



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104557914 A

(43) 申请公布日 2015. 04. 29

(21) 申请号 201410676180. 5

*A61K 31/52*(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 09. 25

*A61P 35/00*(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/100, 291 2008. 09. 26 US

(62) 分案原申请数据

200980138201. 5 2009. 09. 25

(71) 申请人 新加坡科技研究局

地址 新加坡新加坡市

(72) 发明人 蔡丽玲 谭国伟 杨海燕 于强

阮遵明

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

有限责任公司 11204

代理人 王达佐 洪欣

(51) Int. Cl.

*C07D 471/04*(2006. 01)

*A61K 31/519*(2006. 01)

*C07D 473/34*(2006. 01)

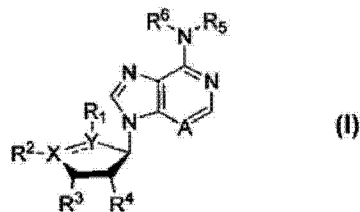
权利要求书3页 说明书32页 附图4页

(54) 发明名称

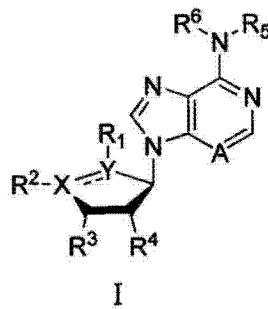
3-脱氮瓶菌素衍生物

(57) 摘要

本发明描述了为抑制多梳抑制复合物2(PRC2)蛋白功能而设计的基于3-脱氮瓶菌素A(DZNep)核心结构的一系列化合物。



1. 结构 I 的化合物：



或其对映异构体或非对映异构体或任一这些的盐，

其中：

X 和 Y 均为 C，

A 为 C 或 N；

— 为单键；

R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>独立地选自氢、卤素、任取代的烃基、任取代的芳基、任取代的烃基 -Z- 和任取代的芳基 -Z-，其中 Z 为 N、O、S 或 Si，或 R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>一起形成 X 和 Y 之间的任取代的烃桥；

R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>独立地选自氢、羟基、任取代的烃基、任取代的芳基、任取代的烃基 -Z'- 和任取代的芳基 -Z'-，其中 Z' 为 N、O、S 或 Si，或 R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>一起形成与其相连的两个碳原子之间的任取代的烃桥或任取代的  $\alpha, \omega$ - 二氧杂烃桥；

R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>独立地选自氢、任取代的烃基和任取代的芳基，或 R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>和与其相连的氮原子一起形成任取代的氮杂环烃基；

其中所述化合物不为 (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基) 环戊烷-1, 2- 二醇或 (1R, 2S, 3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并 [4, 5-c] 吡啶-1-基) 环戊烷-1, 2- 二醇或 (±)-(1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1, 2- 环戊二醇盐酸盐或 3- 脱氮芒霉素，

所述化合物、对映异构体、非对映异构体或盐显示出激活 E2F1 诱导的细胞凋亡至少约 15% 的活性。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中：

R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>独立地为氢、卤素，具有 1 至 8 个主链碳原子和 0 至 3 个杂原子的脂族基、芳基脂族基或烃基，所述杂原子各自独立地为 N、O、S、Si (其中如果所述杂原子为 N 或 Si，则与其连接的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基)；

R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>独立地为包含 0 至 3 个杂原子的羟基、烷氧基、环烷氧基、芳氧基、芳基烷氧基或芳基环烷氧基，所述杂原子各自独立地为 N、O、S 或 Si (其中如果所述杂原子为 N 或 Si，则与其相连的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基)，或将 R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>连接以建立与其相连的两个碳原子之间的  $\alpha, \omega$ - 二氧杂烃桥；以及

R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>独立地为包含 0 至 3 个杂原子的氢、脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂族基或芳基脂环族烃基，所述杂原子各自独立地为 N、O、S 或 Si (其中如果所述杂原子为 N 或 Si，则与其相连的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基)。

3. 如权利要求 1 所述的化合物，其中：

R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>独立地为氢或卤素或碳或包含 1 至 8 个主链碳原子和 0 至 3 个杂原子的脂族

基、芳基脂族基、烃基,所述杂原子为 N、O、S、Si(其中如果所述杂原子为 N 或 Si,则与其相连的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基),或诸如 Cl 或 F 的卤素;

$R^3$ 和 $R^4$ 独立地为氢或碳或脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂环族基或芳基脂族烃基,或将 $R^3$ 和 $R^4$ 连接以建立脂族烃桥;以及

$R^5$ 和 $R^6$ 独立地为氢或包含 0-3 个杂原子的脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂族基或芳基脂环族烃基,所述杂原子为 N、O、S 或 Si(其中如果所述杂原子为 N 或 Si,则与其相连的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基)。

4. 如权利要求 1 所述的化合物,其中 $R^1$ 为 H。

5. 如权利要求 1 至 4 中任一权利要求所述的化合物,其中 $R^3$ 和 $R^4$ 均为 OH,或 $R^3$ 和 $R^4$ 一起形成受保护的邻二醇。

6. 如权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述的化合物,其中 $R^3$ 和 $R^4$ 一起形成 $-OC(Me)_2$  O-基团。

7. 如权利要求 1 至 6 中任一权利要求所述的化合物,或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐,其显示出在 4-OHT 存在下激活 E2F1 诱导的细胞凋亡至少约 25% 的活性。

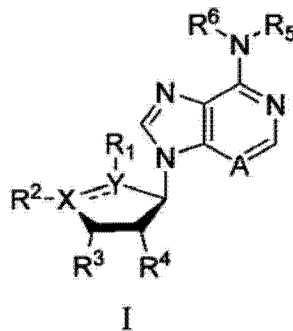
8. 如权利要求 1 至 7 中任一权利要求所述的化合物,或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐,其在具有组蛋白脱乙酰酶抑制剂 TSA 的结肠癌细胞中显示出至少约 40% 的细胞凋亡诱导。

9. 如权利要求 1 至 8 中任一权利要求所述的化合物,或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐,其能够抑制多梳抑制复合物 2 (PRC2) 蛋白的功能或组蛋白甲基化。

10. 权利要求 1 至 9 中任一权利要求所述的化合物,或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐在治疗中的用途。

11. 如权利要求 10 所述的用途,其中所述治疗为表观遗传治疗。

12. 结构 I 的化合物,或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐在制备用于治疗癌症的药物中的用途,



或其对映异构体或非对映异构体或任一这些的盐,

其中:

X 和 Y 均为 C,

A 为 C 或 N;

== 为单键;

$R^1$ 和 $R^2$ 独立地选自氢、卤素、任选取代的烃基、任选取代的芳基、任选取代的烃基-Z-和任选取代的芳基-Z-,其中 Z 为 N、O、S 或 Si,或 $R^1$ 和 $R^2$ 一起形成 X 和 Y 之间的任选取代的烃桥;

R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>独立地选自氢、羟基、任选取代的烷基、任选取代的芳基、任选取代的炔基 -Z' - 和任选取代的芳基 -Z' -，其中 Z' 为 N、O、S 或 Si，或 R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>一起形成与其连接的两个碳原子之间的任选取代的烃桥或任选取代的  $\alpha, \omega$ - 二氧杂烃桥；

R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>独立地选自氢、任选取代的烷基和任选取代的芳基，或 R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>和与其相连的氮原子一起形成任选取代的氮杂环烷基；

其中所述化合物不为 (1R, 2S, 3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)环戊烷-1,2-二醇或 (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊烷-1,2-二醇，

所述化合物、对映异构体、非对映异构体或盐显示出激活 E2F1 诱导的细胞凋亡至少约 15% 的活性。

13. 如权利要求 12 所述的用途，其中所述化合物为 (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1,2-环戊二醇盐酸盐或其对映异构体或非对映异构体或任一这些的盐（例如药物可接受的盐）。

14. 权利要求 12 定义的结构 I 的化合物，或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐在治疗癌症中的用途。

15. 如权利要求 14 所述的用途，其中所述化合物为 (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1,2-环戊二醇盐酸盐，或其对映异构体或非对映异构体或任一这些的盐（例如，药物可接受的盐）。

16. 药物组合物，其包含权利要求 1 至 9 中任一权利要求所述的化合物，或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐，以及一种或多种药物可接受的载体、稀释剂、赋形剂或佐剂。

17. 治疗癌症的方法，其包括给予有需要的患者临床有效量的权利要求 12 定义的结构 I 的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐，或包含权利要求 12 定义的结构 I 的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐以及一种或多种药物可接受的载体、稀释剂、赋形剂或佐剂的临床有效量的药物组合物。

18. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述化合物为 (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1,2-环戊二醇盐酸盐，或其对映异构体或非对映异构体或任一这些的盐（例如，药物可接受的盐）。

19. 用于治疗癌症的权利要求 12 定义的结构 (I) 的化合物，或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐。

20. (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊烷-1,2-二醇或 (1R, 2S, 3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)环戊烷-1,2-二醇或其药物可接受的盐在制备用于抑制多梳抑制复合物 2 (PRC2) 蛋白的功能或组蛋白甲基化的药物中的用途。

21. (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊烷-1,2-二醇或 (1R, 2S, 3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)环戊烷-1,2-二醇或其药物可接受的盐在制备用于表观遗传治疗的药物中的用途。

### 3- 脱氮瓶菌素衍生物

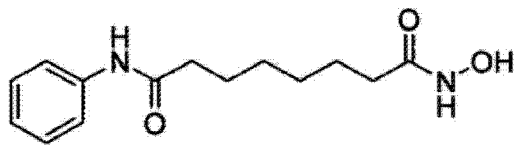
#### 技术领域

[0001] 本发明涉及 3- 脱氮瓶菌素衍生物的合成和用途。

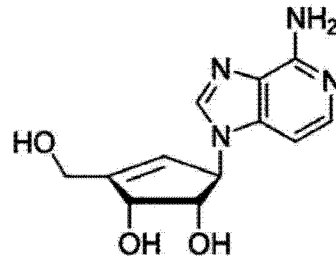
[0002] 发明背景

[0003] 癌症表观遗传调控涉及复杂的包括 DNA 甲基化和组蛋白修饰在内的生物过程, 例如组蛋白脱乙酰化和组蛋白甲基化。靶向诸如组蛋白脱乙酰化的表观遗传过程的小分子正成为在临床研究中具有满意效果的抗癌剂的新种类。在 2006 年, 批准将组蛋白脱乙酰酶抑制剂 (HD1) 伏立诺他 (也称为 SAHA) 用于治疗皮肤 T 细胞淋巴瘤 (一种皮肤癌)。除了组蛋白脱乙酰化, 组蛋白甲基化在癌症表观遗传中也起重要作用。特别地, 由在多种人类癌症中过度表达的诸如 EZH2 的聚梳家族 (Pcg) (Polycomb group) 蛋白诱导的组蛋白甲基化被认为是引发癌发生机理的一部分, 并因此成为对于药物开发有吸引力的目标。然而, 以前没有小分子表现出抑制这种重要的癌形成信号途径。

[0004]



伏立诺他



3-脱氮瓶菌素 A(DZNep)

[0005] 近来发现了 S- 腺苷高半胱氨酸 (SAM) 水解酶抑制剂 3- 脱氮瓶菌素 A (DZNep) (3-Deazaneplanocin A) 能有效地抑制 EZH2 复合物和相关的 H3K27 三甲基化, 导致癌细胞而非正常细胞的强凋亡 (Tan, J., Yang, X. 等人和 Yu, Q., Pharmacologic disruption of Polycomb repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells (多梳抑制复合物 2- 介导的基因抑制的药剂中断选择性诱导癌细胞凋亡), Genes&Development, 21, 1050-1063 (2007))。该发现建立了下述概念的证据: EZH2 和相关的组蛋白甲基化的化学抑制对于癌症治疗可以表现出令人满意的新方法。此外, DZNep 与组蛋白脱乙酰酶 (HDAC) 抑制剂协同表现出通过恶性染色质修饰的有效反转 (reversal) 来诱导癌细胞的凋亡。特别地, 这种组合治疗导致对结肠癌细胞中 Wnt/ $\beta$ - 联蛋白信号通路的明显抑制, 表明 DZNep 与 HDAC 抑制剂的组合可提供人类癌症的有效表观遗传治疗。

[0006] DZNep 已经提供了对体内和体外研究二者的满意结果。然而, DZNep 由于其具有短的半衰期和差的生物利用度, 所以其自身可能不是理想的候选药物。因此, 亟需新的具有更好生物利用度的 DZNep 类化合物。

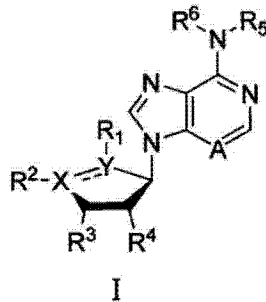
[0007] 发明目的

[0008] 本发明的目的是基本上克服或至少改善一种或多种上述缺点。另外的目的是至少部分满足上述需求。

[0009] 发明概述

[0010] 在本发明的第一方面中,提供了结构 I 的化合物,或其对映异构体或非对映异构体,或任一这些的盐,任选为药物可接受的盐:

[0011]



[0012] 其中:

[0013] X 和 Y 独立地为 C 或 O,

[0014] A 为 C 或 N;

[0015]  $\text{C}=\text{C}$  为单键或双键;

[0016]  $R^1$  和  $R^2$  独立地不存在,或  $R^1$  和  $R^2$  独立地选自氢、卤素、任选取代的烃基、任选取代的芳基、任选取代的烃基 -Z- 和任选取代的芳基 -Z-, 其中 Z 为 N、O、S 或 Si, 或  $R^1$  和  $R^2$  一起形成 X 和 Y 之间的任选取代的烃桥或任选取代的  $\alpha, \omega$ - 二氧杂烃桥;

[0017]  $R^3$  和  $R^4$  独立地选自氢、卤素、任选取代的烃基、任选取代的芳基、任选取代的烃基 -Z'- 和任选取代的芳基 -Z'-, 其中 Z' 为 N、O、S 或 Si, 或  $R^3$  和  $R^4$  一起形成与其连接的两个碳原子之间的任选取代的烃桥或任选取代的  $\alpha, \omega$ - 二氧杂烃桥;

[0018]  $R^5$  和  $R^6$  独立地选自氢、任选取代的烃基和任选取代的芳基, 或  $R^5$  和  $R^6$  与和它们相连的氮原子一起形成任选取代的氮杂环烃基;

[0019] 其中如果 X 或 Y 中任一个为 O 或两者均为 O, 则  $\text{C}=\text{C}$  为单键, 并且如果 X = O, 则  $R^2$  不存在, 并且如果 Y = O, 则  $R^1$  不存在。

[0020] 可以从该方面的范围内排除 3- 脱氮瓶菌素 A。可以从该方面的范围内排除下列化合物的任意一种或多种, 任选全部的下列化合物: 芒霉素、3- 脱氮芒霉素盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6- 氨基 -9H- 嘌呤 -9- 基)-3-( 甲氧基甲基) 环戊 -3- 烯 -1, 2- 二醇盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6- 氨基 -9H- 嘌呤 -9- 基)-3-( 氟代甲基) 环戊 -3- 烯 -1, 2- 二醇盐酸盐或 (1R, 2S, 3R)-3-(6- 氨基 -9H- 嘌呤 -9- 基) 环戊烷 -1, 2- 二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(4- 氨基 -1H- 咪唑并 [4, 5-c] 吡啶 -1- 基) 环戊烷 -1, 2- 二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(6- 氨基 -9H- 嘌呤 -9- 基)-1, 2- 环戊二醇盐酸盐、2', 3'-O- 异亚丙基 -3- 脱氮瓶菌素 A、(1S, 2R, 5R)-5-(6- 氨基 -9H- 嘌呤 -9- 基)-3- 甲基环戊 -3- 烯 -1, 2- 二醇盐酸盐。可以从该方面的范围内排除全部的下述化合物: 3- 脱氮瓶菌素 A、芒霉素、3- 脱氮芒霉素盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6- 氨基 -9H- 嘌呤 -9- 基)-3-( 甲氧基甲基) 环戊 -3- 烯 -1, 2- 二醇盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6- 氨基 -9H- 嘌呤 -9- 基)-3-( 氟代甲基) 环戊 -3- 烯 -1, 2- 二醇盐酸盐或 (1R, 2S, 3R)-3-(6- 氨基 -9H- 嘌呤 -9- 基) 环戊烷 -1, 2- 二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(4- 氨基 -1H- 咪唑并 [4, 5-c] 吡啶 -1- 基) 环戊烷 -1, 2- 二醇、(±)-(1R, 2S, 3R)-3-(6- 氨基 -9H- 嘌呤 -9- 基)-1, 2- 环戊二醇盐酸盐、2', 3'-O- 异亚丙基 -3- 脱氮瓶菌素 A 和

(1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-甲基环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐。

[0021] 可以单独地或以任何适当的组合将下列选择与第一方面结合使用。

[0022] 所述化合物可以为：

[0023] ● X 和 Y 均为 C；

[0024] ● R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>独立地为氢、卤素、具有 1 至 8 个主链碳原子和 0 至 3 个杂原子的脂族基、芳基脂族基或烃基，所述杂原子各自独立地为 N、O、S、Si（其中如果所述杂原子为 N 或 Si，则与所述杂原子连接的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基）；

[0025] ● R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>独立地为包含 0 至 3 个杂原子的羟基、烷氧基、环烷氧基、芳氧基、芳烷氧基或芳基环烷氧基，所述杂原子各自独立地为 N、O、S 或 Si（其中如果所述杂原子为 N 或 Si，则与所述杂原子连接的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基），或将 R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>连接以建立与其连接的两个碳原子之间的  $\alpha, \omega$ -二氧杂烃桥；以及

[0026] ● R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>独立地为包含 0 至 3 个杂原子的氢、脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂族基或芳基脂环族烃基，所述杂原子各自独立地为 N、O、S 或 Si（其中如果所述杂原子为 N 或 Si，则与所述杂原子连接的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基）。

[0027] 化合物可以为：

[0028] ● X 和 Y 均为 C；

[0029] ● R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>独立地为氢或卤素或具有 1 至 8 个主链碳原子和 0-3 个杂原子的脂族基、芳基脂族基、烃基，所述杂原子独立地为 N、O、S、Si（其中如果所述杂原子为 N 或 Si，则与所述杂原子连接的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基）或诸如 Cl 或 F 的卤素；

[0030] ● R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>独立地为氢或卤素或碳或脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂环族基或芳基脂族烃基，或可将 R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>连接以建立脂族烃桥；

[0031] ● R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>独立地为氢或包含 0-3 个杂原子的脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂族基或芳基脂环族烃基，所述杂原子为 N、O、S 或 Si（其中如果所述杂原子为 N 或 Si，则与所述杂原子连接的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基）。

[0032] X 和 Y 可以均为 C。

[0033] R<sup>1</sup>可以为 H。

[0034] 在某些实施方案中，X 或 Y 中任一个为 O，并且另外一个为 C。该化合物可为 X = C、Y = O 并且  $\text{—C—}$  为单键，由此 R<sup>1</sup>不存在。

[0035] R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>可以均为 OH，或它们可一起形成受保护的邻二醇。R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>可以一起形成 -OC(Me<sub>2</sub>)O- 基团。

[0036] 所述化合物可以为 ((3R, 4S, 5R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-4, 5-二羟基环戊-1-烯基) 甲基苯甲酸酯盐酸盐。

[0037] 所述化合物可显示出激活 E2F1 诱导的细胞凋亡至少约 15% 的活性。所述化合物可显示出在 4-OHT 存在下激活 E2F1 诱导的细胞凋亡至少约 25% 的活性。其在具有组蛋白脱乙酰酶抑制剂 TSA 的结肠癌细胞中显示出至少约 40% 的细胞凋亡诱导。其能够抑制多梳抑制复合物 2 (PRC2) (Polycomb repressive complex 2) 蛋白的功能。

[0038] 在本发明的实施方案中，提供了结构 I 的化合物，或其对映异构体或非对映异构体，或任一这些的盐（例如药物可接受的盐），

[0039] 其中：

[0040] X 和 Y 均为 C；

[0041] A 为 C 或 N；

[0042] 二为单键或双键；

[0043] R<sup>1</sup>为 H；

[0044] R<sup>2</sup>选自氢和任选取代的烃基；

[0045] R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>中任一个为 OH 或均为 OH, 或它们一起形成受保护的邻二醇, 例如 -OC(Me)<sub>2</sub> O- 基团；

[0046] R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>均为氢。

[0047] 在本发明的第二方面中, 提供了第一方面的化合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。所述癌症可以为以 EZH2 (zeste 增强子的同源物 2) 的过度表达为特征的癌症。该基因编码了形成多聚蛋白复合物的聚梳家族 (PcG) 的成员。在连续的细胞产生中这些有助于保持基因的转录抑制状态。可以通过所述药物治疗的癌症包括乳腺癌和前列腺癌 (特别是转移性前列腺癌)。所述化合物可以为芒霉素、3-脱氮芒霉素盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(甲氧基甲基)环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(氟代甲基)环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐或 (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊烷-1, 2-二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并 [4, 5-c] 吡啶-1-基)环戊烷-1, 2-二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1, 2-环戊二醇盐酸盐、2', 3'-O-异亚丙基-3-脱氮瓶菌素 A 或 (1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-甲基环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐, 或它们的对映异构体或非对映异构体, 或任一这些的盐 (例如, 药物可接受的盐)。

[0048] 在本发明的第三方面中, 提供了第一方面的化合物在治疗中的用途。特别是提供了第一方面化合物在治疗癌症, 例如乳腺癌和前列腺癌 (特别是转移性前列腺癌) 中的用途。对于在癌症治疗中的用途, 所述化合物可以为芒霉素、3-脱氮芒霉素盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(甲氧基甲基)环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(氟代甲基)环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐或 (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊烷-1, 2-二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并 [4, 5-c] 吡啶-1-基)环戊烷-1, 2-二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1, 2-环戊二醇盐酸盐、2', 3'-O-异亚丙基-3-脱氮瓶菌素 A 或 (1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-甲基环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐, 或它们的对映异构体或非对映异构体, 或任一这些的盐 (例如, 药物可接受的盐)。

[0049] 在本发明的第四方面中, 提供了组合物, 特别提供了药物组合物, 所述组合物包含第一方面的化合物, 或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐以及一种或多种药物可接受的载体、稀释剂、赋形剂或佐剂。所述组合物可适用于治疗癌症, 例如乳腺癌和前列腺癌 (特别是转移性前列腺癌)。如果所述组合物适用于癌症的治疗, 所述化合物可以为芒霉素、3-脱氮芒霉素盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(甲氧基甲基)环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(氟代甲基)环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐或 (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊烷-1, 2-二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并 [4, 5-c] 吡啶-1-基)环戊烷-1, 2-二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1, 2-环戊二醇盐酸盐、2', 3'-O-异



亚丙基-3-脱氮瓶菌素 A 或 (1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-甲基环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐, 或它们的对映异构体或非对映异构体, 或任一这些的盐 (例如, 药物可接受的盐)。

[0050] 在本发明的第五方面, 提供了治疗癌症, 例如乳腺癌和前列腺癌 (特别是转移性前列腺癌) 的方法, 所述方法包括给予有需要的患者临床有效量的第一方面化合物, 或其对映异构体、非对映异构体或药物可接受的盐, 或给予临床有效量的第四方面的组合物。所述化合物可以为芒霉素、3-脱氮芒霉素盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(甲氧基甲基)环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐、(1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(氟代甲基)环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐或 (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊烷-1, 2-二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并 [4, 5-c] 吡啶-1-基)环戊烷-1, 2-二醇、(1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1, 2-环戊二醇盐酸盐、2', 3'-O-异亚丙基-3-脱氮瓶菌素 A 或 (1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-甲基环戊-3-烯-1, 2-二醇盐酸盐, 或它们的对映异构体或非对映异构体, 或任意这些的盐 (例如, 药物可接受的盐)。

[0051] 附图简述

[0052] 现在仅通过实施例的方式参照附图来描述本发明的优选实施方案, 其中:

[0053] 图 1 为显示具有 4-OHT 和不具有 4-OHT 的多种化合物的细胞凋亡百分数的条线图;

[0054] 图 2 示出对照组和给予化合物 D3 组的体重变化;

[0055] 图 3 示出对照组和给予化合物 D3 组的肿瘤体积变化;

[0056] 图 4 示出给予化合物 D3 组的生长抑制百分数;

[0057] 图 5 示出给予化合物 I3 的肿瘤体积变化;

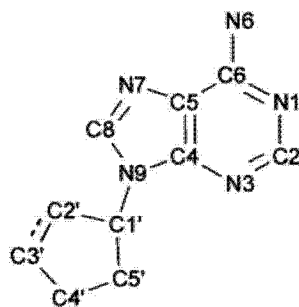
[0058] 图 6 示出给予化合物 I3 组的体重变化;

[0059] 图 7 示出给予化合物 I3 组的肿瘤体积生长抑制。

[0060] 优选实施方案详述

[0061] 在本说明书中, 所述化合物中原子的编号如下所示:

[0062]



[0063] 在上述结构中的一个原子被不同的原子 (例如, 如果由碳原子取代 N3) 取代的情况下, 其可被称为 C3, 或可被称为在位置 3。当不详细地描述或显示特定的取代基时, 除非上下文另有所指, 其通常为氢。

[0064] 本发明涉及一般结构 I 的化合物, 并且涉及其对映异构体或非对映异构体, 以及任一这些的盐。

[0065] 在结构 I 中的 X 和 Y 独立地为 C 或 O。通常它们均为 C。特别地,在 X-Y 键为双键的情况下,在 C2' 上的取代基(即,当 X 为 C 时的 X)可以为 H,或者在 X-Y 键为单键的情况下,C2' 上的取代基可以均为 H。在 X-Y 键为单键的情况下,C2' 上的取代基(例如 R<sup>1</sup>)可以一个朝上并且另一个朝下,并且 C3' 上的取代基(例如 R<sup>2</sup>)可以一个朝上并且另一个朝下。在某些实例中, X 或 Y 中任一个(或二者)为 O。特别地, X 和 Y 中的一个可以为 C 并且另一个为 O。在特别的实例中, X 为 C 并且 Y 为 O。在这样的实例中,它们间的键为单键,并且在 X 上不会有取代基,并且 Y 为 O。

[0066] A 可以为 C 或 N。在 A 为 C 的情况下,其表示与 3-脱氮瓶菌素 A 相同的环结构(当 X 和 Y 均为 C 并且由双键来连接时)。如果 A 为 C,其上的取代基可以为 H,或可以为某些其它取代基,例如烃基或芳基(如下所定义的)。

[0067] 本文所述的烃基可以为 C1 至 C12 烃基,或 C1 至 C8 烃基、C1 至 C6 烃基或 C1 至 C4 烃基。其可以为例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基(正、仲或叔)等。其可为线性烃基,或者其(除了 C1 和 C2)可以为支化的烃基或环状的烃基。其可以任选地包含一个或多个双键或三键(即其可以为烯基和/或炔基)。其可以任选地被一个或多个取代基取代。烃基上的各个取代基可以独立地为 R-B-(其中 R 为氢或如上所述的烃基,或为如下所述的芳基,所述烃基和芳基都被任选地取代,并且 B 为 O、S、N 或 Si) 或卤素(例如, F、Cl、Br 或 I)。在 B 为 N 或 Si 的情况下, B 上的其他(即目前未定义的)位置可以(各自独立地)具有如本文所定义的烃基或芳基。所述烃基可以为芳烃基。其可以为芳基环烃基。所述烃基可以表示烷氧烃基或芳氧烃基或烃基氨基烃基(例如,单烃基氨基烃基或二烃基氨基烃基)或芳基氨基烃基或烷烃硫代烃基或芳基硫代烃基或烃基甲硅烷基烃基(例如三烃基甲硅烷基烃基)或芳基甲硅烷基烃基(例如,三烃基-、芳基二烃基-或二芳基烃基-甲硅烷基烃基)。所述烃基可以表示低聚醚基(例如, H(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-) 或低聚氨基(例如 H(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-),其中 n = 1 至约 6。烃基主链中原子(除了 H 但是包含杂原子)的总数可以为 3 至 20,或为 3 至 12,或为 3 至 8。

[0068] 所述芳基可以为单环芳族基,或可以为双环芳族基、三环芳族基或低聚环(oligocyclic)芳族基。所述芳基(除了单环实例)可以为稠环芳族基。所述芳基可以为碳环或杂环。例如其可以为苯基、萘基、蒽基、吡啶基、咪唑基、吡咯基、硫代咪唑基、咪唑基、吡啶基、喹啉基、萘啶基(naphthyridyl)等。所述芳基可以任选地被一个或多个取代基取代。芳基上的各个取代基可以独立地为 R-B-,其中 R 和 B 如上所述(在“烃基”中)。例如,所述芳基可以为烃基芳基或二烃基芳基、三烃基芳基、四烃基芳基或五烃基芳基,或可以为烷氧基芳基或烷氧基烷氧基芳基。所述芳基可以为卤代芳基。

[0069] R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>可以为氢、卤素、任选取代的烃基、任选取代的芳基、任选取代的烃基-Z- 或任选取代的芳基-Z-,其中 Z 为 N、O、S 或 Si。在 Z 为 N 或 Si 的情况中, Z 上的其他(即目前未定义的)位置可以(各自独立地)具有氢、如上所述的烃基或芳基。R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>可以一起形成 X 和 Y 之间的任选取代的烃桥或任选取代的  $\alpha$ ,  $\omega$ -二氧杂烃桥。取代基可以为如上所述的烃基、芳基、R-B- 或卤素。烃桥可以具有通式 -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-,其中 n 为整数。n 可以为 1 至 6,或 2 至 6、3 至 6、4 至 6 或 3 至 5,例如 1、2、3、4、5 或 6。在某些实例中,所述桥可以具有如上所述的取代基。取代基自身可以形成环,由此在环体系的 N9 上的取代基为稠合的三环环体系。在许多实施方案中, R<sup>1</sup>为氢,并且在某些实施方案中, R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>均为氢。在某些实

实施方案中, R<sup>2</sup>为具有氧取代基(例如羧基、烷氧基或芳氧基)的烃基。

[0070] R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>可以独立地为氢、卤素(例如、氯代、溴代、碘代或氟代)、任选取代的烃基、任选取代的芳基、任选取代的烃基 -Z' - 或任选取代的芳基 -Z' -, 其中 Z' 为 N、O、S 或 Si。在 Z' 为 N 或 Si 的情况下, 在 Z' 上的其他(即目前未定义的)位置可以(各自独立地)具有氢、如上所述的烃基或芳基。R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>可一起形成与其相连的两个碳原子之间的任选取代的烃桥或任选取代的  $\alpha, \omega$ -二氧杂烃桥。大体上 R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>的选择与上述 R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>相同。在某些实施方案中, R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>均为烷氧基、芳氧基, 或 R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>一起形成  $\alpha, \omega$ -二氧杂烃桥。合适的桥通常包括邻二醇保护基, 例如亚甲基缩醛、亚乙基缩醛或异亚丙基缩醛(丙酮化合物 : -OC(Me<sub>2</sub>)O-)。

[0071] R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>可以为氢、任选取代的烃基或任选取代的芳基。R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>可以和与其相连的氮原子一起形成任选取代的氮杂环烃基。该氮杂环烃基的环可以具有约 3 至约 6 个环成员, 或 4 至 8、5 至 8 或 5 至 7 个成员。在许多实施方案中, R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>均为氢, 由此 N6 表示伯氨基。在另外的实施方案中, N6 表示仲氨基或叔氨基。大体上 R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>的选择与上述 R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>相同, 除了其不可为卤素或形成  $\alpha, \omega$ -二氧杂烃桥。

[0072] 本发明还包括上述化合物的对映异构体和非对映异构体。本发明还包括所述化合物的溶剂化物及其对映异构体和非对映异构体的溶剂化物, 例如水合物。本发明还包括所述化合物及其对映异构体和非对映异构体的盐。所述盐可以为临床可接受的盐。所述盐可以为药物可接受的。例如, 所述盐可以为氯化物、溴化物、硫酸盐、磷酸盐或某些其它适当的盐。

[0073] 本发明将目前已知的化合物排除在其范围外, 所述目前已知的化合物包括 3-脱氮瓶菌素 A 或芒霉素。

[0074] 所述化合物可以显示出激活 E2F1 诱导的细胞凋亡至少约 15%, 或为至少约 20% 或 25%, 或为约 15% 至 25%、15% 至 30%、15% 至 20% 或 20% 至 25% 的活性。在这种情况下, 用 ER 受体配体结合域(ER 受体是核心激素型的细胞内雌激素受体)安置涉及肿瘤抑制蛋白行为的转录因子 E2F1。所述化合物可以显示出在 4-OHT 存在下激活 E2F1 诱导的细胞凋亡至少约 25%, 或至少约 30%、40%、50%、60%、70% 或 80%, 或约 25% 至约 80%、或约 30% 至 80%、50% 至 80%、60% 至 80% 或 50% 至 70%, 例如约 25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80% 或 85% 的活性。4-OHT 为 4-羟基三苯氧胺, 是对雌激素受体的亲和性高于三苯氧胺自身对雌激素受体的亲和性的三苯氧胺的抗雌激素代谢物。所述化合物在具有组蛋白脱乙酰酶抑制剂 TSA(制滴菌素 A)的结肠癌细胞中可以显示出细胞凋亡诱导, 所述细胞凋亡诱导为至少约 40%, 或为至少约 50%、60%、70% 或 80%, 或约 40% 至约 90%、约 50% 至 90%、70% 至 90%、40% 至 60% 或 50% 至 80%, 例如, 约 40%、50%、60%、70%、80% 或 90%。其能够抑制多梳抑制复合物 2(PRC2) 蛋白的功能。在这种情况下, 活性%是指在 48 小时内, 在 DZNep 类似物与 TSA 的组合药物治疗下细胞发生凋亡(死亡)的百分数。

[0075] 本发明还提供了所述化合物的治疗用途, 特别是对多种癌症的治疗用途, 以及提供了用于这样用途的药物和组合物的制备。在这种应用中的患者可以为人类或可以为非人类。患者可以为非人类哺乳动物或鸟类。患者可以为灵长目动物, 例如非人类灵长目动物。其可以为驯养动物。其可以为饲养动物。其可以为野生动物。本发明还包括本发明化合物

的非治疗用途。

[0076] 任意特定患者的治疗有效剂量水平取决于多种因素,其包括:正在治疗的病症和该病症的严重程度;采用的化合物或制剂的活性;采用的组合物;患者的年龄、体重、平时健康状况、性别和饮食;给药时间;给药方式;制剂或化合物的结合速率;治疗的持续时间;与治疗组合使用或同时使用的药物,以及在医学中已知的其它的相关因素。

[0077] 本领域技术人员能够通过常规的实验来确定治疗适用疾病所需的制剂或化合物的有效、无毒量。

[0078] 通常,期望有效剂量为每 24 小时每千克体重约 0.0001mg 至约 1000mg;典型地为每 24 小时每千克体重约 0.001mg 至约 750mg;每 24 小时每千克体重为约 0.01mg 至约 500mg;每 24 小时每千克体重为约 0.1mg 至约 500mg;每 24 小时每千克体重为约 0.1mg 至约 250mg;每 24 小时每千克体重为约 1.0mg 至约 250mg。更典型地,期望的有效剂量范围为每 24 小时每千克体重为约 1.0mg 至约 200mg;每 24 小时每千克体重为约 1.0mg 至约 100mg;每 24 小时每千克体重为约 1.0mg 至约 50mg;每 24 小时每千克体重为约 1.0mg 至约 25mg;每 24 小时每千克体重为约 5.0mg 至约 50mg;每 24 小时每千克体重为约 5.0mg 至约 20mg;每 24 小时每千克体重为约 5.0mg 至约 15mg。

[0079] 或者,有效剂量可以高达约 500mg/m<sup>2</sup>。通常,期望的有效剂量为约 25mg/m<sup>2</sup>至约 500mg/m<sup>2</sup>,优选为约 25mg/m<sup>2</sup>至约 350mg/m<sup>2</sup>,更优选为约 25mg/m<sup>2</sup>至约 300mg/m<sup>2</sup>,还更优选为约 25mg/m<sup>2</sup>至约 250mg/m<sup>2</sup>,甚至更有选为约 50mg/m<sup>2</sup>至约 250mg/m<sup>2</sup>,还甚至更优选为约 75mg/m<sup>2</sup>至约 150mg/m<sup>2</sup>。

[0080] 通常,在治疗应用中,该治疗将用于疾病状态持续期间。

[0081] 此外,下述对于本领域技术人员是显而易见的:通过治疗的疾病状态的性质和程度,给药的形式、途径和位置,以及治疗的特定个体的性质来确定个体给药的最优量和间隔。此外,能够通过常规技术来确定这样的最优条件。

[0082] 下述对于本领域技术人员也是显而易见的:通过使用常规的疗程测定试验,本领域技术人员能够确定最优的疗程,例如确定的天数的每日给予的组合物的剂量数量。

[0083] 通常,根据本领域技术人员公知的方法能够制备适当的组合物,并且该组合物由此可以包含药物可接受的载体、稀释剂和/或佐剂。

[0084] 能够通过标准途径给予这些组合物。通常,通过肠胃外(例如,静脉内、脊柱内、皮下或肌内)途径、口服途径或局部途径来给予组合物。更优选通过肠胃外途径来给药。

[0085] 对于与组合物其它成分相容而言,载体、稀释剂和佐剂必须为“可接受的”,并且对其接受者无害。

[0086] 药物可接受的载体或稀释剂的实例为软化水或蒸馏水;盐溶液;植物基油,例如花生油、红花油、橄榄油、棉子油、玉米油、芝麻油、例如花生油、红花油、橄榄油、棉子油、玉米油、芝麻油、落花生油(arachis oil)或椰子油;硅油,包括聚硅氧烷,例如甲基聚硅氧烷、苯基聚硅氧烷和甲基苯基聚硅氧烷;易挥发的硅氧烷;矿物油,例如液体石蜡、软石蜡或角鲨烷;纤维素衍生物,例如甲基纤维素、乙基纤维素、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠或羟丙基甲基纤维素;低级烷醇,例如乙醇或异丙醇;低级芳烷醇(aralkanol);低级聚亚烷基二醇或低级亚烷基二醇,例如聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇或丙三醇;脂肪酸酯,例如棕榈酸异丙酯、豆蔻酸异丙酯或油酸乙酯;聚乙烯吡咯烷酮;琼脂;卡

拉胶；黄蓍树胶或阿拉伯树胶和凡士林。通常，一种多种载体将构成组合物质量的 10% 至 99.9%。

[0087] 本发明的组合物可以为适合通过注射给药的形式，适合口服摄取的制剂形式（例如，胶囊剂、片剂、囊片剂、酏剂），适合通过诸如鼻内吸入或口服吸入的吸入给药的烟雾剂形式，适合肠胃外给药的形式，即皮下注射、肌内注射或静脉内注射。

[0088] 对于以可注射溶液剂或悬浮剂的形式进行的给药，无毒肠胃外可接受的稀释剂或载体能够包括林格氏溶液、等渗盐水、磷酸盐缓冲盐水、乙醇和 1, 2-丙二醇。

[0089] 用于口服用途的适宜载体、稀释剂、赋形剂和佐剂的某些实例包括：花生油、液体石蜡、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、藻酸钠、阿拉伯树胶、黄蓍树胶、右旋糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、明胶和卵磷脂。另外，这些口服制剂可以包含适当的调味剂和着色剂。当以胶囊剂形式使用时，可以用延迟崩解的化合物涂覆所述胶囊剂，所述化合物例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0090] 佐剂通常包括乳化剂、防腐剂、杀菌剂和缓冲剂。

[0091] 用于口服给药的固体形式可以包括在人体药物实践和动物药物实践中可接受的粘合剂、增甜剂、崩解剂、稀释剂、调味剂、涂层剂、防腐剂、润滑剂和 / 或延时剂 (time delay agent)。适合的粘合剂包括阿拉伯树胶、明胶、玉米淀粉、黄蓍树胶、藻酸钠、羧甲基纤维素或聚乙二醇。合适的增甜剂包括蔗糖、乳糖、葡萄糖、阿斯巴甜 (aspartame) 或糖精。合适的崩解剂包括玉米淀粉、甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、瓜耳胶 (guar gum)、黄原胶、膨润土、海藻酸或琼脂。合适的稀释剂包括乳糖、山梨醇、甘露醇、右旋糖、高岭土、纤维素、碳酸钙、硅酸钙或磷酸二钙。合适的调味剂包括薄荷油、冬青油、樱桃调味剂、橙调味剂或覆盆子调味剂。合适的涂层剂包括丙烯酸和 / 或甲基丙烯酸和 / 或其酯的聚合物或共聚物、蜡、脂肪醇、玉米醇溶蛋白、紫胶或谷蛋白。适当的防腐剂包括苯甲酸钠、维生素 E、 $\alpha$ -生育酚、抗坏血酸、羟苯甲酸甲酯、羟苯甲酸丙酯或亚硫酸氢钠。合适的润滑剂包括硬脂酸镁、硬脂酸、油酸钠、氯化钠或滑石。合适的延时剂包括单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0092] 用于口服给药的液体形式可以包含除了上述制剂之外的液体载体。合适的液体载体包括水、诸如橄榄油、花生油、芝麻油、葵花油、红花油、落花生油、椰子油、液体石蜡的油，乙二醇、丙二醇、聚乙二醇、乙醇、丙醇、异丙醇、丙三醇、脂肪醇、甘油三酯或其混合物。

[0093] 用于口服给药的悬浮剂可以进一步包含分散剂和 / 或悬浮剂。合适的悬浮剂包括羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸钠或乙酰醇。合适的分散剂包括卵磷脂、诸如硬脂酸的脂肪酸的聚氧乙烯酯、聚氧乙烯山梨醇酐单油酸酯或聚氧乙烯山梨醇酐二油酸酯、聚氧乙烯山梨醇酐硬脂酸酯或聚氧乙烯山梨醇酐月桂酸酯、聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯或聚氧乙烯脱水山梨醇二油酸酯、聚氧乙烯脱水山梨醇硬脂酸酯或聚氧乙烯脱水山梨醇月桂酸酯等。

[0094] 用于口服给药的乳剂可以进一步包含一种或多种乳化剂。合适的乳化剂包括如上所例示的分散剂或诸如瓜耳胶、阿拉伯树胶或黄蓍树胶的天然树胶。

[0095] 制备肠胃外给药组合物方法对于本领域技术人员是显而易见的，并且在例如 Remington's Pharmaceutical Science (雷氏药学大全)，第 15 版，Mack Publishing Company, Easton, Pa. 中更详细的描述了该方法，以引用的形式将其并入本文。

[0096] 所述组合物可包含任何适合的表面活性剂，例如阴离子表面活性剂、阳离子表面

活性剂或非离子表面活性剂,例如脱水山梨醇酯或其聚氧乙烯衍生物。也可以包含诸如天然树胶、纤维素衍生物的悬浮剂或诸如硅石二氧化硅 (siliceous silicas) 的无机材料,以及其它的诸如羊毛脂的成分。

[0097] 还可以脂质体的形式来给予所述组合物。脂质体通常衍生自磷脂或其它脂质物质,并且通过在水介质中分散的单层水合液晶或多层水合液晶来形成。能够使用能够形成脂质体的任何无毒的生理可接受的和可代谢的脂质。脂质体形式的组合物可以包含稳定剂、防腐剂、赋形剂等。优选的脂质为天然的和合成的磷脂以及天然的和合成的磷脂酰胆碱(卵磷脂)。形成脂质体的方法在本领域是公知的,并且其与下述具体的参考文献相关: Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology* (细胞生物学的方法), 14 卷, Academic Press, 纽约, N. Y. (1976), p. 33 et seq., 以引用的形式将其内容并入本文。

[0098] 因此本发明涉及 3-脱氮瓶菌素 A (NZNep) 衍生物和 / 或类似物。合适的治疗上有吸引力的实例指向组蛋白甲基化和 PRC2 复合物, 并因此可将其用于癌症治疗。本说明书描述了潜在地生物活性化合物的化学合成和生物试验。

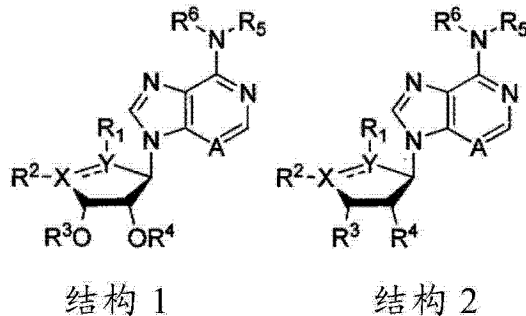
[0099] 本工作的目的为:

[0100] i) 开发基于 3-脱氮瓶菌素 A (DZNep) 核心结构的化合物库以抑制多梳抑制复合物 2 (PRC2) 蛋白, 以及

[0101] ii) 筛选这些化合物的生物活性。

[0102] 因此, 本发明广泛地涉及基于 3-脱氮瓶菌素 A (DZNep) 核心结构 (结构 1 和 2) 的化合物及其各自的生物活性。

[0103]



[0104] 对于结构 1:

[0105] A 可以为碳或氮;

[0106] X 和 Y 可以为碳;

[0107] X 和 Y 之间的键可以饱和或不饱和;

[0108] R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>可以独立地为氢或卤素 (例如, Cl、F) 或具有 1 至 8 个主链碳原子和 0 至 3 个杂原子的脂族基、芳基脂族基、烃基, 所述杂原子各自独立地为 N、O、S、Si (如果所述杂原子为 N 或 Si, 则与其连接的其它基团可以独立地为氢、芳基或脂族基);

[0109] R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>可以独立地为氢或包含 0 至 3 个杂原子的脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂族基或芳基脂环族烃基, 所述杂原子各自独立地为 N、O、S 或 Si (如果所述杂原子为 N 或 Si, 则与其连接的其它基团可以独立地为氢、芳基或脂族基), 其中可以将 R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>任选地连接以便建立脂族烃桥;

[0110] 对于结构 2:

[0111] A 可以为碳或氮；

[0112] X 和 Y 可以为碳；

[0113] X 和 Y 之间的键可以饱和或不饱和；

[0114]  $R^1$ 和 $R^2$ 可以独立地为氢或卤素或具有 1 至 8 个主链碳原子和 0 至 3 个杂原子的脂族基、芳基脂族基、烃基,所述杂原子各自独立地为 N、O、S、Si(如果所述杂原子为 N 或 Si,则与其连接的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基)；

[0115]  $R^3$ 和 $R^4$ 可以独立地为氢或卤素或脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂环族基或芳基脂族烃基,或可将 $R^3$ 和 $R^4$ 连接从而建立脂族烃桥；

[0116]  $R^5$ 和 $R^6$ 可以独立地为氢或包含 0 至 3 个杂原子的脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂族基或芳基脂环族烃基,所述杂原子各自独立地为 N、O、S 或 Si(如果所述杂原子为 N 或 Si,则与其连接的其它基团独立地为氢、芳基或脂族基)。

[0117] 合成并纯化基于先导化合物 3-脱氮瓶菌素 A(DZNep) 的具有不同杂环的 21 个化合物的库。另外,还研究了环戊烯环和侧臂的修饰,即连接至环戊烯(或环戊烷)环的 C3 的基团。在表 1 中概括了生物试验的结果。

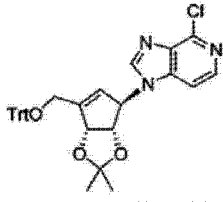
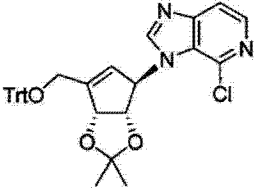
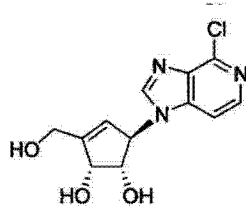
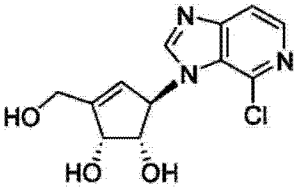
[0118] 用于构效关系分析的细胞凋亡检验

[0119] 使用两种检验来测定化合物诱导细胞凋亡的活性。第一种检验检测了化合物激活 E2F1 诱导的细胞凋亡的活性。在该检验中,用 ER 受体配体结合域来安置转录因子 E2F1。4-OHT 的增加能够激活 ER-E2F1 复合物活性。已发现 DZNep 诱导 E2F1 诱导的细胞凋亡,所以将该检验用于比较具有 DZNep 的新衍生化合物在这种细胞体系中诱导细胞凋亡的能力。

[0120] 设计第二种检验来检测新化合物与组蛋白脱乙酰酶抑制剂 TSA 在结肠癌细胞中诱导细胞凋亡的协同作用。已知 DZNep 与 TSA 在结肠癌细胞中协同诱导强细胞凋亡(Jiang 等人,Cancer Cell,13,529-541,2008)。在用 TSA 诱导细胞凋亡的情况中,再次将新化合物与 DZNep 比较。依照 Jiang 等人(上述)的方法来进行检验。

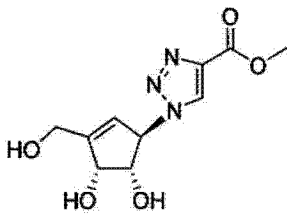
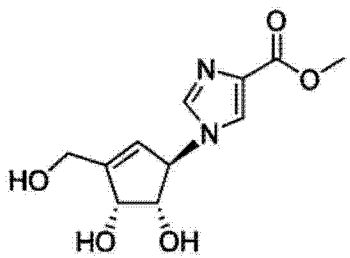
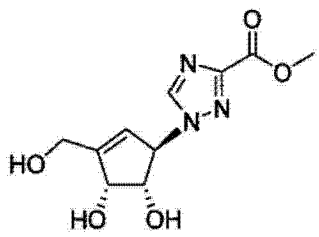
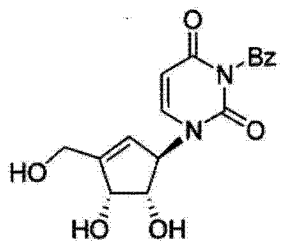
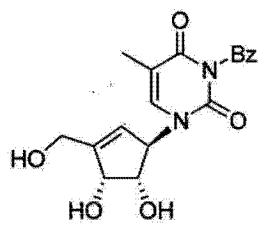
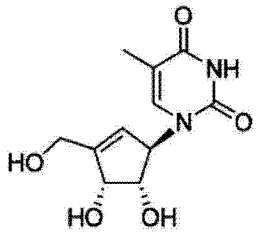
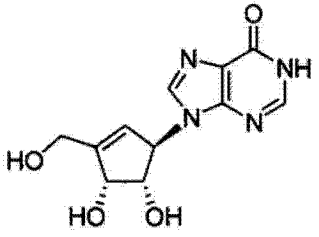
[0121] 表 1

[0122]

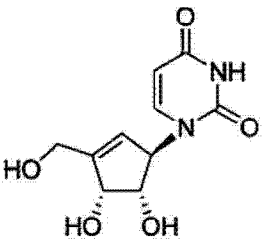
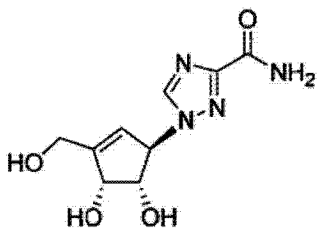
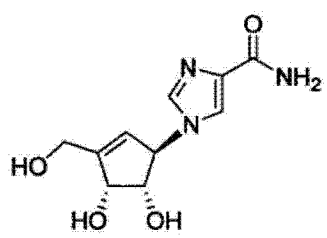
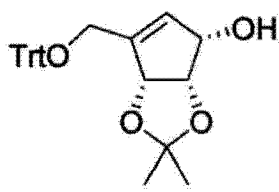
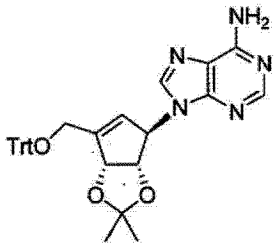
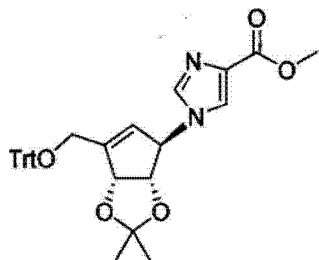
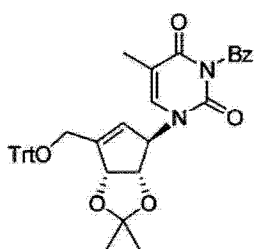
结构	合成	E2F1 诱导的 细胞凋亡 (+4-OHT) 细胞凋亡%	与 HDAC 抑制 剂 TSA 结合 细胞凋亡%
1 	a	无活性	20%
2 	a	无活性	40%
3 	b	无活性	无活性
4 	b	无活性	无活性

[0123]

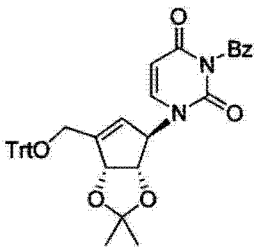
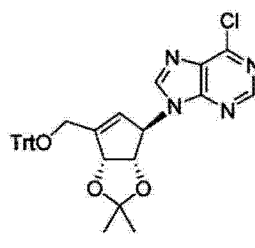
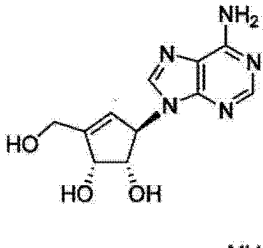
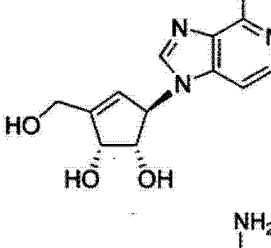
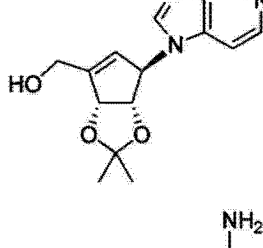
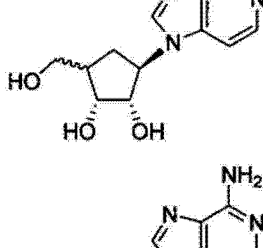
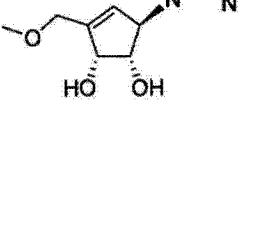


5		a	无活性	无活性
6		a	无活性	无活性
7		a	无活性	无活性
8		a	无活性	无活性
9		a	无活性	无活性
10		a	无活性	无活性
11		a	无活性	无活性

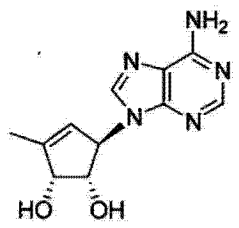
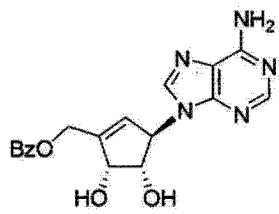
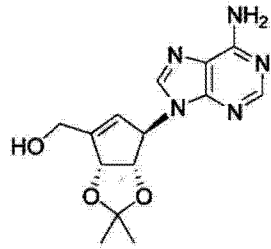
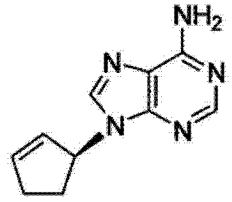
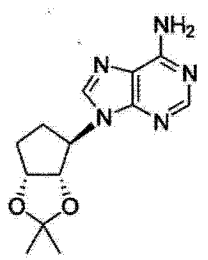
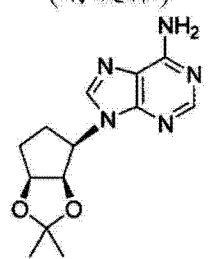
[0124]

12		a	无活性	无活性
13		a	无活性	无活性
14		a	无活性	无活性
15		a	无活性	无活性
16		a	无活性	无活性
17		a	无活性	无活性
18		a	无活性	无活性

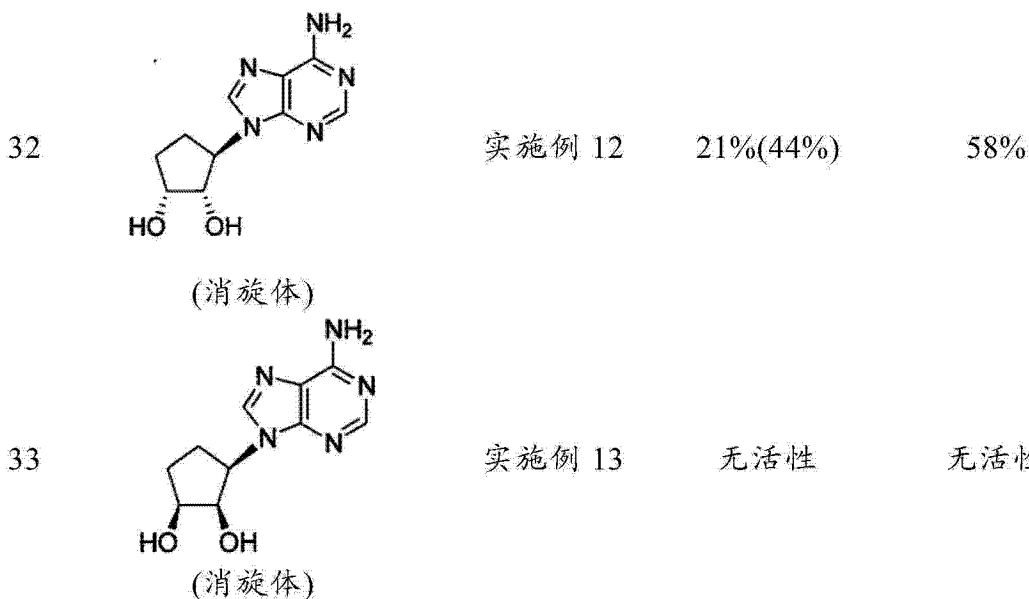
[0125]

19		a	无活性	无活性
20		a	无活性	无活性
21		c	ND	65%
22		先导化合物	25%(65%)	70%-75%
23		实施例 1	18%(25%)	无活性
24		实施例 2	28%(60%)	70%
25		实施例 5	25%(60%)	82%

[0126]

26		实施例 7	25%(40%)	40%
27		实施例 9	15%(30%)	51%
28		d	无活性	无活性
29	 (消旋体)	实施例 10	无活性	无活性
30	 (消旋体)	实施例 11	无活性	无活性
31	 (消旋体)	实施例 11	无活性	无活性

[0127]



[0128] a) Cho, J. H., Bernard, D. L., Sidwell, R. W., Kern, E. R., Chu, C. K., Synthesis of Cyclopentenyl Carbocyclic Nucleosides as Potential Antiviral Agents Against Orthopoxviruses and SARS (作为针对正痘病毒和 SARS 的潜在抗病毒剂的环戊烯基碳环核苷的合成), *J. Med. Chem.*, 49, 1140-1148 (2006)。

[0129] b) Yang, M., Zhou, J., Schneller, S. W., The Mitsunobu reaction in preparing 3-deazapurine carbocyclic nucleosides (制备 3-脱氮嘌呤碳环核苷时的 Mitsunobu 反应), *Tetrahedron* 63, 1295-1300 (2006)。

[0130] c) Michel, B. Y., Strazewski, P., Synthesis of (-)-neplanocin A with the highest overall yield via an Efficient Mitsunobu coupling (通过有效 Mitsunobu 耦合进行的具有最高总收率的 (-)-瓶菌素 A 的合成), *Tetrahedron* 63, 9836-9841 (2007)。

[0131] d) US4, 613, 666

[0132] 实施例 1 : 2', 3'-O-异亚丙基-3-脱氮瓶菌素 A

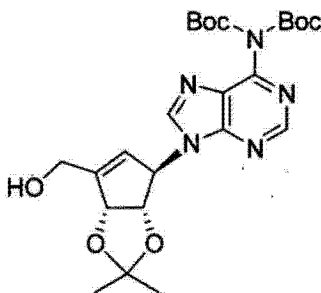
[0133] 在室温下, 在 5mL 丙酮中搅拌 3-脱氮瓶菌素 A 盐酸盐 (DZnep) (20mg, 0.067mmol)、0.5mL DMF 和 1mL 的含 1M HCl 的二乙醚的混合物 18 小时, 然后用三乙胺 (TEA) 中和。在减压下除去溶剂。通过快速柱色谱 (硅胶, MeOH/TEA/DCM = 10:10:80) 来纯化残留物从而提供 18mg (89%) 的标题化合物。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8.175 (s, 1H), 7.68 (d, J = 6.4Hz, 1H), 7.12 (d, J = 6.4Hz, 1H), 5.55 (s, 1H), 5.36 (d, J = 6.0Hz, 1H), 4.68 (d, J = 6.0Hz, 1H), 4.365 (s, 2H), 1.48 (s, 3H), 1.35 (s, 3H); C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> 的 ESI MS m/z 计算值: 302.14, 测定值: 303.13 (M+H)<sup>+</sup>

[0134] 实施例 2 : 3-脱氮芒霉素盐酸盐 (D2)

[0135] 向 3-脱氮瓶菌素 A 盐酸盐 (DZnep) (15mg, 0.05mmol) 的 2mL MeOH 溶液中加入 10mg 的 10% 钯炭 (palladium on charcoal)。在氢气环境中, 在室温下搅拌该悬浮液 18 小时。用硅藻土垫来过滤该混合物以去除钯。用预先准备的 LCMS 纯化产物, 收率为 50% (两个对映异构体的比 = 1:1)。C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> 的 ESI MS m/z 计算值: 264.12, 测定值: 265.11 (M+H)<sup>+</sup>

[0136] 实施例 3 : (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(羟甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤

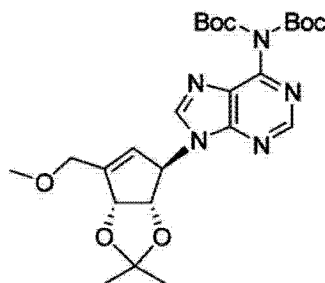
[0137]



[0138] 在室温下,向 (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(三苯甲氧基甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤 [Tetrahedron lett. 2006, (47)9187-9189.] (225mg, 0.45mmol) 的 20mL 丙酮溶液中加入 2,2-二甲氧基丙烷 (20mL) 和对甲苯磺酸一水合物 (42.8mg, 0.225mmol)。在室温下,搅拌该酸性溶液 18 小时。用 300mg 固体碳酸氢钠淬灭该反应混合物。在真空中蒸发溶剂,并且向残留物中加入水 (20mL) 和 DCM (20mL)。分离两相。由 DCM (3x 20mL) 来萃取水相。用 MgSO<sub>4</sub> 干燥合并的有机层,并且在真空中浓缩。通过快速柱色谱 (石油醚/EtOAc = 2:1 至 1:2) 在硅胶上纯化该残留物从而产生 175mg (75%) 的标题化合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.87 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 5.81 (bs, 1H), 5.65 (bs, 1H), 5.41 (d, 1H, J = 5.1Hz), 4.75 (d, 1H, J = 5.1Hz), 4.47 (dt, 2H, J = 15.4, 2.2Hz), 1.49 (s, 3H), 1.45 (s, 18H), 1.36 (s, 3H); C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub> 的 HR-MS (ESI<sup>-</sup>) m/z 计算值: 502.2307, 测定值 502.2299 (M-H)<sup>-</sup>

[0139] 实施例 4: (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(甲氧基甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤

[0140]



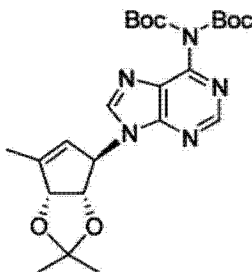
[0141] 在氩气中,在 0℃ 向氢化钠 (60% w/w, 27mg, 0.675mmol) 的 20mL 干燥 DMF 的搅拌悬浮液中逐滴加入 (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(羟甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤 (320mg, 0.62mmol) 的 5mL 干燥 DMF。在 0℃ 下搅拌生成的黄色混合物 20 分钟,并且加热至室温,时间为 1 小时。将该反应混合物冷却回 0℃ 并且加入 5mL 的碘甲烷 (180mg, 1.2mmol) 的干燥 DMF 溶液。在室温下 1 小时之后,将反应冷却至 0℃ 并且用 5mL 饱和氯化铵溶液淬灭。通过二乙醚 (3x 20mL) 来萃取水层。用水 (20mL) 洗涤合并的有机相,用 MgSO<sub>4</sub> 干燥并且在真空中浓缩。通过快速柱色谱 (二乙醚/戊烷 = 1:10 至 2:1) 在硅胶上纯化残留物从而产生 160mg (54%) 的标题化合物。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.77 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 5.83 (bs, 1H), 5.66 (bs, 1H), 5.40 (d, 1H, J = 5.2Hz), 4.83 (dd, 2H, J = 28.0 和 14.4Hz), 4.70 (d, 1H, J = 5.6Hz), 3.49 (s, 3H), 1.48 (bs, 21H), 1.35 (s, 3H);

[0142] 实施例 5 : (1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(甲氧基甲基)环戊-3-烯-1,2-二醇盐酸盐 (D3)

[0143] 向 (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(甲氧基甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤 (16.7mg, 0.032mmol) 的 1mL MeOH 溶液中加入 1mL 的含 1M HCl 的二乙醚。在室温下搅拌该混合物 18 小时。在减压下去除溶剂。用 DCM 洗涤残留物从而生成 8mg 标题化合物 (80%)。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8.33 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 5.90 (s, 1H), 5.49 (s, 1H), 4.62 (d, J = 5.6Hz, 1H), 4.37 (t, J = 6.0Hz, 1H), 4.32 (s, 2H), 3.31 (s, 3H); C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> 的 HR-MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 计算值: 278.1248, 测定值: 278.1234 (M+H)<sup>+</sup>, C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>3</sub> 的 HR-MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 计算值: 300.1067, 测定值: 300.1053 (M+Na)<sup>+</sup>。

[0144] 实施例 6 : 9-((3aS, 4R, 6aR)-2,2,6-三甲基-4,6a-二氢-3aH-环戊烯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤-6-胺

[0145]



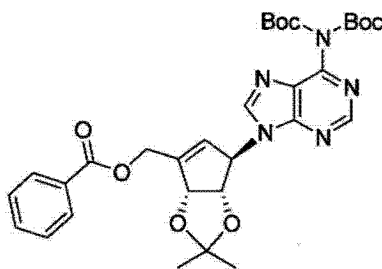
[0146] 向 (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(羟甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤 (26mg, 0.05mmol) 的 2mL DCM 溶液中加入硫代羰基二咪唑 (15mg, 0.075mmol)。在室温下, 搅拌反应混合物 18 小时, 并且在真空中蒸发。将残留物溶解于甲苯。向溶液中加入 Bu<sub>3</sub>SnH (44mg, 0.15mmol) 和催化量的 AIBN (1mg), 并且加热至回流 8 小时。将反应冷却至室温。在真空中蒸发混合物, 并且通过快速柱色谱 (MeOH/DCM = 0:100 至 10:90) 在硅胶上纯化残留物, 从而生成标题化合物, 收率为 68% (9.8mg)。

[0147] 实施例 7 : (1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-甲基环戊-3-烯-1,2-二醇盐酸盐

[0148] 采用与实施例 5 相同的实验方法。水解化合物 9-((3aS, 4R, 6aR)-2,2,6-三甲基-4,6a-二氢-3aH-环戊烯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤-6-胺 (9.8mg, 0.02mmol), 从而生成 5.2mg (92%) 的标题化合物。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8.34 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 5.66 (s, 1H), 5.54 (s, 1H), 4.48 (m, 1H), 4.32 (m, 1H), 1.90 (s, 3H); C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>2</sub> 的 HR-MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 计算值: 270.0962, 测定值: 270.0966 (M+Na)<sup>+</sup>。

[0149] 实施例 8 : (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(苯甲酰氧基甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤

[0150]



[0151] 向 (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(羟甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>, N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤 (10mg, 0.02mmol) 的 5mL DCM 溶液中加入 0.1mL 的 TEA、1mg 的 DMAP 和 2.5 μL 苯甲酰氯 (0.022mmol)。在氩气环境中,在室温下搅拌所得混合物 18 小时。在真空中浓缩溶剂之后,通过在硅胶上进行快速柱色谱 (石油醚/二乙醚 = 1:1) 来纯化产物。获得 12mg (98%) 白色固体产物。

[0152] 实施例 9 : ((3R, 4S, 5R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-4,5-二羟基环戊-1-烯) 甲基苯甲酸酯盐酸盐

[0153] 使用与实施例 5 相同的实验方法。10mg (0.016mmol) 的 (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(苯甲酰氧基甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>, N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤生成 5mg (78%) 的标题产物。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8.34 (s, 2H), 8.07 (d, J = 7.6Hz, 2H), 7.62 (t, J = 7.2Hz, 1H), 7.49 (t, J = 7.6Hz, 2H), 6.065 (s, 1H), 5.64 (s, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.76 (d, J = 5.2Hz, 1H), 4.45 (t, J = 5.2Hz, 1H); C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> 的 HR-MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 计算值: 368.1353, 测定值: 368.1336 (M+H)<sup>+</sup>, C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>4</sub> 的 HR-MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 计算值: 390.1173, 测定值: 390.1155 (M+Na)<sup>+</sup>。

[0154] 实施例 10 : (±)-9-(环戊-2-烯基)-9H-嘌呤-6-胺

[0155] 在氩气环境中,在 0 °C 向环戊醇 (84mg, 1mmol)、腺嘌呤 (202mg, 1.5mmol) 和 Ph<sub>3</sub>P (524mg, 2mmol) 的 2.0mL 无水 THF 溶液中加入偶氮二甲酸二异丙酯 (DIAD, 393 μL, 2mmol), 并且在室温搅拌混合物 18 小时。在减压下去除溶剂。通过快速柱色谱 (硅胶, MeOH/DCM = 10:9) 来纯化残留物从而生成 120mg (60%) 的相应化合物。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 8.32 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 6.25 (2d, J = 2.0Hz, 5.6Hz, 1H), 5.86 (dd, J = 2.4, 5.6Hz, 1H), 5.69 (m, 1H), 2.43-2.65 (m, 3H), 1.89 (m, 1H); C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub> 的 ESI MS m/z 计算值: 201.10, 测定值: 202.05 (M+H)<sup>+</sup>

[0156] 实施例 11 : (±)-9-(2,2-二甲基-四氢-3aH-环戊烯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤-6-胺

[0157] 向 9-(环戊-2-烯基)-9H-嘌呤-6-胺 (36mg, 0.18mmol) 的丙酮-水 (2mL-1mL) 溶液中加入 N-甲基吗啉-N-氧化物 NMO (42mg, 0.36mmol), 然后加入 OsO<sub>4</sub> 水溶液 (0.1mL, 0.008mmol)。在室温下搅拌该混合物 18 小时。用 20% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 溶液 (1mL) 淬灭反应。在减压下去除溶剂。用 MeOH 处理残留物并且用硅藻土垫过滤。

[0158] 在过滤和浓缩之后,将残留物溶解于 8mL 的丙酮,然后溶解于 4mL 的 2,2-二甲氧基丙烷和催化量的浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 中。在室温下搅拌该反应 18 小时。用 TEA 淬灭反应。在减压下去除溶剂。通过预先准备的硅胶上的 TLC (用 EtOAc/石油醚 = 90:10 洗脱) 来纯化粗产品,从而生成 10mg (0.036mmol) 的 (3aS, 4R, 6aR)-异构体和 8mg (0.029) 的 (3aR, 4R, 6aS)-异构体。



[0159] (3aS, 4R, 6aR)-异构体

[0160]  $^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  8.35(s, 1H), 7.83(s, 1H), 6.67(brs, 2H), 4.96(s, 2H), 4.86(dd,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 4.4Hz, 1H), 2.53(m, 1H), 2.13(m, 3H), 1.53(s, 3H), 1.34(s, 3H);  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_2$ 的 HR-MS( $\text{ESI}^+$ ) $m/z$  计算值:276.1455, 测定值:276.1444(M+H) $^+$

[0161] (3aR, 4R, 6aS)-异构体

[0162]  $^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  8.31(s, 1H), 8.25(s, 1H), 4.81(m, 2H), 4.69(t,  $J = 5.2\text{Hz}$ , 1H), 2.39-2.28(m, 1H), 2.17-2.07(m, 2H), 1.53(s, 3H), 1.29(s, 3H);  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_2$ 的 HR-MS( $\text{ESI}^+$ ) $m/z$  计算值:276.1455, 测定值:276.1442(M+H) $^+$

[0163] 实施例 12:(±)-(1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1,2-环戊烷二醇盐

[0164] 采用与实施例 5 相同的实验方法。9-((3aS, 4R, 6aR)-2,2-二甲基-四氢-3aH-环戊烯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤-6-胺生成相应产物,产率为 90%。 $^1\text{H}$  NMR(MeOD, 400MHz):  $\delta$  8.425(s, 1H), 8.36(s, 1H), 4.51(m, 1H), 4.18(s, 1H), 2.50-2.40(m, 1H), 2.35-2.26(m, 1H), 2.18-2.09(m, 1H), 1.88-1.80(m, 1H);  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_2$ 的 HR-MS( $\text{ESI}^+$ ) $m/z$  计算值:236.1142, 测定值:236.1134(M+H) $^+$ ;  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{NaO}_2$ 的 HR-MS( $\text{ESI}^+$ ) $m/z$  计算值:258.0962, 测定值:258.0955(M+Na) $^+$

[0165] 实施例 13:(±)-(1R, 2S, 3S)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-1,2-环戊烷二醇盐

[0166] 采用与实施例 5 相同的实验方法。9-((3aS, 4R, 6aS)-2,2-二甲基-四氢-3aH-环戊烯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤-6-胺生成相应产物,收率为 88%。 $^1\text{H}$  NMR(MeOD, 400MHz):  $\delta$  8.57(s, 1H), 8.39(s, 1H), 5.13(dd,  $J = 14.8\text{Hz}$ , 8.8Hz, 1H), 4.26(dd,  $J = 9.5\text{Hz}$ , 5.1Hz, 1H), 4.17(t,  $J = 4.8\text{Hz}$ , 1H), 2.35(dd,  $J = 16.4\text{Hz}$ , 6.8Hz, 2H), 2.04-1.93(m, 2H);  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_2$ 的 HR-MS( $\text{ESI}^+$ ) $m/z$  计算值:236.1142, 测定值:236.1132(M+H) $^+$ ;  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{NaO}_2$ 的 HR-MS( $\text{ESI}^+$ ) $m/z$  计算值:258.0962, 测定值:258.0949(M+Na) $^+$

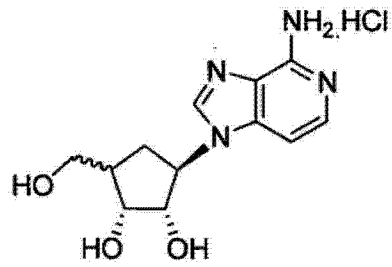
[0167] 生物研究暗示了 DZNep 的修饰能够产生与 EZH2 复合物和相关的 H3K27 三甲基化的小分子调节剂几乎等效的化合物。

[0168] 因此,基于 3-脱氮瓶菌素 A(DZNep) 核心结构的化合物是用于开发更具潜质的靶向多梳抑制复合物 2(PRC2) 蛋白的抗癌化合物的有价值的先导化合物。这些化合物独自作为药物是重要的,或作为有效的联合治疗的先导化合物是重要的,DZNep 已经表现出与组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂协同通过恶性染色质修饰的有效反转来诱导癌细胞凋亡。该联合治疗已经引起在结肠癌细胞中 Wnt/ $\beta$ -联蛋白信号途径的明显抑制,这表明 DZNep 与 HDAC 抑制剂的结合可以提供对人类癌症的有效表观遗传治疗。

[0169] 化合物的结构

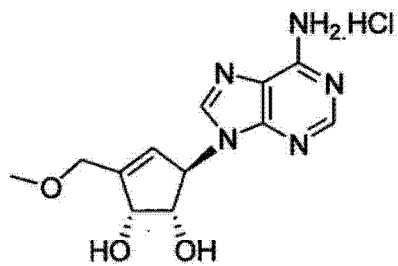
[0170]

D2



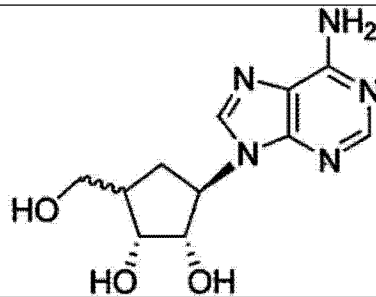
3-脱氮芒霉素盐酸盐

D3



(1S,2R,5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(甲氧基甲基)环戊-3-烯-1,2-二醇盐酸盐

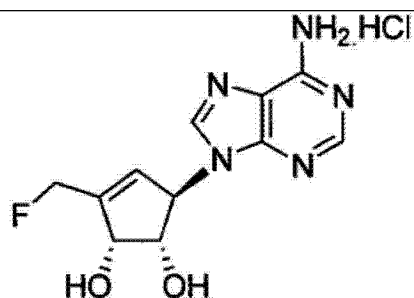
F3



芒霉素

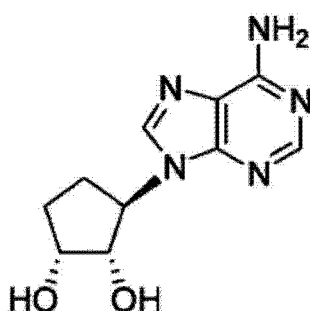
G1

[0171]



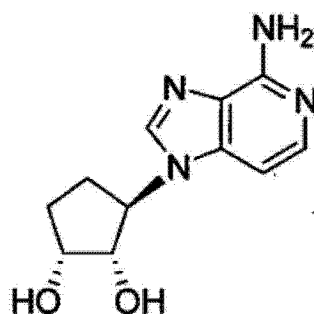
(1S,2R,5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(氟代甲基)环戊-3-烯-1,2-二醇盐酸盐

I3



(1R,2S,3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊烷-1,2-二醇

J3



(1R,2S,3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)环戊烷-1,2-二醇

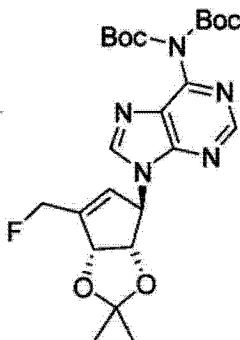
[0172] 化合物的合成

[0173] 实施例 14 : 芒霉素 (F3)

[0174] 使用与实施例 2 相同的实验方法以从 20mg (0.08mmol) 的瓶菌素 A 获得 4mg (20% 收率) 的标题化合物 (两种非对映异构体的比 = 2:1)。通过预先准备的 LCMS 来纯化标题化合物。C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> 的 ESI MS m/z 计算值 : 265.12, 测定值 : 288.07 (M+Na)<sup>+</sup>

[0175] 实施例 15 : (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(氟代甲基)-4,5-0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>, N<sup>6</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤

[0176]



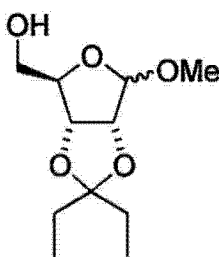
[0177] 在氩气环境中,在 0℃下,向 (1R, 4R, 5S)-9-N-[3-(羟甲基)-4,5,0,0-异亚丙基-2-环戊烯-L-基]-N<sup>6</sup>, N<sup>6'</sup>-双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤 (20mg, 0.02mol) 的 1mL DCM 溶液中缓慢加入 8 μL 二乙氨基三氟化硫 (DAST)。在室温下搅拌所得混合物 3 小时。然后用 1mL 甲醇淬灭该反应。蒸发溶剂并且通过快速柱色谱纯化该产物 (洗脱液: 1% 甲醇的 DCM)。最后获得 14mg (收率 70%) 的白色泡沫。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 8.89 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.45 (d, J = 5.6Hz, 1H), 5.24 (s, 1H), 5.125 (s, 1H), 4.80 (d, J = 5.2Hz, 1H), 1.51 (s, 3H), 1.47 (s, 18H), 1.375 (s, 3H);

[0178] 实施例 16: (1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-3-(氟代甲基)环戊-3-烯-1,2-二醇盐酸盐 (G1)

[0179] 采用与实施例 5 相同的实验方法。叔丁基-9-((3aS, 4R, 6aR)-4,6a-二氢-2,2-二甲基-6-((三苯甲氧基)甲基)-3aH-环戊烯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤-6-基氨基甲酸酯生成相应化合物, 收率为 95%。<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8.38 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 5.20-5.07 (m, 2H), 4.68 (s, 1H), 4.43 (s, 1H); C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>2</sub> 的 ESI MS m/z 计算值: 265.10, 测定值: 266.06 (M+H)<sup>+</sup>

[0180] 实施例 17: ((3aR, 4R, 6aR)-2,2-二乙基-6-甲氧基四氢咪喃并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基) 甲醇

[0181]

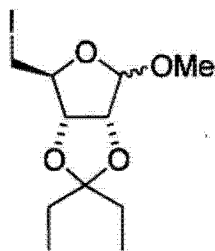


[0182] 在室温下,向 D-核糖 (35g, 233mmol) 的 3-戊酮 (140mL) 和甲醇 (140mL) 的悬浮液中加入浓盐酸 (3.5mL)。回流混合物 6 小时,冷却至室温,用饱和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液中中和,并且在水 (350mL) 和二乙醚 (100mL) 之间分开。用二乙醚 (2x 100mL) 和乙酸乙酯 (3x 100mL) 萃取分离的水相。在 MgSO<sub>4</sub> 干燥之前,用水、盐水洗涤合并的有机相。在减压下去除有机溶剂以生成标题化合物 (37.9, 70%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 4.96 (s, 1H), 4.80 (d, 1H, J = 6.0Hz), 4.57 (d, 1H, J = 6.0Hz), 4.42 (dd, 1H, J = 3.2, 2.8Hz), 3.62 (m, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.27 (dd, 1H, J = 10.8, 2.8Hz), 1.68 (q, 2H, J = 7.6Hz), 1.55 (q, 2H, J = 7.6Hz), 0.90 (t, 3H, J = 7.6Hz), 0.85 (t, 3H, J = 7.6Hz); C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>NaO<sub>5</sub> 的 HR-MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 计算值: 255.1208, 测定

值 :255. 1194 (M+Na)<sup>+</sup>。

[0183] 实施例 18 : (3aS, 4S, 6aR)-2, 2- 二乙基 -4-( 碘代甲基 )-6- 甲氧基四氢呋喃并 [3, 4-d] [1, 3] 间二氧杂环戊烯

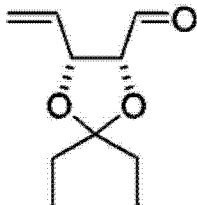
[0184]



[0185] 用碘 (19. 7g, 77. 5mmol) 分批处理 ((3aR, 4R, 6aR)-2, 2- 二乙基 -6- 甲氧基四氢呋喃并 [3, 4-d] [1, 3] 间二氧杂环戊烯 -4- 基) 甲醇 (15. 0g, 64. 6mmol)、咪唑 (6. 59g, 96. 9mmol) 和三苯基膦 (20. 3g, 77. 5mmol) 的甲苯 (250mL) 和乙腈 (50mL) 溶液, 回流 15 分钟, 并且冷却至室温。以每份大约 100mg 的量引入另外的碘, 直到反应混合物保持深棕色。在用二乙醚稀释以及用 10% 硫代硫酸钠、水和盐水反复洗涤有机萃取物之后, 用 MgSO<sub>4</sub> 干燥该溶液, 过滤并在减压下浓缩。通过硅胶短垫来过滤残留物 (用 95:5 庚烷 - 乙酸乙酯洗脱) 以生成无色油状的标题化合物 (20. 1g, 91%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 5. 06 (s, 1H), 4. 76 (d, 1H, J = 6. 0Hz), 4. 63 (d, 1H, J = 6. 0Hz), 4. 46 (dd, 1H, J = 10. 0, 6. 4Hz), 3. 38 (s, 3H), 3. 28 (dd, 1H, J = 10. 0, 6. 4Hz), 3. 17 (t, 1H, J = 10. 0Hz), 1. 70 (q, 2H, J = 7. 6Hz), 1. 58 (q, 2H, J = 7. 6Hz), 0. 91 (t, 3H, J = 7. 6Hz), 0. 88 (t, 3H, J = 7. 6 Hz); C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>INaO<sub>4</sub> 的 HR-MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 计算值 :365. 0226, 测定值 :365. 0213 (M+Na)<sup>+</sup>。

[0186] 实施例 19 : (4R, 5R)-2, 2- 二乙基 -5- 乙烯基 -1, 3- 二氧戊环 -4- 甲醛

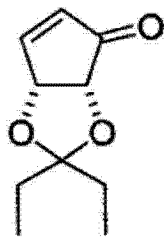
[0187]



[0188] 将粉末状锌金属 (16g, 245. 5mmol) 加入 (3aS, 4S, 6aR)-2, 2- 二乙基 -4-( 碘代甲基 )-6- 甲氧基四氢呋喃并 [3, 4-d] [1, 3] 间二氧杂环戊烯 (16. 8g, 49. 1mmol) 的甲醇 (100ml) 溶液中, 并且回流混合物 1 小时, 冷却并过滤。在 30°C 下, 减压浓缩滤液, 并且在硅胶柱上快速纯化残留物 (用 4 :1 的庚烷 - 乙酸乙酯洗脱) 从而生成均匀无色油状的标题化合物 (7. 24g, 80%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 9. 55 (d, 1H, J = 3. 2Hz), 5. 74 (ddd, 1H, J = 17. 2, 10. 4, 6. 8Hz), 5. 45 (dt, 1H, J = 17. 2, 1. 2Hz), 5. 30 (dt, 1H, J = 10. 4, 1. 2Hz), 4. 87 (dd, 1H, J = 8. 0, 6. 8Hz), 4. 41 (dd, 1H, J = 8. 0, 3. 2Hz), 1. 84 (q, 2H, J = 7. 6Hz), 1. 69 (q, 2H, J = 7. 6Hz), 1. 02 (t, 3H, J = 7. 6Hz), 0. 94 (t, 3H, J = 7. 6Hz); C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>3</sub> 的 HR-MS (ESI<sup>+</sup>) m/z 计算值 :207. 0997, 测定值 :207. 0985 (M+Na)<sup>+</sup>。

[0189] 实施例 20 : (3aR, 6aR)-2, 2- 二乙基 -3aH- 环戊烯并 [d] [1, 3] 间二氧杂环戊烯 -4(6aH) - 酮

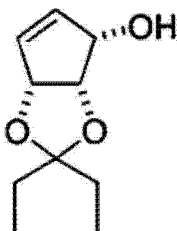
[0190]



[0191] 在 0℃下,向 (4R,5R)-2,2-二乙基-5-乙烯基-1,3-二氧戊环-4-甲醛 (4.0g, 21.71mmol) 的无水 DCM(75mL) 溶液中逐滴加入乙烯基溴化镁溶液 (0.7M, 在 THF 中, 37.2mL)。加热反应至室温并且搅拌 18 小时。加入饱和的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (20mL) 淬灭反应。分离有机层,用盐水洗涤,在  $\text{MgSO}_4$  上干燥并过滤。在减压下去除溶剂从而生成粗残留物,将该残留物再溶解于无水 DCM(100mL)。向该溶液加入 Hoveyda-Grubbs 第二代催化剂 (150mg, 0.24mmol), 并且在氩气环境中,搅拌该反应混合物 3 小时。然后加入氯铬酸吡啶鎓盐 (PCC) (9.36g, 43.42mmol)。另外搅拌反应混合物 3 小时,然后在硅藻土 / 硅酸镁载体短垫上过滤 (用乙酸乙酯洗脱)。蒸发合并的有机层至干燥,然后通过快速柱色谱在硅胶上纯化 (用 9:1 的庚烷 - 乙酸乙酯洗脱) 从而生成白色无定形固体的标题化合物 (2.15g, 54%, 基于三步顺序)。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  7.58 (dd, 1H,  $J = 6.0, 1.6\text{Hz}$ ), 6.19 (d, 1H,  $J = 6.0\text{Hz}$ ), 5.27 (dd, 1H,  $J = 4.8, 1.6\text{Hz}$ ), 1.66 (q, 2H,  $J = 7.6\text{Hz}$ ), 1.61 (q, 2H,  $J = 7.6\text{Hz}$ ), 0.91 (t, 3H,  $J = 7.6\text{Hz}$ ), 0.80 (t, 3H,  $J = 7.6\text{Hz}$ );  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NaO}_3$  的 HR-MS (ESI $^+$ )  $m/z$  计算值: 205.0841, 测定值: 205.0832 (M+Na) $^+$ 。

[0192] 实施例 21: (3aS, 4S, 6aR)-2,2-二乙基-4,6a-二氢-3aH-环戊烯并 [d] [1,3] 间二氧杂环戊烯-4-醇

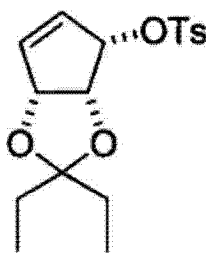
[0193]



[0194] 将 (3aR, 6aR)-2,2-二乙基-3aH-环戊烯并 [d] [1,3] 间二氧杂环戊烯-4 (6aH)-酮 (2.0g, 10.98mmol) 和  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (4.1g, 10.98mmol) 加入到冷却至 0℃的 MeOH(100mL) 中, 然后分批加入  $\text{NaBH}_4$  (0.42g, 12.6mmol)。在该温度下搅拌混合物 20 分钟, 然后用水 (100mL) 淬灭。用 DCM(3\*100mL) 萃取该混合物, 然后用盐水洗涤合并的有机层。在用  $\text{MgSO}_4$  干燥和过滤之后, 在减压下去除溶剂。在硅胶上进行快速柱色谱 (用 9:1 的庚烷 - 乙酸乙酯洗脱) 生成无色液态的标题化合物 (1.92g, 95%)。  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  5.87 (s, 2H), 5.03 (d, 1H,  $J = 5.6\text{Hz}$ ), 4.74 (t, 1H,  $J = 5.6\text{Hz}$ ), 4.55 (dd, 1H,  $J = 10.0, 5.6\text{Hz}$ ), 2.78 (d, 1H,  $J = 10\text{Hz}$ ), 1.67 (m, 4H), 0.92 (t, 3H,  $J = 7.6\text{Hz}$ ), 0.87 (t, 3H,  $J = 7.6\text{Hz}$ );  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{NaO}_3$  的 HR-MS (ESI $^+$ )  $m/z$  计算值: 207.0997, 测定值: 207.0982 (M+Na) $^+$ 。

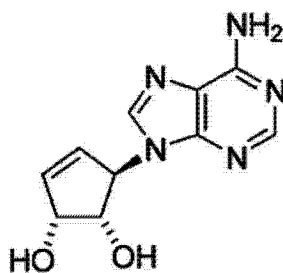
[0195] 实施例 22: (3aR, 4S, 6aR)-2,2-二乙基-4,6a-二氢-3aH-环戊烯并 [d] [1,3] 间二氧杂环戊烯-4-基-4-苯磺酸甲酯

[0196]



[0197] 向 (3aS, 4S, 6aR)-2,2-二乙基-4,6a-二氢-3aH-环戊烯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-醇 (1.50g, 8.14mmol) 和对苯甲磺酰氯 (3.1g, 16.28mmol) 的 DCM (30mL) 溶液中加入  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.46g, 4.5mL, 32.56mmol)。在氩气环境中,在室温下搅拌该混合物 24 小时。用  $\text{H}_2\text{O}$  (10mL) 和盐水 (10mL) 萃取该混合物。在  $\text{MgSO}_4$  上干燥有机层、过滤并且浓缩至干燥。在硅胶上进行快速柱色谱纯化 (用 4:1 的庚烷-乙酸乙酯洗脱) 提供为白色无定形固体的标题化合物 (2.26g, 82%)。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  7.87 (d, 2H,  $J = 8.4\text{Hz}$ ), 7.33 (d, 2H,  $J = 8.4\text{Hz}$ ), 6.01 (m, 1H), 5.77 (m, 1H), 5.22 (m, 1H), 4.95 (d, 1H,  $J = 5.6\text{Hz}$ ), 4.83 (t, 1H,  $J = 5.6\text{Hz}$ ), 2.45 (s, 3H), 1.55 (m, 4H), 0.78 (m, 6H);  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{NaO}_5\text{S}$  的 HR-MS ( $\text{ESI}^+$ )  $m/z$  计算值: 361.1086, 测定值 361.1078 ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$ 。

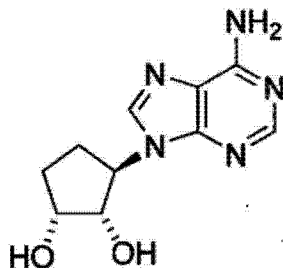
[0198] 实施例 23: (1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊-3-烯-1,2-二醇  
[0199]



[0200] 在  $0^\circ\text{C}$  下,向 (3aS, 4S, 6aR)-2,2-二乙基-4,6a-二氢-3aH-环戊烯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-醇 (110mg, 0.597mmol)、 $\text{N}^6, \text{N}^6$ -双-(叔丁氧羰基)腺嘌呤 (239mg, 0.716mmol, 按照 Tetrahedron 2007, 63, 9836-9841 制备) 和三苯基膦 (266mg, 1.015mmol) 的无水 THF (3mL) 溶液中逐滴加入偶氮二甲酸二异丙酯 (DIAD, 181mg, 0.896mmol)。在室温下搅拌反应 18 小时。在减压下去除溶剂。通过使用快速柱色谱在硅胶上 (用 2% 甲醇的 DCM 洗脱) 进行部分纯化的粗品生成期望的 Mitsunobu 加合物以及胼 (源自 DIAD), 将该加合物用于下一步的合成。向该混合物加入 MeOH (1mL) 和 10% 的盐酸溶液 (1mL)。在室温下搅拌所得混合物 2 小时。然后用水 (5mL) 稀释反应。用 DCM (3\*2mL) 洗涤水层, 并且在减压下蒸发至干燥。将残留物再溶解于 MeOH (3mL)。加入固体  $\text{NaHCO}_3$  (100mg), 并在室温下搅拌 5 分钟。在过滤后,向滤液中加入硅胶 (300mg) 并且在减压下蒸发。通过快速柱色谱在硅胶上 (用 10% 甲醇的 DCM 洗脱) 纯化粗品从而生成白色无定形固体的标题化合物 (84mg, 60% 基于 2 步)。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400MHz):  $\delta$  8.21 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 6.28 (m, 1H), 6.14 (d, 1H,  $J = 6.4, 1.5\text{Hz}$ ), 5.56 (m, 1H), 4.72 (m, 1H), 4.41 (t, 1H,  $J = 5.6\text{Hz}$ ) ppm;  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_2$  的 HR-MS ( $\text{ESI}^+$ )  $m/z$  计算值: 234.0991, 测定值: 234.0980 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ ,  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{NaO}_2$  的 HR-MS ( $\text{ESI}^+$ )  $m/z$  计算值: 256.0810, 测定值: 256.0780 ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$ 。

[0201] 实施例 24: (1R, 2S, 3R)-3-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊烷-1,2-二醇 (I3)

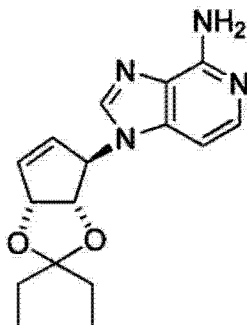
[0202]



[0203] 将 (1S, 2R, 5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)环戊-3-烯-1,2-二醇 (30mg, 0.129mmol) 的 MeOH(1mL) 溶液加入含有钯炭 (10%, 5mg) 的圆底烧瓶中。在氢气环境中, 搅拌悬浮液 18 小时, 然后过滤。向获得的溶液中加入硅胶 (40mg) 并且在减压下去除溶剂。通过快速柱色谱在硅胶上 (用 10% MeOH 的 DCM 洗脱) 来纯化残留物, 从而生成白色无定形固体的标题化合物 (20mg, 75%)。<sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ 8.23(s, 1H), 8.20(s, 1H), 4.85(m, 1H), 4.55(dd, 1H, J = 9.2, 4.4Hz), 4.21(td, 1H, J = 4.8, 2.0Hz), 2.42(m, 1H), 2.32(m, 1H), 2.16(m, 1H), 1.84(m, 1H)ppm; C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> 的 HR-MS(ESI<sup>+</sup>)m/z 计算值: 236.1147, 测定值: 236.1135 (M+H)<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>2</sub> 的 HR-MS(ESI<sup>+</sup>)m/z 计算值: 258.0967, 测定值: 258.0951 (M+Na)<sup>+</sup>。

[0204] 实施例 25 : 1-((3aS, 4R, 6aR)-2, 2-二乙基-4, 6a-二氢-3aH-环戊烯并[d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基)-1H-咪唑并[4, 5-c]吡啶-4-胺

[0205]

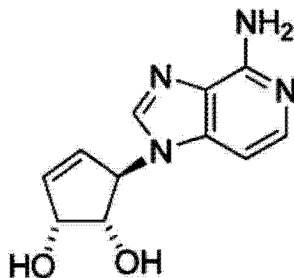


[0206] 在 0℃ 下, 向 3-脱氮腺嘌呤 (59.5mg, 0.443mmol, 根据文献方法制备, Bioorg. Med. Chem. 2006, 14, 1935-1941) 的无水 DMF(3mL) 溶液中加入氢化钠 (60%, 17.8mg, 0.443mmol)。在室温下搅拌混合物 5 分钟, 然后加入 (3aR, 4S, 6aR)-2, 2-二乙基-4, 6a-二氢-3aH-环戊烯并[d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基-4-苯磺酸甲酯 (100mg, 0.295mmol) 的无水 DMF(1mL) 溶液。在 55℃ 下, 搅拌反应混合物 36 小时, 然后在减压下去除溶剂。加入 DCM(15mL) 并超声处理混合物 5 分钟, 过滤并且在减压下蒸发。在硅胶上进行快速柱色谱 (用 5% MeOH 的 DCM 洗脱) 生成白色无定形固体的标题化合物 (49.7mg, 56%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 7.88(d, 1H, J = 5.6Hz), 7.66(s, 1H), 6.81(d, 1H, J = 5.6Hz), 6.37(d, 1H, J = 5Hz), 6.07(d, 1H, J = 5Hz), 5.43(m, 1H), 5.37(s, 1H), 5.30(bs, 2H), 4.58(d, 1H, J = 5.2Hz), 1.71(q, 2H, J = 7.6Hz), 1.61(q, 2H, J = 7.6Hz), 0.92(t, 3H, J = 7.6Hz), 0.88(t, 3H, J = 7.6Hz); C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 的 HR-MS(ESI<sup>+</sup>)m/z 计算值: 301.1665, 测定值: 301.1657 (M+H)<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>2</sub> 的 HR-MS(ESI<sup>+</sup>)m/z 其计算值: 323.1484, 测定值: 323.1496 (M+Na)<sup>+</sup>。



[0207] 实施例 26 : (1S, 2R, 5R)-5-(4-氨基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)环戊-3-烯-1,2-二醇

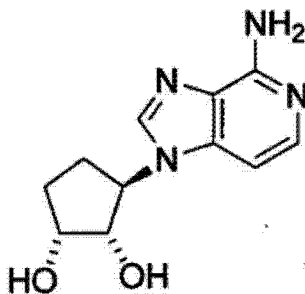
[0208]



[0209] 向 1-((3aS, 4R, 6aR)-2,2-二乙基-4,6a-二氢-3aH-环戊烯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-胺 (45mg, 0.150mmol) 的 MeOH(1mL) 溶液中加入盐酸水溶液 (10%, 1mL)。在室温下, 搅拌混合物 2 小时, 然后加入水 (5mL)。用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 洗涤水相 3 次, 然后在减压下蒸发至干燥。将获得的残留物溶解于 MeOH(2mL), 并且加入固体 NaHCO<sub>3</sub> (50mg)。在室温下搅拌混合物 5 分钟, 并过滤。向该溶液加入硅胶 (60mg) 并且在减压下去除溶剂。通过快速柱色谱在硅胶上 (用 10% MeOH 的 DCM 洗脱) 纯化残留物, 从而生成白色无定形固体标题化合物 (33mg, 95%)。<sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ 8.13(s, 1H), 7.66(d, 1H, J = 6.4Hz), 6.99(d, 1H, J = 6.4Hz), 6.34(m, 1H), 6.20(dd, 1H, J = 6.4, 1.6Hz), 5.44(dd, 1H, J = 3.6, 1.5Hz), 4.67(m, 1H), 4.22(t, 1H, J = 5.6Hz); C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 的 HR-MS(ESI<sup>+</sup>)m/z 计算值: 233.1039, 测定值: 233.1033(M+H)<sup>+</sup>。

[0210] 实施例 27 : (1R, 2S, 3R)-3-(4-氨基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)环戊烷-1,2-二醇 (J3)

[0211]



[0212] 将 (1S, 2R, 5R)-5-(4-氨基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)环戊-3-烯-1,2-二醇 (30mg, 0.129mmol) 的 MeOH(1mL) 溶液加入含钯炭 (10%, 5mg) 的圆底烧瓶中。在氢气环境中, 搅拌悬浮液 18 小时, 然后过滤。向获得的溶液加入硅胶 (40mg) 并且在减压下去除溶剂。通过快速柱色谱在硅胶上 (用 10% MeOH 的 DCM 洗脱) 纯化残留物, 从而生成白色无定形固体的标题化合物 (20mg, 66%)。<sup>1</sup>H NMR(CD<sub>3</sub>OD, 400MHz): δ 8.35(s, 1H), 7.67(d, 1H, J = 6.8Hz), 7.08(d, 1H, J = 6.8Hz), 4.80(q, 1H, J = 9.2Hz), 4.35(dd, 1H, J = 9.2, 4.4Hz), 4.19(td, 1H, J = 4.8, 2.0Hz), 2.48(m, 1H), 2.31(m, 1H), 2.04(m, 1H), 1.86(m, 1H); C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 的 HR-MS(ESI<sup>+</sup>)m/z 计算值: 235.1195, 测定值: 235.1190(M+H)<sup>+</sup>, C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>2</sub> 的 HR-MS(ESI<sup>+</sup>)m/z 计算值: 257.1014, 测定值: 257.1006(M+Na)<sup>+</sup>。

[0213] DZNep 类化合物作为新的抗肿瘤药物的体外和体内研究

[0214] 也称为流式细胞仪的荧光激活细胞分类术 (FACS) 是在本系列试验中用于测定细胞凋亡的技术。通过细胞群体的 DNA 含量在亚 G1 范围内来指征细胞凋亡。为了测定这些化合物的活性, 本发明人使用 HCT115ER-E2F1 细胞来测定化合物诱导 E2F1 依赖的细胞凋亡的活性。在这种检验中, 4-OHT 配体的添加将激活 E2F1。DZNep 以前已经显示出在该系统中激活 OHT 诱导的细胞凋亡。

[0215] 结果

[0216] 从获得的初步结果中, 已经鉴定出 6 个候选化合物 D2、D3、F3、G1、I3 和 J3 显示出与 DZNep 相似的活性, 即它们能够在 OHT 治疗时诱导 E2F1 依赖的细胞凋亡。在 E2F1 依赖的细胞凋亡的诱导中, D3 表现出与 DZNep 同样有效地引起细胞凋亡的能力。体内的实验显示 D3 相对于 DZNep 具有更高的最大耐受剂量 (MTD)。结果通过图表在图 1 中显示。

[0217] 进行体内肿瘤异种移植作业来测定一种化合物 D3 的抗肿瘤活性。结果如图 2 至图 4 所示, 图 2 至图 4 分别显示体重变化、肿瘤体积变化和生长抑制。

[0218] D3 在小鼠 HCT-116 结肠癌异种移植模型中的体内效力

[0219] 在小鼠 HCT-116 结肠癌异种移植模型中评价 D3 的体内效力和毒性。

[0220] 用灭菌自来水 (随意的的水) 和照射后的标准啮齿类动物饲料喂养雌性无胸腺 BALB/c 裸鼠 (ARC, 西澳大利亚), 该裸鼠年龄为 18 周至 20 周, 该饲料由 19% 的蛋白质、5% 的脂肪和 5% 的纤维组成。将小鼠安置在独立通风的 12 小时光照循环下的笼子里, 其温度为 21°C 至 22°C, 湿度为 40% 至 60%。对于约束方法、管理方法、外科手术方法、喂养和流体调节以及兽医护理, 生物资源中心的生物医药研究园 (Biopolis) (BRC) 遵从护理和使用实验动物指南的建议。BRC 的动物护理和使用程序 (#070276) 是动物管理及使用委员会 (IACUC) (Institutional Animal Care and Use Committee) 认可的。

[0221] 以粉末形式提供 D3, 将其溶解于 10% DMSO 的无菌 1xPBS 中并且在 -20°C 贮存。每只小鼠将通过腹膜内注射 (ip) 来接受每千克体重 30mg 至 60mg 的剂量。

[0222] 肿瘤移植

[0223] 将  $5 \times 10^6$  个 HCT-116 亲代人结肠癌细胞皮下植入小鼠左侧。使肿瘤生长 8 日, 此后每 2 至 3 日通过卡尺监测。

[0224] 治疗方案

[0225] 第一日, 将裸鼠按照肿瘤体积分成两组从而保证肿瘤体积均匀分布至各组。每组包括 7 只动物。在第一日开始药物治疗。在一日一次的基础上, 以腹膜内注射的形式给予 D3, 时间为 7 日, 剂量为 30mg/kg, 然后在另外的 5 日以腹膜内注射的形式给予 D3, 剂量为 60mg/kg。另一组标准的小鼠通过腹膜内注射途径仅接受介质。分别以 30mg/kg 和 60mg/kg 来提供 I3。在第 14 日结束该研究。

[0226] 使用下列公式计算估计的肿瘤体积:

[0227] 肿瘤体积 ( $\text{mm}^3$ ) =  $(w^2 \times l) / 2$

[0228] 其中  $w$  = HCT-116 癌的宽度并且  $l$  = HCT-116 癌的长度, 单位为 mm。

[0229] 效力评价

[0230] 通过肿瘤生长抑制 (TGI) 法来估计化合物的效力, 将治疗组的肿瘤体积与介质对照相比较。如下计算肿瘤生长抑制百分数 (% TGI):

[0231]  $\% \text{TGI} = (C_{\text{第 } a \text{ 日}} - T_{\text{第 } a \text{ 日}}) / (C_{\text{第 } a \text{ 日}} - C_{\text{第 } 1 \text{ 日}}) \times 100$

[0232] 其中：

[0233]  $C_{\text{第1日}}$  = 在第 1 日对照组（介质）的肿瘤体积中值

[0234]  $C_{\text{第a日}}$  = 在第 a 日对照组（介质）的肿瘤体积中值

[0235]  $T_{\text{第a日}}$  = 在第 a 日治疗组的肿瘤体积中值

[0236] 从 TGI 计算中排除归为 NTRD（非治疗相关死亡）的动物。

[0237] 毒性和端点

[0238] 从第 1 日每日称重动物。经常检查小鼠的包括活性（失活 / 活性过高）在内的任何有害的、药物相关副作用的临床信号，皮肤水合 / 脱水、姿势（例如隆起）、步态、当放在秤上时的发作、体温（例如，凉感（cool to touch））和发声。

[0239] 统计分析

[0240] 将双样本 t 检验用于测定组间体重变化和肿瘤体积的统计显著性。在 0.05 的 p 水平进行统计分析。将 SPSS 用于所有的统计分析和图示。

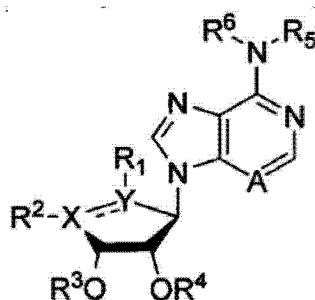
[0241] 结果和讨论

[0242] D3：在整个方法期间，没有观察到明显体重损失（>95%的初始体重），并且 D3 组的肿瘤体积统计上显著小于介质组（ $p = 0.033$ ）。对于肿瘤生长抑制，在第 7、9、12 日的时间点以及第 14 日的终点，肿瘤生长抑制分别为约 49%、56%、54% 和 54%。参见图 2 至图 4。

[0243] I3：在整个方法期间，没有观察到明显体重损失（>95%的初始体重），并且 30mg/kg 组和 60mg/kg 组的 I3 肿瘤体积统计上显著小于介质组（分别为  $p = 0.037$  和  $p = 0.000$ ）。对于 30mg/kg 剂量的 I3 的肿瘤生长抑制，在第 6、8、10、13 日的时间点以及第 14 日的终点，肿瘤生长抑制分别为约 40%、43%、31%、35% 和 34%。对于 60mg/kg 至 80mg/kg 剂量的 I3，在第 6、8、10、13 日的时间点以及第 14 日的终点，肿瘤生长抑制分别为约 50%、65%、60%、68% 和 63%（参见图 5 至图 7）。

[0244] 因此，本发明涉及具有下列结构的用于抑制多梳抑制复合物 2 (PRC2) 蛋白功能的抗癌化合物。

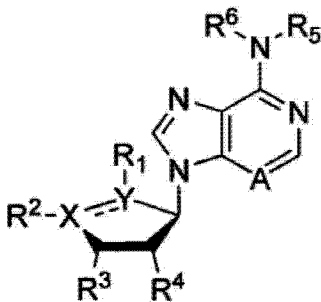
[0245]



结构 1

[0246] 在所述化合物的特别实施方案中，A 独立地为碳或氮；X 和 Y 独立地为碳，并且 X 和 Y 之间的键可以饱和或不饱和； $R^1$  和  $R^2$  独立地为氢或卤素或碳或包含 1 至 8 个主链碳原子和 0 至 3 个杂原子的脂族基、芳基脂族基、烃基，所述杂原子为 N、O、S、Si 或诸如 Cl 或 F 的卤素； $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$  和  $R^6$  独立地为氢或包含 0-3 个为 N、O、S 或 Si 的杂原子的脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂族基或芳基脂环族烃基；可以将  $R^3$  和  $R^4$  任选连接从而形成脂族烃桥。本发明还涉及具有下列结构的用于抑制多梳抑制复合物 2 (PRC2) 蛋白功能的抗癌化合物。

[0247]



结构 2

[0248] 在这种化合物的特别实施方案中, A 独立地为碳或氮; X 和 Y 独立地为碳, 并且 X 和 Y 之间的键可以饱和或不饱和; R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>独立地为氢或卤素或碳或包含 1 至 8 个主链碳原子和 0 至 3 个杂原子的脂族基、芳基脂族基、烃基, 所述杂原子为 N、O、S、Si 或诸如 Cl 或 F 的卤素; R<sup>3</sup>和 R<sup>4</sup>独立地为氢或卤素或碳或脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂环族基或芳基脂族烃基; R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>独立地为氢或包含 0 至 3 个为 N、O、S 或 Si 的杂原子的脂族基、脂环族基、芳族基、芳基脂族基或芳基脂环族烃基。

具有DZNEP和DZNEP衍生化合物的HCT116KO-ERE2F1

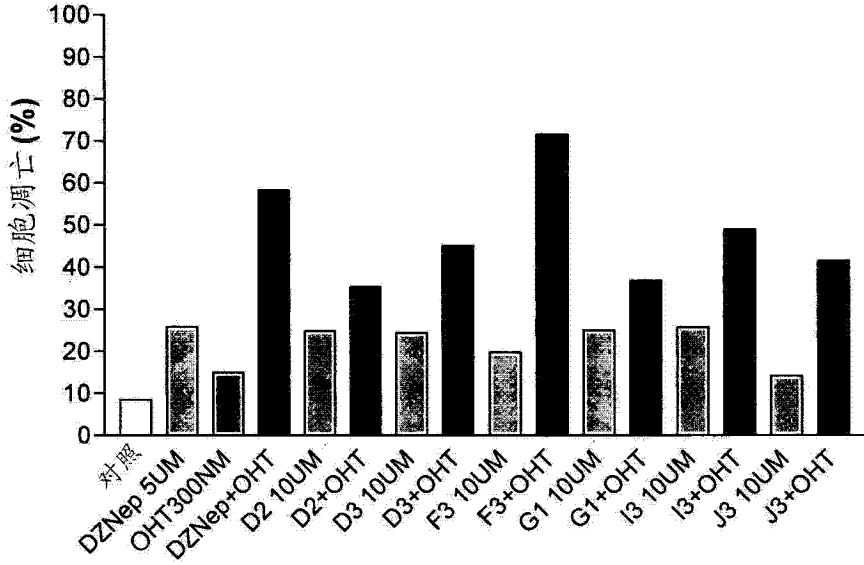


图 1

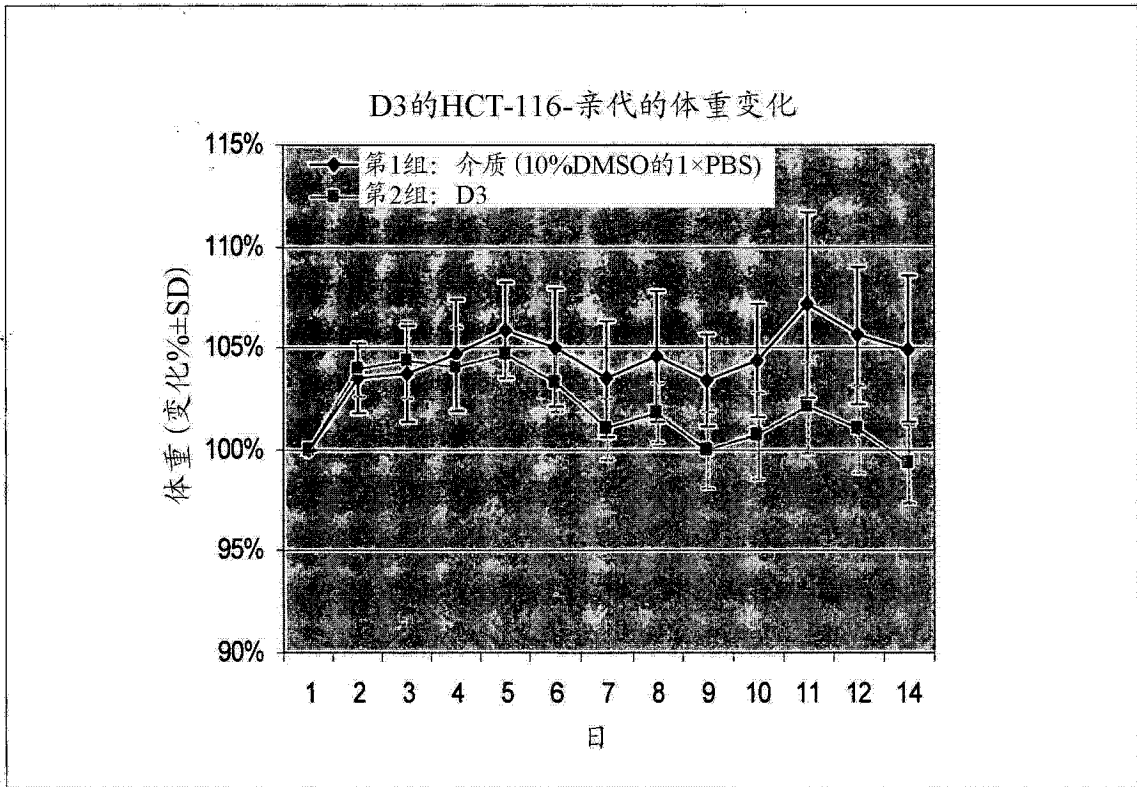


图 2

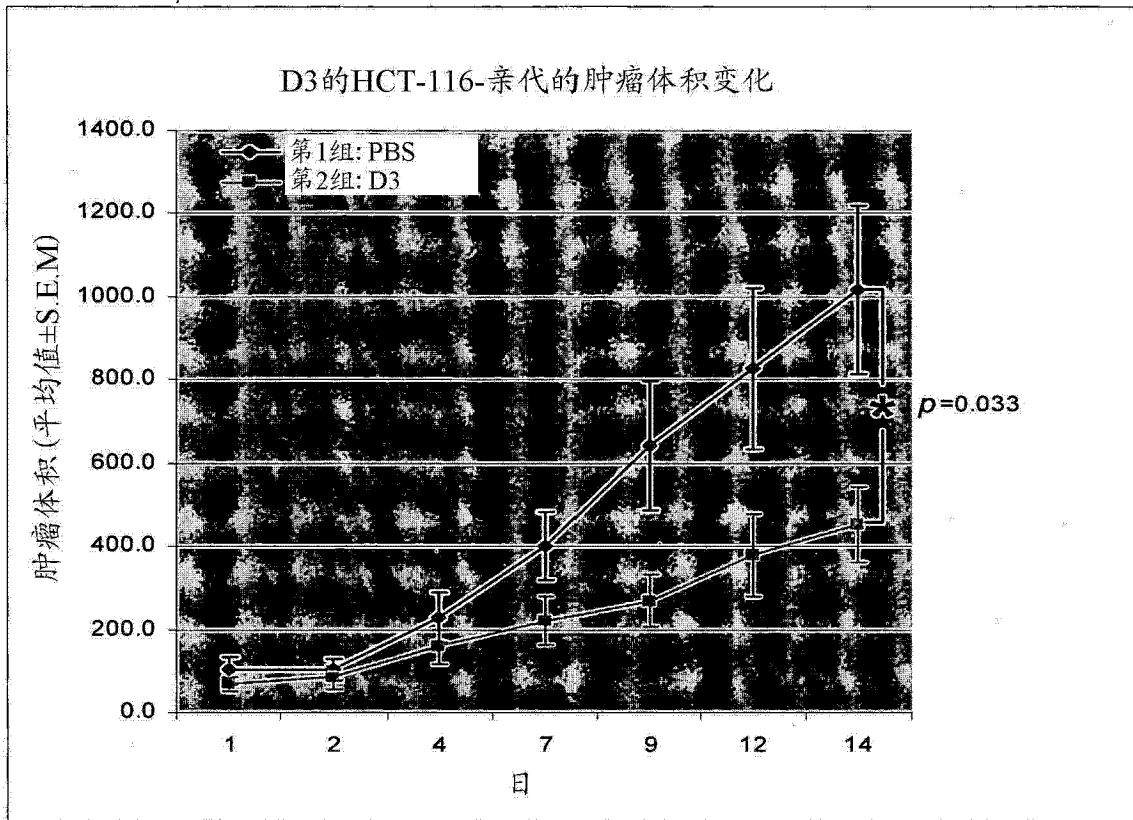


图 3

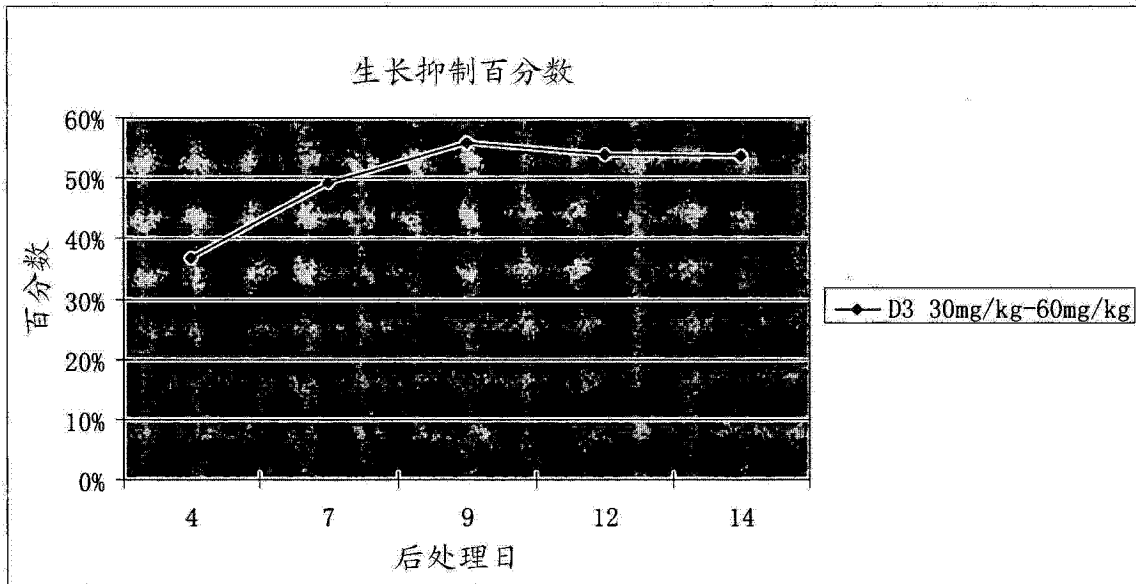


图 4

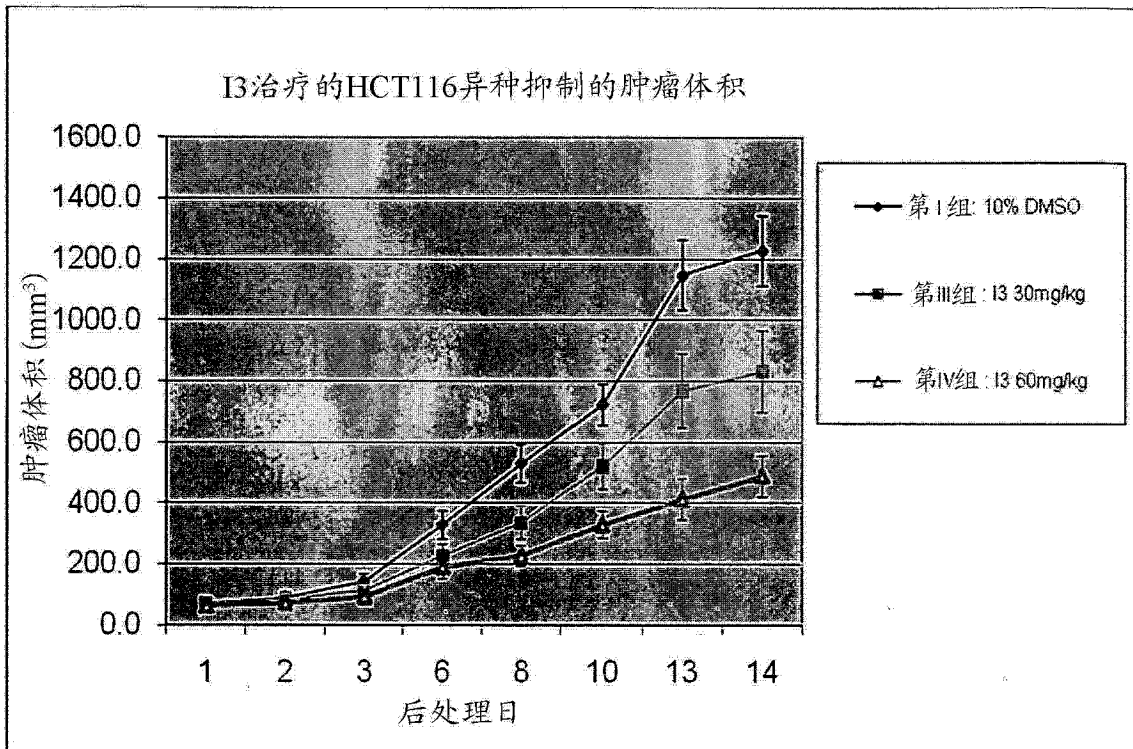


图 5

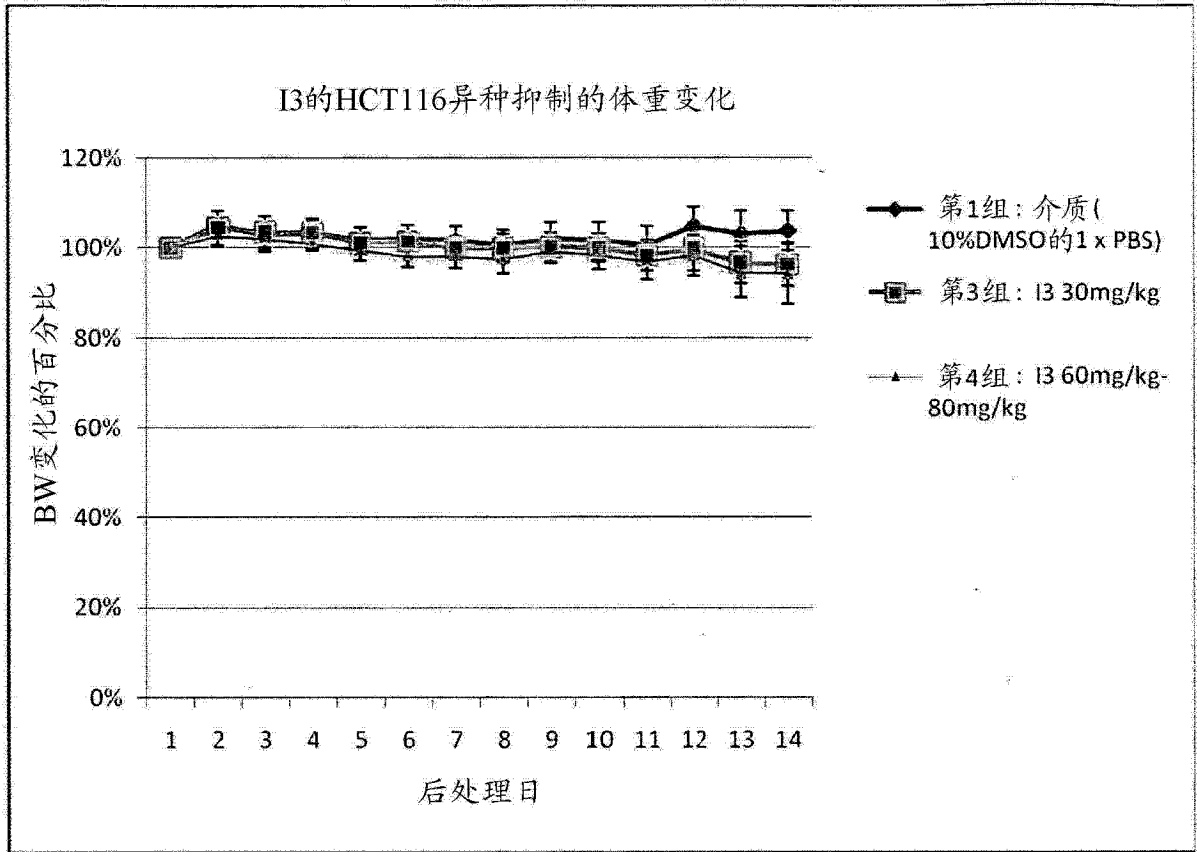


图 6

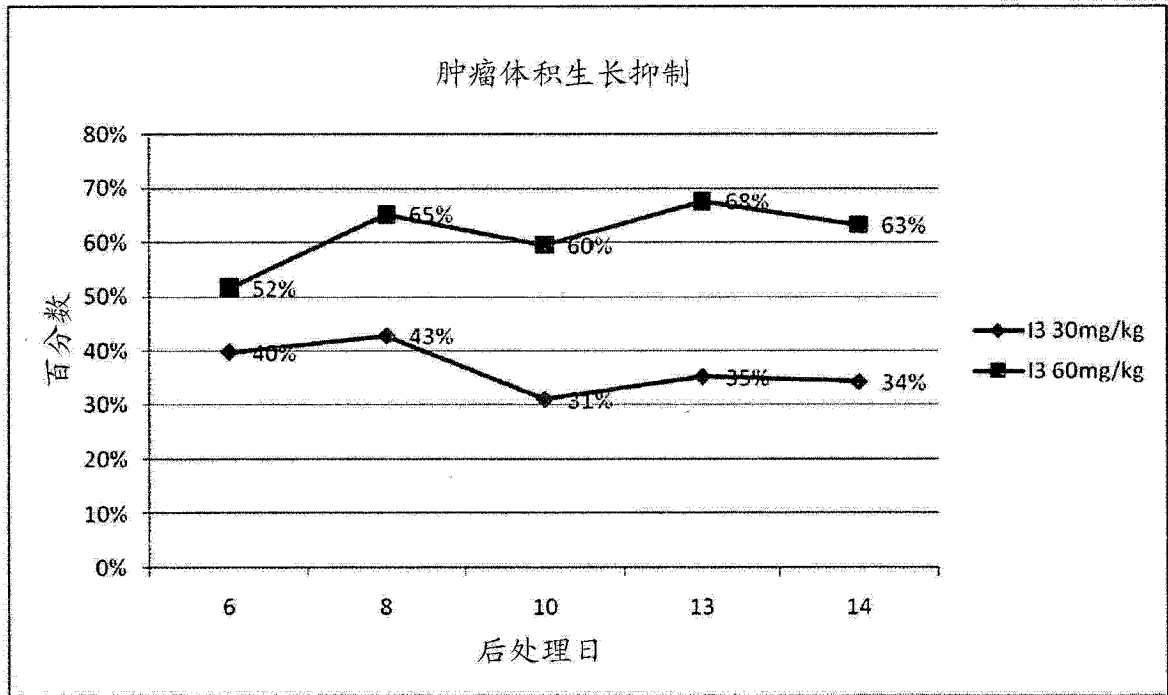


图 7