷胺基、胺基噻二唑基、胺基磺醯基六氫吡啶基 C₁₋₄ 烷氧基、或硫苯基 C₁₋₄ 烷胺基。

另一類較佳化合物係由彼等式(I)中如下說明之化合物組成：

- 15 其中 t 為 0；
- R¹ 為 -C(O)NR³R⁴、-C(O)C₁₋₆ 烷二基 SR⁷、-NR⁸C(O)N(OH)R⁷、-NR⁸C(O)C₁₋₆ 烷二基 SR⁷、-NR⁸C(O)C=N(OH)R⁷ 或另一個 Zn-螯合基，其中 R³ 與 R⁴ 分別獨立選自：氫、羥基、羥基 C₁₋₆ 烷基或胺基 C₁₋₆ 烷基；R²
- 20 為氫、羥基、胺基、羥基 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、芳基 C₁₋₆ 烷基、胺羧基、胺基 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷胺基 C₁₋₆ 烷基或二(C₁₋₆ 烷基)胺基 C₁₋₆ 烷基；
- L-為選自下列之二價基團：-NHC(O)-或-NHSO₂-；
- (A)— 為選自下列之基團：(a-1)、(a-3)、(a-4)、(a-5)、

五、發明說明 (23)

(a-6)、(a-7)、(a-8)、(a-9)、(a-10)、(a-11)、(a-12)、(a-13)、(a-14)、(a-15)、(a-16)、(a-17)、(a-18)、(a-19)、(a-20)、(a-21)、(a-22)、(a-23)、(a-24)、(a-25)、(a-26)、(a-28)、(a-29)、(a-30)、(a-31)、(a-32)、(a-33)、
 5 (a-34)、(a-35)、(a-36)、(a-37)、(a-38)、(a-39)、(a-40)、(a-41)、(a-42)、(a-44)、(a-45)、(a-46)、(a-47)、(a-48)或(a-51)；

各 s 分別為 0、1、2、3 或 4；

R^5 為氫；鹵基；羥基；胺基；硝基；三鹵 C_{1-6} 烷基；三鹵
 10 C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷羰基； C_{1-6} 烷氧羰基； C_{1-6} 烷磺醯基；羥基 C_{1-6} 烷基；
 芳氧基；二(C_{1-6} 烷基)胺基；氰基；硫苯基；呋喃基；
 經羥基 C_{1-6} 烷基取代之呋喃基；苯並呋喃基；咪唑基；
 呋唑基；經芳基與 C_{1-6} 烷基取代之呋唑基； C_{1-6} 烷基三
 15 唑基；四唑基；吡咯啉基；吡咯基；嗎福啉基； C_{1-6} 烷基嗎福啉基；六氫吡啶基； C_{1-6} 烷基六氫吡啶基；羥基
 C_{1-6} 烷基六氫吡啶基； C_{1-6} 烷氧基六氫吡啶基；吡唑
 基；經選自 C_{1-6} 烷基或三鹵 C_{1-6} 烷基中 1 或 2 個取代基
 取代之吡唑基；吡啶基；經 C_{1-6} 烷氧基或芳基取代之吡
 20 啶基；嘧啶基；喹啉基、吲哚基；苯基；或經分別獨立
 選自：鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基或三氟甲基中之 1
 或 2 個取代基取代之苯基；

且 R^6 為氫；鹵基；羥基；胺基；硝基；三鹵 C_{1-6} 烷基；三
 鹵 C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷基； C_{1-6} 烷氧基； C_{1-6} 烷羰基；

五、發明說明 (24)

C₁₋₆ 烷氧羰基；C₁₋₆ 烷磺醯基；羥基 C₁₋₆ 烷基；

芳氧基；二(C₁₋₆ 烷基)胺基；氰基；吡啶基、苯基；或
經分別獨立選自：鹵基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基或三氟
甲基中之 1 或 2 個取代基取代之苯基。

- 5 另一類較佳化合物係由彼等式(I)中如下說明之化合物
組成：

其中 t 為 0 或 1；Q 為 $-C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ ；各 X 為氮；R¹ 為-
C(O)NH(OH)；R² 為氫、羥基、C₁₋₆ 烷基、或芳基 C₁₋₆
烷基；-L-為選自 -NHC(O)-或 -NH₂SO₂-之二價基團；

- 10 —(A) 為選自：(a-1)或(a-20)之基團；各 s 分別為 0 或
1；且各 R⁵ 分別獨立為氫或苯基。

另一類更佳化合物係由彼等式(I)中如下說明之化合物
組成：

- 15 其中 t 為 1；Q 為 $-C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ ；各 X 為氮；各 Y 為氮；各 Z
為 -O- 或 -CH₂-；R¹ 為 -C(O)NH(OH)；R² 為氫；-L-為選
自 -NHC(O)-或 -NH₂SO₂-之二價基團；

—(A) 為選自：(a-1)或(a-20)之基團；各 s 分別為 0 或
1；且各 R⁵ 分別獨立為氫或苯基。

- 20 最佳化合物為 No.4、No.10、No.8、No.6、No.1、
No.12 與 No.14 化合物。

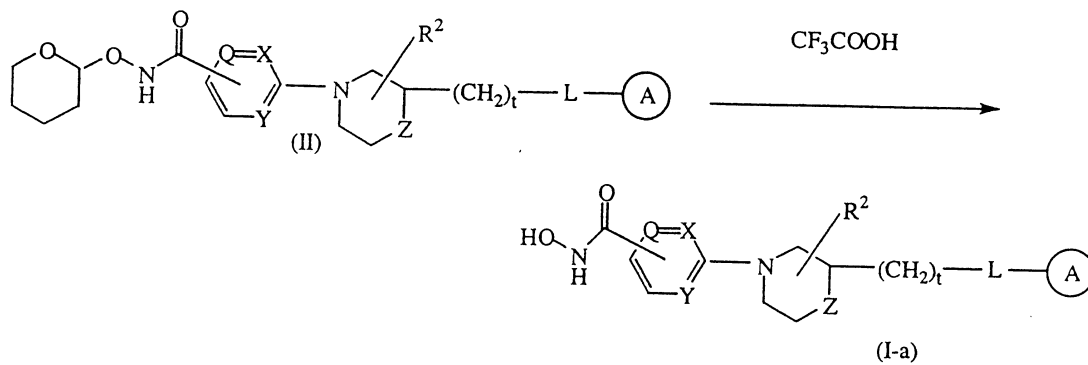
五、發明說明 (25)

Co. No. 4	Co. No. 10
Co. No. 8	Co. No. 6
(B); Co. No. 1	(A); Co. No. 12
Co. No. 14	

式(I)化合物及其醫藥上可接受之鹽與 N-氧化物及立體
20 化學異構型可依一般方式製備。其一般合成途徑包括例
如：

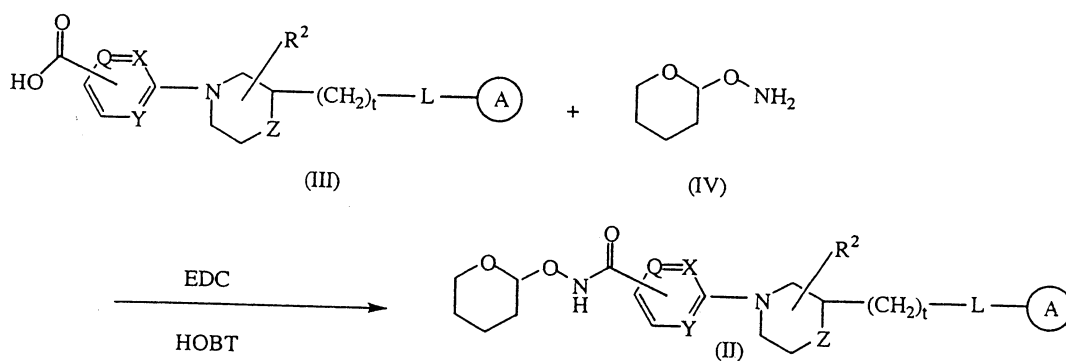
- a) 式(I)中 R^1 為 $-C(O)NH(OH)$ 之異羧肟酸(稱為式(I-a)化合物)
之製法可由式(II)中間物與適當酸，如，例如：三氟乙酸
反應。該反應係於適當溶劑中進行，如，例如：甲醇。

五、發明說明 (26)



- 10 b) 式(II)中間物之製法可由式(III)中間物與式(IV)中間物於適當試劑之存在下反應，如：N'-(乙基碳化亞胺鹽基)-N,N-二甲基-1,3-丙二胺單鹽酸鹽(EDC)與 1-羥基-1H-苯並三唑(HOBT)。該反應可於合適溶劑中進行，如：DCM 與 THF 之混合物。

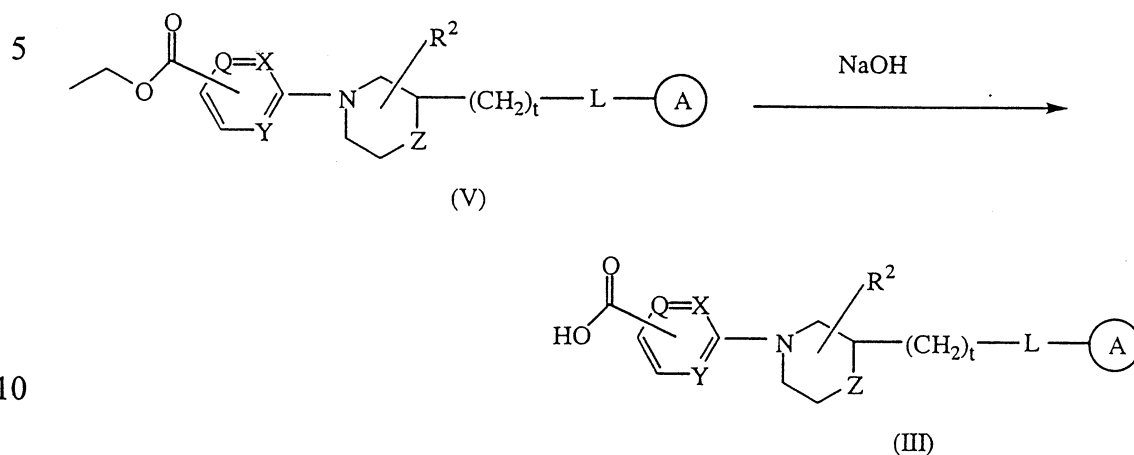
15



20

五、發明說明 (27)

c) 式(III)中間物之製法可由式(V)中間物與適當鹼(如：
NaOH)，於合適溶劑之存在下反應，如：乙醇。



式(I)化合物亦可使用固相合成技術製備。通常，固相
合成法涉及由中間物於合成法中與聚合物擔體反應。此由
15 聚合物承載之中間物可再進行許多合成步驟。每一步驟
後，過濾樹脂，以多種不同溶劑洗滌數次，以排除雜質。
每一步驟之樹脂可以分開與下一個步驟中之不同中間物反
應，以合成大量化合物。製程中最後一個步驟之後，以試
劑處理樹脂或加工裂解樹脂上之樣本。固相化學中所使用
20 技術之更詳細說明示於例如："The Combinatorial Index"
(B.Bunin, Academic Press)及 Novabiochem's 1999 Catalogue
& Peptide Synthesis Handbook(瑞士 Novabiochem AG)，其
內容已以引用之方式併入本文中。

式(I)化合物及一些中間物之結構式可具有至少一個立

五、發明說明 (28)

體中心。此立體中心可呈 R 或 S 組態。

- 依上述製法製備之式(I)化合物通常為對映異構物之消旋混合物，其可依相關技藝已知之解析法分離。式(I)之消旋化合物可經由與合適之對掌性酸反應而轉化成相應之非對映異構性鹽型。該非對映異構性鹽型再經例如：選擇性或分段式結晶法分離，使用鹼釋出對映異構物。另一種分離式(I)化合物之對映異構型之方法涉及使用對掌性固相進行液相層析。若該反應為立體專一性反應時，該純立體化學異構型亦可衍生自適當起始物之相應純立體化學異構型。若需要專一性立體異構物時，最好以立體專一性製法合成該化合物。此等方法最好使用純對映異構性起始物。

式(I)化合物、其醫藥上可接受之酸加成鹽及立體異構型具有抑制組織蛋白去乙酰酶(HDAC)效果之有價值之醫藥性質。

- 15 本發明提供一種抑制細胞(包括轉形細胞)異常生長之方法，其係投與有效量之本發明化合物。細胞之異常生長指細胞不依靠正常之調節機制生長(亦即喪失接觸抑制作用)。其包括直接造成細胞生長停止、末端分化及/或癌症細胞之細胞凋亡，及間接抑制腫瘤之新血管形成兩種作法來抑制腫瘤生長。

20 本發明亦提供一種抑制腫瘤生長之方法，其係對有此需要之個體例如：哺乳動物(更特定言之人類)投與有效量之本發明化合物。特定言之，本發明提供一種抑制腫瘤生長之方法，其係投與有效量之本發明化合物。可受抑制之

五、發明說明 (29)

- 腫瘤實例為(但不限於)：肺癌(腺癌瘤，包括非小細胞肺癌)、胰癌(例如：胰癌瘤，如，外分泌胰癌瘤)、結腸癌(例如：結腸直腸癌瘤，如，例如：結腸腺癌瘤與結腸腺瘤)、攝護腺癌包括前進式疾病、類淋巴球之造血性腫瘤
- 5 (例如：急性淋巴球性白血球、B-細胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt's lymphoma))、骨髓性白血病(例如：急性骨髓性白血病(A 毫升))、甲狀腺濾泡癌、脊髓發育不良症候群(MDS)、間質性腫瘤(例如：纖維肉瘤與橫紋肌肉瘤)、黑色素瘤、惡性畸胎瘤、神經母細胞瘤、神經膠質
- 10 瘤、良性皮膚腫瘤(例如：角化棘皮瘤)、乳癌瘤(例如：前進式乳癌)、腎癌瘤、卵巢癌瘤、膀胱癌瘤、與上皮癌瘤。

根據本發明化合物可用於其他醫療目的，例如：

- a) 在治療癌症之腫瘤放射法之前、期間或之後投與根據本
- 15 發明化合物，使腫瘤對放射療法產生敏化作用；
- b) 治療關節病變與骨病變病症，如：類風濕關節炎、骨關節炎、幼年型關節炎、痛風、多關節炎、乾癬性關節炎、僵直性脊柱炎與全身性紅斑狼瘡；
- c) 抑制平滑肌細胞增生，包括血管增生性病變、動脈粥樣
- 20 硬化及術後再狹窄；
- d) 治療炎症與皮膚病，如：潰瘍性結腸炎、克隆氏症、過敏性鼻炎、移植物對抗宿主疾病、結膜炎、氣喘、ARDS、貝希特氏症(Behcets disease)、移植排斥、蕁麻疹、過敏性皮膚炎、局部性脫髮、硬皮症、疹病、濕

五、發明說明（30）

疹、皮膚炎、痤瘡、糖尿病、全身性紅斑狼瘡、川崎氏症、多發性硬化、肺氣腫、囊性纖維變性與慢性支氣管炎；

5 e) 治療子宮內膜異位症、子宮纖維瘤、功能障礙性子宮出血及子宮內膜增生；

f) 治療眼睛血管形成，包括影響視網膜與脈絡膜血管之血管病變；

g) 治療心功能障礙；

h) 抑制免疫壓抑性病變，如：治療 HIV 感染；

10 i) 治療腎功能障礙；

j) 壓抑內分泌病變；

k) 抑制生糖作用異常之功能障礙；

15 l) 治療神經病變，例如：巴金森氏症或造成認知病變之神經病變，例如：阿茲海默氏症或與聚麩醯胺病變有關之疾病；

m) 抑制神經肌肉病變，例如：肌萎縮性側索硬化；

n) 治療脊柱肌肉萎縮；

o) 治療其他可因加強基因表現而治療之其他病變；

p) 加強基因療法。

20 因此，本發明揭示以式(I)化合物作為醫藥之用途及以式(I)化合物製造醫藥供治療上述一種或多種病症之用途。

式(I)化合物、其醫藥上可接受之酸加成鹽及立體異構型基於其可用於生物檢體中，檢測或判別 HDAC，而具有有價值之診斷性質，其包括檢測或測定有標記之化合物與

五、發明說明 (31)

HDAC 之間所形成之錯合物。

該檢測或判別法可使用標記如：放射性同位素、酵素、螢光物質、發光物質，等等之標記試劑之化合物。放射性同位素實例包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^3H 與 ^{14}C 。酵素之檢測法
5 通常與適當受質共軛後，再催化可檢測之反應。其實例包括例如： β -半乳糖苷酶、 β -葡糖苷酶、鹼性磷酸酶、過氧化酶與蘋果酸脫氫酶，以辣根過氧化酶較佳。發光物質包括例如：魯米諾(luminol)及魯米諾衍生物、螢光素、多管水母素(aequorin)與螢光素酶。

- 10 生物樣本之定義為體組織或體液。體液實例為腦脊髓液、血液、血漿、血清、尿液、痰、唾液，等等。

就其實用之醫藥性質而言，本化合物可製成不同投藥形式。

- 為了製備本發明之醫藥組合物，使用有效量之鹼或酸
15 加成鹽型特定化合物作為活性成分，與醫藥上可接受之載劑均勻混合，該載劑可呈多種不同形式，端賴所需投藥製劑型式而定。此等醫藥組合物最好呈適合例如：經口、直腸、經皮膚投藥或非經腸式注射用之單位劑型。例如：製備口服劑型組合物時，任何常用之醫藥介質均可使用，
20 如，例如：水、甘醇、油類、醇類，等等，可用於製備口服服用液體製劑，如：懸浮液、糖漿、酏劑與溶液；或固態載劑如：澱粉、糖類、高嶺土、潤滑劑、結合劑、崩解劑，等等，可用於製備散劑、丸劑、膠囊、與錠劑。

由於錠劑與膠囊方便投藥，因此代表最有利之口服單

五、發明說明（32）

位劑型，此時當然使用固態醫藥載劑。非經腸式組合物中之載劑通常包括無菌水，至少佔絕大部份，但亦可包含其他成份，例如：有助於溶解之成份。例如：可製備注射液，其中載劑則包括生理食鹽水溶液、葡萄糖溶液或生理食鹽水與葡萄糖溶液之混合物。亦可製備注射用懸浮液，此時則可使用適當液態載劑、懸浮劑，等等。適合經皮膚投藥之組合物中，載劑可視需要包含滲透加強劑及/或合適濕化劑，可視需要與任何性質之少量合適添加物組合，該添加物不可對皮膚引起顯著之不良效應。此等添加物可促進投藥至皮膚及/或可能有助於製備所需組合物。此等組合物可依多種方法投藥，例如：呈穿皮式貼布、滴劑、或油膏。

特別有利於調配上述醫藥組合物形成方便投藥且劑量均一之單位劑型。本說明書與申請專利範圍所使用之單位劑型指物理性分離之單位劑量，各單位包含經計算可產生所需醫療效果之預定量活性成分，與所需之醫藥載劑組合。此等單位劑型實例為錠劑(包括有畫線或有包衣之錠劑)、膠囊、丸劑、散劑包、扁囊片、注射用溶液或懸浮液、茶匙劑、湯匙劑，等等，及其多重劑量組合。

熟諳相關技藝之人士很容易即可由下文出示之試驗結果決定有效量。通常，醫療有效量為每公斤體重 0.005 毫克至 100 毫克，特定言之每公斤體重 0.005 毫克至 10 毫克。可以在一天內將所需劑量分成 2、3、4 或更多個小劑量。在適當間隔時間下投藥。該小劑量可調配成單位劑

五、發明說明 (33)

型，例如：每單位劑型包含 0.5 至 500 毫克，特定言之 10 至 500 毫克活性成分。

本發明另一方面，提出一種含 HDAC-抑制劑與另一種抗癌劑之組合，尤其用為醫藥，更明確言之，用於治療癌症或相關疾病。

治療上述病症時，本發明化合物宜用於與一種或多種其他醫藥劑組合，更特定言之，與其他抗癌劑組合。抗癌劑之實例為：

- 鉑配位化合物，例如：順氯鉑 (cisplatin)、卡鉑 (carboplatin) 或草酸鉑 (oxalyplatin)
- 紫杉烷化合物，例如：帕尼特西 (paclitaxel) 或朵希特西 (docetaxel)；
- 拓撲異構酶 I 抑制劑，如：喜樹鹼化合物，例如：抑特康 (irinotecan) 或托普特康 (topotecan)；
- 15 - 拓撲異構酶 II 抑制劑，如：抗腫瘤鬼臼毒素衍生物，例如：抑托泊苷 (etoposide) 或登尼泊苷 (teniposide)；
- 抗腫瘤長春花植物鹼，例如：長春花鹼、長春新鹼或長春瑞賓 (vinorelbine)；
- 抗腫瘤核苷衍生物，例如：5-氟尿嘧啶、真希嗒本 (克 emcitabine) 或卡希嗒本 (capecitabine)；
- 20 - 烷化劑，如：氮芥或亞硝基脲，例如：環磷醯胺、苯丁酸氮芥、卡莫司汀 (carmustin) 或洛莫司汀 (lomustin)；
- 抗腫瘤蒽環素衍生物，例如：道諾紅菌素 (daunorubicin)、道索紅菌素 (doxorubicin)、依道紅菌素

五、發明說明 (34)

(idarubicin)或米托蒽昆(mitoxantrone)；

- HER2 抗體，例如：塔茲美布(trastuzumab)；

- 雌激素受體拮抗劑或選擇性雌激素受體調控劑，例如：

5 塔莫希芬(tamoxifen)、妥洛米芬(toremifene)、特洛希芬
(droloxifene)、法洛得斯(faslodex)或拉洛希芬
(raloxifene)；

- 芳構酶抑制劑，如：抑美斯坦(exemestane)、安斯特唑
(anastrozole)、樂特唑(letrozole)與弗洛唑(vorozole)；

10 - 分化劑，如：類視黃素、維生素 D 與視黃酸代謝阻斷劑
(RAMBA)，例如：異維甲酸(accutane)；

- DNA 甲基轉化酶抑制劑，例如：阿扎胞苷(azacytidine)；

- 激酶抑制劑，例如：黃吡啶(flavoperidol)、抑麻特本
(imatinib)甲磺酸鹽或吉菲特本(gefitinib)；

- 法呢基轉化酶抑制劑；或

15 - 其他 HDAC 抑制劑。

"鉑配位化合物"一詞在本文中指可抑制任何腫瘤細胞生長之鉑配位化合物，其可提供離子形式之鉑。

"紫杉烷化合物"一詞指具有紫杉烷環系且與某些紫杉類(Taxus)樹木之萃出物相關或其所衍生之化合物。

20 "拓樸異構酶抑制劑"一詞係指可於真核生物細胞中改變 DNA 拓樸結構之酵素。其對細胞重要功能及細胞增生具有重要性。真核生物細胞中有兩類拓樸異構酶，亦即 I 型與 II 型。拓樸異構酶 I 為一種分子量約 100,000 之單體酵素。該酵素會結合 DNA，引進一個暫時性單股裂口，

五、發明說明 (35)

打開雙螺旋(或使之解開)，然後先使裂口封合後，再自 DNA 股上解離。拓撲異構酶 II 之作用機制類似，其涉及引進 DNA 股裂口或形成游離基。

"喜樹鹼化合物"係指與喜樹鹼母化合物有關或其所衍生之化合物，其係衍生自中國樹種 *Camptothecin acuminata* 及印度樹種 *Nothapodytes foetida* 之不可溶於水之植物鹼。

"鬼臼毒素化合物"一詞指與自剝度比爾謨(*mandrake*)植物萃出之鬼臼毒素母化合物有關或其所衍生之化合物。

"抗腫瘤長春花植物鹼"一詞指與自長春花(*Vinca rosea*)植物之萃出物有關或其所衍生之化合物。

"烷化劑"一詞包括一類共同特色為在生理條件下有能力使烷基形成具有生物活性之大分子之化學劑。大多數之較重要製劑如：氮芥及硝基脲，活性烷化部份基團係於活體內複雜之降解反應(其中有些為酵素反應)之後產生。烷化劑之最重要醫藥作用為特別在 DNA 合成與細胞分裂過程中干擾與細胞增生有關之基本機制。烷化劑在快速增生組織中干擾 DNA 功能與整合性之能力可作為其醫療用途及其多種毒性之基礎。

"抗腫瘤蒽環素衍生物"一詞包括得自波賽鏈黴菌(*Strep. peuticus* var. *caesius*)之抗生素及其衍生物，其特徵在於具有一個四環素環結構，利用糖苷鍵連接一種罕見糖：道諾糖胺(*daunosamine*)。

已知原發性乳癌瘤中人類上皮生長因子受體 2 蛋白質(HER2)之擴增作用與某些患者之臨床預後結果不佳有相關

五、發明說明 (36)

性。塔茲美布(trastuzumab)為一種高度純化之重組 DNA-衍生之擬人化單株 I 克克 1-κ 抗體，其與 HER2 受體之細胞外功能部份具有高度專一結合性。

許多乳癌有雌激素受體，且此等腫瘤之生長可受到雌激素刺激。"雌激素受體拮抗劑"及"選擇性雌激素受體調控劑"係指與雌激素受體(ER)結合之雌二醇之競爭性抑制劑。選擇性雌激素受體調控劑與 ER 結合時，會誘發受體之三度空間形狀改變，抑制其與 DNA 上雌激素反應元素(ERE)之結合。

10 停經後婦女之循環雌激素主要來源為腎上腺與卵巢雄激素(雄烯二醇與睪固酮)經由周邊組織中芳構酶酵素轉化成雌激素(雌固酮與雌二醇)。經由抑制芳構酶或去活化作用消耗雌激素之作法可有效且選擇性治療停經後某些與激素相關之乳癌患者。

15 "抗雌激素劑"一詞不僅包括雌激素受體拮抗劑與選擇性雌激素受體調控劑，而且包括如上述芳構酶抑制劑。

"分化劑"一詞包括可依不同方式抑制細胞增生及誘發分化之化合物。已知維生素 D 與類視黃素在調節多種正常及惡性細胞型態之生長與分化上扮演重要角色。視黃酸代謝作用阻斷劑(RAMBA's)藉由抑制細胞色素 P450-所媒介之視黃酸分解代謝作用而提高內因性視黃酸含量。

20 DNA 之甲基化反應變化為人體贅生瘤最常見之異常現象。特定基因之發動子中過度甲基化通常與所涉及之基因失去活性有關。"DNA 甲基轉化酶抑制劑"一詞指透過

五、發明說明 (37)

DNA 甲基轉化酶之醫藥抑制作用發揮作用及使腫瘤抑制基因表現再度活化之化合物。

"激酶抑制劑"一詞包括涉及細胞循環發展及計畫性細胞死亡(細胞凋亡)之激酶之強力抑制劑。

- 5 "法呢基轉化酶抑制劑"一詞指其設計用於防止 Ras 及其他細胞內蛋白質之法呢基化反應之化合物。已知其可影響惡性細胞增生與存活。

"其他 HDAC 抑制劑"一詞包括(但不限於)：

- 10 - 短鏈脂肪酸，例如：丁酸酯、4-苯基丁酸酯或 2-丙基戊酸；
- 異羧肟酸，例如：辛二醯基替苯胺異羧肟酸(SAHA)、雙芳基異羧肟酸酯 A-161906、雙環芳基-N-羧基羧醯胺、焦醯胺(pyroxamide)、CG-1521、PDX-101、磺醯胺異羧肟酸、LAQ-824、三克定 A(trichostatin A)(TSA)、歐色
- 15 弗丁(oxamflatin)、史克嗒(scriptaid)、間羧基肉桂酸雙異羧肟酸或查布辛素(trapoxin)- 異羧肟酸類似物；
- 環狀四肽，例如：查布辛素、阿狄辛(apidicin)或狄希肽(depsipeptide)；
- 苯甲醯胺，例如：MS-275 或 CI-994，或
- 20 - 狄普特辛(depudecin)。

治療癌症之根據本發明化合物可配合放射療法，依上述投與患者。放射療法指離子線照射，特定言之指伽瑪射線，尤指由直線加速器發射者或由現在常用之放射核種發射者。使用放射核種照射腫瘤之方法可於體內或體外進

五、發明說明 (38)

行。

本發明亦有關抗癌劑與根據本發明 HDAC 抑制劑之根據本發明之組合。

本發明亦有關以根據本發明之組合於例如：抑制腫瘤
5 細胞生長之醫療法上之用途。

本發明亦有關以根據本發明之組合於抑制腫瘤細胞生長上之用途。

本發明亦有關一種於人體中抑制腫瘤細胞生長之方法，其包括對該個體投與有效量之根據本發明之組合。

10 本發明亦提供一種抑制異常細胞(包括轉形細胞)生長之方法，其係投與有效量之根據本發明之組合。

其他醫藥劑與 HDAC 抑制劑可同時(例如：分開或呈單一組合物)或按任何次序投藥。後項作法中，兩種化合物將在同一時期投藥，其用量與方式應足以確保達成有利或
15 增效之效用。咸了解，該組合中各成分之較佳投藥法與投藥順序及個別劑量與療程將依所投與特定之其他醫藥劑及 HDAC 抑制劑、其投藥途徑、所治療之特定腫瘤及所治療之特定宿主而定。最佳投藥方法及順序及劑量與療程很容易由熟諳相關技藝之人士使用常用方法，依據本文中所示
20 之資料即可決定。

鉑配位化合物之合宜投藥劑量為每平方米體表面積使用 1 至 500 毫克(mg/m^2)，例如：50 至 400 mg/m^2 ，特定言之，每個療程之順氯鉑(cisplatin)劑量為約 75 mg/m^2 ，卡鉑(carboplatin)劑量為約 300 mg/m^2 。

五、發明說明 (39)

紫杉烷化合物之合宜投藥劑量為每平方米體表面積使用 50 至 400 毫克(mg/m^2)，例如：75 至 $250\text{mg}/\text{m}^2$ ，特定言之，每個療程之帕尼特西(paclitaxel)劑量為約 175 至 $250\text{mg}/\text{m}^2$ ，及朵希特西(docetaxel)之劑量為約 75 至 $150\text{mg}/\text{m}^2$ 。

喜樹鹼化合物之合宜投藥劑量為每平方米體表面積使用 0.1 至 400 毫克(mg/m^2)，例如：1 至 $300\text{mg}/\text{m}^2$ ，特定言之，每個療程之抑特康(irinotecan)劑量為約 100 至 $350\text{mg}/\text{m}^2$ ，托普特康(topotecan)劑量為約 1 至 $2\text{mg}/\text{m}^2$ 。

10 抗腫瘤鬼臼毒素衍生物之合宜投藥劑量為每平方米體表面積使用 30 至 300 毫克(mg/m^2)，例如：50 至 $250\text{mg}/\text{m}^2$ ，特定言之，每個療程之抑托泊苷(etoposide)劑量為約 35 至 $100\text{mg}/\text{m}^2$ ，登尼泊苷(teniposide)劑量為約 50 至 $250\text{mg}/\text{m}^2$ 。

15 抗腫瘤長春花植物鹼之合宜投藥劑量為每平方米體表面積使用 2 至 30 毫克(mg/m^2)，特定言之，每個療程之長春花鹼劑量為約 3 至 $12\text{mg}/\text{m}^2$ ，長春新鹼劑量為約 1 至 $2\text{mg}/\text{m}^2$ ，長春瑞賓(vinorelbine)劑量為約 10 至 $30\text{mg}/\text{m}^2$ 。

20 抗腫瘤核苷衍生物之合宜投藥劑量為每平方米體表面積使用 200 至 2500 毫克(mg/m^2)，例如：700 至 $1500\text{mg}/\text{m}^2$ ，特定言之，每個療程之 5-FU 劑量為 200 至 $500\text{mg}/\text{m}^2$ ，真希嗒本(克 emcitabine)劑量為約 800 至 $1200\text{mg}/\text{m}^2$ ，卡希嗒本(capecitabine)劑量為約 1000 至 $2500\text{mg}/\text{m}^2$ 。

五、發明說明 (40)

烷化劑，如：氮芥或亞硝基脲之合宜投藥劑量為每平方米體表面積使用 100 至 500 毫克(mg/m^2)，例如：120 至 200 mg/m^2 ，特定言之，每個療程之環磷醯胺劑量為約 100 至 500 mg/m^2 ，苯丁酸氮芥劑量為約 0.1 至 0.2 mg/m^2 ，卡莫司汀(carmustin)劑量為約 150 至 200 mg/m^2 ，洛莫司汀(lomustin)劑量為約 100 至 150 mg/m^2

抗腫瘤蒽環素衍生物之合宜投藥劑量為每平方米體表面積使用 10 至 75 毫克(mg/m^2)，例如：15 至 60 mg/m^2 ，特定言之，每個療程之道諾紅菌素(daunorubicin)劑量為約 40 至 75 mg/m^2 ，道索紅菌素(doxorubicin)劑量為約 25 至 45 mg/m^2 ，依道紅菌素(idarubicin)劑量為約 10 至 15 mg/m^2 。

塔茲美布(trastuzumab)之合宜投藥劑量為每平方米體表面積使用 1 至 5 毫克(mg/m^2)，特定言之，每個療程劑量為 2 至 4 mg/m^2 。

抗雌激素劑之合宜投藥劑量為每天使用約 1 至 100 毫克，依所使用之特定藥劑及所治療病症而定。塔莫希芬(tamoxifen)之合宜口服劑量為一天服用兩次 5 至 50 毫克，較佳為 10 至 20 毫克，持續治療一段足夠時間，以達成及維持醫療效果。妥洛米芬(toremifene)之合宜口服劑量為一天服用一次約 60 毫克，持續治療一段足夠時間，以達成及維持醫療效果。安斯特唑(anastrozole)之合宜口服劑量為一天服用一次約 1 毫克。特洛希芬(droloxifene)之合宜口服劑量為一天服用一次約 20-100 毫克。拉洛希芬

五、發明說明 (41)

(raloxifene)之合宜口服劑量為一天服用一次約 60 毫克。
抑美斯坦(exemestane) 之合宜口服劑量為一天服用一次約 25 毫克。

此等劑量可以每個療程投藥一次、兩次或多次，可以
5 每 7、14、21 或 28 天重覆一次。

就其有用之醫藥性質而言，根據本發明之組合中之成分(亦即其他醫藥劑與 HDAC 抑制劑)可調配成各種不同投藥用醫藥型式。各成分可於分開之醫藥組合物中分開調配，或於單一醫藥組合物中同時含有兩種成分。

10 因此本發明亦有關包含其他醫藥劑與 HDAC 抑制劑及一種或多種醫藥用載劑之醫藥組合物。

本發明亦有關呈醫藥組合物型式之根據本發明之組合，其包含抗癌劑與根據本發明 HDAC 抑制劑及一種或多種醫藥用載劑。

15 本發明亦有關以根據本發明之組合於製造抑制腫瘤細胞生長之醫藥組合物上之用途。

本發明亦有關一種產品，其包含 HDAC 抑制劑作為第一種活性成分，及包含抗癌劑作為第二種活性成分，形成組合製劑，供同時、分開或順序用於治療癌症患者。

20

實驗部份

下列實例係供說明用。

下文中，"DCM"指二氯甲烷，"DMF"指二甲基甲醯胺，"EtOAc"指乙酸乙酯，"iPrOH"指異丙醇，"MeOH"指

五、發明說明 (42)

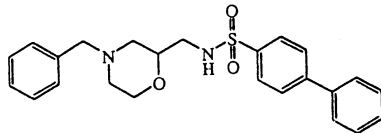
甲醇，"EtOH"指乙醇，"TEA"指三乙胺，"TFA"指三氟乙酸，"THF"指四氫呋喃，"BSA"指牛血清白蛋白，"DMSO"指二甲亞砜，及"Hepes"指 4-(2-羥乙基)-1-六氫吡啶-乙磺酸。

- 5 $[\alpha]_D^{20}$ 指於 20°C 下，在 D-鈉光之波長下測定之旋光度。在此確實數字之後，將述及用於測定旋光度之溶液之濃度與溶劑。

A. 中間物之製法

10 實例 A1

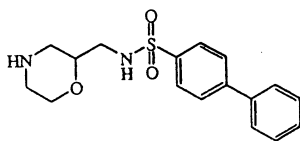
a) 中間物 1 之製法



- 15 於 0°C 下，滴加含 [1,1'-聯苯]-4-磺醯氯 (0.016 莫耳) 之 DCM (50 毫升) 溶液至含 4-(苯甲基)-2-嗎福啉甲胺 (0.0145 莫耳) 與 TEA (0.023 莫耳) 之 DCM (50 毫升) 溶液中。使混合物回升室溫後，攪拌一夜，倒至冰水中，以 DCM 萃取。分離有機層，脫水 (MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質 (6 克) 自乙醚中結晶。濾出沉澱及乾燥，產生
- 20 3.1 克 (62%) 中間物 1，熔點 128°C。

b) 中間物 2 之製法

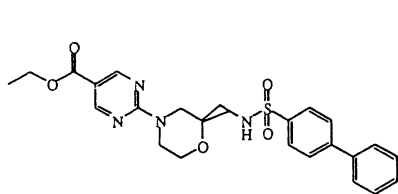
五、發明說明 (43)



於室溫下，使中間物 1(0.0071 莫耳)與 Pd/C(0.5 克)
 5 之 MeOH(50 毫升)與乙酸(5 毫升)溶液於 3 巴壓力下氫化
 5 天，然後經寅氏鹽過濾。以 DCM/MeOH 洗滌寅氏
 鹽。濾液蒸發。殘質(3 克)溶於乙醚中。濾出沉澱，以
 乙醚洗滌後，乾燥，產生 2.6 克(100%)中間物 2，熔點
 151°C。

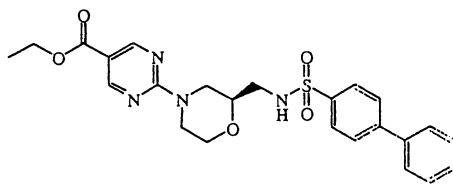
10

c)中間物 3 與 4 之製法



(A)

中間物 3



(B)

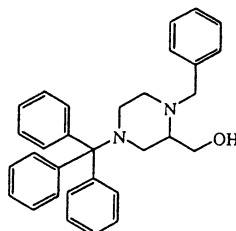
中間物 4

於 0°C 下，分批添加氫化鈉 60%(0.014 莫耳)至 N₂ 氣
 流下，含中間物 2(0.0069 莫耳)之 THF(30 毫升)之混合
 物中。混合物於 0°C 下攪拌 1 小時。滴加含 2-(甲磺醯
 20 基)-5-嘓啶羧酸乙酯(0.009 莫耳)之 THF(20 毫升)溶液。
 混合物於室溫下攪拌 4 小時，倒至冰水中，以 EtOAc
 萃取。有機層以水洗滌，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶
 劑。殘質(3 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40μm)(溶離
 液：DCM/MeOH 99/5)。收集純溶離份，蒸發溶劑。殘
 25 質(0.6 克)經矽膠管柱層析法純化(chiralpak)(溶離液：

五、發明說明 (44)

CH₃CN 100)。收集兩份溶離份，蒸發溶劑，產生 0.255 克(8%)中間物 3(A)， $[\alpha]_D^{20} = -32.6$ (c=0.00485, DMF)及 0.25 克(8%)中間物 4(B)， $[\alpha]_D^{20} = +33.8$ (c=0.005, DMF)。

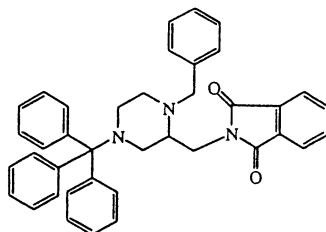
5

實例 A2a) 中間物 5 之製法

10

於 5°C 下，分批添加四氫鋁酸(1-)鋰(0.04 莫耳)至 N₂ 氣流下之 THF(40 毫升)中。滴加含 1-苯甲基-4-三苯甲基六氫吡啶-2-羧酸乙酯(0.01 莫耳)之 THF(40 毫升)溶液。混合物攪拌 2 小時，倒至 EtOAc/水中，經寅氏鹽過濾。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑，產生 4.05 克中間物 5。此產物直接用於下一個反應步驟。

15

b) 中間物 6 製法

20

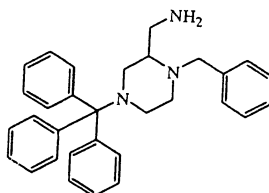
於 5°C 下，滴加含二氫烯二羧酸雙(1-甲基乙基)酯(0.0097 莫耳)之 THF(10 毫升)溶液至 N₂ 氣流下，含中間物 5(0.0064 莫耳)、1H-異吲哚-1,3-(2H)-二酮(0.0097 莫

五、發明說明 (45)

耳)與三苯基膦(0.0097 莫耳)之 THF(50 毫升)溶液中。混合物於室溫下攪拌 6 小時，倒至冰水中，以 EtOAc 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(11 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40μm)(溶離液：
 5 DCM/EtOAc 99/1)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 2.8 克(75%)中間物 6，熔點 100°C。

c)中間物 7 之製法

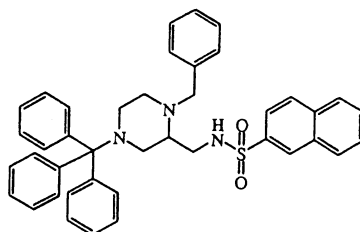
10



添加胼單氫溴酸鹽(0.005 莫耳)至含中間物 6(0.0025 莫耳)之 EtOAc(25 毫升)溶液中。混合物回流攪拌 4 小時後，冷卻至室溫。蒸發溶劑。殘質溶於 NaCl 中，以
 15 EtOAc/DCM 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑，產生 3.55 克中間物 7。此產物直接用於下一個反應步驟。

d)中間物 8 之製法

20



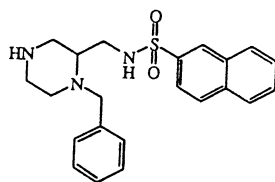
取含中間物 7(0.0025 莫耳)、2-萘磺醯氯(0.0027 莫耳)與 TEA(0.004 莫耳)之 DCM(20 毫升)混合物於室溫下攪

五、發明說明 (46)

拌一夜，倒至冰水中，以 DCM 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(3.8 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40 μ m)(溶離液：DCM/EtOAc 98/2)。收集純溶離份，蒸發溶劑。殘質(0.8 克)自乙醚中結晶。濾出沉澱，乾燥，產生 0.693 克(41%)中間物 8，熔點 219 °C。

e)中間物 9 之製法

10

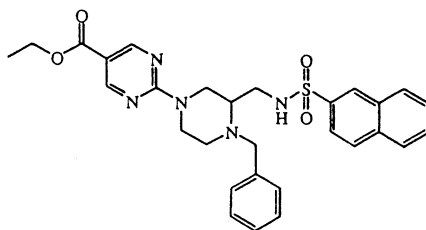


15

取含中間物 8(0.0009 莫耳)之 12N HCl(0.6 毫升)與 2-丙酮(18 毫升)混合物於室溫下攪拌 4 小時。蒸發溶劑。殘質溶於水中。水層經乙醚洗滌，以碳酸鉀鹼化，以 EtOAc 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(0.5 克)自乙醚中再結晶。濾出沉澱，乾燥。殘質(0.38 克)溶於水/EtOAc 中。蒸發有機層。殘質溶於乙醚中。濾出沉澱，乾燥，產生 0.044 克(48%)中間物 9，熔點 210°C。

20

f)中間物 10 製法

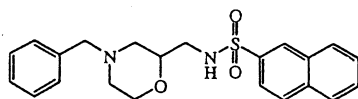


五、發明說明 (47)

於室溫下，添加含 2-(甲磺醯基)-5-嘧啶羧酸乙酯 (0.0029 莫耳)至含中間物 9(0.002 莫耳)與碳酸鉀(0.007 莫耳)之乙腈(50 毫升)溶液中。混合物於室溫下攪拌 3 小時後，於 80℃下攪拌一夜，冷卻至室溫，倒至冰水中，以 EtOAc 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(2 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40μm)(溶離液：DCM/MeOH 99/1)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 0.76 克(48%)中間物 10。

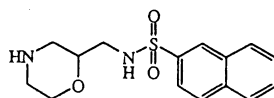
10 實例 A3

a)中間物 11 之製法



於 0℃下，滴加含 2-萘磺醯氯(0.016 莫耳)之 DCM(50 毫升)溶液至 N₂ 氣流下，含 4-(苯甲基)-2-嗎福啉甲胺(0.015 莫耳)與 TEA(0.024 莫耳)之 DCM(50 毫升)溶液中。使混合物於室溫下攪拌一夜，倒至冰水中，以 DCM 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑，產生 6 克(100%)中間物 11。此產物直接用於下一個反應步驟。

b)中間物 12 之製法



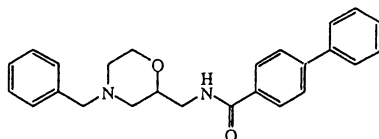
五、發明說明 (48)

於室溫下，添加含碳化氯酸 (carbonochloridic acid)1-氯乙酯(0.016 莫耳)之 1,2-二氯乙烷(2 毫升)溶液至含中間物 11(0.014 莫耳)之 1,2-二氯乙烷(48 毫升)混合物中。混合物於室溫下攪拌 45 分鐘後，於 80°C 下 3 小時。添加 MeOH(100 毫升)。混合物於 80°C 下攪拌 4 天，倒至冰水中，以 EtOAc 萃取。分離有機層，脫水 (MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(3.5 克)經矽膠管柱層析法純化 (15-40μm)(溶離液：DCM/MeOH/NH₄OH 92/8/0.5)。收集純溶離份，蒸發溶劑。殘質(0.38 克,9%)自乙醚中結晶。濾出沉澱，乾燥，產生 0.21 克中間物 12，熔點 140°C。

實例 A4

a)中間物 13 之製法

15



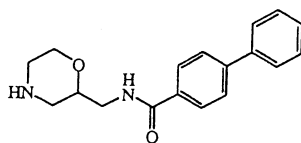
於 0°C 下，滴加含[1,1'-聯苯]-4-磺醯氯(0.016 莫耳)之 DCM(50 毫升)溶液至含 4-(苯甲基)-2-嗎福啉甲胺(0.0145 莫耳)與 TEA(0.023 莫耳)之 DCM(50 毫升)溶液中。混合物於室溫下攪拌 12 小時，倒至冰水中，以 DCM 萃取。有機層以 10%碳酸鉀洗滌，分離，脫水 (MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(6.2 克)自 CH₃CN/乙醚中結晶。濾出沉澱及乾燥。母液蒸發。殘質(3.3 克)經矽膠管柱層析法純化 (15-40μm)(溶離液：

五、發明說明 (49)

DCM/MeOH/NH₄OH 98/2/0.1)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 1.5 克(27%)。取一部份(0.39 克)自 CH₃CN/乙醚中結晶。濾出沉澱，乾燥，產生 0.12 克中間物 13，熔點 133°C。

5

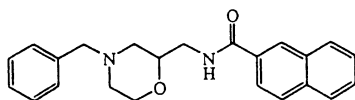
b)中間物 14 之製法



於室溫下，添加含碳化氯酸 (carbonochloridic acid)1-氯乙酯(0.0066 莫耳)至含中間物 13(0.006 莫耳)之 1,2-二氯乙烷(35 毫升)混合物中。混合物於室溫下攪拌 45 分鐘後，於 80°C 下攪拌 3 小時。添加 MeOH(60 毫升)。混合物於 80°C 下攪拌 8 天後，冷卻至室溫。蒸發溶劑，添加 EtOAc。濾出沉澱，以乙醚洗滌，乾燥，產生 1.8 克(100%)中間物 14，熔點 284°C。

實例 A5

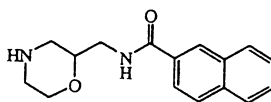
a)中間物 15 之製法



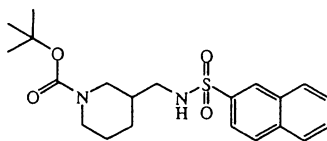
於 0°C 下，滴加含 2-萘羰基氯(0.017 莫耳)之 DCM(60 毫升)溶液至含 4-(苯甲基)-2-嗎福啉甲胺(0.015 莫耳)與 TEA(0.026 莫耳)之 DCM(60 毫升)溶液中。混合物回升至室溫下一夜，倒至冰水中。分離有機層，以

五、發明說明 (50)

10%碳酸鉀洗滌，脫水(MgSO_4)，過濾，蒸發溶劑。殘質自乙醚/DIPE 中結晶。濾出沉澱及乾燥，產生 4.6 克 (85%)中間物 15，熔點 104°C 。

5 b)中間物 16 之製法

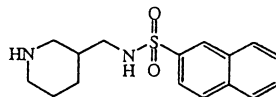
於室溫下，使中間物 15(0.0109 莫耳)與 Pd/C(2 克)之 MeOH(80 毫升)與乙酸(8 毫升)溶液於 3 巴壓力下氫化 4 天，然後經寅氏鹽過濾。以 MeOH/DCM 洗滌寅氏鹽。濾液蒸發。殘質(7.2 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40 μm)(溶離液：DCM/MeOH/ NH_4OH 97/3/0.1)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 0.8 克中間物 16。

15 實例 A6a)中間物 17 之製法

於 5°C 下，添加含 2-萘磺醯氯(0.011 莫耳)之 DCM(5 毫升)溶液至含 3-(胺基甲基)-1-六氫吡啶羧酸 1,1-二甲基乙酯(0.01 莫耳)與 TEA(0.014 莫耳)之 DCM(15 毫升)溶液中。混合物於 20°C 下攪拌 18 小時。添加 10%碳酸鉀。分離有機層，脫水(MgSO_4)，過濾，蒸發溶劑至乾，產生 4.6 克($>100\%$)中間物 17。

五、發明說明 (51)

b)中間物 18 之製法

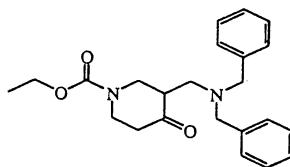


- 5 取含中間物 17(0.0089 莫耳)之 5N HCl/iPrOH(40 毫升)混合物於 50°C 下攪拌 15 分鐘，經 NH₄OH 鹼化。蒸發溶劑至乾。殘質溶於 DCM 中，過濾。濾液脫水 (MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑至乾，產生 2.9 克(>100%) 中間物 18。

10

實例 A7

a)中間物 19 之製法



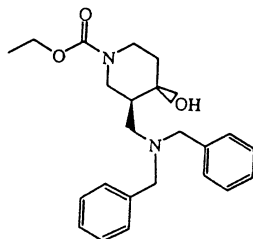
15

- 取 N-(苯甲基)-苯甲胺(1 莫耳)溶於乙醚中，使用 6N HCl/2-丙醇轉化成鹽酸鹽(1:1)。濾出沉澱，乾燥，產生 234 克，添加含 4-氧代-1-六氫吡啶羧酸乙酯與(CH₂O)_n(30 克)之乙酸(1600 毫升)。混合物於 60-65°C 下攪拌 110 分鐘，然後冷卻至室溫，倒至冰/水/NH₄OH 中。所得白色油狀沉澱經乙醚萃取。分離之有機層經水洗滌，脫水 (MgSO₄)，過濾，於室溫下蒸發溶劑，產生 436 克中間物 19。

20

五、發明說明 (52)

b)(反式)中間物 20 之製法



5

取中間物 19(最高 0.55 莫耳粗殘質)於 EtOH(1500 毫升)中攪拌。分批添加一部份氫硼化鈉，造成放熱反應，使溫度上升至 30°C。因此，使反應混合物於冰/水浴中冷卻，再加氫硼化鈉(總量 1.5 莫耳)，同時使反應溫度保持在±16°C。反應混合物於±16°C 下攪拌 1 小時。混合物蒸發濃縮至原來之一半體積。濃縮物冷卻。加水。混合物進一步濃縮(嚴重起泡!)，直到所有乙醇均蒸發為止。水性濃縮液冷卻後，以乙醚萃取。分離有機相，以水洗滌，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。油狀殘質溶於 DIPE 中，以 HCl/2-丙醇處理，產生濃稠沉澱物。蒸發溶劑。殘質懸浮於溫熱之乙腈中，然後冷卻，過濾排除沉澱。濾液蒸發。殘質溶於水中，經 NH₄OH 鹼化，以乙醚萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(267 克)經製備性 HPLC 分離(溶離液：甲苯/乙醇 98.5/1.5)。收集純溶份，蒸發溶劑。其中一部份自乙腈中結晶，過濾及乾燥，產生 107 克(反式)中間物 20。

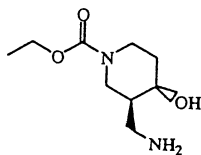
10

15

20

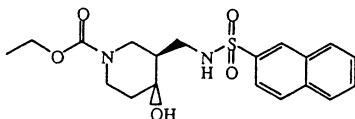
c)(反式)中間物 21 之製法

五、發明說明 (53)



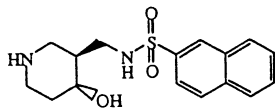
取含中間物 20(0.01 莫耳)與 Pd/C(1.5 克)之 EtOH(200 毫升)混合物於 50°C 與 3 巴壓力下氫化一夜後，經寅氏鹽
5 過濾。濾液蒸發至乾，產生 2.1 克(>100%)中間物 21。

d)(反式)中間物 22 之製法



於 5°C 下，添加含 2-萘磺醯氯(0.0054 莫耳)之 DCM(2 毫升)溶液至 N₂ 氣流下，含中間物 21(0.0049 莫耳)與 TEA(0.0069 莫耳)之 DCM(10 毫升)混合物中。混合物於室溫下攪拌 18 小時。添加 10%碳酸鉀。混合物經 DCM 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸
15 發溶劑至乾，產生 2 克(100%)中間物 22(反式)。

e)(反式)中間物 23 之製法



取含中間物 22(0.0043 莫耳)之 6N HCl(20 毫升)混合物攪拌及回流 24 小時。蒸發溶劑至乾。殘質經 3N NaOH 鹼化。添加 EtOAc。混合物於室溫下攪拌一夜。過濾沉澱，以乙醚洗滌，乾燥，產生 1.37 克(97%)中間物
20 23(反式)。

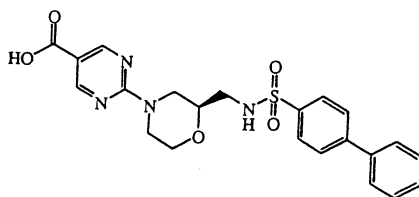
五、發明說明 (54)

B.最終化合物之製法

實例 B1

a)中間物 24(B)Na 之製法

5

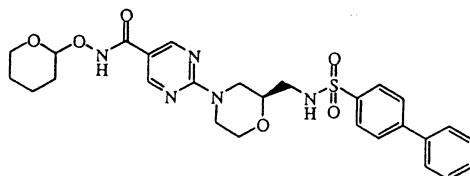


10

取含中間物 4(0.0004 莫耳)與 NaOH(0.0008 莫耳)之 EtOH(10 毫升)混合物於 80°C 下攪拌 48 小時後，冷卻至室溫。過濾沉澱，以乙醚洗滌，乾燥，產生 0.188 克 (90%)中間物 24(B)Na。

b)中間物 25(B)之製法

15



20

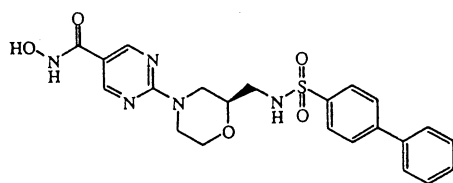
於室溫下依序添加含 N'-(乙基碳化亞胺鹽基)-N,N-二甲基-1,3-丙二胺單鹽酸鹽(0.0005 莫耳)之 DCM(5 毫升)溶液與 1-羥基-1H-苯並三唑(0.0005 莫耳)之 THF(5 毫升)溶液至含中間物 24(0.0003 莫耳)與 O-(四氫-2H-呋喃-2-基)-羥基胺(0.0005 莫耳)之 DCM(10 毫升)混合物中。混合物於室溫下攪拌一夜，倒至水中，以 DCM 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(0.29 克)經矽膠管柱層析法純化(10μm)(溶離液：DCM/MeOH

五、發明說明 (55)

99/1)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 0.142 克(66%)
中間物 25(B)。

c)化合物 1(B)之製法

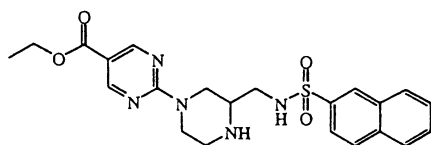
5



取含中間物 25(B)(0.0002 莫耳)之 TFA(1 毫升)與
MeOH(15 毫升)混合物於室溫下攪拌 4 天。濾出沉澱及
10 乾燥。殘質(0.08 克)溶於 MeOH/CH₃CN 中。濾出沉澱，
以 MeOH 洗滌後以乙醚洗滌，乾燥，產生 0.046 克 化
合物 1(B)， $[\alpha]_D^{20} = +32.85$ (c=0.0047, DMF)，熔點 164
°C。

15 實例 B2

a)中間物 26 之製法

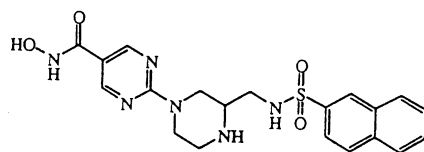


20 於室溫下，取含中間物 10(0.0088 莫耳)與 10%
Pd/C(1.3 克)之乙酸(2 毫升)與 EtOH(200 毫升)混合物於
3 巴壓力下氫化 9 天後，經寅氏鹽過濾。濾液蒸發至
乾。混合物經寅氏鹽過濾。濾液蒸發至乾。殘質溶於
DCM 中。有機層以 10%碳酸鉀洗滌，脫水(MgSO₄)，過

五、發明說明 (56)

濾，蒸發溶劑。殘質(2.7 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40 μ m)(溶離液：甲苯/iPrOH/NH₄OH 90/10/0.2)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 0.29 克(8%)中間物 26。

類似實例[B1]之方法處理中間物 26，產生 0.065 克 (51%)化合物 2，熔點 243°C。

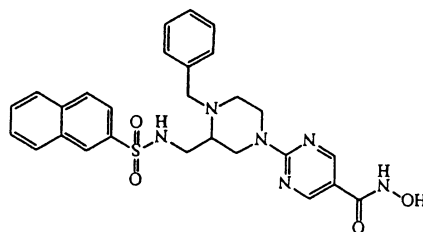


化合物 2

10

實例 B3

類似實例[B1]之方法處理中間物 10，產生 0.26 克 (100%)化合物 3，熔點 135°C。

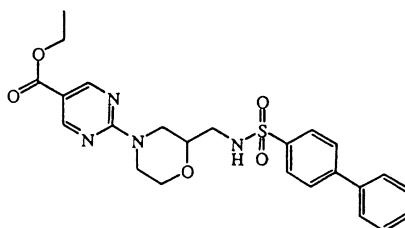


化合物 3

15

20 實例 B4

中間物 27 製法



五、發明說明 (57)

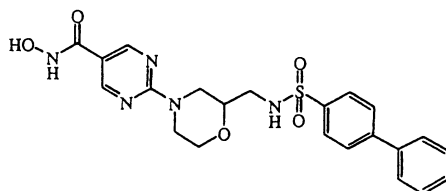
於 0°C 下，添加氫化鈉 60%(0.0059 莫耳)至 N₂ 氣流下，含中間物 2(0.0039 莫耳)之 THF(15 毫升)混合物中。混合物於 0°C 下攪拌 1 小時。滴加含 2-(甲磺醯基)-5-嘓啶羧酸乙酯(0.0051 莫耳)之 THF(10 毫升)溶液。混合物於 0

5 °C 下攪拌 2 小時後，回升室溫 2 小時，倒至冰水中，以 EtOAc 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(2 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40μm)(溶離液：DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0.1)。收集純溶離份。殘質自乙醚中結晶。濾出沉澱，乾燥，產生 0.075 克中間物 27，熔

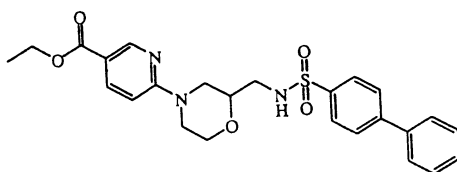
10 點 170°C。

類似實例[B1]之方法處理中間物 27，產生 0.236 克 (64%)化合物 4，熔點 163°C。

15



化合物 4

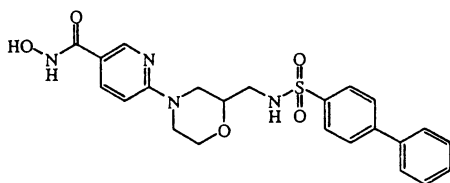
實例 B520 中間物 28 之製法

五、發明說明 (58)

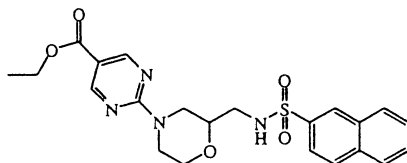
於 0°C 下，分批添加氫化鈉 60%(0.0043 莫耳)至 N₂ 氣
 流下，含中間物 2(0.0036 莫耳)與 6-氯-3-吡啶羧酸乙酯
 (0.0047 莫耳)之 DMF(20 毫升)之混合物中。混合物於 90°C
 下攪拌 12 小時後冷卻至室溫，倒至冰水中。添加
 5 EtOAc。混合物以 EtOAc 萃取。有機層以水洗滌，脫水
 (MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(1.7 克)經矽膠管柱層析
 法純化(15-40 μ m)(溶離液：DCM/EtOAc 85/15 後， MeOH
 /NH₄OH 97/3/0.1)。收集純溶離份，蒸發溶劑。殘質(0.42
 克)自乙醚中結晶。濾出沉澱，乾燥，產生 0.36 克(22%)中
 10 間物 28，熔點 186°C。

類似實例[B1]之方法處理中間物 28，產生 0.155 克
 (62%)化合物 5，熔點 210°C。

15



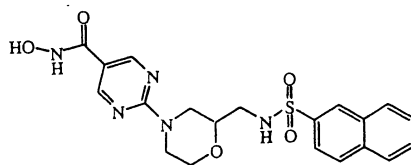
化合物 5

實例 B620 中間物 29 之製法

五、發明說明 (59)

於 0°C 下，添加氫化鈉(0.0032 莫耳)至 N₂ 氣流下，含中間物 12(0.0016 莫耳)之 THF(10 毫升)混合物中。混合物於室溫下攪拌 1 小時。於 0°C 下滴加含 2-(甲磺醯基)-5-嘧啶羧酸乙酯(0.0019 莫耳)之 THF(10 毫升)溶液。混合物於室溫下攪拌 2 小時。添加冰與 EtOAc。以 EtOAc 萃取混合物。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(0.75 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40μm)(溶離液：DCM/ MeOH 99/1)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 0.22 克(73%)中間物 29。

10 類似實例[B1]之方法處理中間物 29，產生 0.055 克(50%)化合物 6，熔點 179°C。

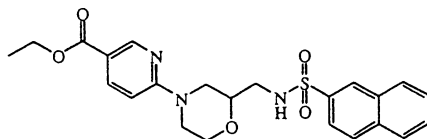


15

化合物 6

實例 B7中間物 30 之製法

20



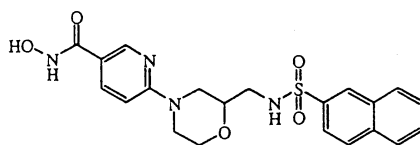
於 0°C 下，添加氫化鈉 60%(0.0052 莫耳)至 N₂ 氣流下，含中間物 12(0.0026 莫耳)之 DMF(20 毫升)混合物中。

五、發明說明 (60)

混合物於 0°C 下攪拌 1 小時。於 0°C 下滴加含 6-氯-3-吡啶羧酸乙酯(0.0034 莫耳)之 DMF(10 毫升)溶液。使混合物回升室溫後，於 90°C 下攪拌 12 小時，倒至冰水中，以 DCM 萃取。有機層以水洗滌，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑。殘質(1.4 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40μm)(溶離液：環己烷/EtOAc 60/40)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 0.5 克(42%)中間物 30。

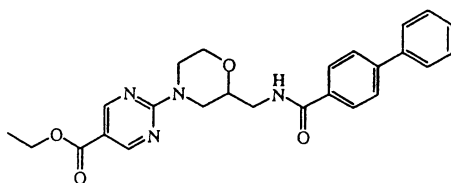
類似實例[B1]之方法處理中間物 30，產生 0.23 克(66%)化合物 7，熔點 157°C。

10



化合物 7

15 實例 B8

中間物 31 之製法

20

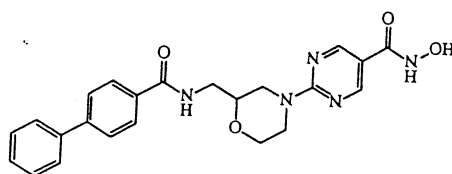
取含中間物 14(0.003 莫耳)、2-(甲磺醯基)-5-嘧啶羧酸乙酯(0.004 莫耳)與碳酸鉀(0.0061 莫耳)之乙腈(30 毫升)混合物於室溫下攪拌 12 小時，倒至水中，以 EtOAc 萃取。分離有機層，以水洗滌，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶

五、發明說明 (61)

劑。殘質(1.4 克)自 CH_3CN /乙醚中結晶。濾出沉澱，乾燥，產生 1.1 克(79%)中間物 31，熔點 184°C 。

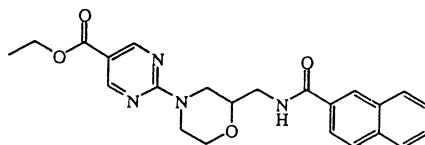
類似實例[B1]之方法處理中間物 31，產生 0.156 克(47%)化合物 8，熔點 290°C 。

5



化合物 8

10

實例 B9中間物 32 之製法

15

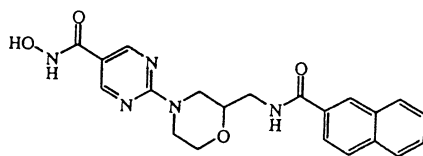
於 0°C 下，添加氫化鈉(0.0044 莫耳)至 N_2 氣流下，含中間物 16(0.0022 莫耳)之 THF(15 毫升)混合物中。混合物於 0°C 下攪拌 1 小時。滴加含 2-(甲醯基)-5-嘓啶羧酸乙酯(0.0029 莫耳)之 THF(5 毫升)溶液。混合物於室溫下攪拌 4 小時，倒至冰水中，以 EtOAc 萃取。分離有機層，脫水(MgSO_4)，過濾，蒸發溶劑。殘質(1 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40 μm)(溶離液： $\text{DCM}/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 97/3/0.1)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 0.58 克(90%)中間物 32。

20

類似實例[B1]之方法處理中間物 32，產生 0.091 克

五、發明說明 (62)

(50%)化合物 9，熔點 246°C。

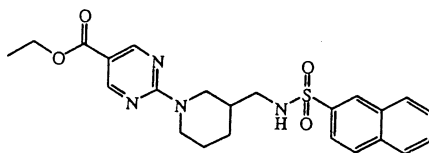


5

化合物 9

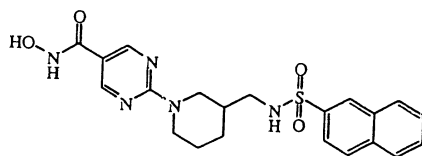
實例 B10中間物 33 之製法

10



於 5°C 下，分批添加氫化鈉 60%(0.0042 莫耳)至 N₂ 氣流下，含中間物 18(0.0032 莫耳)之 THF(10 毫升)混合物中。混合物攪拌 30 分鐘。滴加含 2-(甲磺醯基)-5-嘧啶羧酸乙酯(0.0039 莫耳)之 THF(2 毫升)溶液。混合物於室溫下攪拌 18 小時。添加 10%碳酸鉀。混合物經 DCM 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑至乾。殘質(1.6 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40μm)(溶離液：DCM 100 至 DCM/MeOH 98/2)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 0.9 克(60%)中間物 33。

類似實例[B1]之方法處理中間物 33，產生 0.19 克(50%)化合物 10，熔點 210°C。



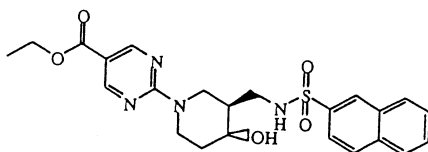
五、發明說明 (63)

化合物 10

實例 11

反式中間物 34 之製法

5

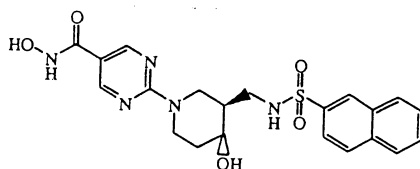


- 於 5°C 下，分批添加氫化鈉(0.0102 莫耳)至 N₂ 氣流下，含中間物 23(0.004 莫耳)之 THF(10 毫升)混合物中。混合物攪拌 1 小時。滴加含 2-(甲磺醯基)-5-嘧啶羧酸乙酯(0.0053 莫耳)之 THF(5 毫升)溶液。混合物於室溫下攪拌 24 小時。添加 10%碳酸鉀。混合物經 DCM 萃取。分離有機層，脫水(MgSO₄)，過濾，蒸發溶劑至乾。殘質(1.1 克)經矽膠管柱層析法純化(15-40μm)(溶離液：DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0.1)。收集純溶離份，蒸發溶劑，產生 0.17 克(9%)中間物 34，熔點 189°C。

15

類似實例[B1]之方法處理中間物 34，產生 0.194 克(68%)化合物 11(反式)，熔點 176°C。

20



反式化合物 11

表 F-1 列出根據上述一種實例製備之化合物。表中採

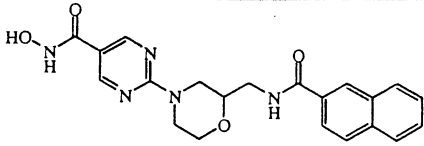
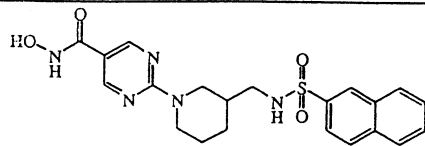
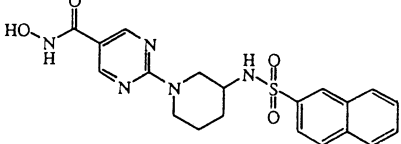
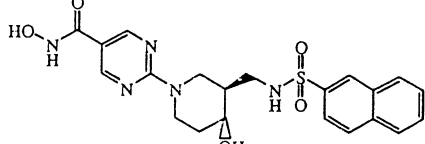
五、發明說明 (64)

用下列縮寫： $C_2HF_3O_2$ 代表三氟乙酸鹽，Co.No.代表化合物編號，Ex.[Bn⁰]指與 Bn⁰ 實例中所述之相同方法。有些化合物已說明其熔點特性(mp)。

表 F-1

(B); Co. No. 1; Ex. [B1]; mp. 164°C	(A); Co. No. 12; Ex. [B1]; mp. 175°C
Co. No. 2; Ex. [B2]; mp. 243°C	Co. No. 3; Ex. [B3]; mp. 135°C
H_2O (1:1) $C_2HF_3O_2$ (1:1); Co. No. 13; Ex. [B3]	Co. No. 4; Ex. [B4]; mp. 163°C
Co. No. 5; Ex. [B5]; mp. 210°C	Co. No. 6; Ex. [B6]; mp. 179°C
Co. No. 7; Ex. [B7]; mp. 157°C	Co. No. 8; Ex. [B8]; mp. 290°C

五、發明說明 (65)

	
Co. No. 9; Ex. [B9]; mp. 246°C	Co. No. 10; Ex. [B10]; mp. 210°C
	
Co. No. 14; Ex. [B10], mp. 150°C	TRANS; Co. No. 11; Ex. [B11]; mp. 176°C

C. 藥理實例

組織蛋白去乙酰酶抑制作用之活體外分析法(參見實例

- 10 C.1)係測定式(I)化合物所得之抑制 HDAC 酵素活性。

式(I)化合物之細胞活性係於 A2780 腫瘤細胞上，採用測試細胞毒性或存活性之比色測定法測定(Mosmann Tim, Journal of Immunological Methods 65:55-63,1983)(參見實例 C.2)。

- 15 於水性介質中之動力溶解性係測定該化合物於稀釋時保持水溶液狀態之能力(參見實例 C.3)。

DMSO 母液係使用單一水性緩衝溶劑，於連續 3 個步驟中稀釋。每一次稀釋後之濁度均使用濁度計測定。

- 20 藥物之代謝作用指該脂溶性異種生物化合物或生物內生化合物經酵素轉化成極性、水溶性且可排泄之代謝物。藥物代謝作用之主要器官為肝臟。代謝物之活性通常低於母化合物或無活性。然而，有些代謝物可能加強活性或毒性效果。因此，藥物代謝作用可包括"去毒化"與"毒化"過程。其中決定生物體是否有能力處理藥物與化學物之主要

五、發明說明 (66)

酵素系統代表為細胞色素 P450 單氧化酶，其係依賴 NADPH 之酵素。化合物之代謝安定性可於活體外，使用亞細胞人類組織測定(參見實例 C.4)。本文中化合物之代謝安定性係由此等化合物與微粒體培養 15 分鐘後之藥物代謝%表示。以 LC-MS 分析法為化合物定量。

腫瘤抑制劑 p53 可因應 DNA 損傷，轉錄性活化許多種基因，包括 WAF1/CIP1 基因。WAF1 基因之 21kDa 產物出現在正常細胞中涉及環素、依賴環素之激酶(CDKs)及增生細胞核抗原(PCNA)之複合體中，但不出現在轉形細胞中，且似乎為 CDK 活性之通用抑制劑。p21WAF1 結合並抑制 CDKs 之一種後果為防止依賴 CDK 之磷酸化反應及隨後之 Rb 蛋白質之去活化作用，後者係細胞循環發展所必要者。因此，使用 HDAC 抑制劑誘發 p21WAF1 因應細胞接觸而產生之作法即可成為細胞循環發展過程中，在克 1 與克 2 檢查點之抑制作用之強力且專一性之指示劑。

化合物誘發 p21WAF1 之能力係採用 p21WAF1 酵素連結免疫吸附性分析法測定(致癌基因之 WAF1 ELISA)。p21WAF1 分析法為一種同時使用小白鼠單株抗體與兔子多株抗體之"夾心"酵素免疫分析法。對人類 WAF1 蛋白質具專一性之兔子多株抗體已固定在試驗套組所提供之塑膠孔表面上。樣本中所要分析之任何 p21WAF1 均會與捕捉抗體結合。生物素基化檢測劑單株抗體亦可辨識人類 p21WAF1 蛋白質，而且會與捕捉抗體所保留之任何 p21WAF1 結合。檢測劑抗體則再與辣根過氧化酶-共軛之

五、發明說明 (67)

抗生物素結合。辣根過氧化酶催化發色性受質四甲基聯苯胺之有色溶液轉呈藍色溶液(或當添加中止反應劑後，則轉呈黃色)，其深度與分析板上 p21WAF1 蛋白質之結合量成比例。採用分光光度計定量有色反應產物。使用已知濃度之 p21WAF1(冷凍乾燥物)所構成之標準曲線進行定量(參見實例 C.5)。

實例 C.1：組織蛋白去乙醯酶之抑制作用之活體外分析法

取 60μg/毫升 HeLa 核萃出物(供應商：Bio 莫耳)與 2×10^{-8} M 放射性標記之肽受質培養。測定 HDAC 活性所使用之受質為合成肽，亦即組織蛋白 H4 之胺基酸 14-21。該受質之 NH₂ 末端部份經 6-胺基己酸間隔基進行生物素基化，其 COOH-末端部份則被醯胺基保護，並於離胺酸 16 上專一性 [³H] 乙醯化。添加受質：生物素-(6-胺基己酸)Gly-Ala-([³H]-乙醯基-Lys-Arg-His-Arg-Lys-Val-NH₂) 至含 25mM Hepes、1M 蔗糖、0.1m 克/毫升 BSA 與 0.01%Triton X-100 之 pH7.4 緩衝液中。30 分鐘後，添加 HCl 與乙酸中止去乙醯化反應(終濃度分別為 0.035mM 與 3.8mM)。反應停止後，以乙酸乙酯萃取游離之 ³H-乙酸酯。混合與離心後，於 β-計數器上計算上層有機相之放射活性。每次實驗均平行進行對照組(含 HeLa 核萃物與化合物，但不含化合物)、空白培養組(含 DMSO，但不含 HeLa 核萃物或 DMSO)及樣本試驗組(含溶於 DMSO 中之化合物，但不含 HeLa 核萃物)。第一例中，化合物之試驗濃度

五、發明說明 (68)

為 10^{-5}M 。當化合物於 10^{-5}M 下展現活性時，則在 10^{-5}M 與 10^{-12}M 之間濃度測試化合物，製成濃度-效應曲線。每次試驗之對照組與樣本組之數值均扣除空白組數值。對照組樣本代表 100%受質去乙酰基化。各樣本之放射活性以相對於對照組平均值之百分比表示。若適當時，採用概率分析法計算已分級之數據，計算 IC_{50} 值。此時，試驗化合物之效應以 pIC_{50} 表示(IC_{50} 值之負對數值)。所有試驗化合物之 $\text{pIC}_{50} \geq 7$ (參見表 F-2)。

10 實例 C.2：於 A2780 細胞上測定抗增生活性

所有試驗化合物均溶於 DMSO 中，再於培養基中稀釋。細胞增生分析法中之最終 DMSO 濃度不可超過 0.1%(v/v)。對照組含有 A2780 細胞及不含化合物之 DMSO，而空白組則含有 DMSO，但不含細胞。取 MTT 溶於 PBS 中，5 毫克/毫升。製備甘胺酸緩衝液，其包含 0.1M 甘胺酸與 0.1M NaCl，經 1N NaOH 緩衝至 pH10.5(所有試劑均來自 Merck 藥廠)。

取人類 A2780 卵巢癌細胞(係美國賓州 Fox Chase 癌症中心 T.C.Hamilton 博士之熱心捐贈)於補充 2mM L-麩氨胺、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 健大黴素與 10%胎牛血清之 RPMI 1640 培養基中培養。細胞照例呈單層培養物保持在 37°C 之潮濕 5% CO_2 大氣中。每週使用胰蛋白酶/EDTA 溶液傳代細胞一次，分割比例為 1:40。所有培養基與補充物均得自 Life Technologies。採用 Gen-Probe 黴漿菌組織培養套組(供應

五、發明說明 (69)

商：BioMerieux)測得細胞中不含黴漿菌污染物。

- 將細胞接種在 NUNC™96 孔培養板中(供應商：Life Technologies)，使之附著在塑膠板上一夜。用於塗覆之密度為每孔 1500 個細胞，總體積為 200μl 培養基。細胞附著在培養板上後，換下培養基，添加藥物與/溶劑至最終體積 200μl。培養 4 天後，以 200μl 新鮮培養基置換培養基，採用以 MTT 為主之分析法分析細胞密度與活力。每孔中添加 25μl MTT 溶液，細胞再於 37°C 下培養 2 小時。小心吸出培養基，依序添加 25μl 甘胺酸緩衝液及 100μl DMSO，使藍色 MTT-甲臍產物溶解。微試驗板於微試驗板振盪器上振盪 10 分鐘，使用 Emax96 孔分光光度計(供應商：Sopachem)測定 540nm 之吸光度。實驗中，各實驗條件之結果均為 3 個重覆孔之平均值。初次篩選用之化合物係於單一固定濃度 $10^{-6}M$ 下測試。活性化合物則重覆試驗，以建立完整之濃度-效應曲線。每次實驗之對照組(不含藥物)及空白培養組(不含細胞或藥物)均平行進行。所有對照組與樣本組數值均扣除空白組數值。每個樣本之細胞生長平均值(以吸光度為單位)均以相對於對照組細胞生長之百分比表示。若適當時，採用概率分析法計算已分級之數據，計算 IC_{50} 值(使細胞生長下降至對照組之 50%時所需藥物濃度)(Finney,D.J.,Probit Analyses,第 2 版,第 10 章,Graded Response,Cambridge University Press ,Cambridge,1962)。本文中以 pIC_{50} (IC_{50} 值之負對數值) 表示試驗化合物之效果。大多數試驗化合物在 $10^{-6}M$ 之試驗濃度下展現

五、發明說明 (70)

細胞活性且 12 種化合物之 $pIC_{50} \geq 5$ (參見表 F-2)。

實例 C.3：於水性介質中之動力溶解性

第一個稀釋步驟中，取 10 μ l 活性化合物之濃縮母液溶
5 於 DMSO 中(5mM)，加至 100 μ l 磷酸鹽檸檬酸鹽緩衝液
pH7.4 中，混合。第二個稀釋步驟中，取一部份(20 μ l)第一
個稀釋步驟溶液再加至 100 μ l 磷酸鹽檸檬酸鹽緩衝液
pH7.4 中，混合。最後，第三個稀釋步驟中，取一部份
(20 μ l)第二個稀釋步驟溶液再加至 100 μ l 磷酸鹽檸檬酸鹽
10 緩衝液 pH7.4 中稀釋，混合。所有稀釋液均於 96 孔板中
進行。最後一次稀釋後，立即使用濁度計測定連續 3 個稀
釋步驟之濁度。每種化合物之稀釋液均進行三重覆，以排
除偶然誤差。依據濁度測定值，分成 3 級。高溶解度之化
合物得到 3 分，此等化合物之第一次稀釋呈澄清狀。中度
15 溶解度之化合物得到 2 分。此等化合物之第一次稀釋液不
澄清，但第二次稀釋液即澄清。低溶解度之化合物得到 1
分。此等化合物之第一次與第二次稀釋液均不澄清。測定
11 種化合物之溶解度。有 6 種化合物得到 3 分，2 種化
合物得到 2 分，及 3 種化合物得到 1 分(參見表 F-2)。

20

實例 C.4：代謝安定性

依據 Gorrod 等人(Xenobiotica 5: 453-462,1975)製備亞
細胞組織製劑，其係使組織經過機械性均質化後離心分
離。肝組織於冰冷 0.1M Tris-HCl(pH 7.4)緩衝液中潤洗，

五、發明說明 (71)

以洗除過量血液。隨後吸乾組織，稱重，使用手術用剪刀粗略剪斷。組織碎片於 3 倍體積冰冷之 0.1M 磷酸鹽緩衝液(pH 7.4)中，使用裝有鐵弗龍搗杵之 Potter-S(義大利 Braun 公司)或 Sorvall Omni-Mix 均質器均質化 7 x10 秒，

5 均質化期間，容器保持在冰中/上。

組織均質液於 4°C 下，使用 Sorvall 離心機或 Beckmann 超離心機，於 9000 x 克下離心 20 分鐘。所得上澄液保存在 -80°C 下，稱為 "S9"。

此 S9 部份再使用 Beckmann 超離心機，於 100,000 x
10 克下離心 60 分鐘(4°C)。小心吸出所得上澄液，此部份稱為 "胞液"。離心塊再懸浮於 0.1M 磷酸鹽緩衝液中(pH 7.4)，每 0.5 克組織原始重之終體積為 1ml，稱為 "微粒體"。

所有亞細胞組織部份分開後，立即於液態氮中冷凍，保存在 -80°C 下，直到使用時為止。

15 試驗樣本之培養混合物含有 PBS(0.1M)、化合物 (5μM)、微粒體(1 毫克/毫升)與 NADPH-發生系統(0.8mM 葡萄糖-6-磷酸、0.8mM 氯化鎂及 0.8 單位葡萄糖-6-磷酸去氫酶)。對照組樣本含有相同材料，但微粒體改為經受熱去活性(95°C 下 10 分鐘)之微粒體。對照組樣本中化合物
20 之回收率總是 100%。

混合物於 37°C 下預培養 5 分鐘。添加 0.8mM NADPH 之零時間點(t=0)開始反應，樣本培養 15 分鐘(t=15)。添加 2 倍體積 DMSO 停止反應。樣本隨後於 900x 克下離心 10 分鐘，分析前保存在室溫下之上澄液不可超過 24 小時。

五、發明說明 (72)

所有培養均進行二重覆。採用 LC-MS 分析法分析上澄液。於 Xterra MS C18(50 x4.6 mm,5um,美國 Waters 公司)上溶離樣本。採用 Alliance 2790(供應商：美國 Waters 公司)HPLC 系統。溶離液為緩衝液 A(含於 H₂O/乙腈(95/5)中之 25mM 乙酸銨(pH5.2))，溶劑 B 為乙腈，且溶劑 C 為甲

5 醇，流速為 2.4 毫升/分鐘。所使用之梯度為在 5 分鐘內，以線性梯度，使有機相濃度由 0%逐漸提高至 50%B 與 50%C，於 1 分鐘內至 100%B，然後保持有機相固定濃度 1.5 分鐘。注射樣本總體積為 25μl。

10 採用附有 ESI 光源之 Quattro(供應商：英國曼徹斯特市 Microsome 公司)三重四級質譜儀作為檢測器。光源與去溶劑溫度化分別設定在 120 與 350°C，使用氮氣作為氣霧劑及脫水氣體。以陽性掃描模式取得數據(單離子反應)，錐管電壓設定在 10V，滯留時間為 1 秒。

15 代謝安定性以化合物於活性微粒體(E(act))之存在下 15 分鐘培養後之代謝%表示 (代謝%=100%-((E(act)於 t=15 時之總離子電流(TIC)/ E(act)於 t=0 時之 TIC) X 100)。代謝百分比小於 20%之化合物則定義為具高度代謝安定性。代謝百分比在 20 與 70%之間之化合物則定義為具中度安定

20 性，而代謝百分比高於 70%之化合物則定義為具低度代謝安定性。當進行代謝安定性試驗時，總是包含 3 種參考化合物。使用菲帕米(Verapamil)作為低度代謝安定性之化合物(代謝%=73%)。使用希普萊德(Cisapride)作為中度代謝安定性之化合物(代謝%=45%)。使用丙醇作為中度至高度

五、發明說明 (73)

代謝安定性之化合物(代謝%=25%)。使用此等參考化合物確認代謝安定性分析法之有效性。

試驗 10 種化合物。其中 6 種之代謝%小於 20%，4 種之代謝%在 20 至 70%之間。

5

實例 C.5：p21 誘發能力

採用下列方法，於人類 A2780 卵巢癌細胞上測定 p21 蛋白質表現程度。將 A2780 細胞(20000 個細胞/180 μ l)接種在 96 孔微分析板中，補充 2mM L-麩醯胺、50 μ g/毫升健大黴素與 10%胎牛血清之 RPMI 培養基中。溶解細胞前 24 小時，化合物之最終添加濃度為 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 與 10^{-8} M。所有試驗化合物均溶在 DMSO 中，再於培養基中稀釋。添加化合物 24 小時後，排出細胞之上澄液。以 200 μ l 冰冷 PBS 洗滌細胞。吸清凹孔，添加 30 μ l 溶胞緩衝液(50mM Tris.HCl(pH7.6)，150mM HCl，1%Nonidet p40 與 10%甘油)。分析板於-70 $^{\circ}$ C 下培養一夜。

10

15

自金屬箔包裝中取出適量微滴定孔，置入空的凹孔維持器中。製備洗滌緩衝液(20 x 分析板洗滌濃縮液：100 毫升 PBS 與界面活性劑之 20 倍濃縮液。含有 2%氯乙醯胺)之操作溶液(1 x)。冷凍乾燥之 p21WAF 標準物與蒸餾水重新組合，再經樣本稀釋液(由套組中供應)稀釋。

20

樣本經樣本稀釋液稀釋 1：4。吸取樣本(100 μ l)與 p21WAF1 標準物(100 μ l)加至適當凹孔中，於室溫下培養 2 小時。以 1 x 洗滌緩衝液洗滌凹孔 3 次後，吸取 100 μ l 檢

五、發明說明 (74)

測劑抗體試劑(生物素基化單株 p21WAF1 抗體溶液)加至各孔中。凹孔於室溫下培養 1 小時後，以 1 x 洗滌緩衝液洗滌 3 次，稀釋 400x 共軛物(過氧化酶抗生物素共軛物：400 倍濃縮液)，取 100 μ l 1 x 溶液加至孔中。凹孔於室溫

5 下培養 30 分鐘後，以 1 x 洗滌緩衝液洗滌 3 次，以蒸餾水洗滌 1 次。添加受質溶液(發色性受質)(100 μ l)至孔中，於黑暗中室溫下培養 30 分鐘。依前述添加受質溶液之相同順序添加停止反應溶液至各孔中。使用分光光度計讀板機，於 450/595nm 雙重波長下測定各孔吸光度。每次實驗

10 均平行進行對照組(不含藥物)與空白培養組(不含細胞或藥物)。所有對照組與樣本組數值均扣除空白組數值。各樣本之 p21WAF1 誘發數值(單位為吸光度)以相對於對照組中 p21 WAF1 數值百分比表示。誘發百分比高於 130%時，定義為顯著誘發。本分析法中，試驗 11 種化合物。其均展

15 現顯著之誘發作用。

五、發明說明 (75)

表 F-2：表 F-2 出示依據實例 C.1、C.2 與 C.3 試驗之化合物之結果

化合物 No.	酵素活性 pIC ₅₀	細胞活性 pIC ₅₀	溶解度分數
1	7.723	6.232	2
2	8.059	5.691	1
3	7.647	5.62	1
4	8.097	6.248	1
5	7.549	5.689	
6	7.421	6.384	3
7	7.23	5.69	3
8	7.487	7.438	3
9	7.609	<5	3
10	7.65	5.966	3
11	7.553	<5	3
12	7.528	6.01	2
13	7.361	5.773	
14		6.614	

五、發明說明 (76)

D.組合物實例：膜衣錠

錠劑核心製法

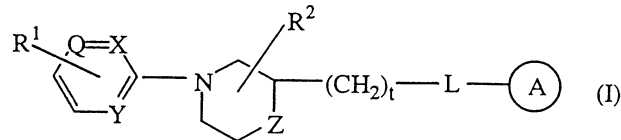
取含 100 克 式(I)化合物、570 克乳糖與 200 克澱粉之混合物混合均勻後，與含 5 克十二烷基硫酸鈉及 10 克聚
5 乙烯吡咯烷酮之約 200 毫升水溶液濕化。濕粉末混合物經過篩、乾燥及再過篩一次。然後添加 100 克微晶纖維素與 15 克氫化植物油。全部混合均勻，壓成錠劑，產生 10,000 片錠劑，各含 10 毫克 式(I)化合物。

10 包衣

添加含 5 克乙基纖維素之 150 毫升二氯甲烷溶液至含 10 克甲基纖維素之 75 毫升變性乙醇溶液中。然後添加 75 毫升二氯甲烷與 2.5 毫升 1,2,3-丙三醇。取 10 克聚乙二醇
15 溶化及溶解於 75 毫升二氯甲醇中。後項溶液加至前項溶液中，然後添加 2.5 克十八碳烷酸鎂、5 克聚乙烯吡咯烷酮與 30 毫升濃縮色素懸浮液，全部均質化。於包覆設備中，以所得混合物包覆錠劑核心。

四、中文發明摘要（發明之名稱：作為新穎之組織蛋白去乙醯酶抑制劑之六氫吡啶-，六
氫吡啶-及嗎福啉-衍生物）

本發明包括一種新穎之式(I)化合物

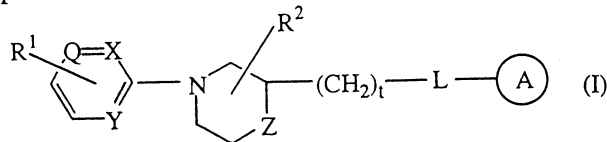


其中 t、R¹、R²、L、Q、X、Y、Z 與—(A)—如上述定義，
其具有組織蛋白去乙醯酶抑制劑之酵素活性；並包括
其製法、含其之組合物及其作為醫藥之用途。

英文發明摘要（發明之名稱：

PIPERAZINYL-, PIPERIDINYL- AND MORPHOLINYL-DERIVATIVES AS
NOVEL INHIBITORS OF HISTONE DEACETYLASE.

This invention comprises the novel compounds of formula (I)



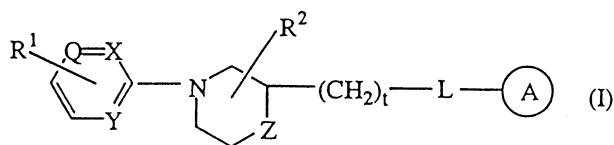
wherein t, R¹, R², L, Q, X, Y, Z and —(A)— have defined meanings, having histone deacetylase inhibiting enzymatic activity; their preparation, compositions containing them and their use as a medicine.

(一)、本案指定代表圖為：第_____圖（無）

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

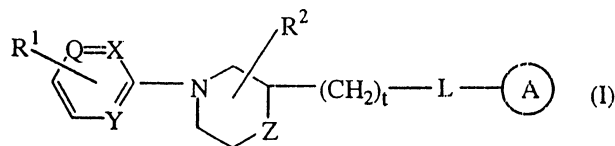
無

本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



六、申請專利範圍

1. 一種式(I)化合物



5

其 N-氧化物型、其醫藥上可接受之加成鹽及立體化學異構型，其中

t 為 0 或 1；

各 Q 為 $-C \equiv$ ；

10

各 X 為氮；

各 Y 為氮或 $-C \equiv$ ；

各 Z 為 -NH、-O- 或 -CH₂-；

R¹ 為 $-C(O)NR^3R^4$ ，其中 R³ 與 R⁴ 分別獨立選自：
氫或羥基；

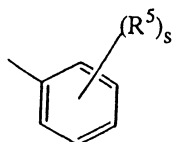
15

R² 為氫、羥基、或苯基 C₁₋₆ 烷基；

-L-為選自下列之二價基團： $-NR^9C(O)-$ 或 $-NR^9SO_2$ ，其中 R⁹ 為氫；

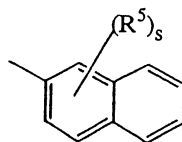
—(A) 為選自下列之基團：

20



(a-1)

或



(a-20)

其中各 s 分別為 0 或 1；

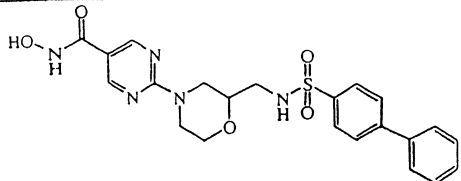
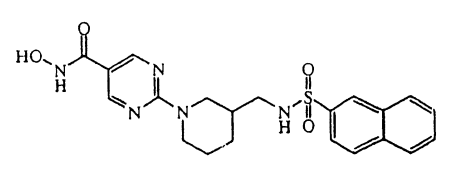
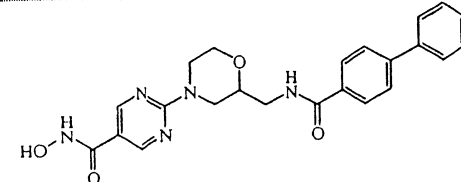
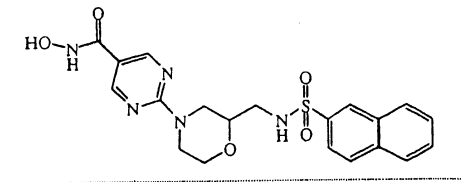
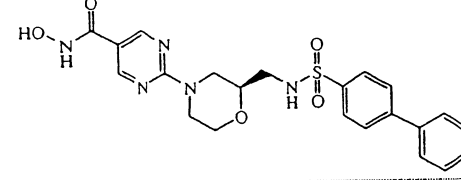
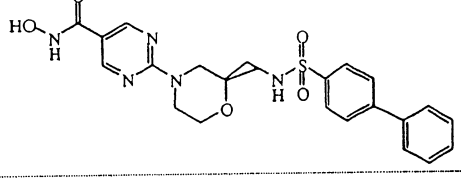
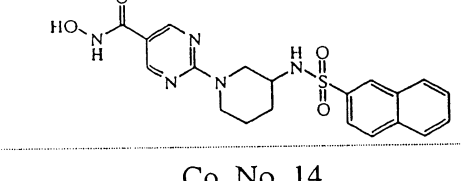
各 R⁵ 為氫或苯基。

六、申請專利範圍

2. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 t 為 0 或 1；
Q 為 $-C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ ；各 X 為氮；R¹ 為 $-C(O)NH(OH)$ ；R² 為氫、
羥基、C₁₋₆ 烷基、或芳基 C₁₋₆ 烷基；-L-為選自 $-NHC(O)-$
或 $-NHSO_2-$ 之二價基團；
- 5 —(A) 為選自：(a-1)或(a-20)之基團；各 s 分別為 0 或 1；
且各 R⁵ 分別獨立為氫或苯基。
3. 根據申請專利範圍第 1 或 2 項之化合物，其中 t 為 1；
Q 為 $-C \begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ ；各 X 為氮；各 Y 為氮；各 Z 為 $-O-$ 或 $-CH_2-$ ；
R¹ 為 $-C(O)NH(OH)$ ；R² 為氫；-L-為選自 $-NHC(O)-$ 或
10 $-NHSO_2-$ 之二價基團；
—(A) 為選自：(a-1)或(a-20)之基團；各 s 分別為 0 或 1；
且各 R⁵ 分別獨立為氫或苯基。
4. 根據申請專利範圍第 1 或 2 項之化合物，其係選自：
No.4、No.10、No.8、No.6、No.1、No.12 與 No.14。

15

六、申請專利範圍

	
Co. No. 4	Co. No. 10
	
Co. No. 8	Co. No. 6
	
(B); Co. No. 1	(A); Co. No. 12
	
Co. No. 14	

15

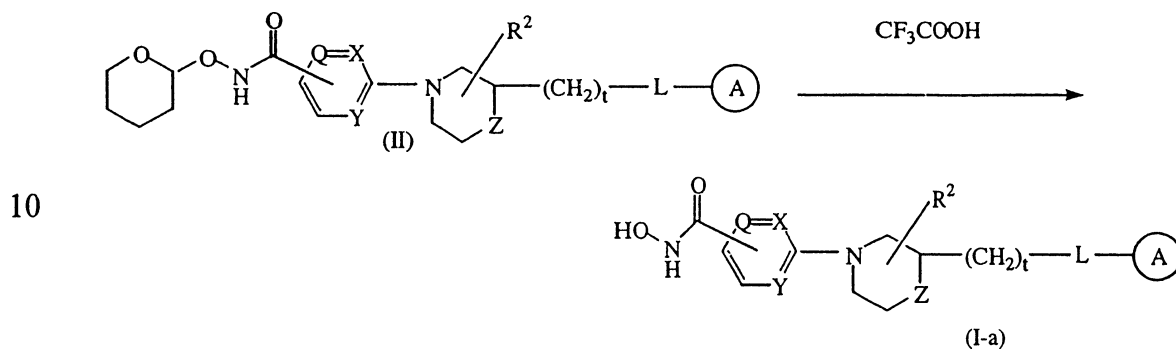
5. 一種醫藥組合物，其包含醫藥上可接受之載劑及作為活性成分之醫療有效量之根據申請專利範圍第 1 至 4 項之化合物。
6. 一種製備根據申請專利範圍第 5 項之醫藥組合物之方法，其中均勻混合醫藥上可接受之載劑及根據申請專利範圍第 1 至 4 項之化合物。
7. 根據申請專利範圍第 1 或 2 項之化合物，其係用為醫藥。
8. 一種以根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之化合

20

六、申請專利範圍

物於製造醫藥，供治療增生疾病上之用途。

9. 一種製備根據申請專利範圍第 1 項之化合物之方法，其特徵在於由式(II)中間物與適當酸(如，例如：三氟乙酸)反應，產生式(I-a)異羧肟酸，其中 R^1 為 $-C(O)NH(OH)$ 。



10. 一種於生物檢體中檢測或判別 HDAC 之方法，其包括檢測或測定如申請專利範圍第 1 項所定義之有標記化合物與 HDAC 之間所形成之錯合物。
11. 一種含抗癌劑與根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之 HDAC 抑制劑之組合。