



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 114591213 A

(43) 申请公布日 2022. 06. 07

(21) 申请号 202011398331.7

A61K 31/4015 (2006.01)

(22) 申请日 2020.12.04

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/433 (2006.01)

(71) 申请人 华东师范大学

地址 200241 上海市闵行区东川路500号

(72) 发明人 戚逸飞 张增辉 郑磊 杨云鹏

董素珍 何丽萍 鲍劲霄

(74) 专利代理机构 上海德禾翰通律师事务所

31319

专利代理师 夏思秋

(51) Int. Cl.

C07D 207/36 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

C07D 405/06 (2006.01)

C07D 403/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书5页 说明书8页

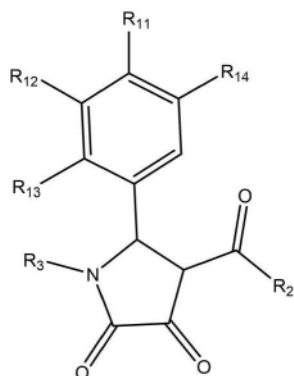
(54) 发明名称

4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物及其在CDK2蛋白抑制剂中应用

(57) 摘要


本发明公开了一种如式(I)所示的4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐在作为CDK2蛋白的抑制剂中的应用,所述化合物能够有效抑制CDK2蛋白的活性。本发明还公开了所述4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗以CDK2蛋白为靶点的疾病的药物中的应用。

1.4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐在作为CDK2蛋白抑制剂中的应用,其特征在于,所述化合物的骨架如下式(I)所示:



式 (I);

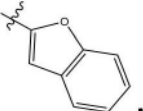
其中,

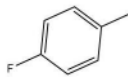
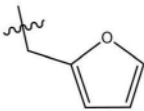
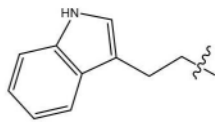
R_{11} 为H, C_{1-10} 烷基, C_{1-10} 烷氧基, *i*-Pr, 卤素, 中的一种或几种;

R_{12} 为H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种;

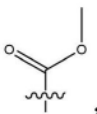
R_{13} 为H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种;

R_{14} 为H, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种;

R_2 为Ph, , C_{1-10} 烷氧基取代的苯基, 卤素取代的苯基中的一种或几种;

R_3 为 C_{1-10} 烷基取代的苯基, , , 中的一种或几种。

种或几种。

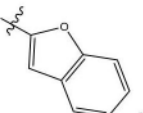
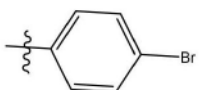
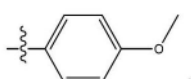
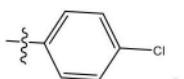
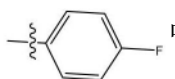
2. 如权利要求1所述的应用, 其特征在于, R_{11} 为H, Et, MeO, EtO, *i*-Pr, F, Cl,  t-Bu, n-BuO中的一种或几种;

n-BuO中的一种或几种;

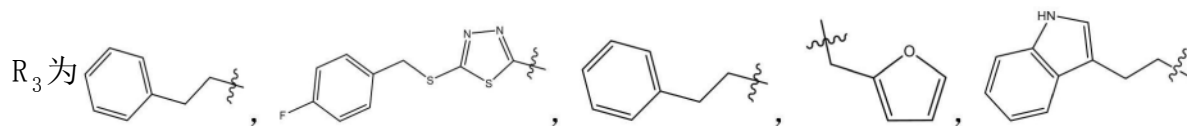
R_{12} 为H, F, MeO中的一种或几种;

R_{13} 为H, F, Cl, MeO中的一种或几种;

R_{14} 为H, MeO中的一种或几种;

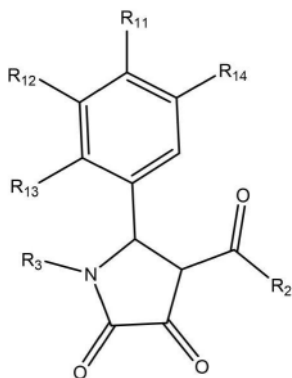
R_2 为Ph, , , , , 中的一种或几种;

种或几种;



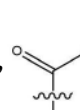
中的一种或几种。

3.4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗以CDK2蛋白为靶点的疾病的药物中的应用,其特征在于,所述化合物的骨架如下式(I)所示:



式 (I);

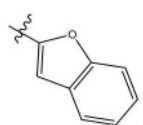
其中,

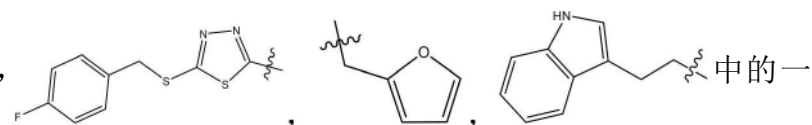
R_{11} 为H, C_{1-10} 烷基, C_{1-10} 烷氧基, i-Pr, 卤素,  中的一种或几种;

R_{12} 为H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种;

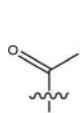
R_{13} 为H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种;

R_{14} 为H, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种;

R_2 为Ph, , C_{1-10} 烷氧基取代的苯基, 卤素取代的苯基中的一种或几种;

R_3 为 C_{1-10} 烷基取代的苯基,  中的一

种或几种。

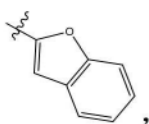
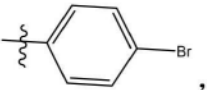
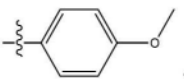
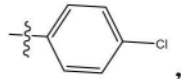

4. 如权利要求3所述的应用, 其特征在于, R_{11} 为H, Et, MeO, EtO, i-Pr, F, Cl,  t-

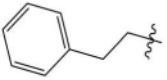
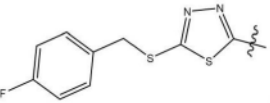
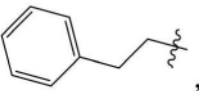
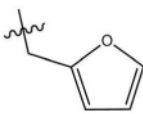
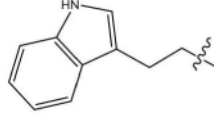
Bu, n-BuO中的一种或几种;

R_{12} 为H, F, MeO中的一种或几种;

R_{13} 为H, F, Cl, MeO中的一种或几种;

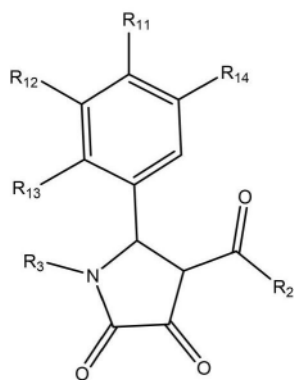
R_{14} 为H, MeO中的一种或几种;

R_2 为 Ph, , , , ,  中的一种或几种;

R_3 为 , , , ,  中的一种或几种。

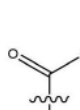
5. 如权利要求3所述的应用, 其特征在于, 所述4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐用于抑制CDK2蛋白的活性。

6. 药物组合物在作为CDK2蛋白抑制剂中的应用, 其特征在于, 所述药物组合物包括如下式(I)所示的4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐, 及其药学上可接受的载体:



式 (I);

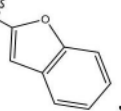
其中,

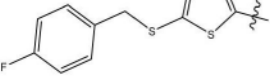
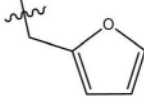
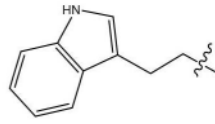
R_{11} 为 H, C_{1-10} 烷基, C_{1-10} 烷氧基, i-Pr, 卤素,  中的一种或几种;

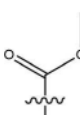
R_{12} 为 H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种;

R_{13} 为 H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种;

R_{14} 为 H, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种;

R_2 为 Ph, , C_{1-10} 烷氧基取代的苯基, 卤素取代的苯基中的一种或几种;

R_3 为 C_{1-10} 烷基取代的苯基, , ,  中的一种或几种。

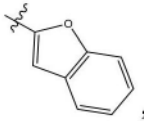
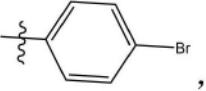
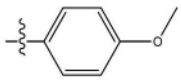
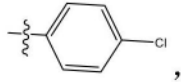
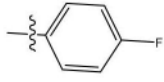
7. 如权利要求6所述的应用, 其特征在于, R_{11} 为 H, Et, MeO, EtO, i-Pr, F, Cl,  t-

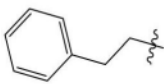
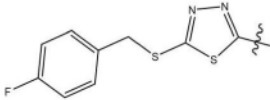
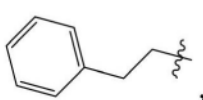
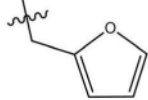
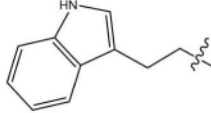
Bu, n-BuO中的一种或几种；

R_{12} 为H, F, MeO中的一种或几种；

R_{13} 为H, F, Cl, MeO中的一种或几种；

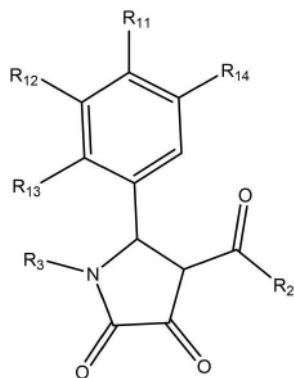
R_{14} 为H, MeO中的一种或几种；

R_2 为Ph, , , , ,  中的一种或几种；

R_3 为 , , , ,  中的一种或几种。

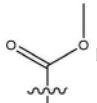
中的一种或几种。

8. 药物组合物在制备预防和/或治疗以CDK2蛋白为靶点的疾病的药物中的应用, 其特征在于, 所述药物组合物包括如下式(I)所示的4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐, 及其药学上可接受的载体:



式 (I);

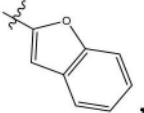
其中,

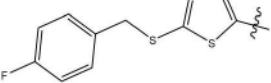
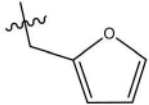
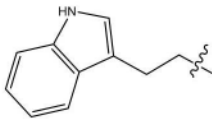
R_{11} 为H, C_{1-10} 烷基, C_{1-10} 烷氧基, i-Pr, 卤素,  中的一种或几种；

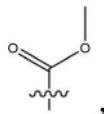
R_{12} 为H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种；

R_{13} 为H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种；

R_{14} 为H, C_{1-10} 烷氧基中的一种或几种；

R_2 为Ph, , C_{1-10} 烷氧基取代的苯基, 卤素取代的苯基中的一种或几种；

R_3 为 C_{1-10} 烷基取代的苯基, , ,  中的一种或几种。

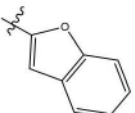
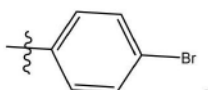
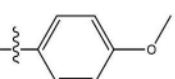
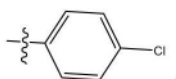
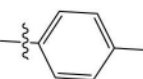
9. 如权利要求8所述的应用, 其特征在于, R_{11} 为 H, Et, MeO, EtO, i-Pr, F, Cl,  t-

Bu, n-BuO 中的一种或几种;

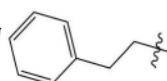
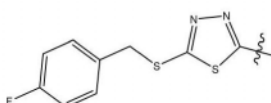
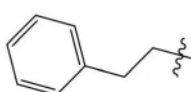
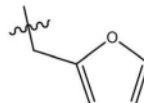
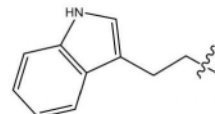
R_{12} 为 H, F, MeO 中的一种或几种;

R_{13} 为 H, F, Cl, MeO 中的一种或几种;

R_{14} 为 H, MeO 中的一种或几种;

R_2 为 Ph, , , , ,  中的一

种或几种;

R_3 为 , , , , 

中的一种或几种。

10. 如权利要求8所述的应用, 其特征在于, 所述 4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物用于抑制 CDK2 蛋白的活性。

4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物及其在CDK2蛋白抑制剂中应用

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及一种4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物及其在CDK2蛋白抑制剂中应用。

背景技术

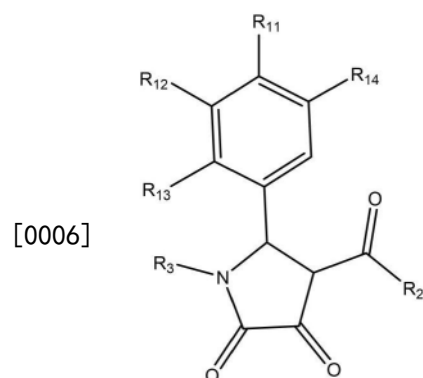
[0002] 细胞周期蛋白依赖性蛋白 (CDK) 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族,共有13个成员,包括CDK1-CDK13。CDK家族与细胞周期蛋白协同,成为调控细胞周期的重要因子。依赖于他们的有序激活,细胞周期才能够在正确的时间做正确的事。所以CDK和细胞周期蛋白(cycling)的协同作用是细胞周期调控的重要因素。根据CDK的功能不同,CDK细胞可分为参与细胞周期调控与转录调节两大类。近年以来,CDK4/6抑制剂的临床开发改变了乳腺癌的治疗方法,激发了人们对于该领域的兴趣,并增加了对以CDK家族其他成员为治疗靶标的研究力度。

[0003] 细胞周期蛋白依赖激酶2属于CDK家族的重要成员。在分裂细胞中,CDK2是一种核心细胞周期调节因子,从G1期晚期到整个S期均十分活跃。CDK2在细胞的增殖和生存途径中的广泛功能使其成为癌症治疗中基于机制和低毒性治疗策略的理想靶标。有大量证据表明,CDK2的活性也影响细胞分化和适应性免疫应答。CDK2是CDK家族中最具潜力的靶标之一。然而截止到目前仍然没有以CDK2蛋白为靶点的上市药物。

发明内容


[0004] 为了解决现有技术存在的不足,本发明的目的是提供一种4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐及其在作为CDK2蛋白抑制剂中的应用,所述化合物或其药学上可接受的盐能够有效抑制CDK2蛋白的活性。

[0005] 本发明提供了一种4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物的骨架如下式(I)所示:



式 (I)

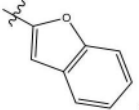
[0007] 其中,

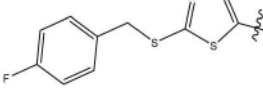
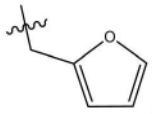
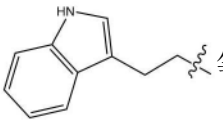
[0008] R_{11} 为H, C_{1-10} 烷基, C_{1-10} 烷氧基, i-Pr, 卤素, 等中的一种或几种;

[0009] R_{12} 为H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基等中的一种或几种;

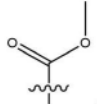
[0010] R_{13} 为H, 卤素, C_{1-10} 烷氧基等中的一种或几种;

[0011] R_{14} 为H, C_{1-10} 烷氧基等中的一种或几种;

[0012] R_2 为Ph, , C_{1-10} 烷氧基取代的苯基, 卤素取代的苯基等中的一种或几种;

[0013] R_3 为 C_{1-10} 烷基取代的苯基, , , 等中的一种或几种;

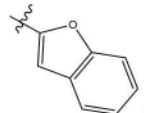
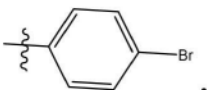
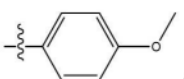
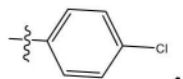
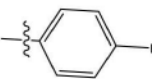
[0014] 优选地,

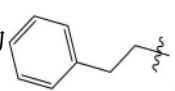
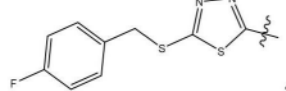
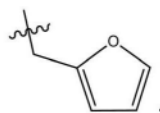
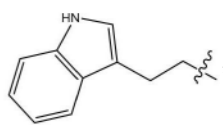
[0015] R_{11} 为H-, Et-, MeO-, EtO-, i-Pr, F-, Cl-, , t-Bu, n-BuO等中的一种或几种;

[0016] R_{12} 为H-, F-, MeO-等中的一种或几种;

[0017] R_{13} 为H-, F-, Cl-, -MeO-等中的一种或几种;

[0018] R_{14} 为H, MeO-等中的一种或几种;

[0019] R_2 为Ph-, , , , , 等中的一种或几种;

[0020] R_3 为, , , 等中的一种或几种。

[0021] 本发明还提供了上述4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐在作为CDK2蛋白抑制剂中的应用。

[0022] 本发明还提供了上述4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗以CDK2蛋白为靶点的疾病的药物中的应用。

[0023] 本发明还提供了一种药物组合物, 所述组合物包括如式(I)所示的4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载体。

[0024] 本发明还提供了上述药物组合物在作为CDK2蛋白抑制剂中的应用。

[0025] 本发明还提供了上述药物组合物在制备预防和/或治疗以CDK2蛋白为靶点的疾病的药物中的应用。

[0026] 其中, 所述的药物组合物的剂型为口服剂型或注射剂型。

[0027] 所述口服剂型包括片剂、胶囊剂、膜剂、颗粒剂等, 还包括缓释型或非缓释型剂型

等。

[0028] 本发明还提供了一种预防和/或治疗相关疾病的方法,所述方法包括:给需要的对象施用如上所述的式(I) 4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐或药物组合物。

[0029] 其中,所述的药物组合物的剂型为口服剂型或注射剂型。

[0030] 所述口服剂型包括片剂、胶囊剂、膜剂、颗粒剂等,还包括缓释型或非缓释型剂型等。

[0031] 本发明的有益效果包括:本发明提供的4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐可以作为CDK2蛋白抑制剂,能够有效抑制CDK2蛋白的活性,对制备治疗以CDK2蛋白为靶点的疾病的药物提供了重要研究价值。

具体实施方式

[0032] 结合以下具体实施例,对本发明作进一步的详细说明。实施本发明的过程、条件、实验方法等,除以下专门提及的内容之外,均为本领域的普遍知识和公知常识,本发明没有特别限制内容。

[0033] 应用实施例

[0034] 一、实验材料:

[0035] CDK2 (eurofins, Cat.No.14-448M, Lot.No.D7NN039U-G)

[0036] 底物Peptide FAM-P18 (GL Biochem, Cat.No.114202, Lot.No.P080319-XY114202)

[0037] ATP (Sigma, Cat.No.A7699-1G, CAS No.987-65-5)

[0038] DMSO (Sigma, Cat.No.D2650, Lot.No.474382)

[0039] EDTA (Sigma, Cat.No.E5134, CAS No.60-00-4)

[0040] 96-孔板 (Corning, Cat.No.3365, Lot.No.22008026)

[0041] 384-孔板 (Corning, Cat.No.3573, Lot.No.12608008)

[0042] 阳性参照物星型环孢素 (Staurosporine) (Selleckchem, Cat.No.S1421, Lot.No.S142105)

[0043] 二、实验方法:

[0044] 1.准备1倍激酶基础缓冲液和终止缓冲液

[0045] 1) 1倍激酶基础缓冲液

[0046] 50mM HEPES, pH 7.5

[0047] 0.0015%Brij-35

[0048] 10mM $MgCl_2$

[0049] 2mM DTT

[0050] 2) 终止缓冲溶液

[0051] 100mM HEPES, pH 7.5

[0052] 0.015%Brij-35

[0053] 0.2%Coating Reagent#3

[0054] 50mM EDTA

[0055] 2.准备化合物

[0056] 1) 用100%DMSO将式(I)所示的4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物(见表1)稀释至反应中最终所需的最高抑制剂浓度的50倍。然后将100 μ l化合物稀释液转移至96孔板的孔中。例如,如果所需的最高抑制剂浓度为100 μ M,则在此步骤中准备5000 μ M化合物的DMSO溶液。

[0057] 2) 在同一96孔板中,将100 μ l 100%DMSO加至两个空孔中,作为不添加化合物的对照和不添加酶的对照。将此板标记为源板。

[0058] 3) 准备中间板:将10 μ l化合物从源板转移到新的96孔板作为中间板;将90 μ l 1倍激酶缓冲液添加到中间板的每个孔中;在摇床上将化合物在中间板上混合10分钟。

[0059] 3. 准备测定板

[0060] 一式两份将5 μ l每个孔从96孔中间板转移到384孔板中。例如,将96孔板的A1转移到384孔板的A1。96孔板的A2转移到384孔板的A3,依此类推。

[0061] 4. 酶反应

[0062] 1) 准备2.5倍酶溶液:在1倍激酶基本缓冲液中添加激酶。

[0063] 2) 准备2.5倍肽溶液:在1倍激酶基础缓冲液中添加FAM标记的肽和ATP。

[0064] 3) 分析板在10%DMSO溶液中已经包含5 μ l的化合物。

[0065] 4) 将2.5倍酶溶液转移到测定板上,向384孔测定板的每个孔中添加10 μ l 2.5倍酶溶液。

[0066] 5) 在室温下孵育10分钟。

[0067] 6) 将2.5倍肽溶液转移到测定板上,向384孔测定板的每个孔中加入10 μ l 2.5倍肽溶液。

[0068] 7) 激酶反应并停止:在28℃下孵育指定的时间30min,加入25 μ l终止缓冲液以终止反应。

[0069] 5. 酶标仪读数

[0070] 在酶标仪上收集数据。

[0071] 6. 曲线拟合

[0072] 1) 从Caliper程序复制转换数据。

[0073] 2) 将读数值转换为抑制值。

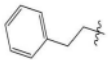
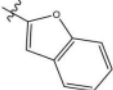
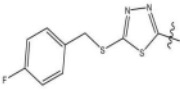
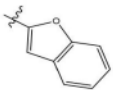
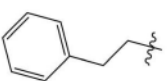

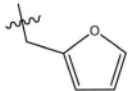
[0074] 抑制率% = $\text{DMSO对照} - \text{实验组} / (\text{DMSO对照} - \text{空白对照}) * 100$ 。

[0075] 3) 在XLFit excel插件版本5.4.0.8中拟合数据以获得IC₅₀值。

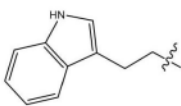
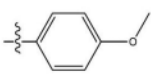
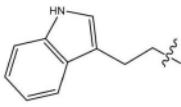
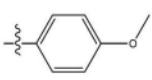
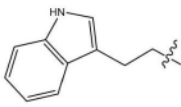
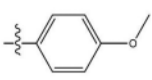
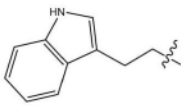
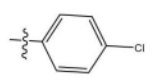
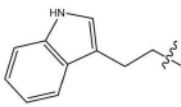
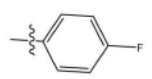
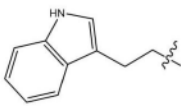
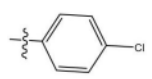
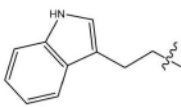
[0076] 三、结果见表格1:

[0077] 表格1

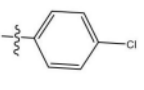
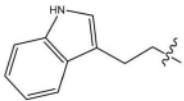
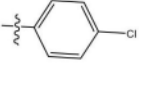
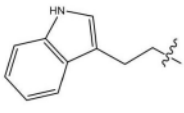
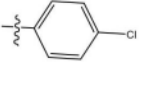
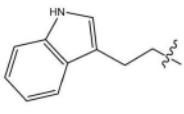
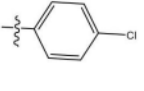
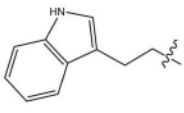
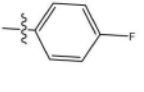
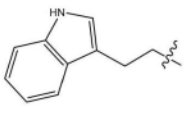

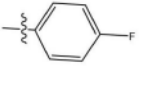
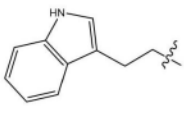
[0078]

ID	R ₁₁	R ₁₂	R ₁₃	R ₁₄	R ₂	R ₃	抑制率 (%)50uM	抑制率 (%)10uM	IC50(n M)
AQ-149/12 292046			Cl-		Ph-		86.2	16	15574
AF-399/42 017936	MeO-	MeO-		MeO-			94.4	11.5	2735
AF-399/42 017730	t-Bu-						95.9	21.5	2985
AF-399/41 900639	n-BuO-	MeO-					97.7	0.7	12655

[0079]

AQ-149/42 126274	Et-				Ph-		87.5	0.1	16976
AQ-149/43 243674	Et-						93.9	-1.1	6215
AQ-149/43 243667		F-					93.2	8.8	18651
AQ-149/43 243668	EtO-						92.7	-0.2	6961
AQ-149/43 243693							95.7	-2.0	15341
AQ-149/43 243682							75.8	-0.2	22478
AQ-149/43 243697	MeO-						94.8	6.1	7259

[0080]

AQ-149/43 243688			MeO-				94.6	7.9	6166
AQ-149/43 243689	i-Pr						96.6	6.1	3621
AQ-149/43 243696	F-						95.1	9.7	8888
AQ-149/43 243691			F-				94.6	10.6	17085
AQ-149/43 243680	Cl-						94.3	13.4	7964
AQ-149/43 243685							93.5	0.7	25005
1 (化合物 骨架只有 氢取代)							101.7	102.5	>1000 00

[0081] 备注：生物活性：>100000nM为差；50000-100000nM为中；20000-50000nM为良；1000-20000nM为优；<1000为最优

[0082] 通过表1的数据可知，本发明提供的式(I)所示的4-乙酰基-5-苯基吡咯烷-2,3-二酮类化合物或其药学上可接受的盐可以作为CDK2蛋白抑制剂，能够有效抑制CDK2蛋白的活性，对制备治疗以CDK2蛋白为靶点的疾病的药物提供了重要研究价值。

[0083] 本发明的保护内容不局限于以上实施例。在不背离本发明构思的精神和范围下，本领域技术人员能够想到的变化和优点都被包括在本发明中，并且以所附的权利要求书为

保护范围。