



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104024213 A

(43) 申请公布日 2014. 09. 03

(21) 申请号 201280039953. 8

A61P 3/08 (2006. 01)

(22) 申请日 2012. 06. 15

A61P 35/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

C07C 229/60 (2006. 01)

61/497, 582 2011. 06. 16 US

C07C 233/55 (2006. 01)

C07C 271/28 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 02. 17

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CA2012/000596 2012. 06. 15

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/171114 EN 2012. 12. 20

(71) 申请人 香港理工大学

地址 中国香港九龙红磡

(72) 发明人 德恒·陈 斯里达尔·帕穆

庆平·宾 迪·陈

(74) 专利代理机构 隆天国际知识产权代理有限公司

公司 72003

代理人 吴小瑛 张福根

(51) Int. Cl.

C07C 69/84 (2006. 01)

A61P 3/00 (2006. 01)

权利要求书26页 说明书56页 附图11页

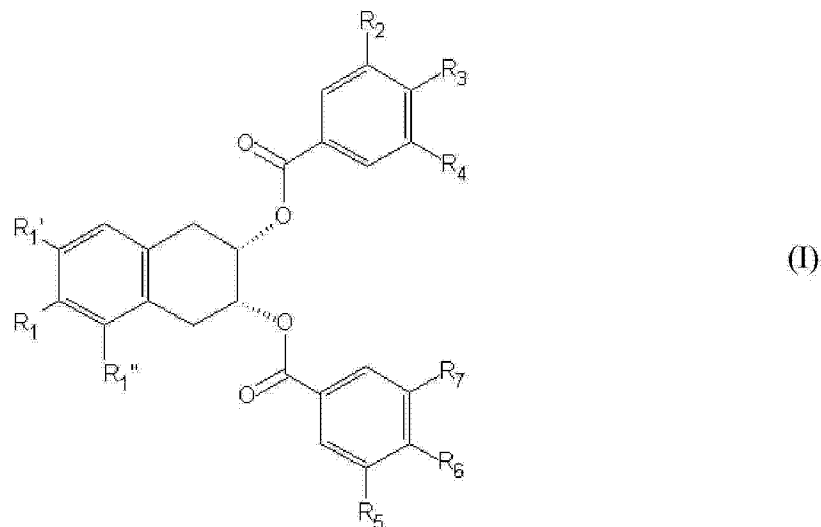
(54) 发明名称

合成的表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)
类似物

(57) 摘要

本申请提供了合成的式 (I) 多酚类化合物、其合成方法和其药物组合物。本申请还提供了本文所述的化合物和组合物用于治疗癌症和用于治疗代谢紊乱的用途。

1. 一种具有式 I 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐：



其中：

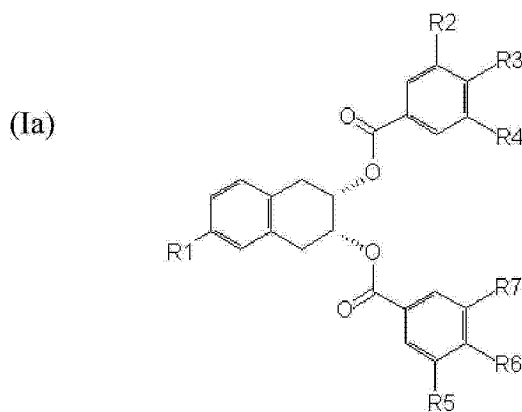
R_1 、 R_1' 和 R_1'' 各自独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基, 上述基团都可以是任选取代的；

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素, 其中 R_8 和 R_9 如上所定义；

前提条件为当 R_1 、 R_1' 和 R_1'' 都是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时, R_3 和 R_6 不是 H 或 OH；以及当 R_1 、 R_1' 和 R_1'' 都是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时, R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物具有式 Ia 结构：



其中：

R_1 选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基, 上述基团都可以是任选取代的；

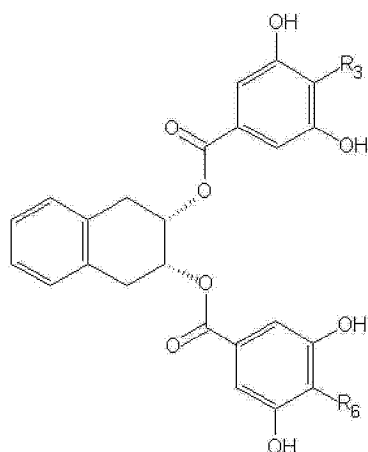
R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；和

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素, 其中 R_8 和 R_9 如上所定义;

前提条件为当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时, R_3 和 R_6 不是 H 或 OH; 以及当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时, R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐, 其中 R_1 选自 H、卤素、OH 和酰氧基; R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素; 且 R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素; 前提条件是当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时, R_3 和 R_6 不是 H 或 OH; 以及当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时, R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

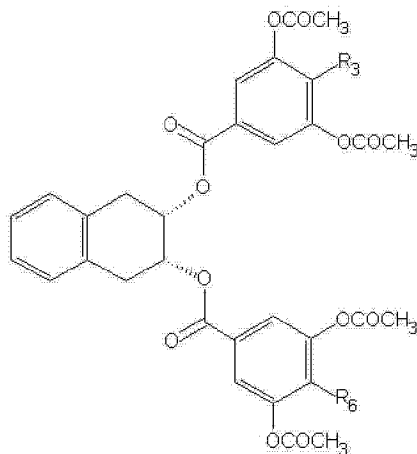
4. 如权利要求 1-3 任一项所述的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物具有式 II 结构:



(II)

其中 R_3 和 R_6 都是 Br、F、Cl 或 CH_3 。

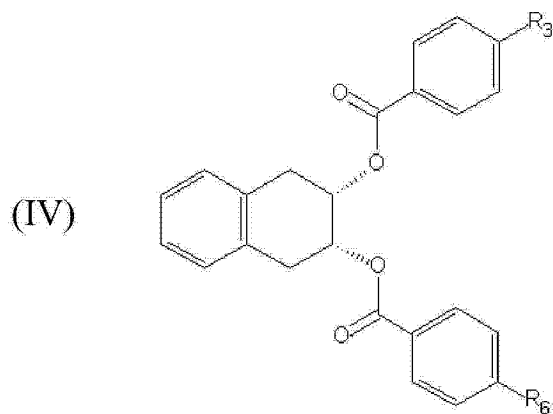
5. 如权利要求 1-3 任一项所述的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物具有式 III 结构:



(III)

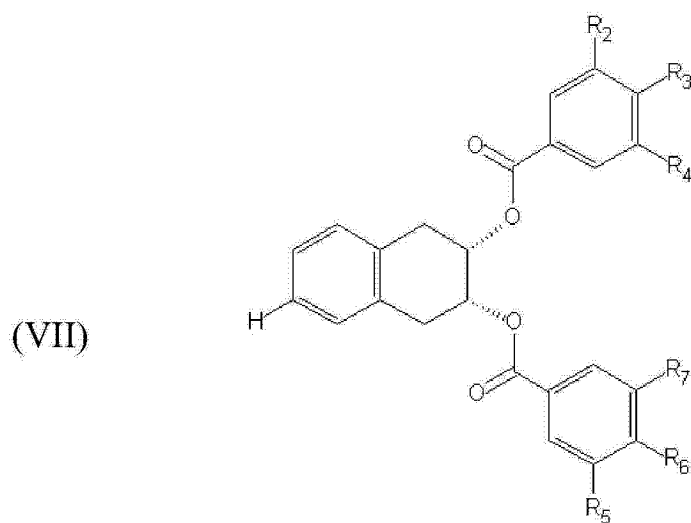
其中 R_3 和 R_6 都是 Br、F、Cl 或 CH_3 。

6. 如权利要求 1-3 任一项所述的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物具有式 IV 结构:



其中 R_3 和 R_6 都是 OH、 OCOCH_3 、 $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$ 、 NH_2 或 NHCOCCH_3 。

7. 如权利要求 1-3 任一项所述的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物具有式 VII 结构:



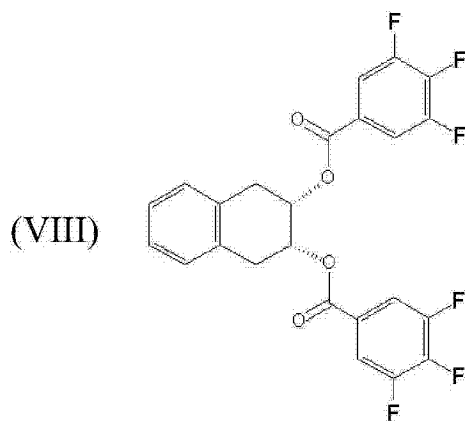
其中:

R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 是 F;或

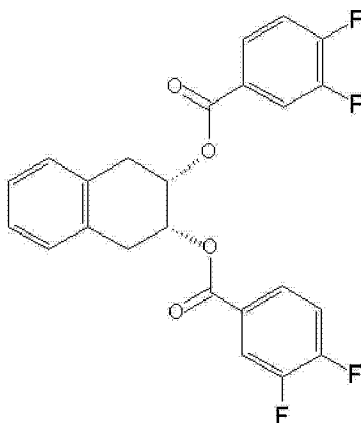
R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 是 F,且 R_4 和 R_7 是 H;或

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 是 F,且 R_3 和 R_6 是 H。

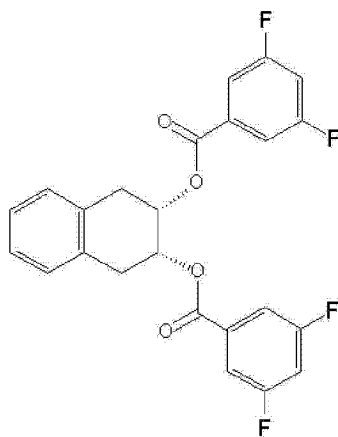
8. 如权利要求 1-3 任一项所述的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,其中化合物具有式 VIII、式 IX 或式 X 结构:



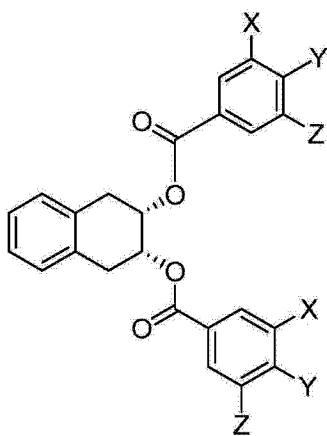
(IX)



(X)



9. 一种具有式 XI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐：



(XI)

其中 X、Y 和 Z 各自独立地是 H、Br、F、Cl、OH、Me、NH₂、OAc、NHAc 或 CF₃；

前提条件为当 X 和 Z 都是 OH 时，Y 不是 H 或 OH；以及当 X 和 Z 都是 OAc 时，Y 不是 H 或 OAc。

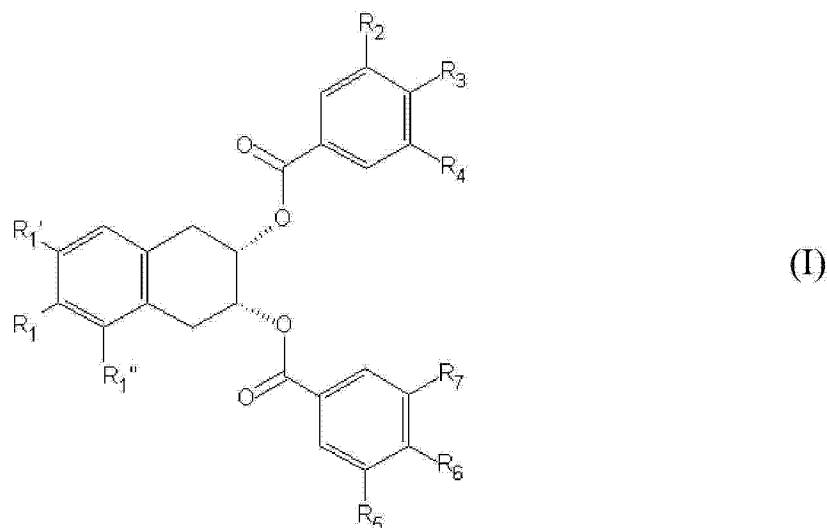
10. 如权利要求 9 所述的化合物，其中 X 和 Z 是相同的。

11. 如权利要求 1-3 任一项所述的化合物其类似物和其药学上可接受的盐，其中所述化合物具有选自表 1 所示、表 A 所示的结构，前提条件为所述化合物不是化合物 5、6、7、8、

16、17、21 或 22。

12. 一种药物组合物,其包含至少一种如权利要求 1-11 任一项所述的化合物和药学上可接受的载体。

13. 一种用于抑制细胞中蛋白酶体活性的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 I 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制:



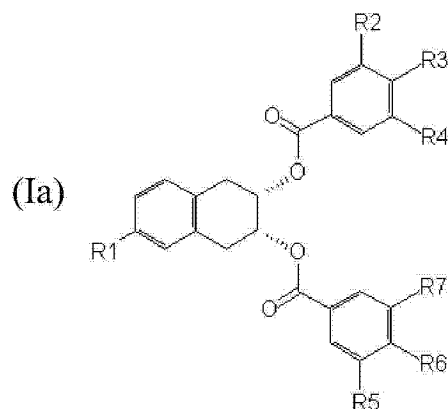
其中:

R_1 、 R_1' 和 R_1'' 各自独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基,上述基团都可以是任选取代的;

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素;且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素,其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

14. 如权利要求 13 所述的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 Ia 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制:



其中:

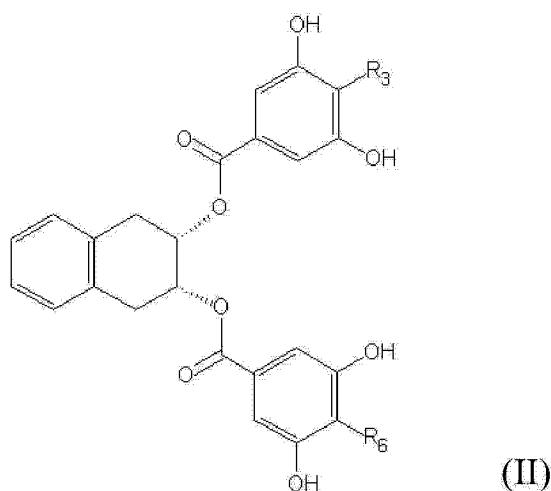
R_1 选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基,上述基团都可以是任选取代的;

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素，其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

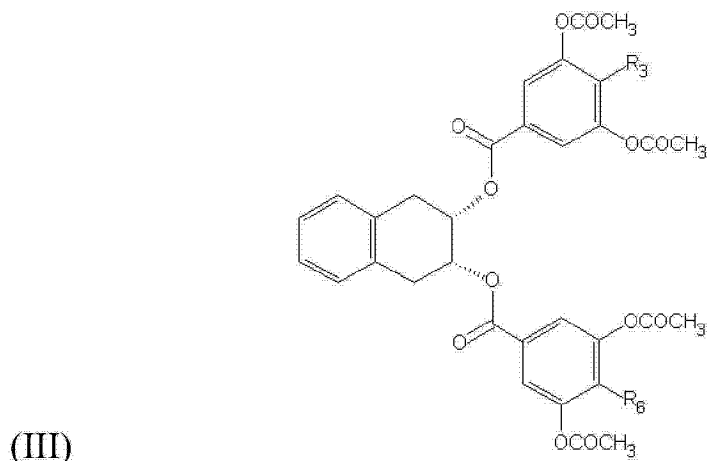
15. 如权利要求 13 或 14 所述的方法，其中 R_1 选自 H、卤素、OH 和酰氧基； R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且 R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素；以及其类似物；以及其药学上可接受的盐。

16. 如权利要求 13-15 任一项所述的方法，其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 II 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触，以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制：



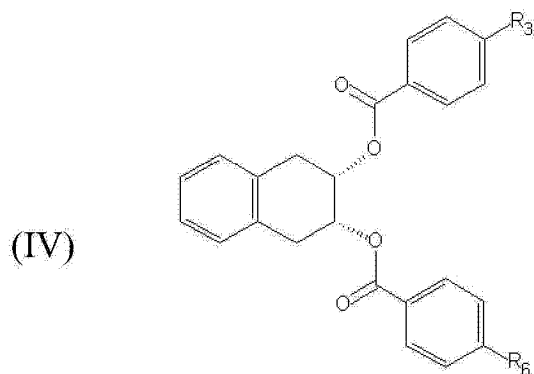
其中 R_3 和 R_6 都是 H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

17. 如权利要求 13-15 任一项所述的方法，其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 III 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触，以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制：



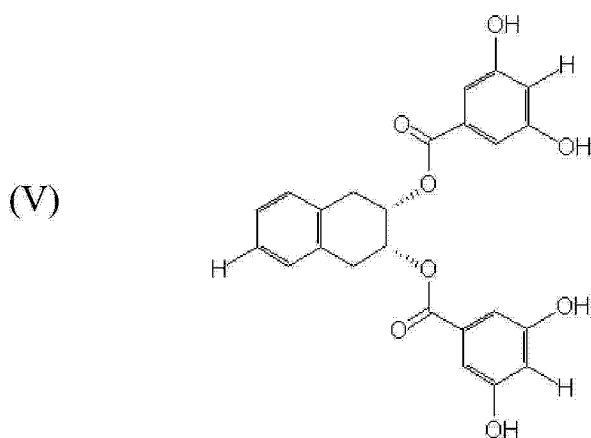
其中 R_3 和 R_6 都是 $OCOCH_3$ 、H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

18. 如权利要求 13-15 任一项所述的方法，其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 IV 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触，使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制：

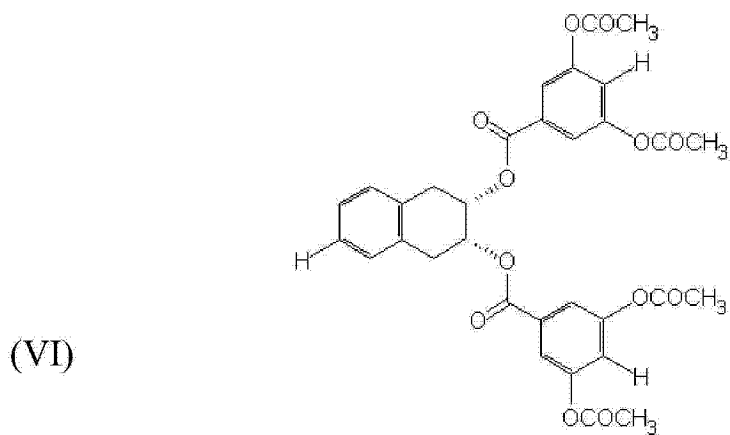


其中 R_3 和 R_6 都是 OH、 OCOCH_3 、 $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$ 、 NH_2 或 NHCOCCH_3 。

19. 如权利要求 13-15 任一项所述的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 V 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制:

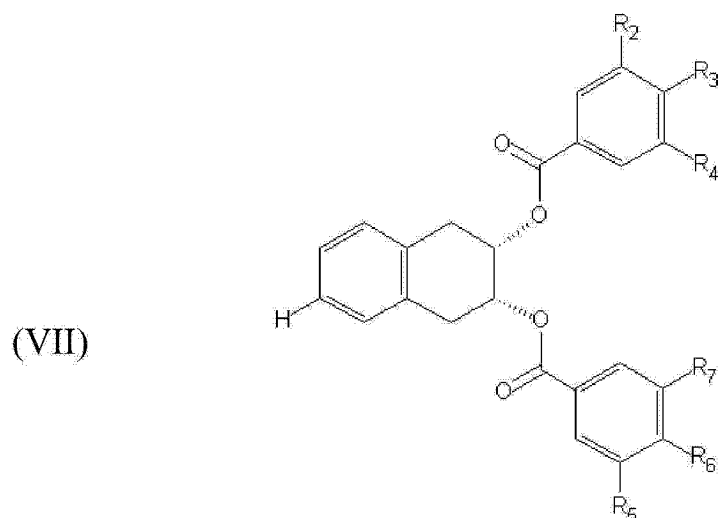


20. 如权利要求 13-15 任一项所述的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 VI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制:



21. 如权利要求 13-15 任一项所述的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式

VII 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制:



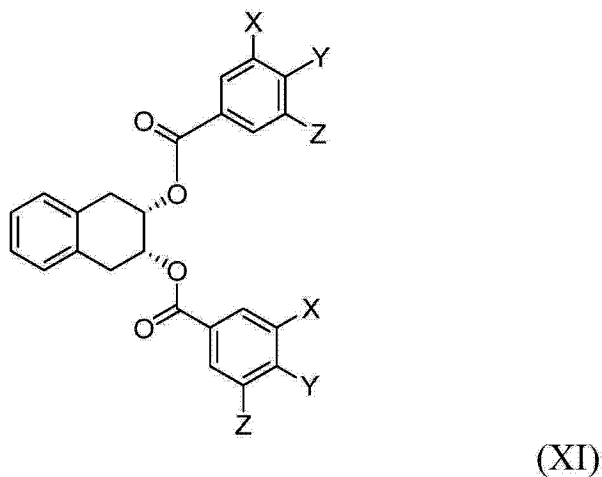
其中:

R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 是 F;或

R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 是 F,且 R_4 和 R_7 是 H;或

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 是 F,且 R_3 和 R_6 是 H。

22. 一种用于抑制细胞中蛋白酶体活性的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 XI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制:



其中 X、Y 和 Z 各自独立地是 H、Br、F、Cl、OH、Me、 NH_2 、OAc、NHAc 或 CF_3 。

23. 一种用于抑制细胞中蛋白酶体活性的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种如权利要求 1-11 任一项所述的化合物相接触;以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制。

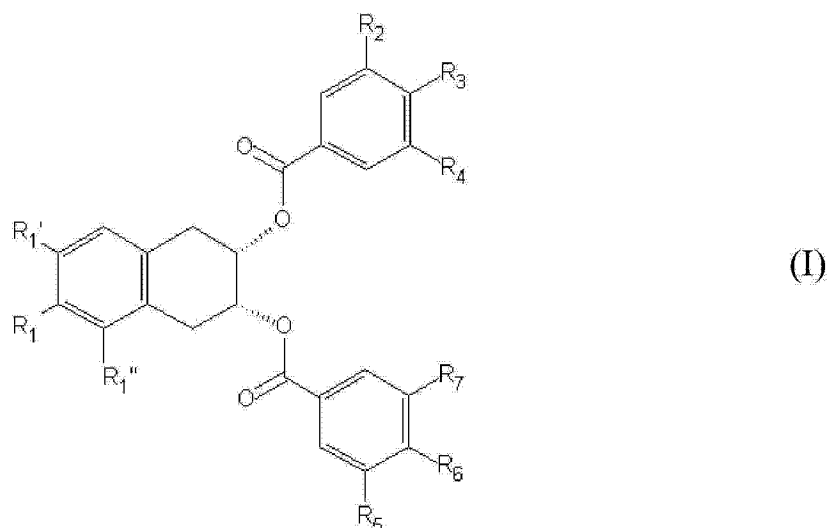
24. 一种用于抑制细胞中蛋白酶体活性的方法,其包括使细胞与有效量的如权利要求 12 所述的药物组合物相接触;以使细胞中的蛋白酶体活性受到抑制。

25. 根据权利要求 13-24 任一项所述的方法,其中所述蛋白酶体是 20S 蛋白酶体或 26S 蛋白酶体。

26. 根据权利要求 25 所述的方法,其中所述蛋白酶体是 20S 蛋白酶体并且 20S 蛋白酶

体的糜蛋白酶活性和 / 或糜蛋白酶样活性受到抑制。

27. 一种用于激活细胞中 AMPK 的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 I 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触;以使细胞中的 AMPK 活性被激活:



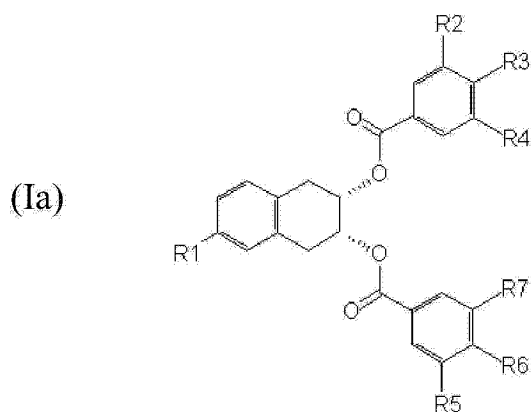
其中:

R_1 、 R_1' 和 R_1'' 各自独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基, 上述基团都可以是任选取代的;

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素;且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素, 其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

28. 如权利要求 27 所述的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 Ia 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的 AMPK 活性被激活:



其中:

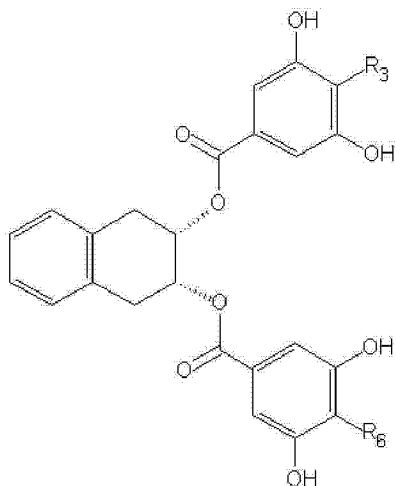
R_1 选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基, 上述基团都可以是任选取代的;

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素;且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素, 其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

29. 如权利要求 27 或 28 所述的方法, 其中 R_1 选自 H、卤素、OH 和酰氧基; R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素; 且 R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素; 或其类似物; 或其药学上可接受的盐。

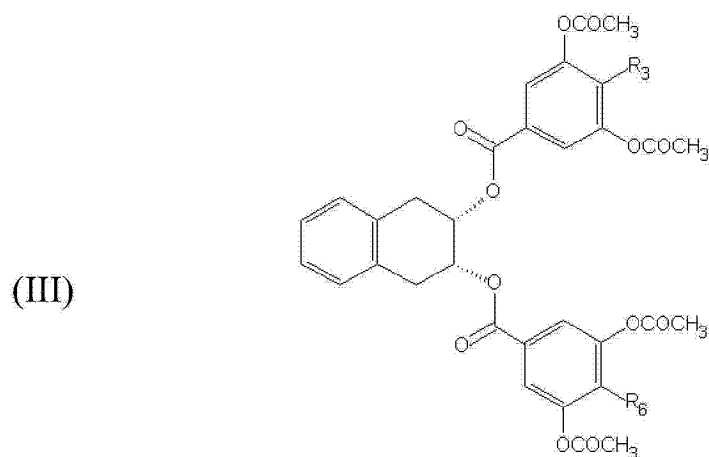
30. 如权利要求 27-29 任一项所述的方法, 其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 II 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触, 以使细胞中的 AMPK 活性被激活:



(II)

其中 R_3 和 R_6 都是 H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

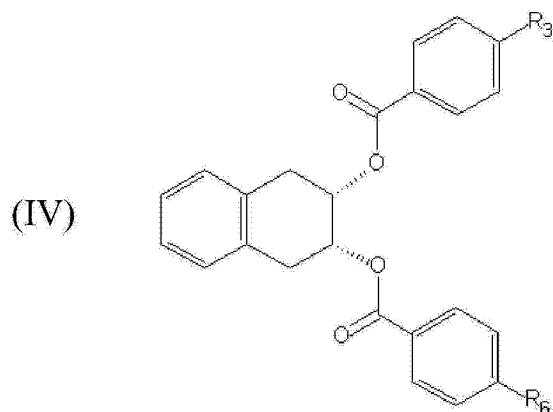
31. 如权利要求 27-29 任一项所述的方法, 其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 III 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触, 以使细胞中的 AMPK 活性被激活:



(III)

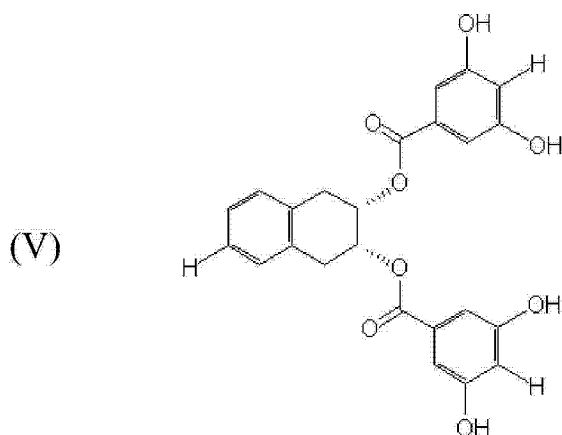
其中 R_3 和 R_6 都是 $OCOCH_3$ 、H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

32. 如权利要求 27-29 任一项所述的方法, 其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 IV 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触, 以使细胞中的 AMPK 活性被激活:

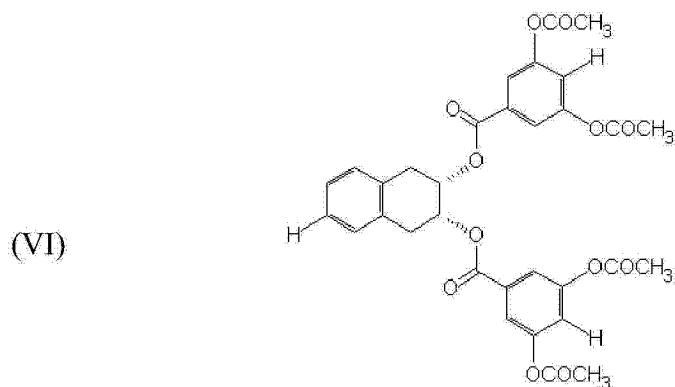


其中 R_3 和 R_6 都是 OH 、 $OCOCH_3$ 、 $NHCOOC(CH_3)_3$ 、 NH_2 或 $NHCOCH_3$ 。

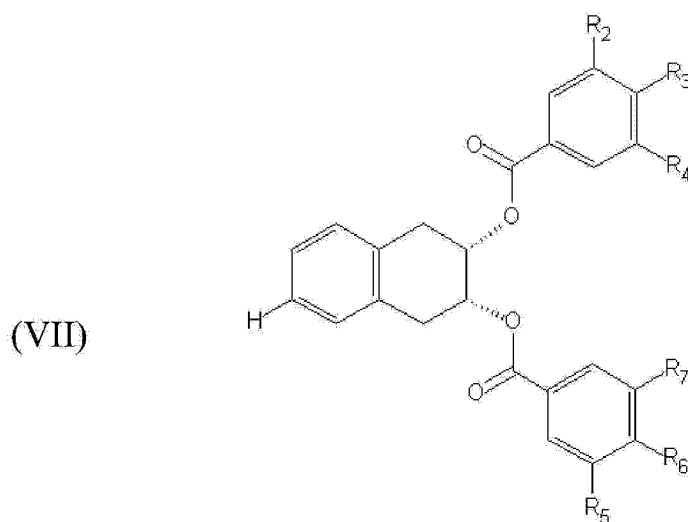
33. 如权利要求 27-29 任一项所述的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 V 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的 AMPK 活性被激活:



34. 如权利要求 27-29 任一项所述的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 VI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的 AMPK 活性被激活:



35. 如权利要求 27-29 任一项所述的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 VII 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触,以使细胞中的 AMPK 活性被激活:



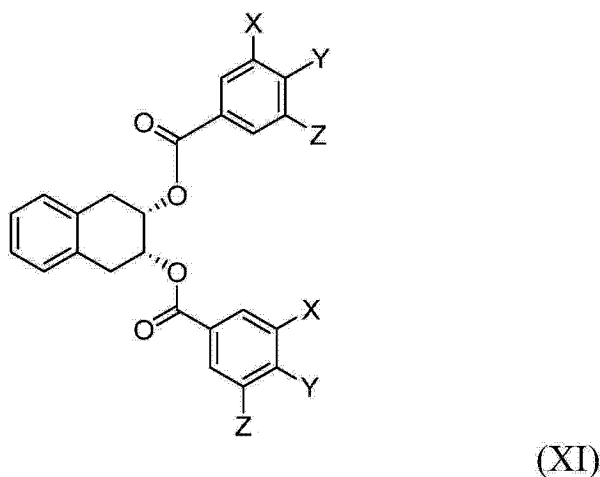
其中：

R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 是 F；或

R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 是 F，且 R_4 和 R_7 是 H；或

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 是 F，且 R_3 和 R_6 是 H。

36. 一种用于激活细胞中 AMPK 的方法，其包括使细胞与有效量的至少一种具有式 XI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐相接触，以使细胞中的 AMPK 活性被激活：



其中 X、Y 和 Z 各自独立地是 H、Br、F、Cl、OH、Me、NH₂、OAc、NHAc 或 CF₃。

37. 一种用于激活细胞中 AMPK 的方法，其包括使细胞与有效量的至少一种如权利要求 1-11 任一项所述的化合物相接触；以使细胞中的 AMPK 活性被激活。

38. 一种用于激活细胞中 AMPK 的方法，其包括使细胞与有效量的如权利要求 12 所述的药物组合物相接触；以使细胞中的 AMPK 活性被激活。

39. 一种用于激活细胞中 AMPK 的方法，其包括使细胞与有效量的具有选自表 1 所示结构、表 A 所示结构、方案 1 所示结构、方案 2 所示结构、方案 3 所示结构的化合物、其类似物和其药学上可接受的盐与细胞相接触；以使细胞中的 AMPK 活性被激活。

40. 根据权利要求 13-39 任一项所述的方法，其中减弱或抑制癌症干细胞群、表皮生长因子受体 (EGFR) 的活性或 NF- κ B、PI3K/Akt 和 / 或 mTOR 信号传导通路。

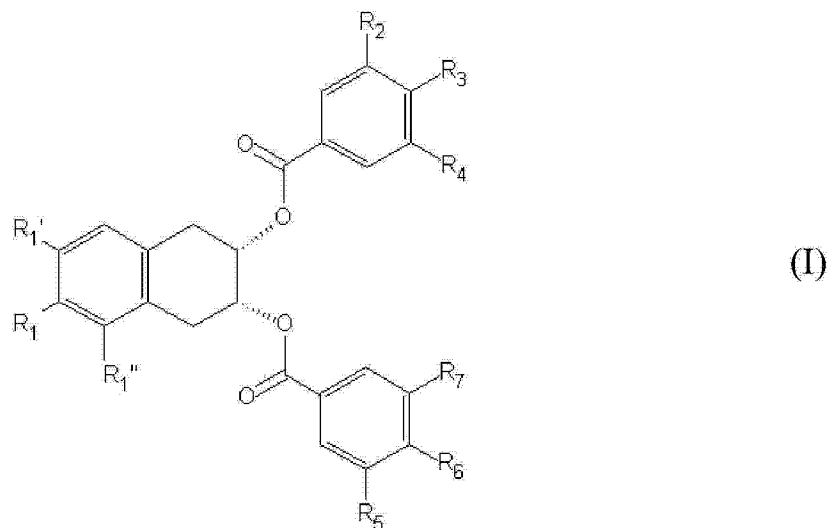
41. 根据权利要求 13-40 任一项所述的方法，其中减少 CD44^高/CD24^低 细胞群。

42. 根据权利要求 13-41 任一项所述的方法，其中所述接触发生在体外。

43. 根据权利要求 13-41 任一项所述的方法,其中所述接触发生在体内。

44. 根据权利要求 43 所述的方法,其中所述接触包括通过选自以下的途径对受试者施用至少一种的化合物或组合物:口服、肠胃外、皮下、静脉内、肌内、腹膜内、动脉内、经皮和粘膜施用。

45. 一种用于治疗受试者的癌症的方法,其包括对受试者施用治疗有效量的至少一种具有式 I 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐;以使受试者的癌症得到治疗:



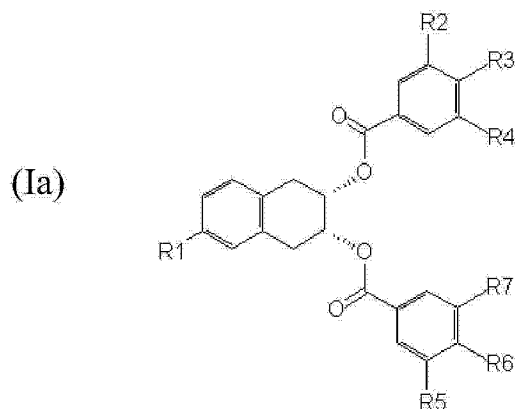
其中:

R_1 、 R_1' 和 R_1'' 各自独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基,上述基团都可以是任选取代的;

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素;且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素,其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

46. 如权利要求 45 所述的方法,其包括施用治疗有效量的至少一种具有式 Ia 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐:



其中:

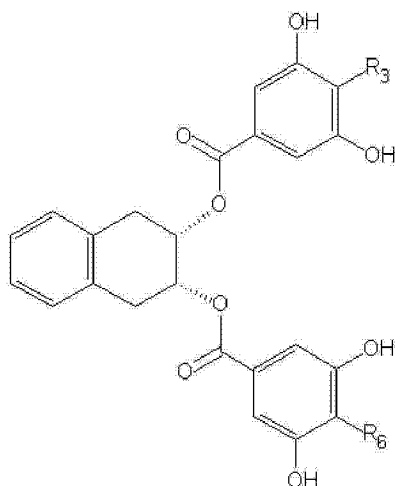
R_1 选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基,上述基团都可以是任选取代的;

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素，其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

47. 如权利要求 45 或 46 所述的方法，其中 R_1 选自 H、卤素、OH 和酰氧基； R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且 R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素；或其类似物；或其药学上可接受的盐。

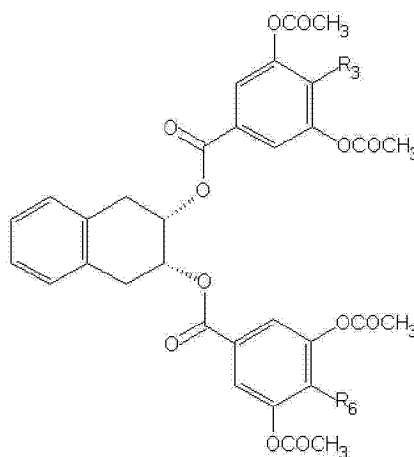
48. 如权利要求 45-47 任一项所述的方法，其包括施用治疗有效量的至少一种具有式 II 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐：



(II)

其中 R_3 和 R_6 都是 H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

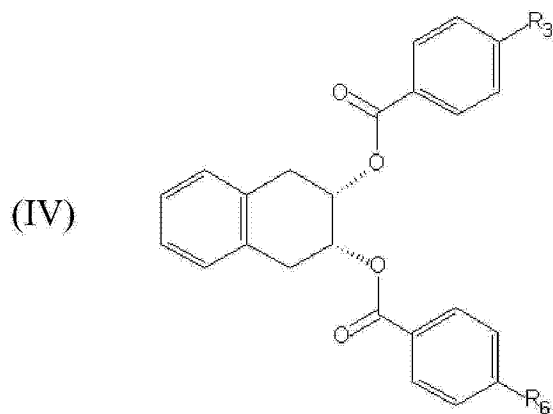
49. 如权利要求 45-47 任一项所述的方法，其包括施用治疗有效量的至少一种具有式 III 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐：



(III)

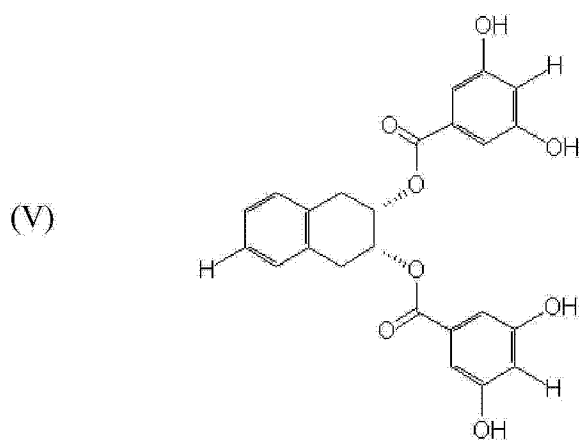
其中 R_3 和 R_6 都是 $OCOCH_3$ 、H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

50. 如权利要求 45-47 任一项所述的方法，其包括施用治疗有效量的至少一种具有式 IV 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐：

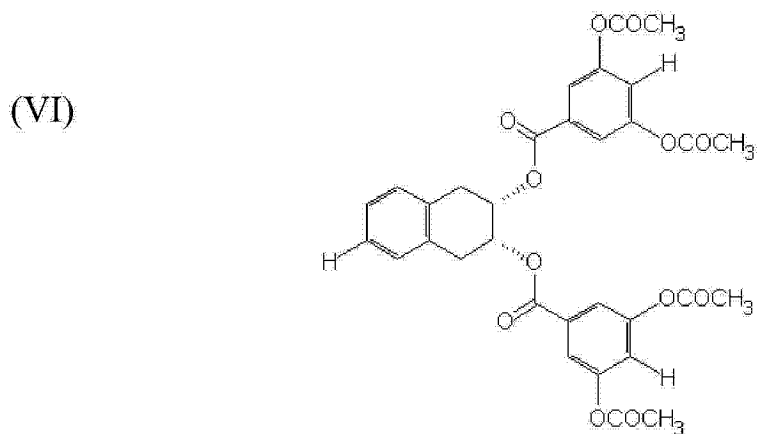


其中 R_3 和 R_6 都是 OH 、 OCOCH_3 、 $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$ 、 NH_2 或 $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$ 。

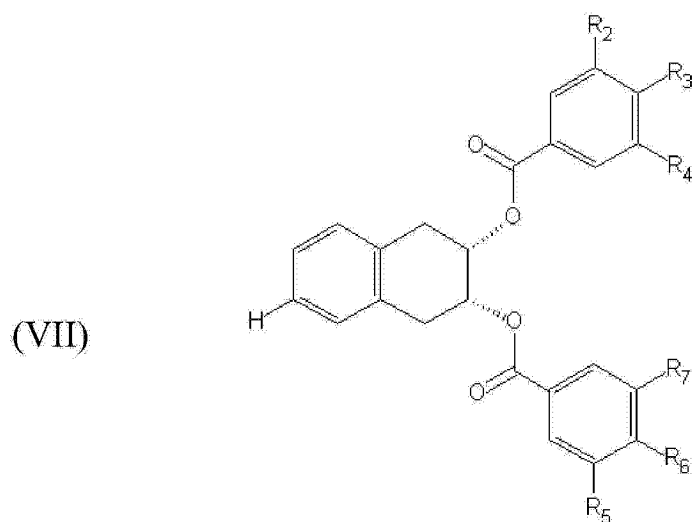
51. 如权利要求 45-47 任一项所述的方法,其包括施用治疗有效量的至少一种具有式 V 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐:



52. 如权利要求 45-47 任一项所述的方法,其包括施用治疗有效量的至少一种具有式 VI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐:



53. 如权利要求 45-47 任一项所述的方法,其包括施用治疗有效量的至少一种具有式 VII 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐:



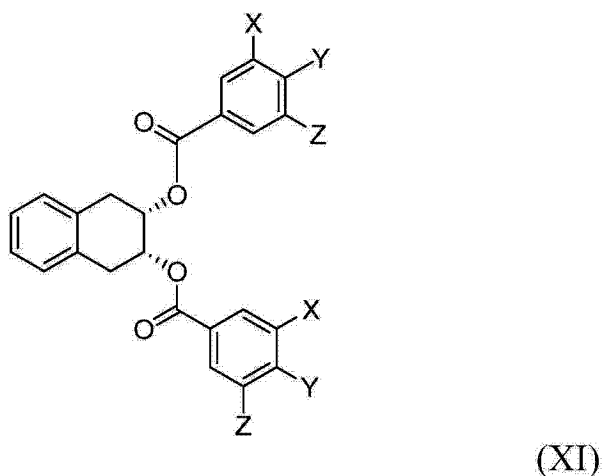
其中：

R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 是 F；或

R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 是 F，且 R_4 和 R_7 是 H；或

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 是 F，且 R_3 和 R_6 是 H。

54. 一种用于治疗受试者的癌症的方法，其包括施用治疗有效量的至少一种具有式 XI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐：



其中 X、Y 和 Z 各自独立地是 H、Br、F、Cl、OH、Me、NH₂、OAc、NHAc 或 CF₃。

55. 一种用于治疗受试者的癌症的方法，其包括施用治疗有效量的至少一种如权利要求 1-11 任一项所述的化合物。

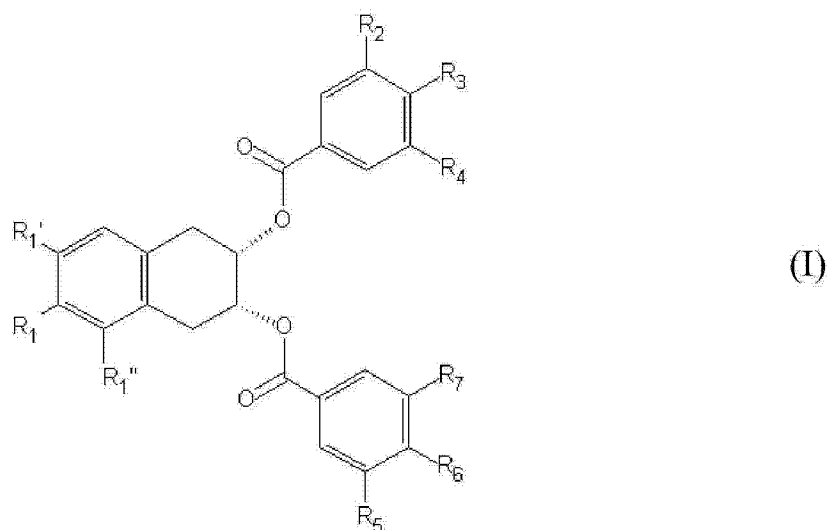
56. 一种用于治疗受试者的癌症的方法，其包括对受试者施用治疗有效量的如权利要求 14 所述的药物组合物。

57. 一种用于治疗受试者的癌症的方法，其包括施用治疗有效量的具有选自表 1 所示结构、表 A 所示结构、方案 1 所示结构、方案 2 所示结构、方案 3 所示结构的化合物、其类似物和其药学上可接受的盐。

58. 如权利要求 45-57 任一项所述的方法，其中受试者的癌症细胞生长受到抑制。

59. 如权利要求 45-58 任一项所述的方法，其中诱导受试者的癌症细胞凋亡，减少受试者的癌症干细胞群和 / 或减少受试者的 CD44 高 / CD24 低细胞群。

60. 如权利要求 45-59 任一项所述的方法,其中受试者的蛋白酶体活性受到抑制。
61. 如权利要求 45-60 任一项所述的方法,其中受试者的 AMPK 被激活。
62. 如权利要求 45-61 任一项所述的方法,其中降低或抑制受试者的癌症干细胞群、表皮生长因子受体 (EGFR) 的活性或 NF- κ B、PI3K/Akt 和 / 或 mTOR 信号传导通路。
63. 如权利要求 45-62 任一项所述的方法,其中减少 CD44 高 /CD24 低细胞群。
64. 如权利要求 45-63 任一项所述的方法,其中癌症选自前列腺癌、白血病、激素依赖性癌、乳腺癌、结肠癌、淋巴瘤、肺癌、上皮癌、肝癌、食道癌、胃癌、脑癌、肾癌和多发性骨髓瘤。
65. 如权利要求 45-63 任一项所述的方法,其中癌症是 TNBC。
66. 如权利要求 45-65 任一项所述的方法,其中通过口服、肠胃外、皮下、静脉内、肌肉内、腹膜内、动脉内、经皮或通过粘膜施用化合物或组合物。
67. 如权利要求 45-66 任一项所述的方法,其中受试者是人。
68. 如权利要求 45-67 任一项所述的方法,其中化合物或组合物与第二治疗剂联合施用。
69. 如权利要求 68 所述的方法,其中第二治疗剂是抗癌治疗剂、化疗剂、EGFR 抑制剂、AMPK 激活剂和 / 或蛋白酶体抑制剂。
70. 如权利要求 68 或 69 所述的方法,其中第二治疗剂选自泰素[™]、硼替佐米、卡非佐米、多西他赛、紫杉醇、卡巴他赛、长春碱、长春新碱、喜树碱拓扑替康、依托泊苷、替尼泊苷、环丁内酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、厄洛替尼和其类似物。
71. 如权利要求 68 或 69 所述的方法,其中第二治疗剂是硼替佐米 (万珂[™]) 或二甲双胍,或其类似物。
72. 如权利要求 68-71 任一项所述的方法,其中化合物或组合物与第二治疗剂共同施用。
73. 如权利要求 68-71 任一项所述的方法,其中化合物或组合物与第二治疗剂依次施用。
74. 一种用于治疗乳腺癌或多发性骨髓瘤的方法,其包括施用治疗有效量的至少一种如权利要求 1-11 任一项所述的化合物,以使乳腺癌或多发性骨髓瘤得到治疗。
75. 一种用于治疗乳腺癌或多发性骨髓瘤的方法,其包括对受试者施用治疗有效量的如权利要求 14 所述的药物组合物,以使乳腺癌或多发性骨髓瘤得到治疗。
76. 一种用于治疗乳腺癌或多发性骨髓瘤的方法,其包括施用治疗有效量的具有选自表 1、表 A、方案 1、方案 2、方案 3 所示结构的化合物、其类似物和其药学上可接受的盐,以使乳腺癌或多发性骨髓瘤得到治疗。
77. 如权利要求 74-76 任一项所述的方法,其中化合物或组合物与抗癌治疗剂、化疗剂或 EGFR 抑制剂联合施用。
78. 如权利要求 74-77 任一项所述的方法,其中化合物或组合物与硼替佐米 (万珂[™])、卡非佐米、二甲双胍、紫杉醇、卡巴他赛、多西他赛和 / 或厄洛替尼联合施用。
79. 一种用于治疗代谢紊乱的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 I 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使代谢紊乱得到治疗:



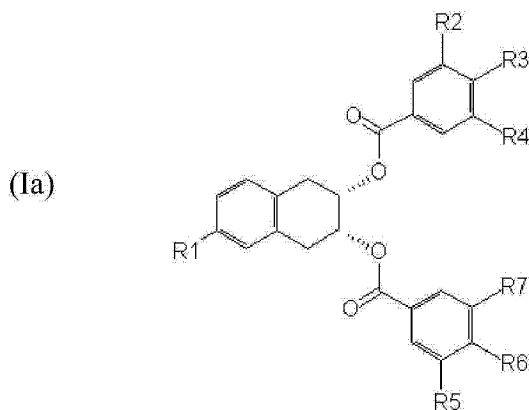
其中：

R_1 、 R_1' 和 R_1'' 各自独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基, 上述基团都可以是任选取代的；

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素, 其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

80. 如权利要求 79 所述的方法, 包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 Ia 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐, 以使代谢紊乱得到治疗；



其中：

R_1 选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基, 上述基团都可以是任选取代的；

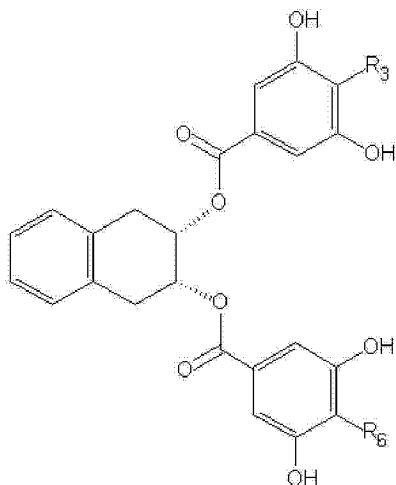
R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素, 其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

81. 如权利要求 79 或 80 所述的方法, 其中 R_1 选自 H、卤素、OH 和酰氧基； R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且 R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素；或其类似物；或其药学上可接受

的盐。

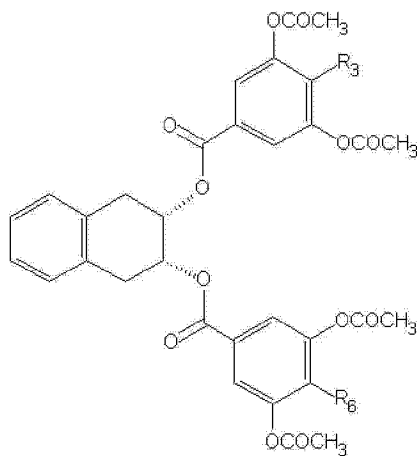
82. 如权利要求 79-81 任一项所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 II 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使代谢紊乱得到治疗:



(II)

其中 R_3 和 R_6 都是 H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

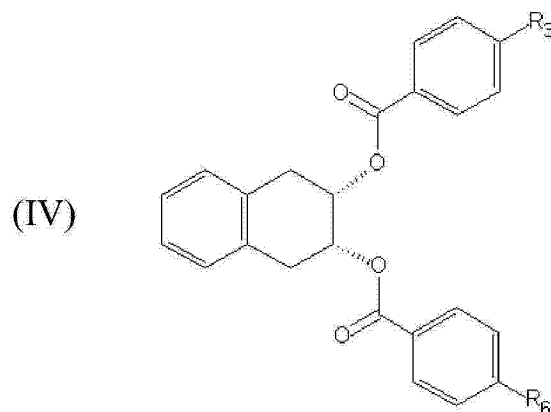
83. 如权利要求 79-81 任一项所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 III 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使代谢紊乱得到治疗:



(III)

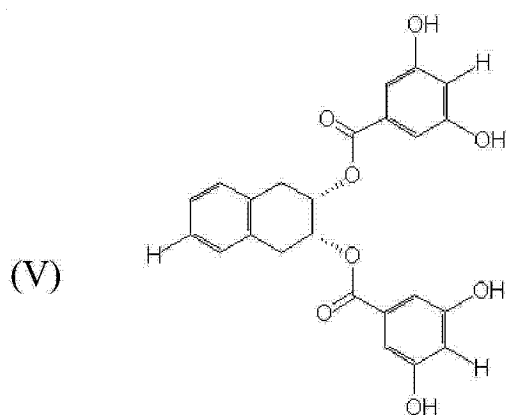
其中 R_3 和 R_6 都是 $OC(=O)CH_3$ 、H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

84. 如权利要求 79-81 任一项所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 IV 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使代谢紊乱得到治疗:

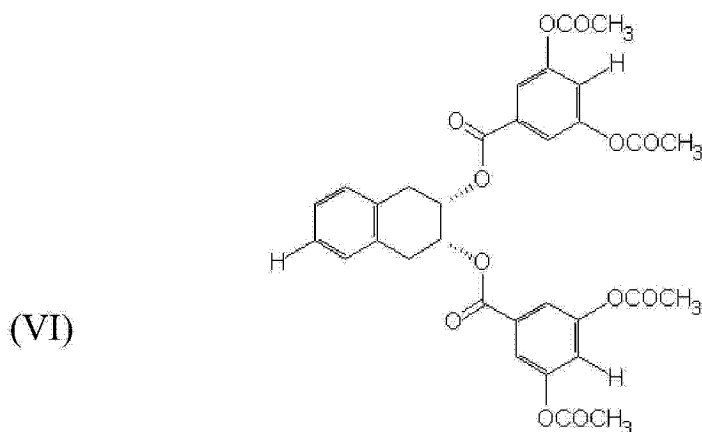


其中 R_3 和 R_6 都是 OH 、 OCOCH_3 、 $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$ 、 NH_2 或 NHCOCCH_3 。

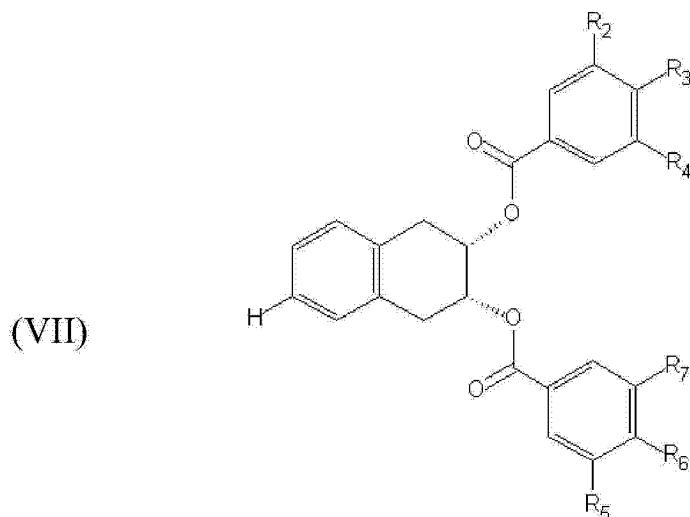
85. 如权利要求 79-81 任一项所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 V 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使代谢紊乱得到治疗:



86. 如权利要求 79-81 任一项所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 VI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使代谢紊乱得到治疗:



87. 如权利要求 79-81 任一项所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 VII 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使代谢紊乱得到治疗:



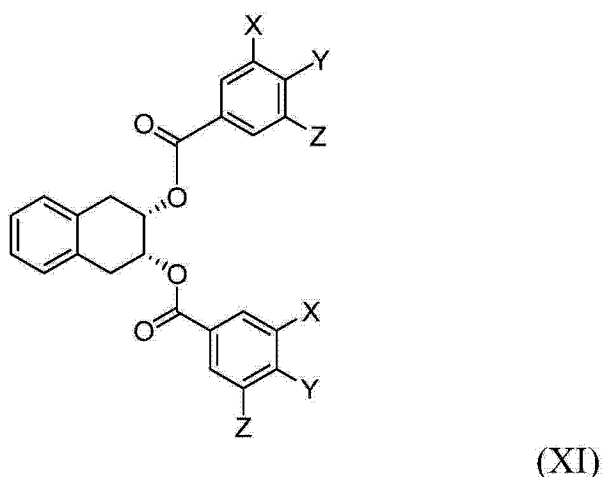
其中：

R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 是 F；或

R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 是 F，且 R_4 和 R_7 是 H；或

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 是 F，且 R_3 和 R_6 是 H。

88. 一种用于治疗代谢紊乱的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 XI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐，以使代谢紊乱得到治疗：



其中 X、Y 和 Z 各自独立地是 H、Br、F、Cl、OH、Me、NH₂、OAc、NHAc 或 CF₃。

89. 一种用于治疗代谢紊乱的方法，其包括施用治疗有效量的至少一种如权利要求 1-11 任一项所述的化合物；以使代谢紊乱得到治疗。

90. 一种用于治疗代谢紊乱的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的如权利要求 12 所述的药物组合物，以使代谢紊乱得到治疗。

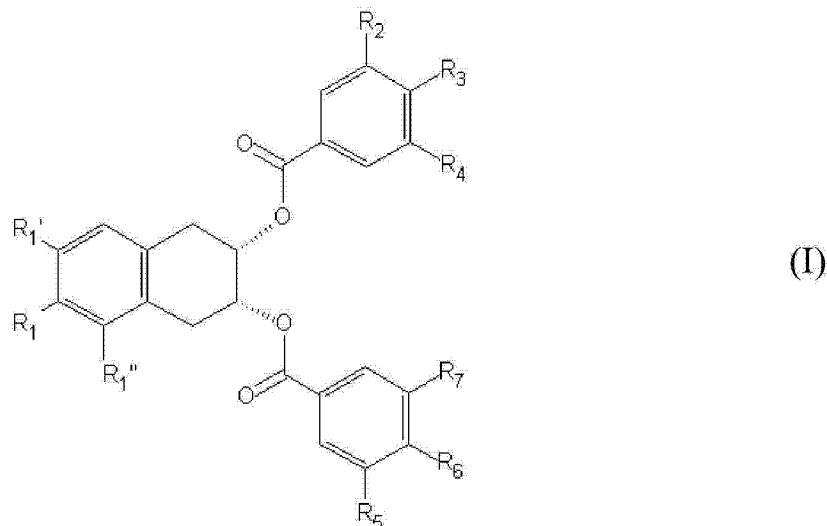
91. 一种用于治疗代谢紊乱的方法，其包括施用治疗有效量的具有选自表 1、表 A、方案 1、方案 2、方案 3 所示结构的化合物、其类似物和其药学上可接受的盐；以使代谢紊乱得到治疗。

92. 如权利要求 79-91 任一项所述的方法，其中代谢紊乱是代谢综合征、糖尿病前期、胰岛素抵抗、肥胖、血脂异常或 II 型糖尿病。

93. 如权利要求 79-92 任一项所述的方法，其中受试者的 AMPK 被激活。

94. 如权利要求 79-93 任一项所述的方法,其中改善受试者的葡萄糖稳态,调节受试者的葡萄糖代谢和 / 或调节受试者的脂质代谢。

95. 一种用于调节葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 I 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节:



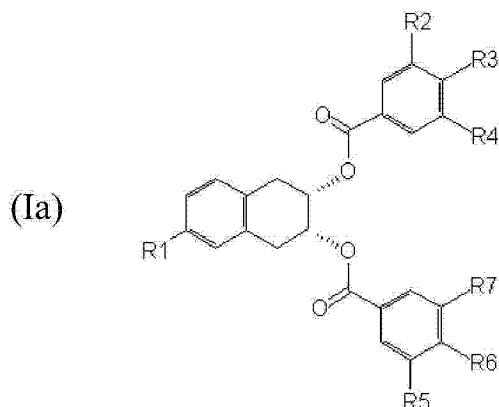
其中:

R_1 、 R_1' 和 R_1'' 各自独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基,上述基团都可以是任选取代的;

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素;且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8 或卤素,其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

96. 如权利要求 95 所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 Ia 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节:



其中:

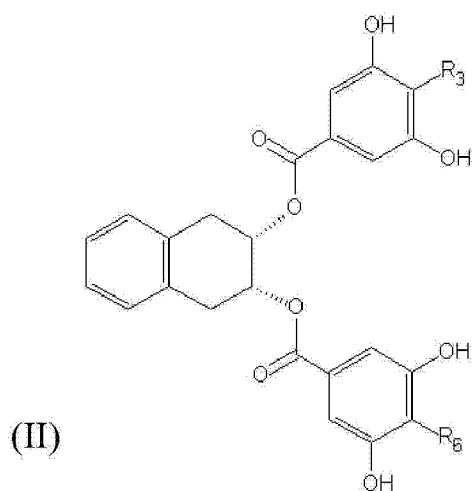
R_1 选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基,上述基团都可以是任选取代的;

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且

R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素，其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

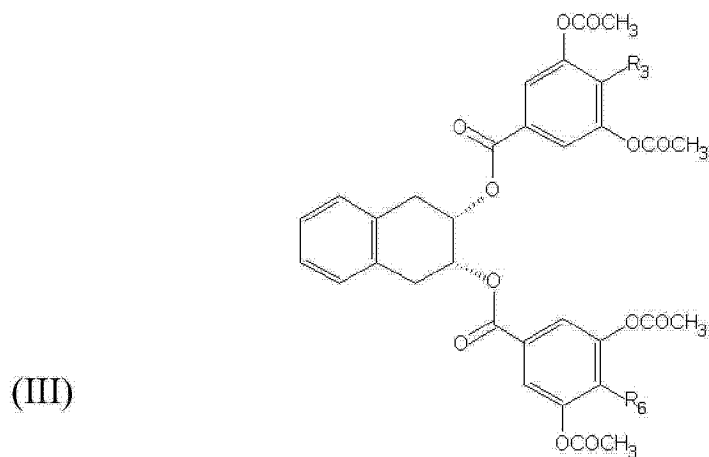
97. 如权利要求 95 或 96 所述的方法，其中 R_1 选自 H、卤素、OH 和酰氧基； R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且 R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素；或其类似物；或其药学上可接受的盐。

98. 如权利要求 95-97 任一项所述的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 II 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐，以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节：



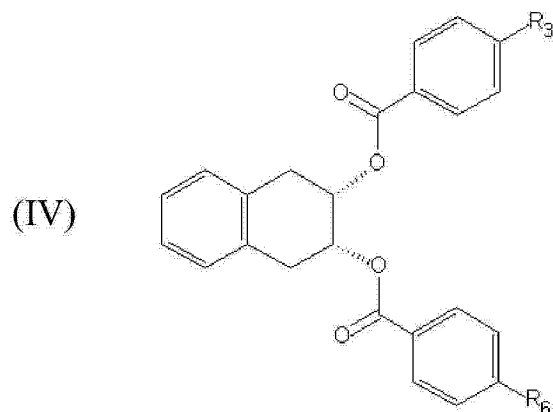
其中 R_3 和 R_6 都是 H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

99. 如权利要求 95-97 任一项所述的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 III 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐，以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节：



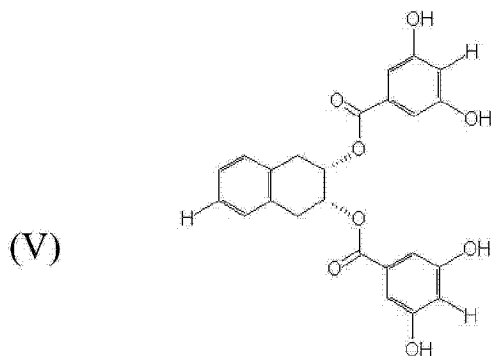
其中 R_3 和 R_6 都是 $OCOCH_3$ 、H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

100. 如权利要求 95-97 任一项所述的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 IV 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐，以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节：

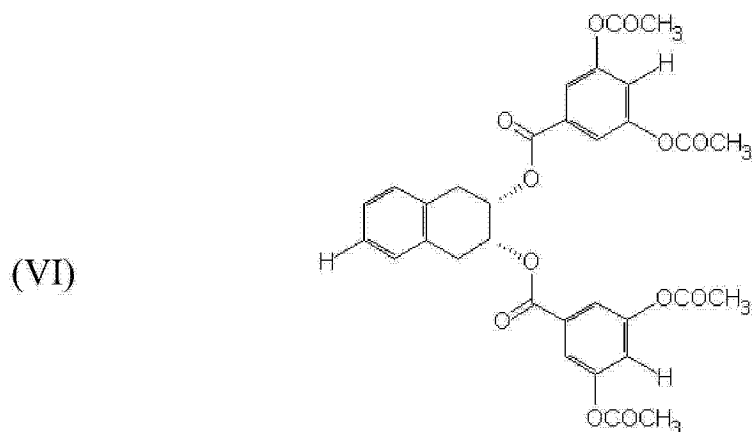


其中 R_3 和 R_6 都是 OH 、 OCOCH_3 、 $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$ 、 NH_2 或 NHCOCCH_3 。

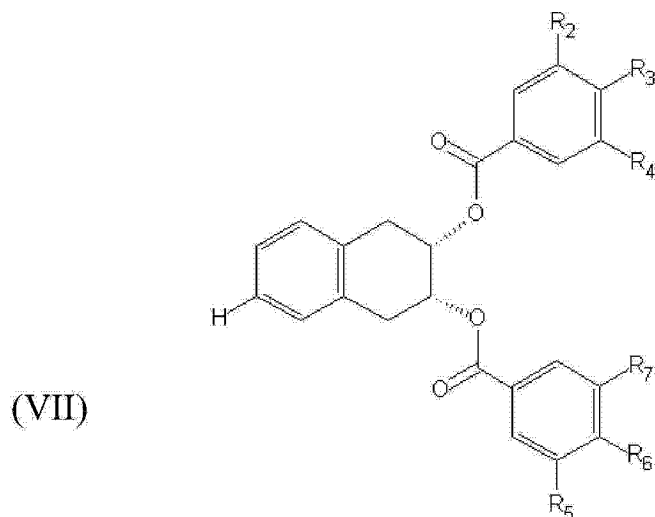
101. 如权利要求 95-97 任一项所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 V 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节:



102. 如权利要求 95-97 任一项所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 VI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节:



103. 如权利要求 95-97 任一项所述的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 VII 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐,以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节:



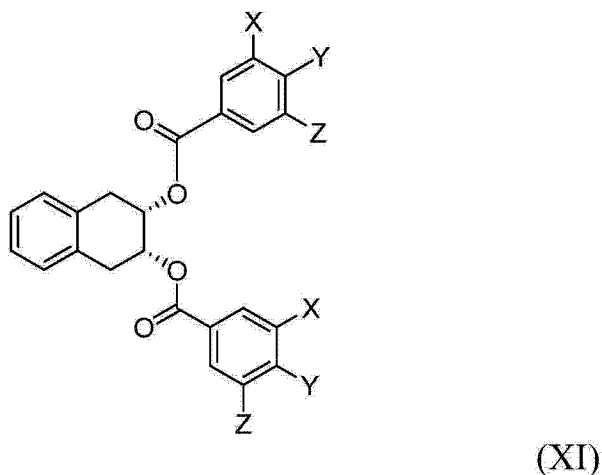
其中：

R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 是 F；或

R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 是 F，且 R_4 和 R_7 是 H；或

R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 是 F，且 R_3 和 R_6 是 H。

104. 一种用于调节葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 XI 结构的化合物或其类似物或其药学上可接受的盐，以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节：



其中 X、Y 和 Z 各自独立地是 H、Br、F、Cl、OH、Me、NH₂、OAc、NHAc 或 CF₃。

105. 一种用于调节葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢的方法，其包括施用治疗有效量的至少一种如权利要求 1-11 任一项所述的化合物；以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节。

106. 一种用于调节葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的如权利要求 12 所述的药物组合物，以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节。

107. 一种用于调节葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢的方法，其包括施用治疗有效量的具有选自表 1 所示结构、表 A 所示结构、方案 1 所示结构、方案 2 所示结构、方案 3 所示结构的化合物、其类似物和其药学上可接受的盐；以使葡萄糖代谢和 / 或脂质代谢得到调节。

108. 如权利要求 95-107 任一项所述的方法，其中受试者患有糖尿病前期、胰岛素抵

抗、肥胖、血脂异常或 II 型糖尿病。

109. 如权利要求 95-108 任一项所述的方法,其中受试者的 AMPK 被激活。

110. 如权利要求 79-109 任一项所述的方法,其中化合物或组合物与抗糖尿病治疗剂联合施用。

111. 一种用于增加疾病对蛋白酶体抑制剂的响应的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的至少一种如权利要求 1-11 任一项所述的化合物和蛋白酶体抑制剂。

112. 一种用于增加疾病对蛋白酶体抑制剂的响应的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的如权利要求 12 所述的药物组合物和蛋白酶体抑制剂。

113. 一种用于增加疾病对蛋白酶体抑制剂的响应的方法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的具有选自表 1 所示结构、表 A 所示结构、方案 1 所示结构、方案 2 所示结构、方案 3 所示结构的化合物、其类似物和其药学上可接受的盐,和蛋白酶体抑制剂。

114. 如权利要求 111-113 任一项所述的方法,其中蛋白酶体抑制剂选自硼替佐米和卡非佐米。

115. 如权利要求 111-114 任一项所述的方法,其中化合物或组合物与蛋白酶体抑制剂共同施用。

116. 如权利要求 111-115 任一项所述的方法,其中化合物或组合物与蛋白酶体抑制剂依次施用。

117. 如权利要求 13、27、45、79 或 95 所述的方法,当 R_1 、 R_1' 和 R_1'' 都是 H; R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时, R_3 和 R_6 不是 H 或 OH; 以及当 R_1 、 R_1' 和 R_1'' 都是 H; R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时, R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

118. 如权利要求 14、28、46、80 或 96 所述的方法,当 R_1 是 H; R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时, R_3 和 R_6 不是 H 或 OH; 以及当 R_1 是 H; R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时, R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

119. 如权利要求 16、30、48、82 或 98 所述的方法,其中 R_3 和 R_6 不是 H。

120. 如权利要求 17、31、49、83 或 99 所述的方法,其中 R_3 和 R_6 不是 OCOCH_3 或 H。

121. 如权利要求 22、36、54、88 或 104 所述的方法,当 X 和 Z 都是 OH 时, Y 不是 H 或 OH; 以及当 X 和 Z 都是 OAc 时, Y 不是 H 或 OAc。

合成的表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 类似物

技术领域

[0001] 本发明涉及包含表没食子儿茶素没食子酸酯类似物的新型化合物和组合物,特别是用作蛋白酶体抑制剂和 / 或 AMPK 激活剂以及用于治疗癌症。

背景技术

[0002] 泛素 - 蛋白酶体系统 (UPS) 负责高度调节在细胞功能中具有重要作用的胞内蛋白的降解 (Hershko A(2005)Cell Death Differ. 12, 1191)。靶向 UPS 的一种化合物是蛋白酶体抑制剂硼替佐米 (万珂™ (Velcade™)), 其在临床上用于治疗患有多发性骨髓瘤或套细胞淋巴瘤的患者。万珂™ 是 N- 取代的二肽基硼酸。另一种蛋白酶体抑制剂是环丁内酯 (salinosporamide), 其是通过官能化的 β 内酯表征的一种海洋天然产物 (Feling RH 等人, (2003)Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 42, 355)。另一种蛋白酶体抑制剂是表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 及其类似物 (US 7, 358, 383 B2 ;US 6, 713, 506 B2 ;US 2008/0015248 A1 ;W02006/017981 ;Landis-Piwowar KR 等人, (2007)Cancer Res. 67, 4303)。

[0003] 蛋白酶体是负责降解大多数细胞蛋白的大型多催化蛋白酶复合物。26S 蛋白酶体的 20S 核心颗粒是筒状超结构, 并且蛋白水解活性位点位于其内部。

[0004] 已知真核蛋白酶体具有的蛋白水解活性与其 β 亚基相关。例如, β 5 亚基与糜蛋白酶样蛋白水解活性 (疏水性残基后裂解) 相关; β 2 亚基表现出胰蛋白酶样活性 (碱性残基后裂解); 以及 β 1 亚基负责半胱天冬酶样 (caspase-like) 活性 (酸性残基后裂解)。这三种蛋白水解特性取决于 N- 末端苏氨酸 (Thr1) 残基的存在。Thr1 侧链的羟基基团负责通过亲核进攻催化底物肽的裂解。紧邻 N- 末端苏氨酸残基的结合口袋 (Binding pockets) 识别待降解的底物肽侧链并在每一个催化位点上赋予其底物特异性。 β 5 亚基的 S1 口袋通过疏水性残基 Ala20、Val31、Ile35、Met45、Ala49 和 Glu53 进行限定, 并且已表明该结合口袋对底物特异性和几种类型的蛋白酶体抑制剂的结合很重要 (Smith DM 等人, Proteins:Structure, Function, and Bioinformatics(2004)54, 58 ;Dou QP 等人, Inflammopharmacology(2008)16, 208)。

[0005] 儿茶酚-O- 甲基转移酶 (COMT) 是广泛分布于全身的酶 (Mannisto, P. T. 和 Kaakkola, S., Pharmacol Rev. (1999)51, 593)。某些内源性儿茶酚胺神经递质如多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素以及氨基酸 L-DOPA 还有儿茶酚雌激素都是 COMT 的底物。

[0006] COMT 也能够甲基化 (-)-EGCG 的一个或多个酚基 (Zhu, B. T. 等人, Drug Metab. Dispos. (2000)28, 1024 ;Meng, X. 等人, Chem. Res. Toxicol. (2002)15, 42)。在人类中, COMT 的单个基因编码可溶性 COMT (S-COMT) 和膜结合型 COMT (MB-COMT)。

[0007] 在密码子 108 (S-COMT) 或 158 (MB-COMT) 中的单核苷酸多态性 (G 到 A) 导致缬氨酸到甲硫氨酸 (Val 到 Met) 的取代, 导致产生 COMT 的高活性 (Val/Val [H/H])、中等活性 (Val/Met [H/L]) 或低活性 (Met/Met [L/L]) 形式 (Lachman, H. M. 等人, Pharmacogenetics. (1996)6, 243.)。高活性和低活性表达的基因, 其酶活性之间存在 3-4 倍的差异 (Weinshilboum, R. M. 等人, Annu Rev Pharmacol Toxicol. (1999)39, 19)。

[0008] 绿茶及其主要成分 EGCG 的抗癌和癌症预防作用在文献中有诸多记载,包括细胞培养物、动物、流行病学和临床研究。

[0009] 此外,近期对亚裔美国女性的乳腺癌的病例对照研究揭露饮用绿茶且还携带低活性 COMT 多态性的女性患乳腺癌的风险降低了 (Wu, A. H. 等人, *Cancer Res.* (2003) 63, 7526)。相比之下,在那些对于高活性 COMT 等位基因是纯合子的女性中,乳腺癌风险在饮茶者和非饮茶者之间没有差别。这些数据表明,EGCG 和其它茶多酚在甲基化时可能具有较小的癌症防护作用。

[0010] 据美国癌症协会 (American Cancer Society) 的统计,美国每年大约有 180,000 位女性被诊断出患有乳腺癌,其中大约 30,000 被归类为三阴性乳腺癌 (TNBC)。TNBC 是特殊亚型的乳腺癌,且 TNBC 细胞不表达雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 或 Her2/neu 的基因标记 (gene signatures)。TNBC 的临床特征是预后相对较差、攻击行为、转移率高并缺乏靶向疗法 (Miles 等人, *Breast Cancer Res.* (2009) 11, 208 ;Dent 等人, *Clin Cancer Res.* (2007) 13, 4429)。对于转移性 TNBC,其生存时间中值仅为 15 至 20 个月。TNBC 的分子特征包括:(i) 下调的 AMP 激活蛋白激酶 (AMPK) 信号传导通路;(ii) 富集的经 CD44^高/CD24^低和醛脱氢酶 1 (ALDH1) 阳性鉴定的癌症干细胞群,和 (iii) 上皮生长因子受体 (EGFR) 的过表达。TNBC 患者与非三阴性患者 (非 TNBC) 相比较,复发风险在 3 倍以上。

[0011] 针对伴有转移的 TNBC 患者只有有限的治疗选项,这是因为缺乏用于化疗的特异性靶点。用于 TNBC 患者的一线化疗包括多西他赛 (docetaxel) 和基于蒽环类的化疗 (例如多柔比星 (adriamycin)) (Carey 等人, *Clin Cancer Res.* (2007) 13, 2329)。虽然 TNBC 患者表现出对这些一线药物的敏感性,但与非 TNBC 患者相比,他们早期全身复发风险更大并且存活率更差,因为几乎 90% 的有进展期疾病 (advanced disease) 的患者会对这些药物产生原发性和获得性耐药性 (Brown 等人, *Breast Cancer Res.* (2004) 6, R601 ;Longley 和 Johnston J. *Pathol.* (2005) 205, 275)。TNBC 中较高的癌症干细胞群可能是导致在这种侵袭性乳腺癌亚型中观察到的临床现象的原因。因此,能够靶向癌症干细胞的治疗代表有前景的治疗 TNBC 患者的策略。

[0012] 二甲双胍,一种抗 II 型糖尿病药物和 AMPK 激活剂,通过激活 AMPK 通路显示了独特的抗 TNBC 作用 (Liu 等人, *Cell Cycle* (2009) 8, 2031)。二甲双胍抑制细胞增殖和菌落形成并在体内和体外选择性地诱导 TNBC 细胞系的细胞凋亡 (Liu 等人, *Cell Cycle* (2009) 8, 2031 ;Nalwoga 等人, *Br. J. Cancer* (2010) 102, 369)。在分子水平上,二甲双胍增加了磷酸化的 / 活性 AMPK (p-AMPK)、减少了 p-EGFR,并诱导 TNBC 细胞的凋亡 (Liu 等人, *Cell Cycle* (2009) 8, 2031)。还有报道指出,二甲双胍选择性地靶向癌症干细胞,并与化疗一起用于抑制由 TNBC 细胞系产生的异种移植物的肿瘤生长 (Hirsch 等人, *Cancer Res.* (2009) 69, 7507)。

[0013] 另据报道,除了二甲双胍,天然化合物 EGCG 和姜黄素可以通过激活 AMPK 通路诱导人结肠癌细胞的凋亡细胞死亡 (Lee 等人, *Ann NY Acad. Sci.* (2009) 1171, 489 ;Park 等人, *FASEB J.* (2010) 24 (Meeting Abstract Supplement), 1b260)。然而,由于代谢转化导致的 EGCG 的低吸收率、不稳定性和短半衰期降低了其生物利用度,从而限制了绿茶多酚的临床使用。(–)–EGCG 的羟基通过生物转化反应 (包括甲基化、葡萄糖醛酸化和硫酸化) 被修饰,导致体内生物活性降低。因此需要具有改进的体内生物利用度的化学结构被修饰的茶多

酚。

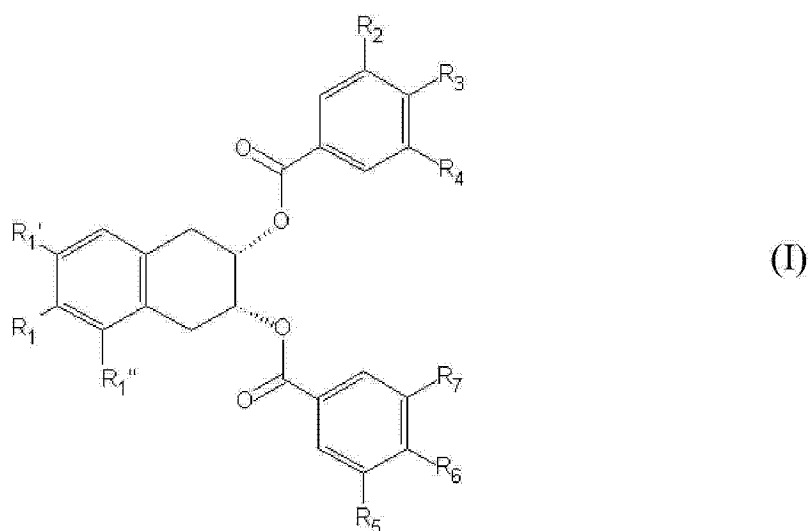
[0014] 需要提供能够克服如现有技术中所述的问题中的至少一个但优选多个的(-)-EGCG 的类似物。与(-)-EGCG 和现有技术中的其它多酚相比,期望例如通过 COMT 的甲基化提供能够克服(-)-EGCG 在癌症治疗中的局限性的化合物,以及提供抑制蛋白酶体、激活 AMPK、抑制癌细胞增殖、诱导细胞凋亡和 / 或不易失活的多酚。

发明内容

[0015] 提供了用于治疗癌症、抑制细胞中蛋白酶体活性和 / 或激活细胞中 AMPK 的新型化合物和组合物及其使用方法。

[0016] 根据本发明的一个实施方式,提供了式 I 化合物及其类似物以及其药学上可接受的盐:

[0017]



[0018] 其中:

[0019] R_1 、 R_1' 和 R_1'' 各自独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基, 上述基团都可以是任选取代的;

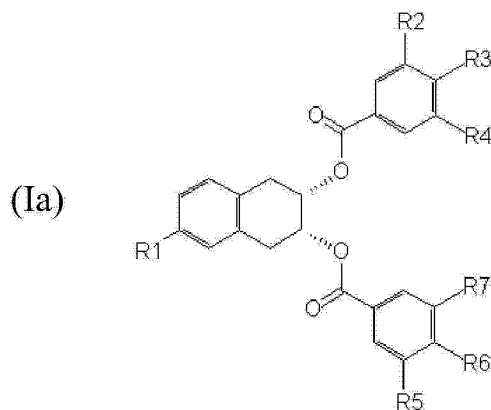
[0020] R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素; 且

[0021] R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素, 其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

[0022] 在式 I 化合物的一个实施方式中, 当 R_1 、 R_1' 和 R_1'' 都是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时, R_3 和 R_6 不是 H 或 OH; 以及当 R_1 、 R_1' 和 R_1'' 都是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时, R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

[0023] 根据本发明的另一个实施方式, 提供了式 Ia 化合物及其类似物以及其药学上可接受的盐:

[0024]



[0025] 其中：

[0026] R_1 选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8R_9 ，其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基，上述基团都可以是任选取代的；

[0027] R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且

[0028] R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素，其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

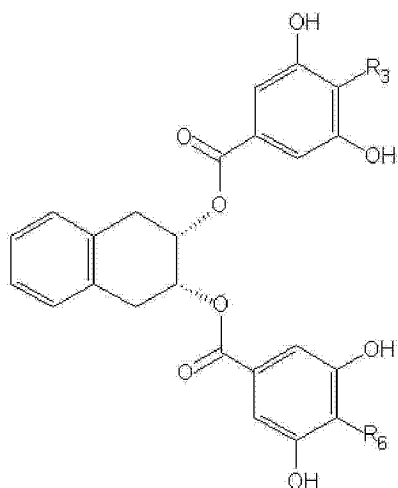
[0029] 在式 Ia 化合物的一个实施方式中，当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时， R_3 和 R_6 不是 H 或 OH；以及当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时， R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

[0030] 在本发明的另一个实施方式中，提供了式 I 或式 Ia 化合物及其类似物以及其药学上可接受的盐，其中 R_1 选自 H、卤素、OH 和酰氧基； R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且 R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素。

[0031] 在式 I 或式 Ia 化合物的另一个实施方式中，当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时， R_3 和 R_6 不是 H 或 OH；以及当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时， R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

[0032] 根据本发明的另一个实施方式，提供了具有式 II 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐：

[0033]



(II)

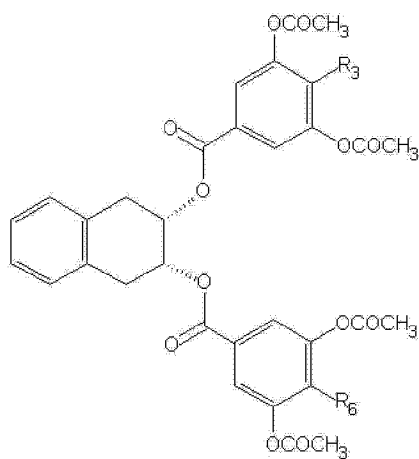
[0034] 其中 R_3 和 R_6 都是 H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

[0035] 在式 II 化合物的一个实施方式中, R_3 和 R_6 不是 H。

[0036] 根据本发明的又一个实施方式, 提供了具有式 III 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐:

[0037]

(III)

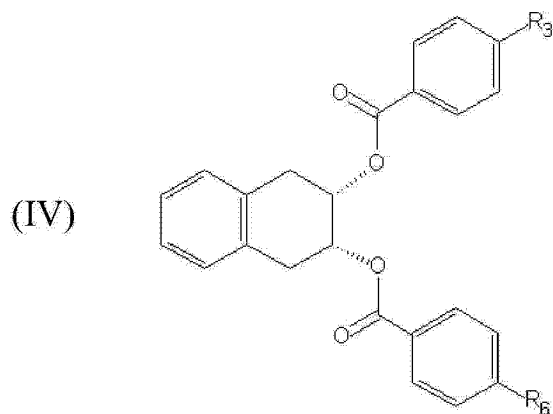


[0038] 其中 R_3 和 R_6 都是 $OCOCH_3$ 、H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

[0039] 在式 III 化合物的一个实施方式中, R_3 和 R_6 不是 $OCOCH_3$ 或 H。

[0040] 根据本发明的又一个实施方式, 提供了具有式 IV 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐:

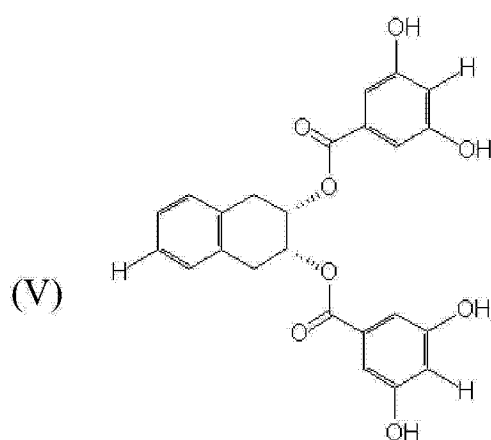
[0041]



[0042] 其中 R_3 和 R_6 都是 OH、 OCOCH_3 、 $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$ 、 NH_2 或 $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$ 。

[0043] 在本发明的另一个实施方式中,提供了具有式 V 结构的化合物:

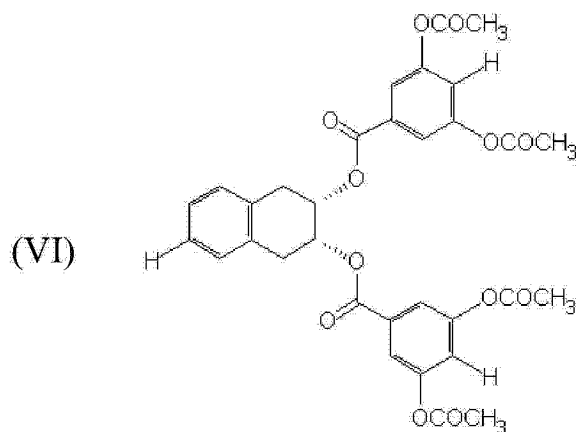
[0044]



[0045] 或其类似物;以及其药学上可接受的盐。

[0046] 在本发明的另一个实施方式中,提供了具有式 VI 结构的化合物:

[0047]

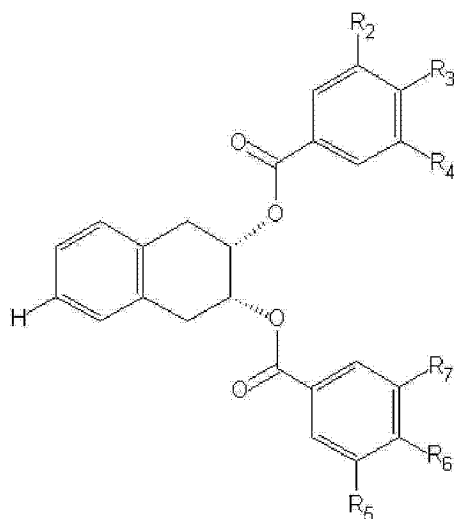


[0048] 或其类似物;以及其药学上可接受的盐。

[0049] 在本发明的另一个实施方式中,提供了具有式 VII 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐:

[0050]

(VII)



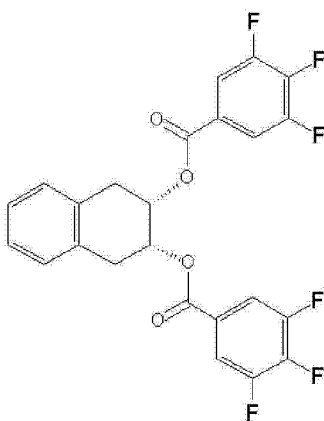
[0051] 其中：

[0052] R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 是 F；或[0053] R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 是 F，且 R_4 和 R_7 是 H；或[0054] R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 是 F，且 R_3 和 R_6 是 H。

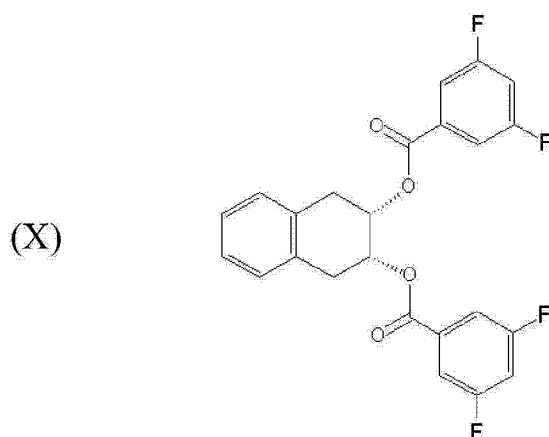
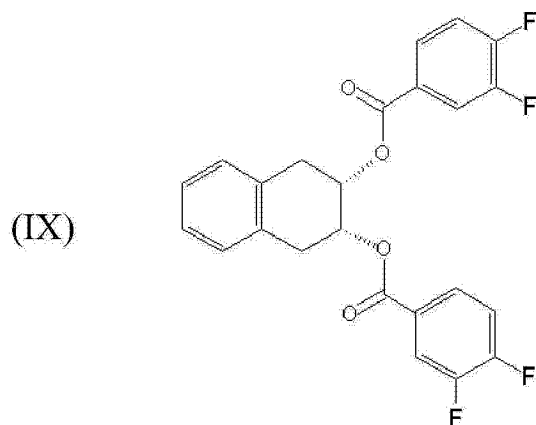
[0055] 在本发明的另一个实施方式中，提供了具有式 VIII、式 IX 和式 X 结构的化合物：

[0056]

(VIII)



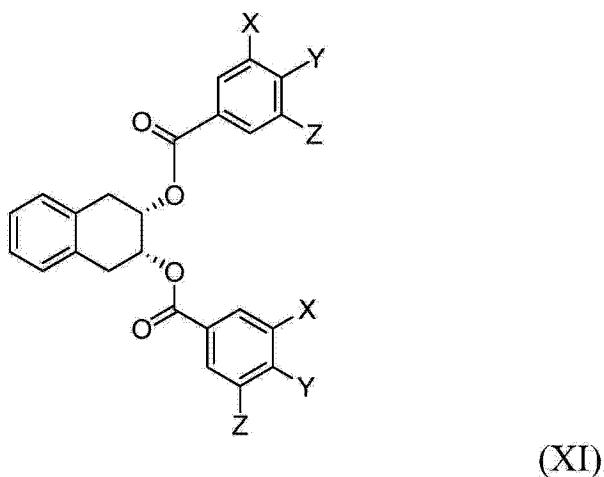
[0057]



[0058] 或其类似物；以及其药学上可接受的盐。

[0059] 在本发明的另一个实施方式中，提供了具有式 XI 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐：

[0060]



[0061] 其中 X、Y 和 Z 各自独立地是 H、Br、F、Cl、OH、Me、NH₂、OAc、NHAc 或 CF₃。

[0062] 在式 XI 化合物的一个实施方式中，当 X 和 Z 都是 OH 时，Y 不是 H 或 OH；以及当 X 和 Z 都是 OAc 时，Y 不是 H 或 OAc。

[0063] 在一个具体实施方式中，在式 XI 化合物中，X 和 Z 是相同的。

[0064] 在一个实施方式中，提供了表 A 中给出的式 XI 化合物。

[0065] 在另一个实施方式中,提供了具有本文所述的结构例如表1、表A、方案1、方案2和方案3中所示的结构的化合物及其类似物和药学上可接受的盐。在一个实施方式中,本发明的化合物是茶多酚的类似物。

[0066] 在一个实施方式中,提供了具有本文所述的结构例如表1和表A中所示的结构的化合物及其类似物和药学上可接受的盐,其中所述化合物不是化合物5、6、7、8、16、17、21或22。

[0067] 在另一个实施方式中,提供了包含至少一种如本文所提供的化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。在一个实施方式中,所述药物组合物还包含至少一种另外的活性成分或治疗剂。例如,该药物组合物还可以包含第二作用剂,该第二作用剂可以是抗癌治疗剂、化疗剂、EGFR抑制剂或蛋白酶体抑制剂如硼替佐米(bortezomib, 万珂™)、卡非佐米(carfilzomib)、多西他赛(docetaxel)、紫杉醇(paclitaxel)、卡巴他赛(cabazitaxel)或其类似物。第二作用剂的其它非限制性实例包括泰素™(Taxol™)、长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、喜树碱拓扑替康(camptothecin toptecan)、依托泊苷(etoposid)、替尼泊苷(teniposide)、环丁内酯、表没食子儿茶素没食子酸酯和/或厄洛替尼(erlotinib)。在另一个实施方式中,所述药物组合物可以包含二甲双胍。

[0068] 本文还提供了用于抑制细胞中蛋白酶体活性和/或激活细胞中AMPK的方法,其包括使细胞与有效量的至少一种本发明的化合物或药物组合物接触,以使细胞中的蛋白酶体活性被抑制和/或AMPK被激活。接触可以在体外或体内进行。化合物和组合物可以通过多种途径,如口服、肠胃外、皮下、静脉内、肌内、腹膜内、动脉内、经皮和通过粘膜施用进行施用。在一个方面,蛋白酶体可以是20S蛋白酶体或26S蛋白酶体。在另一个方面,抑制20S蛋白酶体的糜蛋白酶活性和/或糜蛋白酶样活性。

[0069] 本文进一步提供了用于治疗受试者(例如人)的癌症的方法,其包括对受试者施用治疗有效量的至少一种本发明的化合物或组合物。在一个方面,抑制受试者的癌细胞生长,诱导受试者的癌细胞凋亡,激活受试者的AMPK和/或抑制受试者的蛋白酶体活性。在另一个方面,降低或抑制受试者的癌症干细胞群、表皮生长因子受体(EGFR)的活性或NF-κB、PI3K、Akt和/或mTOR信号传导通路。在又一个方面,减少CD44^高/CD24^低细胞群。在另一个方面,本发明的化合物和组合物减少了例如TNBC细胞中的CD44^高/CD24^低细胞群。

[0070] 癌症可以是例如前列腺癌、白血病、淋巴瘤、激素依赖性癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌、上皮癌、肝癌、食道癌、胃癌、脑癌、多发性骨髓瘤(multiple myeloma)和/或肾癌。在一个具体实施方式中,所述癌症是乳腺癌,例如TNBC。在另一个实施方式中,所述癌症是多发性骨髓瘤。

[0071] 在另一个实施方式中,提供了一种用于治疗受试者(例如人)的代谢紊乱的方法,其包括对受试者施用治疗有效量的至少一种本发明的化合物或组合物。代谢紊乱可以是例如代谢综合征、糖尿病前期、胰岛素抵抗、肥胖、血脂异常或II型糖尿病。在一个实施方式中,通过AMPK激活治疗受试者的代谢紊乱。在一个实施方式中,改善受试者的葡萄糖稳态,调节受试者的葡萄糖代谢和/或调节受试者的脂质代谢。还提供了用于调节葡萄糖代谢和/或脂质代谢的方法,其包括对有需要的受试者(例如患有糖尿病前期、胰岛素抵抗、肥胖、血脂异常或II型糖尿病的受试者)施用治疗有效量的至少一种化合物或组合物。

[0072] 在另一个实施方式中,本文提供了用于提高疾病对蛋白酶体抑制剂的响应的方

法,其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的至少一种本发明的化合物或组合物以及蛋白酶体抑制剂。蛋白酶体抑制剂的非限制性实例包括硼替佐米和卡非佐米。在一个实施方式中,共同施用本发明的化合物或组合物与蛋白酶体抑制剂。在另一个实施方式中,依次施用本发明的化合物或组合物以及蛋白酶体抑制剂。

[0073] 还提供了用于合成本文所述的化合物的方法。在一个方面,使二氢萘与四氧化锇反应,再利用两当量或更多当量的取代的保护的芳基苯甲酸和脱水剂进行酰化,在催化剂的存在下除去苄氧基保护基,以及任选地使化合物与酰化剂反应。

[0074] 附图的简要说明

[0075] 现借助于实施例并参照附图对本发明的具体实施方式说明,其中:

[0076] 图 1 示出了 (-)-EGCG、(+)-EGCG、(-)-EGC 和 Pro-EGCG 的结构。环的命名法用于整个说明书。

[0077] 图 2 示出了 (-)-EGCG 及其类似物的蛋白酶体抑制作用。使纯化的 20S 蛋白酶体与所示浓度的化合物 5、7、16 或 21 一起孵育 (A) 或使 MDA-MB-231 细胞提取物 (5.7 μ g) 与所示浓度的化合物 6、8、17 或 22 一起孵育 (B) 2 小时,之后测量蛋白酶体糜蛋白酶样活性。使用 EGCG 作为对照标准。

[0078] 图 3 示出了 EGCG 和 EGCG 类似物对细胞蛋白酶体的抑制作用。(A) 使 MDA-MB-231 细胞提取物 (5.7 μ g) 与不同浓度的化合物 5 或 7 或 EGCG 一起孵育 2 小时,之后进行蛋白酶体糜蛋白酶样活性测定。用 EGCG 作为对照。(B) 将 MDA-MB-231 细胞提取物 (5.7 μ g) 用 10 μ M DNC 预处理 20 分钟,之后与化合物 5 或 7 或 EGCG 共同孵育 2h。测量蛋白酶体糜蛋白酶样活性。

[0079] 图 4 示出了 EGCG 类似物对细胞增殖的抑制作用。将人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞用 25 或 50 μ M EGCG 类似物处理 24 小时,之后进行 MTT 测定。使用 Pro-EGCG 作为对照。

[0080] 图 5 示出了 DNC 对 EGCG 类似物抗细胞增殖有效性的影响。在不存在或存在 10 μ M DNC 的情况下,将具有高 COMT 活性的人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞用 50 μ M EGCG 类似物处理 24 小时,之后进行 MTT 测定。使用 Pro-EGCG 作为对照。

[0081] 图 6 示出了 MDA-MB-231 细胞与类似物 6、8 和 Pro-EGCG 接触时蛋白酶体底物的积累。MDA-MB-231 细胞用 50 μ M EGCG 类似物处理 22 小时。使用抗泛素化蛋白和肌动蛋白的抗体对提取的蛋白质进行蛋白质免疫印迹分析 (Western blotting analysis)。

[0082] 图 7 示出了化合物 5、7 和 23 对人多发性骨髓瘤 ARP 细胞 (A) 或 OPM1 细胞 (B) 的作用。将细胞用万珂™ 单独处理或用 20 μ M 的化合物 5、7 和 23 单独或与不同剂量的万珂™ 联合处理 48 小时,之后进行 MTT 测定。

[0083] 图 8 示出了在与图 7A 相同的实验中在 96 孔板中 MTT 测定的颜色变化。深紫色表示全部为活细胞;浅紫色表示减少数量的活细胞;以及微黄色表示没有活细胞。

[0084] 图 9 示出了 EGCG 类似物 23 和 30 可以激活 AMPK 信号传导通路,使 MDA-MB-231 细胞对多西他赛和厄洛替尼 (EGFR 抑制剂) 敏感并诱导凋亡细胞死亡。在图 9A 中,将人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞用 20 μ M 的 EGCG、Pro-EGCG 和 EGCG 类似物 (化合物 5、7、23、30 和 31) 或 10mM 的二甲双胍处理 3 小时。使用抗 -AMPK、p-AMPK、PARP、p-EGFR、EGFR 或 β -肌动蛋白的抗体通过蛋白质免疫印迹法对细胞裂解物进行分析。在图 9B 中,将人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞用 20 μ M 的 EGCG 类似物 23 和 30、10nM 的多西他赛单独处理或用化合物 23 和 30 加上

多西他赛联合处理 24 小时。使用抗 -AMPK、p-AMPK、PARP、p-EGFR、EGFR 或 β -肌动蛋白的抗体通过蛋白质免疫印迹法对细胞裂解物进行分析。在图 9C 中,将细胞在单独含有 20 μ M 的 23、30、2.5 μ M 的厄洛替尼 (Eb) 或含有如所示的组合的培养基 (无 FBS 的 0.1%BSA) 中孵育 24 小时。使用抗 AMPK、p-AMPK、PARP、p-EGFR、EGFR 或 β -肌动蛋白的抗体通过蛋白质免疫印迹法对细胞裂解物进行分析。

[0085] 图 10 示出了 EGCG 类似物 23 和 30 能够有效减少 TNBC 细胞中的 CD44⁺/CD24⁻ 细胞群。将 MDA-MB-231 细胞用所示浓度的化合物 23 和 30 处理 48 小时,之后进行流式细胞术分析。列 (column) 示出三次实验的平均值;误差线 (bars), SD; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.1$ 。

[0086] 图 11 示出了 EGCG 类似物 23 和 30 抑制乳腺球 (mammosphere) 形成。将 MDA-MB-231 细胞接种于低贴壁 (attached) 6 孔板 (1000 个细胞 / 孔),并用所示浓度的 23 和 30 处理 7 天,之后计算乳腺球的数量 (A) 并拍摄乳腺球形态学的照片 (B)。二甲双胍和 EGCG 用作对照。*, $P < 0.1$; **, $P < 0.01$ 。列,三次实验的平均值;误差线, SD。

[0087] 图 12 示出了 EGCG 类似物 23 和 30 通过激活 AMPK 及上调 p21 抑制乳腺癌细胞增殖。(A)EGCG 类似物 23 和 30 抑制乳腺癌细胞增殖。MDA-MB-231 细胞用所示浓度的 23、30 或二甲双胍处理 24 小时,之后进行 MTT 测定。*, $P < 0.1$; **, $P < 0.01$ 。列,三次实验的平均值;误差线, SD。(B) 通过升高的磷酸化 -AMPK α (phosphor-AMPK α) 和磷酸化 mTOR 相关调控蛋白 (phosphor-Raptor) 的下游蛋白的水平测量,EGCG 类似物 23 和 30 以剂量依赖性方式激活 AMPK。用 23 和 30 的处理也显示出了增加的 p21 水平。MDA-MB-231 细胞用所示浓度的 23 或 30 处理 3h,之后使用所示抗体进行蛋白质免疫印迹分析。p-AMPK α 的 Western 结果下方的数字表示归一化的磷酸化 -AMPK α / β -肌动蛋白比率。p-AMPK α 的 Western 结果下方的数字表示归一化的磷酸化 -AMPK α / β -肌动蛋白比率。

具体实施方式

[0088] 本发明涉及用于抑制蛋白酶体活性和 / 或激活 AMPK 的多酚类化合物、其合成方法、其药物组合物以及其用于蛋白酶体抑制、用于激活 AMPK、用于治疗癌症和 / 或用于治疗代谢紊乱的用途。具体地说,本发明的多酚化合物激活 AMPK 和 / 或抑制蛋白酶体的糜蛋白酶样活性。本发明的多酚化合物可以用本文公开的方法合成。

[0089] 我们修饰了茶多酚的化学结构以提供用于癌症治疗的化合物和组合物。我们以前报道过 EGCG 在体外有效抑制蛋白酶体的糜蛋白酶样活性并诱导肿瘤细胞生长停滞在细胞周期的 G1 期 (Nam 等人, J. Biol. Chem. (2001) 276, 13322)。此外,我们建立了 EGCG 内的酯键可能对其蛋白酶体抑制性质很重要 (Nam 等人, J. Biol. Chem. (2001) 276, 13322)。之前,我们也合成了具有改良的体内生物利用度的全乙酸酯保护的 EGCG (Pro-EGCG) (Landis-Piowar 等人, Cancer Res. (2007) 67, 4303; Smith 等人, Mol. Med. (Cambridge, MA) (2002) 8, 382)。

[0090] 本文中我们提供了一系列用于治疗癌症的合成的 EGCG 类似物。我们已经发现, EGCG 类似物可抑制癌细胞的增殖、诱导细胞凋亡、抑制蛋白酶体的糜蛋白酶样活性和 / 或激活 AMPK, 其在某些情况下具有比天然化合物 EGCG 更大的效力。EGCG 类似物也表现出对乳腺癌和多发性骨髓瘤细胞系 (例如 TNBC 细胞系) 的作用。

[0091] 将 (-)-EGCG 的环命名为 A、B、C 或 D 的图 1 的命名法用于整个说明书。

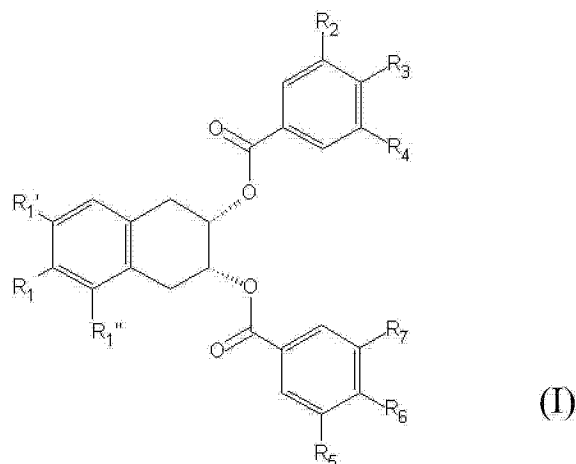
[0092] 本发明的一个实施方式涉及具有与绿茶多酚相似的环结构的多酚类化合物。更具

体地,在一个实施方式中,本发明的化合物具有足够数量的酚取代基或羧基氧以确保激活 AMPK 和 / 或利于结合和抑制蛋白酶体。在一个实施方式中,提供了绿茶多酚的类似物。

[0093] 根据本发明的另一个实施方式,本文所公开的多酚类似物是对称的,并且不含有表没食子儿茶素或表没食子儿茶素没食子酸酯的酚取代模式。

[0094] 根据本发明的另一个实施方式,提供了具有式 I 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐:

[0095]



[0096] 其中:

[0097] R_1 、 R_1' 和 R_1'' 各自独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8 , R_9 , 其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基,上述基团都可以是任选取代的;

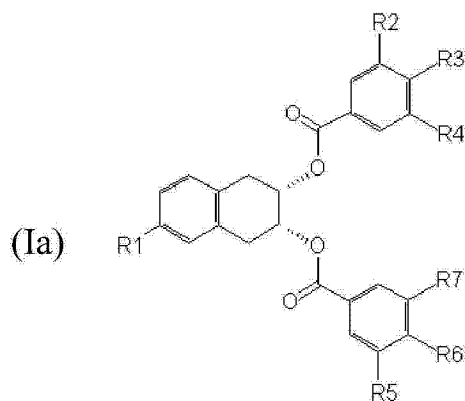
[0098] R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素;且

[0099] R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素,其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

[0100] 在式 I 化合物的一个实施方式中,当 R_1 、 R_1' 和 R_1'' 都是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时, R_3 和 R_6 不是 H 或 OH;以及当 R_1 、 R_1' 和 R_1'' 都是 H 并且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时, R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

[0101] 在本发明的另一个实施方式中,提供了具有式 Ia 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐:

[0102]



[0103] 其中：

[0104] R_1 选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、卤素、OH、酰氧基和 NR_8R_9 ，其中 R_8 和 R_9 独立地选自 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基和酰基，上述基团都可以是任选取代的；

[0105] R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；和

[0106] R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素，其中 R_8 和 R_9 如上所定义。

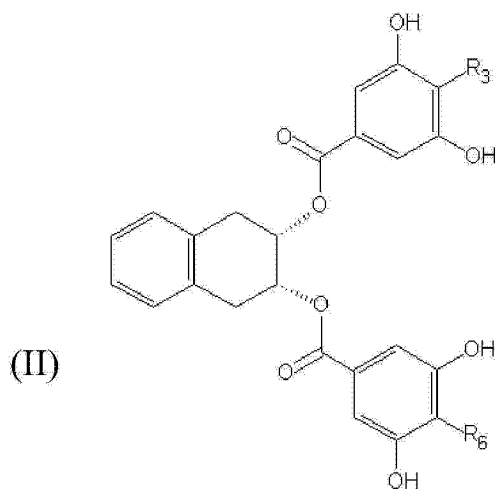
[0107] 在式 Ia 化合物的一个实施方式中，当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时， R_3 和 R_6 不是 H 或 OH；以及当 R_1 是 H 并且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时， R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

[0108] 在本发明的另一个实施方式中，提供了式 (I) 或式 (Ia) 化合物及其药学上可接受的盐，其中 R_1 选自 H、卤素、OH 和酰氧基； R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 各自独立地为 H、烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基、OH、酰氧基或卤素；且 R_3 和 R_6 各自独立地为 H、烷基、OH、酰氧基、 NR_8R_9 或卤素。

[0109] 在式 (I) 或式 (Ia) 化合物的又一个实施方式中，当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是 OH 时， R_3 和 R_6 不是 H 或 OH；以及当 R_1 是 H 且 R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 都是酰氧基时， R_3 和 R_6 不是 H 或酰氧基。

[0110] 根据本发明的另一个实施方式，提供了具有式 II 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐：

[0111]

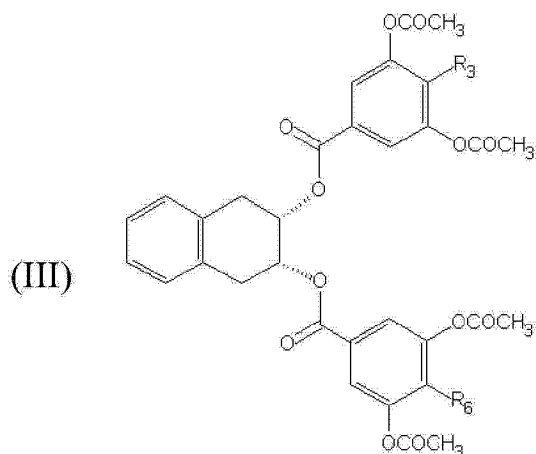


[0112] 其中 R_3 和 R_6 都是 H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

[0113] 在式 II 化合物的一个实施方式中， R_3 和 R_6 不为 H。

[0114] 根据本发明的又一个实施方式，提供了具有式 III 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐：

[0115]

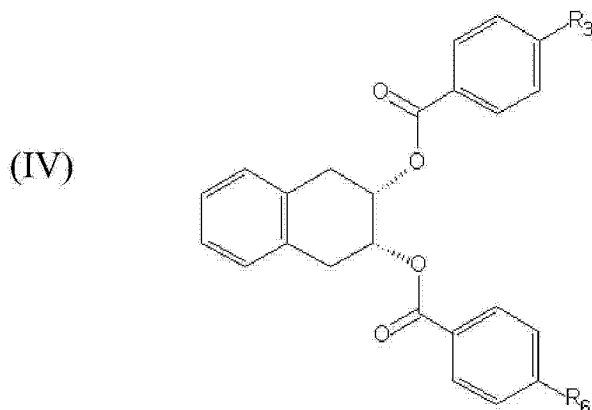


[0116] 其中 R_3 和 R_6 都是 OCOCH_3 、H、Br、F、Cl 或 CH_3 。

[0117] 在式 III 化合物的一个实施方式中, R_3 和 R_6 不是 OCOCH_3 或 H。

[0118] 根据本发明的又一个实施方式, 提供了具有式 IV 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐:

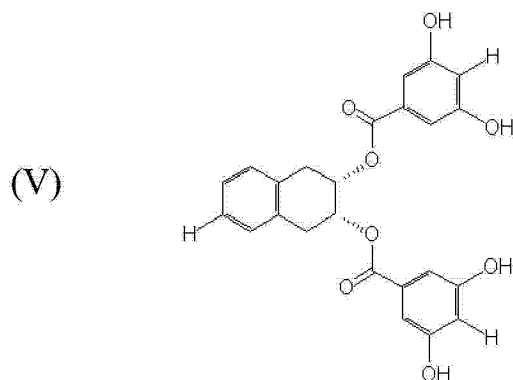
[0119]



[0120] 其中 R_3 和 R_6 都是 OH、 OCOCH_3 、 $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$ 、 NH_2 或 NHCOCCH_3 。

[0121] 在本发明的另一个实施方式中, 提供了具有式 V 结构的化合物:

[0122]

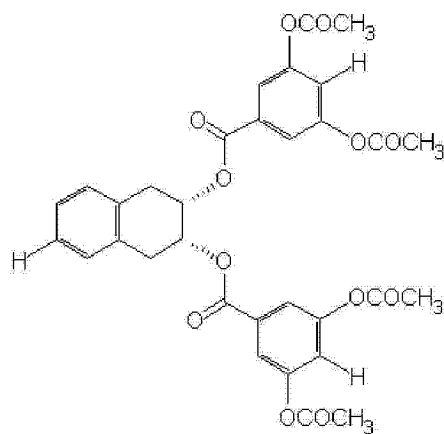


[0123] 或其类似物; 以及其药学上可接受的盐。

[0124] 在本发明的另一个实施方式中, 提供了具有式 VI 结构的化合物:

[0125]

(VI)

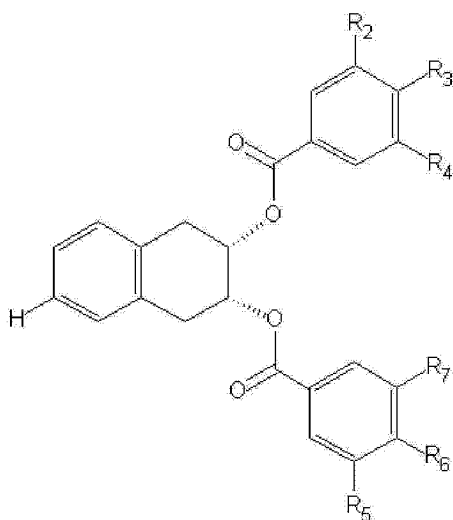


[0126] 或其类似物 ; 以及其药学上可接受的盐。

[0127] 在本发明的另一个实施方式中, 提供了具有式 VII 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐 :

[0128]

(VII)



[0129] 其中 :

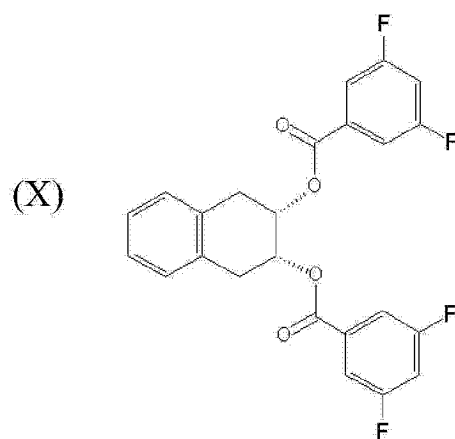
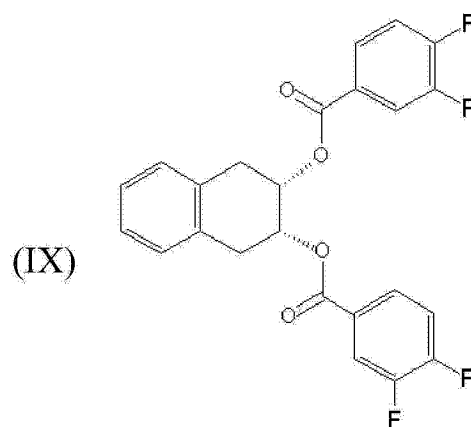
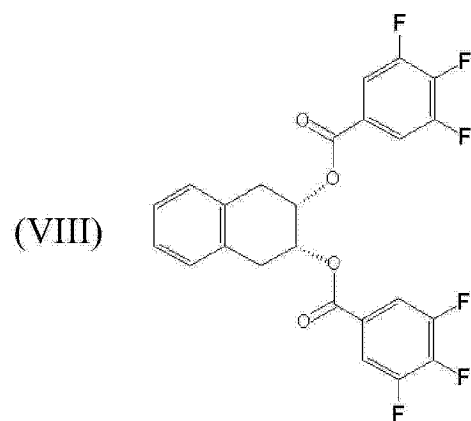
[0130] R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 是 F ; 或

[0131] R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 是 F, 且 R_4 和 R_7 是 H ; 或

[0132] R_2 、 R_4 、 R_5 和 R_7 是 F, 且 R_3 和 R_6 是 H。

[0133] 在本发明的另一个实施方式中, 提供了具有式 VIII、式 IX 和式 X 结构的化合物 :

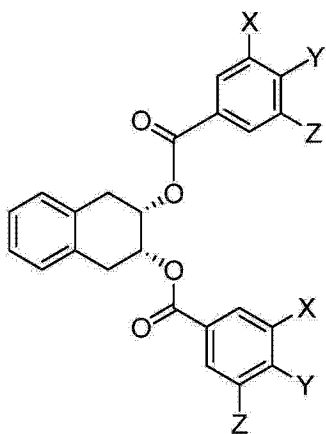
[0134]



[0135] 或其类似物 ; 以及其药学上可接受的盐。

[0136] 在本发明的另一个实施方式中, 提供了具有式 XI 结构的化合物或其类似物以及其药学上可接受的盐 :

[0137]



(XI)

[0138] 其中 X、Y 和 Z 各自独立地是 H、Br、F、Cl、OH、Me、NH₂、OAc、NHAc 或 CF₃。

[0139] 在式 XI 化合物的一个实施方式中,当 X 和 Z 都是 OH 时,Y 不是 H 或 OH;以及当 X 和 Z 都是 Oac 时,Y 不是 H 或 OAc。

[0140] 在一个实施方式中,提供了如上所定义的具有式 XI 结构的化合物,其中 X 和 Z 是相同的。

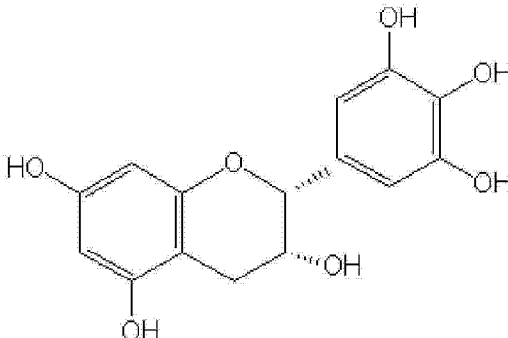
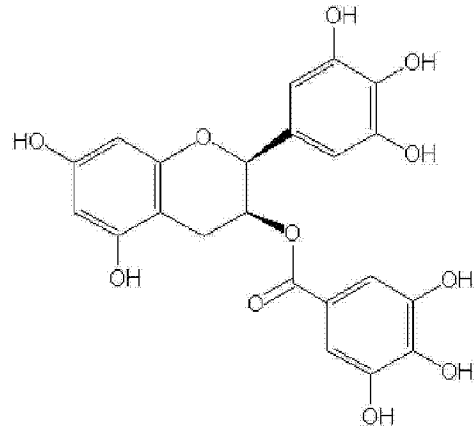
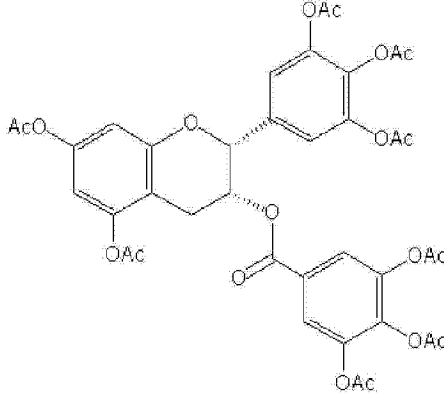
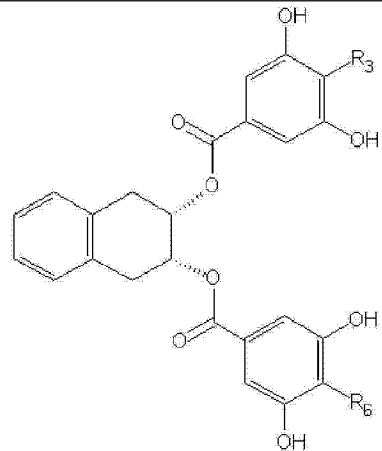
[0141] 在另一个实施方式中,提供了具有本文所述的结构例如在表 1、表 A、方案 1、方案 2 和方案 3 中所示的结构的化合物以及其类似物和药学上可接受的盐。在一个实施方式中,本发明的化合物是茶多酚的类似物。在一个实施方式中,本发明的化合物是 EGCG 类似物。

[0142] 表 1. 本发明的代表性化合物

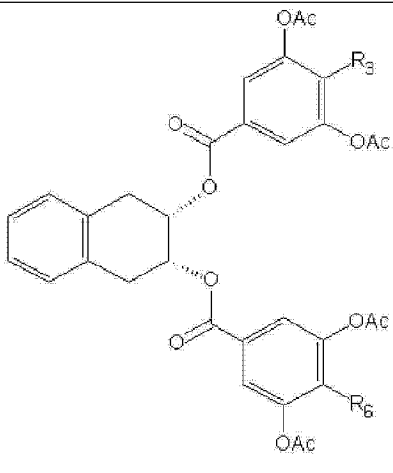
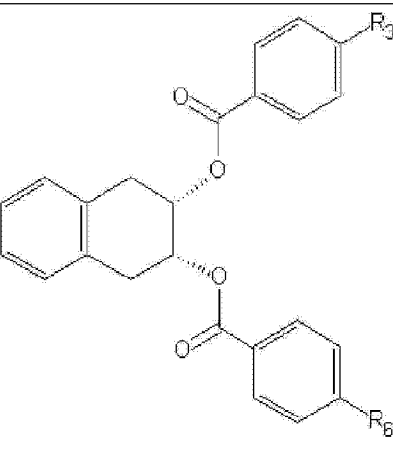
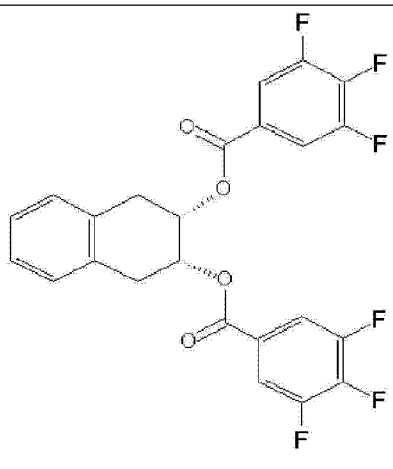
[0143]

化合物编号	结构
1 ((-)-EGCG)	Chemical structure of (-)-EGCG (1) is shown. It is a catechin derivative with a flavan-3-ol core, featuring multiple hydroxyl groups and a gallic acid ester group.

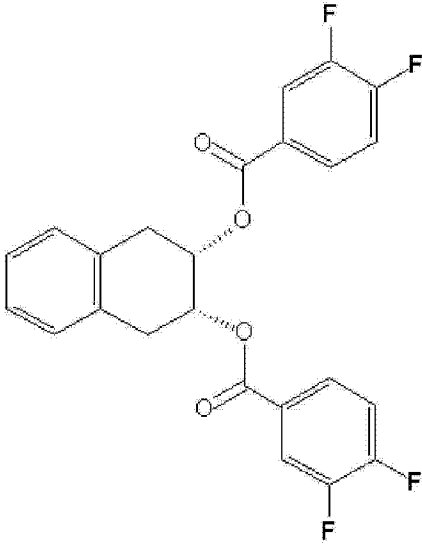
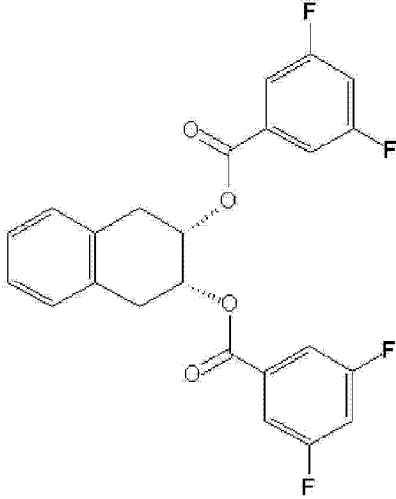
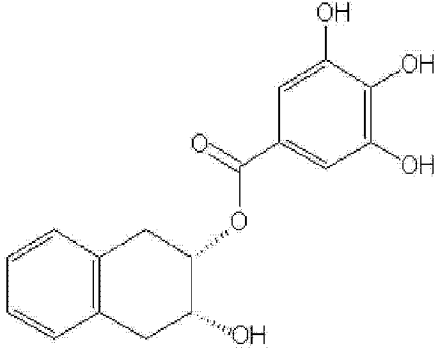
[0144]

2 ((-)-EGC)	
3 ((+)-EGCG)	
4 (Pro-EGCG)	
5: $R_3=OH$, $R_6=OH$ 7: $R_3=H$, $R_6=H$ 23: $R_3=Br$, $R_6=Br$ 25: $R_3=CH_3$, $R_6=CH_3$	

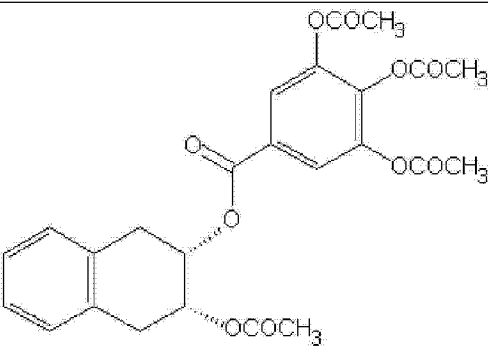
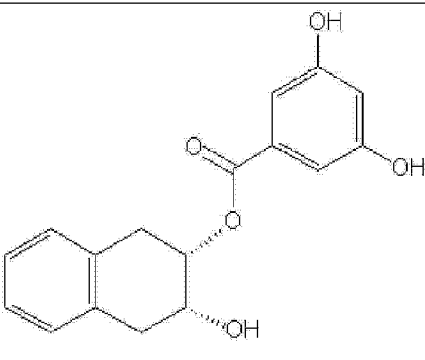
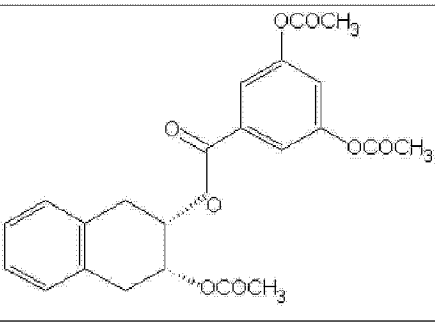
[0145]

6: $R_3=OAc$, $R_6=OAc$ 8: $R_3=H$, $R_6=H$ 24: $R_3=Br$, $R_6=Br$ 26: $R_3=CH_3$, $R_6=CH_3$	
27: $R_3=OH$, $R_6=OH$ 28: $R_3=OAc$, $R_6=OAc$ 29: $R_3=NH\text{Boc}$, $R_6=NH\text{Boc}$ 30: $R_3=NH_2$, $R_6=NH_2$ 31: $R_3=NH\text{Ac}$, $R_6=NH\text{Ac}$	
32	

[0146]

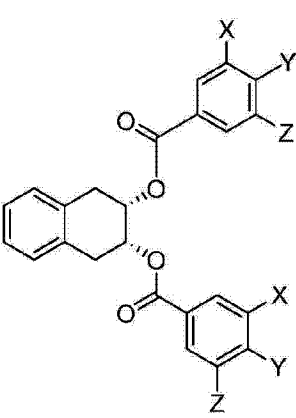
33	 <chem>O=C(O[C@H]1C[C@@H]2C=CC=CC=C2CC1)C3=CC=C(C=C3)F</chem>
34	 <chem>O=C(O[C@H]1C[C@@H]2C=CC=CC=C2CC1)C3=CC(=C(C=C3)F)F</chem>
16	 <chem>O=C(O[C@H]1C[C@@H]2C=CC=CC=C2CC1)C3=CC(=C(C=C3)O)O</chem>

[0147]

17	
21	
22	

[0148] 表 A. 本发明的代表性化合物

[0149]

化合物编号	结构
35: X=Br, Y=Z=H 36: Y=Br, X=Z=H 37: X=Br, Y=H, Z=OH 38: X=Br, Y=H, Z=OAc 39 (=27 ^a): Y=OH, X=Z=H 40 (=28 ^a): Y=OAc, X=Y=H 41 (=25 ^a): Y=Me, X=Z=OH 42(=26 ^a): Y=Me, X=Z=OAc 43 (=32 ^a): X=Y=Z=F	 (XI)

[0150]

44 (=33^a): X=Y=F, Z=H
45 (=34^a): X=Z=F, Y=H
46: X=Z=H, Y=F
47: X=F, Y=CF₃, Z=H
48: X=CF₃, Y=F, Z=H
49: X=Z=Cl, Y=OH
50: X=Z=Cl, Y=OAc
51: Y=Cl, X=Z=H
52: X=Cl, Y=Z=H

55 (=23^a): X=Z=OH, Y=Br
56 (=31^a):
 X=Z=H, Y=NHAc
57 (=30^a): X=Z=H, Y=NH₂
58 (=24^a): X=Z=OAc,
 Y=Br

[0151] ^a 表 1 中的化合物编号。

[0152] 在一个实施方式中,提供了一种药物组合物,其包含本发明的化合物(例如具有式 I、式 Ia、式 II、式 III、式 IV、式 V、式 VI、式 VII、式 VIII、式 IX、式 X 或式 XI 的化合物;表 1 中所示的化合物;表 A 中所示的化合物;方案 1 中所示的化合物;方案 2 中所示的化合物;方案 3 中所示的化合物;或 EGCG 类似物)和一种或超过一种药学上可接受的载体。许多药学上可接受的载体是本领域已知的。本领域技术人员应理解,药学上可接受的载体必须与制剂中的其他成分相容并且有需要的受试者耐受。

[0153] 在另一个实施方式中,药物组合物包含至少一种另外的活性成分,其包括但不限于抗氧化剂、自由基清除剂、肽、生长因子、抗生素、抑菌剂、免疫抑制剂、抗凝血剂、缓冲剂、抗炎剂、解热剂、延时释放粘合剂、麻醉剂、类固醇和皮质类固醇。在又一个实施方式中,药物组合物包含至少一种另外的活性成分,其包括但不限于在治疗癌症中常用的其它活性成分如硼替佐米、多西他赛、紫杉醇、卡巴他赛、厄洛替尼和本领域已知的其它天然的、修饰的或合成的化疗剂。可以包括在本发明的药物组合物中的另外的活性成分的非限制性实例包括长春碱、长春新碱、喜树碱、拓扑替康、依托泊苷和替尼泊苷。在一个具体实施方式中,本发明的药物组合物包含本发明的化合物和硼替佐米(例如万珂™)以及药学上可接受的载体。在另一个实施方式中,本发明的药物组合物包含硼替佐米(万珂™)、泰素™、二甲双胍、多西他赛和/或厄洛替尼和药学上可接受的载体。在另一个实施方式中,本发明的药物组合物包含硼替佐米(万珂™)或二甲双胍。在另一个实施方式中,本发明的药物组合物包含糖尿病治疗剂,举例来说,如双胍化合物、磺酰脲化合物、氯茴苯酸化合物和/或噻唑

烷二酮化合物。

[0154] 在一个实施方式中,本发明的药物组合物包含式 I 化合物和药学上可接受的载体,任选地与至少一种另外的活性剂联合。在另一个实施方式中,本发明的药物组合物包含式 Ia、式 II、式 III、式 IV、式 V、式 VI、式 VII、式 VIII、式 IX、式 X 或式 XI 化合物;或表 1 中所示的化合物;或表 A 中所示的化合物;或方案 1、2 或 3 中所示的化合物;和药学上可接受的载体,任选地与至少一种另外的活性剂联合。在一个实施方式中,至少一种另外的活性剂是癌症治疗剂或化疗剂。在一个实施方式中,至少一种另外的活性剂是硼替佐米(万珂™)或多西他赛或厄洛替尼。

[0155] 在一个方面,本文提供的化合物和组合物可以用于治疗多种类型的癌症和/或用于抑制癌细胞生长。在一个实施方式中,本文提供的化合物和组合物抑制 20S 蛋白酶体和/或 26S 蛋白酶体的糜蛋白酶样活性。

[0156] 在另一个方面,本发明的化合物和组合物包含选自本文所述的化合物的化合物、其药学上可接受的盐、类似物和混合物。化合物可以是茶多酚的类似物,例如 EGCG 的类似物。药学上可接受的盐是本领域已知的,并且应当理解,本文所述的化合物的药学上可接受的盐包含在本发明中。

[0157] 本发明的组合物和制剂包括适合于口服、直肠、鼻、局部(包括经皮、口腔和舌下)、阴道、肠胃外(包括皮下、肌肉、静脉内和皮内)和肺部施用的那些组合物和制剂。适合于口服施用的本发明的组合物可为以下形式:例如离散单位,如胶囊剂、扁囊剂或片剂,每种含有预定量的活性成分;或水包油液体乳液、油包水液体乳液;或在水溶液内的补充剂。活性成分也可以为推注剂(bolus)、药糖剂或糊剂的形式。适合于在口中局部施用的制剂包括包含活性成分的锭剂、包含在明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶中的活性成分糖果锭剂(pastille)。

[0158] 根据本发明的用于局部施用的药物组合物可以被配制成例如软膏剂、乳膏剂、混悬剂、洗剂、粉剂、溶液、糊剂、凝胶剂、喷雾剂、气雾剂或油。可选地,制剂可以包含贴剂或敷料,如浸有活性成分以及任选的一种或多种赋形剂或稀释剂的绷带或橡皮膏。

[0159] 适合于局部施用至眼部的制剂还包括滴眼剂,其中活性成分溶解或悬浮于适合的载体中,尤其是用于作用剂的无菌水性溶剂。用于直肠施用的制剂可以作为具有包含例如可可脂或水杨酸酯的适合的基体的栓剂提供。适合于阴道施用的制剂可以为阴道栓剂、棉塞、乳膏剂、凝胶剂、糊剂、泡沫剂或含有作用剂的喷雾制剂的形式,这些制剂除了含有作用剂以外还含有本领域已知的适当的载体。

[0160] 其中载体是固体的适合于经鼻施用的制剂包括粒径例如在约 20 至约 500 微米范围内的粗粉末,其以从鼻中吸入的方式施用,即从装有粉末的容器通过鼻道快速吸入到鼻子中。其中载体是通过雾化器施用的液体的适合的制剂包括例如作用剂的水性或油性溶液。

[0161] 适合于肠胃外施用的制剂包括水性和非水性等渗无菌注射溶液,其可以含有防腐剂、缓冲剂、抑菌剂和使制剂等渗于病人血液的溶质;以及可包括悬浮剂和增稠剂的水性和非水性无菌混悬液,以及设计用于将化合物靶向至血液组分或一种或多种器官的脂质体或其它微粒系统。临时注射溶液和混悬液可以由无菌粉剂、颗粒剂和片剂制备。

[0162] 应当理解,除了上述特别提到的成分之外,本发明的组合物和制剂可包括所涉及

的制剂类型的领域中常规的其它作用剂。例如适合于口服施用的制剂可进一步包括如甜味剂、增稠剂和调味剂的作用剂。还预期本发明的作用剂、组合物和方法与其它适合的组合物和疗法相结合。

[0163] 各种递送系统是已知的并且可用于施用本发明的治疗剂,例如包封在脂质体、微粒、微胶囊等。递送方法包括但不限于动脉内、肌内、静脉内、鼻内和口服途径。在一个具体实施方式中,本发明的化合物和药物组合物可局部施用至需要治疗的区域;这样的局部施用可以通过例如在手术过程中进行局部输注、通过注射或借助于导管实现。

[0164] 治疗量可以凭经验确定且将会随正在治疗的病状、正在接受治疗的受试者的体重和作用剂的有效性和毒性而变化。类似地,本领域技术人员可容易地确定适合的剂量制剂和施用作用剂的方法。例如,日剂量可以分成适合在整个时间周期内以一次、两次或更多次施用的形式的一次、两次或更多次的剂量。

[0165] 化合物和药物组合物可通过多种途径中的任意途径如口服、鼻内、肠胃外或通过吸入进行施用,并且可采取例如片剂、锭剂、颗粒剂、胶囊剂、丸剂、安瓿剂、栓剂或气雾剂的形式。其也可以是活性成分在水性或非水性稀释剂中的混悬液、溶液和乳液;糖浆剂;粒剂或粉剂的形式。除了本发明的作用剂外,药物组合物还可包含其它药学上有活性的化合物。

[0166] 适合于口服施用的本发明的药物组合物可以为以下形式:离散单位,如胶囊剂、扁囊剂或片剂,每种含有预定量的活性成分;粉剂或颗粒剂;或在水性液体、非水性液体中的溶液或混悬液、水包油乳液或油包水液体乳液。这样的组合物可以通过任何药学方法制备,但是所有的方法都包括使活性成分与构成一种或多种必要成分的载体联合的步骤。一般情况下,组合物通过以下方法制备:均匀地和紧密地混合活性成分和液体载体或细碎的固体载体或这两者,然后,如果需要的话,将产物塑造成所需形式的形状。例如,片剂可以通过压制或模制任选地与一种或多种辅助成分来制备。压制片剂可以通过在适合的机器中压制活性成分来制备,所述活性成分为自由流动形式如粉末或颗粒,任选地与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、表面活性剂或分散剂混合。模制片剂可以通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉末状化合物的混合物来制备。例如,在一个实施方式中,每个药片可以含有约 2.5mg 至约 500mg 的活性成分以及每粒扁囊或胶囊可以含有约 2.5 至约 500mg 的活性成分。

[0167] 本发明的化合物的预防或治疗剂量的范围当然随要治疗的疾病的严重程度以及具体的本发明化合物及其施用途径而变化。其也根据个体患者的年龄、体重和反应而变化。一般情况下,用于治疗癌症的日剂量的范围为每千克哺乳动物体重约 0.001mg 至约 100mg,优选每千克 0.01mg 至约 10mg,最优选每千克 0.1 至 1mg,单次或分次服用。另一方面,某些情况下可能有必要使用超出这些限值的剂量。

[0168] 对于使用用于静脉内施用的组合物的用途,在一个实施方式中,用于治疗癌症的适合的剂量范围为每天每千克体重约 0.001mg 至约 25mg (优选 0.01mg 至约 1mg) 本发明的化合物。

[0169] 在使用口服组合物的情况中,在一个实施方式中,用于治疗癌症的适合的剂量范围为例如每天每千克体重约 0.01mg 至约 100mg 本发明的化合物,优选为每千克约 0.1mg 至约 10mg。

[0170] 理想情况下,施用本发明的治疗剂应使活性化合物在疾病位点达到峰浓度。在疾

病位点的峰浓度可例如通过静脉内注射作用剂（任选地在盐水中）或口服施用例如含有活性成分的片剂、胶囊剂或糖浆剂来实现。

[0171] 有利的是，本发明的化合物和组合物可与其它药物或生物活性剂同时或依次施用。实例包括但不限于抗氧化剂、自由基清除剂、肽、生长因子、抗生素、抑菌剂、免疫抑制剂、抗凝血剂、缓冲剂、抗炎剂、解热剂、延时释放粘合剂、麻醉剂、类固醇和皮质类固醇、其它抗癌治疗剂和化疗剂如硼替佐米（万珂™）、卡非佐米、多西他赛、紫杉醇、卡巴他赛和厄洛替尼。其它药物或生物活性剂的非限制性实例包括二甲双胍、泰素™、长春碱、长春新碱、喜树碱拓扑替康、依托泊苷、替尼泊苷、环丁内酯和表没食子儿茶素没食子酸酯及其类似物。

[0172] 相应地，在本发明的方法和用途中，本发明的化合物也可与其它治疗剂联合施用。在一个实施方式中，本发明提供了一种用于治疗癌症（例如多发性骨髓瘤或乳腺癌）的方法，其包括对有需要的受试者施用有效量的含有本发明的化合物或组合物的第一作用剂以及第二作用剂。第二作用剂可以是例如抗癌治疗剂或化疗剂，例如硼替佐米（万珂™）或多西他赛；或 EGFR 抑制剂，例如厄洛替尼。在另一个实施方式中，本发明提供了治疗代谢紊乱（例如 II 型糖尿病）的方法，其包括对有需要的受试者施用有效量的含有本发明的化合物或组合物的第一作用剂以及第二作用剂。第二作用剂可以是例如抗糖尿病治疗剂，例如二甲双胍。

[0173] 与另一种作用剂联合施用包括共同施用（同时施用第一作用剂和第二作用剂）和依次施用（施用第一作用剂，再施用第二作用剂；或施用第二作用剂，再施用第一作用剂）。本文描述的方法中使用的作用剂组合可以对治疗所靶向的疾病状况或疾病具有治疗叠加或协同作用。本文描述的方法中使用的作用剂组合还可以减少当单独使用或无其它作用剂时与至少一种作用剂相关的不利作用。例如，一种作用剂的副作用的毒性可能因其它作用剂而减弱，因此允许施用更高的剂量，提高患者的依从性，或者改善治疗结果。医生在使用较低的剂量水平时可以达到先前确认的药物的临床益处，从而减少副作用。此外，同时施用且作用于不同靶点的两种作用剂可以协同作用以改变或改善疾病的进展或症状。

[0174] 本发明的另一个方面涉及抑制蛋白酶体活性的方法。特别是但不限于可以抑制 20S 蛋白酶体的糜蛋白酶活性和 / 或糜蛋白酶样活性。

[0175] 本发明的另一个方面涉及激活 AMPK 的方法。在一个方面，降低或抑制受试者的癌症干细胞群；表皮生长因子受体 (EGFR) 的活性；或 NF- κ B、PI3K、Akt 和 / 或 mTOR 信号传导通路。在又一个方面，减少 CD44^高/CD24^低细胞群。在另一个方面，本发明的化合物和组合物减少了 TNBC 细胞中的 CD44^高/CD24^低细胞群。

[0176] 在一个方面，提供了抑制蛋白酶体活性的方法，其包括使细胞与足够量的本发明的化合物或组合物相接触。

[0177] 在另一个方面，本发明提供了抑制 20S 蛋白酶体的糜蛋白酶样活性的方法，其包括向受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物。

[0178] 在一个方面，提供了激活 AMPK 的方法，其包括使细胞与足够量的本发明的化合物或组合物相接触。

[0179] 根据本发明的另一个实施方式，提供了治疗癌症的方法，其包括向受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物。

[0180] 根据本发明的一个实施方式的待治疗的癌症可以选自但不限于前列腺癌、白血病、淋巴瘤、激素依赖性癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌、上皮癌、肝癌、食道癌、胃癌、脑癌和肾癌。在一个实施方式中,所述癌症是多发性骨髓瘤。在另一个实施方式中,所述癌症是乳腺癌,例如 TNBC。

[0181] 在本发明的另一个实施方式中,提供了抑制肿瘤细胞生长的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物。

[0182] 根据本发明的另一个实施方式,提供了通过激活 AMPK 治疗疾病的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物。

[0183] 认为腺苷 5' - 单磷酸激活蛋白激酶 (AMP 激活蛋白激酶或 AMPK) 激活剂在哺乳动物 (包括人) 的碳水化合物和脂肪代谢的调节中发挥了关键作用。AMPK 激活的净效应可以包括抑制肝脏中的肝脏糖异生、胆固醇和甘油三酯合成和 / 或增强肌肉和肝脏中的肌肉葡萄糖转运、胰岛素敏感或脂肪酸氧化。AMPK 系统也是已知的抗糖尿病化合物 (如二甲双胍) 的一个可能的靶点。已知对 AMPK 信号传导系统的激活可产生有益作用。例如,期望在肝脏中减少糖异生酶的表达会降低肝脏葡萄糖排出量并改善总体葡萄糖稳态。期望直接抑制脂质代谢中的关键酶和 / 或降低脂质代谢中关键酶的表达会导致减少脂肪酸和胆固醇的合成并增加脂肪酸氧化。期望骨骼肌中 AMPK 的刺激会增加葡萄糖摄取和脂肪酸氧化,从而改善葡萄糖稳态。还期望由于在肌细胞内 (intra-myocyte) 甘油三酯积累的降低, AMPK 激活会导致改善的胰岛素作用。

[0184] 因此,期望可用作 AMPK 激活剂的本发明的化合物和组合物用于治疗与 AMPK 调节异常相关的疾病状况,例如代谢紊乱。在一个实施方式中,提供了激活受试者的 AMPK 从而治疗代谢紊乱 (例如,选自代谢综合征、糖尿病前期、胰岛素抵抗、肥胖、血脂异常和 II 型糖尿病的疾病状况) 的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物。在一个实施方式中,增加了摄入到细胞内的葡萄糖和 / 或改善了葡萄糖稳态。

[0185] 在另一个实施方式中,提供了调节受试者的葡萄糖代谢的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物。葡萄糖代谢的调节可以包括例如增加肌细胞中的葡萄糖摄取、减少肝细胞中的葡萄糖新生和 / 或改善葡萄糖稳态。

[0186] 在另一个实施方式中,提供了调节受试者的脂质代谢的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物。脂类代谢的调节可以包括例如降低总血清胆固醇、血清 LDL- 胆固醇和 / 或血清甘油三酯。

[0187] 在另一个实施方式中,提供了治疗或预防受试者的疾病状况的方法,所述疾病状况选自代谢综合征、糖尿病前期、胰岛素抵抗、肥胖、血脂异常和 II 型糖尿病,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物。不希望受理论束缚,可以预期,本发明的化合物和组合物通过激活 AMPK 来治疗或预防这些疾病状况。

[0188] 在另一个实施方式中,提供了通过降低 AMPK 活性而治疗或预防疾病的方法,其包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的化合物或药物组合物,以便增加 AMPK 的活性。

[0189] 本文所使用的“代谢紊乱”包括但不限于代谢综合征、糖尿病、II 型糖尿病、I 型糖尿病、胰岛素抵抗、高胰岛素血症、异常葡萄糖耐量、肥胖、肝积脂病、高尿酸血症、痛风、高脂血症、高胆甾醇血症、动脉粥样硬化或高血压。这些疾病的共同特征是葡萄糖、脂质和蛋

白质代谢紊乱。预期任何与 AMPK 调节异常相关或通过 AMPK 激活治疗或预防的代谢紊乱可以通过本发明的化合物和组合物进行治疗。其它可以用本发明的化合物和组合物治疗或预防的相关疾病状况或疾病包括但不限于高血糖症、胰岛素敏感降低、胰岛素抵抗综合征、肌细胞中葡萄糖摄取不足、胰岛素分泌过多、肝脏缺血 - 再灌注损伤和缺血。

[0190] 就本发明的目的而言,在下面对以下术语进行定义:

[0191] 在权利要求和 / 或说明书中,使用的“一种”或“一个”在与术语“包含(包括)”连起来使用时,可以是指“一个(一种)”,但其也表示“一个(种)或多个(种)”、“至少一个(种)”和“一个(种)或多于一个(种)”的意思。类似的,“另一个(种)”可以是指至少第二个(种)或更多个(种)。

[0192] 如本说明书和权利要求所用,词语“包含”(以及包含的任何形式,如第一人称和第三人称的“包含”),“具有”(以及具有的任何形式,如第一人称和第三人称的“具有”),“包括”(以及包括的任何形式,如第一人称和第三人称的“包括”)或“含有”(以及含有的任何形式,如第一人称和第三人称的“含有”)是包含性的或开放式的,并不排除另外的、未陈述的元件或过程步骤。

[0193] 术语“抑制”意图是指大幅减缓、干扰、抑制、预防、延迟和 / 或停滞化学或生物化学作用。

[0194] 术语“药理抑制”意图是指大幅减缓、干扰、抑制、预防、延迟和 / 或停滞由有效量的化合物、药物或作用剂引起的化学作用。

[0195] 术语“抑制剂”意图是指大幅减缓、干扰、抑制、预防、延迟和 / 或停滞化学作用的化合物、药物或作用剂。

[0196] 术语“多酚”意图是指具有多于一个酚部分的化合物。酚类化合物是含有直接键合至少一个羟基的芳香核的芳族化合物。术语多酚包括但不限于 (-)EGCG、(-)EGC、(-)ECG 和 (-)EC,如可从茶植物山茶 (*Camellia sinensis*) 的叶中提取的那些;及其类似物;以及结构相似的合成类似物。

[0197] 术语“全乙酸酯(per-acetate)”或“全乙酰化的(per-acetylated)”或“全酰化的(per-acylated)”意图是指使多酚上的所有羟基被酰化。

[0198] 本文所用的术语“烷基”应理解为是指饱和的、一价的直链或支链烃链。烷基的实例包括但不限于 C₁₋₁₀ 烷基。C₁₋₁₀ 烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、2-甲基-1-丙基、2-甲基-2-丙基、2-甲基-1-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-3-丁基、2,2-二甲基-1-丙基、2-甲基-1-戊基、3-甲基-1-戊基、4-甲基-1-戊基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、2,2-二甲基-1-丁基、3,3-二甲基-1-丁基、2-乙基-1-丁基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基、新戊基、己基、庚基、辛基、壬基和癸基。

[0199] 本文所用的术语“芳基”应理解为是指 5 元、6 元和 7 元或更多元芳族基团,例如苯基或萘基,其可以在环中包括零至四个独立地选自 O、N 和 S 的杂原子,例如吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噁唑、噻唑基、三唑基、吡唑基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基和嘧啶基等。在环结构中具有杂原子的那些芳基也可以被称为“芳基杂环”或“杂芳基”。芳环可在一个或多个环位置上被取代。芳基也可可是多环基团的一部分。例如,芳基包括稠合芳族部分如萘基、蒽基、喹啉基、吲哚基等。

[0200] 术语“酰基”意图是指具有式 RC=O 的基团,其中 R 是烷基、烯基、环烷基、杂环烷基、

环烯基、杂环烯基或芳基。

[0201] 术语“烯基”是指具有两个或更多个碳原子（例如，两个至六个碳原子， C_{2-6} 烯基）并另外具有一个双键（适当时为 E 或 Z 立体化学）的直链或支链烷基部分。该术语包括例如乙烯基、1- 丙烯基、1- 和 2- 丁烯基、2- 甲基 -2- 丙烯基等。

[0202] 术语“环烷基”是指具有三个或更多个碳原子（例如，三至六个碳原子）的饱和脂环族部分，并且其可任选地在任意可用位置被苯并稠合（benzofused）。该术语包括例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、茚满基和四氢萘基。

[0203] 术语“杂环烷基”是指具有三个或更多个碳原子（例如，三至六个碳原子）和一个或多个来自组 N、O、S（或其氧化形式）的杂原子的饱和杂环部分，并且其可任选地在任意可用位置被苯并稠合。该术语包括例如氮杂环丁基、吡咯烷基、四氢呋喃基、哌啶基、二氢吡啶基和四氢喹啉基。

[0204] 术语“环烯基”是指具有三个或更多个碳原子（例如，三至六个碳原子）且另外具有一个双键的脂环族部分。该术语包括例如环戊烯基或环己烯基。

[0205] 术语“杂环烯基”是指具有三至六个碳原子和一个或多个来自组 N、O、S（或其氧化物）的杂原子且另外具有一个双键的脂环族部分。该术语包括例如二氢吡喃基。

[0206] 术语“卤素”是指卤素原子，如氟、氯、溴或碘。

[0207] 术语“任选取代的”是指在任意可用位置或多个位置上任选地被一个或多个上述基团（例如烷基、芳基、杂芳基、酰基、烯基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基或卤素）取代。

[0208] 术语“类似物”意图是指与参考化合物类似的或相当的但不相同的化合物，即在功能、结构、性质和 / 或外观上与参考化合物类似的化合物。例如，参考化合物可以是参考绿茶多酚，类似物是化学结构或化学性质与参考绿茶多酚的化学结构或化学性质类似的物质。本文中，类似物与另一种化合物可以是结构相关的，但在组成上不同（例如一个原子被不同元素的原子取代或存在特定的官能团）的化学化合物。类似物可以衍生自天然来源或采用化学合成来制备。

[0209] 术语“癌症”意图是指与缺失正常调控而导致生长失控、缺少分化并具有侵袭或导致侵袭局部组织和转移的能力相关的任何细胞性状或瘤形成。更具体地，癌症意图包括但不限于前列腺癌、白血病、淋巴瘤、激素依赖性癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌、上皮癌、肝癌、食道癌、胃癌、脑癌、肾癌、多发性骨髓瘤和 TNBC，以及癌前病况如郁积型多发性骨髓瘤或高级别前列腺上皮内瘤形成（high-grade prostatic intraepithelial neoplasia）。

[0210] 术语“治疗（treatment）”或“治疗（treating）”意图是指获得所需的药理学和 / 或生理学作用，如抑制癌细胞生长或诱导癌细胞的细胞凋亡或改善受试者的疾病状况或改善受试者的与疾病或医学状况相关的症状。作用可以在完全或部分地预防与其相关的疾病或症状方面是预防性的，和 / 或可以在部分或完全治愈疾病方面是治疗性的和 / 或属于该疾病的病理生理作用。本文所用的“治疗”涵盖对哺乳动物的疾病的任何治疗，并且包括：(a) 在易患所述疾病但未诊断患有该疾病的个体中，预防疾病或病况（如预防癌症）；(b) 抑制所述疾病（例如阻止其发展）；或 (c) 缓解所述疾病（例如减轻与疾病相关的症状）。

[0211] 术语“生物活性”意图是指具有抑制细胞生长、诱导细胞凋亡、激活 AMPK、抑制癌症细胞中的转化活性和 / 或抑制蛋白酶体（例如抑制蛋白酶体的糜蛋白酶样活性）的能力。

“生物活性”也指具有治疗效果和 / 或治疗受试者的癌症或代谢紊乱的能力。

[0212] 术语“治疗有效”意图是指化合物的量足以大幅改善与疾病或医学状况相关的症状,或改进、改善或减轻潜在的疾病或医学状况。例如,在癌症治疗中,降低、预防、延迟、抑制或阻滞疾病的任何症状的化合物是治疗有效的。化合物的治疗有效量可以提供对疾病的治疗,使该疾病的发作被延迟、阻碍或阻止,或改善该疾病症状,或改变疾病的分期 (terms)。

[0213] 术语“糜蛋白酶样活性”是指真核蛋白酶体 β 亚基裂解疏水残基后的氨基酸序列的能力,并且意图包括糜蛋白酶活性。

[0214] AMP 激活蛋白激酶 (AMPK) 是一种生理细胞能传感器,已知其抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡并减少癌症细胞中的干细胞群。术语“AMPK 激活”意图是指对 AMPK 信号传导通路的激活。本领域技术人员可以理解这样的激活可以是直接或间接的,例如,激活可以通过激酶的磷酸化状态的改变、通过对激酶的下游靶点的作用等来实现。例如,本发明的 EGCG 类似物的可能分子靶点的非限制性实例包括激活 AMPK 信号传导、降低癌干细胞群、减少 CD44^高/CD24^低细胞群、下调 EGFR 的活性和 / 或抑制 AMPK 信号传导下游的 NF- κ B、PI3K、Akt 和 / 或 mTOR 通路。

[0215] 本文所用术语“受试者”包括哺乳动物,其包括人。

[0216] 当本发明的化合物与其他作用剂联合施用,其可以依次或同时地施用于个体。可选地,根据本发明的药物组合物可以包含如本文所述的本发明的类似物和本领域中已知的另一种治疗剂或预防剂的组合。

[0217] 可以理解,用于任何具体的体内或体外应用的具体“有效量”取决于多种因素,包括所用具体化合物的活性;个体的年龄、体重、一般健康状况、性别和 / 或饮食;施用时间、施用途径、排泄速率、药物组合和所治疗的具体疾病的严重程度。例如,“有效量”可以是在体内或体外实现抑制蛋白酶体糜蛋白酶样活性所必需的本发明的多酚化合物的量。

[0218] 术语“UPS”、“蛋白酶体”和“蛋白酶体的”在整个说明书中可以互换使用。

[0219] 药学上可接受的酸加成盐可以由无机酸和有机酸制备。衍生自无机酸的盐包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。由有机酸衍生的盐包括柠檬酸、乳酸、酒石酸、脂肪酸等。药学上可接受的盐是本领域已知的。

[0220] 盐也可以是与碱形成的。这样的盐包括由无机碱或有机碱衍生的盐,例如碱金属盐如镁盐或钙盐,以及有机胺盐如吗啉盐、哌啶盐、二甲胺盐或二乙胺盐。

[0221] 本文所用术语“药学上可接受的载体”包括任何和所有溶剂如磷酸盐缓冲盐水、水、盐水、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。对药学上有活性的物质使用此类介质和作用剂是本领域公知的。也可以将补充性活性成分并入组合物中。本发明的药物组合物可以根据用于制备药学上可用的组合物的已知方法进行配制。在本领域技术人员公知且容易获得的许多资料中都对制剂进行了描述。例如,Remington's Pharmaceutical Science (Martin EW (1995) Easton PA, Mack Publishing Company, 第 19 版) 中描述了可与本发明结合使用的制剂。

[0222] 本说明书中提到了本领域技术人员所使用的大量的化学术语和缩写。然而,为了清楚和一致,提供了所选术语的定义。

[0223] 缩写:OsO₄:四氧化锇;NMO:N-甲基吗啉-N-氧化物;Ac₂O:乙酸酐;Py:吡啶;

TFA :三氟乙酸 ;DIPEA :N, N- 二异丙基乙胺 ;DMAP :4- 二甲基氨基吡啶 ;DCC :1, 3- 二环己基碳二亚胺 ;Bn :苄氧基 ;MeOH :甲醇 ;TLC :薄层色谱法 ;NMR :核磁共振 ;MS :质谱法 ;ESI :电喷雾离子化 ;FAB :快速原子轰击 ;PEG :聚乙二醇 ;DMF :二甲基甲酰胺 ;DMSO :二甲亚砜 ;THF :四氢呋喃 ;DNC :3, 5- 二硝基儿茶酚 ;(-)-EGCG :(-)- 表没食子儿茶素没食子酸酯 ;Pro-EGCG :(-)- 表没食子儿茶素没食子酸酯八乙酸酯 ;EtOAc :乙酸乙酯 ;MOM :甲氧基甲基 ;DCM :二氯甲烷 ;TMS :四甲基硅烷 ;QTOF :四极杆 - 飞行时间 ;N-boc :N- 叔丁氧羰基 ;Suc-LLVY-AMC :N- 琥珀酰基 -Leu-Leu-Val-Tyr-AMC (AMC=7- 氨基 -4- 甲基香豆素)。

[0224] 实施例

[0225] 通过参照下列实施例更容易理解本发明,所述实施例用于对本发明进行解释且不得以任何方式解释为限制本发明的范围。

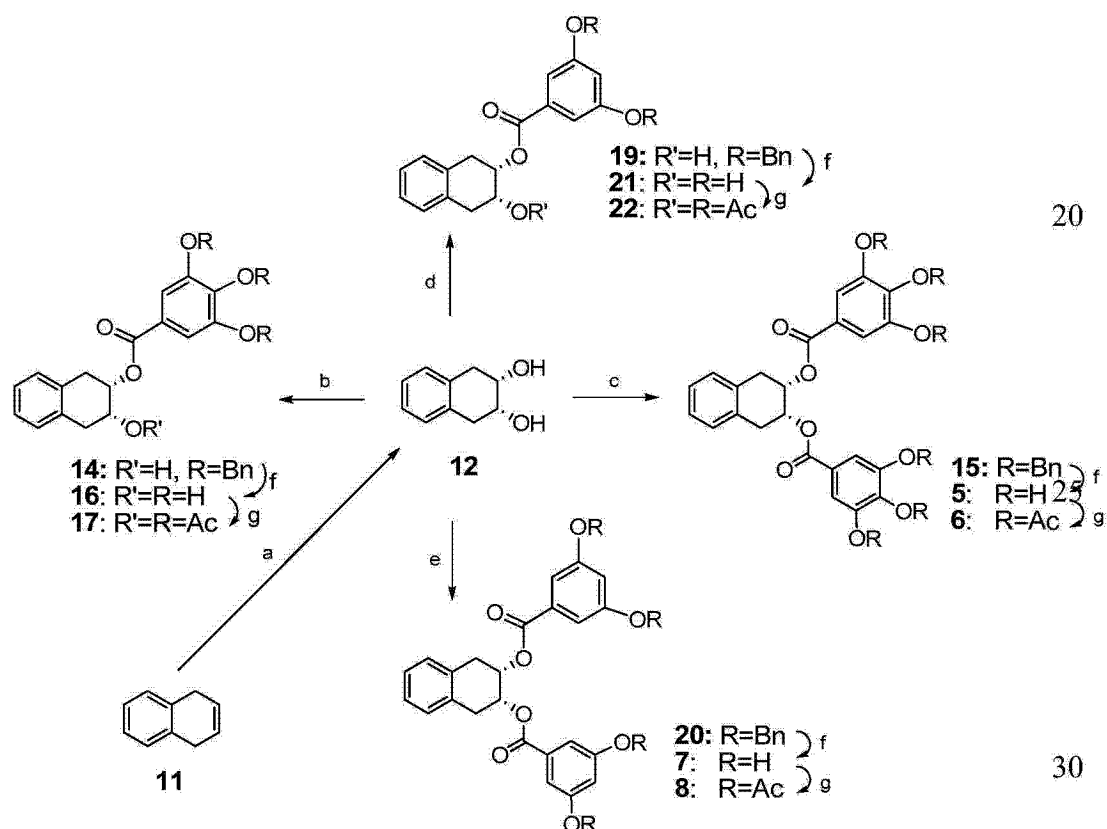
[0226] 除非另外规定或上下文另有明确指示,否则,本文中所使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。应当理解类似或等同于本文描述的那些方法和材料的任何方法和材料可以用于实践或检验本发明。

[0227] 合成方法

[0228] 本发明的化合物可根据下文所示的合成路线并通过本文所描述的方法进行制备。

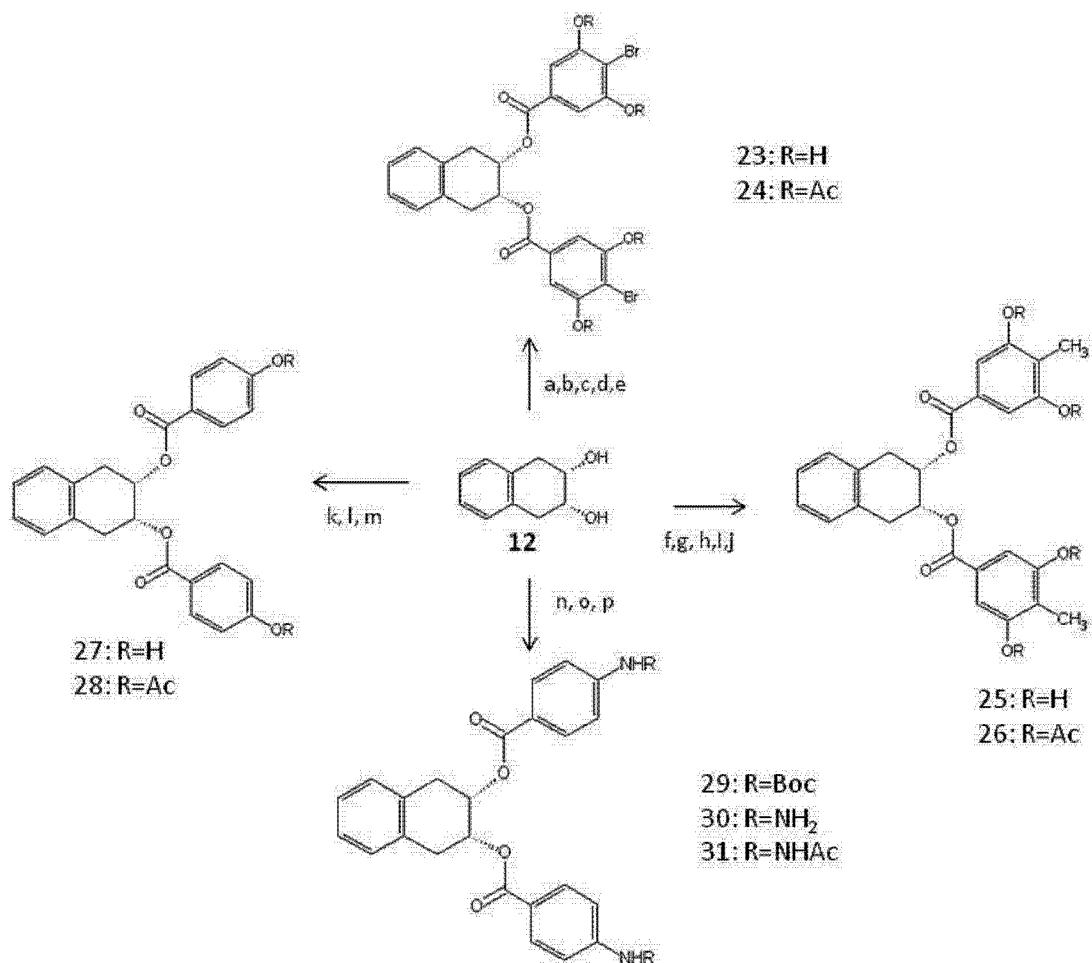
[0229] 在方案 1、2 和 3 中示出本发明的化合物的制备。关于化合物 5 和 7 及其各自的全乙酸酯 6 和 8,用四氧化锇对 1, 4- 二氢萘 11 进行二羟基化,得到顺式 - 二醇 (cis-diol) 12。将化合物 12 用 DCC/DMAP 和 1 摩尔当量的苄基保护的没食子酸处理,得到对应的单苯甲酸酯 14。当在反应序列中使用多于 2 当量的苄基保护的没食子酸时,得到二苯甲酸酯 15。通过钨催化氢解去除化合物 14 和 15 的 O- 苄基保护基分别得到化合物 16 和 5。乙酰化化合物 16 和 5 得到对应的乙酸酯 17 和 6。化合物 12 与 3, 5- 二苄氧基苯甲酸通过类似反应序列得到系列 21 和 7,它们转化成其各自的乙酸酯 22 和 8。使用类似的方法合成表 A 中的化合物。

[0230]



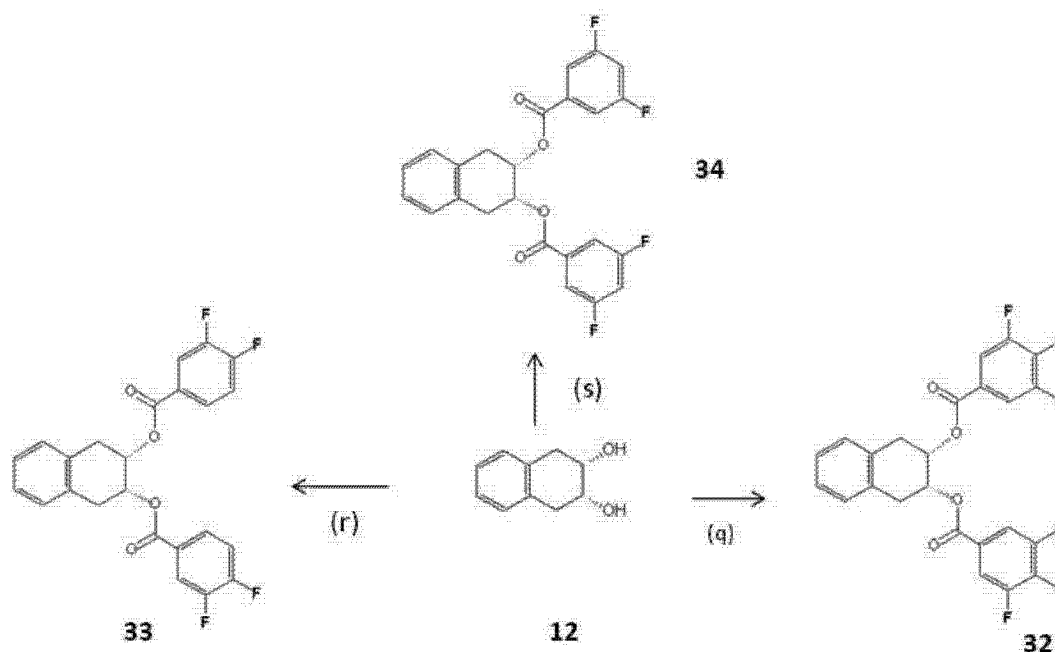
[0231] 方案 1. (a) OsO₄, NMO, 丙酮/H₂O; (b) 3, 4, 5-三(苄氧基)苯甲酸 (1.1 当量), DCC, DMAP, CH₂Cl₂; (c) 3, 4, 5-三(苄氧基)苯甲酸 (2.1 当量), DCC, DMAP, CH₂Cl₂; (d) 3, 5-双(苄氧基)苯甲酸 (1.1 当量), DCC, DMAP, CH₂Cl₂; (e) 3, 5-二(苄氧基)苯甲酸 (2.1 当量), DCC, DMAP, CH₂Cl₂; (f) Pd/C, H₂, THF/MeOH; (g) Ac₂O, Py。

[0232]



[0233] 方案 2. (a) MOM-CL, DIPEA, 4- 溴 -3, 5- 二羟基苯甲酸 ; (b) NaOH, MeOH ; (c) 化合物 12, DCC, DMAP, 4- 溴 -3, 5- 双 (甲氧基甲基氧基) 苯甲酸 ; (d) 对甲苯磺酸, MeOH 回流 ; (e) Ac₂O, 吡啶 ; (f) 4- 甲基 -3, 5- 二羟基苯甲酸, K₂CO₃, 苄基溴, DMF ; (g) KOH, MeOH, 回流 ; (h) 化合物 12, DCC, DMAP, 4- 甲基 -3, 5- 二苄氧基苯甲酸 ; (i) H₂, Pd(OH)₂, THF, MeOH ; (j) Ac₂O, 吡啶 ; (k) 化合物 12, DCC, DMAP, 4- 苄氧基苯甲酸 ; (l) H₂, Pd(OH)₂, THF, MeOH ; (m) Ac₂O, 吡啶 ; (n) 化合物 12, DCC, DMAP, 4-N- 叔丁氧羰基苯甲酸 ; (o) 三氟乙酸, DCM ; (p) Ac₂O, 吡啶。

[0234]



[0235] 方案 3. (q) 3, 4, 5- 三氟苯甲酸, 化合物 12, DCC, 在 DCM 中的 DMAP ; (r) 3, 4- 二氟苯甲酸, 化合物 12, DCC, 在 DCM 中的 DMAP ; (s) 3, 5- 二氟苯甲酸, 化合物 12, DCC, 在 DCM 中的 DMAP。

[0236] 实验方法

[0237] 一般方法。起始原料和试剂购自商业供应商, 使用时未经进一步纯化。氮气下在 CaH_2 的存在下蒸馏无水二氯甲烷。真空下在 CaH_2 的存在下蒸馏无水 DMF。反应烧瓶在 N_2 流中进行直火烘干 (flame-dried)。所有湿度敏感反应均在氮气氛下进行。使用硅胶 60 (70-230 目) 进行快速色谱法。熔点未经校正。当 CDCl_3 、 CD_3OD 和丙酮- d_6 用作溶剂时, 用 TMS 作内标测量 ^1H -NMR 和 ^{13}C NMR (300MHz) 光谱。用 QTOF-2Micromass 光谱仪记录高分辨 (ESI) MS 谱。

[0238] 生物学测定

[0239] 材料。用于蛋白酶体糜蛋白酶样 (CT-样) 活性的纯化的兔 20S 蛋白酶体和荧光底物 Suc-LLVY-AMC 购自 Calbiochem Inc. (San Diego, CA)。胎牛血清 (FBS) 获得自 Tissue Culture Biologicals (Tulare, CA)。青霉素和链霉素购自 Invitrogen Co. (Carlsbad, CA)。RPMI1640 培养基购自 Invitrogen Co. (Carlsbad, CA)。MTT (3-4, 5- 二甲基噻唑-2-基-2, 5- 二苯基-四唑溴化物) 购自 Sigma-Aldrich。

[0240] 细胞培养。人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞购自美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection, Manassas, VA) 并如 Chen 等人, Cancer Res. (2006) 66, 10425 所述在补充有 10%FBS、100 单位 /ml 的青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的链霉素的 RPMI1640 或 D-MEM/F-12 培养基中生长。使细胞维持在 37°C 和 5% CO_2 下。

[0241] 人多发性骨髓瘤细胞 (Arp 和 Opml) 细胞, 由 Dr. Ramesh Batchu (Wayne State University) 惠赠, 在补充有 10%FBS、100 单位 /ml 青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素的 RPMI-1640 培养基中生长。使细胞维持在 37°C 、5% CO_2 下 (Mujtaba T 等人, Int J Mol Med. (2012) 29 (1):102-6)。

[0242] MTT 测定。细胞在 96 孔板中生长。以一式三份用所示浓度的 EGCG 或 EGCG 类似

物处理孔中的细胞 24 小时。吸出培养基后,然后将 MTT(1mg/ml) 加入到细胞培养物中,之后于 37℃ 下孵育 3 小时。细胞结晶后,除去 MTT 并加入 DMSO 以溶解代谢的 MTT 产物。在 540nm 用 Wallac Victor31420 多标记计数器 (Wallac Victor31420 Multi-label counter) 测定吸光度。

[0243] 蛋白质免疫印迹分析。如 Landis-Piwowar 等人, *Cancer Res.* (2007) 67, 4303; Chen 等人, *Cancer Res.* (2007) 67, 1636 和 Chen 等人, *Biochem. Pharm.* (2005) 69, 1421 所述的,由处理过的细胞制备全细胞提取物。细胞提取物 (30 μ g) 经 SDS-PAGE 凝胶分离并转移至硝酸纤维素膜。用特异性抗体对膜进行印迹,特异性抗体包括抗 -AMPK、p-AMPK、EGFR、p-EGFR (Cell Signaling Tech., Danvers, MA)、PARP (Enzo Life Sciences, Plymouth Meeting, PA)、肌动蛋白 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)。通过增强化学发光使膜可视化,如以前由 Landis-Piwowar 等人, *Cancer Res.* (2007) 67, 4303; Chen 等人, *Cancer Res.* (2007) 67, 1636 和 Chen 等人, *Biochem. Pharm.* (2005) 69, 1421 所述。

[0244] 流式细胞分析。将处理过的细胞用磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 洗涤一次,然后用细胞解离缓冲液 (无酶, Invitrogen, 目录 # 13150-016) 收获。分离的细胞用含 1% FCS 的 PBS (洗涤缓冲液) 洗涤,并重悬浮于洗涤缓冲液 (1,000 个细胞 / 100 μ l)。用获自 BD Biosciences (San Diego, CA) 的抗人 CD44 (FITC; 目录 #555478) 和 CD24 (PE; 目录 #555428) 的荧光标记的 (fluorochrome-conjugated) 单克隆抗体的组合或它们各自的同种型对照以制造商推荐的浓度对细胞进行染色,并于 4℃ 在黑暗中孵育 30 至 40 分钟。将标记的细胞在洗涤缓冲液中洗涤,然后固定于含 1% 多聚甲醛的 PBS 中,然后在 FACS Vantage (BD Biosciences) 上进行分析 (Sheridan 等人, *Breast Cancer Res.* (2006) 8, R59)。

[0245] 实施例 1

[0246] 顺式 -1, 2, 3, 4- 四氢萘 -2, 3- 二醇 (12) 的制备

[0247] 向 1, 4- 二氢萘 (500mg, 3.84mmol) 的丙酮 / H₂O (3.0/1.0mL) 溶液中加入 NMO 的 H₂O 溶液 (1.43mL, 50%wt, 6.90mmol) 和 OsO₄ 的 2- 甲基 -2- 丙醇溶液 (313 μ L, 2.5%wt., 25 μ mol)。将混合物在室温下搅拌 16 小时。加入饱和的 Na₂SO₃ 水溶液 (10mL), 再搅拌 15 分钟。加入 H₂O (10mL) 和 EtOAc (30mL) 并搅拌 5 分钟。水相用 EtOAc (4 $\times$ 30mL) 萃取。合并的有机相用盐水 (20mL) 洗涤,并用无水 Na₂SO₄ 干燥。溶液通过旋转蒸发器浓缩并真空干燥,得到粗产物,将粗产物通过硅胶色谱法 (己烷 / EtOAc / CH₂Cl₂ = 5/1/1) 纯化,得到 521.7mg (83%) 的标题化合物,其为白色固体。¹H NMR (丙酮 -d₆, 300MHz) δ 7.13 (m, 2H), 7.09 (m, 2H), 4.11 (t, J=5.4, 2H), 3.01 (m, 4H), 2.36 (s, 2H); ¹³C NMR (丙酮 -d₆, 75MHz) δ 132.87, 129.11, 126.25, 69.24, 34.32。

[0248] 单苯甲酸酯 14 和 19 的制备

[0249] 向对应的苯甲酸 (0.22mmol) 的干燥 CH₂Cl₂ (20mL) 溶液中加入二环己基碳二亚胺 (DCC, 45mg, 0.22mmol)。将所得混合物在室温下搅拌 4 小时。加入 4- 二甲基氨基吡啶 (DMAP, 3mg, 0.025mmol), 然后逐滴加入二醇 12 (33mg, 0.2mol) 的 CH₂Cl₂ (5mL) 溶液。将混合物在室温下搅拌过夜。然后将混合物浓缩,加入乙酸乙酯 (1mL),并在冰箱中冷却,过滤副产物并蒸发滤液。将所得的残留物通过柱色谱法 (乙酸乙酯 / 正己烷 = 1:3) 纯化,得到所期望的化合物,其为浅黄色无定形固体。

[0250] 化合物 14:

[0251] 白色固体 (61% 产率)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz) δ 7.43–7.13 (m, 22H), 5.48 (brs, 1H), 5.15 (s, 2H), 5.11 (s, 4H), 4.33 (s, 1H), 3.28–3.03 (m, 4H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz) δ 166.4, 152.7, 142.7, 137.6, 136.9, 133.3, 132.7, 129.5, 129.3, 128.9, 128.8, 128.5, 128.3, 127.8, 126.7, 126.6, 125.3, 109.4, 75.4, 73.4, 71.4, 69.8, 68.1, 35.0, 32.2。

[0252] 化合物 19

[0253] 白色固体 (65% 产率)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz) δ 7.44–7.13 (m, 16H), 6.82 (s, 1H), 5.50 (brs, 1H), 5.14 (s, 1H), 5.05 (s, 4H), 4.35 (s, 1H), 3.31–3.08 (m, 4H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz) δ 166.6, 160.0, 136.8, 133.4, 132.8, 132.3, 129.6, 129.3, 129.0, 128.5, 128.0, 126.7, 126.7, 108.9, 107.4, 73.7, 70.6, 68.0, 35.0, 32.1。

[0254] 二苯甲酸酯 15 和 20 的制备

[0255] 向化合物 12 (33mg, 0.2mmol) 的 CH_2Cl_2 (3.0mL) 溶液中加入对应的苯甲酸 (0.42mmol)、4-二甲基氨基吡啶 (DMAP, 6mg, 0.05mmol) 和二环己基碳二亚胺 (DCC, 87mg, 0.42mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜。然后将混合物浓缩, 加入 EtOAc (1mL), 并在冰箱中冷却, 过滤副产物并蒸发滤液。

[0256] 将所得的残留物通过柱色谱法 (EtOAc/正己烷=1:6) 纯化, 得到所期望的化合物, 其为白色无定形固体。

[0257] 化合物 15

[0258] 白色固体 (59% 产率)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz) δ 7.43–7.22 (m, 38H), 5.72 (brs, 1H), 5.01–4.96 (m, 12H), 3.38 (dd, $J=17.4\text{Hz}$, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 3.25 (dd, $J=17.4\text{Hz}$, $J=6.9\text{Hz}$, 1H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz) δ 165.7, 152.7, 142.7, 137.7, 136.7, 132.6, 129.4, 128.8, 128.7, 128.5, 128.3, 128.2, 127.8, 126.9, 125.2, 109.2, 75.3, 71.2, 70.5, 32.5。

[0259] 化合物 20

[0260] 白色固体 (71% 产率)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz) δ 7.42–7.18 (m, 28H), 6.74 (s, 1H), 5.72 (brs, 1H), 4.91 (m, 9H), 3.34 (m, 4H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz) δ 165.9, 160.0, 136.6, 132.5, 132.2, 129.4, 128.8, 128.4, 127.9, 126.8, 108.6, 107.8, 70.6, 70.4, 32.3。

[0261] 用于钯催化氢解的一般程序: 化合物 5、7、16 和 21 的制备

[0262] 向苯基化底物 (0.1mmol) 的 THF/MeOH (3mL, 1:2) 溶液中加入氢氧化钯 (20mg, 20% 在碳上)。将所得的混合物在室温下搅拌, 直至 TLC 显示反应完成 (在 6 小时内)。然后过滤反应混合物以除去催化剂。蒸发滤液, 得到产物, 其为白色固体。

[0263] 化合物 16

[0264] 白色固体 (95% 产率)。 ^1H NMR(CD_3OD , 300MHz) δ 7.13–7.01 (m, 6H), 5.39 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 3.14–3.06 (m, 4H); ^{13}C NMR(CD_3OD , 75MHz) δ 167.1, 145.2, 138.6, 133.5, 132.8, 129.0, 128.8, 126.1, 126.0, 120.6, 109.0, 72.5, 67.4, 34.4, 32.1; HRMS m/z 按 $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{Na}$ 计算为 339.0840, 实测为 339.0839。

[0265] 化合物 5

[0266] 白色固体 (95% 产率)。 ^1H NMR(CD_3OD , 300MHz) δ 7.21–7.16 (m, 4H), 7.09 (s, 4H), 5.61 (m, 2H), 3.37–3.25 (m, 4H); ^{13}C NMR(CD_3OD , 75MHz) δ 165.3, 145.1, 138.0, 132.8, 129.0, 126.3, 120.9, 109.0, 69.7, 31.9; HRMS m/z 按 $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_{10}\text{Na}$ 计算为 491.0947, 实测为 491.0949。

[0267] 化合物 21

[0268] 白色固体 (95% 产率)。 ^1H NMR(CD_3OD , 300MHz) δ 7.14–7.07 (m, 4H), 6.92 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 5.43 (m, 1H), 4.27 (m, 1H), 3.17–3.10 (m, 4H); ^{13}C NMR(CD_3OD , 75MHz) δ 170.6, 166.0, 134.2, 133.2, 132.9, 129.3, 129.1, 126.3, 126.2, 108.2, 107.4, 73.2, 67.2, 35.0, 32.1; HRMS m/z 按 $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{Na}$ 计算为 323.0891, 实测为 323.0890。

[0269] 化合物 7

[0270] 白色固体 (95% 产率)。 ^1H NMR(CD_3OD , 300MHz) δ 7.16 (s, 4H), 6.88 (s, 4H), 6.46 (s, 2H), 5.66 (m, 2H), 3.31 (m, 4H); ^{13}C NMR(CD_3OD , 75MHz) δ 166.3, 158.6, 132.5, 131.9, 128.9, 126.4, 107.7, 107.3, 70.4, 31.8; HRMS m/z 按 $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_8\text{Na}$ 计算为 459.1047, 实测为 459.1050。

[0271] 乙酸酯 6、8、17 和 22 的制备

[0272] 在室温下向相应的底物 (0.1mmol) 溶液中加入在吡啶 (0.5mL) 中的乙酸酐 (0.5mL)。将所得混合物搅拌过夜。然后加入 EtOAc (50mL) 和 1N HCl (1mL) 并用 CuSO_4 溶液 ($3 \times 10\text{mL}$)、水 ($2 \times 10\text{mL}$) 和盐水 (10mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥并蒸发。将残留物通过硅胶柱色谱法 (乙酸乙酯 / 正己烷 3:2) 纯化, 得到标题产物, 其为白色固体。

[0273] 化合物 17

[0274] 白色固体 (92% 产率)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz) δ 7.74 (s, 2H), 7.21–7.11 (m, 4H), 5.64 (m, 1H), 5.42 (m, 1H), 3.26–3.16 (m, 4H), 2.30 (s, 9H), 2.07 (s, 3H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz) δ 170.9, 167.8, 166.6, 164.1, 143.7, 139.0, 132.6, 132.3, 129.3, 128.6, 126.8, 126.7, 122.5, 70.9, 69.7, 32.5, 31.7, 21.4, 20.8, 20.4; HRMS m/z 按 $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{10}\text{Na}$ 计算为 507.1266, 实测为 507.1262。

[0275] 化合物 6

[0276] 白色固体 (94% 产率)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz) δ 7.73–7.70 (m, 4H), 7.22–7.14 (m, 4H), 5.68 (m, 2H), 3.31 (m, 4H), 2.28 (s, 18H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz) δ 167.9, 166.6, 164.1, 143.7, 139.1, 132.2, 129.4, 128.4, 126.9, 122.6, 71.1, 32.1, 20.8, 20.4; HRMS m/z 按 $\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{O}_{16}\text{Na}$ 计算为 743.1576, 实测为 743.1583。

[0277] 化合物 22

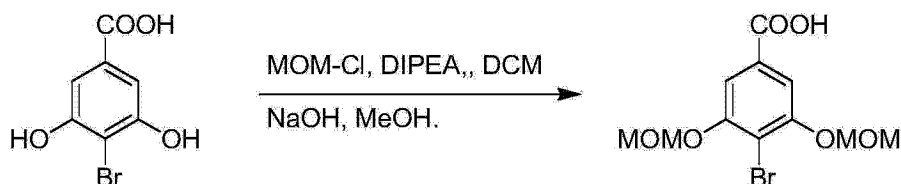
[0278] 白色固体 (90% 产率)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz) δ 7.60 (s, 2H), 7.21–7.11 (m, 5H), 5.64 (m, 1H), 5.44 (m, 1H), 3.26–3.17 (m, 4H), 2.31 (s, 6H), 2.08 (s, 3H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz) δ 170.9, 169.0, 164.6, 151.1, 132.6, 132.5, 132.3, 129.3, 126.8, 126.7, 120.7, 120.6, 70.8, 69.7, 32.4, 31.8, 21.4, 21.3; HRMS m/z 按 $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{Na}$ 计算为 449.1201, 实测为 449.1207。

[0279] 化合物 8

[0280] 白色固体 (91% 产率)。 ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz) δ 7.58 (s, 4H), 7.23–7.14 (m, 6H), 5.70 (m, 2H), 3.32 (m, 4H), 2.28 (s, 12H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz) δ 169.0, 164.6, 151.1, 132.3, 132.2, 129.4, 126.9, 120.8, 120.6, 71.0, 32.1, 21.2; HRMS m/z 按 $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{O}_{12}\text{Na}$ 计算为 627.1468, 实测为 627.1473。

[0281] 化合物 23 和 24

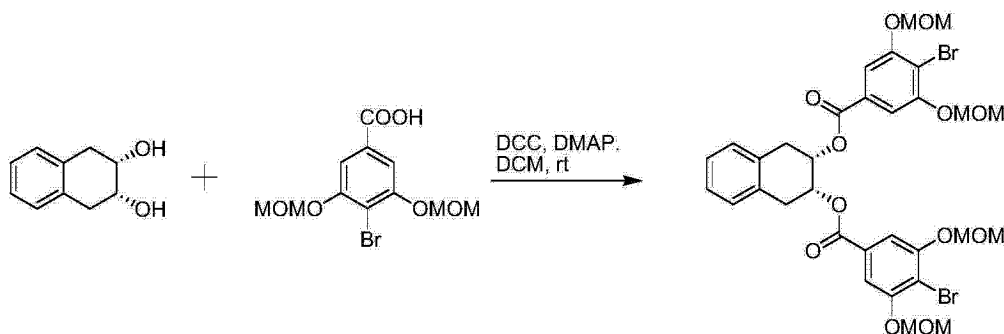
[0282]



[0283] 在 0℃ 下向 4-溴-3,5-二羟基苯甲酸 (500mg, 2.1mmol) 的干燥 DCM 溶液中逐滴加入二异丙基乙胺 (2.49g, 18.9mmol), 之后逐滴加入甲氧基甲基氯化物 (methoxymethyl chloride) (1.5g, 18.9mmol) 并在室温下搅拌 48 小时。TLC 显示反应完成后, 将反应混合物用饱和 NH_4Cl 溶液 (10ml) 淬灭 (quench) 并用 DCM 萃取两次。除去溶剂, 得到中间体醚酯。

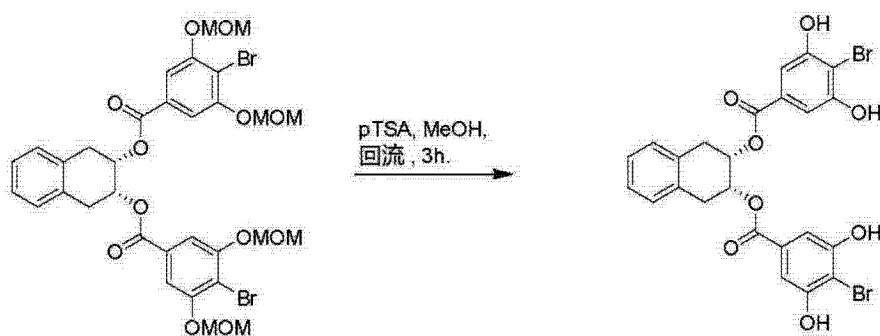
[0284] 向该醚酯的 MeOH (80ml) 溶液中加入 15%NaOH 的 MeOH (80ml) 溶液, 将整体在 70℃ 加热 3 小时。在 0℃ 下通过加入 6N HCl 将反应的 pH 调节至 5-6, 之后过滤。获得 MOM 保护的苯甲酸, 其为白色固体, m. p. 172℃, (400mg, 60% 产率); ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 7.54 (s, 2H), 5.32 (s, 4H), 3.53 (s, 6H); ^{13}C NMR (400MHz, $\text{d}_4\text{-CH}_3\text{OH}$) δ : 167.3, 154.8, 130.7, 109.6, 108.5, 94.8, 55.2; 负 ESI MS m/z : 318 (M^-); HRMS (ESI) m/z 按 $(\text{M}-\text{H})\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{BrO}_6$ 计算为 318.9811, 实测为 318.9824。

[0285]



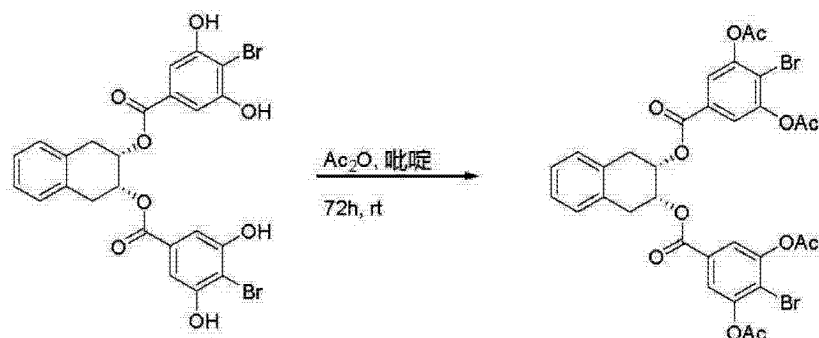
[0286] 将上述获得的酸 (466mg, 1.4mmol) 和二环己基碳二亚胺 (296mg, 1.4mmol) 置于干燥的 DCM 中并在室温下搅拌 1 小时。然后加入 4-二甲基氨基吡啶 (14mg, 0.08mmol) 和二醇 12 (100mg, 0.6mmol), 并在室温下搅拌。24 小时后, 滤出形成的沉淀物, 并通过柱色谱法 (3:7, 乙酸乙酯:己烷) 纯化, 得到产物, 其为透明白色固体, m. p. 138℃, (400mg, 85% 产率); ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 7.41 (s, 4H), 7.22-7.16 (m, 4H), 5.71-5.65 (m, 2H), 5.2 (s, 8H), 3.42 (s, 12H), 3.38-3.22 (m, 4H); ^{13}C NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 165.0, 154.8, 132.0, 130.1, 129.0, 126.5, 110.2, 109.8, 95.1, 70.6, 56.4, 32.0; ESI MS m/z : 793 (M^+Na); HRMS (ESI) m/z 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{32}\text{H}_{34}^{79}\text{Br}_2\text{O}_{12}\text{Na}$ 计算为 791.0309, 实测为 791.0338。

[0287]



[0288] 将对甲苯磺酸 (35mg, 0.18mmol) 加入到上述获得的二酯底物 (350mg, 0.45mmol) 的 MeOH 溶液中并回流 3 小时。反应完成后, 将反应混合物用固体 NaHCO_3 中和, 过滤, 并用 NaSO_4 干燥。通过柱色谱法纯化, 得到产物 23, 其为白色固体, m. p. 164°C , (180mg, 65% 产率); ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 3.4–3.2 (m, 4H), 5.75–5.6 (m, 2H), 7.11 (s, 4H), 7.20 (s, 4H), 9.13 (brs, 4H); ^{13}C NMR (400MHz, $\text{d}_3\text{-CH}_3\text{Cl}$) δ : 205.4, 164.8, 155.3, 132.4, 130.2, 129.0, 126.4, 107.8, 70.2, 31.6; ESI MS m/z : 594 (M)。

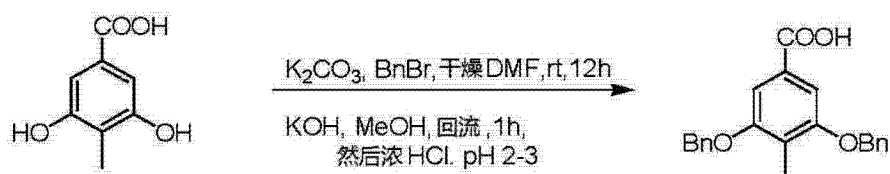
[0289]



[0290] 向化合物 23 (80mg, 0.16mmol) 中加入乙酸酐 (1ml) 和吡啶 (1ml) 并于室温搅拌 3 天。反应完成后, 将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 并用 1N HCl (10ml)、 CuSO_4 水溶液 (10ml $\times$ 3)、盐水 (10ml $\times$ 3) 洗涤, 并用 Na_2SO_4 干燥。通过柱色谱法纯化, 得到化合物 24, 其为白色固体, m. p. 158°C , (80mg, 62% 产率); ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 2.33 (s, 12H), 3.41–3.35 (m, 4H), 5.8–5.7 (m, 2H), 7.2 (s, 4H), 7.7 (s, 4H); ^{13}C NMR (400MHz, $\text{d}_6\text{-丙酮}$) δ : 205.2, 167.6, 163.6, 149.7, 132.2, 130.8, 129.0, 126.4, 121.9, 117.3, 71.0, 31.3, 19.7; ESI MS m/z : 785 (M^+23); HRMS (ESI) m/z , 按 (M^+Na) $\text{C}_{32}\text{H}_{26}^{79}\text{Br}_2\text{O}_{12}\text{Na}$ 计算为 782.9683, 实测为 782.9714。

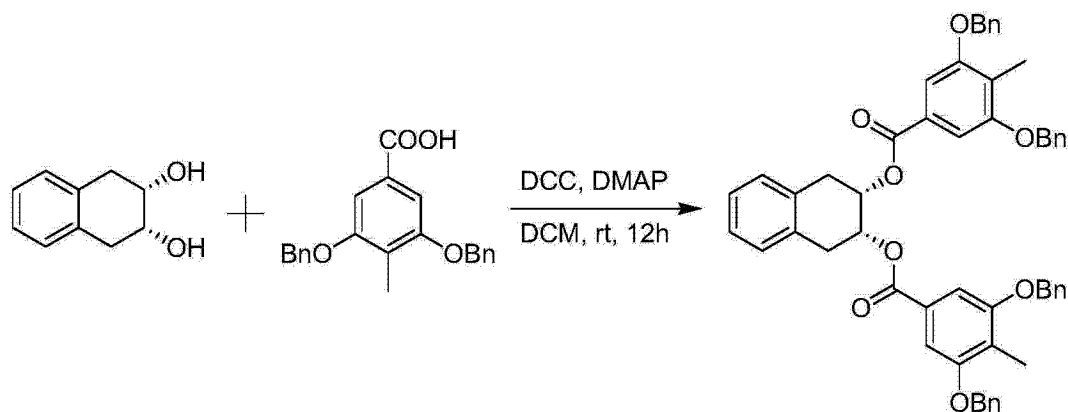
[0291] 化合物 25 和 26

[0292]



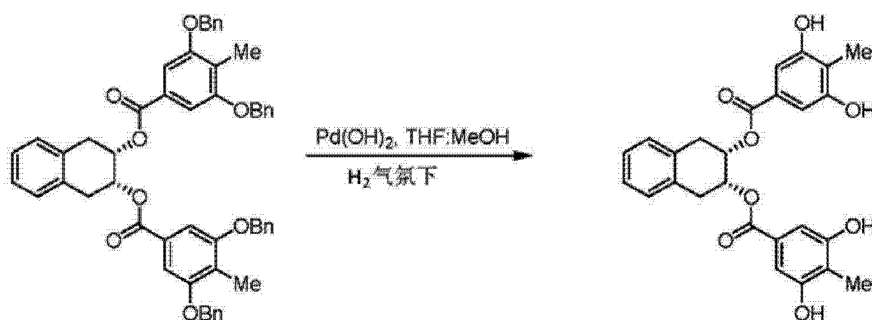
[0293] 将 4-甲基-3,5-二羟基苯甲酸 (1g, 5.9mmol)、 K_2CO_3 (2.9g, 21mmol) 和 BnBr (3.12g, 18.2mmol) 溶解于干燥的 DMF 中并搅拌 12 小时。将水加入到反应混合物中, 并用 EtOAc 萃取三次。将合并的有机相蒸发并溶解于 8N KOH 的 MeOH (50ml) 溶液中, 再回流 1 小时。反应完成后, 将混合物用浓 HCl 酸化至 pH 2–3。过滤所形成的沉淀物, 溶解于 EtOAc 中, 用水、盐水洗涤, 并用 NaSO_4 干燥。除去溶剂得到粗苄氧基苯甲酸, 用乙酸乙酯使其通过小硅藻土垫, 得到纯产物, 其为白色固体, m. p. 220°C , (1.4g, 70% 产率); ^1H NMR (400MHz, $\text{d}_6\text{-丙酮}$) δ : 7.55–7.32 (m, 12H), 5.22 (s, 4H), 2.23 (s, 3H); ^{13}C NMR (500MHz, $\text{d}_6\text{-丙酮}$) δ : 166.5, 157.2, 137.4, 128.9, 128.4, 127.7, 127.3, 120.3, 106.3, 70.0, 8.4; ESI MS m/z : 347 (M-H); HRMS (ESI) m/z , 按 (M^+Na) $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Na}$ 计算为 371.1253, 实测为 371.1264。

[0294]



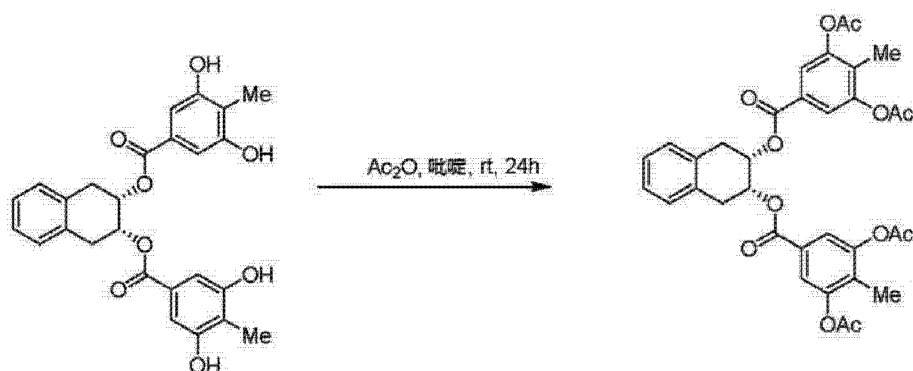
[0295] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、上述获得的酸 (217mg, 0.61mmol)、二环己基碳二亚胺 (263mg, 0.61mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (18mg, 0.07mmol) 溶解在干燥的 DCM 中, 并在室温下搅拌 12 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到产物, 其为白色固体, m. p. 78℃, (120mg, 48% 产率): ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 2.16 (s, 6H), 3.2-3.4 (dt, 4H), 4.88 (q, 8H), 5.71 (t, 2H), 7.2-7.32 (m, 28H); ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3) δ : 165.8, 157.1, 136.8, 132.3, 129.0, 128.4, 128.0, 127.8, 127.2, 126.6, 121.6, 106.2, 70.1, 70.0, 32.1, 9.1; ESIMS m/z : 847 (M+Na); HRMS (ESI) m/z , 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{54}\text{H}_{48}\text{O}_8\text{Na}$ 计算为 847.3241, 实测为 847.3254。

[0296]



[0297] 将 $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (60mg, 20%wt) 加入到底物 (300mg, 0.3mmol) 的 THF:MeOH (1:2, 6ml) 溶液中, 并将反应混合物在室温下搅拌 3 小时。起始原料完全转化为产物之后, 滤出 $\text{Pd}(\text{OH})_2$, 并除去溶剂, 得到产物 25, 其为白色固体, m. p. 142℃, (166mg, 99% 产率): ^1H NMR (500MHz, d_6 -丙酮) δ : 8.42 (s, 4H), 7.14 (s, 4H), 7.0 (s, 4H), 5.6 (t, 2H), 3.38-3.22 (m, 4H), 2.07 (s, 6H); ^{13}C NMR (500MHz, d_6 -丙酮) δ : 165.4, 156.1, 132.6, 128.9, 128.2, 126.3, 116.7, 107.5, 69.8, 31.7, 8.0; ESI MS m/z : 463 (M-H); HRMS (ESI) m/z , 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{Na}$ 计算为 487.1363, 实测为 487.1370。

[0298]



[0299] 向化合物 25 (50mg, 0.1mmol) 中加入乙酸酐 (1ml) 和吡啶 (1ml) 并在室温下搅拌 24 小时。反应完成后, 将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 并用 1N HCl (10ml)、硫酸铜 (10ml×3)、盐水 (10ml×3) 洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥。通过柱色谱法纯化得到化合物 26, 其为白色固体, m. p. 110 °C, (60mg, 88% 产率); ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 7.53 (s, 4H), 7.25 – 7.15 (m, 4H), 5.66 (t, 2H), 3.4 – 3.29 (m, 4H), 2.31 (s, 12H), 2.01 (s, 6H); ^{13}C NMR (500MHz, $\text{d}_3\text{-CH}_3\text{Cl}$) δ : 168.6, 164.4, 149.8, 132.1, 129.5, 129.1, 128.9, 126.5, 121.0, 70.6, 31.9, 20.6, 10.4; ESI MS m/z: 655 (M+Na); HRMS (ESI) m/z, 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_{12}\text{Na}$ 计算为 655.1786, 实测为 655.1800。

[0300] 化合物 27 和 28

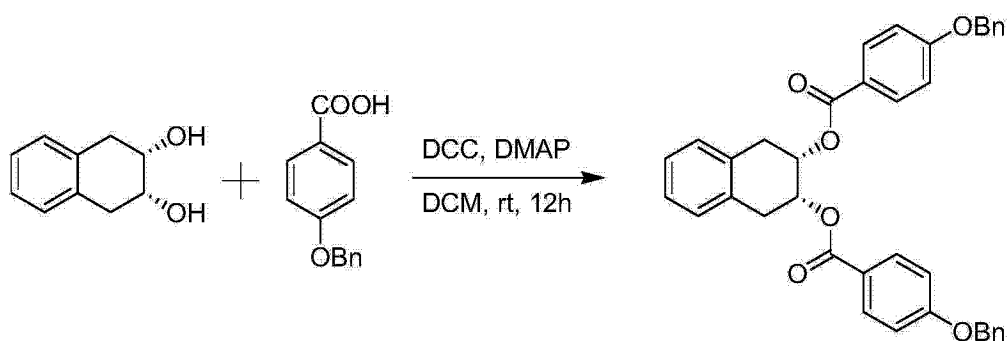
[0301] 4-苄氧基苯甲酸

[0302]



[0303] 将 4-羟基苯甲酸 (2g, 14.4mmol)、 K_2CO_3 (4.1g, 30mmol) 和 BnBr (5.4g, 30mmol) 溶解于干燥的 DMF 中并搅拌 12 小时。将水加入到反应混合物中, 并用 EtOAc 萃取三次。蒸发合并的有机相并溶解在 8N KOH 的 MeOH (50mL) 溶液中, 再回流 1 小时。反应完成后, 将混合物用浓 HCl 酸化至 pH2-3。过滤所形成的沉淀物, 溶解在 EtOAc 中, 并用水、盐水洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥。除去溶剂得到粗 4-苄氧基苯甲酸, 用乙酸乙酯使其通过小硅藻土垫, 得到纯产物, 其为白色固体, m. p. 189–191 °C (2.4g, 72% 产率); ^1H NMR (400MHz, $\text{d}_6\text{-丙酮}$) δ : 11.0 (brs, 1H), 8.01 (s, 2H), 7.51–7.34 (m, 5H), 7.12 (d, 2H), 5.22 (s, 2H)。

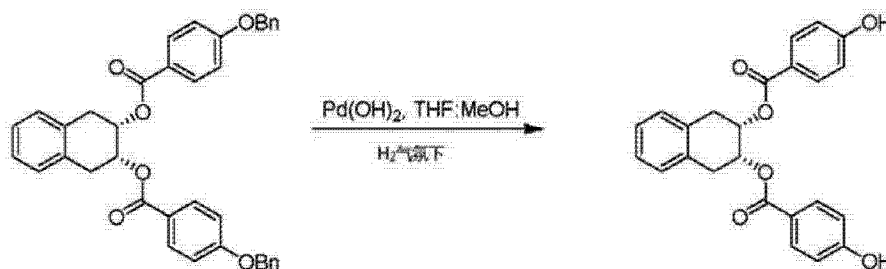
[0304]



[0305] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、4-苄氧基苯甲酸 (291mg, 0.61mmol)、二环己基碳二

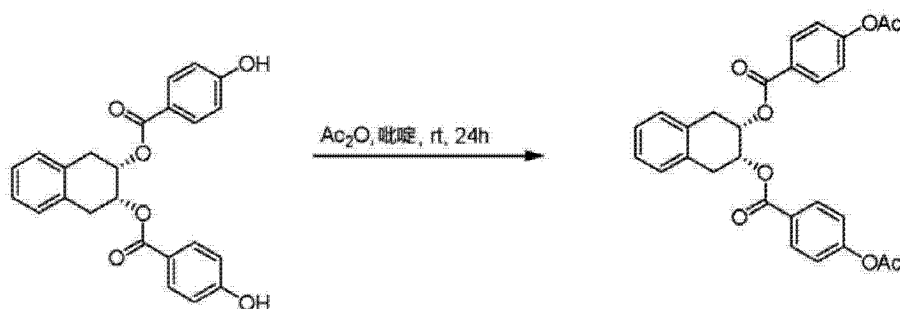
亚胺 (263mg, 0.61mmol) 和 4-二甲基氨基吡啶 (9mg, 0.07mmol) 溶解在干燥的 DCM 中并在室温下搅拌 12 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 并将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到产物, 为白色固体, m. p. 134°C, (115mg, 64% 产率): ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 3.23 – 3.4 (m, 4H), 5.09 (2, 4H), 5.67 (t, 2H), 6.93 (d, 4H), 7.14 – 7.41 (m, 14H), 7.92 (d, 4H); ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3) δ : 165.6, 162.5, 136.1, 132.5, 131.7, 129.1, 128.6, 128.2, 127.4, 126.4, 122.7, 114.4, 70.0, 69.9, 32.2; ESI MS m/z: 607 (M+Na); HRMS (ESI) m/z, 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{38}\text{H}_{32}\text{O}_6\text{Na}$ 计算为 607.2091, 实测为 607.2101。

[0306]



[0307] 将 $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (40mg, 20%wt) 加入到上述所获得的底物 (230mg, 0.3mmol) 的 THF:MeOH (1:2, 6ml) 溶液中, 并将反应混合物在室温下搅拌 3 小时。起始原料完全转化为产物之后, 滤出 $\text{Pd}(\text{OH})_2$ 并除去溶剂, 得到化合物 27, 其为白色固体, m. p. 142°C, (155mg, 98% 产率): ^1H NMR (400MHz, d_6 -丙酮) δ : 7.82 (d, 4H), 7.22–7.17 (m, 4H), 6.84 (d, 4H), 5.65 (t, 2H), 3.32 (dt, 4H); ^{13}C NMR (500MHz, d_6 -丙酮) δ : 165.2, 162.6, 132.8, 131.6, 129, 126.2, 120.9, 115.2, 69.6, 31.9; ESI MS m/z: 403 (M-H); HRMS (ESI) m/z, 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{Na}$ 计算为 427.1152, 实测为 427.1164。

[0308]



[0309] 向化合物 27 (40mg, 0.09mmol) 中加入乙酸酐 (1ml) 和吡啶 (1ml), 并在室温下搅拌 24 小时。反应完成后, 将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 并用 1N HCl (10ml)、硫酸铜 (10ml × 3)、盐水 (10ml × 3) 洗涤, 并用 Na_2SO_4 干燥。通过柱色谱法纯化, 得到化合物 28, 其为白色固体, m. p. 150°C, (42mg, 88% 产率): ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 8.01 (d, 4H), 7.2 – 7.11 (m, 8H), 5.7 (t, 2H), 3.33 (4H), 2.3 (s, 6H); ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3) δ : 168.8, 165.1, 154.4, 132.2, 131.2, 129.1, 127.6, 126.5, 121.6, 70.3, 32.1, 21.1; ESI MS m/z: 511 (M+Na); HRMS (ESI) m/z, 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{Na}$ 计算为 511.1387, 实测为 511.1375。

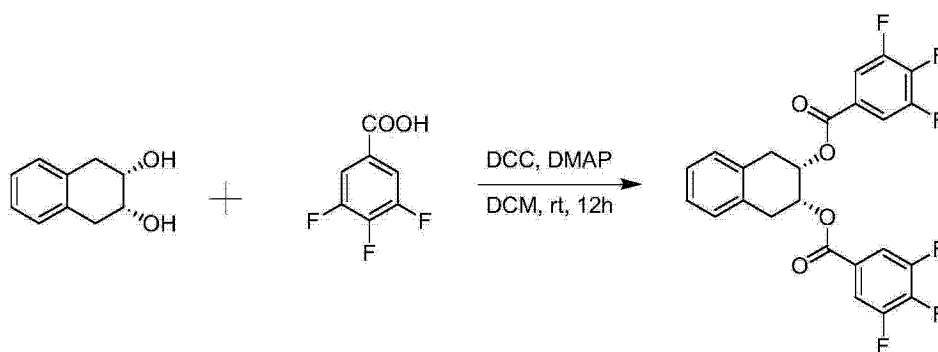
[0310] 化合物 29、30 和 31

[0311]

[0316] 将化合物 30 (40mg, 0.09mmol)、乙酸酐 (0.5ml) 和吡啶 (0.5ml) 在室温下搅拌 24 小时。反应完成后, 加入乙酸乙酯并搅拌 5 分钟, 然后加入 1N HCl (1ml), 再搅拌 5 分钟。将溶液用 CuSO_4 溶液 ($2 \times 10\text{ml}$)、水 ($2 \times 10\text{ml}$)、盐水 ($2 \times 10\text{ml}$) 洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥, 并通过柱色谱法纯化, 得到化合物 31, 其为白色固体, m. p. 128°C , (40mg, 82% 产率); ^1H NMR (300MHz, $\text{d}_2\text{-DCM}$) δ : 2.14 (s, 6H), 3.34–3.24 (m, 4H), 5.5.72–5.62 (m, 2H), 7.18 (s, 4H), 7.55 (d, 4H), 7.90 (d, 6H); ^{13}C NMR (300MHz, $\text{d}_2\text{-DCM}$) δ : 169.7, 165.5, 142.9, 132.4, 130.6, 129.0, 126.3, 124.9, 118.7, 70.0, 31.9, 24.0; ESI MS m/z : 509 (M+Na); HRMS (ESI) m/z , 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ 计算为 509.1683, 实测为 509.1702。

[0317] 化合物 32

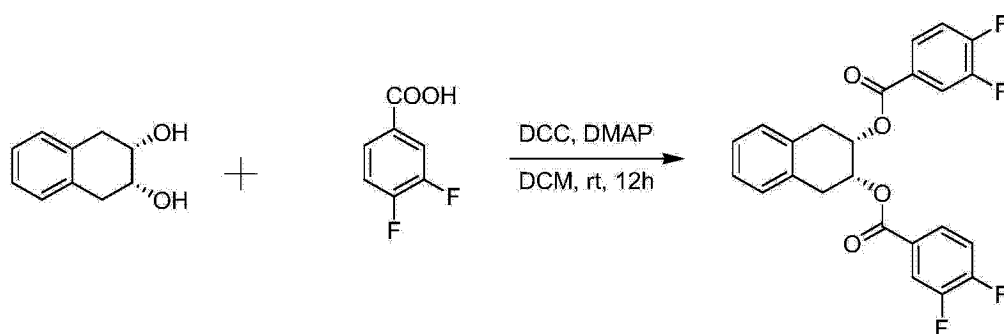
[0318]



[0319] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、3,4,5-三氟苯甲酸 (109mg, 0.61mmol)、DCC (128mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM 中, 并在室温下搅拌 12 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到产物, 为白色固体, m. p. $118 - 120^\circ\text{C}$ (80mg, 54% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 3.4 – 3.24 (m, 4H), 5.70 (t, 2H), 7.30 – 7.18 (m, 14H), 7.65 – 7.55 (m, 4H); ^{13}C NMR (300MHz, CDCl_3) δ : 31.8, 71.0, 77.4, 114.1, 114.2, 114.3, 114.4, 125.6, 125.7, 126.8, 129.1, 131.5, 141.5, 141.7, 144.8, 145.0, 145.2, 149.2, 149.3, 149.4, 152.5, 152.6, 152.7, 152.7, 163.2。

[0320] 化合物 33

[0321]

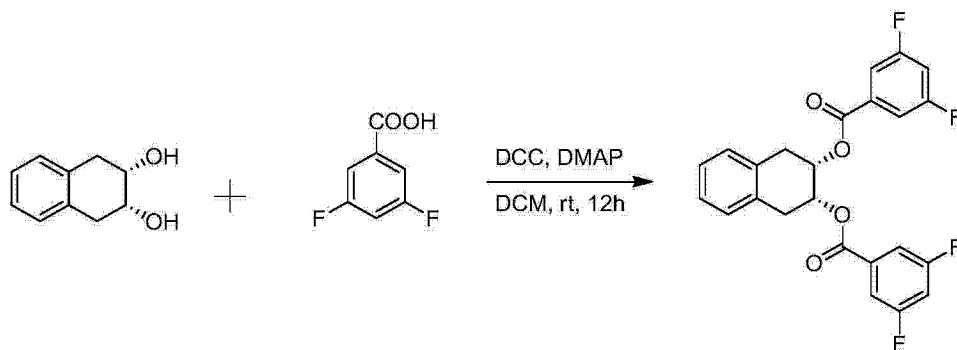


[0322] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、3,4-二氟苯甲酸 (101mg, 0.61mmol)、DCC (131mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM 中并在室温下搅拌 12 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到产物, 其为白色固体, m. p. $102 - 104^\circ\text{C}$ (91mg, 66% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3)

δ : 3.4 - 3.3 (m, 4H), 5.71 (t, 2H), 7.28 - 7.15 (m, 6H), 7.80 - 7.70 (m, 4H); ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3) δ : 164.0, 164.0, 154.8, 154.7, 152.7, 152.6, 151.1, 151.0, 149.0, 131.8, 129.1, 126.9, 126.9, 126.9, 126.8, 126.7, 126.6, 126.6, 126.6, 126.6, 119.0, 118.9, 118.9, 117.5, 117.3, 70.6, 31.9; HRMS (ESI) m/z , 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{F}_4\text{Na}$ 计算为 467.0876, 实测为 467.0885。

[0323] 化合物 34

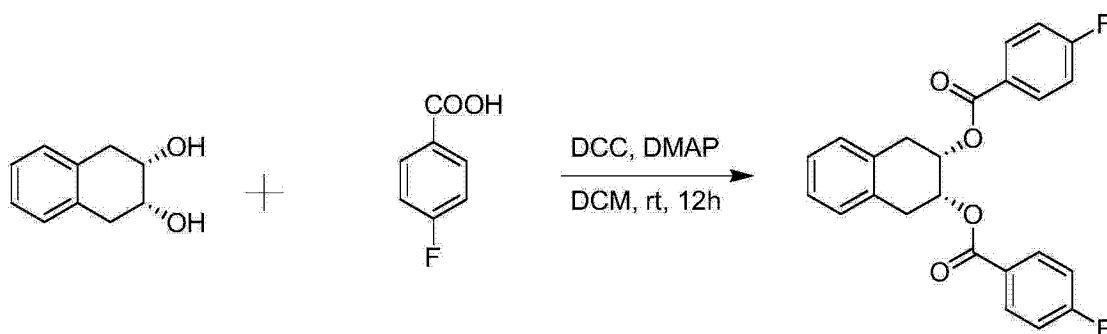
[0324]



[0325] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、3,5-二氟苯甲酸 (101mg, 0.61mmol)、DCC (131mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM 中, 并在室温下搅拌 12 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到产物, 其为白色固体, m. p. 136 - 138°C (91mg, 66% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 3.4 - 3.30 (m, 4H), 5.72 (t, 2H), 7.02-6.98 (m, 2H) 7.30 - 7.18 (m, 4H), 7.47 - 7.40 (m, 4H); ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3) δ : 164.4, 164.3, 163.8, 163.8, 163.7, 161.1, 161.0, 133.1, 133.0, 132.9, 131.7, 129.1, 126.7, 112.8, 112.7, 112.6, 112.5, 109.0, 108.7, 108.3, 70.9, 31.8; HRMS (ESI) m/z , 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{F}_4\text{Na}$ 计算为 467.0876, 实测为 467.0886。

[0326] 化合物 46

[0327]

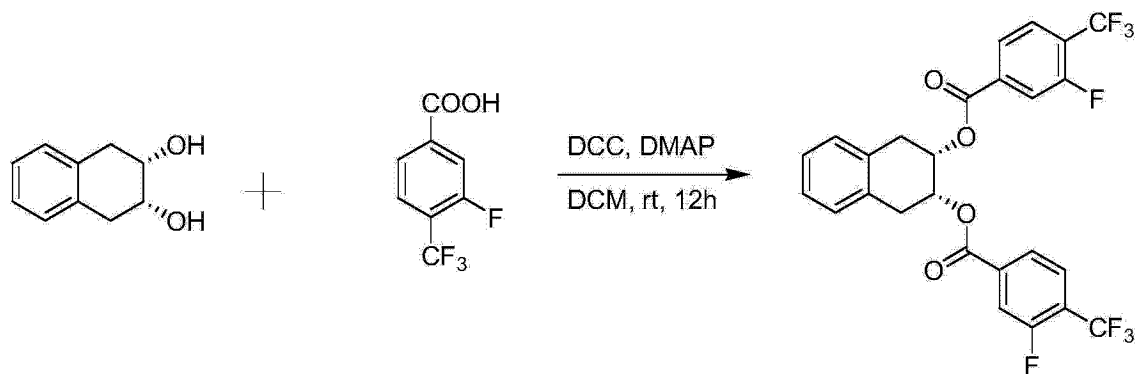


[0328] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、4-氟苯甲酸 (87mg, 0.61mmol)、DCC (128mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM 中, 并在室温下搅拌 12 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到纯的化合物 46, 其为白色固体, m. p. 108 - 110°C (30mg, 24% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 7.99 - 7.96 (m, 4H), 7.25 - 7.04 (m, 8H), 5.71 (m, 2H), 3.4 - 3.33 (m, 4H); ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3) δ : 166.8, 164.9, 164.8, 132.2, 132.1, 129.1, 126.5, 126.2, 126.2, 115.6, 115.4, 70.3, 32.0; HRMS (ESI) m/z 按 $(\text{M}^+\text{Na})\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{F}_2\text{Na}$ 计算为 431.10654, 实测为

431.10680。

[0329] 化合物 47

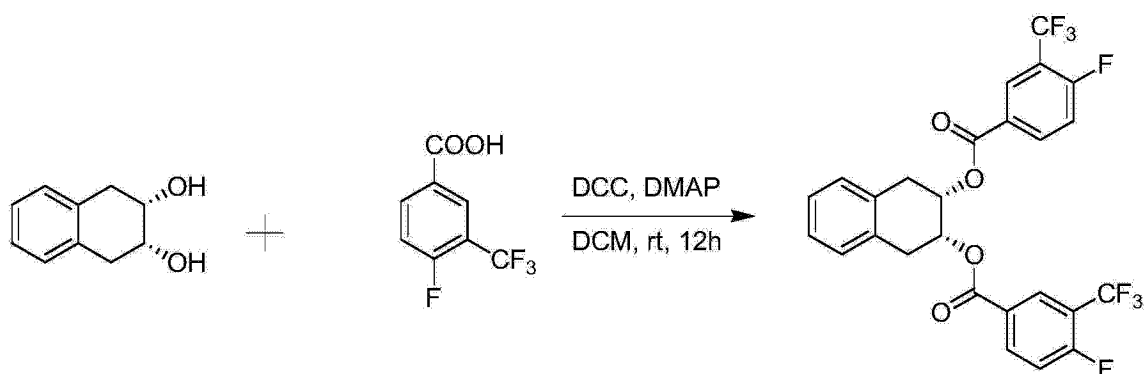
[0330]



[0331] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、3-氟-4-三氟甲基苯甲酸 (133mg, 0.61mmol)、DCC (128mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM 中, 并在室温下搅拌 12 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到化合物 47, 其为白色固体。m. p. 91–93 °C (90mg, 54% 产率)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 7.85 – 7.65 (m, 6H), 7.25 – 7.18 (m, 4H), 5.79 – 5.77 (m, 2H), 3.4 – 3.33 (m, 4H); ¹³C NMR (500MHz, CDCl₃) δ : 163.6, 163.6, 160.5, 160.5, 158.5, 158.5, 135.5, 135.5, 135.4, 131.6, 129.1, 127.5, 127.5, 127.5, 127.4, 126.8, 125.2, 125.1, 123.0, 122.7, 122.6, 122.4, 122.3, 120.9, 120.9, 118.1, 117.9, 71.1, 31.8; MS/HRMS (ESI) m/z 按 (M⁺Na) C₂₆H₁₆O₄F₈Na 计算为 567.0813, 实测为 567.0827。

[0332] 化合物 48

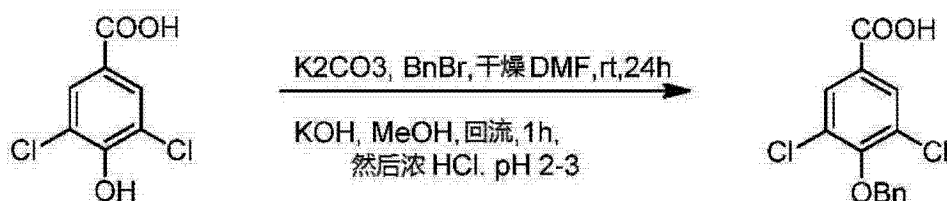
[0333]



[0334] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、3-三氟甲基-4-氟苯甲酸 (130mg, 0.61mmol)、DCC (128mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM 中, 并在室温下搅拌 12 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到化合物 48, 其为白色固体。m. p. 100–102 °C (80mg, 48% 产率)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 8.23 – 8.16 (m, 4H), 7.26 – 7.18 (m, 6H), 5.77 – 5.76 (m, 2H), 3.4 – 3.34 (m, 4H); ¹³C NMR (500MHz, CDCl₃) δ : 163.8, 163.7, 163.7, 161.6, 161.6, 135.5, 135.5, 131.7, 129.3, 129.3, 129.2, 129.1, 126.8, 126.4, 126.4, 122.9, 120.8, 119.1, 119.0, 118.8, 118.7, 117.4, 117.2, 70.8, 31.9; HRMS (ESI) m/z 按 (M⁺Na) C₂₆H₁₆O₄F₈Na 计算为 567.0813, 实测为 567.0819。

[0335] 4-苄氧基-3,5-二氯苯甲酸

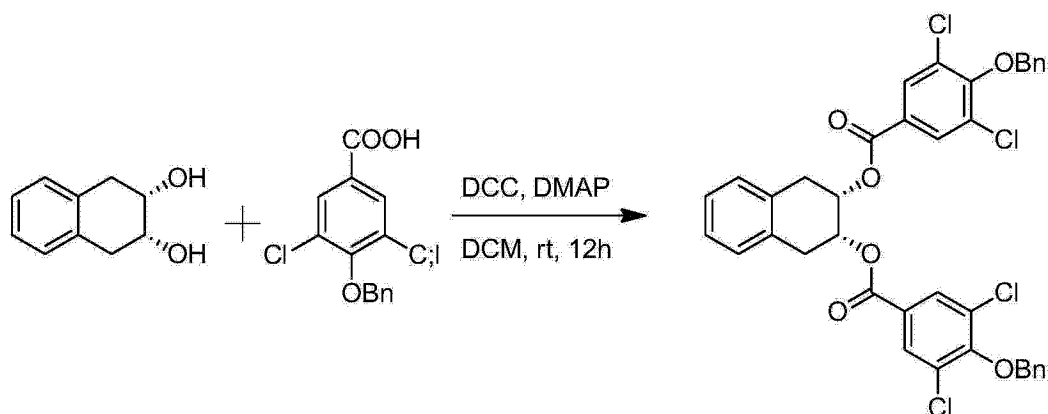
[0336]



[0337] 将 4-羟基-3,5-二氯-苯甲酸 (2g, 9.6mmol)、 K_2CO_3 (4.1g, 20.2mmol) 和 BnBr (5.4g, 20.1mmol) 溶解于干燥的 DMF 中并搅拌 24 小时。将水加入到反应混合物中, 并用 EtOAc 萃取三次。蒸发合并的有机相, 并溶解于 8N KOH 的 MeOH (50mL) 溶液中, 再回流 1 小时。反应完成后, 将混合物用浓 HCl 酸化至 pH2-3。滤出所形成的沉淀物, 溶解在 EtOAc 中, 并用水、盐水洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥。除去溶剂, 得到产物, 其为浅黄色固体 (2.1g, 74% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, d_6 -丙酮) δ : 11.8 (brs, 1H), 8.01 (s, 2H), 7.59 (d, 2H), 7.42 (d, 3H), 5.1 (s, 2H); ^{13}C NMR (400MHz, d_6 -丙酮) δ : 164.1, 136.1, 130.2, 129.6, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 75.0。

[0338] 1,4-二氢萘-2,3-二基二-4-苄氧基-3,5-二氯苯甲酸酯

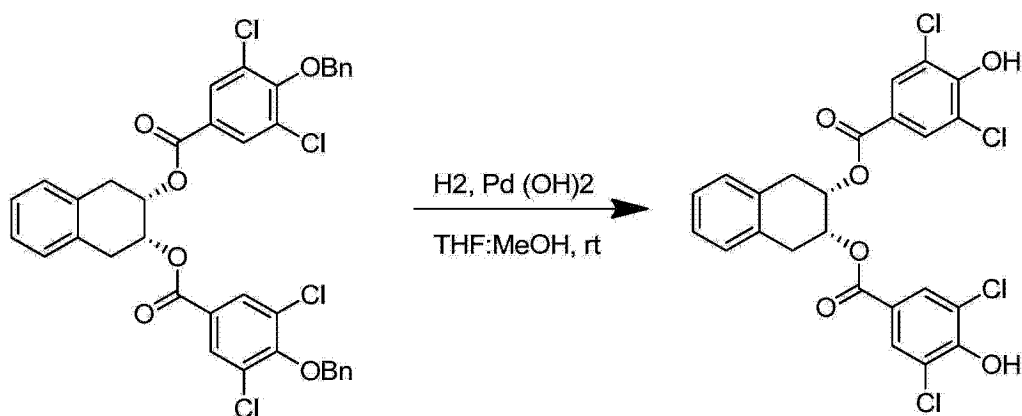
[0339]



[0340] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、4-苄氧基-3,5-二氯-苯甲酸 (185mg, 0.61mmol)、DCC (128mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM 中, 并在室温下搅拌 24 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到产物, 其为白色固体, m. p. 134 - 136 $^{\circ}\text{C}$ (125mg, 58% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 7.9 (s, 4H), 7.54 - 7.52 (m, 4H), 7.40 - 7.37 (m, 6H), 7.25 - 7.19 (m, 4H), 5.71 (t, 2H), 5.09 (s, 4H), 3.33 (d, 4H); ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3) δ : 163.4, 155.0, 135.6, 131.7, 130.3, 130.0, 129.1, 128.6, 128.5, 128.5, 127.1, 126.7, 75.2, 70.8, 31.8。

[0341] 化合物 49

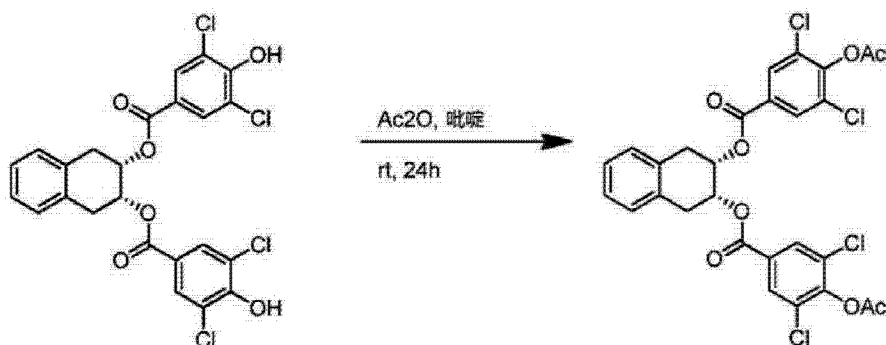
[0342]



[0343] 将二苯甲酸酯底物 (120mg, 0.16mmol) 溶解于 THF:MeOH(1:2) 中, 加入 $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (20mg), 并在室温、 H_2 气氛下搅拌 3 小时。TLC 显示反应完成后, 将反应混合物通过小硅藻土垫过滤, 减压除去溶剂, 并通过柱色谱法纯化, 得到化合物 49, 其为白色固体, m. p. $98 - 100^\circ\text{C}$ (78mg, 86% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, d_6 -丙酮) δ : 9.8 (brs, 1H) 7.88 (s, 4H), 7.21 (s, 4H), 5.78-5.72 (m, 2H), 3.41-3.35 (m, 4H); ^{13}C NMR (400MHz, d_6 -丙酮) δ : 163.3, 153.3, 132.3, 129.7, 128.9, 126.4, 123.0, 121.8, 70.6, 31.5。

[0344] 化合物 50

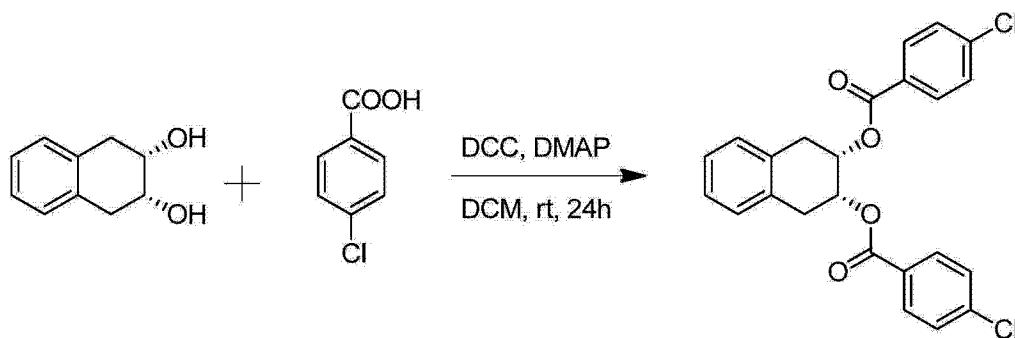
[0345]



[0346] 将底物 (50mg, 0.09mmol) 加入到 Ac_2O (1mL) 和吡啶 (1mL) 中并在室温下搅拌 24 小时。反应完成后, 将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 并用 1N HCl (10mL)、 CuSO_4 (10mL $\times$ 3)、盐水 (10mL $\times$ 3) 洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥, 并通过柱色谱法纯化, 得到化合物 50, 其为白色固体, m. p. $95 - 97^\circ\text{C}$ (48mg, 80% 产率)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 7.93 (s, 4H), 7.3 - 7.18 (m, 4H), 5.78 - 5.71 (m, 2H), 3.38 - 3.3 (m, 4H), 2.4 (s, 6H); ^{13}C NMR (500MHz, CDCl_3) δ : 166.6, 163.3, 147.8, 131.6, 129.8, 129.4, 129.1, 129.1, 126.8, 71.0, 31.8, 21.0。

[0347] 化合物 51

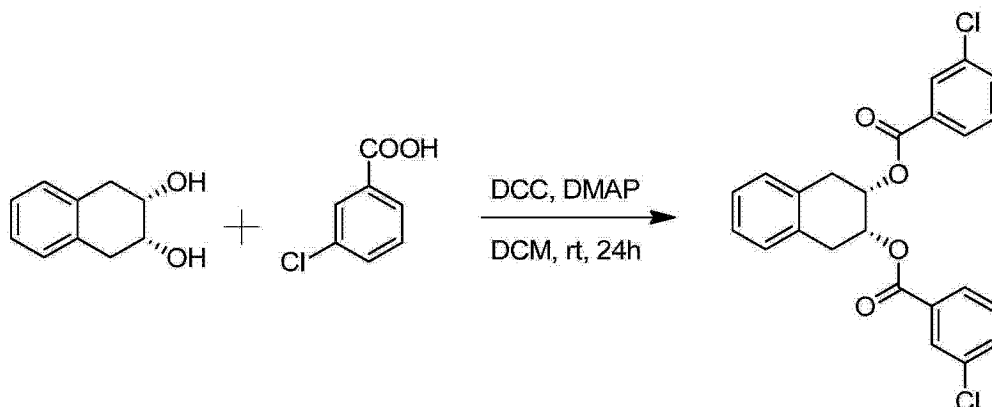
[0348]



[0349] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、4-氯苯甲酸 (97mg, 0.61mmol)、DCC (128mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM 中, 并在室温下搅拌 24 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到化合物 51, 其为白色固体, m. p. 145-147 °C (102mg, 75% 产率)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 7.9 (d, 4H), 7.36 (d, 4H), 7.25 - 7.15 (m, 4H), 5.72 (t, 2H), 3.33 (d, 4H); ¹³C NMR (500MHz, CDCl₃) δ : 165.1, 139.6, 132.1, 131.0, 129.1, 128.7, 128.4, 126.6, 70.3, 32.0。

[0350] 化合物 52

[0351]



[0352] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、3-氯苯甲酸 (97mg, 0.61mmol)、DCC (128mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM 中, 并在室温下搅拌 24 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc, 并在冰箱中保存 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 并将粗产物通过柱色谱法纯化, 得到化合物 52, 其为白色固体, m. p. 153 - 155 °C (98mg, 73% 产率)。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ : 7.95 (2, 2H), 7.90 (d, 2H), 7.50 (d, 2H), 7.35 (t, 2H), 7.22 - 7.18 (m, 4H), 5.74 (t, 2H), 3.41-3.32 (m, 4H); ¹³C NMR (500MHz, CDCl₃) δ : 164.8, 134.5, 133.2, 132.0, 132.0, 131.7, 129.7, 129.7, 129.1, 127.8, 126.8, 70.5, 31.9。

[0353] 3-苄氧基-5-溴苯甲酸

[0354]

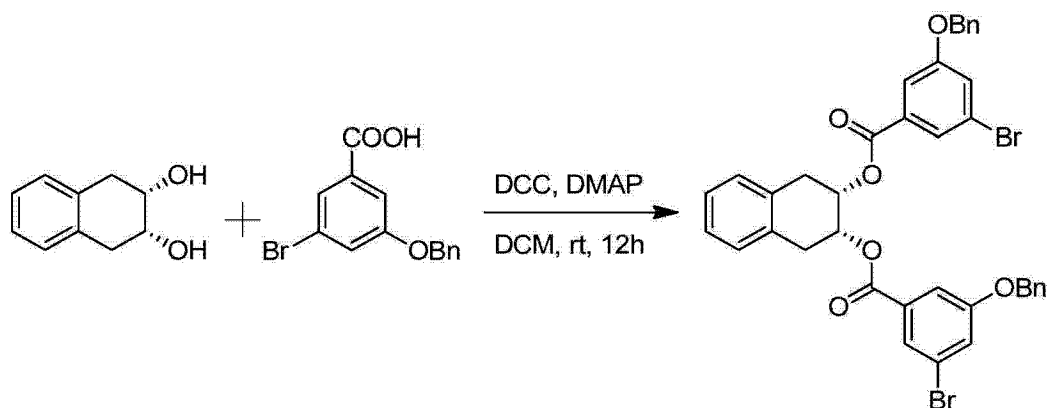


[0355] 将 5-羟基-3-溴-苯甲酸 (1g, 4.6mmol)、K₂CO₃ (1.33g, 9.66mmol) 和 BnBr (1.61g,

9.43mmol) 溶解于干燥的 DMF (10mL) 中, 并搅拌 24 小时。将水加入到反应混合物中, 并用 EtOAc 萃取三次 (3×10mL)。蒸发合并的有机相并溶解在 8N KOH 的 MeOH (50mL) 溶液中, 再回流 1 小时。反应完成后, 将混合物用浓 HCl 酸化至 pH2-3。滤出所形成的沉淀物, 溶解在 EtOAc 中, 并用水、盐水洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥。除去溶剂, 得到纯产物, 其为淡黄色固体, m. p. 148 - 150 °C (1.1g, 78% 产率)。¹H NMR (400MHz, d₆-丙酮) δ: 11.8 - 10.8 (brs, 1H), 7.78, (s, 1H), 7.62, (s, 1H), 7.55 - 7.2 (m, 6H), 5.21 (s, 2H)。

[0356] 1,4-二氢萘-2,3-二基二-5-苄氧基-3-溴苯甲酸酯

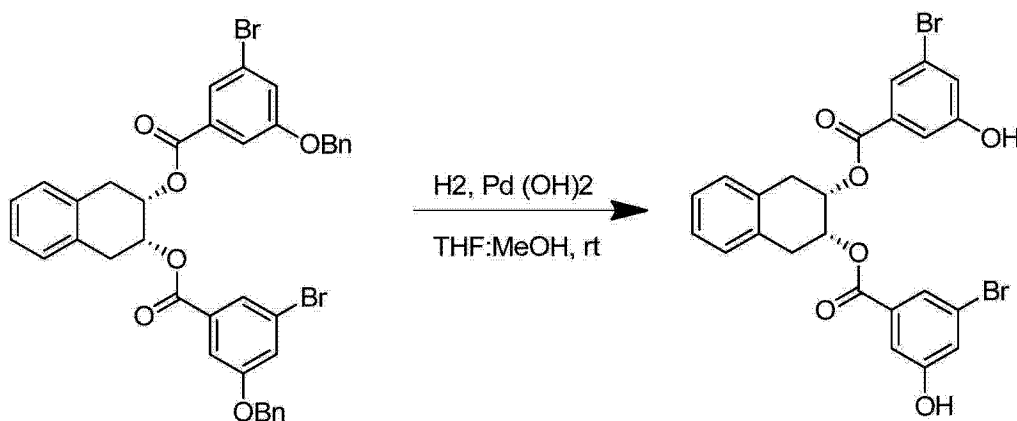
[0357]



[0358] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、5-苄氧基-3-溴-苯甲酸 (191mg, 0.61mmol)、DCC (129mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解在干燥的 DCM (2mL) 中, 并在室温下搅拌 24 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc (10mL), 并在冰箱中保持 12 小时。滤出所形成的沉淀物, 除去溶剂, 并将粗产物通过柱色谱法使用乙酸乙酯和己烷作为洗脱剂 (1:3) 进行纯化, 得到产物, 其为白色固体, m. p. 111-113 °C (145mg, 65% 产率)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 7.68 (s, 2H), 7.48 (s, 2H), 4.4 - 7.18 (m, 16H), 5.69 (t, 2H), 4.95 (s, 2H), 3.32 (d, 4H)。

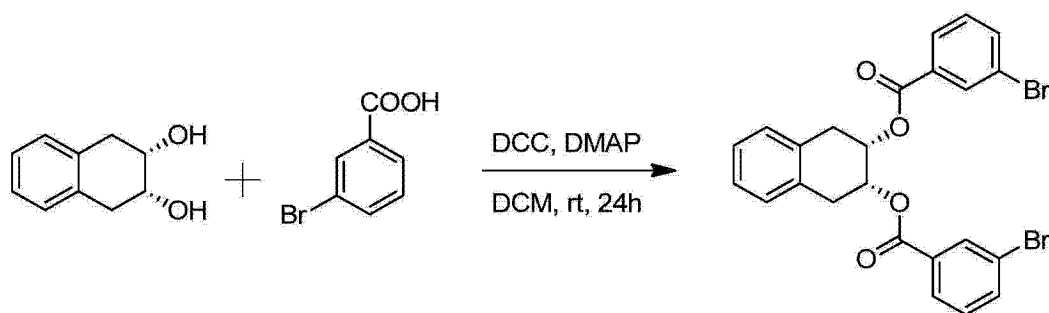
[0359] 化合物 37

[0360]



分子量: 562.20

[0361] 将底物 (100mg, 0.134mmol) 溶解于 THF:MeOH (1:2) 中, 加入 Pd(OH)₂ (20mg), 并在室温、H₂ 气氛下搅拌 3 小时。TLC 显示反应完成后, 将反应混合物通过小硅藻土垫过滤, 在减压下除去溶剂, 并通过柱色谱法纯化, 得到化合物 37, 其为白色固体, m. p. 78 - 80 °C (75mg, 99% 产率)。¹H NMR (400MHz, d₆-丙酮) δ: 8.68 (s, 2H), 7.46 (s, 3H), 7.31 - 7.19 (m, 5H), 7.0



[0370] 将二醇 12 (50mg, 0.3mmol)、3-溴苯甲酸 (97mg, 0.61mmol)、DCC (128mg, 0.61mmol) 和 DMAP (7mg, 0.07mmol) 溶解于干燥的 DCM (2mL) 并, 在室温下搅拌 24 小时。除去 DCM, 加入 EtOAc (10mL), 并在冰箱中保持 12 小时。滤出所形成的沉淀物。除去溶剂, 并将粗产物通过柱色谱法使用乙酸乙酯和己烷作为洗脱剂 (1:4) 进行纯化, 得到化合物 35, 其为白色固体, m. p. 123 - 125 °C (100mg, 61% 产率)。¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ : 8.1 (s, 2H), 7.89 (d, 2H), 7.65 (d, 2H), 7.3 - 7.18 (m, 6H), 5.74 (t, 2H), 3.34 (d, 4H)。

[0371] EGCG 及其类似物对纯化的 20S 蛋白酶体活性的抑制

[0372] 在 37 °C 下, 在不同浓度的 EGCG 或 EGCG 类似物或溶剂的存在下, 在 100 μ l 测定缓冲液 (20mM Tris-HCl, pH7.5) 中将纯化的兔 20S 蛋白酶体 (35ng) 与 20 μ M 的底物 Suc-LLVY-AMC 一起孵育 2 小时, 之后采用 Wallac Victor3™ 多标记计数器在 355-nm 激发波长和 460-nm 发射波长下对荧光底物的水解进行测量。

[0373] EGCG 及其类似物对细胞蛋白酶体的抑制

[0374] 将人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞用化合物 5 或 7 处理 24 小时。如前面所述对细胞裂解物进行糜蛋白酶活性测定和蛋白质免疫印迹分析。

[0375] MTT 测定

[0376] 细胞在 96 孔板中生长。以一式三份将孔中的细胞用所示浓度的 EGCG 或 EGCG 类似物处理 24 小时。吸出培养基后, 将 MTT (1mg/ml) 加入到细胞培养物中, 之后于 37 °C 孵育 3 小时, 细胞结晶后, 除去 MTT 并加入 DMSO 以溶解代谢的 MTT 产物。然后在 540nm 下在 Wallac Victor31420 多标记计数器上测量吸光度。

[0377] 实施例 2

[0378] 对纯化的 20S 蛋白酶体的糜蛋白酶样活性的抑制

[0379] 参考图 2, EGCG 有效抑制蛋白酶体糜蛋白酶活性, 这与我们以前的观察结果一致。化合物 5 是取代的四氢化萘, 可将其看作是 EGCG 的一个类似物, 其抑制蛋白酶体的糜蛋白酶样活性, IC₅₀ 值为 19 μ M。缺少没食子酸酯部分的化合物 16 即使是在 50 μ M 的浓度下也不抑制蛋白酶体糜蛋白酶活性。另一方面, 化合物 7 (IC₅₀=29 μ M) 尽管缺少没食子酸酯, 其活性也仅略微低于 EGCG 或 5 的活性。并不奇怪, 化合物 21 即使在 50 μ M 下也不具有蛋白酶体抑制活性。当乙酰化时, 得到的衍生物 4、6、8、17 和 22 在这些条件下都没有显示出蛋白酶体抑制作用。

[0380] 实施例 3

[0381] COMT 影响衍生物 5 和 7 的蛋白酶体抑制活性

[0382] 将含有高 COMT 活性的人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞裂解物用不同浓度的化合物 5 或 7 进行处理。图 3 示出了浓度在 1-10 μ M 范围内的化合物 7 抑制了 18-51% 之间的蛋白酶

体活性,而化合物 5 在相同条件下只抑制了 10-16% 的蛋白酶体活性。根据实施例 2 的数据中不会预料到化合物 7 在抑制 MDA-MB-231 细胞裂解物的蛋白酶体活性方面的活性比化合物 5 更高。这些结果表明,与化合物 7 相比,化合物 5 可能对通过 COMT 进行的生物转化更敏感。相比之下,10 μ M 的 EGCG 对这些细胞的糜蛋白酶样活性仅抑制了约 22%。因此,与先前报道相一致,EGCG 也对通过 COMT 进行的甲基化敏感 (H., Lu, X. Meng, C. S. Yang, Drug Metabolism and Disposition;31;572, 2003)。

[0383] 实施例 4

[0384] 对 MDA-MB-231 肿瘤细胞生长的抑制

[0385] 此处指定为 pro-EGCG 的化合物 4 在一些癌症细胞系中表现出比 EGCG (1) 增强的生长抑制活性 (Lam, W. H. 等人, Bioorg. Med. Chem. 2004, 12, 5587 ;Landis-Piowar, K. R. 等人, Internat. J. Mol. Med. 2005, 15, 735)。现在已经确定了全乙酸酯 6 和 8 比它们的非乙酰化前体 5 和 7 在抑制细胞生长方面更有效。图 4 示出了化合物 4 与类似物 5 和 7 以及其对应的全乙酸酯 6 和 8 相比在人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中的生长抑制活性。令人惊讶的是,全乙酰化类似物 8 是最有效的类似物,其在 25-50 μ M 时显示出 70-79% 的 MDA-MB-231 细胞生长抑制率。全乙酰化类似物 6 诱导了约 50% 的 MDA-MB-231 细胞抑制率。两种全乙酰化类似物都比 pro-EGCG4 更有效,pro-EGCG4 在等摩尔浓度时只显示了 0-32% 的抑制率。

[0386] 为了确定全乙酰化类似物 8 的活性增强是否是由减少的生物转化引起的,我们检查了化合物 8 (7 的全乙酰化类似物) 或化合物 6 (5 的全乙酰化类似物) 以及 pro-EGCG4 的抑制活性在 3,5-二硝基儿茶酚 (DNC) 的存在下是否受到影响, DNC 是 COMT 的紧密结合抑制剂。如果 DNC 抑制 COMT 介导的化合物 5 或 EGCG 的甲基化,本领域技术人员将观察到当添加了 DNC,化合物 6 或 pro-EGCG 的生长抑制活性增加。另一方面,如果类似物 7 不是 COMT 的底物或对其活性不太敏感,化合物 8 的生长抑制活性在 DNC 的存在下不会受到显著的影响。在存在或不存在 DNC 时,用化合物 8 或 6 (化合物 7 或 5 的全乙酰化类似物) 处理 MDA-MB-231 细胞。单独的化合物 6 在 50 μ M 时抑制了 48% 的细胞增殖。在存在 10 μ M DNC 时,类似物 6 介导的细胞增殖抑制增加至 88% (图 5)。对 Pro-EGCG4 观察到类似的效应,Pro-EGCG4 在存在 DNC 时对细胞增殖的抑制从 42% 抑制率上升至 89% 抑制率。对比类似物 6 和 Pro-EGCG (4),类似物 8 介导的细胞增殖抑制在 DNC 存在时没有明显增加 (69% 对比 84% 的抑制率)。因此,在每个相邻的芳环上缺少邻苯二酚 (catechol) 单元的本发明的化合物对 COMT 介导的甲基化敏感,其表现出更高的细胞生长增殖抑制率。

[0387] 实施例 5

[0388] 泛素化蛋白的积累

[0389] 参考图 6,本实施例 5 的实验研究了在 MDA-MB-231 细胞中全乙酰化的化合物 6 和化合物 8 以及 Pro-EGCG4 是否能够抑制蛋白酶体并表现出泛素化蛋白的积累。事实上,在图 7 中测试和示出的剂量下,在 MDA-MB-231 细胞中,化合物 8 相对于化合物 6 和 Pro-EGCG4 积累了更高水平的泛素化蛋白,这表明类似物 8 抑制了更多的蛋白酶体活性。

[0390] 实施例 6

[0391] 本发明的化合物联合硼替佐米 (万珂™) 对人多发性骨髓瘤细胞的细胞增殖的抑制

[0392] 当与万珂™ 联合时,化合物 7 和 23 显示出对人多发性骨髓瘤细胞中细胞增殖的

协同抑制作用,但化合物 5 没有显示出这种协同抑制作用。三种类似物之中,化合物 7 是最有效的细胞增殖抑制剂。在用 20 μ M 的化合物 7 处理的 ARP 细胞中,细胞增殖被抑制了约 60%(图 2A)。用万珂™处理以剂量依赖性方式减少了细胞增殖,并且当与化合物 7 联合时,观察到进一步的抑制(图 7A)。与拮抗万珂™的抑制作用的化合物 5 的共同处理阻碍了硼替佐米的抑制作用(图 7A)。化合物 23 也增加了万珂™硼替佐米诱导的细胞增殖抑制,但作用比化合物 7 的作用差(图 7A)。

[0393] 由 OPM1 细胞产生的数据显示了类似的作用模式。然而,OPM1 细胞系似乎对用万珂™硼替佐米和各种组合进行的治疗的抵抗性更高(图 7B)。

[0394] 在图 8 中,示出了使用 ARP 细胞在 96 孔板(在图 7A 所示的相同的实验中)中进行的 MTT 测定的颜色变化。深紫色表示全部为活细胞;浅紫色表示减少数量的活细胞;微黄色表示没有活细胞(图 8)。颜色变化模式与化合物抑制 ARP 肿瘤细胞生长的效力一致(比较图 8 和图 7A)。图 7 和图 8 中示出的结果表明化合物 7 和 23 在与万珂™硼替佐米联合时对人多发性骨髓瘤细胞显示出意想不到的协同作用,而化合物 5 部分地阻滞万珂™硼替佐米对这些恶性细胞的抑制作用。

[0395] 实施例 7

[0396] EGCG 类似物 Pro-EGCG 能激活 AMPK 信号传导。

[0397] AMP 激活蛋白激酶(AMPK)是一种生理细胞能传感器,对 AMPK 的激活强烈地抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡并减少癌症细胞中的干细胞群。许多研究已报道了抗糖尿病药物二甲双胍(metformin)是不同的癌症细胞中的有效的 AMPK 激活剂。当与抗癌药物联合时,AMPK 激活剂具有抑制肿瘤细胞生长并产生协同作用的潜能。我们在人乳腺癌细胞中测试了几种天然的和合成的化合物,并发现 EGCG(绿茶多酚)和 Pro-EGCG(合成的 EGCG 类似物;化合物 4)能激活 AMPK 信号传导(图 9A)。

[0398] 在我们的研究中,人乳腺癌细胞系和体外对细胞的处理如下:人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 来自转移到胸腔积液的人腺癌(Cailleau 等人, *In Vitro*, 1978, 14:911-915; Cailleau 等人, *Journal of the National Cancer Institute*, 1974, 53:661-674)。这类细胞系表达高水平的 EGFR(Godden 等人, *Anticancer Res.*, 1992, 12:1683-1688),并且是用于研究激素依赖性和三阴性乳腺癌的乳腺癌细胞系之一。MDA-MB-231 细胞从美国典型培养物保藏中心(Manassas, VA)获得的,并在补充有 10%FBS 的 D-MEM/F-12 培养基中生长并保持在 37°C 和 5%CO₂ 下(Chen 等人, *Cancer research*, 2006, 66:10425-10433)。在我们的研究中,用 EGCG、EGCG 类似物或与抗癌药物多西他赛或厄洛替尼联合处理对 MDA-MB-231 细胞进行处理。二甲双胍,其是一种抗糖尿病药物并且是 AMPK 激活剂,用作阳性对照。

[0399] 如下进行蛋白质免疫印迹分析:如以前所述的由处理过的细胞制备全细胞提取物(Landis-Piwowar 等人, *Cancer research*, 2007, 67:4303-4310; Chen 等人, *Cancer research*, 2007, 67:1636-1644; Chen 等人, *Biochemical pharmacology*, 2005, 69:1421-1432)。然后将细胞提取物(30 μ g)通过 SDS-PAGE 凝胶分离并转移至硝酸纤维素膜。用特异性抗体对该膜进行印迹,特异性抗体包括抗-AMPK、p-AMPK、EGFR、p-EGFR(Cell Signaling Tech. Danvers, MA)、PARP(Enzo Life Sciences, Plymouth Meeting, PA)、肌动蛋白(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)。如以前所述的通过增强化学发光使膜可视化(Landis-Piwowar 等人, *Cancer research*, 2007, 67:4303-4310;

Chen 等人, Cancer research, 2007, 67:1636-1644 ;Chen 等人, Biochemical pharmacology , 2005, 69:1421-1432)。

[0400] 如下进行流式细胞分析:将处理过的细胞用磷酸缓冲盐水 (PBS) 洗涤一次,然后用细胞解离缓冲液(无酶, Invitrogen, 目录 #13150-016) 收获。分离的细胞用含 1%FCS 的 PBS(洗涤缓冲液)进行洗涤,并重悬浮于洗涤缓冲液(1,000 个细胞 /100 μ l)。用获自 BD Biosciences(San Diego, CA, USA) 的抗人 CD44(FITC ;目录 #555478) 和 CD24(PE ;目录 #555428) 的荧光标记的单克隆抗体的组合或其各自的同种型对照以制造商推荐的浓度对细胞进行染色,并在 4℃于黑暗中孵育 30 至 40 分钟。将标记的细胞在洗涤缓冲液中进行洗涤,然后在含有 1% 多聚甲醛的 PBS 中进行固定,然后在 FACS Vantage(BD Biosciences) 上进行分析(Sheridan 等人, Breast Cancer Res. , 2006, 8:R59)。

[0401] 在图 9A 中,将人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞用 20 μ M 的 EGCG、Pro-EGCG 和其它 EGCG 类似物(化合物 5、7、23、30 和 31) 或 10mM 的二甲双胍处理 3 小时。通过蛋白质免疫印迹法使用抗 -AMPK、p-AMPK、PARP、p-EGFR、EGFR 或 β -肌动蛋白的抗体对细胞裂解物进行分析。在图 9B 中,将人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞用 20 μ M 的 EGCG 类似物 23 和 30、10nM 的多西他赛单独地或化合物 23 和 30 加上多西他赛的联合处理进行处理 24 小时。

[0402] 为了发现更多的 AMPK 激活剂,我们在人乳腺癌细胞中测试了一系列的 EGCG 类似物。将 MDA-MB-231 细胞用 20 μ M 的 EGCG 类似物 5、7、23、30 和 31 进行处理。EGCG、Pro-EGCG 和二甲双胍作为阳性对照。我们发现,EGCG 类似物 23 和 30 甚至在较低浓度下也是比二甲双胍更有效的 AMPK 激活剂(图 9A)。EGCG 类似物 23 和 30 也可以使这些 TNBC 细胞对多西他赛敏感,并且联合治疗与各个单独治疗相比诱导了更多的凋亡(通过 PARP 裂解的增加反映的)细胞死亡(图 9B)。EGCG 类似物 23 和 30 也可以使这些 TNBC 细胞对 EGFR 抑制剂厄洛替尼敏感,并且联合处理在减少 p-EGFR 和诱导凋亡细胞死亡(通过 PARP 裂解的增加反映的)方面比各个单独处理更有效(图 9C)。

[0403] 结果表明,EGCG 类似物在乳腺癌细胞中是有效的 AMPK 激活剂。实际上,EGCG 类似物 23 和 30 是比 EGCG 和 Pro-EGCG 更有效的 AMPK 激活剂,甚至比二甲双胍更有效(图 9A)。另外,发现当这些 EGCG 类似物与其它抗癌药物如多西他赛和厄洛替尼联合使用时具有协同作用。

[0404] 实施例 8

[0405] EGCG 类似物 23 和 30 显著降低 TNBC 细胞中的 CD44^高/CD24^低细胞群。

[0406] 二甲双胍可以选择性地靶向癌症干细胞并通过激活 AMPK 信号传导减少 TNBC 细胞中的 CD44 高 /CD24 低细胞群(Hirsch 等人, Cancer Research, 2009, 69 :7507-7511)。为了确定 EGCG 类似物 23 和 30 是否能减少乳腺癌细胞中的干细胞群,将人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞用不同浓度的化合物 23 和 30 处理 48 小时。将处理过的细胞用抗人 CD44(FITC)、CD24(PE) 的特异性抗体或其各自的同种型对照染色,之后洗涤、固定并通过流式细胞术进行分析。用 10 或 20 μ M 的化合物 30 处理 MDA-MB-231 细胞导致 CD44^高/CD24^低群分别降低 43.3% 和 71.7%(图 10)。

[0407] 结果表明,EGCG 类似物 23 和 30 都可减少 CD44^高/CD24^低细胞群,并且化合物 30 比化合物 23 更有效。

[0408] 总之,结果表明,EGCG 类似物 23 和 30 可激活 AMPK 并可增强临床抗癌药物的功效。

在上述实验中,用 23 或 30 加上多西他赛联合处理 MDA-MB-231 细胞,并用 23、30 或多西他赛单独处理作为对照。结果表明,只有联合处理在处理条件下诱导了凋亡细胞死亡(图 9B)。结果表明,EGCG 类似物可使 TNBC 细胞对 EGFR 抑制剂敏感。我们在相同细胞系中检验这一假设并证明了 EGCG 类似物 23 和 30 在与 EGFR 抑制剂厄洛替尼联合时表现出协同作用(图 9C)。有趣的是,EGCG 类似物 23 和 30 可减少 TNBC 细胞中的 CD44^高/CD24^低细胞群,这可能与 AMPK 激活特性相关(图 10)。

[0409] 实施例 9

[0410] EGCG 类似物 23 和 30 显著抑制乳腺球形成。

[0411] 肿瘤干细胞具有形成肿瘤球的特性。乳腺球形成实验是可用于鉴定人乳腺干细胞/祖细胞群并测量类干细胞行为的工具。为了检查化合物 23 和 30 是否可靶向癌症干细胞或类干细胞细胞并抑制乳腺球形成,我们进行了乳腺球形成测定。二甲双胍和 EGCG 用作对照。结果表明,用 10 或 20 μ M 的 23 或 30 处理 MDA-MB-231 细胞 7 天导致分别抑制了 45.1% 和 66.7% 或 52.2% 和 73.3% 的乳腺球形成(图 11)。作为比较,用 10 或 20 μ M 的 EGCG 处理仅抑制了 20.1% 和 51.3% 的乳腺球形成,并且用 5 和 10mM 的二甲双胍处理分别抑制了 41.4% 和 67.6% 的乳腺球形成(图 11)。因此,EGCG 类似物 23 和 30 在抑制乳腺球形成方面比 EGCG 和二甲双胍有效得多。

[0412] 乳腺球形成测定

[0413] 实施乳腺球形成测定以评估癌症干细胞的自我更新的能力。使 MDA-MB-231 细胞的单细胞悬浮液完全悬浮于 1.5ml 球形成培养基(补充有 50 单位/ml 的青霉素、50mg/ml 的链霉素、B-27 和 N-2 的 1:1DMEM/F12 培养基)并以 1000 个细胞/孔铺板于 6 孔板(Corning, Lowell, MA) 的超低贴壁孔中。每 3-4 天加入一毫升的球形成培养基。在用不同浓度的 EGCG 类似物 23、30 或二甲双胍孵育 7 天后,通过以 300g 离心 5 分钟收集形成的球并用倒置相位差 Zeiss Axiovert25 显微镜(inverted phase-contrast Zeiss Axiovert25 microscope) 进行计数。

[0414] 实施例 10

[0415] EGCG 类似物 23 和 30 以剂量依赖性方式抑制乳腺癌细胞的细胞增殖,与 AMPK 的激活和 p21 蛋白的诱导相关。

[0416] 已报道,通过真正的 AMPK 激活剂 AMP- 模拟物 5- 氨基咪唑 -4- 甲酰胺核糖核苷(AICAR) 激活 AMPK 导致细胞周期停滞并抑制肝癌 HepG2 细胞的细胞增殖。为了确定 EGCG 类似物 23 和 30 是否可以在抑制细胞增殖方面发挥与 AI-CAR 类似的作用,我们用不同浓度的化合物 23 和 30 处理人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞,之后进行蛋白质免疫印迹分析以及细胞增殖测定。用二甲双胍和天然产物 EGCG 处理的细胞作为对照。结果表明,EGCG 类似物 23 和 30 都可以以剂量依赖性方式抑制细胞增殖并且其抑制作用甚至是在类似物 23 和 30 以比二甲双胍处理低得多的浓度使用时也比 EGCG 和二甲双胍更有效(图 12A)。蛋白质免疫印迹结果表明,化合物 23 和 30 也以剂量依赖性方式激活 AMPK,这是通过增加的磷酸化 -AMPK α (phosphor-AMPK α) 和磷酸化 mTOR 相关调控蛋白(phosphor-Raptor)(其是 AMPK 的一种直接下游底物蛋白)水平测量的(图 12B)。我们的数据还表明,通过降低的磷酸化 -p70-S6K (phosphor-p70-S6K) 所测量的,23 和 30 对 AMPK 的激活可以抑制 mTOR 通路(图 12B),这表明这些 EGCG 类似物作为 AMPK 激活剂的功能性。通过用化合物 23 和 30 处

理对乳腺癌细胞增殖的抑制与 p21 蛋白水平升高相关（图 12B）。

[0417] 虽然在实施例中描述了本发明的具体实施方式，显然本领域技术人员将会对本发明进行修改和改变。本发明的实施方式意图不受实施例的限制。将清楚地理解，本领域技术人员将会进行的这些修改和改变是在如以下权利要求所述的本发明的范围之内。例如，作为一个实施方式的一部分示出或描述的特征可以用于另一个实施方式以得到又一个实施方式。因此，意图使本发明涵盖落入权利要求及其等同物的范围之内的这些修改和变化。

[0418] 本文引用的所有文件和参考文献的内容通过引用以其全文并入本文。

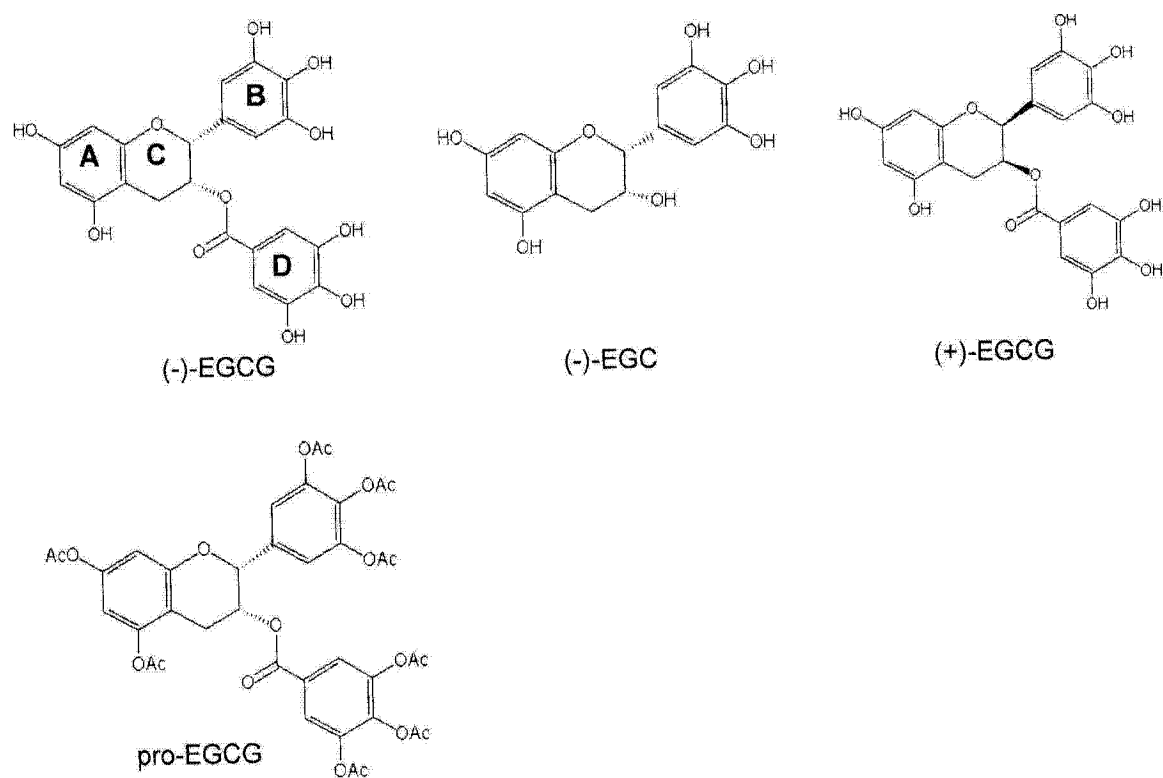


图 1

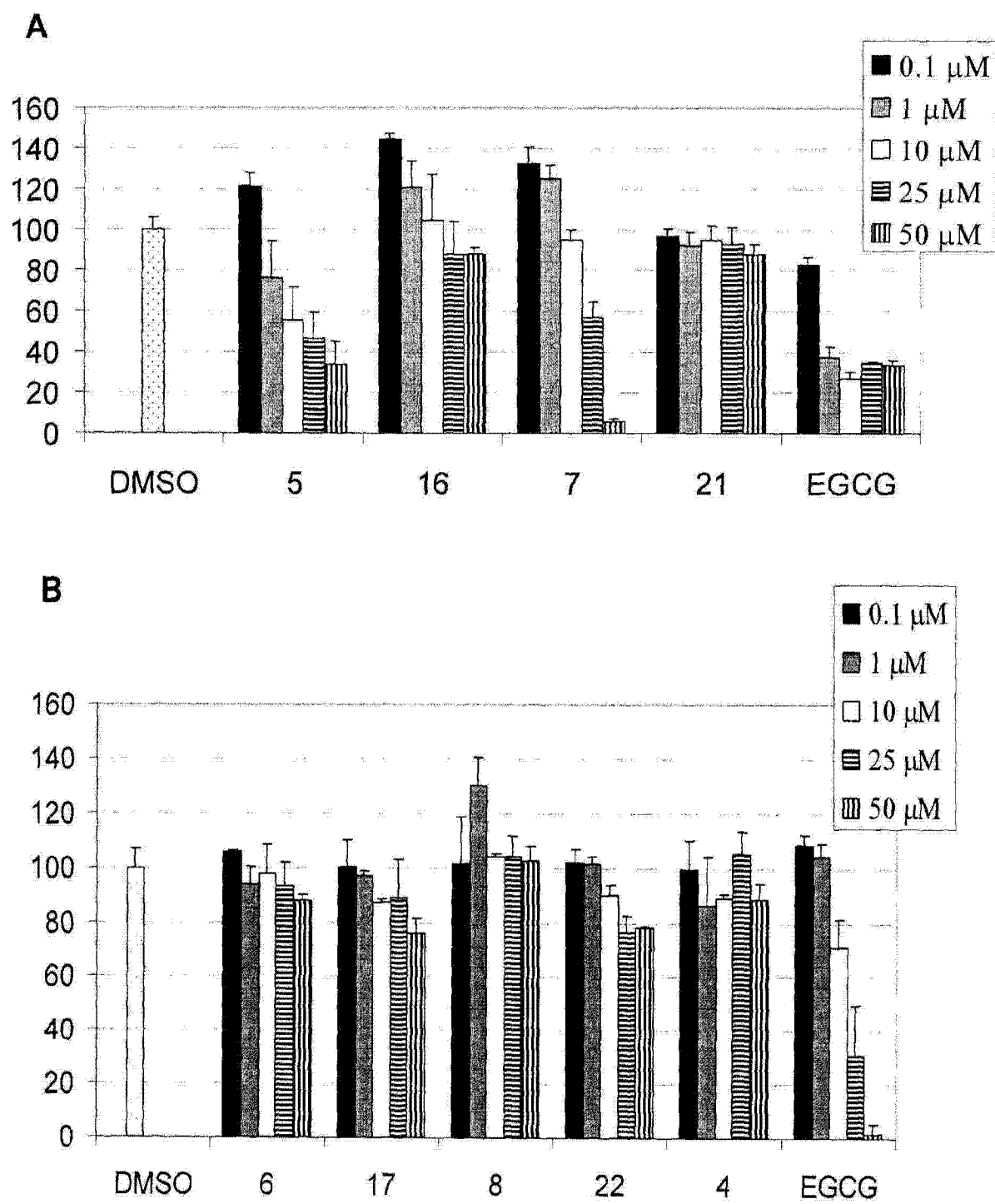


图 2

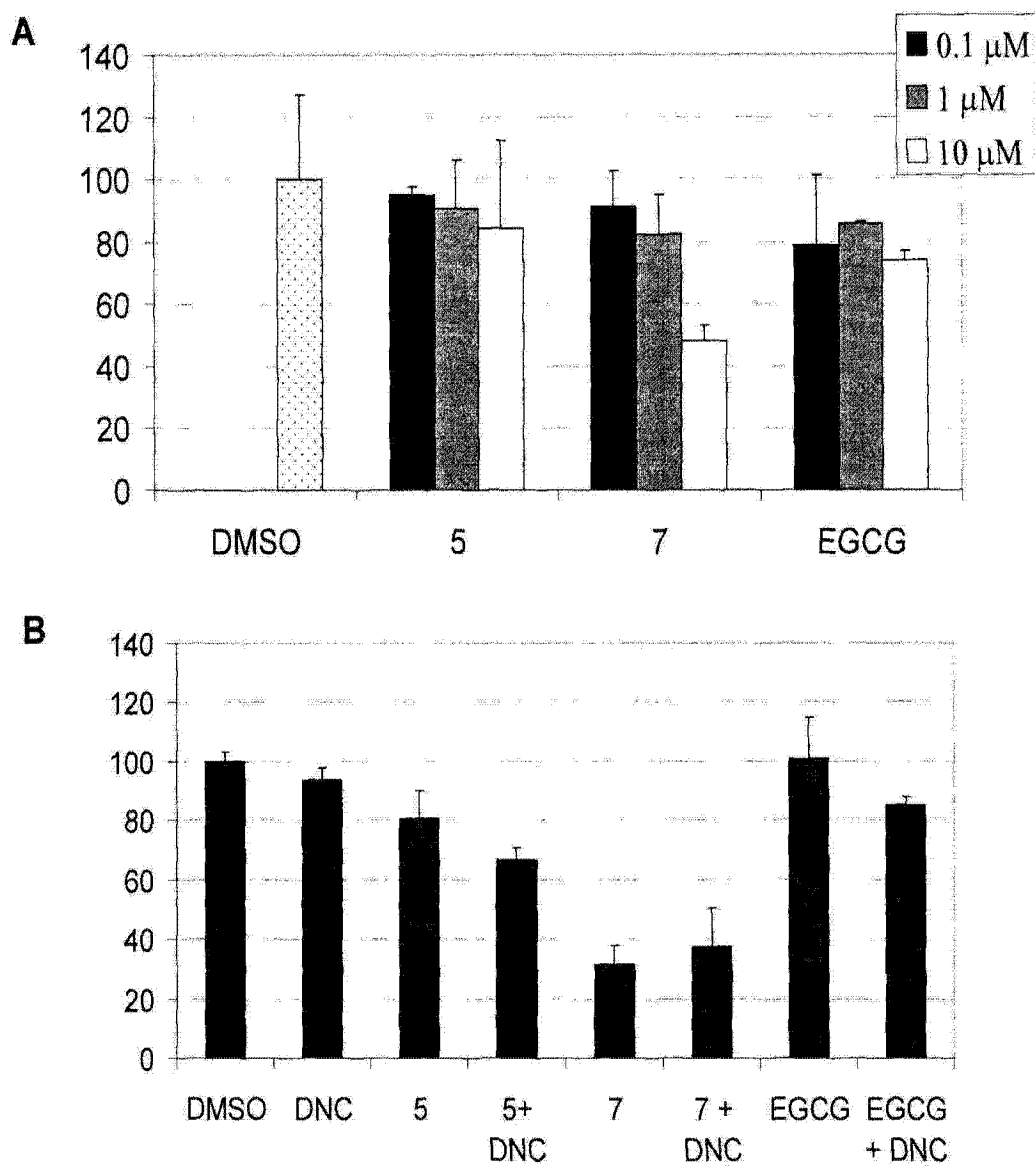


图 3

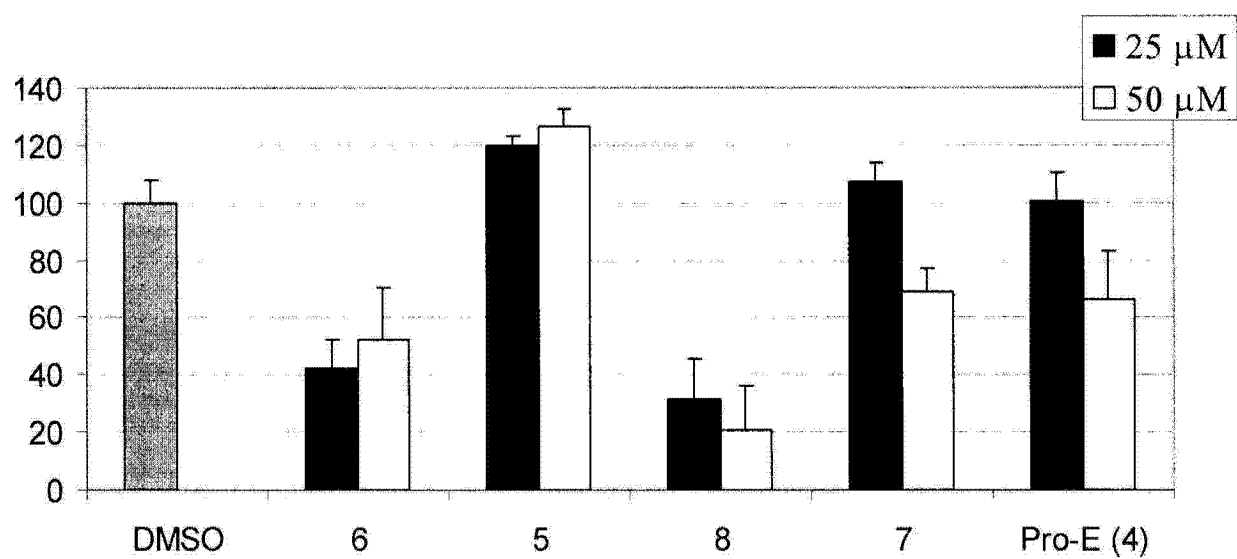


图 4

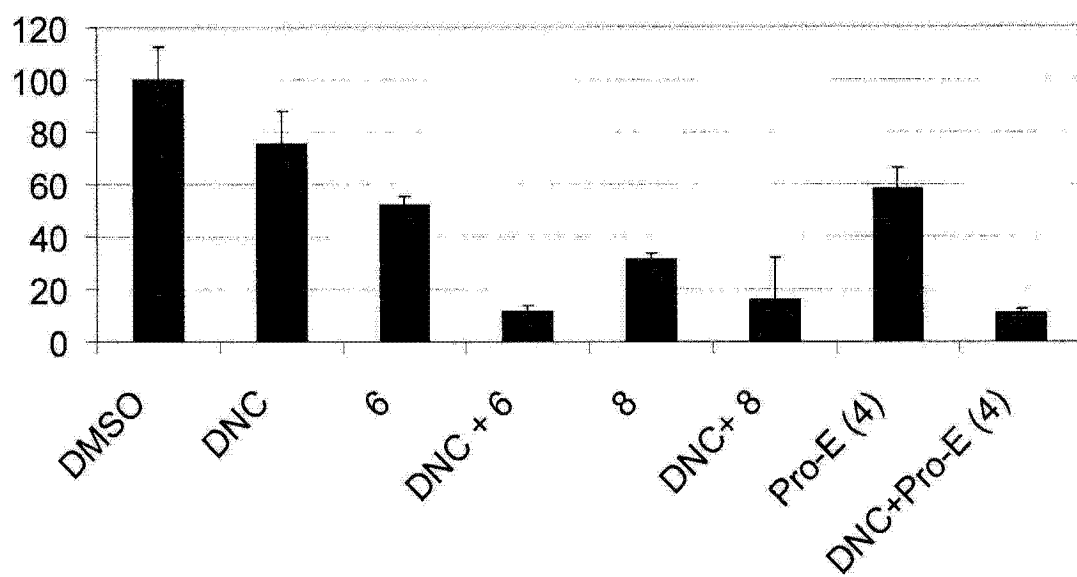


图 5

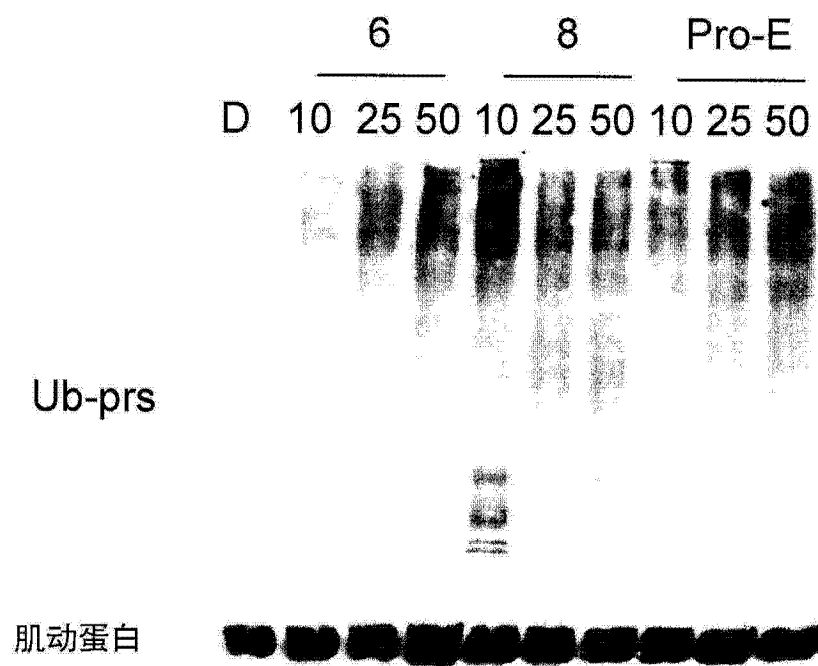


图 6

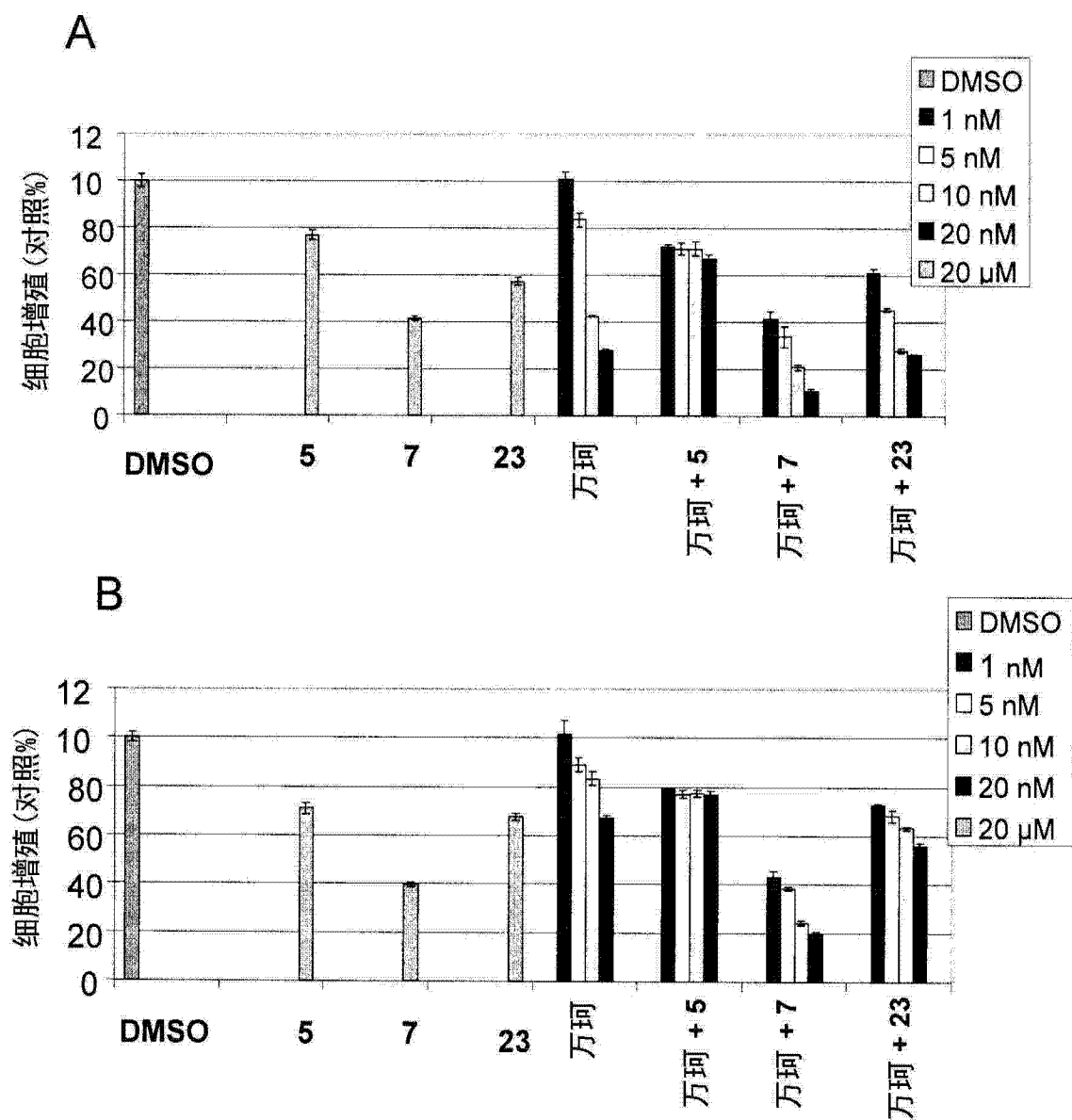


图 7

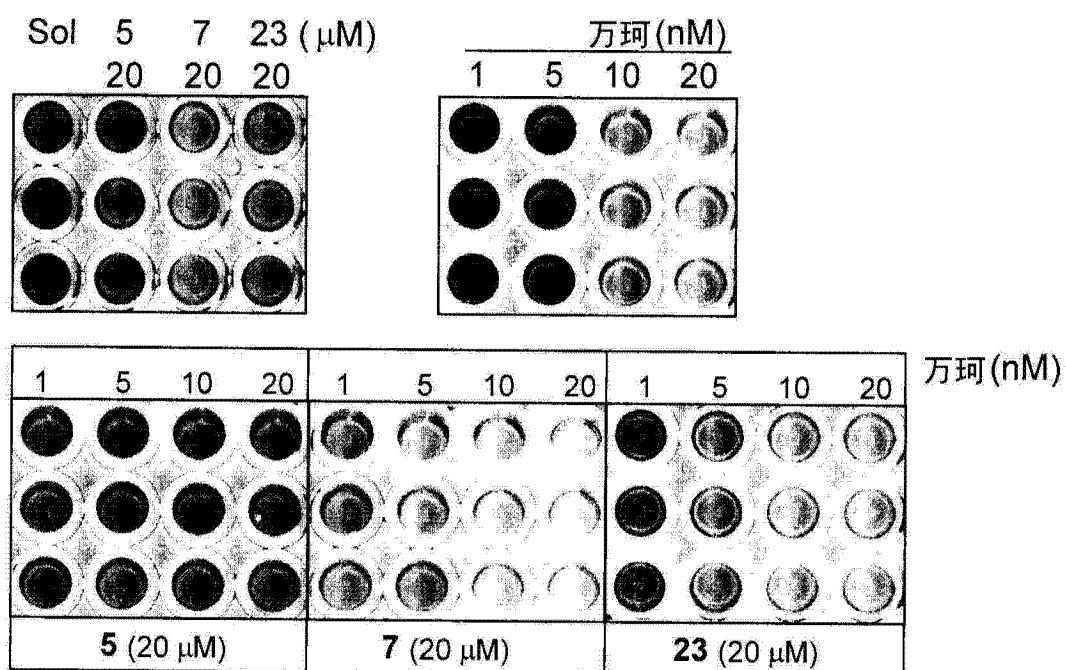


图 8

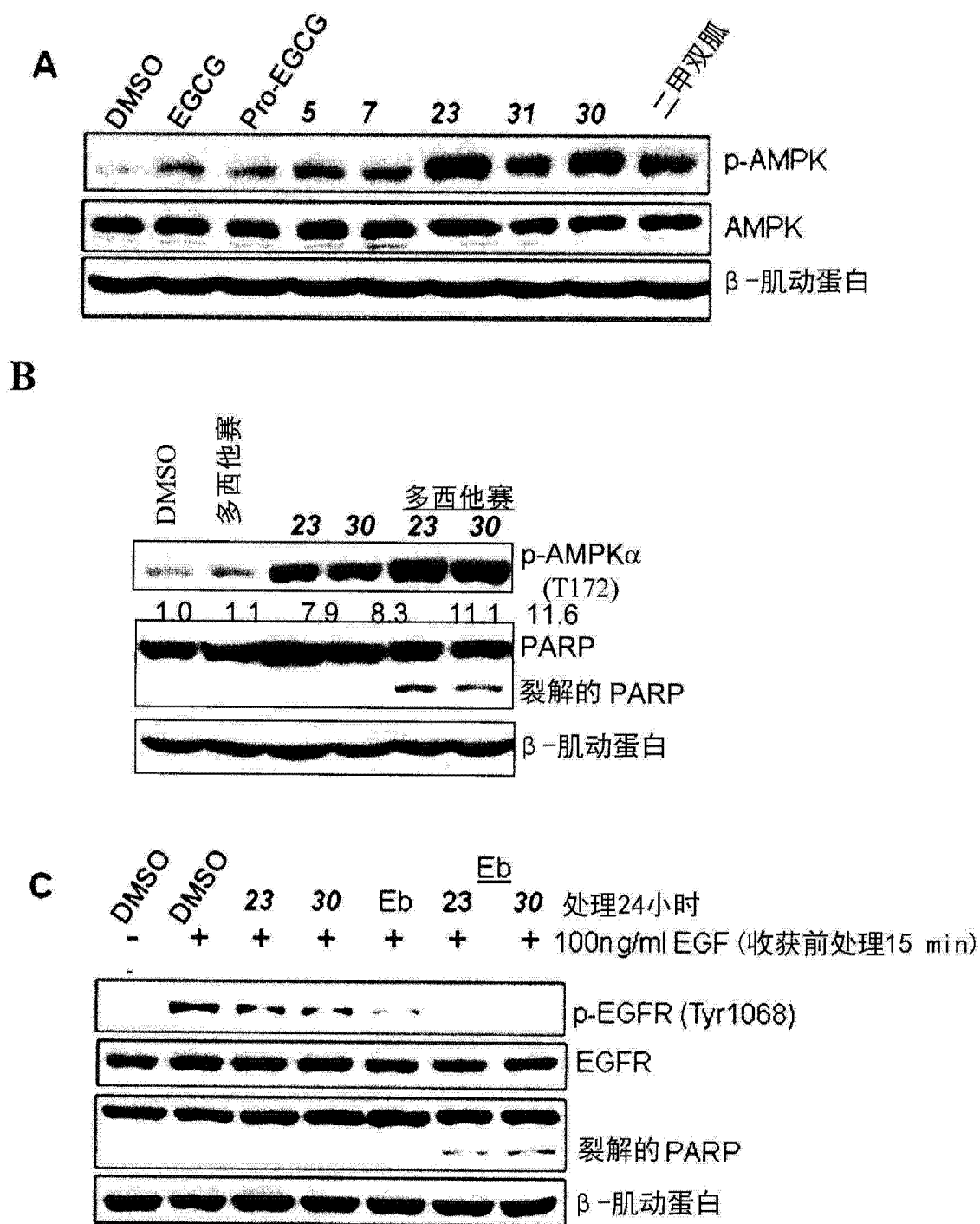


图 9

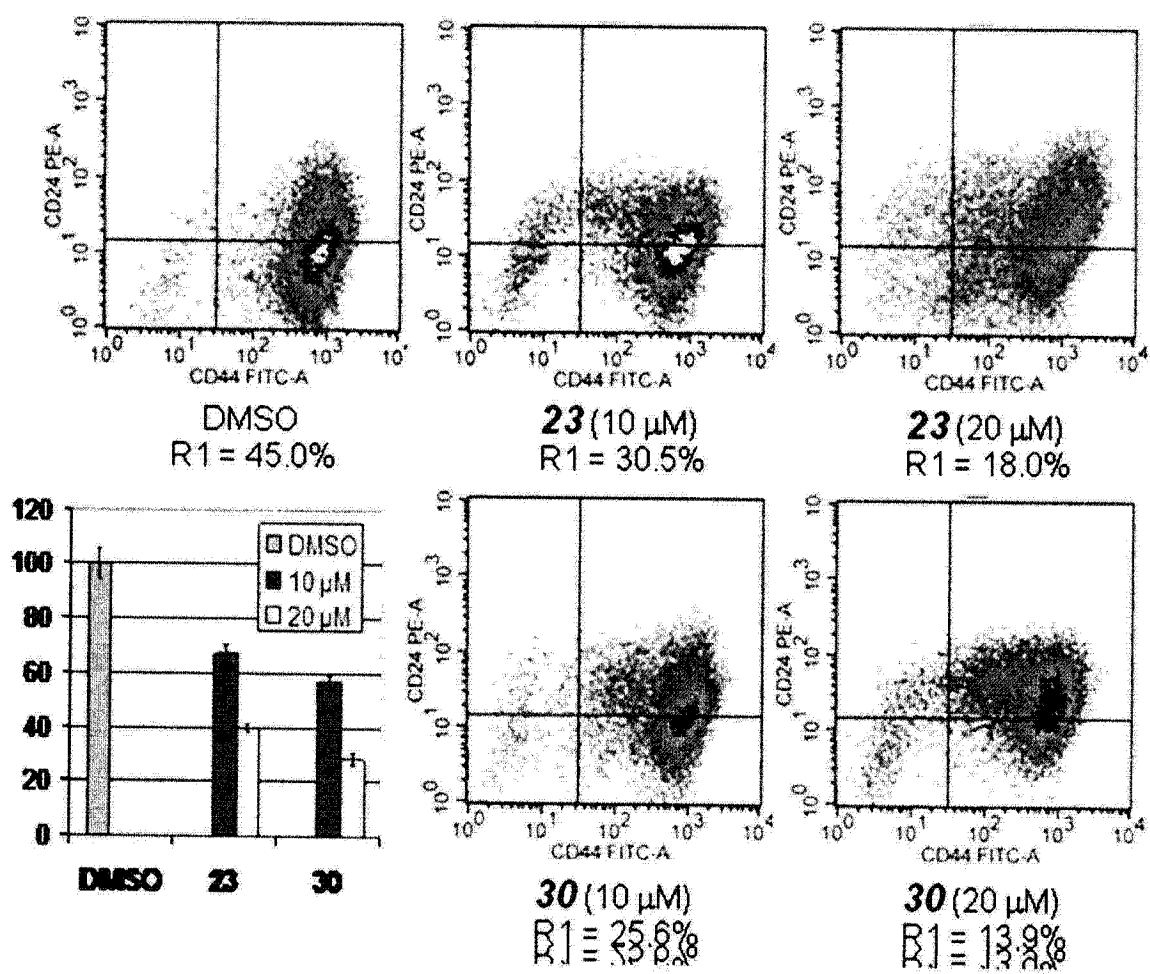


图 10

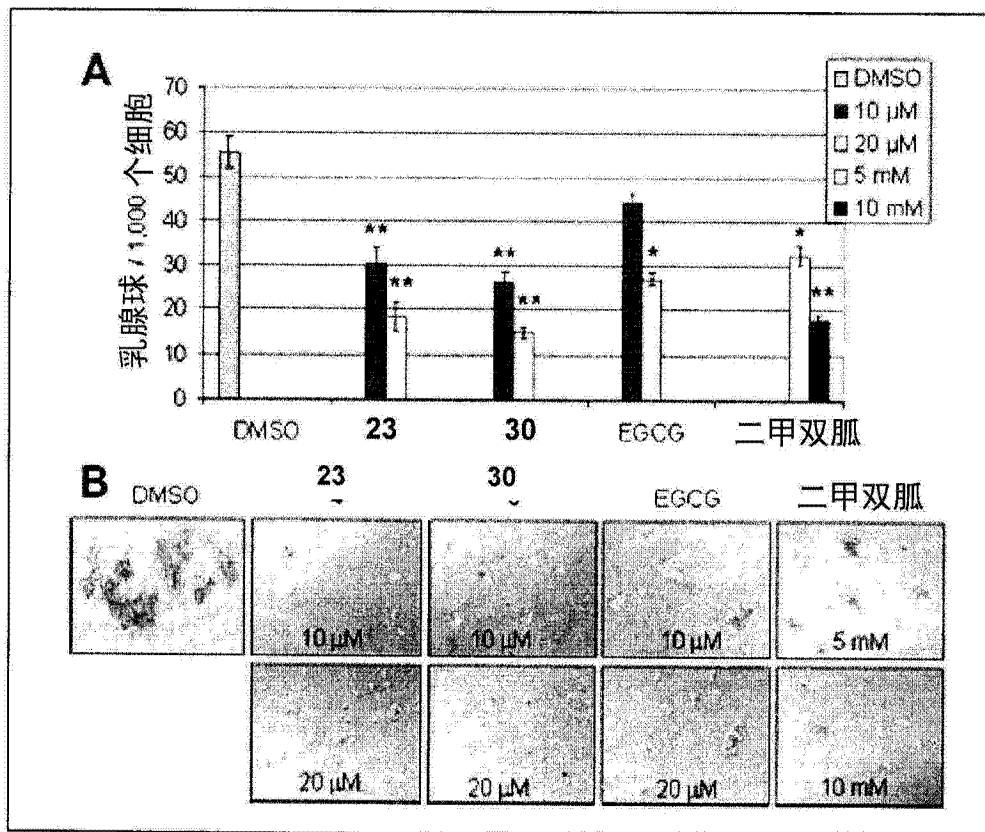


图 11

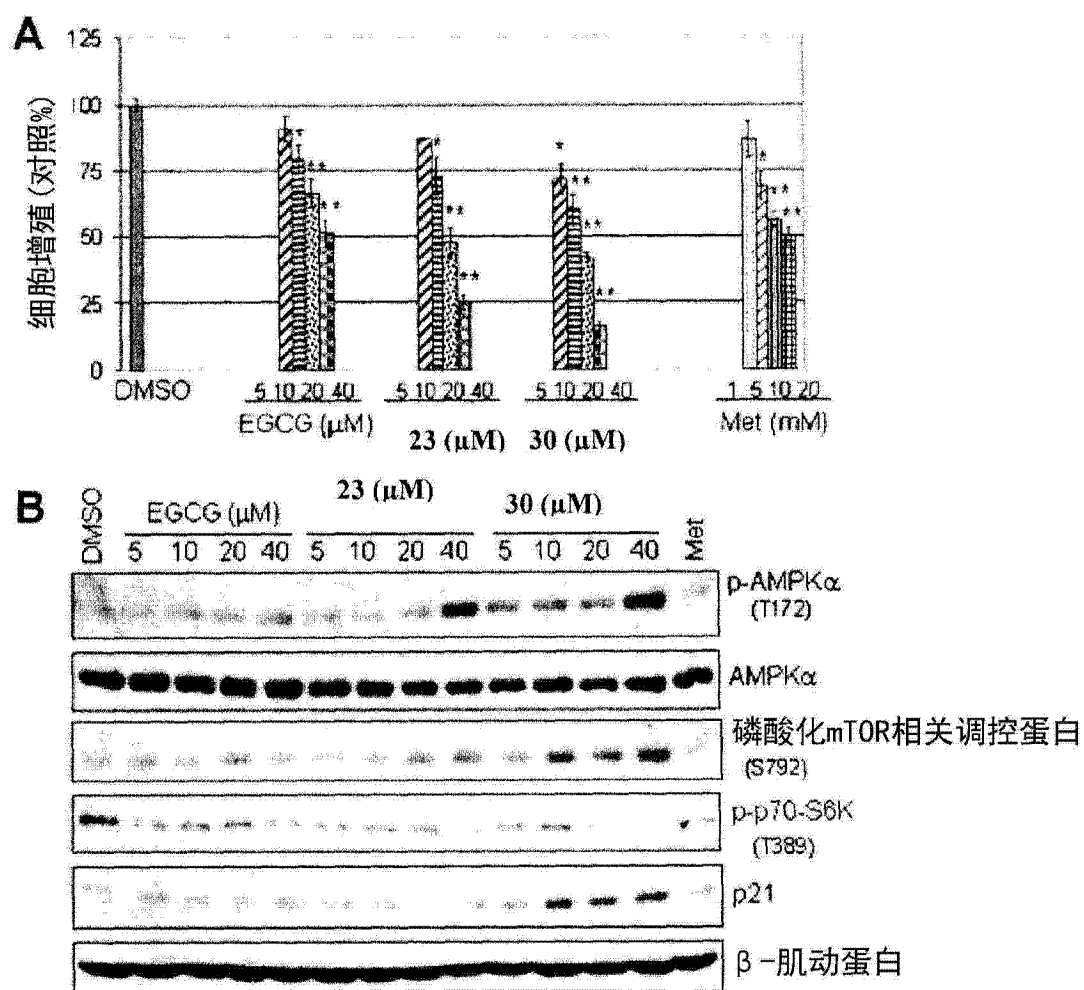


图 12